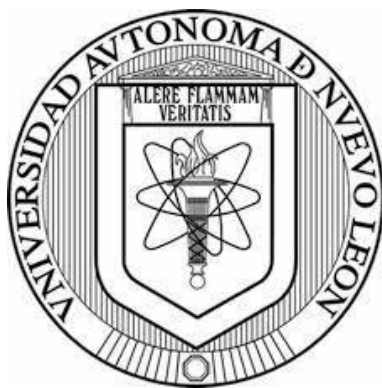


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



EVALUACIÓN DE UN BIOINOCULANTE MULTICEPA EN EL CRECIMIENTO Y
RESPUESTA A ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO DE PLANTAS DE TOMATE (*Solanum
lycopersicum* var. CHERRY)

POR

BIOL. VALERIA ALEJANDRA MORA TURRUBIATE

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA

2026

EVALUACIÓN DE UN BIOINOCULANTE MULTICEPA EN EL CRECIMIENTO Y
RESPUESTA A ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO DE PLANTAS DE TOMATE (*Solanum
lycopersicum* var. CHERRY)

Comité de tesis



Dr. Hamlet Avilés Arnaut

Director de Tesis



Dra. Susana de la Torre Zavala

Secretaria



Dra. María Julissa EK Ramos

Vocal



Dra. Katiushka Arévalo Niño

Vocal



Dra. Elva Teresa Aréchiga Carvajal

Vocal



SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO

Subdirector de Posgrado

Dra. Katiushka Arévalo Niño

EVALUACIÓN DE UN BIOINOCULANTE MULTICEPA EN EL CRECIMIENTO Y
RESPUESTA A ESTRÉS HÍDRICO Y SALINO DE PLANTAS DE TOMATE (*Solanum
lycopersicum* var. CHERRY)

Dirección de Tesis



Dr. Hamlet Avilés Arnaut

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a la Ciencia, Tecnología e Innovación, ProACTI de la UANL (Proyectos 67-CA-2023 y 112-CAAFE-2024). Agradeciendo al Conejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), ahora SECIHTI, por la beca otorgada a título de la estudiante de maestría Valeria Alejandra Mora Turrubiate con No. CVU 1347252.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Cristina Turrubiate y José Manuel Mora por su apoyo y amor incondicional, por ser un ejemplo de fortaleza y resiliencia, por dejarme perseguir mis sueños y siempre ser mi lugar seguro.

A mi hermana, Fernanda Mora, cuyo acompañamiento ha sido un sostén imprescindible durante estos dos años tan demandantes. Su apoyo emocional, comprensión y presencia constante fueron mi fuerza para continuar incluso en los momentos más frustrantes.

Al Dr. Hamlet Avilés Arnaut, por confiar en mi potencial desde el primer día, por su guía académica y humana, y por haberme brindado un ambiente de trabajo en el que siempre me sentí acompañada y con la libertad de aprender y crecer. También a la Dra. Susana de la Torre Zavala por su acompañamiento durante toda la realización de mi proyecto de tesis.

Al Instituto de Biotecnología, particularmente al Laboratorio 5, que se convirtió en mi segunda casa. Sus espacios fueron testigos de innumerables aprendizajes, retos, experiencias y emociones que marcaron profundamente mi formación.

A mis compañeros del L5, por hacer de la maestría una de las mejores experiencias de la vida. Su apoyo y la complicidad que compartimos fueron una motivación constante para acudir al laboratorio día con día.

A mis compañeros de maestría Ian y Xavier, quienes, a pesar de trabajar en distintos laboratorios, siempre mostraron disposición para apoyarnos mutuamente. Su amistad y acompañamiento fortalecieron significativamente esta etapa académica.

A Sergio, su paciencia, amor y apoyo hicieron que incluso los días más complicados se sintieran felices. Su compañía ha sido fundamental para culminar este proceso.

Al cuerpo académico de posgrado, por el acompañamiento continuo en los aspectos académicos y administrativos que permitieron el adecuado desarrollo de mis estudios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONAHCYT), ahora Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por el apoyo económico otorgado mediante la beca que hizo posible el desarrollo de mis estudios de maestría.

DEDICATORIAS

A mis padres, Cristina y José Manuel, por ser la base que sostiene cada uno de mis pasos.

*A mi hermana, Fernanda, por ser el mejor ejemplo a seguir; por creer en mí siempre y ser la
mejor compañera de vida.*

A Nala, cuya llegada inesperada llegó a completar la familia.

Al Dr. Hamlet y la Dra. Susana por abrirme las puertas de su laboratorio.

*A las amistades que hice en el camino, que marcaron mi paso por el posgrado y acompañaron
esta etapa con mucho apoyo y cariño.*

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	V
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	VII
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	5
2.1 Importancia del cultivo de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	5
2.1.1 Importancia económica en México	5
2.1.2 <i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry como modelo de estudio	8
2.2 Estrés abiótico en sistemas agrícolas	8
2.2.1 Impacto en la productividad	8
2.2.2 Estrés hídrico y salino: características, interacción y efectos en las plantas	9
2.2.3 Respuesta fisiológica	11
2.2.4 Respuesta bioquímica	11
2.2.5 Respuesta anatómico-funcional	12
2.3 Evaluación experimental del estrés en plantas	14
2.3.1 Inducción experimental del estrés hídrico y salino	14
2.3.2 Indicadores para la evaluación de la respuesta vegetal al estrés	16
2.4. Bioinoculantes en la agricultura	18
2.4.1 Definición e importancia	18
2.4.2 Mecanismos de acción de microorganismos promotores de crecimiento (PGPB)	20
2.4.3 Bioinoculantes multicepa y sinergia microbiana	23
2.5 Actinobacterias	23
2.5.1 Diversidad de Actinobacterias	24
2.5.2 Actividad promotora de crecimiento y tolerancia a estrés abiótico en actinobacterias	25
2.5.3 Actinobacterias de ambientes extremos	26
2.6 Cuatro Ciénegas, Coahuila.	26
2.6.1 Características ecológicas del ecosistema	26

2.6.2 Importancia biotecnológica y bioprospección	26
3. JUSTIFICACIÓN.....	27
4. HIPÓTESIS	28
5. OBJETIVO DEL TRABAJO	29
5.1 Objetivo general	29
5.2 Objetivos específicos.....	29
6. MATERIAL Y METODOS	30
6.1 Material biológico	30
6.1.1 Selección de cepas	30
6.2 Evaluación de actividad antagónica entre aislados	30
6.2.1 Ensayo de confrontación antagónica en placa	30
6.3 Formulación del consorcio de actinobacterias	33
6.4 Obtención de material vegetal.....	33
6.5 Germinación de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry	33
6.6 Estandarización de las condiciones experimentales de estrés hídrico en plantas.....	34
6.6.1 Ensayo <i>in vivo</i> de estrés hídrico.....	35
6.7 Estandarización de las condiciones experimentales de estrés salino en plantas	36
6.7.1 Ensayo <i>in vivo</i> de estrés salino.....	37
6.8 Medición de variables fisiológicas.....	38
6.8.1 Crecimiento y biomasa	38
6.8.2 Contenido relativo de agua (CRA)	39
6.8.3 Extracción y cuantificación de clorofila	39
6.9 Medición de variables bioquímicas.....	40
6.9.1 Extracción y cuantificación de prolina	40
6.10 Medición de variables anatómicas- funcionales.....	41
6.10.1 Apertura estomática	41
6.10.2 Modificaciones en la anatomía vascular del tallo	42
6.11 Identificación molecular y análisis filogenético del aislado 198.....	42
6.11.1 Extracción de ADN genómico	42
6.11.2 Secuenciación.....	43
6.11.3 Ensamble	43

6.11.4 Análisis filogenético.....	44
6.12 Análisis estadístico	44
7. RESULTADOS.....	45
7.1 Ensayo de confrontación antagónica en placa.....	45
7.2 Ensayo <i>in vivo</i> de estrés hídrico	47
7.3 Ensayo <i>in vivo</i> de estrés salino	51
7.4 Cuantificación de clorofila	54
7.5 Cuantificación de prolina.	57
7.6 Evaluación de parámetros estomáticos	60
7.7 Análisis de vasos de xilema.....	63
7.8 Identificación molecular del aislado 198.	65
7.8.1 Extracción de ADN genómico y ensamble.	65
7.8.2 Análisis filogenético.....	67
8. DISCUSIÓN.....	69
8.1 Consorcios microbianos como estrategia frente al estrés abiótico.....	69
8.2 Compatibilidad y sinergia del consorcio de actinobacterias	71
8.3 Consorcio de actinobacterias con actividad promotora de crecimiento vegetal	71
8.4 Modulación de pigmentos fotosintéticos y respuesta osmótica bajo estrés abiótico	73
8.5 Adaptaciones anatómico-funcionales: estomas y tejidos de conducción	77
8.6 Identificación molecular y taxonómica del consorcio.....	78
9. CONCLUSIONES	82
10. PERSPECTIVAS.....	83
11. BIBLIOGRAFÍA.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Indicadores de producción, importancia y exportación del tomate en México.	6
Tabla 2. Producción de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) por entidad federativa ciclo otoño-invierno 2023 y 2024.....	7
Tabla 3. Indicadores de respuesta al estrés abiótico.....	17
Tabla 4. Clasificación de bioinsumos agrícolas por función y principio activo.....	19
Tabla 5. Mecanismos directos e indirectos de actinobacterias como promotoras del crecimiento vegetal.	25
Tabla 6. Diseño experimental del ensayo de confrontación antagónica entre aislados de actinobacterias.	32
Tabla 7. Diseño experimental del ensayo <i>in vivo</i> de estrés hídrico.....	36
Tabla 8. Diseño experimental del ensayo <i>in vivo</i> de estrés salino.....	38
Tabla 9. Esquema de aplicación progresiva del estrés salino.....	38
Tabla 10. Interacción entre aislados de actinobacterias en ensayo de confrontación.....	46
Tabla 11. Información general del ensamblaje del genoma del aislado 198.	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto del estrés abiótico en plantas	9
Figura 2. Respuesta de las plantas a la sequía y salinidad..	10
Figura 3. Señalización de estrés abiótico.	11
Figura 4. Vía metabólica de la L-prolina a través del glutamato.	12
Figura 5. Apertura y cierre de estomas regulado por déficit hídrico.....	13
Figura 6. Plantas de <i>Arabidopsis thaliana</i> sometidas a riego frecuente y con baja disponibilidad de agua.	15
Figura 7. Plantas <i>in vitro</i> de diferentes cultivares de <i>Musa spp.</i> No sometidas a estrés (a) y sometidas a estrés hídrico (b) inducido con PEG-600 a los 30 días de cultivo.....	15
Figura 8. Interacción planta-microorganismo mediada por bioestimulantes.	19
Figura 9. Mecanismos directos e indirectos de promoción del crecimiento vegetal y capacidades de las PGPB para facilitar la activación de estos mecanismos en la planta.....	21
Figura 10. Micrografías de raíces de tomate y banano inoculadas con <i>B. subtilis</i> EA-CB0575, bacteria promotora de crecimiento vegetal, 5 días post inoculación.....	22
Figura 11. Control de crecimiento individual de los aislados de actinobacterias en medio ISP2... ..	45
Figura 12. Prueba de confrontación en placa.	46
Figura 13. Evolución fenotípica de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) sometidas a estrés hídrico durante 1, 5 y 10 días.	48
Figura 14. Recuperación fenotípica de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) después de siete días de rehidratación tras la aplicación de estrés hídrico	49
Figura 15. Desarrollo del sistema radicular en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) bajo estrés hídrico.	49
Figura 16. Efecto del bioinoculante multicepa sobre variables fisiológicas de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) bajo estrés hídrico.....	50
Figura 17. Evolución fenotípica de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) sometidas a estrés salino durante 1, 5 y 10 días.	52
Figura 18. Desarrollo del sistema radicular en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) bajo estrés salino.....	52

Figura 19. Efecto del bioinoculante multicepa sobre variables fisiológicas de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) bajo estrés salino.	53
Figura 20. Disposición de tratamientos en microplaca de 96 pozos para cuantificación de clorofila en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico y salino.	55
Figura 21. Efecto del bioinoculante multicepa sobre el contenido de clorofila a, b y total en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) sometidas a estrés hídrico y salino.	56
Figura 22. Curva de calibración para la cuantificación de L-prolina.....	58
Figura 23. Disposición de tratamientos en microplaca de 96 pozos para cuantificación de prolina en raíz en plantas de tomate sometidas a estrés salino..	59
Figura 24. Contenido de prolina (µg/g) en tejido radicular fresco de plántulas de <i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry inoculadas con un consorcio multicepa bajo condiciones de estrés salino..	59
Figura 25. Micrografías de estomas en hojas de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) sometidas a estrés hídrico.	60
Figura 26. Micrografías de estomas en hojas de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) sometidas a estrés salino.	61
Figura 27. Parámetros estomáticos en plántulas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) bajo condiciones de estrés hídrico, con y sin inoculación del consorcio bacteriano.	62
Figura 28. Parámetros estomáticos en plántulas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry) sometidas a estrés salino, con y sin inoculación del consorcio bacteriano.	62
Figura 29. Corte transversal de tallo en plántulas de <i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry sometidas a estrés hídrico.....	64
Figura 30. Corte transversal de tallo en plántulas de <i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry sometidas a estrés salino.	64
Figura 31. Parámetros del tejido vascular en plántulas de <i>Solanum lycopersicum</i> var. Cherry bajo condiciones de estrés hídrico y salino, con y sin inoculación del consorcio bacteriano.....	65
Figura 32. Electroforesis en gel de agarosa al 0.8% en TBE 1X del ADN genómico de la actinobacteria <i>Kocuria sp.</i>	66
Figura 33. Árbol filogenético basado en el gen 16S ARNr y en el método de máxima verosimilitud (ML), que muestra la posición del aislado 198 dentro del género <i>Kocuria</i>	67

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ABA: Ácido abscísico

ACC: Enzima desanimasa

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AIA: Ácido indolacético

ANI: Identidad promedio de nucleótidos

ANOVA: Análisis de varianza

APX: Ascorbato peroxidasa

β: Beta

BIO: Bioinoculante

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

°C: Grados centígrados

CAT: Catalasa

CCC: Cuatro Ciénegas, Coahuila

CRA: Contenido Relativo de Agua

CO₂: Dióxido de carbono

CDS: Secuencias codificantes

C₆H₈O₇: Ácido cítrico

C₈H₅NO₂: Isatina

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EH: Estrés hídrico

ES: Estrés salino

esp/ml: Esporas por mililitro

Et: Etanol

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FAOSTAT: Base de datos estadísticos de la FAO

GB: Glicina betaína

GC: Guanina - Citocina

h: Hora

ISP2: International *Streptomyces* Project-2

LB: Luria-Bertani

mcg: Microgramo

mm: Milímetro

ml: Mililitro

mM: Milimolar

min: Minuto

MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis

MLSA: Análisis de secuencias multilocus

MSM: Monitor de Sequía en México

MUSCLE: Multiple Use Sequence Comparison by Log Expectation

NaCl: Cloruro de sodio

Na₃C₆H₅O₇: Citrato de sodio

NCBI: Centro Nacional para la Información Biotecnológica

nm: Nanómetros

ONU: Organización de las Naciones Unidas

pb: Pares de bases

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

PEG: Polietilenglicol

PF: Peso fresco

PGPB: Plant Growth Promoting Bacteria

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

Pro: Prolina

PS: Peso seco

PT: Peso de turgencia

P5CS: Pirrolina-5-carboxilato synthase

QUAST: Quality Assessment Tool for Genome Assemblies

Rubisco: ribulosa- 1,5- bisfosfato carboxilasa/oxigenasa

rRNA: ARN ribosómico

ROS: Especies Reactivas de Oxígeno

rpm: Revoluciones por minuto

SDS: Dodecil Sulfato de Sodio

SFM: Soy Flour Mannitol

SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera

SOD: Superóxido dismutasa

sp: Especie

TBE: Tris-Borato-EDTA

tRNA: ARN de transferencia

UFC/ml: Unidades Formadoras de Colonia por mililitro

UV: Luz UV

var: Variedad

µg: Microgramo

µl: Microlitro

≈: Aproximadamente igual a

®: Marca registrada

RESUMEN

La agricultura enfrenta graves desafíos debido a condiciones ambientales adversas como la escasez de agua y la salinidad del suelo, factores que limitan la productividad y generan pérdidas significativas a nivel mundial. En México, estos problemas afectan a cultivos de gran relevancia económica como el tomate, lo que ha impulsado la búsqueda de alternativas sostenibles, entre ellas los formulados biológicos integrados por microorganismos promotores de crecimiento vegetal. Las actinobacterias, especialmente aquellas de ambientes extremos como Cuatro Ciénegas, Coahuila (CCC), representan un recurso de gran potencial por su capacidad de producir compuestos bioactivos y favorecer la adaptación de las plantas a condiciones adversas.

En el presente estudio se evaluó un formulado multicepa conformado por tres aislados de actinobacterias de CCC (670, 518 y 198), cuya sinergia se confirmó mediante un ensayo de confrontación. El consorcio fue aplicado en tomate var. Cherry, bajo ensayos *in vivo* de estrés hídrico y estrés salino. Los resultados mostraron un efecto promotor de crecimiento significativo, evidenciado por un aumento en biomasa fresca y seca, aumento del porcentaje de Contenido Relativo de Agua (CRA), así como en modificaciones de la arquitectura radicular, particularmente en el incremento del número de raíces secundarias, el cual fue tres veces mayor en comparación con las plantas no inoculadas.

A nivel fisiológico, las plantas inoculadas presentaron mayor tasa fotosintética, asociada a un incremento en la producción de clorofila total, lo que sugiere una mejora en el rendimiento metabólico bajo estrés. El análisis bioquímico reveló que el consorcio actúa como modulador del estrés salino al mantener niveles bajos de prolina en raíces, lo que indica un posible efecto amortiguador frente a la toxicidad por salinidad. Por otro lado, el análisis anatómico-funcional mostró que las plantas tratadas conservaron una dinámica estomática adecuada, manteniendo estomas abiertos incluso bajo estrés, así como una arquitectura celular más uniforme en los vasos de xilema, evidenciando una mejor adaptación a la sequía y a la salinidad. En conjunto, los resultados demuestran el potencial biotecnológico de las actinobacterias de CCC y respaldan el uso de consorcios microbianos como una alternativa viable para mejorar la tolerancia de los cultivos frente a las crecientes problemáticas ambientales que afectan a la agricultura moderna.

ABSTRACT

Agriculture faces serious challenges due to adverse environmental conditions such as drought and soil salinity, which severely limit productivity and contribute to substantial crop losses worldwide. In Mexico, these factors affect economically important crops such as tomato. This situation has driven the search for sustainable alternatives, including biological formulations composed of plant growth-promoting microorganisms.

Actinobacteria, particularly those isolated from extreme environments such as Cuatro Ciénegas, Coahuila (CCC), constitute a valuable resource because of their capacity to produce bioactive compounds and facilitate plant adaptation to abiotic stress.

This study evaluated a multistrain formulation comprising three actinobacterial isolates from CCC (670, 518, 198), with their synergistic interaction confirmed through a plate confrontation assay. The consortium was applied to Cherry tomato plants exposed *to in vivo* drought and salinity stress assays. The results indicated a pronounced growth-promoting effect, as shown by significant increases in fresh and dry biomass, elevated Relative Water Content (RWC), and notable modifications in root architecture, particularly a threefold increase in the number of secondary roots, compared to non-inoculated plants.

At the physiological level, inoculated plants exhibited an enhanced photosynthetic rate associated with increased total chlorophyll content, suggesting improved metabolic performance under stress conditions. Biochemical analyses revealed that the consortium modulated the salinity response by maintaining low proline levels in roots, indicating a potential buffering effect against salt-induced toxicity. Additionally, anatomical evaluations showed that treated plants preserved adequate stomatal function, maintaining widely open stomata even under adverse conditions, as well as a more uniform cellular architecture in xylem vessels, both of which are indicative of improved adaptation to drought and salinity.

Overall, these findings highlight the biotechnological potential of CCC-derived actinobacteria and support the use of microbial consortia as a viable strategy to enhance crop tolerance to the increasing environmental challenges faced by modern agriculture.

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la agricultura ha dependido del uso intensivo de fertilizantes y pesticidas para aumentar la productividad. Sin embargo, el uso prolongado de estos productos ha tenido un impacto negativo en el área agrícola, degradando la calidad del suelo, contaminando las fuentes de agua y afectando la salud de los cultivos. Esto ha impulsado la búsqueda de alternativas sostenibles que ayuden a mitigar los efectos de los productos químicos y mejorar la salud de los ecosistemas agrícolas (Chávez *et al.* 2020).

Uno de los principales desafíos para la agricultura sostenible es el deterioro de suelos debido a la sequía y los altos niveles de sal. Se estima que el 20% de los suelos agrícolas del mundo se encuentran afectados por la salinidad, cifra que podría aumentar a 73% para el año 2050 (FAO 2024). Además, alrededor del 45% de los suelos ha experimentado algún grado de sequía, limitando la productividad y resultando en pérdidas económicas significativas (ONU 2024; Kumar *et al.* 2020). En México, cerca del 70% del territorio experimentó sequía para finales del 2024, del cual cerca del 40% se encontraba bajo sequía severa, extrema o excepcional (MSM 2024). Por otra parte, la salinidad afectó principalmente al norte y noroeste del país debido al riego intensivo y características edáficas que favorecen la acumulación de sales en el suelo, afectando la seguridad alimentaria y la economía de los productores (Pacheco *et al.* 2024).

Solanum lycopersicum es el segundo producto de hortaliza más importante del mundo, y es un cultivo altamente susceptible a condiciones de estrés abiótico. La sal en específico es un factor determinante que reduce el rendimiento del tomate debido a sus efectos sobre la fisiología y bioquímica de la planta (Pérez *et al.* 2023). En respuesta a esta problemática, una alternativa es el uso de bioinoculantes, formulados a partir de microorganismos promotores de crecimiento vegetal o PGPB/PGPR por sus siglas en inglés, reconocidos por su capacidad de estimular el desarrollo de las plantas y de inducir mecanismos de tolerancia frente a condiciones adversas (Palacio *et al.* 2016), mediante el crecimiento del sistema radicular, aumentando la absorción de nutrientes y mejorando la calidad del suelo (Calvo *et al.* 2014).

Las actinobacterias en particular, destacan por su capacidad de producción de compuestos bioactivos con efectos promotores de crecimiento vegetal. Se trata de un grupo ampliamente distribuido en los suelos y que exhiben capacidad para mejorar la absorción de nutrientes. Además,

algunas especies de actinobacterias producen metabolitos que incrementan la resistencia de las plantas frente a condiciones de baja disponibilidad de agua y salinidad (Cotler *et al.* 2020). Particularmente aquellas provenientes de ecosistemas extremos como los suelos de Cuatro Ciénegas, Coahuila, han desarrollado adaptaciones particulares que les permiten sobrevivir en condiciones adversas, lo que las hace candidatas para mejorar la tolerancia de las plantas al estrés abiótico (Arocha 2018).

En este sentido, la evaluación de la respuesta de las plantas frente al estrés hídrico y salino en interacción con actinobacterias, permite comprender de manera integral los procesos fisiológicos, anatómicos y bioquímicos involucrados en la tolerancia al estrés abiótico. Este enfoque es clave para comprender cómo los microorganismos benéficos modulan funciones esenciales de la planta, como el balance hídrico, la eficiencia fotosintética y los mecanismos de protección celular, favoreciendo una mejor adaptación en ambientes limitantes.

Asimismo, el uso de consorcios microbianos representa una alternativa prometedora frente al uso de cepas individuales, puesto que integra múltiples mecanismos de acción que mejoran la estabilidad y favorecen la interacción planta-microorganismo. La combinación de diferentes aislados de actinobacterias puede optimizar procesos como la disponibilidad de nutrientes, la producción de metabolitos bioactivos y la inducción de respuestas de tolerancia, que derivan en un mejor desempeño vegetal bajo condiciones de estrés. De esta manera, la identificación y el aprovechamiento de los consorcios contribuyen al desarrollo de bioinoculantes más eficientes, con aplicaciones directas en la agricultura y en la mitigación de los efectos del estrés abiótico sobre los cultivos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un consorcio multicepa de actinobacterias aisladas de CCC, sobre la tolerancia al estrés hídrico y salino en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry), mediante el análisis de parámetros fisiológicos, bioquímicos y anatómico-funcionales.

2. ANTECEDENTES

2.1 Importancia del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*)

Solanum lycopersicum var. Cherry es una variedad de tomate de tamaño pequeño que se caracteriza por su ciclo de crecimiento rápido y su capacidad para producir múltiples frutos en racimos compactos. Es una variedad atractiva tanto para cultivos comerciales como para huertos caseros. Su altura varía entre 1 y 2 metros, con un ciclo de vida relativamente corto que permite cosechas continuas durante varias semanas. Gracias a su sabor dulce, alto contenido de azúcares y perfil nutricional favorable, rico en vitaminas A, C y compuestos antioxidantes, el tomate Cherry es altamente valorado para el consumo fresco y para la industria de productos procesados.

A nivel nacional, el tomate es una de las hortalizas de mayor relevancia en términos de valor de producción, lo que resalta su importancia dentro del sector agrícola. Se trata de una planta herbácea con preferencia por suelos ricos en nutrientes y que presenta sensibilidad a factores abióticos adversos como la salinidad y la baja disponibilidad de agua. Su temperatura óptima de crecimiento oscila entre los 20 y 25 °C; sin embargo, su producción se ha optimizado mediante el uso de invernaderos y tecnologías de cultivo controlado, lo que permite su establecimiento bajo diversas condiciones climáticas. Asimismo, la variedad Cherry presenta buena adaptabilidad a distintos sistemas de cultivo, incluyendo suelo e hidroponía, así como tolerancia a enfermedades comunes, lo que la hace adecuada tanto para la producción comercial como para estudios experimentales (FAOSTAT 2022).

2.1.1 Importancia económica en México

Solanum lycopersicum, comúnmente conocido como tomate, es una de las hortalizas de mayor relevancia en la agricultura global y nacional. A nivel mundial, China es el principal productor, con una producción anual de entre 60 y 70 millones de toneladas. Esto representa alrededor del 35 al 40% de la producción global. En este contexto, México es uno de los diez principales productores de tomate en el mundo, ocupando generalmente el séptimo u octavo lugar según la fuente consultada (FAOSTAT 2024).

En cuanto al comercio internacional, México es el país que más exportó tomate fresco para el cierre del 2024. El destino principal de estas exportaciones es Estados Unidos, que recibe más del 90% del total exportado, seguido por Canadá y Japón que también importan tomate de México, aunque en menor cantidad (SADER 2024). La exportación a Estados Unidos muestra lo importante que es

este producto para la agricultura mexicana. En 2024, México produjo más de 3 millones de toneladas de tomate y exportó más de 973 mil toneladas. Esto hace que el tomate sea la hortaliza más exportada y una de las principales fuentes de ingresos del sector agrícola mexicano (SIAP 2024) (Tabla 1).

Dentro del territorio nacional, la producción se concentra principalmente en estados como Sinaloa (con el 48.9% de la producción nacional), Sonora (10.6 %), Baja California Sur (7.2%), Michoacán (4.4%) y San Luis Potosí (4.2%), (Tabla 2) (SADER 2025; SIAP 2024; Lozano 2022). En particular, Sinaloa destaca como el principal estado productor, no solo por contribución en volumen, sino también por su impacto económico, ya que, para el cierre del 2024, el valor de la producción de tomate en esta entidad representó aproximadamente 7,988 millones de pesos, reflejando la relevancia del cultivo como fuente de ingreso para los productores agrícolas (SADER 2025).

Tabla 1. Indicadores de producción, importancia y exportación del tomate en México, modificada a partir de datos del SIAP (2024).

Producción 2024				Semáforo
Estimada	Otoño-invierno Mayo	Importaciones	Exportaciones	
3,608,200 toneladas	1,213,335 toneladas	NS toneladas	973,325 toneladas	Verde

Tabla 2. Producción de tomate (*Solanum lycopersicum*) por entidad federativa ciclo otoño-invierno 2023 y 2024.

Las entidades federativas están ordenadas de mayor a menor por la producción obtenida en el ciclo 2024 (SIAP 2024).

Entidad Federativa	2023	2024	Variación		Part. % 2024
			Absoluta	%	
Total	1,282,002	1,213,335	-68,667	-5.4	100.0
Sinaloa	692,457	593,022	-99,435	-14.4	48.9
Sonora	127,093	128,524	1,431	1.1	10.6
Baja California Sur	73,491	87,942	14,451	19.7	7.2
Michoacán	36,545	52,834	16,289	44.6	4.4
San Luis Potosí	18,205	51,270	33,066	181.6	4.2
Morelos	38,806	39,378	572	1.5	3.2
Guanajuato	30,721	38,040	7,319	23.8	3.1
Chiapas	35,710	35,707	-4	0.0	2.9
Oaxaca	39,386	33,188	-6,198	-15.7	2.7
Querétaro	40,744	26,282	-14,462	-35.5	2.2
Veracruz	21,956	21,449	-507	-2.3	1.8
Jalisco	26,838	20,170	-6,668	-24.8	1.7
Colima	17,440	17,291	-148	-0.9	1.4
México	23,561	17,147	-6,414	-27.2	1.4
Guerrero	13,228	13,181	-47	-0.4	1.1
Campeche	10,688	10,386	-302	-2.8	0.9
Nayarit	7,761	9,397	1,636	21.1	0.8
Zacatecas	12,788	5,035	-7,753	-60.6	0.4
Tamaulipas	4,886	4,983	97	2.0	0.4
Hidalgo	4,340	3,701	-639	-14.7	0.3
Puebla	2,011	2,052	41	2.0	0.2
Yucatán	913	857	-56	-6.2	0.1
Tabasco	662	641	-21	-3.2	0.1
Aguascalientes	551	530	-21	-3.7	0.0
Quintana Roo	1,221	328	-894	-73.2	0.0

Los valores están expresados en toneladas totales (ton), la suma de los parciales puede no coincidir con el total por redondeo de cifras.

Part. %: porcentaje de producción que aporta cada entidad al total obtenido a nivel nacional.

Entre los retos existentes para la producción de tomate en México la escasez de agua y el aumento de la salinidad en ciertos suelos agrícolas, factores que afectan directamente el rendimiento y la calidad del fruto. En respuesta a estas limitantes, en los últimos años se ha promovido la implementación de estrategias biotecnológicas, entre las que destacan el uso de microorganismos promotores de crecimiento vegetal (PGBR/PGPB), capaces de mejorar la tolerancia de las plantas a estrés hídrico y salino, así como favorecer su desarrollo y productividad (Lozano 2022).

2.1.2 *Solanum lycopersicum* var. Cherry como modelo de estudio

Solanum lycopersicum var. Cherry se ha consolidado como un recurso valioso en la investigación agrícola y biotecnológica, principalmente por su versatilidad en estudios relacionados con fisiología, genética y respuestas a condiciones de estrés. Análisis de transcriptómica y metabolómica han mostrado que el tomate Cherry constituye un modelo idóneo para estudiar procesos de maduración y acumulación de metabolitos secundarios asociados con sabor, calidad de fruto y mecanismos de respuesta frente a factores de estrés abiótico (Pan *et al.* 2023). Mas allá de sus características morfológicas, esta variedad es relevante en el ámbito científico porque permite un manejo experimental eficiente y ofrece un sistema adecuado para analizar interacciones planta-ambiente bajo condiciones controladas.

2.2 Estrés abiótico en sistemas agrícolas

Se define como estrés abiótico a cualquier condición ambiental adversa que limita el crecimiento, desarrollo y productividad de las plantas. Entre los principales factores se encuentran la sequía, la salinidad, las temperaturas extremas, la radiación, la toxicidad por metales pesados y la compactación del suelo. Estos factores representan una de las principales limitantes para la producción agrícola a nivel global, ya que afectan directamente procesos fisiológicos, bioquímicos y estructurales esenciales para el desarrollo vegetal, sin embargo, a pesar del conocimiento acumulado, aún existe una brecha en la comprensión de cómo los consorcios microbianos modulan simultáneamente múltiples niveles de respuesta en las plantas en respuesta al estrés hídrico y salino.

2.2.1 Impacto en la productividad

Se estima que más del 50% de la reducción del rendimiento de los cultivos a nivel mundial se atribuye al estrés abiótico (Munns y Tester 2008). A diferencia del estrés biótico, ocasionado por plagas y patógenos, el estrés abiótico resulta más complejo de mitigar debido a su naturaleza y estrecha relación con las condiciones ambientales. En los últimos años, su impacto se ha

intensificado como consecuencia del cambio climático, particularmente por el incremento en la frecuencia de sequías y la salinización de los suelos, lo que resalta la necesidad de desarrollar estrategias que incrementen la resiliencia de los cultivos (Fahad *et al.* 2017).

Las plantas, al ser organismos sésiles, se encuentran continuamente expuestas a variaciones ambientales que pueden presentarse de manera individual o combinada. En este sentido, la aparición simultánea de múltiples factores de estrés como la salinidad y la falta de agua ha demostrado generar efectos más severos que aquellos provocados por un solo tipo de estrés (Figura 1), intensificando el daño fisiológico y metabólico y comprometiendo significativamente la productividad de cultivos de importancia económica a nivel global.

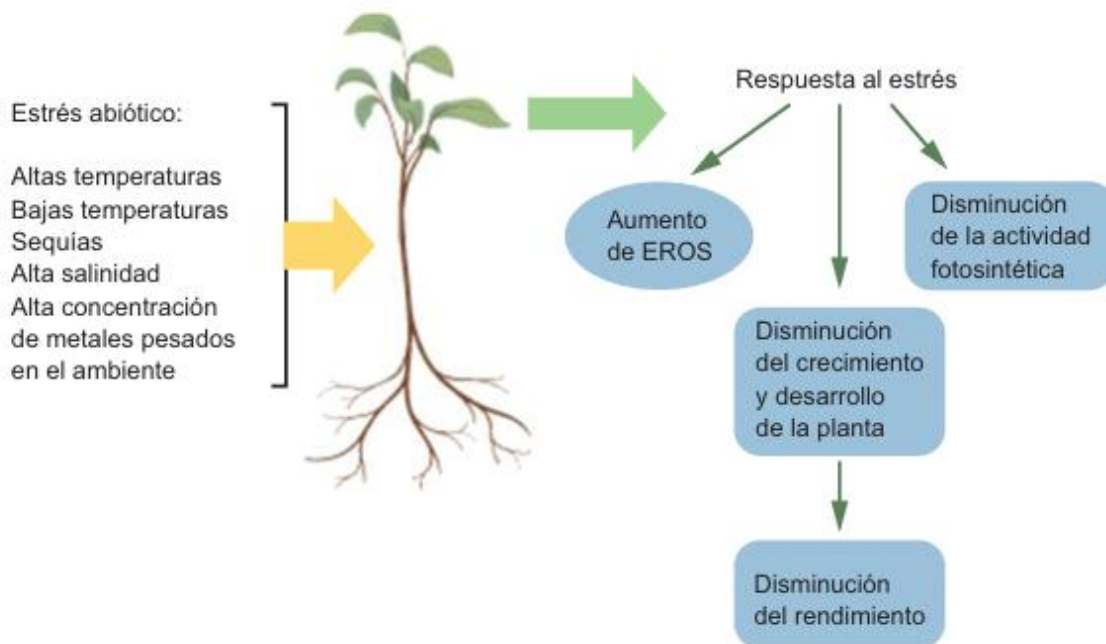


Figura 1. Efecto del estrés abiótico en plantas (Imagen modificada de Hernández *et al.* 2025).

2.2.2 Estrés hídrico y salino: características, interacción y efectos en las plantas

Las plantas han encontrado formas de adaptarse a los cambios de su entorno. Esto sucede porque han desarrollado mecanismos que funcionan a diferentes niveles, como a nivel celular y sistémico. Estos mecanismos ayudan a reducir los efectos negativos del estrés y a mantener el equilibrio interno de la planta (Figura 2). Así mismo, no trabajan de manera independiente, sino que forman parte de una red que se comunica entre sí. Cuando las plantas se enfrentan a condiciones difíciles como la salinidad, la falta de agua o temperaturas extremas, activan rutas comunes dentro de su sistema. Esto incluye la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), el movimiento de

iones como el calcio (Ca^{2+}), y la regulación de hormonas vegetales clave como el ácido abscísico (ABA) (Figura 3). Estas señales modifican la forma en que la planta expresa sus genes, lo que permite ajustes en su metabolismo, en la forma en que sus estomas se abren y cierran y en la activación de mecanismos de defensa a nivel celular y sistémico (Kopecká *et al.* 2023).

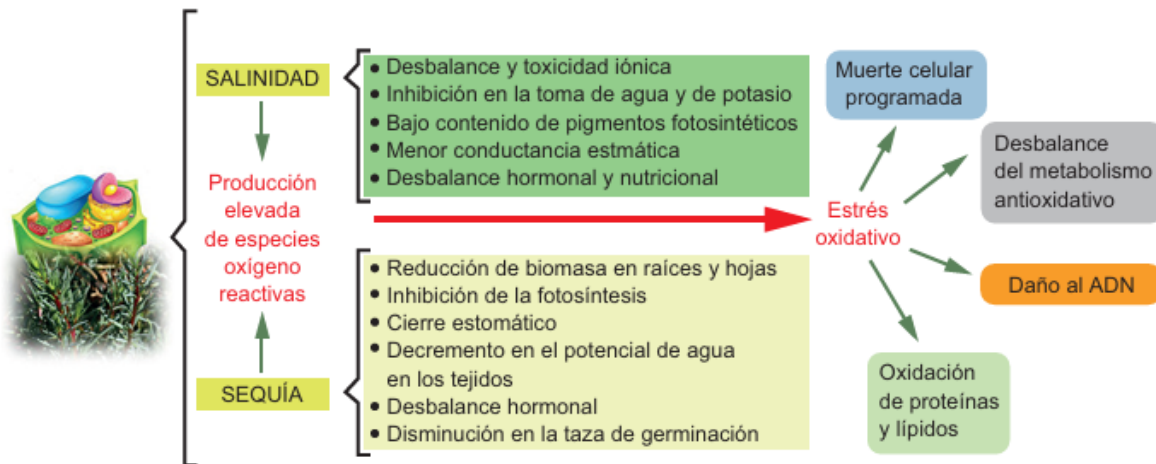


Figura 2. Respuesta de las plantas a la sequía y salinidad. (Imagen modificada de Hernández *et al.* 2025).

La interacción entre diferentes tipos de estrés puede aumentar sus efectos en las plantas. Esto se debe a que comparten rutas similares. Por lo tanto, cuando las plantas están expuestas a varios factores de estrés al mismo tiempo, se enfrentan a un desafío mayor. Esta complejidad en la respuesta de las plantas al estrés también da la oportunidad de intervenir de manera indirecta mediante el uso de microorganismos benéficos que ayuden a modular estas rutas y aumentar la tolerancia al estrés ambiental.

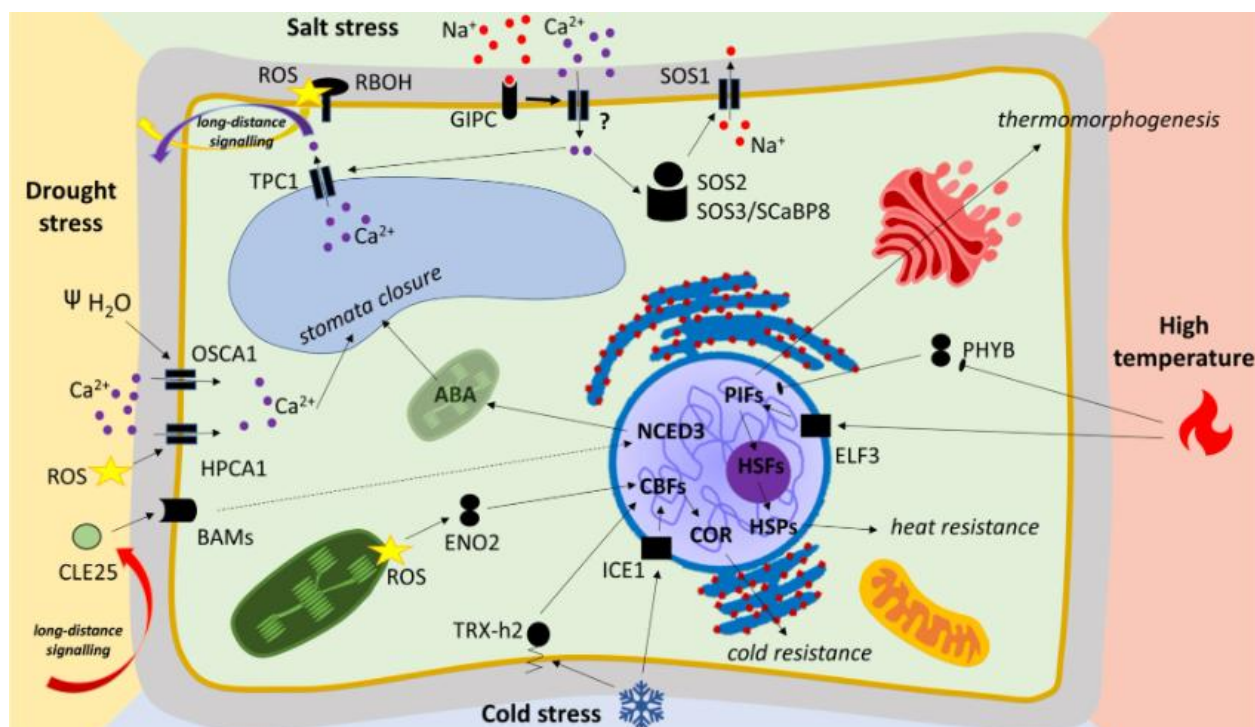


Figura 3. Señalización de estrés abiótico. (Imagen modificada de Kopecká *et al.* 2023).

2.2.3 Respuesta fisiológica

A nivel fisiológico, el estrés hídrico y salino impacta directamente procesos fundamentales asociados al crecimiento y el estado hídrico de la planta. Uno de los principales indicadores es la disminución en el contenido relativo de agua (CRA). Esto refleja la pérdida de capacidad de la planta para mantener la hidratación celular en condiciones limitantes. Además, se observa una reducción en la biomasa vegetal, tanto en la parte aérea como en la radicular, como consecuencia de la limitación de la expansión celular y la distribución de recursos hacia mecanismos de supervivencia (Ahluwalia *et al.* 2021).

De manera paralela, los pigmentos fotosintéticos, como clorofila a y b, se ven afectados por el estrés. Esto compromete la eficiencia fotosintética, y, por lo tanto, la producción de energía necesaria para el crecimiento y desarrollo vegetal (Buragohain *et al.* 2024).

2.2.4 Respuesta bioquímica

En respuesta al estrés osmótico generado por la sequía y la salinidad, las plantas activan mecanismos bioquímicos para mantener el equilibrio celular. Uno de estos mecanismos es la acumulación de osmoprotectores o solutos compatibles, como la prolina (Pro), la glicina betaína

(GB) y azúcares solubles. Estos contribuyen a mantener la turgencia celular, estabilizar proteínas y proteger estructuras subcelulares (Hosseinifard *et al.* 2022; Farooq *et al.* 2009).

En particular, la prolina destaca como uno de los osmoprotectores más estudiados en condiciones de salinidad. Su acumulación está regulada por la actividad de la enzima pirrolina-5-carboxilato sintetasa (P5CS) (Figura 4). Anteriormente, se ha demostrado que especies como *Triticum aestivum* presentan una rápida síntesis y acumulación de prolina como mecanismo de adaptación al estrés salino (Quiriban y Pereyra, 2017; Hernández *et al.* s.f.)

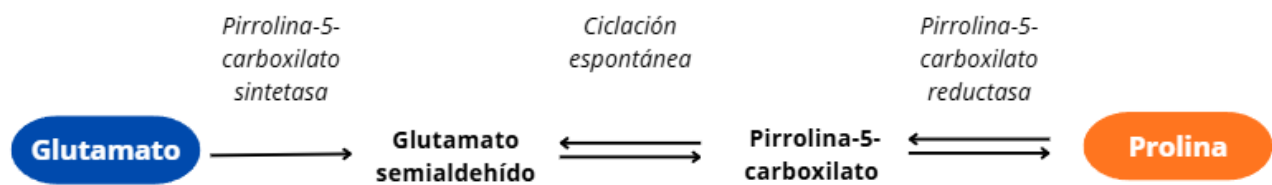


Figura 4. Vía metabólica de la L-prolina a través del glutamato. (Imagen modificada y traducida del inglés de Meena *et al.* 2019).

Además, frente al estrés salino, los efectos sobre la planta son aún más complejos, ya que combinan componentes osmóticos e iónicos. Por un lado, la acumulación excesiva de iones como sodio (Na^+) y cloro (Cl^-) en los tejidos, lo que provoca toxicidad y necrosis foliar, y por otro lado causa un desequilibrio en la absorción de nutrientes esenciales como potasio (K^+) y calcio (Ca^{2+}), lo que compromete funciones celulares críticas. Para mitigar estos efectos, las plantas han desarrollado mecanismos adaptativos como la compartimentalización del sodio en vacuolas, modificaciones en la pared celular y la activación de redes de regulación génica mediante factores de transcripción (Farooq *et al.* 2009).

2.2.5 Respuesta anatómico-funcional

En términos de estructura y función, las plantas tienen formas de adaptarse a situaciones donde no hay suficiente agua o donde hay exceso de sales en el suelo. Uno de los mecanismos más importantes que tienen las plantas es controlar la apertura y el cierre de pequeños poros llamados estomas. De forma que, cuando los estomas se cierran, la planta pierde menos agua por

transpiración, aunque también reduce el intercambio gaseoso y absorbe menos dióxido de carbono (CO_2), afectando la actividad fotosintética (Figura 5).

Además, las plantas pueden cambiar la forma en que se organizan los tejidos que llevan agua y nutrientes a través de ellas. Los vasos que transportan agua, llamados vasos de xilema pueden ser diferentes en términos de tamaño y organización para ayudar a la planta a mejorar su eficiencia en el uso del agua.

En conjunto, las respuestas anatómico-funcionales reflejan una adaptación integral que permite a las plantas enfrentar condiciones adversas, aunque frecuentemente vaya de la mano con afectaciones en el crecimiento y productividad.

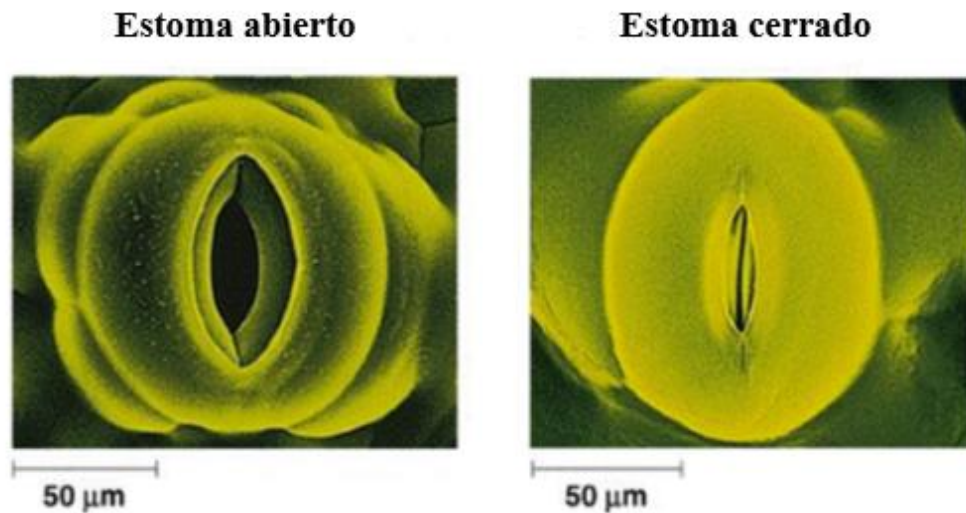


Figura 5. Apertura y cierre de estomas regulado por déficit hídrico. (Imagen modificada y traducida del inglés de SMEAP 2023)

2.3 Evaluación experimental del estrés en plantas

El estudio del estrés abiótico en plantas bajo condiciones controladas requiere el uso de estrategias experimentales que permitan reproducir de manera consistente las condiciones adversas presentes en campo, así como la selección de indicadores confiables que reflejen la respuesta vegetal a dichos estímulos. En este sentido, la evaluación experimental del estrés hídrico y salino se basa en dos componentes principales:

- La inducción controlada del estrés
- La medición de variables fisiológicas, bioquímicas y anatómico-funcionales

Vías que permiten cuantificar el grado de afectación y la capacidad de adaptación de las plantas.

2.3.1 Inducción experimental del estrés hídrico y salino

Para la simulación del estrés hídrico en condiciones experimentales, se han desarrollado diversos enfoques que permiten controlar la disponibilidad de agua de manera reproducible. Uno de los métodos más utilizados es la restricción del riego, en la cual se regula la cantidad y frecuencia del suministro hídrico hasta inducir condiciones de déficit en la planta (Figura 6). De igual forma, en estudios recientes se ha reportado el uso de agentes osmóticos como el polietilenglicol (PEG) que permite disminuir el potencial hídrico del medio sin alterar directamente el contenido de agua, generando un ambiente que simula condiciones de sequía (Figura 7) (Moreno *et al.* 2017; Verslues 2006).

En el estrés salino, este se induce comúnmente mediante la adición de sales, principalmente cloruro de sodio (NaCl), al sustrato o solución nutritiva, lo que genera tanto un efecto osmótico como iónico. Este enfoque permite evaluar la respuesta de las plantas frente a condiciones de alta salinidad, reproduciendo escenarios frecuentes en suelos agrícolas degradados. Ambos tipos de estrés pueden aplicarse de manera individual o combinada, lo cual resulta particularmente relevante debido a que, en condiciones naturales, las plantas suelen enfrentar múltiples factores de estrés de forma simultánea, lo que incrementa la complejidad de la respuesta fisiológica.

Riego frecuente



Baja disponibilidad de agua



Figura 6. Plantas de *Arabidopsis thaliana* sometidas a riego frecuente y con baja disponibilidad de agua (Imagen modificada de Chaves 2002).



Figura 7. Plantas *in vitro* de diferentes cultivares de *Musa spp.* No sometidas a estrés (a) y sometidas a estrés hídrico (b) inducido con PEG-600 a los 30 días de cultivo. Pel, Mz y Gn: cultivares de plátano “Pelipita”, “Manzano” y “Grande naine” respectivamente (Moreno *et al.* 2017).

2.3.2 Indicadores para la evaluación de la respuesta vegetal al estrés

La evaluación de la respuesta de las plantas al estrés hídrico y salino se realiza mediante un conjunto de indicadores que permiten analizar de manera integral los efectos a nivel fisiológico, bioquímico y anatómico-funcional (Tabla 3).

A nivel fisiológico, variables como la biomasa vegetal (peso fresco y seco), el desarrollo del sistema radicular y el contenido relativo de agua (CRA) son ampliamente utilizadas para estimar el impacto del estrés sobre el crecimiento y el estado hídrico de la planta. Asimismo, el contenido de pigmentos fotosintéticos, particularmente clorofila a, b y total, constituye un indicador clave de la eficiencia fotosintética y del grado de afectación del aparato fotosintético bajo condiciones adversas.

Cuando las plantas se enfrentan a condiciones de estrés, como la salinidad, su sistema reacciona de diferentes maneras. Un de estas formas es acumulando osmoprotectores, que son sustancias que ayudan a la planta a protegerse frente al exceso de sales. En este sentido, la prolina es un ejemplo de osmoprotector importante, ya que la cantidad de prolina en una planta puede indicar cómo está respondiendo al estrés.

Además de los osmoprotectores, la cuantificación de iones como el sodio (Na^+), potasio (K^+) y cloruro (Cl^-), así como la relación Na^+/K^+ , juegan un papel importante. La relación de estos iones, especialmente entre el sodio y el potasio, permite evaluar el grado de estrés de la planta y su capacidad para mantener un equilibrio interno bajo condiciones de estrés (Zhu 2001).

Por otro lado, hay indicadores que permiten ver cómo la planta se adapta estructuralmente al estrés. Un ejemplo claro es la apertura y cierre de los estomas, que son pequeños poros en las hojas que regulan el intercambio de gases, así como la evaluación de la estructura de los vasos que transportan agua y nutrientes dentro de la planta, como el xilema. Estas características reflejan la capacidad de la planta para regular la pérdida de agua y optimizar el transporte hídrico bajo condiciones limitantes.

La evaluación de estos indicadores permite una evaluación robusta de la respuesta vegetal al estrés abiótico, facilitando la identificación de mecanismos de tolerancia y la comparación entre tratamientos en estudios experimentales.

Tabla 3. Indicadores de respuesta al estrés abiótico. (Méndez y Vallejo, 2019)

Tipo de respuesta	Indicador	Evalúa	Relevancia en estrés
Fisiológica	Biomasa (peso fresco/seco)	Crecimiento vegetal	Reducción indica respuesta negativa al estrés
	CRA	Estado hídrico celular	Disminuye bajo sequía/salinidad
	Clorofila (a, b, total)	Actividad fotosintética	Disminuye por daño al aparato fotosintético
Bioquímica	Prolina	Ajuste osmótico	Aumenta bajo estrés
	Na ⁺ / K ⁺	Balance iónico	Aumenta concentración de sodio y disminuye el potasio en tejidos.
Anatómico-funcional	Apertura estomática	Regulación de transpiración	Se reduce bajo estrés hídrico
	Vasos de xilema	Transporte de agua	Disminuye densidad y diámetro de vasos. Aumenta lignificación e irregularidades del tejido vascular.

2.4. Bioinoculantes en la agricultura

2.4.1 Definición e importancia

Los bioinoculantes son formulaciones biológicas que contienen microorganismos benéficos, tales como bacterias, hongos y actinobacterias, capaces de promover el crecimiento mediante diversos mecanismos cuyo objetivo principal es estimular la vida de la planta mediante activación de sus diferentes procesos fisiológicos (Figura 8). Estos microorganismos pueden ser aplicados al suelo, a las semillas o directamente a la planta, favoreciendo su desarrollo, salud y productividad bajo distintas condiciones ambientales.

La diversidad de los bioinoculantes puede organizarse en categorías que facilitan su aplicación dentro de los sistemas agrícolas. Cada tipo de bioinoculante ejerce efectos específicos sobre la planta y el suelo, ya sea mediante la mejora en la disponibilidad de nutrientes, la mitigación de contaminantes o la protección frente a agentes patógenos. Esta clasificación permite visualizar de manera integral los distintos mecanismos mediante los cuales estos microorganismos contribuyen a la productividad y sostenibilidad de los cultivos. La Tabla 4 resume los principales tipos de bioinoculantes, sus características y funciones dentro del agroecosistema. (Bioinsumos 2023; Glick 2012).

En el sector agrícola, el uso de bioinoculantes se alinea con los principios de una agricultura sostenible, ya que contribuye a la reducción del uso de agentes químicos y pesticidas, mejorando la salud del suelo y promoviendo sistemas de producción más resilientes frente al cambio climático. Por lo tanto, su estudio e implementación representan una alternativa viable para incrementar la productividad agrícola y una estrategia para la conservación de los recursos naturales y la sostenibilidad a largo plazo de los sistemas agrícolas.

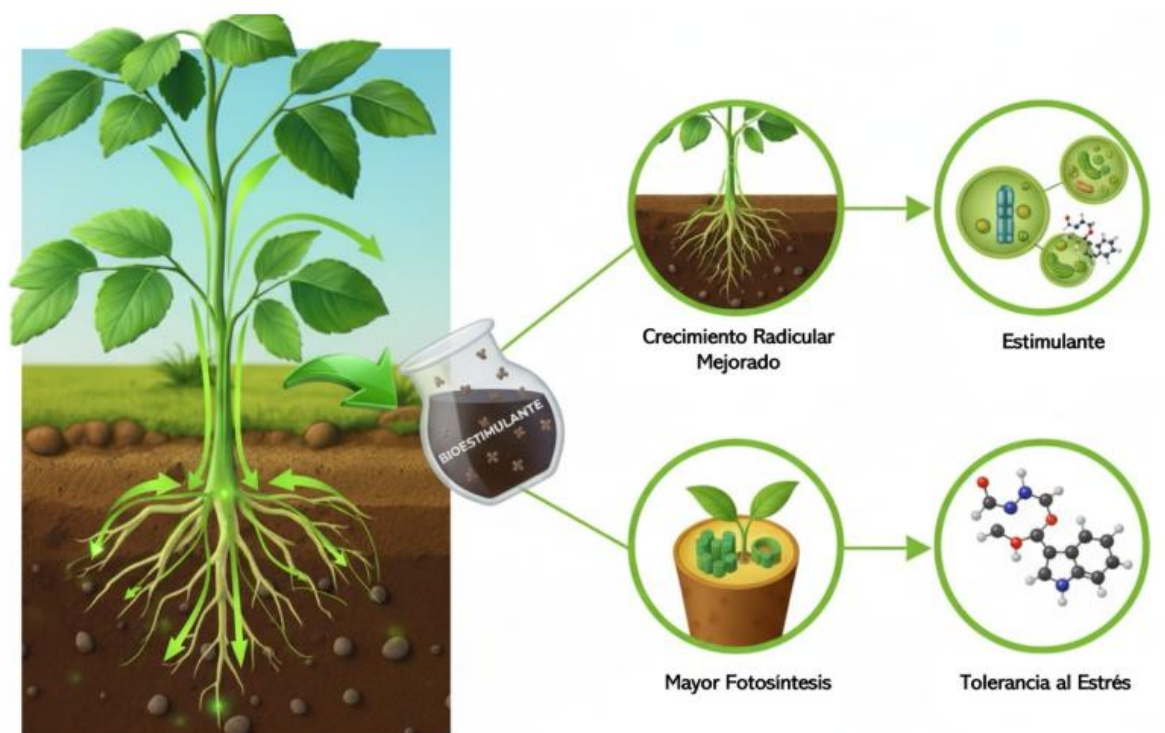


Figura 8. Interacción planta-microorganismo mediada por bioestimulantes. Efectos en el crecimiento radicular, fotosíntesis y tolerancia al estrés (Chaves 2002).

Tabla 4. Clasificación de bioinsumos agrícolas por función y principio activo. (Imagen modificada de Bioinsumos 2023).

Promoción del crecimiento y desarrollo vegetal			Control biológico de plagas		Restauración del suelo
Biofertilizantes	Bioestimulantes	Fertilizantes orgánicos	Bioplaguicidas	Control biológico de invertebrados	Biorremediadores
Hongos, bacterias y algas que contribuyen a la fijación del nitrógeno atmosférico o solubilizan nutrientes del suelo.	Extractos de algas, hidrolizados proteicos que mejoren la eficiencia en uso de nutrientes/tolerancia al estrés abiótico.	Vermicomposta	Biofungicida Bioinsecticida Bioherbicidas	Enemigos naturales	Biorrestaurador
		Derivado de compuestos orgánicos.	m.o vivos y compuestos derivados de estos.		Biotransformador

2.4.2 Mecanismos de acción de microorganismos promotores de crecimiento (PGPB)

Los microorganismos promotores de crecimiento vegetal (PGPB), constituyen un grupo funcional de bacterias asociadas a la rizosfera capaces de estimular el crecimiento y desarrollo de las plantas mediante diversos mecanismos fisiológicos, bioquímicos y moleculares. A diferencia de otros microorganismos benéficos, las PGPB se caracterizan por establecer interacciones directas con la planta hospedera, modulando procesos clave relacionados con la nutrición, crecimiento y respuesta al estrés (FAO 2024; Olanrewaju *et al.* 2017).

Los mecanismos de acción de las PGPB se clasifican en directos e indirectos, dependiendo de su efecto sobre la planta (Figura 9).

Los mecanismos directos son aquellos que favorecen el crecimiento vegetal mediante la mejora en la disponibilidad de nutrientes y la regulación del desarrollo. Entre los más relevantes se encuentra la fijación de nitrógeno, mediante la cual ciertas bacterias convierten el nitrógeno atmosférico en formas asimilables para la planta. De igual forma, la solubilización de fosfatos y la movilización de otros nutrientes esenciales contribuyen a mejorar la nutrición vegetal. Otro mecanismo importante es la producción de fitohormonas como auxinas, giberelinas y citoquininas, las cuales estimulan el crecimiento radicular, modifican la arquitectura de la raíz y favorecen una mayor absorción de agua y nutrientes (Glick 2012)

Los mecanismos indirectos están relacionados con la protección de la planta frente a condiciones adversas, tanto bióticas como abióticas. Entre estos destaca la producción de sideróforos y la síntesis de compuestos antimicrobianos. Adicionalmente, algunas PGPB son capaces de inducir resistencia sistémica en la planta, activando rutas de defensa que aumentan su tolerancia frente a patógenos y estrés ambiental (González Rodríguez *et al.* 2018).

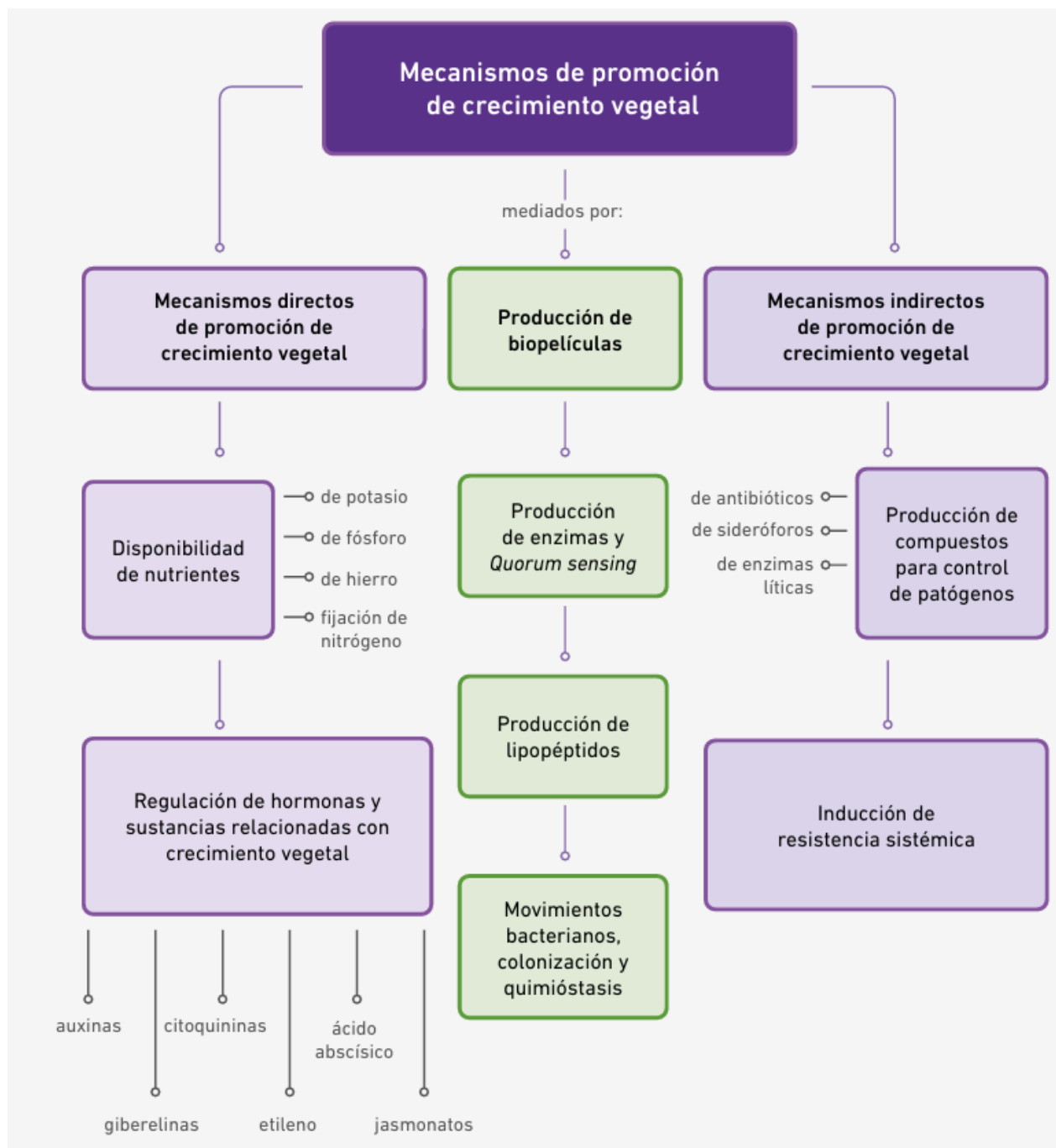


Figura 9. Mecanismos directos e indirectos de promoción del crecimiento vegetal y capacidades de las PGPB para facilitar la activación de estos mecanismos en la planta. (Imagen modificada de Posada *et al*, 2019).

Los PGPB poseen la capacidad de colonizar eficientemente los órganos vegetales, particularmente el sistema radicular, estableciendo interacciones estrechas con la rizósfera e incluso con tejidos internos de la planta. Esta colonización implica procesos de reconocimiento, adhesión y proliferación en la superficie radicular, frecuentemente asociados a la formación de biopelículas que favorecen su persistencia en el microambiente. A partir de este establecimiento, los microorganismos pueden ejercer sus efectos benéficos de manera directa, mediante la producción de fitohormonas, la solubilización de nutrientes y la modulación de respuestas a estímulos tanto bióticos como abióticos.

Anteriormente se ha reportado que el establecimiento de bacterias PGPB/PGPR ampliamente estudiadas como *Bacillus subtilis* en las raíces de *Solanum lycopersicum* y *Musa paradisiaca* constituye un paso clave en la activación de mecanismos bioquímicos y fisiológicos, incluyendo la inducción de respuestas de defensa y la mejora en la eficiencia del uso de recursos (Figura 10). Esto favorece una interacción planta-microorganismo estable y funcional, que contribuye significativamente al crecimiento y adaptación de la planta en diferentes condiciones ambientales (Posada 2025).

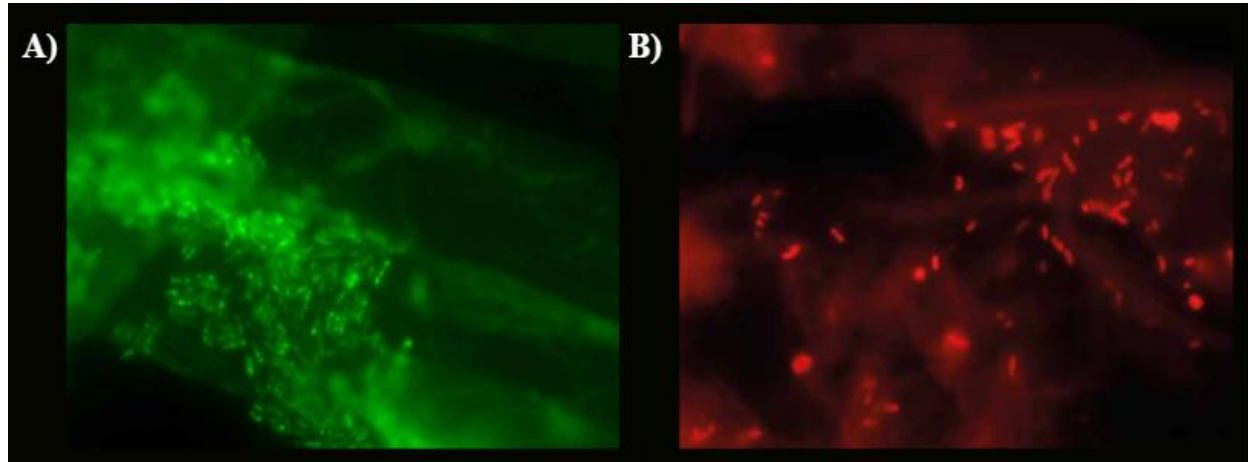


Figura 10. Micrografías de raíces de tomate y banano inoculadas con *B. subtilis* EA-CB0575, bacteria promotora de crecimiento vegetal, 5 días post inoculación. A) Técnica: CARD-FISH con sonda HRP-Bs575 marcada con Atto 488-NHS-tiramida (emisión verde), marcada con Atto 488-NHS-tiramida (emisión verde), marcada con tiramida CF 555-SE (emisión roja) (Imagen modificada de Posada 2025).

2.4.3 Bioinoculantes multicepa y sinergia microbiana

Los bioinoculantes multicepa están formulados con dos o más microorganismos compatibles. Esto les permite tener efectos más fuertes y complejos en comparación con los sistemas que solo tienen un tipo de microorganismo.

Estos consorcios microbianos tienen muchas funciones biológicas que pueden trabajar juntas o de manera complementaria, lo que hace que su impacto sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas sea mayor.

A diferencia de los inoculantes individuales, estos sistemas intentan replicar la complejidad de las comunidades microbianas naturales del suelo. En estas comunidades, muchas especies coexisten e interactúan de manera que se favorece la estabilidad del ecosistema.

La sinergia microbiana se refiere a cómo los microorganismos que forman el consorcio interactúan de manera positiva, logrando un efecto mayor de lo que se esperaría de cada uno por separado. Esto involucra procesos como la cooperación metabólica, el intercambio de compuestos bioactivos y la colonización de la rizósfera. Como resultado, se obtiene una mayor eficiencia en la captación de nutrientes y por tanto una respuesta más efectiva frente a condiciones de estrés (Solis 2025).

A su vez, la interacción entre microorganismos en el consorcio puede hacer que cada uno se especialice en algo diferente. Esto no solo incrementa la eficiencia en general del ecosistema, sino que también mejora la estabilidad y persistencia de los bioinoculantes en el suelo (Khan *et al.* 2022).

Sin embargo, para crear bioinoculantes multicepa, se debe considerar la compatibilidad entre los microorganismos, porque si hay actividad antagónica, su efectividad se reduce. Por ello, el diseño de consorcios microbianos se ha convertido en un área importante de investigación, orientada a seleccionar aislados que favorezcan la cooperación y minimicen la competencia.

2.5 Actinobacterias

Las actinobacterias constituyen un grupo diverso de microorganismos ampliamente distribuidos en los ecosistemas naturales. Se encuentran en su mayoría en suelos, representando entre el 20% - 60% de la población microbiana, también pueden habitar ambientes acuáticos, tanto de agua dulce como salada. En un inicio se clasificaron como hongos, pero su naturaleza procariota confirmó su pertenencia al grupo de las bacterias, particularmente dentro del orden Actinomycetales de la clase

Actinobacteria. Se trata de bacterias grampositivas en su mayoría, suelen ser aerobias, aunque existen de igual forma especies anaerobias y esporuladas. Entre sus principales características está el alto contenido de guanina y citosina (GC) en su ADN y la capacidad de formar filamentos ramificados (Cantero 2018). Las actinobacterias además exhiben una gran diversidad morfológica, presentando características comunes tanto a bacterias como a hongos. Son organismos heterótrofos, saprófitos y la mayoría de ellos mesófilos. Se les conoce como microorganismos de crecimiento lento que son incapaces de competir de forma eficiente por el carbono del suelo con bacterias u hongos que son de rápido crecimiento, sin embargo, desempeñan un papel esencial en la mineralización del carbono y del nitrógeno, así como en la descomposición de materia orgánica. Entre los principales géneros que se aíslan a partir del suelo son *Nocardia*, *Streptomyces* y *Micromonospora* que suelen presentarse como conidios o hifas vegetativas (Franco 2008)

Además de la capacidad promotora de crecimiento que exhiben las actinobacterias, también son colonizadores eficaces del sistema radicular de las plantas, y al formar esporas, pueden soportar un crecimiento en condiciones desfavorables y son más persistentes en suelos secos (Santos *et al.* 2017). También presentan características antagónicas y competitivas que les permiten colonizar la rizosfera con respecto a otros microorganismos del suelo (Bulgarelli *et al.* 2013). Todas estas características hacen a las actinobacterias un importante grupo de estudio en el área agrícola.

2.5.1 Diversidad de Actinobacterias

Las actinobacterias presentan diversos estilos de vida, incluyendo patógenos de plantas como algunas especies del género *Streptomyces*, patógenos de animales como *Mycobacterium spp.*, comensales de plantas, habitantes del suelo como la mayoría de los *Streptomyces*, así como simbioses fijadores de nitrógeno (Barka *et al.* 2016). Además, hay miembros de la clase Actinobacteria que se encuentran asociados con plantas que crecen en diferentes hábitats, así como en ambientes extremos (Goudjal *et al.* 2013).

Las actinobacterias de la rizósfera son predominantes en la naturaleza y tienen importancia económica para los humanos porque gran parte de los campos agrícolas y forestales dependen de sus contribuciones a los sistemas del suelo (Yadav *et al.* 2018). Este grupo de actinobacterias poseen propiedades fisiológicas y metabólicas como la producción de enzimas extracelulares y la formación de metabolitos secundarios. Berdy, 2003 reportó que más de 10,000 metabolitos

secundarios bioactivos conocidos son producidos por actinobacterias, lo que representa cerca del 45% de todos los metabolitos microbianos bioactivos descubiertos.

2.5.2 Actividad promotora de crecimiento y tolerancia a estrés abiótico en actinobacterias

Las actinobacterias representan uno de los grupos más relevantes dentro de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB), debido a su amplia diversidad metabólica y a su capacidad para establecer interacciones benéficas con las plantas. En términos de promoción de crecimiento, las actinobacterias pueden actuar a través de mecanismos directos como la producción de ácido indolacético (AIA), que estimula el desarrollo radicular y favorece la absorción de agua y nutrientes. Además, participan en la fijación de nitrógeno, incrementando la disponibilidad de nutrientes esenciales para la planta (Tabla 5) (Sayyed y Ilyas, 2024; Moreno *et al.* 2018).

Ante la falta de agua, las actinobacterias contribuyen a mejorar la eficiencia en el uso del agua y a reducir el daño oxidativo mediante activación de sistemas antioxidantes. Anteriormente se ha reportado que especies del género *Streptomyces*, especialmente aquellas aisladas de ambientes áridos, son capaces de mejorar el desarrollo de las plantas bajo déficit hídrico al modular su metabolismo (Narsing *et al.* 2022).

Por otro lado, bajo condiciones salinas, las actinobacterias ayudan a regular el balance de iones sodio y a la inducción de osmoprotectores como la prolina (Kushwaha *et al.* 2020; Orozco *et al.* 2018).

Tabla 5. Mecanismos directos e indirectos de actinobacterias como promotoras del crecimiento vegetal. (Moreno *et al.* 2018).

	Mecanismo	Impacto en la planta
Acción directa	Solubilización de fosfato	Mejora la nutrición fosfatada
	Fijación de nitrógeno	Mejora crecimiento vegetal
	Producción de fitohormonas	Estimulación radicular y biomasa
	Producción de sideróforos	Mejora del metabolismo
Acción indirecta	Resistencia sistémica	Resistencia a patógenos
	Producción de exopolisacáridos	Tolerancia a estrés abiótico

2.5.3 Actinobacterias de ambientes extremos

Las actinobacterias provenientes de ambientes con condiciones extremas, como desiertos, suelos hipersalinos o ambientes oligotróficos, son de particular interés debido a su capacidad para modular el crecimiento vegetal y conferir tolerancia frente a estrés abiótico. Estos microorganismos presentan adaptaciones fisiológicas y genómicas que les permiten sobrevivir y proliferar bajo condiciones de alta radiación UV, temperaturas extremas, salinidad elevada y disponibilidad limitada de nutrientes (Alsharif *et al.* 2020; Ananda *et al.* 2016;).

Por tanto, el estudio y aislamiento de actinobacterias de ecosistemas extremos no solo amplía el conocimiento de este grupo de microorganismos, sino que ofrece un potencial biotecnológico importante para acercarnos a una agricultura sostenible en regiones con estrés ambiental marcado.

2.6 Cuatro Ciénegas, Coahuila.

2.6.1 Características ecológicas del ecosistema

Cuatro Ciénegas, Coahuila (CCC), es una región única en el noreste de México, reconocida ampliamente por su valor ecológico y la amplia diversidad microbiana con la que cuenta. Se trata de un valle semiárido compuesto por numerosos cuerpos de agua como pozas, ríos y lagunas, de los cuales su mayoría son hipersalinos y presentan diferencias notables en temperatura, pH y química del agua, con gran cantidad de sales de calcio y magnesio, así como bajo contenido de fósforo y nitrógeno. CCC se encuentra en una ubicación con escasa precipitación anual de ≈ 150 mm. Además, es considerado una de las tres ecorregiones desérticas más importantes del mundo (Salinas *et al.* 2023; Souza *et al.* 2006).

2.6.2 Importancia biotecnológica y bioprospección

Gracias al aislamiento geográfico y las condiciones extremas en las que se encuentra esta zona, se han registrado más de 70 especies endémicas de flora y fauna, entre las que se encuentran peces, anfibios, reptiles, crustáceos, moluscos, insectos, y por supuesto bacterias. En los últimos años de estudio, en las distintas pozas de CCC se han identificado diversas comunidades bacterianas endémicas de la zona, mismos que han sido identificados por técnicas moleculares y que presentan elementos particulares en su genoma que les permiten prevalecer en condiciones de tan bajos nutrientes. Lo anterior destaca la importancia de los microorganismos endémicos de esta zona, particularmente las actinobacterias que han mostrado potencial biotecnológico debido a su capacidad de producir compuestos bioactivos útiles para la agricultura y la industria (Arocha 2018).

3. JUSTIFICACIÓN

Una parte significativa de los suelos agrícolas en México enfrenta problemas de calidad debido a condiciones abióticas adversas, como la escasez de agua y la salinidad, factores que limitan la productividad y representan un riesgo para la seguridad alimentaria del país. El uso prolongado de fertilizantes, pesticidas y otros agentes químicos han sido una práctica común en la búsqueda de contrarrestar estos efectos; sin embargo, su aplicación sostenida genera impactos negativos a largo plazo, incluyendo la degradación de los suelos y la pérdida de fertilidad. Ante dicho panorama, explorar alternativas que sean efectivas y sostenibles para mitigar los efectos del estrés hídrico y salino en los suelos son necesarias para la agricultura.

El uso de microorganismos promotores de crecimiento vegetal (PGPR/PGPB), particularmente el grupo de las actinobacterias constituye una estrategia biotecnológica prometedora para atender esta problemática. Estos microorganismos no solo contribuyen a mejorar la tolerancia de las plantas frente a condiciones adversas, sino que también actúan directamente sobre el crecimiento y desarrollo vegetal, incrementando la absorción de nutrientes y, en consecuencia, la calidad y productividad de los cultivos. Así mismo, la aplicación de formulados multicepa compuestos por este grupo de microorganismos podrían resultar más eficiente que el uso de cepas individuales, debido a la sinergia de sus mecanismos de acción y la mayor diversidad de metabolitos bioactivos que producen.

De esta forma, las actinobacterias y su gran diversidad de compuestos bioactivos, representan una alternativa de valor biotecnológico y de interés agrícola con potencial para aumentar la tolerancia de los cultivos de tomate a condiciones de estrés abiótico. Su identificación, caracterización y aplicación como bioinoculantes multicepa podrían contribuir a prácticas agrícolas más sostenibles, mejorando la productividad en suelos afectados por sequía y salinidad, y generando nuevo conocimiento sobre los mecanismos fisiológicos, bioquímicos, anatómicos y moleculares que subyacen a la promoción de crecimiento y la adaptación de las plantas a condiciones extremas.

4. HIPÓTESIS

Un bioinoculante compuesto por aislados de actinobacterias de Cuatro Ciénegas, Coahuila tiene capacidad de promoción de crecimiento e incremento de tolerancia a condiciones de estrés hídrico y salino en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry)

5. OBJETIVO DEL TRABAJO

5.1 Objetivo general

Elaborar un formulado de actinobacterias de Cuatro Ciénegas, Coahuila con características de tolerancia a estrés hídrico y salino y promoción de crecimiento vegetal en plantas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry.

5.2 Objetivos específicos

- Determinar la identidad molecular del aislado 198 mediante secuenciación genómica.
- Evaluar la actividad antagónica entre los aislados 198, 518 y 670 mediante el método de confrontación en placa.
- Evaluar el impacto del consorcio de actinobacterias sobre el crecimiento y biomasa en plantas de tomate var. Cherry sometidas a estrés hídrico y salino.
- Determinar el índice de contenido de clorofila en plantas de tomate var. Cherry inoculadas con el consorcio de actinobacterias y sometidas a estrés hídrico y salino.
- Evaluar el contenido de prolina en raíz como indicador bioquímico de respuesta a condiciones de estrés salino.
- Evaluar la respuesta anatómica y funcional de plantas de tomate var. Cherry inoculadas con actinobacterias frente a estrés hídrico y salino, mediante análisis de estomas y vasos de xilema en tallos.

6. MATERIAL Y METODOS

6.1 Material biológico

6.1.1 Selección de cepas

De acuerdo con resultados previos de tesis de licenciatura y posgrado, se seleccionaron los aislados 518, 670 y 198 para la elaboración de un bioinoculante multicepa. Estos aislados, provenientes de la colección del Laboratorio 9 del Instituto de Biotecnología, FCB-UANL, fueron previamente evaluados en ensayos preliminares que demostraron su capacidad para solubilizar fosfatos, producir sideróforos, fijar nitrógeno y promover el crecimiento vegetal en plántulas de *Arabidopsis thaliana* (Blanco 2022; Soto 2019;).

Los aislados fueron obtenidos de pozas del ecosistema de Cuatro Ciénegas, Coahuila, y han sido identificados mediante secuenciación Illumina, correspondiendo a *Streptomyces sp.* 518, *Streptomyces sp.* 670 y *Kocuria sp.* 198.

Para su uso experimental, los aislados se reactivaron a partir de cultivos preservados en glicerol al 25 % y almacenados a -20 °C, sembrándose por estría cruzada en medio ISP2 ([Por litro]: 5 g extracto de levadura, 10 g extracto de malta, 4 g dextrosa, 25 g sales marinas Kent, 20 g agar bacteriológico) adicionado con antibióticos (nistatina 100 µg/mL⁻¹ y ácido nalidíxico 50 µg/ mL⁻¹). Las placas se incubaron a 28 °C durante 7 días en incubadora marca Yamato IC600, hasta observar un crecimiento adecuado.

6.2 Evaluación de actividad antagónica entre aislados

Los aislados de actinobacterias 518, 670 y 198 fueron resembrados de forma individual en placas Petri con medio ISP2 sin antibióticos, mediante la técnica de estría cruzada. Las placas se incubaron a 28 °C durante 7 días o hasta observar una esporulación completa en el caso de los aislados del género *Streptomyces* y un crecimiento adecuado de las colonias del aislado del género *Kocuria*, con la finalidad de obtener biomasa para los ensayos de confrontación antagónica.

6.2.1 Ensayo de confrontación antagónica en placa

Para evaluar la actividad antagónica entre los aislados de actinobacterias 518, 670 y 198, se realizaron ensayos de confrontación en placa. Inicialmente, cada aislado fue cultivado de manera individual en placas Petri con medio SFM ([Por litro]: 20 g harina de soya, 25 g sales marinas Kent, 20 g agar bacteriológico), utilizando un hisopo estéril, de modo que la superficie del agar quedara

completamente tapizada. Las placas se incubaron a 28 °C durante 7 días y se emplearon para la obtención de los tapones de agar.

Para la preparación de los tapetes, se utilizaron placas Petri con medio ISP2, los aislados esporulados del género *Streptomyces* se inocularon utilizando 200 µL de una suspensión de esporas (biomasa + agua bidestilada estéril) ajustada a una dilución de 10^{-6} esporas por mL. En el caso del aislado no esporulado del género *Kocuria*, se empleó 200 µL de una suspensión bacteriana ajustada a una concentración de 10^{-6} UFC/mL.

La solución se distribuyó de forma uniforme sobre la superficie del agar con ayuda de un asa de metal estéril, con el objetivo de obtener un tapete bacteriano homogéneo. Una vez establecido el tapete, se colocaron cuatro tapones de agar de aproximadamente 1 cm de diámetro, correspondientes a los cultivos individuales de los demás aislados, distribuidos en puntos equidistantes sobre la superficie del tapete. Como controles, se utilizaron placas con medio ISP2 sin siembra en tapete, en las cuales se colocó un tapón de agar al centro que corresponde a cada aislado individual. Las placas se incubaron a 28 °C durante un periodo de 10 días.

Después del periodo de incubación, se evaluó la presencia o ausencia de halos de inhibición alrededor de la zona de contacto entre los tapones de agar y el tapete, así como el grado de esporulación de los aislados del género *Streptomyces* (518 y 670), clasificado de forma cualitativa como: *ausente, **buena o ***excelente, como indicador de actividad antagónica. Para el aislado *Kocuria* 198, se evaluó adicionalmente que el crecimiento fuera homogéneo, así como el color y la apariencia típica de las colonias previamente observadas en las resiembras. Todas las combinaciones de confrontación se realizaron por triplicado, y los resultados obtenidos se registraron y compararon con base en la presencia de inhibición y el grado de esporulación observado. Las combinaciones de confrontación evaluadas se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6. Diseño experimental del ensayo de confrontación antagónica entre aislados de actinobacterias.

Tapete	Tapón de agar	Tipo de interacción
ISP2	518	Control
	670	
	198	
518	670	Confrontación
	198	
670	518	Confrontación
	198	
198	518	Confrontación
	670	

6.3 Formulación del consorcio de actinobacterias

Los aislados 518, 670 y 198 se cultivaron de forma individual en placas Petri con medio ISP2 y se incubaron a 28°C durante 10 días, o hasta alcanzar un crecimiento y esporulación adecuados, según el tipo de aislado. Transcurrido este periodo, se prepararon suspensiones a partir de cada aislado, para ello, se rasparon tres placas Petri por cepa y el material obtenido se resuspendió en tubos cónicos estériles con 10 mL de agua bidestilada estéril.

En el caso de los aislados esporulados *Streptomyces* 518 y *Streptomyces* 670, se obtuvieron suspensiones de esporas, cuya concentración se determinó mediante conteo en cámara de Neubauer. Para el aislado no esporulado *Kocuria* 198, la concentración se ajustó en términos de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL⁻¹). Todas las suspensiones se ajustaron a una concentración final de 1x10⁻⁶ esp/mL o UFC/mL⁻⁶ en agua destilada estéril, según correspondiera.

Las suspensiones se mantuvieron en agitación constante a 200 rpm durante 24 h para favorecer una dispersión homogénea y posteriormente se conservaron en refrigeración a 4 °C hasta su uso. El consorcio se obtuvo a partir de la combinación de las suspensiones individuales en una proporción 1:1:1 y agua bidestilada estéril. Esta solución fue utilizada para la inoculación de plántulas en los ensayos *in vivo* de tolerancia a estrés hídrico y estrés salino en plantas de tomate var. Cherry.

6.4 Obtención de material vegetal

Se utilizaron semillas comerciales de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry), marca Hortaflor S267, las cuales se emplearon para la obtención de plántulas para los ensayos *in vivo* de estrés abiótico. Previo a su uso, las semillas fueron sometidas a un protocolo de desinfección que consistió en un lavado con etanol al 70% durante tres minutos, seguido de un lavado con hipoclorito de sodio al 20% durante un minuto, finalmente se realizaron tres lavados consecutivos con agua bidestilada estéril durante un minuto cada uno. Entre cada lavado, las muestras fueron sometidas a agitación en vortex durante un minuto con el fin de favorecer la eliminación de contaminantes superficiales.

6.5 Germinación de plantas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry

Las semillas de tomate var. Cherry, se desinfectaron mediante inmersión en etanol al 70% durante 1 minuto, seguido de cloro al 20% por 1 minuto y tres lavados consecutivos con agua bidestilada estéril.

Para la siembra, se utilizó sustrato Sunshine Mix 3 ®, el cuál fue esterilizado en tres ciclos consecutivos a 121°C durante 15 minutos. Las semillas desinfectadas se sembraron en semilleros de 288 pozos, utilizando aproximadamente 5 g de sustrato estéril por pozo.

En los tratamientos correspondientes a los grupos BIO, EH + BIO y ES +BIO, el sustrato de cada pozo fue inoculado con 1 mL de la suspensión del consorcio multicepa ajustado a 1×10^{-6} esp/mL; UFC/mL, previo a la siembra de las semillas. Los semilleros se mantuvieron durante 7 días sin siembra con el fin de favorecer el establecimiento del consorcio en el sustrato. Transcurrido este periodo se colocó una semilla de tomate var. Cherry por pozo y se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura (27-30°C), fotoperiodo de 12 h luz / 12 h oscuridad y humedad relativa promedio de 46%, hasta la germinación de las plántulas. Una vez germinadas, las plántulas fueron trasplantadas a macetas individuales y se mantuvieron durante un periodo de 5 días para su establecimiento. En este momento se realizó la segunda y última inoculación del consorcio, agregando 1 mL de la solución a cada tratamiento (BIO, EH + BIO y ES + BIO). Las plantas fueron observadas diariamente durante 25 días.

6.6 Estandarización de las condiciones experimentales de estrés hídrico en plantas

Se realizó una evaluación preliminar del efecto de la falta de agua en plántulas de tomate var. Cherry, con el objetivo de definir un periodo de sequía capaz de inducir signos claros de estrés hídrico sin provocar la muerte inmediata de las plantas. Para ello, se utilizaron plántulas de dos semanas de crecimiento, establecidas en macetas de 7 cm de altura y 8 cm de diámetro, conteniendo aproximadamente 30 g de sustrato comercial Sunshine Mix 3®. Se colocaron dos plántulas por maceta, evaluándose un total de 12 macetas por tratamiento (control, BIO, EH y EH + BIO), correspondientes a 24 plántulas por grupo experimental. Las plantas se mantuvieron bajo condiciones controladas de crecimiento con luz LED blanca (Estevez) a una intensidad lumínica aproximada de $272 \mu\text{mol}/\text{m}^{-2}/\text{s}$, fotoperiodo de 12 h luz/ 12 h oscuridad y una temperatura controlada de 27-30 °C.

Para la inducción del estrés hídrico, las plántulas fueron sometidas a diferentes periodos sin riego (5, 10 y 15 días), durante los cuales se registraron cambios morfológicos asociados al estrés hídrico, tales como marchitez, pérdida de turgencia, clorosis y deterioro foliar. Con base en estas observaciones, se determinó que un periodo de 10 días sin riego inducía manifestaciones evidentes

de estrés hídrico sin causar la muerte inmediata de las plántulas, por lo que esta condición fue seleccionada para los ensayos posteriores.

6.6.1 Ensayo *in vivo* de estrés hídrico

Para el ensayo *in vivo* de estrés hídrico se utilizaron plántulas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry de dos semanas de crecimiento, previamente germinadas y establecidas en macetas con sustrato Sunshine Mix 3®. Las semillas fueron germinadas en semilleros de 288 pozos con sustrato previamente esterilizado en tres ciclos consecutivos a 121 °C durante 15 min. La germinación se realizó bajo condiciones controladas de temperatura (27-30°C), fotoperiodo de 12 h luz/12 h oscuridad, proporcionado por luz LED blanca (Estevez) con una intensidad lumínica aproximada de 272 $\mu\text{mol}/\text{m}^{-2}/\text{s}$.

Las plántulas fueron germinadas durante 5 días en semilleros antes de ser trasplantadas a macetas (7 cm de altura y 8 cm de diámetro), conteniendo aproximadamente 30 g de sustrato Sunshine Mix 3® y se mantuvieron bajo las mismas condiciones ambientales de temperatura, luz y humedad relativa (46%).

El diseño experimental consistió en cuatro tratamientos: control, BIO, EH y EH + BIO (Tabla 7). En cada tratamiento se utilizaron 12 macetas, con dos plántulas por maceta, obteniendo un total de 24 plántulas por grupo experimental.

La aplicación del bioinoculante multicepa se realizó en dos momentos: una primera dosis al inicio del experimento (día 1), aplicando 1 mL por pozo directamente en el sustrato de los semilleros, previo a la siembra; y una segunda aplicación al momento del trasplante (día 6), en la cual se añadieron 2 mL totales por maceta (1 mL por plántula), depositados en la zona de contacto con la raíz. El bioinoculante fue preparado en una proporción 1:1:1 de los aislados *Streptomyces* sp. 518 [4,071 μL], *Streptomyces* sp. 670 [5,210 μL] y *Kocuria* sp. 198 [833 μL], la cantidad de μL necesaria de cada aislado se obtuvo mediante el ajuste con base en la concentración de esporas/mL en el caso de los aislados *Streptomyces* y UFC/mL para el aislado *Kocuria* sp. Posteriormente, las plántulas se mantuvieron en crecimiento bajo condiciones controladas durante seis días.

Transcurridos los seis días, se indujo el estrés hídrico retirando el riego durante un periodo de 10 días en los tratamientos correspondientes. Al término de este periodo, las plántulas fueron rehidratadas con 20 mL de agua bidestilada por maceta y se mantuvieron en observación durante 7

días para evaluar su recuperación. El ensayo tuvo una duración total de 25 días y al final de este tiempo se realizó la colecta de datos y de tejidos correspondientes a los análisis. Durante todo el experimento, las plantas no recibieron fertilizante y el volumen de riego utilizado (20 mL/ maceta) fue suficiente para mantener la humedad del sustrato sin generar exceso de agua.

Tabla 7. Diseño experimental del ensayo *in vivo* de estrés hídrico.

Grupo experimental	Tratamiento aplicado
CONTROL	Riego libre con agua bidestilada
BIO	Riego libre + inoculación con consorcio
EH	Estrés hídrico (10 días sin riego)
EH + BIO	Inoculación con consorcio + estrés hídrico (10 días sin riego)

6.7 Estandarización de las condiciones experimentales de estrés salino en plantas

Con el objetivo de establecer una concentración de sal capaz de inducir estrés salino sin provocar la muerte inmediata de las plantas, se realizó un ensayo preliminar utilizando plántulas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry de dos semanas de crecimiento. Las plántulas fueron establecidas en macetas de 7 cm de altura y 8 cm de diámetro, conteniendo aproximadamente 30 g de sustrato comercial Sunshine Mix 3®. Se colocaron dos plántulas por maceta, evaluándose un total de 12 macetas por tratamiento, correspondientes a 24 plántulas por grupo experimental.

Las plántulas se mantuvieron bajo condiciones controladas de crecimiento, con iluminación LED blanca (Estevez) a una intensidad aproximada de 272 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, fotoperiodo de 12 h luz/12 h oscuridad y una temperatura entre 27 y 30 °C.

Para la inducción del estrés salino, se prepararon soluciones de NaCl a concentraciones de 100, 200, 300 y 500 mM, disolviendo la cantidad correspondiente de sal en un litro de agua bidestilada estéril. Las plántulas fueron expuestas a cada una de las concentraciones con el propósito de evaluar su respuesta fisiológica inicial frente al estrés salino. A partir de las observaciones realizadas durante el ensayo preliminar, se determinó que la concentración de 100 mM de NaCl generaba

síntomas visibles de estrés sin ocasionar la muerte inmediata de las plántulas, por lo que fue la concentración seleccionada para el establecimiento del ensayo *in vivo* de estrés salino.

6.7.1 Ensayo *in vivo* de estrés salino

Para el ensayo *in vivo* de estrés salino se utilizaron plántulas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry de dos semanas de crecimiento, previamente germinadas en semilleros de 288 pozos con sustrato Sunshine Mix 3® esterilizado en tres ciclos consecutivos a 121 °C durante 15 min. La germinación se realizó bajo condiciones controladas de temperatura (27-30 °C), fotoperiodo de 12 h luz/12 h oscuridad, luz LED blanca (Estevez) con una intensidad lumínica aproximada de 272 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y una humedad relativa promedio de 46%.

Las plántulas fueron mantenidas durante 5 días en semilleros antes de ser trasplantadas a macetas de 7 cm de altura y 8 cm de diámetro, conteniendo aproximadamente 30 g de sustrato Sunshine Mix 3®. En cada tratamiento se utilizaron 12 macetas con dos plántulas cada una, obteniendo un total de 24 plántulas por grupo. El diseño experimental consistió en cuatro tratamientos: control, BIO, ES y ES + BIO (Tabla 8).

La aplicación del bioinoculante multicepa se realizó en dos momentos: una primera dosis al inicio del experimento (día 1), aplicando 1 mL por pozo directamente en el sustrato de los semilleros, previo a la siembra; y una segunda aplicación al momento del trasplante (día 6), en la cual se añadieron 2 mL totales por maceta (1 mL por plántula), depositados en la zona de contacto con la raíz. El bioinoculante fue preparado en una proporción 1:1:1 de los aislados *Streptomyces sp.* 518 [4,071 μL], *Streptomyces sp.* 670 [5,210 μL] y *Kocuria sp.* 198 [833 μL], la cantidad de μL necesaria de cada aislado se obtuvo mediante el ajuste con base en la concentración de esporas/mL en el caso de los aislados *Streptomyces* y UFC/mL para el aislado *Kocuria sp.* Posteriormente, las plántulas se mantuvieron en crecimiento bajo condiciones controladas durante seis días.

Transcurridos los seis días, se inició la inducción del estrés salino de manera progresiva para evitar un choque osmótico. Las plántulas fueron regadas cada 2-3 días con 20 mL de solución salina por maceta, comenzando con una concentración inicial de 20 mM de NaCl e incrementándola gradualmente conforme al esquema descrito en la Tabla 9, hasta alcanzar una concentración final de 100 mM. Este volumen de riego fue suficiente para mantener la humedad del sustrato sin generar exceso de agua. El ensayo tuvo una duración total de 25 días y al final de este tiempo se realizó la

colecta de datos y de tejidos correspondientes para los análisis fisiológicos, bioquímicos y anatómico-funcionales.

Tabla 8. Diseño experimental del ensayo *in vivo* de estrés salino.

Grupo experimental	Tratamiento aplicado
CONTROL	Riego libre con agua bidestilada
BIO	Riego libre + inoculación con consorcio
ES	Estrés salino (100 mM de NaCl)
ES + BIO	Inoculación con consorcio + estrés salino (100 mM. NaCl)

Tabla 9. Esquema de aplicación progresiva del estrés salino.

Riego	Concentración de NaCl (mM)	Etapas
1	20	Aclimatación inicial al estrés salino
2	50	Incremento gradual
3	70	Incremento gradual
4	100	Establecimiento de la concentración deseada de estrés
5	100	Mantenimiento del estrés
6	100	Estabilización del estrés

6.8 Medición de variables fisiológicas

6.8.1 Crecimiento y biomasa

Para la evaluación del crecimiento y biomasa vegetal en plantas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry, se midió la altura de cada plántula desde la base del tallo hasta el punto más alto de la parte aérea, utilizando una cinta métrica como medida de referencia y el software ImageJ para el análisis de imágenes.

La longitud de la raíz principal se determinó tras extraer cuidadosamente las plantas del sustrato, midiéndose desde el cuello de la raíz hasta su extremo final. Posteriormente se registró el peso fresco del tejido aéreo y del sistema radicular empleando una balanza analítica (Mettler Toledo PG4002-5).

Los tejidos vegetales fueron colocados en un horno a 60°C con el fin de obtener el peso seco correspondiente. Adicionalmente, se realizó el conteo del número de raíces secundarias emergentes a partir de la raíz principal.

6.8.2 Contenido relativo de agua (CRA)

El contenido relativo de agua (CRA) se determinó como un indicador del estado hídrico de las plantas. Para ello, se recolectaron hojas de la zona media de la planta y se registró su peso fresco (PF) inmediatamente después de la recolección. Posteriormente, las muestras fueron rehidratadas mediante su inmersión en agua bidestilada durante 6 h a 4 °C en oscuridad, con el objetivo de alcanzar su máxima turgencia. Este paso permite restablecer completamente el contenido de agua en las células, eliminando el efecto del déficit hídrico y proporcionando una referencia del estado de hidratación óptimo del tejido, conocido como peso de turgencia (PT).

Tras la rehidratación, las hojas fueron secadas superficialmente con papel absorbente para eliminar el exceso de agua y se registró el peso de turgencia. Finalmente, las muestras fueron deshidratadas en horno a 60-70 °C para obtener el peso seco (PS). El CRA se calculó siguiendo la fórmula dada por Barrs y Weatherley (1962).

$$CRA = (PF - PS) / (PT - PS) \times 100$$

donde PF corresponde al peso fresco, PT al peso de turgencia obtenido tras sumergir las hojas en agua destilada durante 6 h, y PS al peso seco, obtenido después del secado del tejido vegetal a 60-70 °C. Este parámetro refleja la capacidad de la planta para mantener su contenido de agua en condiciones de estrés, siendo un indicador ampliamente utilizado en estudios fisiológicos de tolerancia a sequía y salinidad.

6.8.3 Extracción y cuantificación de clorofila

La extracción y cuantificación de clorofila se realizó mediante el método de extracción con etanol al 80% (Lichtenthaler 1987). Para ello, se pesaron 2 g de hojas provenientes de la zona media de

la planta, las cuales fueron maceradas en un mortero con 10 mL de etanol al 80% hasta obtener una mezcla homogénea.

El extracto se transfirió a tubos cónicos de 15 mL y se dejó en reposo durante 18 h a 4°C, con el fin de favorecer la completa extracción de los pigmentos. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 3,800 rpm durante 5 min a 4 °C (HERMLE Z326K).

Del sobrenadante obtenido, se tomaron 200 µL por muestra y se colocaron en una microplaca de 96 pocillos. Las lecturas de absorbancia se realizaron por triplicado en un espectrofotómetro de placas, registrando la absorbancia a longitudes de onda de 645 nm y 663 nm, correspondientes a los máximos de absorción de clorofila b y clorofila a, respectivamente. El uso de estas longitudes de onda permite no solo detectar la presencia de los pigmentos fotosintéticos, sino también diferenciarlos cuantitativamente, debido al solapamiento parcial de sus espectros de absorción. El contenido de clorofila a, clorofila b y clorofila total se calculó utilizando las ecuaciones propuestas por Arnon (1949):

$$\text{Clorofila } a = 12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645})$$

$$\text{Clorofila } b = 22.9 (A_{645}) - 4.68 (A_{663})$$

$$\text{Clorofila total} = 20.2 (A_{645}) + 8.02 (A_{633})$$

Este método es ampliamente utilizado por su precisión y reproducibilidad en estudios fisiológicos de plantas.

6.9 Medición de variables bioquímicas

6.9.1 Extracción y cuantificación de prolina

La cuantificación de prolina se realizó mediante el método de isatina-prolina, de acuerdo con una modificación del protocolo descrito por Boctor F. 1971 y Long D. *et al.* 2012.

Para la extracción, se utilizaron 500 mg de tejido radicular limpio, mismo que fue sometido a congelación con 1 mL de etanol al 20% con el objetivo de favorecer la ruptura de la pared celular y membrana. Posteriormente, el tejido congelado se maceró en un mortero hasta obtener una textura homogénea, adicionando 9 mL de etanol al 20%.

El extracto obtenido se transfirió a tubos cónicos de 15 mL y se homogenizó mediante vórtex durante 1 minuto, seguido de un ciclo de centrifugación a 3,800 rpm por 10 minutos a 4 °C

(HERMLE Z326K). El sobrenadante resultante se recuperó y se transfirió a tubos nuevos, en él se encuentra disuelta la prolina.

Para la cuantificación, se preparó una curva de calibración utilizando soluciones estándar de L-prolina disuelta en agua a concentraciones de 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 mg/mL. La reacción isatina-prolina se llevó a cabo en tubos de vidrio con fondo limpio, adicionando 100 µL de muestra o solución estándar, 100 µL de buffer de citratos 0.5 M pH 4.1 ([Por litro]: Solución A 0.5 M: 96.60 g ácido cítrico ($C_6H_8O_7$); Solución B 0.5 M: 147 g citrato de sodio ($Na_3C_6H_5O_7$); 200 mg isatina ($C_8H_5NO_2$)), 300 µL de solución de isatina al 0.075% en acetona y 500 µL de etanol al 96%.

La mezcla se homogenizó y se mantuvo en horno a 115°C durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se formó un precipitado en el fondo de los tubos, el cual fue resuspendido en 600 µL de una solución acetona-agua (2:1). La suspensión se agitó hasta diluir el precipitado y se tomaron 200 µL, los cuales se colocaron en una microplaca de 96 pocillos.

La absorbancia se midió a 595 nm en un espectrofotómetro de microplacas. Desde la adición de la solución acetona-agua (2:1) hasta la lectura de la microplaca, las muestras se mantuvieron protegidas de la luz intensa con papel aluminio, debido a que el producto de la reacción es fotosensible.

6.10 Medición de variables anatómicas- funcionales

Se evaluaron variables anatómicas y funcionales asociadas a la respuesta de las plantas de tomate var. Cherry frente a condiciones de estrés hídrico y salino, así como al efecto de la inoculación con actinobacterias.

6.10.1 Apertura estomática

La apertura estomática se determinó mediante la técnica de impresión foliar con esmalte transparente (Romero *et al.* 2020). Para ello, se seleccionaron hojas de la región media de la planta, sobre las cuales se aplicó una capa uniforme de esmalte transparente para uñas en el envés. Una vez seco, el esmalte se retiró cuidadosamente con cinta adhesiva transparente y se montó sobre un portaobjetos. Para la observación microscópica, las muestras fueron teñidas con colorante azul de metileno (1%) para resaltar las estructuras estomáticas y se utilizó un filtro verde de contraste, lo que permitió una mejor diferenciación de los estomas.

La apertura estomática se registró en micrómetros (μm) con ayuda de un portaobjetos graduado. Para cada tratamiento se analizaron tres campos visuales por muestra, a partir de 18 hojas seleccionadas de la parte media de la planta, provenientes de macetas diferentes. Las hojas correspondieron a 6 plántulas representativas de cada tratamiento y se utilizaron para calcular los valores promedio de apertura estomática. Por cada hoja se seleccionaron 6 estomas que fueron medidos en longitud y apertura.

6.10.2 Modificaciones en la anatomía vascular del tallo

Para el análisis de la anatomía vascular, se realizaron cortes transversales a nivel del tallo medio de 10 plántulas representativas de cada tratamiento. Los cortes se obtuvieron manualmente con ayuda de una navaja y se sometieron a una tinción diferencial con safranina (1%) durante 1 minuto, seguida de colorante verde rápido (0.1%) durante 1 minuto, con el fin de diferenciar los distintos tejidos vegetales. Los cortes fueron aclarados con una solución alcohol-acetona 1:1 para eliminar el exceso de colorantes. Las muestras se montaron en portaobjetos con glicerol (50%) y se observaron mediante microscopía óptica.

Para cada tratamiento se analizaron tres campos visuales por muestra a partir de 10 tallos de plántulas seleccionados de forma aleatoria y provenientes de macetas distintas. A partir de las imágenes obtenidas, se registró el número y el diámetro de los vasos de xilema utilizando un portaobjetos graduado y el software ImageJ.

Los valores obtenidos se utilizaron como indicadores de las modificaciones anatómicas asociadas a la respuesta de las plantas frente al estrés hídrico y estrés salino, así como al efecto de la inoculación con el consorcio de actinobacterias.

6.11 Identificación molecular y análisis filogenético del aislado 198

6.11.1 Extracción de ADN genómico

La extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico del aislado se realizó utilizando el método de fenol-cloroformo (Arocha *et al.* 2017). El aislado de actinobacteria se cultivó por dos días en medio LB ([Por litro]: 25 g Miller's LB Broth, 20 g agar bacteriológico), después, con la ayuda de un bisturí estéril se recuperó la biomasa y se colocó en tubos de centrifuga, se añadió 1.5 mL de sacarosa 20 al % y se centrifugaron a 12,000 rpm durante 5 minutos. Para la lisis, se añadieron perlas de vidrio de 0.1 mm estériles y 800 μL de buffer de lisis QTP ([Por litro]: 40 mL

Triton X-100, 100 mL SDS al 20%, 20 mL NaCl 5 M, 10 mL Tris 2 M pH 8, 7 ml EDTA 500 mM pH 8, aforado a 1 L con agua Mili Q). Los tubos se llevaron a disruptor MagNalyzer marca Roche a 5,000 rpm por 1 minuto, posteriormente se centrifugaron a 12,000 rpm por 15 minutos a 4 °C, se transfirió la fase acuosa a un nuevo tubo y se realizaron dos lavados, el primero con fenol-cloroformo y uno segundo con cloroformo. La precipitación del ADN se realizó con etanol absoluto y acetato de sodio 3 M en una relación 1:2. Los tubos se incubaron por 24 h a -20°C y posteriormente se realizaron dos lavados con etanol 70%. Finalmente, la pastilla de ADN fue resuspendida en agua Mili Q y se verificó la calidad de la extracción mediante la medición de la proporción 260/280 por espectrofotometría en el equipo NanoDrop marca ThermoScientific modelo 2000. La integridad se determinó por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 0.8%.

6.11.2 Secuenciación

Las muestras de ADN con pureza arriba de 2.0 en la proporción 260/280 se enviaron al Laboratorio de Servicios Genómicos, Unidad de Genómica Avanzada (LabSerGen-Cinvestav) para el servicio de secuenciación de genoma completo por la plataforma Illumina MiSeq 6000.

6.11.3 Ensamble

La calidad de las lecturas obtenidas fue evaluada utilizando el programa Fastqc dentro de Google Colaboratory, tanto antes como después del procesamiento de datos. El filtrado y procesamiento de las secuencias se llevó a cabo mediante el software Fastp, empleando un enfoque adaptativo que incluyó un filtro de baja complejidad con un umbral de 30, activación de la corrección de lecturas, así como la detección y eliminación automática de adaptadores. El valor de calidad phred se estableció en 15, mientras que el recorte adaptativo se realizó mediante una ventana deslizante de 4 pb con una calidad promedio de 20. Asimismo, se habilitó el recorte de bases de baja calidad al principio y al final de las lecturas, estableciendo una longitud mínima de lectura de 200 pb.

Posteriormente, las lecturas procesadas fueron ensambladas utilizando el programa SPAdes (v15.1). La calidad del ensamblaje se evaluó mediante las herramientas QUAST y CheckM, con el fin de verificar la integridad y calidad del genoma obtenido. Finalmente, la extracción del gen 16s rRNA se realizó utilizando el software Barrnap, y la secuencia obtenida fue empleada para su comparación en la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) mediante la herramienta BLASTn, con el objetivo de determinar la identidad taxonómica del aislado 198.

6.11.4 Análisis filogenético

Para la reconstrucción filogenética, la secuencia del gen 16S rRNA del aislado *198* se alineó junto con secuencias de referencia de especies representativas del género *Kocuria* y géneros filogenéticamente cercanos, obtenidas de la base de datos del NCBI.

El alineamiento múltiple de secuencias se realizó utilizando el programa MEGA (versión 11) mediante la herramienta MUSCLE. A partir del alineamiento obtenido, se construyó un árbol filogenético empleando el método de máxima verosimilitud, utilizando el modelo evolutivo más adecuado determinado por defecto por el software. El árbol filogenético se evaluó mediante un análisis de bootstrap con 1000 réplicas. La edición final del árbol se realizó utilizando la herramienta iTOL, lo que permitió una representación clara de las relaciones filogenéticas del aislado dentro del género *Kocuria*.

6.12 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores y las comparaciones múltiples entre tratamientos se llevaron a cabo mediante prueba post-hoc de Tukey, con un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$), utilizando los programas estadísticos Minitab (versión 18) y GraphPad Prism (versión 8.0).

7. RESULTADOS

7.1 Ensayo de confrontación antagónica en placa

Tras 10 días de incubación en medio ISP2, los controles individuales correspondientes a cada aislado mostraron un crecimiento uniforme (Figura 11), lo que permitió conocer el comportamiento característico de cada cepa en ausencia de interacción microbiana, estableciendo así una referencia visual para la interpretación de la prueba de antagonismo.

En las confrontaciones entre aislados (Figura 12), se observó crecimiento uniforme en las zonas de contacto. No se observaron halos de inhibición ni disminución visible de la esporulación en ninguna de las combinaciones que se evaluaron. La formación de esporas en los aislados del género *Streptomyces* fue de buena (**) a excelente (***) de acuerdo con los criterios establecidos, siendo consistente en todas las repeticiones.

Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 10, donde todas las interacciones se registraron como no antagónicas (-). Esto indica que los aislados de interés 518, 670 y 198 son compatibles entre sí, lo que apoya su selección para la elaboración del bioinoculante multicepa empleado en los ensayos *in vivo* posteriores.

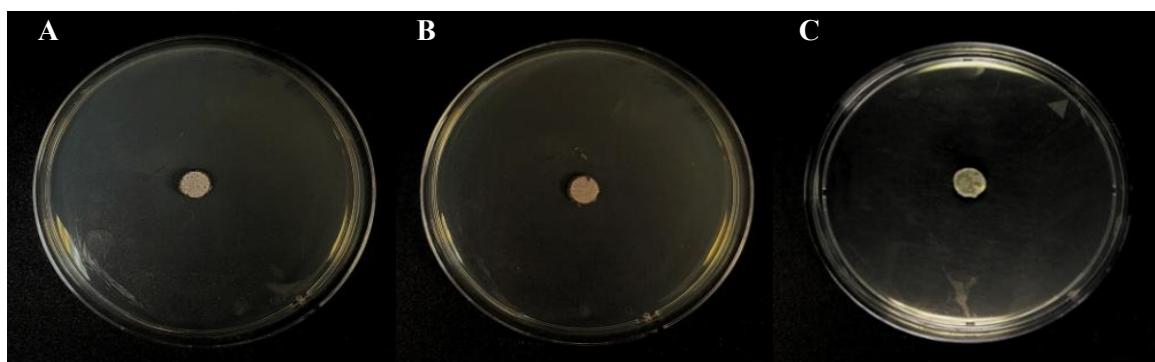


Figura 11. Control de crecimiento individual de los aislados de actinobacterias en medio ISP2. A) Tapón de agar 518; B) Tapón de agar 670; C) Tapón de agar 198. Se observa crecimiento y esporulado característico de cada cepa.

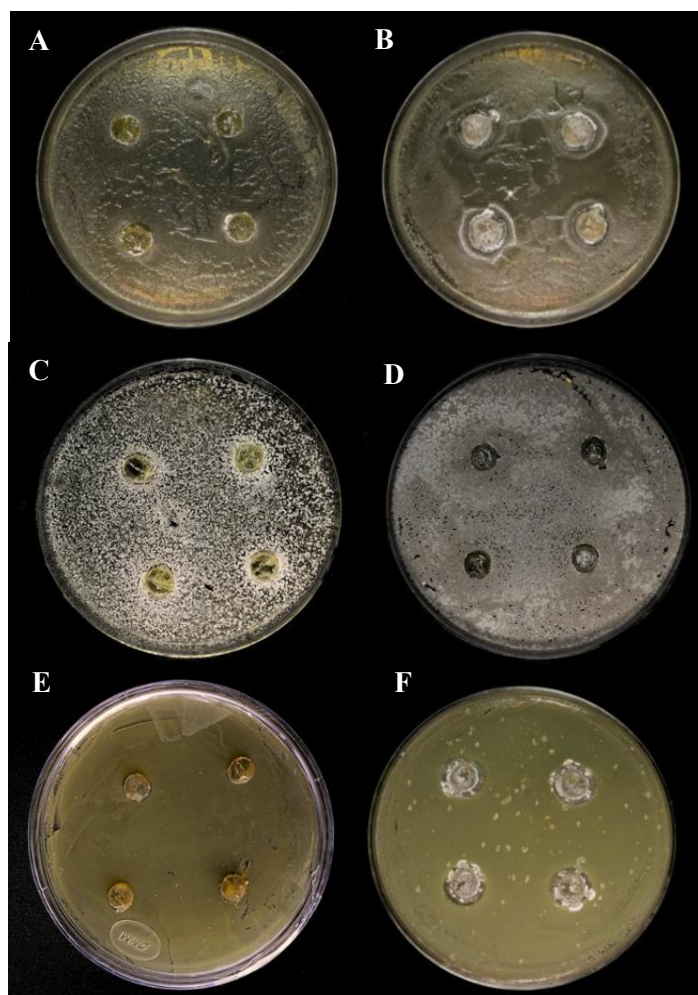


Figura 12. Prueba de confrontación en placa. A); tapete 518 + tapón 198; B); tapete 518 + tapón 670; C); tapete 670 + tapón 198; D); tapete 670 + tapón 518; E); tapete 198 + tapón 518; F); tapete 198 + tapón 670. No se observan zonas de inhibición entre las zonas.

Tabla 10. Interacción entre aislados de actinobacterias en ensayo de confrontación.

Tapete	Tapón de agar	Interacción	Esporulación
Control ISP2	518	-	***
	670		
	198		
670	198	-	***
	518		***
198	670	-	**
	518		**
518	670	-	**
	198		**

Nivel de esporulación: (*) ausente; (**) buena; (***) excelente. Interacción: (-) ausencia de antagonismo.

7.2 Ensayo *in vivo* de estrés hídrico

Durante el ensayo *in vivo* de estrés hídrico se observaron diferencias claras en el desarrollo y apariencia general de las plántulas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry entre los tratamientos evaluados. La progresión visual del estrés se presenta en la Figura 13, donde se comparan los tratamientos Control, BIO, EH y EH + BIO a los días 1, 5 y 10 sin riego.

Las plántulas sometidas únicamente a estrés hídrico (EH) mostraron una disminución progresiva de la turgencia foliar, evidenciándose signos de marchitez a partir del quinto día de suspensión del riego y acentuándose hacia el día 10. En contraste, las plantas inoculadas con el consorcio de actinobacterias bajo condiciones de estrés (EH + BIO) conservaron una apariencia saludable, manteniendo hojas turgentes y verdes durante todo el periodo de evaluación. Las plantas del grupo control presentaron un crecimiento uniforme y apariencia estable, consistente con las condiciones de riego libre.

Posterior al periodo de rehidratación, las diferencias entre tratamientos fueron más evidentes (Figura 14). Las plantas del tratamiento EH + BIO mostraron una recuperación acelerada, caracterizada por la emisión de nuevos brotes y la restauración de la turgencia foliar. Por el contrario, las plantas sometidas únicamente a estrés hídrico (EH) presentaron signos irreversibles de estrés, incluyendo necrosis parcial de hojas y ausencia de brotes nuevos. El grupo control mantuvo un crecimiento óptimo sin signos de estrés.

El análisis cuantitativo de variables fisiológicas coincide con lo visto en el estado de las plantas durante el ensayo. Las plantas del grupo EH + BIO presentaron peso fresco y seco significativamente más alto en comparación con el grupo EH (Gráfico 16A y 16B, respectivamente), incluso con valores más altos que las plantas del grupo control. La longitud de la raíz principal también fue mayor en las plantas inoculadas con el consorcio bajo estrés hídrico (EH + BIO) (Gráfico 16C), lo que sugiere que pueden explorar de mejor manera el suelo cuando hay poca disponibilidad de agua. De manera consistente, el contenido relativo de agua (CRA) fue más alto en el tratamiento EH + BIO respecto al grupo EH (Gráfico 16D), evidenciando una mejor capacidad de mantenimiento del estado hídrico de las plantas cuando crecen en presencia del bioinoculante.

En la cuantificación del número de raíces secundarias también se observaron diferencias significativas entre tratamientos. Las plantas del grupo EH + BIO presentaron un desarrollo de

raíces laterales aproximadamente tres veces mayor en comparación con las plantas del grupo EH y el grupo control (Figura 16E y Figura 15). Este incremento en la producción de raíces secundarias hace evidente una modificación de la arquitectura radicular asociada a la inoculación con consorcio e intensificada por las condiciones de estrés hídrico.

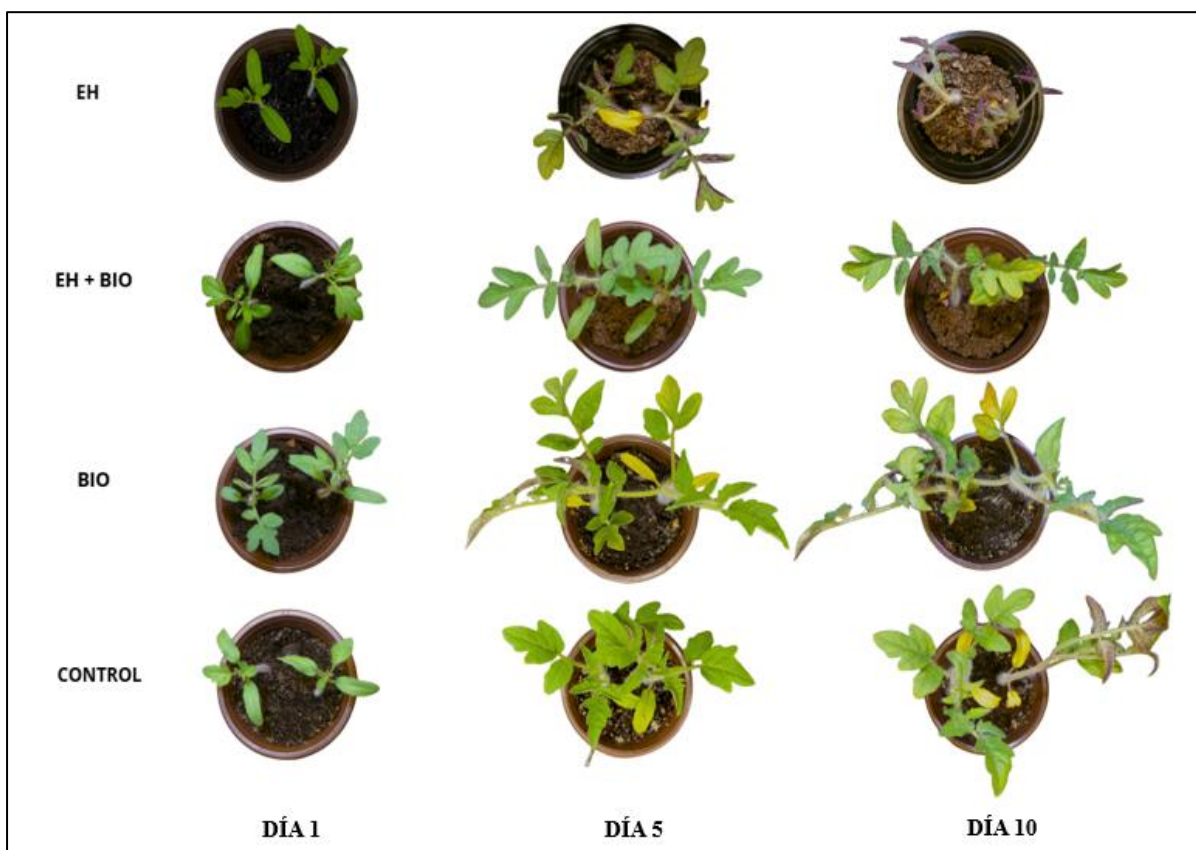


Figura 13. Evolución fenotípica de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) sometidas a estrés hídrico durante 1, 5 y 10 días. EH: estrés hídrico, EH+BIO: estrés hídrico + bioinoculante, BIO: bioinoculante, Control: riego libre.

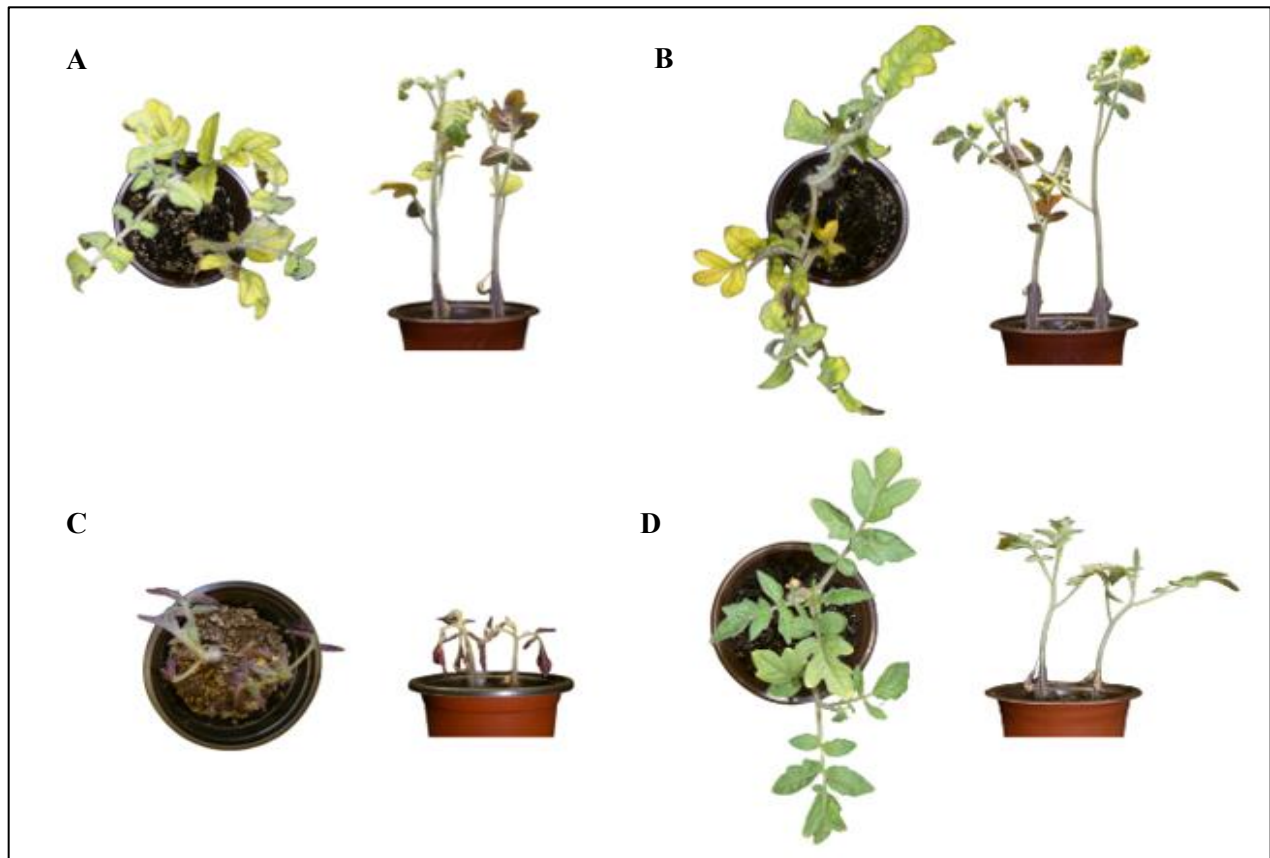


Figura 14. Recuperación fenotípica de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) después de siete días de rehidratación tras la aplicación de estrés hídrico. A) control, B) BIO: bioinoculante, C) EH: estrés hídrico, D) EH+BIO: estrés hídrico con bioinoculante.

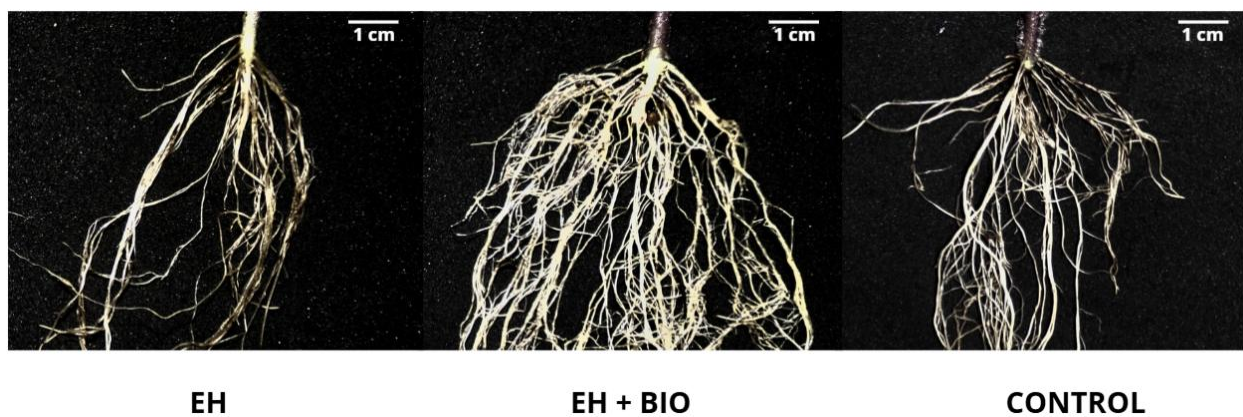


Figura 15. Desarrollo del sistema radicular en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) bajo estrés hídrico. EH: estrés hídrico, EH+BIO: estrés hídrico y bioinoculante, Control: riego libre. Escala de 1 cm de referencia en la esquina superior derecha obtenida mediante el software Image J.

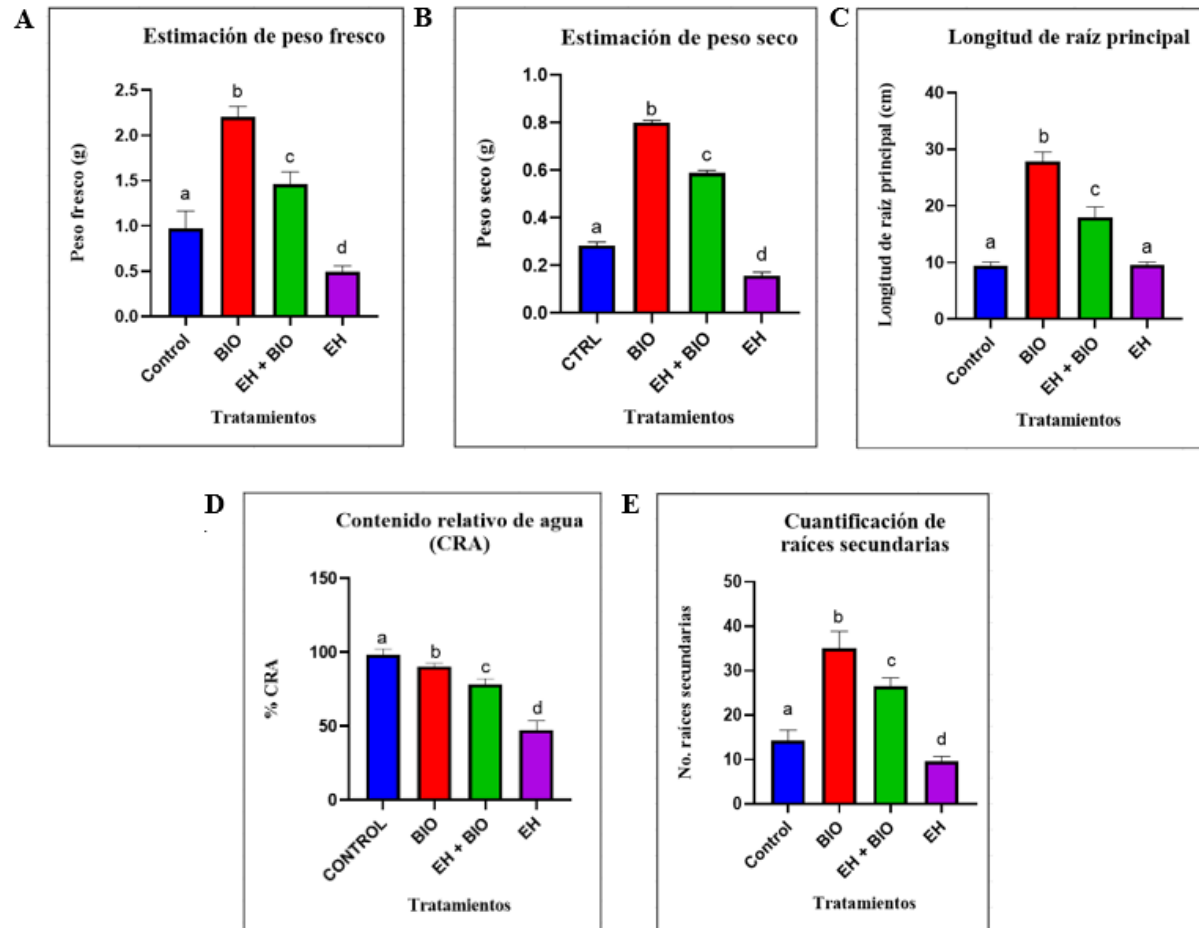


Figura 16. Efecto del bioinoculante multicapa sobre variables fisiológicas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) bajo estrés hídrico. A) Peso fresco, B) Peso seco, C) Longitud de raíz principal, D) CRA (contenido relativo de agua), E) Conteo de raíces secundarias. EH: estrés hídrico, EH+BIO: estrés hídrico + bioinoculante, BIO: bioinoculante, Control: riego libre. Los datos se expresan como media $\pm$ SEM ($n = 24$). Diferencias significativas entre tratamientos fueron determinadas mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas entre los tratamientos.

7.3 Ensayo *in vivo* de estrés salino

La exposición de las plantas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry a condiciones de estrés salino reveló diferencias visibles en el desarrollo y estado fisiológico entre los tratamientos evaluados (Figura 17). Las plantas sometidas únicamente al estrés salino (ES) comenzaron a mostrar signos de estrés a partir del quinto día, evidenciados por clorosis ligera en las hojas de la parte alta de la planta, reducción de la turgencia foliar y una disminución general del crecimiento.

En contraste, las plantas inoculadas con el consorcio de actinobacterias y sometidas a condiciones de estrés salino (ES + BIO) conservaron una apariencia más saludable, con hojas de color verde intenso y menor grado de marchitez, mostrando características similares a las observadas en el grupo control. Aunque el daño causado por el estrés salino fue menor en comparación con el ensayo de estrés hídrico, las diferencias entre tratamientos se mantuvieron constantes durante todo el periodo de evaluación.

El análisis cuantitativo de las variables fisiológicas mostró un patrón consistente con el observado bajo estrés hídrico (Figura 19). Las plantas del grupo ES + BIO presentaron valores significativamente mayores de peso fresco y peso seco (Figura 19A y 19B), así como un incremento en la longitud de la raíz principal (Figura 19C) en comparación con las plantas sometidas únicamente al estrés salino. De igual manera, el contenido relativo de agua (CRA) fue superior en las plantas inoculadas (Figura 19D), indicando una mayor capacidad para mantener el estado hídrico bajo condiciones de salinidad.

El número de raíces secundarias también mostró diferencias significativas entre tratamientos (Figura 19E). Las plantas del grupo ES + BIO desarrollaron un sistema radicular más extenso y ramificado, con raíces laterales de entre dos y tres veces más que la registrada en los grupos ES y control, como se observa en la Figura 18. Este patrón sugiere una modificación en la arquitectura radicular asociada a la inoculación con el consorcio.

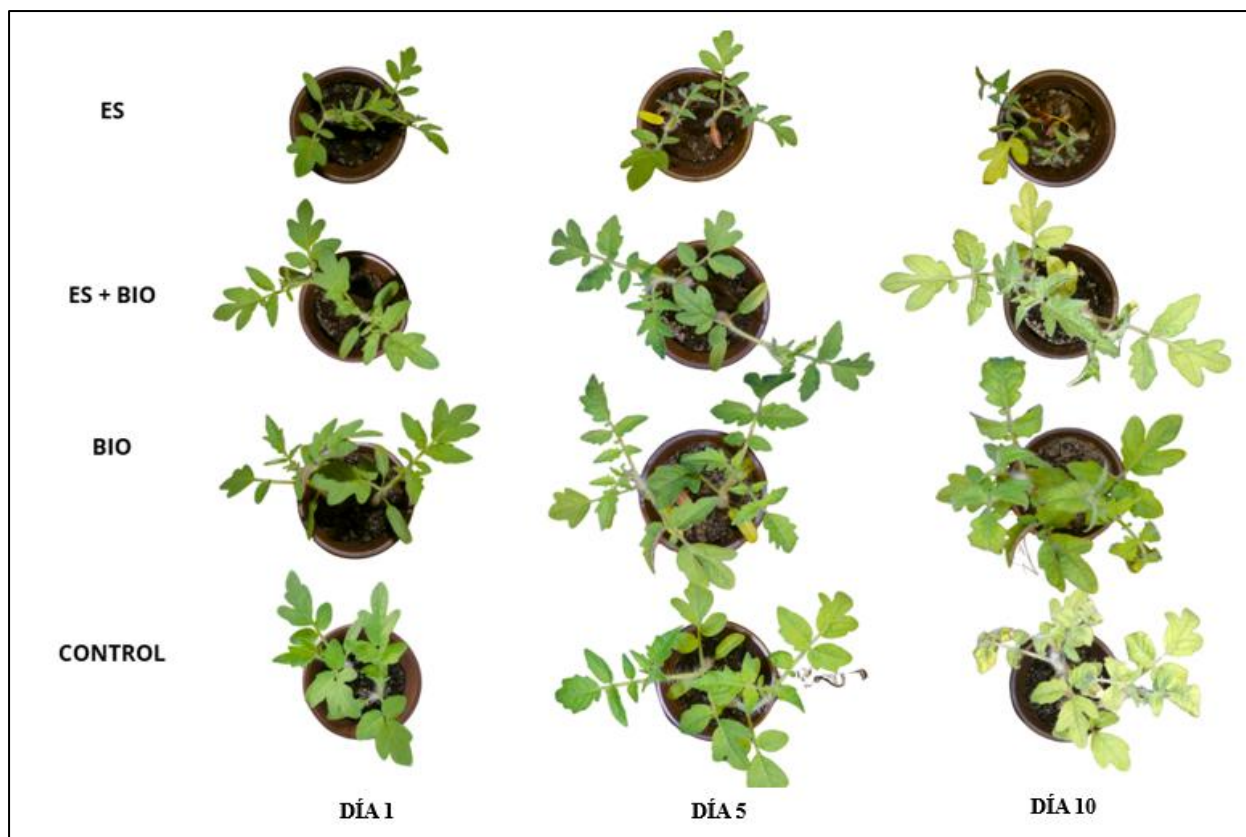


Figura 17. Evolución fenotípica de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) sometidas a estrés salino durante 1, 5 y 10 días. ES: estrés salino, ES+BIO: estrés salino con bioinoculante, BIO: bioinoculante, Control: riego con agua sin NaCl.

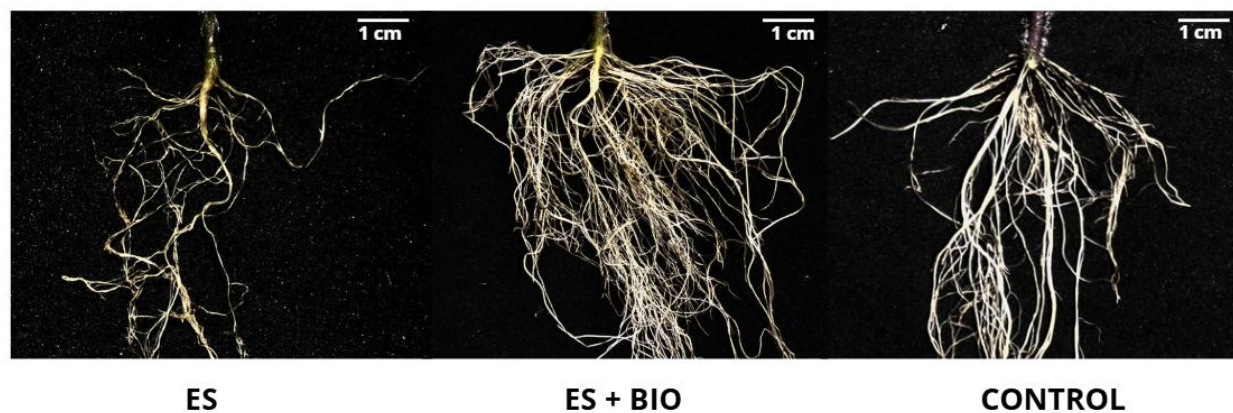


Figura 18. Desarrollo del sistema radicular en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) bajo estrés salino. ES: estrés salino, ES+BIO: estrés salino y bioinoculante, Control: riego con agua sin NaCl. Escala de 1 cm de referencia en la esquina superior derecha obtenida mediante el software Image J.

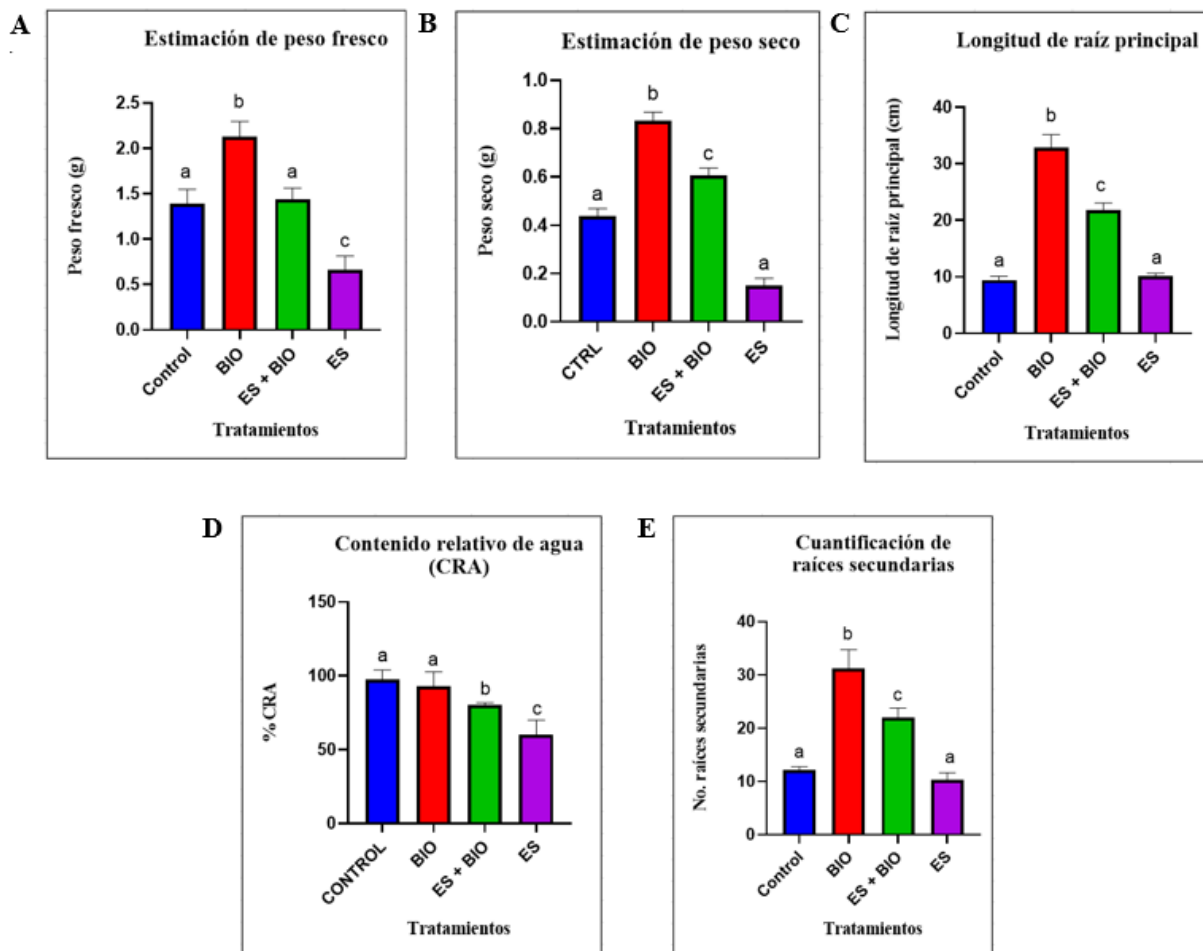


Figura 19. Efecto del bioinoculante multicapa sobre variables fisiológicas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) bajo estrés salino. A) Peso fresco, B) Peso seco, C) Longitud de raíz principal, D) CRA (contenido relativo de agua), E) Conteo de raíces secundarias. Tratamientos: CONTROL: riego sin NaCl; ES+BIO: estrés salino + bioinoculante, BIO: bioinoculante; ES: estrés salino. Los datos se expresan como media $\pm$ SEM ($n = 24$). Diferencias significativas entre tratamientos fueron determinadas mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas entre los tratamientos.

De manera general, ambos ensayos mostraron tendencias similares en la respuesta de las plantas frente al estrés abiótico. La ausencia del bioinoculante se asoció con reducción del crecimiento y deterioro fisiológico progresivo, mientras que su aplicación se relacionó con el mantenimiento de la turgencia y un mayor desarrollo del sistema radicular. Si bien la intensidad del daño fue más marcada bajo déficit hídrico, los patrones observados fueron consistentes entre ambos tipos de estrés.

7.4 Cuantificación de clorofila

El contenido de clorofila fue evaluado en tejido aéreo de plantas de tomate sometidas a condiciones de estrés hídrico y salino, considerando la presencia y ausencia del consorcio de actinobacterias. La cuantificación se realizó a partir de muestras compuestas de tejido foliar, con el fin de obtener una representación promedio del estado fisiológico de cada tratamiento. Para ello, se prepararon tres réplicas por tratamiento ($n=3$), cada una constituida por 2 g de hojas provenientes de la zona media de 12 plántulas seleccionadas de manera aleatoria. Cada extracto fue analizado por triplicado en microplaca de 96 pozos. La distribución de las muestras analizadas se muestra en la Figura 20, donde se presenta la disposición en microplacas de 96 pozos correspondiente a ambos ensayos.

Bajo condiciones de estrés hídrico, se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de pigmentos fotosintéticos entre tratamientos (Figura 21A). El grupo inoculado únicamente con el consorcio (BIO) presentó la mayor concentración de clorofila total, seguido del grupo EH + BIO, el cuál mostró 3 veces más clorofila total en comparación con las plantas sometidas únicamente a déficit hídrico (EH). En contraste, las plantas del grupo EH mostraron una disminución marcada tanto en clorofila “a” como en clorofila “b”, indicando una reducción en la capacidad fotosintética asociada al estrés. Las plantas inoculadas (BIO y EH + BIO) conservaron niveles de pigmentos similares o superiores al grupo control, evidenciando un efecto positivo del bioinoculante en la estabilidad fotosintética bajo condiciones de estrés hídrico.

En las plantas sometidas a estrés salino, el patrón de concentración de clorofila mostró una tendencia distinta (Figura 21B). El grupo ES + BIO mostró los valores más altos de clorofila total, incluso superiores al grupo BIO, mientras que las plantas sometidas únicamente a estrés salino (ES) presentaron una reducción en el contenido de pigmentos respecto a los grupos inoculados con el consorcio.

En conjunto, los resultados obtenidos en ambos ensayos confirman que la inoculación con el consorcio de actinobacterias favoreció la conservación del contenido de clorofila frente a condiciones de estrés abiótico, manteniendo una mayor estabilidad de los pigmentos fotosintéticos en comparación con las plantas no inoculadas.

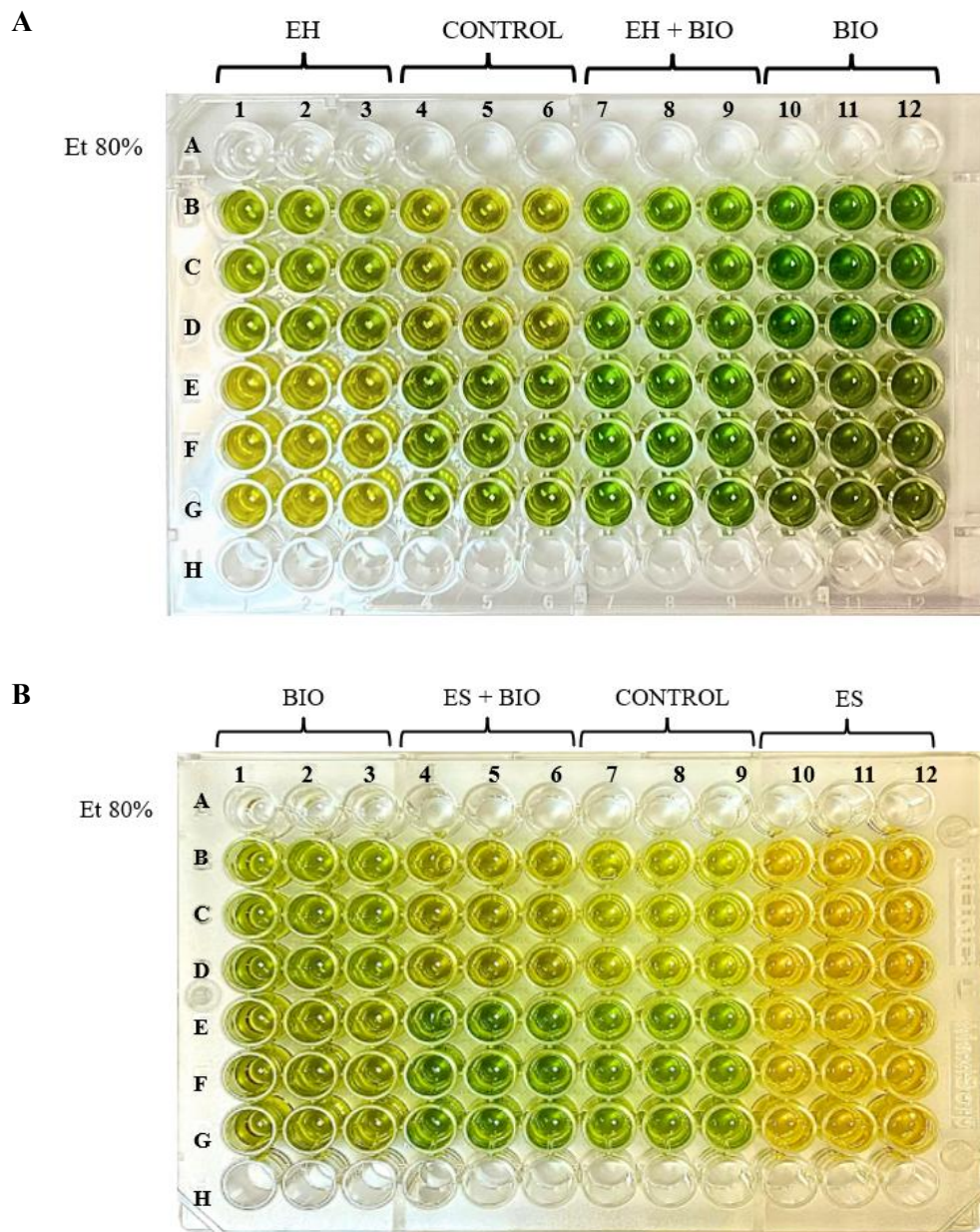


Figura 20. Disposición de tratamientos en microplaca de 96 pozos para cuantificación de clorofila en plantas de tomate sometidas a estrés hídrico y salino. A) Ensayo de estrés hídrico; B) Ensayo de estrés salino. Tratamientos: CONTROL: riego libre o sin NaCl; EH+BIO: estrés hídrico + bioinoculante; ES+BIO: estrés salino + bioinoculante, BIO: bioinoculante; EH: estrés hídrico; ES: estrés salino; Blanco: etanol 80%. n=3 réplicas por tratamiento (2 g de tejido foliar); cada muestra analizada por triplicado.

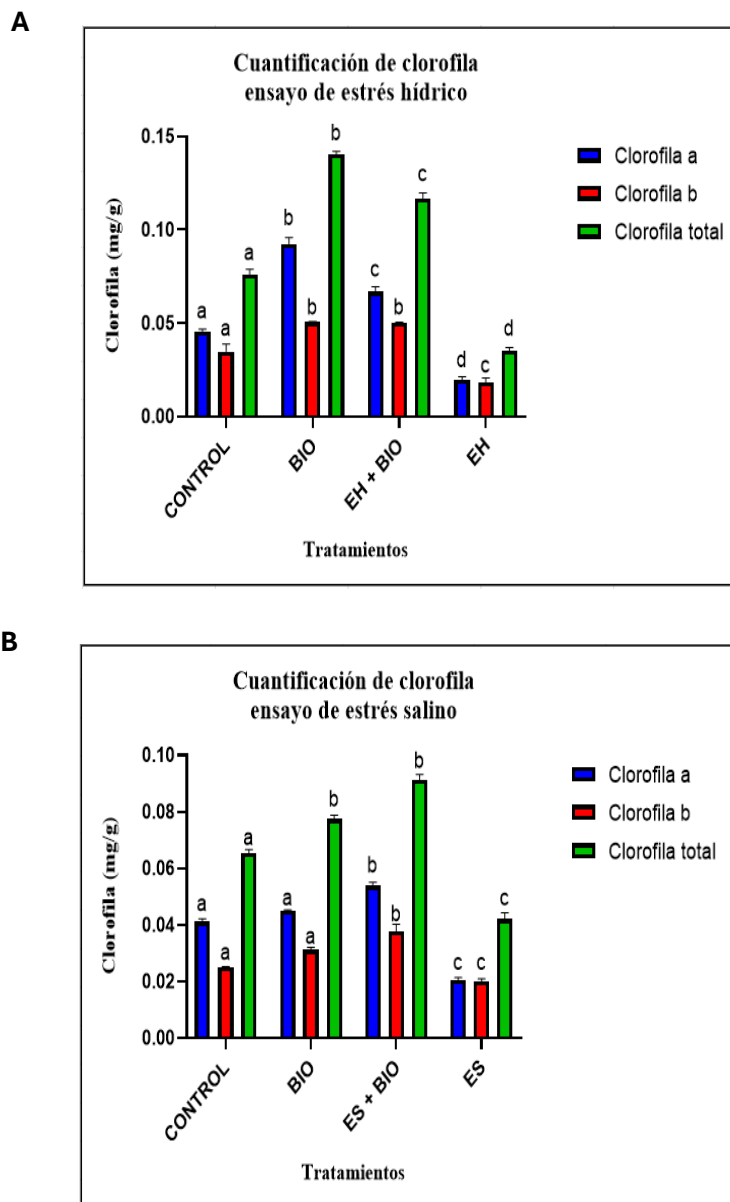


Figura 21. Efecto del bioinoculante multicépa sobre el contenido de clorofila a, b y total en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) sometidas a estrés hídrico y salino. A) estrés hídrico; B) estrés salino. Tratamientos: CONTROL: riego libre o sin NaCl; EH+BIO: estrés hídrico + bioinoculante; ES+BIO: estrés salino + bioinoculante, BIO: bioinoculante; EH: estrés hídrico; ES: estrés salino. Los datos se expresan como media $\pm$ SEM ($n = 3$) de mg/g de tejido fresco. Diferencias significativas fueron determinadas mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Diferentes letras sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

7.5 Cuantificación de prolina.

La acumulación de prolina fue evaluada como indicador bioquímico de la respuesta fisiológica de las plantas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry frente al estrés salino y la aplicación del bioinoculante multicepa. La cuantificación de prolina se realizó a partir de tres réplicas biológicas por tratamiento (n=3), cada una constituida por 500 mg de raíz obtenida de plántulas independientes seleccionadas de manera aleatoria. El extracto fue analizado por triplicado. Los resultados mostraron variaciones claras entre los tratamientos, lo que indica diferencias en el grado de estrés experimentado por las plantas.

La confiabilidad de la cuantificación se estableció mediante una curva de calibración de L-prolina (Figura 22), la cual mostró una relación lineal entre la absorbancia registrada a 595 nm y la concentración del estándar. La ecuación que se obtuvo muestra un coeficiente de determinación alto ($R^2 = 0.9806$), lo que indica que hay una relación lineal fuerte. Esto permite estimar con precisión la cantidad de prolina en las muestras que se analizaron.

El orden en que se analizaron las muestras se puede ver en la Figura 23, donde se indica la distribución de las mismas en una microplaca de 96 pozos que se usó para medir los resultados por espectrofotometría.

Al analizar las muestras de tejido radicular de las plantas que estaban bajo estrés salino, se encontró que el grupo ES tenía la mayor cantidad de prolina (2520 $\mu\text{g/g}$ PF). Esto indica que las plantas del grupo ES tuvieron una respuesta fisiológica más intensa al estrés salino y sugiere que experimentaron un mayor grado de estrés porque no tenían el bioinoculante.

Por otro lado, las plantas del grupo ES + BIO tuvieron una cantidad significativamente menor de prolina (1440 $\mu\text{g/g}$ PF), lo que muestra que la inoculación con el consorcio de actinobacterias ayudó a reducir el impacto del estrés salino y a disminuir la necesidad de que las plantas activaran mecanismos para compensar el estrés, como acumular prolina.

Los tratamientos Control y BIO tuvieron valores similares (1170 y 1260 $\mu\text{g/g}$ PF, respectivamente). No hubo diferencias estadísticas entre estos tratamientos y el tratamiento ES + BIO. El análisis estadístico los agrupó juntos, sin diferencias significativas entre ellos, mientras que el tratamiento ES se separó significativamente, lo que indica que solo hubo un aumento de prolina cuando las plantas estaban bajo estrés salino sin la inoculación bacteriana,

como se puede ver en la Figura 24. En general, los resultados indican que la inoculación con el consorcio de actinobacterias ayudó a reducir la respuesta osmótica asociada al estrés salino, lo que se refleja en una menor acumulación de prolina en raíz. Esto sugiere que las plantas inoculadas tuvieron un mejor estado fisiológico en general.

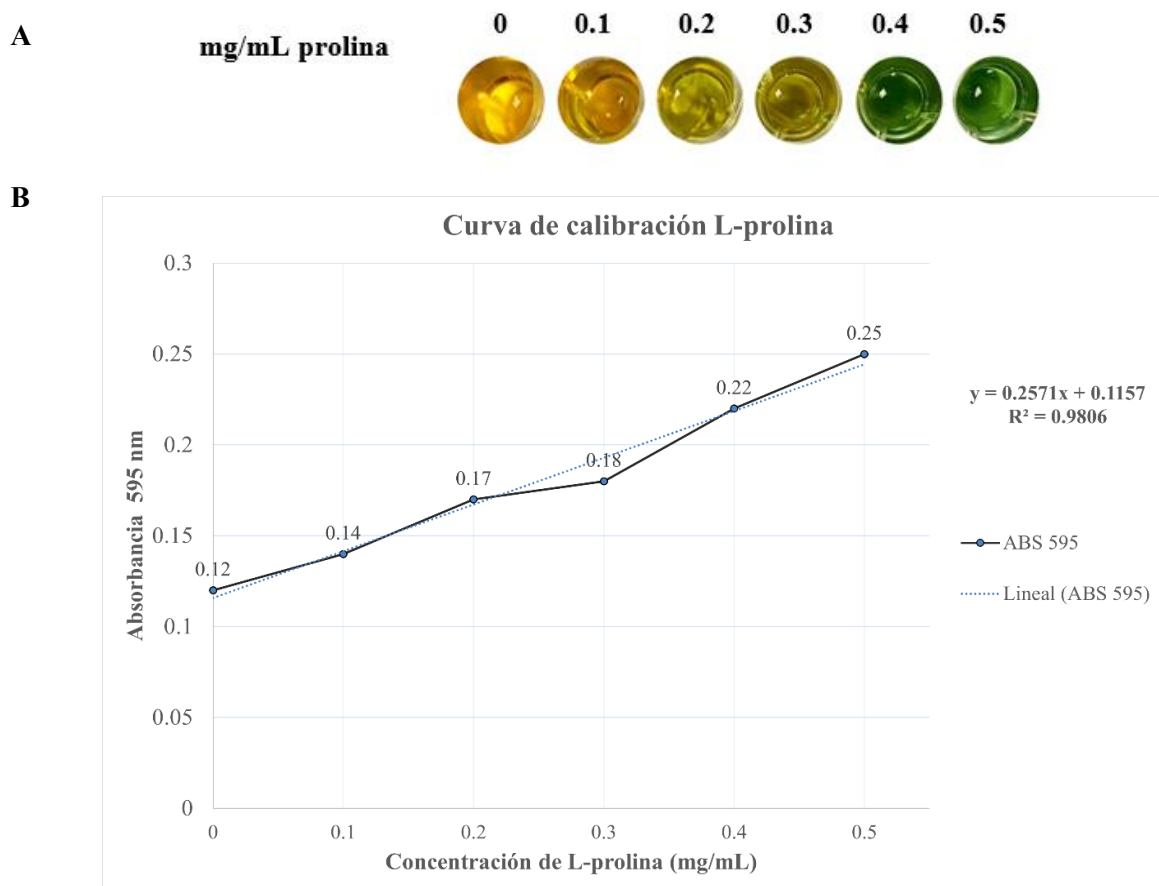


Figura 22. Curva de calibración para la cuantificación de L-prolina. A) Precipitado obtenido a diferentes concentraciones de L-prolina en agua después de reaccionar con isatina, se observa un incremento en la coloración conforme aumenta la concentración de prolina. B) Relación lineal entre absorbancia a 595 nm y concentración de prolina (mg/mL), mostrando ecuación de regresión y coeficiente de determinación ($R^2 = 0.9806$).

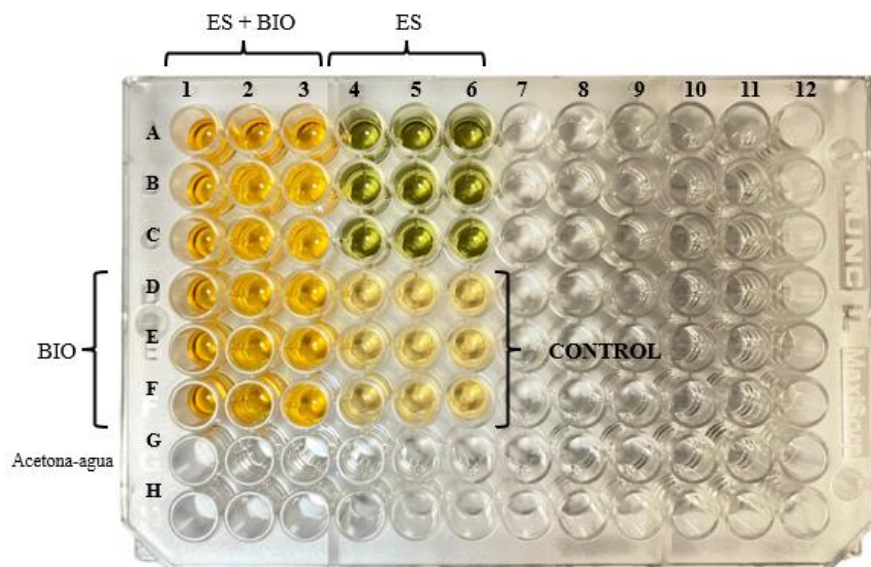


Figura 23. Disposición de tratamientos en microplaca de 96 pozos para cuantificación de prolina en raíz en plantas de tomate sometidas a estrés salino. Tratamientos: CONTROL: riego con agua sin NaCl; ES+BIO: estrés salino + bioinoculante; BIO: bioinoculante; ES: estrés salino; Blanco: acetona +agua (2:1). n=3 réplicas (500 mg de raíz de plantas independientes); cada muestra analizada por triplicado.

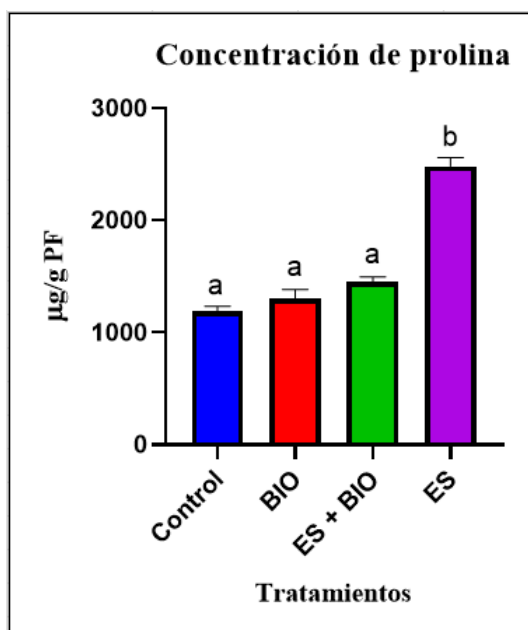


Figura 24. Contenido de prolina (µg/g) en tejido radicular fresco de plántulas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry inoculadas con un consorcio multicepa bajo condiciones de estrés salino. Tratamientos: CONTROL: riego sin NaCl; ES+BIO: estrés salino + bioinoculante, BIO: bioinoculante; ES: estrés salino. Los valores representan la media $\pm$ error estándar (SEM) (n = 3) en microgramos de prolina por gramo de peso fresco de raíz. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos determinadas mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

7.6 Evaluación de parámetros estomáticos

El análisis microscópico de las hojas evidenció diferencias claras en la morfología y estado funcional de los estomas entre los tratamientos evaluados bajo condiciones de estrés hídrico y salino (Figuras 25 y 26). En ambos ensayos, las plantas sometidas a estrés en ausencia del bioinoculante (EH y ES) presentaron en su mayoría estomas cerrados, así como alteraciones en la estructura de las células oclusivas, incluyendo pérdida de turgencia y deformaciones visibles. Este comportamiento fue más evidente bajo estrés hídrico, donde la mayoría de los estomas se observaron completamente cerrados, reflejando una limitación en el intercambio gaseoso asociada a la restricción hídrica (Figura 25B).

En contraste, las plantas tratadas con el bioinoculante (EH+*BIO* y ES+*BIO*) mostraron una mayor proporción de estomas abiertos, con células oclusivas bien definidas y un ostiolo claramente diferenciado, lo que sugiere una conservación de la funcionalidad estomática aún bajo condiciones de estrés. El grupo control presentó una morfología estomática uniforme, sin alteraciones visibles y con predominio de estomas abiertos, como es característico de plantas en condiciones no limitantes (Figura 25A; Figura 26A)

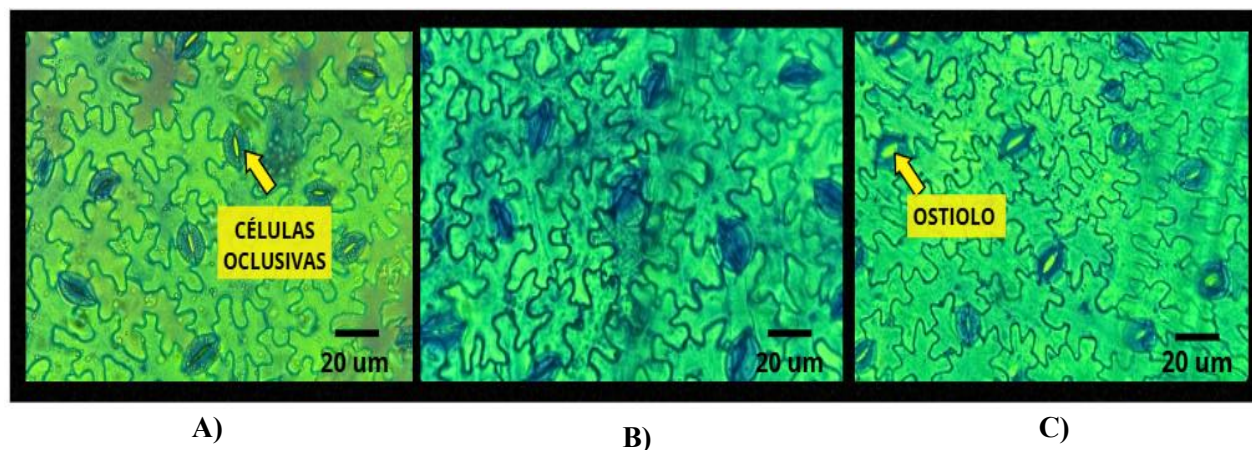


Figura 25. Micrografías de estomas en hojas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) sometidas a estrés hídrico. A) Control; B) EH; C) EH+*BIO*. Imágenes obtenidas mediante microscopía óptica a 40X con tinción azul de metileno 1% y filtro de contraste verde. Barra de escala: 20 µm.

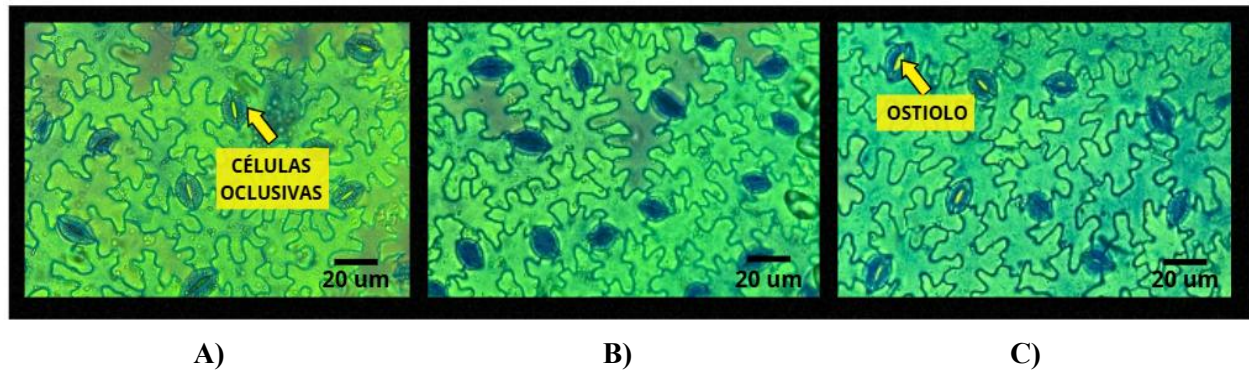


Figura 26. Micrografías de estomas en hojas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) sometidas a estrés salino. A) Control; B) ES; C) ES+PIO. Imágenes obtenidas mediante microscopía óptica a 40X con tinción azul de metileno 1% y filtro de contraste verde. Barra de escala: 20 µm.

La evaluación cuantitativa de los parámetros estomáticos confirmó las diferencias observadas a nivel microscópico. En ambos tipos de estrés, la longitud estomática fue mayor en las plantas inoculadas con el consorcio de actinobacterias, con valores cercanos a 20 µm, en comparación con el grupo control y los tratamientos sin inoculación (EH y ES), cuyos valores oscilaron entre 12 y 15 µm (Figura 27A y 28A). Esto sugiere que la estructura celular en los estomas se mantiene mejor en condiciones adversas.

Los tratamientos con bioinoculante tuvieron valores de apertura estomática más altos que los tratamientos solo sometidos a estrés. Esto indica que pueden regular mejor el intercambio de gases sin perder demasiada agua.

Por otro lado, la densidad estomática se comportó de manera diferente según el tipo de estrés aplicado. Bajo condiciones de déficit hídrico, el tratamiento EH+PIO presentó valores similares al control, mientras que el tratamiento EH mostró una reducción en el número de estomas por campo de visión (Figura 27B). en contraste, bajo estrés salino, el tratamiento ES+PIO registró la mayor densidad estomática, superando tanto al control como al tratamiento ES (Figura 28B).

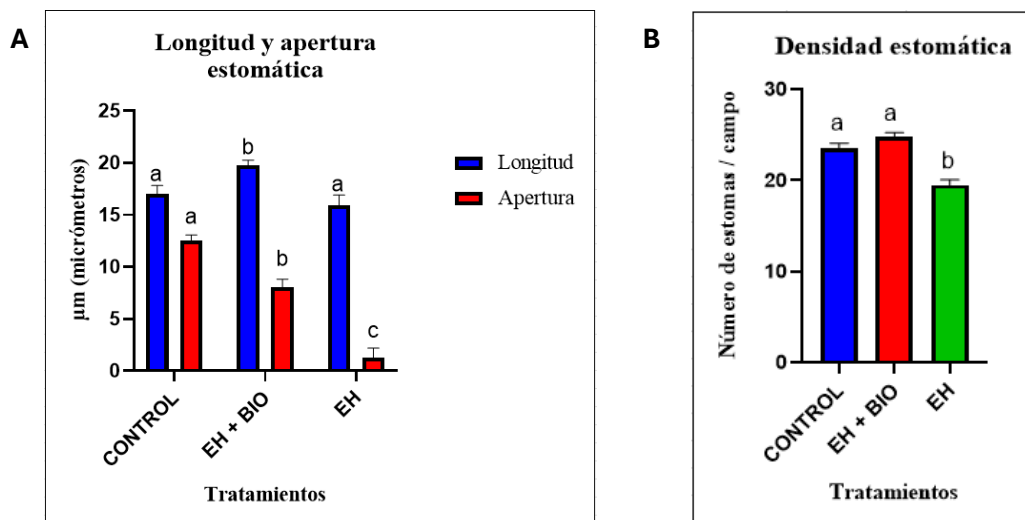


Figura 27. Parámetros estomáticos en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) bajo condiciones de estrés hídrico, con y sin inoculación del consorcio bacteriano. A) Longitud y apertura estomática promedio. Se midieron n= 18 estomas por planta y n= 6 plantas por tratamiento. Tratamientos: CONTROL: riego libre; EH+BIO: estrés hídrico + bioinoculante; BIO: bioinoculante; EH: estrés hídrico. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA con prueba de Tukey, $p \leq .05$).

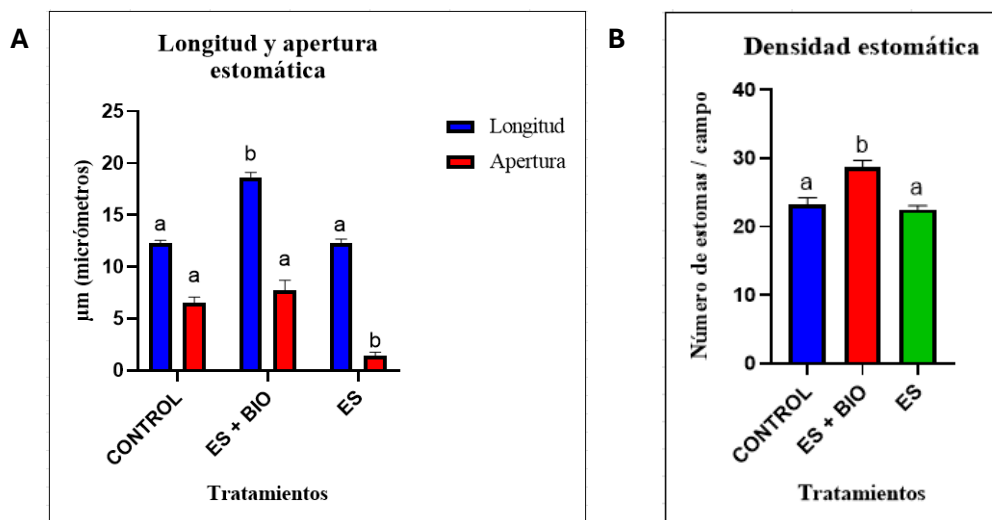


Figura 28. Parámetros estomáticos en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Cherry) sometidas a estrés salino, con y sin inoculación del consorcio bacteriano. A) Longitud y apertura estomática promedio. Se midieron n= 18 estomas por plantas y n= 6 plantas por tratamiento B) Densidad estomática (número de estomas por campo de visión). Se contaron estomas de n= 3 campos de visión por planta y n= 6 plantas por tratamiento. Tratamientos: CONTROL: riego sin NaCl; ES+BIO: estrés salino + bioinoculante, BIO: bioinoculante; ES: estrés salino. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA con prueba de Tukey, $p \leq 0.05$).

En conjunto, estos resultados indican que la inoculación con el consorcio de actinobacterias favorece el mantenimiento de la integridad estructural y funcional de los estomas bajo condiciones de estrés abiótico, lo que podría contribuir a una regulación más eficiente del balance hídrico y del intercambio gaseoso en las plantas tratadas.

7.7 Análisis de vasos de xilema.

El análisis de los cortes transversales de tallo reveló variaciones estructurales en los tejidos vasculares de las plantas sometidas a condiciones de estrés hídrico y salino (Figuras 29 y 30). En el grupo control, se vio que las plantas tenían una forma característica, haces vasculares bien organizados y vasos de xilema distribuidos de manera uniforme, presentando tamaños similares (Figura 29A; Figura 30A).

En cambio, las plantas que solo estuvieron bajo estrés (EH y ES) tuvieron menos vasos de xilema en cada haz vascular. En promedio, tenían menos de 10 vasos (Figura 31A), además, la forma en que estaban organizados los tejidos conductores no era tan clara. Bajo el microscópico, se vió que los haces vasculares de las plantas estresadas no estaban tan compactos y no contaban con una forma definida (Figura 29B; Figura 30B). Esto sugiere que el estrés afectó el desarrollo del sistema vascular en las plantas.

Por otro lado, las plantas tratadas con el bioinoculante bajo ambas condiciones de estrés (EH+BIO y ES+BIO) mantuvieron una organización vascular más definida, con haces bien definidos y un mayor número de vasos de xilema, llegando a tener alrededor de 16 vasos por haz (Figura 31A; Figura 29C; Figura 30C). Esto indica que el bioinoculante tuvo un efecto positivo en cómo se forman y mantienen los tejidos conductores.

En cuanto al ancho de los vasos de xilema, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 31B). Sin embargo, en los tratamientos con bioinoculante se observó una mayor uniformidad en el tamaño de los vasos y una disposición más ordenada dentro del haz vascular, en comparación con los tratamientos sometidos únicamente a estrés. Los resultados indican que la inoculación con el consorcio favorece la conservación de la arquitectura vascular bajo condiciones adversas, lo que podría contribuir a un transporte más eficiente de agua y solutos en las plantas tratadas.

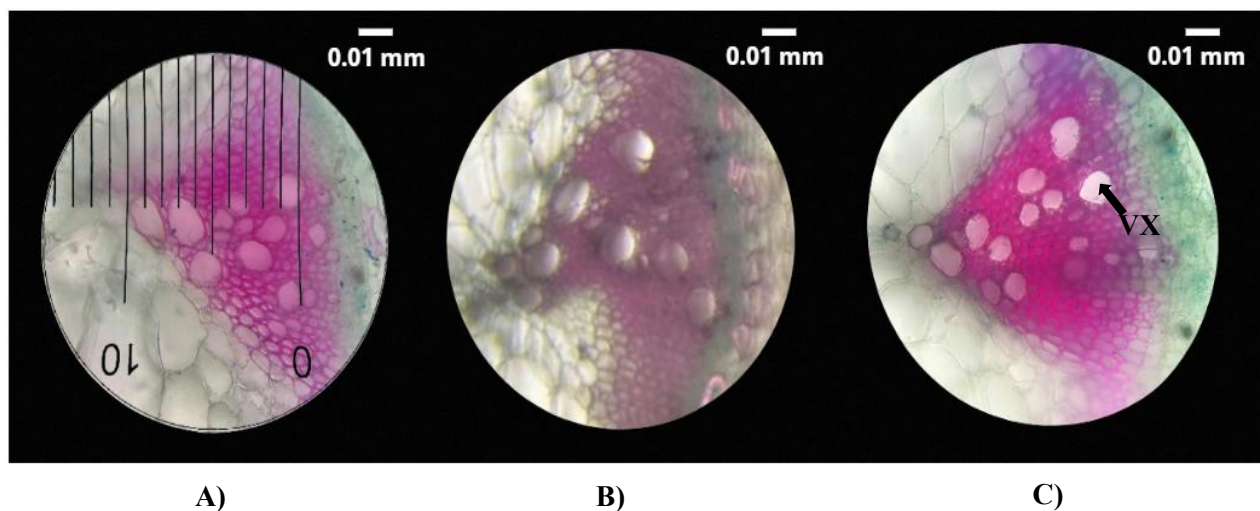


Figura 29. Corte transversal de tallo en plántulas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry sometidas a estrés hídrico. A) Control; B) EH; C) EH+BIO; VX= vaso de xilema. Imágenes obtenidas mediante microscopía óptica a 40X con tinción diferencial safranina-fast green. Barra de escala: 0.01 mm.

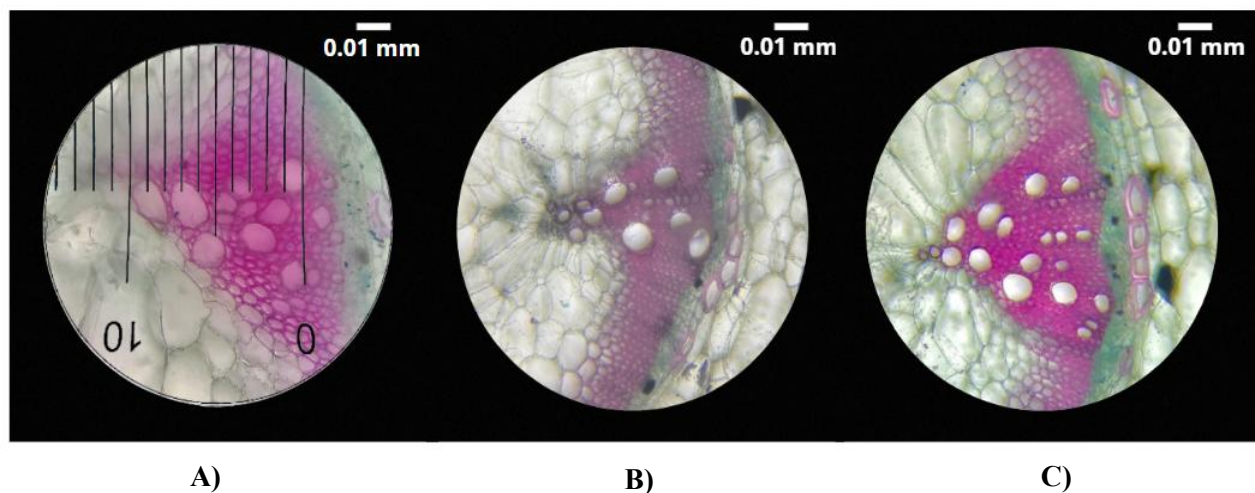


Figura 30. Corte transversal de tallo en plántulas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry sometidas a estrés salino. A) Control; B) ES; C) ES+BIO. Imágenes obtenidas mediante microscopía óptica a 40X con tinción diferencial safranina-fast green. Barra de escala: 0.01 mm.

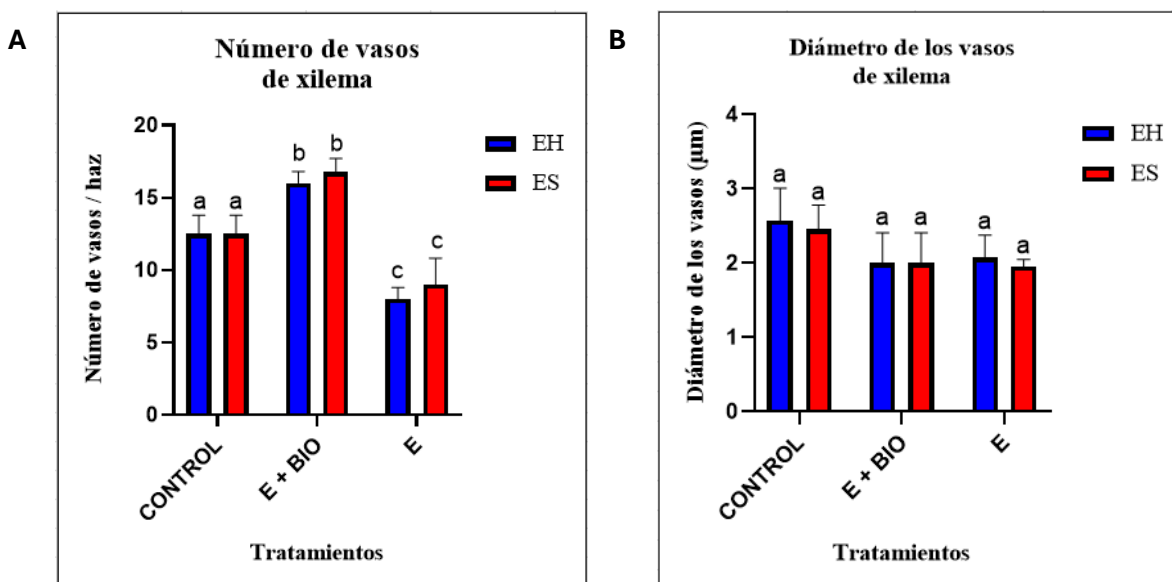


Figura 31. Parámetros del tejido vascular en plántulas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry bajo condiciones de estrés hídrico y salino, con y sin inoculación del consorcio bacteriano. A) Número de vasos de xilema por haz vascular. B) Diámetro de los vasos de xilema (µm). Se evaluaron n= 10 plantas por tratamiento y n= 3 haces vasculares por planta. Tratamientos: CONTROL: riego libre o sin NaCl; EH+BIO: estrés hídrico + bioinoculante; ES+BIO: estrés salino + bioinoculante, BIO: bioinoculante; EH: estrés hídrico; ES: estrés salino. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, prueba de Tukey, $p \leq 0.05$).

7.8 Identificación molecular del aislado 198.

7.8.1 Extracción de ADN genómico y ensamble.

La extracción de ADN genómico permitió obtener material de buena calidad, lo cual se corroboró mediante electroforesis en gel de agarosa, donde se observó una banda definida de alto peso molecular sin evidencia de degradación (Figura 32). Este resultado confirmó la integridad del ADN y permitió utilizarlo para análisis posteriores.

La secuenciación del genoma del aislado 198 arrojó resultados de calidad adecuados (Tabla 11). El ensamble resultante estuvo conformado por 172 contigs, una longitud total de 2,804,223 pb y un contenido de GC de 70.58%, ambas cifras esperadas para el grupo de las actinobacterias. Así mismo, se obtuvo un valor de N50 de 567,902 pb y L50 de 2, lo que indica un ensamblado relativamente continuo. El análisis de anotación permitió identificar 2,634 secuencias codificantes (CDS), así como 46 genes de tRNA y 5 genes de rRNA. La evaluación de la calidad del genoma

mediante QUAST y CheckM clasificó el ensamblado como de buena calidad, lo que respalda la confiabilidad de los análisis posteriores.

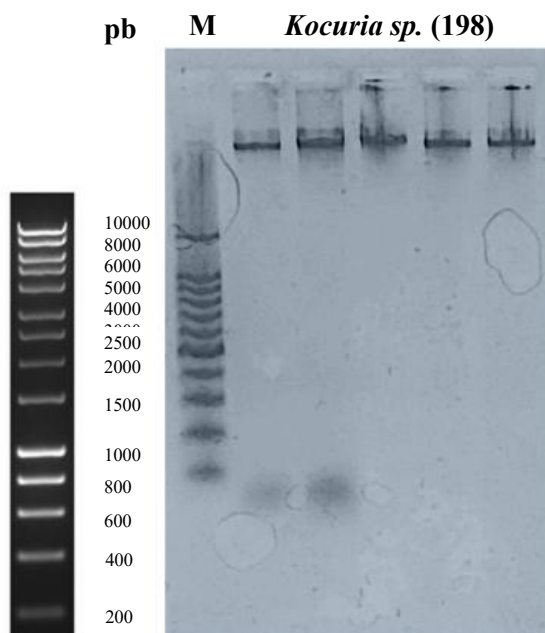


Figura 32. Electroforesis en gel de agarosa al 0.8% en TBE 1X del ADN genómico de la actinobacteria *Kocuria sp. 198*. Carril 1: marcador de peso molecular 1KB Ladder. Carril 2-6: DNA genómico de *Kocuria sp. 198*.

Tabla 11. Información general del ensamblaje del genoma del aislado 198.

	<i>198</i>
Tamaño del genoma (pb)	2,804,223
Contigs	172
Contenido %GC	70.58169
Contig L50	2
Contig N50	567,902
RNA _t	46
RNA _r	5
CDS	2,634
Calidad del genoma	Buena

El análisis de la filogenia mostró que el aislado 198 se agrupa dentro del clado correspondiente al género *Kocuria*, mostrando una estrecha relación con especies previamente reportadas dentro de este grupo, particularmente con *Kocuria rhizophila* TA68. Los valores de soporte obtenidos mediante Bootstrap indican una alta confiabilidad en la agrupación del aislado dentro de este clado (Figura 33).

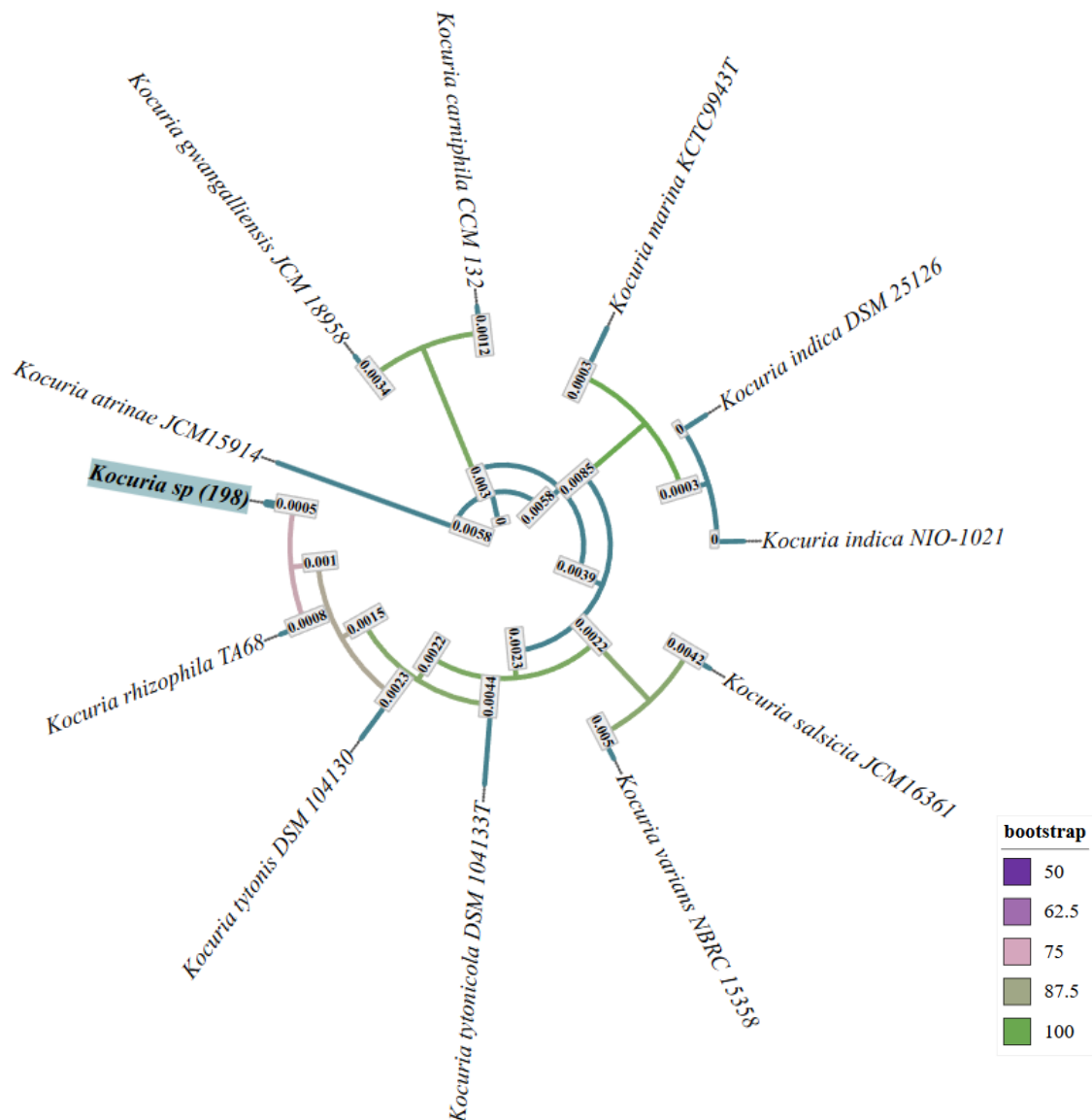


Figura 33. Árbol filogenético basado en el gen 16S ARNr y en el método de máxima verosimilitud (ML), que muestra la posición del aislado 198 dentro del género *Kocuria*. Los colores en los nodos representan el soporte de Bootstrap (%).

Estos resultados confirman la identidad del aislado 198 como perteneciente al género *Kocuria*. Con ello, se establece la identificación de los tres aislados utilizados en este estudio, correspondiente a dos del género *Streptomyces* y uno del género *Kocuria*, los cuales fueron empleados en la formulación del consorcio evaluado en los ensayos.

8. DISCUSIÓN

8.1 Consorcios microbianos como estrategia frente al estrés abiótico

La agricultura moderna enfrenta desafíos derivados de la escasez de agua y la salinización de los suelos, factores que impactan directamente la productividad vegetal y la estabilidad de los sistemas agrícolas. En este contexto, el uso de bioinoculantes formulados a partir de consorcios microbianos ha surgido como alternativa para disminuir el estrés en plantas. En este estudio, las actinobacterias *Streptomyces sp.* 518, *Streptomyces sp.* 670 y *Kocuria sp.* 198, aisladas de sitios con condiciones ecológicas extremas como Cuatro Ciénegas, Coahuila (CCC), tienen una ventaja adaptativa. Los microorganismos de estos ambientes suelen tener mecanismos naturales para tolerar el estrés, como producir osmoprotectores y antioxidantes. Estas características pueden transferirse o inducirse en la planta hospedera a través de la interacción en la rizósfera, lo que mejora su crecimiento en condiciones difíciles (Kozá *et al.* 2022; Alsharif *et al.* 2020).

Por otro lado, los consorcios de microorganismos, a diferencia de las cepas individuales, permiten que varios mecanismos de promoción del crecimiento vegetal interactúen al mismo tiempo, lo que lleva a efectos más consistentes.

Estos sistemas suelen estar formados por bacterias y hongos que trabajan juntos, favoreciendo procesos importantes como la producción de fitohormonas, la solubilización de nutrientes y la tolerancia al estrés ambiental (Ayan *et al.* 2021).

La selección de las cepas que conforman el consorcio (*Streptomyces sp.* 518, *Streptomyces sp.* 670 y *Kocuria sp.* 198) se basó en sus características funcionales previamente descritas como promotoras de crecimiento vegetal. En particular, el aislado *Kocuria sp.* 198 puede estimular el desarrollo de raíces secundarias y promover un sistema radicular más extenso, también puede solubilizar fosfatos, fijar nitrógeno y producir compuestos indólicos relacionados con la producción de fitohormonas, lo que se ha relacionado con un aumento en el peso fresco y la vitalidad de plántulas de *Arabidopsis thaliana* (Soto 2019).

Además, algunas especies del género *Kocuria*, como *Kocuria rhizophila*, tienen una alta expresión de genes relacionados con la respuesta antioxidante y la tolerancia a condiciones salinas. Esto sugiere que juegan un papel importante en la mitigación del estrés ambiental (Li *et al.* 2020).

Por su parte, los aislados *Streptomyces sp.* 518 y *Streptomyces sp.* 670 presentan características ampliamente asociadas a bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB), tales como la solubilización de fosfatos y fijación de nitrógeno, además de su capacidad para inducir tolerancia a condiciones adversas. Estas propiedades han sido reportadas para el género *Streptomyces*, el cual es reconocido por su versatilidad metabólica y su capacidad de interactuar de manera benéfica con las plantas (Blanco 2022; Horstman *et al.* 2020; Condori-Pacsi *et al.*, 2019; Gowdar *et al.* 2018). La integración de los tres aislados en un consorcio multicepa responde a la búsqueda de un efecto complementario, en el que la combinación de mecanismos fisiológicos y bioquímicos permita aumentar la tolerancia de las plantas frente a condiciones de estrés.

Diversos estudios han demostrado que los consorcios microbianos que incluyen actinobacterias presentan una mayor eficiencia en la promoción del crecimiento vegetal y en la mitigación del estrés abiótico en comparación con cepas individuales. En particular, se ha reportado que consorcios de actinobacterias rizosféricas son capaces de aliviar el estrés salino en plantas de tomate mediante la acción conjunta de diversos mecanismos promotores de crecimiento, como la producción de fitohormonas y la actividad de la enzima ACC desaminasa, la cual reduce los niveles de etileno asociados al estrés. Este efecto sinérgico permite mejorar el crecimiento y la adaptación de las plantas bajo condiciones salinas (Almazrouei *et al.* 2025).

En el presente estudio, la adición del consorcio de actinobacterias (*Streptomyces sp.* 518, *Streptomyces sp.* 670 y *Kocuria sp.* 198) al suelo, reflejó mejoras significativas a nivel fisiológico, bioquímico y anatómico en las plantas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry bajo condiciones de estrés hídrico y salino. Estos resultados coinciden con lo reportado por Cano y Zarazúa (2018), quienes demostraron que los consorcios de bacterias promotoras de crecimiento vegetal pueden activar diversas rutas metabólicas asociadas a la adaptación al estrés.

En este estudio, el comportamiento observado podría estar relacionado con la acción conjunta de los microorganismos que forman el consorcio. También es posible que haya otros mecanismos, como la actividad de una enzima llamada ACC desaminasa reportada en otros consorcios de actinobacterias que ayuda y participa de manera indirecta a reducir el estrés en las plantas, influyendo en cómo responden las plantas a las hormonas. Desde el punto de vista

de la biotecnología, estos resultados apoyan la idea de usar grupos de microorganismos como una estrategia sostenible para hacer que los cultivos sean más resistentes a condiciones ambientales difíciles.

8.2 Compatibilidad y sinergia del consorcio de actinobacterias

La falta de competencia entre los microorganismos *Streptomyces sp.* 518, *Streptomyces sp.* 670 y *Kocuria sp.* 198 es crucial para crear un bioinoculante efectivo. Los resultados muestran que estas cepas crecen bien juntas, sin señales de inhibición o problemas en su desarrollo, lo que indica que no hay interacciones negativas entre ellas. Esto es importante para asegurar que las tres cepas puedan coexistir y que el grupo funcione de manera eficiente.

Solis (2025) en su estudio del potencial de los consorcios microbianos en campos agrícolas en Cuba, demuestra que la compatibilidad entre microorganismos es un requisito indispensable ya que determina directamente su estabilidad, funcionalidad y eficacia como bioinoculante en condiciones reales. Además, Zelaya-Molina *et al.* 2025 en su estudio de implementación de un consorcio hongo-levadura-bacteria para la mejora del crecimiento temprano del maíz, aseguran que la compatibilidad de los aislados seleccionados tiene impacto tanto en la reproducibilidad del formulado, en su estabilidad durante el almacenamiento y en su desempeño en general. Es por eso que las pruebas de compatibilidad *in vitro*, como los ensayos de confrontación, son un paso fundamental en el diseño de consorcios microbianos, ya que permiten predecir parcialmente el comportamiento de las cepas cuando son aplicadas en conjunto.

Los resultados obtenidos en las pruebas de confrontación en placa demuestran la ausencia de antagonismo entre los aislados, lo que sugiere que los efectos observados *in vivo* son resultado de una acción conjunta, lo que refuerza la idea de un efecto sinérgico del consorcio.

8.3 Consorcio de actinobacterias con actividad promotora de crecimiento vegetal

La evaluación de crecimiento como la biomasa (fresca y seca), la longitud de la raíz principal y el número de raíces secundarias nos da una idea clara de la salud y capacidad para adaptarse a situaciones difíciles como la falta de agua y el exceso de sal. El sistema de raíces es especialmente importante porque determina que tan eficiente es la planta a la hora de buscar agua y nutrientes en el suelo. Si el suelo es pobre en recursos, una planta con un buen sistema de raíces tendrá más posibilidades de sobrevivir.

La medición del peso de la planta, la longitud de su raíz principal y el número de raíces secundarias permite ver de forma práctica cómo afecta la inoculación con un grupo de bacterias benéficas. En este contexto, la medición de estos parámetros permitió evaluar el efecto de la inoculación con el consorcio bacteriano compuesto por *Streptomyces sp.* 518, *Streptomyces sp.* 670 y *Kocuria sp.* 198, particularmente en relación con su capacidad para modular la arquitectura de las raíces y favorecer el crecimiento de las plantas bajo condiciones adversas.

En el caso de las plantas de tomate Cherry que se evaluaron, se observó que aquellas que fueron tratadas con el consorcio (*Streptomyces sp.* 518, *Streptomyces sp.* 670 y *Kocuria sp.* 198) tenían un mayor peso, tanto fresco como seco. Además, la raíz principal era más larga y tenían más raíces secundarias, especialmente cuando estaban sometidas a condiciones de estrés. Esto indica que las bacterias están ayudando a las plantas a explorar mejor el suelo y, por lo tanto, a obtener más agua y nutrientes, lo cual es vital cuando las condiciones son limitantes. Estos resultados sugieren que el uso de estos microorganismos puede ser una estrategia útil para mejorar el crecimiento de las plantas en condiciones difíciles, lo que podría ser valioso para la agricultura en áreas con suelos pobres o bajo estrés hídrico y salino.

La estimulación del sistema radicular ha sido ampliamente asociada a la producción de fitohormonas, particularmente auxinas como el ácido indolacético (AIA), por parte de bacterias rizosféricas (Palacio *et al.* 2016). En este sentido, se ha observado en estudios anteriores que el aislado *Kocuria sp.* 198 presenta la capacidad de producir compuestos indólicos (Soto 2019), lo que podría estar directamente relacionado con los cambios observados en la arquitectura radicular. Asimismo, se ha reportado que actinobacterias del género *Streptomyces* pueden inducir la formación de raíces laterales, incrementando la eficiencia en la captación de recursos (Soto 2019). En el presente estudio, el incremento en el número de raíces laterales, el cual fue de hasta tres veces mayor a las plantas no inoculadas, sugiere un efecto del consorcio, posiblemente mediado por la síntesis de reguladores de crecimiento y metabolitos bioactivos. A pesar de que en otros trabajos se ha reportado que la interacción entre cepas supera a los efectos individuales (Nunes *et al.* 2024), en el presente trabajo solo se evaluó el efecto del consorcio respecto al grupo control, sin embargo, debería incluirse este ensayo en futuras evaluaciones.

Adicionalmente, se observó un incremento en el contenido relativo de agua (CRA) en plantas inoculadas y tratadas bajo estrés hídrico y salino, en comparación con las no inoculadas, lo que Ledesma y colaboradores (2019) reportan como una mejora en la capacidad de mantenimiento del estado hídrico, factor determinante en la tolerancia al estrés. Este efecto puede estar asociado a diversos mecanismos, incluyendo la producción de exopolisacáridos que favorecen la retención de agua en la rizósfera, así como la posible regulación de acuaporinas en tejidos vegetales (Santillana 2021), o simplemente al aumento del área de absorción de pelos radiculares.

De manera complementaria, la mejora en la turgencia de las hojas y la capacidad de recuperarse después del estrés, sugieren que el consorcio contribuye a mantener la homeostasis celular y a una respuesta fisiológica más eficiente durante y después de la exposición a condiciones adversas. Estos resultados concuerdan con estudios que reportan que las PGPB pueden modular respuestas hormonales reduciendo los efectos del estrés mediante la regulación bioquímica a través de la enzima ACC desaminasa (Padilla 2024).

8.4 Modulación de pigmentos fotosintéticos y respuesta osmótica bajo estrés abiótico

El consorcio *Streptomyces sp.* 518, *Streptomyces sp.* 670 y *Kocuria sp.* 198. no solo favoreció la conservación de los pigmentos fotosintéticos, también ayudó a modular la respuesta osmótica de las plantas de tomate var. Cherry bajo condiciones de estrés abiótico, particularmente en estrés salino. En ambos ensayos, las plantas inoculadas y sometidas a estrés mostraron un aumento significativo en el contenido de clorofila a, b y total en comparación con aquellas sometidas únicamente a estrés, lo que indica una mayor estabilidad del aparato fotosintético. Anteriormente se ha reportado que la degradación de clorofila es uno de los primeros indicadores del daño celular inducido por estrés abiótico (Chauhan *et al.* 2023); por lo que su mantenimiento e incluso su incremento en presencia del consorcio, sugiere una protección efectiva de la maquinaria fotosintética, particularmente a nivel de los tilacoides y de la eficiencia en los procesos de captura y transformación de energía luminosa.

Este efecto puede explicarse como el resultado de una red de mecanismos inducidos por la interacción planta-microorganismo. Se ha observado que bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB), incluyendo especies del género *Streptomyces*, aumentan la actividad de enzimas que protegen a las plantas del daño oxidativo como la superóxido dismutasa (SOD),

catalasa (CAT) y peroxidasas. Esto es especialmente importante cuando las plantas están bajo estrés, ya que ayuda a mitigar el daño en los cloroplastos y preservar la integridad de los pigmentos fotosintéticos (Solano y Castro, 2018). Nivedita y colaboradores en el año 2024 demostraron que el tratamiento con consorcios de *Streptomyces* en plantas de arroz aumenta la actividad de estas enzimas cuando las plantas están sufriendo estrés ambiental, en comparación con plantas no inoculadas. Es importante mencionar que estos efectos no se deben a una producción directa de antioxidantes por parte de las bacterias, sino principalmente a la activación de sistemas antioxidantes propios de la planta. Además, se ha reportado que las PGPB pueden inducir la expresión de genes que están asociados al sistema de respuesta antioxidante, incluyendo algunos que codifican para enzimas como SOD, CAT y APX, que fortalecen la capacidad de detoxificación de ROS y contribuyen a la protección de la fotosíntesis (Yang *et al.* 2009).

Es importante destacar que el tomate (*Solanum lycopersicum*) es una planta con metabolismo fotosintético tipo C3, lo que significa que es más susceptible a la fotorrespiración cuando está bajo estrés. En este tipo de plantas, existe una enzima llamada ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa o Rubisco que puede tener actividad oxigenasa en lugar de carboxilasa, especialmente cuando hay menor disponibilidad de CO₂, como ocurre durante el cierre de los estomas que ocurre cuando hay falta de agua o exceso de sales en el suelo. También se ha reportado que la fotorrespiración aumenta a altas temperaturas y cuando hay baja concentración de CO₂, lo que hace que la capacidad de realizar fotosíntesis en la planta sea menor (INTAGRI 2018). Estos factores hacen que las plantas C3 sean vulnerables a condiciones de estrés ambiental en comparación con plantas tipo C4, que cuentan con mecanismos que reducen la actividad oxigenasa de la enzima rubisco. En este contexto, es probable que el consorcio ayude de forma indirecta a que la fotorrespiración sea menor al mejorar el estado hídrico de la planta, ocasionando que haya más CO₂ disponible y que la incorporación de oxígeno al ciclo de Calvin sea menor.

Además de la respuesta antioxidante, el aumento en el contenido de clorofila de las plantas inoculadas sugiere que están participando múltiples rutas fisiológicas y metabólicas que juntas ayudan a que las plantas mantengan sus cloroplastos en buen estado a pesar de estar bajo estrés ambiental (Glick 2012). A nivel metabólico, estas interacciones ayudan a que haya una mejor

disponibilidad y captación de nutrientes que son esenciales, como el nitrógeno, hierro y magnesio, este último es un componente central de la molécula de clorofila, por lo que puede estimular su síntesis mediante la regulación de genes como HEMA1, CHLH y POR (González *et al.* 2021). Además, la mejora en el estado hídrico de la planta y la producción de osmoprotectores como prolina y glicina betaína contribuye a una mejor estructura de las membranas del tilacoide cuando hay condiciones osmóticas adversas. Estos mecanismos sugieren que el consorcio de actinobacterias está regulando la fisiología fotosintética, promoviendo la síntesis y conservación de la clorofila, lo que se traduce en una mayor tolerancia al estrés (Glick 2012).

La prolina es un osmolito que ayuda a las plantas a ajustarse a condiciones adversas, especialmente al estrés hídrico y salino. Su acumulación no solo contribuye al ajuste osmótico, sino que también participa en la estabilización de estructuras celulares. (Valdés *et al.* 2012). Adicionalmente, se ha reportado que la prolina es un amortiguador redox, por lo que ayuda a la detoxificación de ROS y a la protección del aparato fotosintético. Además de su función osmoprotectora, la prolina también está implicada en procesos de señalización relacionados a la respuesta al estrés, regulando rutas metabólicas que hacen más fácil la adaptación y recuperación de la planta (Hayat *et al.* 2012). Por estas razones, cuantificar prolina representa un indicador fisiológico importante para evaluar el grado de estrés y la eficacia de mecanismos de mitigación inducidos por factores externos, como la interacción con microorganismos benéficos.

En este estudio, se encontró que las plantas bajo a estrés salino presentaron el mayor contenido de prolina, alcanzando valores aproximados de 2520 µg/g PF, mientras que las plantas inoculadas con el consorcio de actinobacterias (*Streptomyces sp.* 518, *Streptomyces sp.* 670 y *Kocuria sp.* 198) bajo el mismo estrés mostraron valores cercanos a 1440 µg/g PF, por lo que hubo una disminución aproximada del 40 % en la acumulación de este osmolito. Es importante mencionar que los niveles de prolina en las plantas inoculadas continuaron siendo altos en comparación con condiciones no estresantes, lo que concuerda con lo reportado por Salem y colaboradores en 2024, en donde observaron que la interacción con bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB) puede desencadenar una respuesta fisiológica moderada que involucra la acumulación de osmolitos. En este sentido, la inoculación no elimina por completo

la respuesta al estrés, sino que ayuda a que se pueda regular, permitiendo mantener niveles funcionales de prolina que son necesarios para proteger las células sin alcanzar concentraciones asociadas a un estado de estrés severo. Este patrón se puede explicar, en parte, por la modulación del metabolismo de la prolina a nivel molecular. Hayat y colaboradores en el año 2012 reportaron que, bajo condiciones de estrés, la prolina se produce principalmente a partir de glutamato mediante la acción de enzimas clave como la pirrolina-5-carboxilato sintasa (P5CS) y la pirrolina-5-carboxilato reductasa (P5CR), cuyos niveles de expresión aumentan en respuesta a la aplicación de NaCl, lo que favorece la acumulación de este osmolito (Chávez y González, 2009). De igual forma, la acumulación de prolina puede regularse no solo por su síntesis, sino también por su degradación a través de la enzima prolina deshidrogenasa (ProDH) (Mushtaq *et al.* 2025).

En este sentido, la inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB) podría contribuir a disminuir la activación de rutas biosintéticas y a modular el equilibrio metabólico, ya sea mediante la regulación de la expresión génica, la inactivación de la vía biosintética o indirectamente a través de la mejora del estado hídrico y nutricional de la planta. Adicionalmente, se ha reportado que, si bien la acumulación de prolina es fundamental para la adaptación al estrés, niveles excesivos pueden comprometer el crecimiento óptimo de la planta (Valdés *et al.* 2012). Por lo tanto, los efectos observados sugieren que la disminución en la acumulación de prolina en plantas inoculadas no implica una mejor capacidad de respuesta al estrés, sino un estado fisiológico más estable, en el cual la planta no requiere activar en exceso mecanismos de defensa osmótica (Díaz *et al.* 1999).

La respuesta de las plantas al estrés no solo se trata de acumular prolina, sino que también involucra otros compuestos compatibles como la glicina-betaína, trehalosa y algunos azúcares, mismos que (Chávez y González, 2009) mencionan que se suelen involucrar en la protección de membranas y en el mantenimiento del buen estado de la planta. Es probable que el consorcio esté modulando diversas rutas metabólicas a la misma vez, lo que abre la posibilidad de futuros estudios que estén enfocados en el análisis metabolómico que permita dilucidar con mayor precisión los mecanismos que están involucrados en la mitigación del estrés inducida por consorcios microbianos.

8.5 Adaptaciones anatómico-funcionales: estomas y tejidos de conducción

Los resultados del análisis de hojas y tallos muestran que la inoculación con el consorcio de actinobacterias tiene un impacto en variables fisiológicas y también induce cambios estructurales que ayudan a la planta a soportar mejor el estrés hídrico y salino.

En las hojas, se observaron diferencias claras en la forma de los estomas entre los tratamientos. Las plantas que estaban bajo estrés sin inoculación (EH y ES) tenían mayor cantidad de estomas cerrados, así como cambios en la forma de las células oclusivas, lo significa que perdieron turgencia y sufrieron daño en el aparato estomático.

Esto coincide con lo que encontraron Florido y Bao (2014), quienes describen que el cierre estomático es una estrategia que las plantas utilizan para adaptarse al estrés ambiental. Al disminuir la apertura estomática, la planta limita la pérdida de agua por transpiración, pero también restringe el intercambio de gases, lo que puede afectar negativamente la fotosíntesis.

Por otro lado, las plantas tratadas con el consorcio tuvieron más cantidad de estomas abiertos, con ostiolas claramente visibles y células oclusivas bien definidas. En condiciones de estrés hídrico, la apertura estomática en plantas inoculadas era de aproximadamente 8 μm , en comparación con 1 μm en plantas no inoculadas. Esto significa que la apertura estomática era 8 veces mayor ($p \leq 0.05$). De manera similar, la longitud de los estomas aumentó de 16 μm en plantas bajo estrés, a 20 μm en plantas inoculadas, lo que es un incremento del 25%. En el caso del estrés salino, se observó una tendencia similar, con aperturas estomáticas fue de 7-8 μm en plantas inoculadas y 1-2 μm en plantas sin tratamiento. Estos resultados sugieren que las plantas inoculadas mantuvieron la turgencia celular y que regularon eficientemente la apertura de los estomas, lo que facilita el intercambio de CO_2 y evita pérdidas excesivas de agua. Moreno F. (2009) describe este fenómeno como un equilibrio fundamental para mantener la actividad fotosintética bajo estrés abiótico, lo que coincide con los resultados de este estudio.

El análisis de la densidad estomática mostró que, bajo estrés hídrico, las plantas no inoculadas tenían alrededor de 20 estomas por campo, mientras que las plantas control y las inoculadas tenían alrededor de 24-25 estomas por campo, lo que es una disminución del 20%. En contraste, bajo condiciones de estrés salino, las plantas inoculadas tenían una densidad estomática mayor (29-30 estomas por campo) en comparación con las plantas sometidas únicamente a estrés y el control (22-23 estomas por campo), mostrando diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Esto

sugiere que, en condiciones salinas, el consorcio no solo mejora la funcionalidad estomática, sino que también puede influir en la regulación de la densidad de los estomas.

A nivel de tejido vascular, los cortes transversales de tallo mostraron que las plantas sometidas a estrés hídrico sin inoculación tenían una reducción en el número de vasos de xilema del 50% ($p \leq 0.05$). En estrés salino se observó una tendencia similar, con valores de aproximadamente 17 vasos por haz en plantas inoculadas y 9 vasos por haz en plantas no inoculadas, lo que representa una disminución del 45-50%. Estas alteraciones de la estructura pueden limitar la eficiencia en el transporte de agua y nutrientes, lo que puede acelerar los efectos negativos del estrés sobre el crecimiento y desarrollo de la planta (Garzón y García, 2011). Por el contrario, las plantas tratadas con el consorcio conservaron una organización vascular más pareja, lo que es importante porque un mayor número de vasos conductores puede traducirse en una mejor capacidad de transporte y distribución de agua desde la raíz hasta el tejido aéreo.

En contraste, el diámetro de los vasos de xilema no mostró diferencias significativas entre tratamientos, manteniéndose en valores de 2-2.5 μm . Esto indica que el efecto del consorcio se asocia principalmente con el número y la organización de los vasos, más que con cambios en su diámetro.

Estudios previos han reportado que las PGPB pueden producir cambios en la anatomía de las plantas, incluyendo modificaciones en la densidad de los estomas y en la arquitectura de los vasos, lo que ayuda a mejorar la eficiencia en el uso del agua y la tolerancia al estrés (Gen *et al.* 2025). En este sentido, los resultados obtenidos confirman que el consorcio de actinobacterias no solo actúa a nivel fisiológico y bioquímico, sino que también promueve ajustes estructurales que favorecen la capacidad adaptativa de la planta.

8.6 Identificación molecular y taxonómica del consorcio

La identificación del aislado 198 como parte del género *Kocuria*, junto con la caracterización de los otros dos aislados como *Streptomyces sp.*, nos da una base sólida para entender los efectos observados en la planta. Esto es importante porque diferentes grupos de bacterias tienen habilidades metabólicas únicas que influyen en cómo interactúan con las plantas.

Las actinobacterias, especialmente el género *Streptomyces*, son conocidas por promover el crecimiento de las plantas (PGPR) y por ayudar a reducir el estrés causado por factores como

la salinidad. Hay evidencia previa de que las cepas de *Streptomyces* pueden mejorar el crecimiento de las plantas en suelos salinos mediante varios mecanismos, como hacer que los fosfatos sean más accesibles, producir sideróforos y tener actividad en la desaminasa ACC. Nozari y colaboradores en el año 2021 encontraron que cuando se inoculan plantas de maíz de 20 días de crecimiento con *Streptomyces spp.* bajo condiciones de estrés salino, aumenta significativamente la biomasa de las plantas y su capacidad para combatir el estrés oxidativo. Estos efectos fueron atribuidos a la activación simultánea de rutas metabólicas relacionadas con la regulación hormonal.

De manera similar, estudios con cepas halotolerantes de *Streptomyces* han demostrado que estos microorganismos que pueden vivir en ambientes salinos no solo sobreviven en esas condiciones, sino que también pueden promover el crecimiento de las plantas. El trabajo de Ventura (2021) demostró que la inoculación con cepas de *Streptomyces* en suelos salinos aumenta la longitud de las raíces, la biomasa aérea y el desarrollo general de la planta, lo que se asocia con una mejor absorción de agua y nutrientes. Además, se ha reportado que estas cepas producen compuestos indólicos y solubilizan nutrientes, lo que refuerza su papel como agentes biofertilizantes en ambientes desafiantes (Islas *et al.* 2024). Los resultados anteriores respaldan el papel funcional de los aislados *Streptomyces sp.* 518 y *Streptomyces sp.* 670 dentro del consorcio evaluado en este estudio.

Aunque el género *Kocuria* ha sido menos estudiado en el sector agrícola, hay evidencia de que también puede promover el crecimiento de las plantas y ayudarlas a tolerar el estrés. Estudios recientes han encontrado que especies de *Kocuria* aisladas de la rizósfera tienen características que las hacen útiles para el crecimiento de plantas como *Zea mays* y *Solanum lycopersicum*, incluyendo la producción de metabolitos secundarios, actividad enzimática y adaptación a ambientes con alta salinidad (Bortolami 2024; Mauceri *et al.* 2024). Se ha observado que cepas de *Kocuria* pueden ayudar a las plantas a mantener el equilibrio celular mediante la regulación de respuestas antioxidantes y la expresión de genes relacionados con la tolerancia al estrés (Li *et al.* 2020).

En este contexto, incluir el aislado *Kocuria sp.* 198 en el consorcio es relevante no solo por sus características previamente descritas, como la producción de compuestos indólicos y la promoción del desarrollo radicular (Soto 2019), sino también por su papel en la modulación de

la respuesta al estrés a nivel fisiológico y molecular. Aunque todavía hay poco conocimiento sobre este género en comparación con *Streptomyces*, los estudios actuales sugieren que su participación en consorcios microbianos puede potenciar efectos sinérgicos importantes en la interacción planta-microorganismo.

En cuanto a taxonomía, la identificación a nivel de género, pero no de especie, es una limitación común en estudios basados únicamente en secuencias del gen 16S rRNA. Este último, aunque ampliamente utilizado para la identificación bacteriana, presenta una resolución limitada para discriminar entre especies filogenéticamente cercanas, especialmente dentro de géneros complejos como *Streptomyces* y *Kocuria*, donde muchas especies comparten porcentajes de identidad superiores al 97-99% (Ortiz *et al.* 2017). Esta limitación impide una asignación taxonómica precisa a nivel de especie únicamente con este enfoque.

Se ha reportado que el gen 16S rRNA puede presentar múltiples copias dentro del genoma bacteriano, lo que puede generar problemas en la identificación de cepas estrechamente relacionadas. En el trabajo de Sánchez y colaboradores en el año 2017 se realizaron estudios con el género *Nocardia*, en donde el gen 16S rRNA resultó insuficiente para discriminar entre especies debido a la cercanía filogenética de las mismas. En este caso, después de probar otros genes a través de la amplificación por PCR de sus segmentos: *sodA* (gen que codifica la enzima superóxido dismutasa), *gyrB* (subunidad β de la ARN girasa), *rpoB* (subunidad β de la ARN polimerasa), *hsp65* (proteína de choque térmico), *secA1* (subunidad de translocasa de la preproteína secA) y el espaciador intergénico 16S-23S, los autores únicamente pudieron discriminar entre especies estrechamente relacionadas de *Nocardia* mediante el gen *sodA*. Por lo tanto, para tener una identificación más robusta, es necesario complementar el análisis con herramientas de mayor resolución, como el análisis de secuencias multilocus (MLSA) o la secuenciación de genes que codifican proteínas con funciones conservadas (housekeeping). Estos enfoques, junto con herramientas genómicas como el análisis de identidad promedio de nucleóticos (ANI), permiten establecer relaciones filogenéticas con mayor precisión y delimitar especies bacterianas con mayor certeza (Cortes *et al.* 2020).

En este contexto, no se puede descartar que los aislados evaluados en este estudio sean especies nuevas, especialmente considerando que se obtuvieron de ambientes con características ecológicas extremas, los cuales suelen albergar una alta diversidad microbiana que no ha sido

descrita. Sin embargo, se necesitan estudios adicionales a nivel genómico, fisiológico y bioquímico que permitan establecer con mayor certeza su estatus taxonómico.

La caracterización taxonómica del consorcio es importante porque no solo valida su composición, sino que también ayuda a entender cómo funciona, fortaleciendo la interpretación biológica de los resultados. Además, esta caracterización abre la puerta a futuras investigaciones orientadas a un enfoque funcional y evolutivo, lo que podría llevar al descubrimiento de nuevos microorganismos con aplicaciones biotecnológicas en la agricultura sostenible.

9. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el consorcio multicepa integrado por los aislados *Streptomyces sp.* 518, *Streptomyces sp.* 670 y *Kocuria sp.* 198, originarios de Cuatro Ciénegas, Coahuila, posee un alto potencial como bioinoculante promotor de crecimiento vegetal y como inductor de tolerancia al estrés hídrico y salino en plantas de *Solanum lycopersicum* var. Cherry. La identificación taxonómica de los aislados dentro de los géneros *Streptomyces* y *Kocuria*, permitió sustentar la diversidad funcional del consorcio y facilitó la interpretación de los mecanismos asociados a su actividad biológica.

La ausencia de antagonismo entre las cepas validó la compatibilidad del consorcio y respaldó su aplicación como bioinoculante. Esta interacción se reflejó de manera constante en los ensayos *in vivo*, donde las plantas inoculadas mostraron mejoras significativas a nivel fisiológico, bioquímico y anatómico-funcional. Además, el aumento en biomasa fresca y seca, así como un aumento en el contenido relativo de agua (CRA) se interpreta como una mejor capacidad de crecimiento y mantenimiento del estado hídrico bajo condiciones de estrés.

La estimulación del sistema radicular, el incremento de raíces secundarias, la conservación de pigmentos fotosintéticos y la menor acumulación de prolina en plantas inoculadas con el consorcio son una clara evidencia de una modulación eficiente de la respuesta al estrés, reflejando un estado fisiológico más estable y menos afectado por condiciones adversas. Así mismo, la regulación de la apertura estomática y el mantenimiento de la organización vascular demuestran que el efecto del consorcio no se limita a un solo nivel de respuesta, sino que involucra regulación a nivel fisiológico, bioquímico y estructural de la planta. En conjunto, los resultados de este trabajo confirman que las actinobacterias provenientes de ecosistemas extremos como CCC, representan un recurso microbiano de alto valor biotecnológico. Su aplicación en forma de consorcio multicepa constituye una estrategia prometedora para el desarrollo de formulados sostenibles, capaces de mejorar la resiliencia de los cultivos frente a condiciones de estrés abiótico.

Este estudio es el punto de partida para futuros trabajos de investigación que buscan entender cómo interactúan las plantas y los microorganismos a nivel molecular, así como la evaluación del consorcio en condiciones de campo. Al combinar estos enfoques, se podrá avanzar hacia el uso efectivo de bioinoculantes como una alternativa más sostenible en la agricultura actual.

10. PERSPECTIVAS

Profundizar en la caracterización molecular del consorcio mediante la identificación de genes y metabolitos relacionados con la tolerancia al estrés ambiental, la producción de hormonas vegetales y la síntesis de compuestos con actividad biológica permitirá entender con mayor precisión los mecanismos responsables de los efectos observados.

Optimizar la formulación del consorcio evaluando diferentes soportes, métodos de encapsulación y condiciones de almacenamiento, con el fin de mejorar su estabilidad, viabilidad y durabilidad como bioinoculante.

Además, es importante realizar pruebas en campo para evaluar la eficacia del consorcio en condiciones ambientales variables, su capacidad para colonizar la rizosfera y su impacto en el rendimiento del cultivo.

Evaluar la aplicación del consorcio en otras variedades de *Solanum lycopersicum* y en cultivos de interés agrícola sensibles a estrés hídrico o salino, así como analizar su interacción con la microbiota rizosférica nativa.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Ahluwalia, O., Singh, P. C., & Bhatia, R. (2021). A review on drought stress in plants: Implications, mitigation and the role of plant growth promoting rhizobacteria. *Resources, Environment and Sustainability*, 5, 100032. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2021.100032C>
- Almazrouei, L. M., Purayil, G. P., Alnuaimi, L. S., Barhum, A. I., Elameen, A. J., Ibrahim, S. M., Elnahhas, R. B., AbuQamar, S. F., & El-Tarabily, K. A. (2025). Rhizosphere-competent actinobacterial consortium alleviates salinity stress in tomato through plant growth-promoting traits and ACC deaminase activity. *BMC Plant Biology*, 25(1), 1443. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-07446-1>
- Alsharif, W., Saad, M. M., & Hirt, H. (2020). Desert Microbes for Boosting Sustainable Agriculture in Extreme Environments. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1666. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01666>
- Alvarez-Sastre, C., & Carro, L. (2022). Desert Actinobacterial Strains Increase Salt Stress Resilience in Crops. *Environmental Sciences Proceedings*, 16(1). <https://doi.org/10.3390/environsciproc2022016017>
- Ananda, R., Dharumadurai, D., & Manogaran, G. P. (2016). An Introduction to Actinobacteria. In Actinobacteria. *Basics and Biotechnological Applications*, 3–38. <https://doi.org/10.5772/62329>
- Arnon, D. I. (1949). *Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta Vulgaris*. Recuperado el 21 de abril de 2026, de <https://dx.doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Arocha Garza, H. F. (2018). Diversidad y bioprospección de actinobacterias de Cuatro Ciénegas, Coahuila con potencial farmacéutico. In *Facultad De Ciencias Biológicas*. Universidad Autónoma de Nuevo León. <http://eprints.uanl.mx/17893/1/1080288763.pdf>
- Arocha-Garza, H. F., Canales-Del Castillo, R., Eguiarte, L. E., Souza, V., & De la Torre-Zavala, S. (2017). High diversity and suggested endemicity of culturable Actinobacteria in an extremely oligotrophic desert oasis. *PeerJ*, (5), 1–21. <https://doi.org/10.7717/peerj.3247>
- Ayan, L., Macías Coutiño, P., Maza González, M., Vázquez, R., & Guevara-Hernández, F. (2021). Microorganismos del suelo y sus usos potenciales en la agricultura frente al escenario del cambio climático. *Magna Scientia UCEVA*, 1, 104–119. <https://doi.org/10.54502/msuceva.v1n1a14>

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 80, 1–43. doi: 10.1128/MMBR.00019-15.

Barrs, H., & Weatherley, P. (1962). A Re-Examination of the Relative Turgidity Technique for Estimating Water Deficits in Leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15(3), 413–428. <https://doi.org/10.1071/BI9620413>

Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiotics*. 58, 1–26. doi: 10.1038/ja.2005.1

Bioinsumos: Trazando el futuro de la agricultura sostenible en América Latina y el Caribe. (2023). Investment Centre. Recuperado el 20 de marzo de 2026, de <https://www.fao.org/investment-centre/latest/news/detail/bioinputs-news-in-spanish/es>

Blanco, C.B.G. (2022). Compuestos volátiles producidos por actinobacterias de Cuatro Ciénegas, Coahuila como promotores del crecimiento vegetal en *Arabidopsis thaliana*. [Tesis de licenciatura]. Universidad Autónoma de Nuevo León.

Bortolami, D. (2024). Una nueva cepa de PGPR (*Kocuria rhizophila* Y1) mejora la tolerancia al estrés salino en el maíz. Universidad DEGLI.

Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Van Themaat, EVL y Schulze- Lefert, P. (2013). Estructura y funciones de la microbiota bacteriana de las plantas. *Rev. PlantBiol.* 64, 807–838. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120106

Buragohain, K., Tamuly, D., Sonowal, S., & Nath, R. (2024). Impact of Drought Stress on Plant Growth and Its Management Using Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Indian Journal of Microbiology*, 64(2), 287–303. <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01201-0>

Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil*. 383, 3-41. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>

Cano, B. M., & Zarazúa, G. M. S. (2018). Aplicación de consorcios microbianos en la agricultura. *Perspectivas de la Ciencia y la Tecnología*, 1(2), 54–61.

Cantero, G. I. (2018). Aislamiento y selección de actinobacterias promotoras del crecimiento vegetal: efecto biofertilizante. (Tesis de maestría). Universidad de Almería. Pp. 25. https://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/7028/TFM_CANTERO%20GARCIA,%20ILU MINADA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Chauhan, J., Prathibha, M., Singh, P., Choyal, P., Mishra, U. N., Saha, D., Kumar, R., Anuragi, H., Pandey, S., Bose, B., Mehta, B., Dey, P., Dwivedi, K. K., Gupta, N. K., & Singhal, R. K. (2023). Plant photosynthesis under abiotic stress: Damages, adaptive, and signaling mechanisms. *Plant Stress*, 10, 100296. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100296>
- Chaves, M. M. (2002). How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany*, 89(7), 907–916. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf105>
- Chávez, L., González, L.M. (2009). Mecanismos moleculares involucrados en la tolerancia de las plantas a la salinidad. *ITEA*, Vol. 105 (4), 231-256.
- Chávez-Díaz, I. F., Zelaya Molina, L. X., Cruz Cárdenas, C. I., Rojas Anaya, E., Ruíz Ramírez, S., & De Los Santos Villalobos, S. (2020). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(6), 1423–1436.
- Condori-Pacsi, S. J. *et al.* (2019) ‘Aislamiento y caracterización de *Streptomyces spp* rizosféricos promotores del crecimiento vegetal’, 37, pp. 109–116. Available at: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
- Cotler, H., Corona, J. A., & Galeana-Pizaña, J. M. (2020). Erosión de suelos y carencia alimentaria en México: Una primera aproximación. *Investigaciones Geográficas*, (101). <https://doi.org/10.14350/rig.59976>
- Cortés-López, N. G., Ordóñez-Baquera, P. L., Domínguez-Viveros, J., Cortés-López, N. G., Ordóñez-Baquera, P. L., & Domínguez-Viveros, J. (2020). Herramientas moleculares utilizadas para el análisis metagenómico. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(4), 1150–1173. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i4.5202>
- Díaz, P., Borsani, O., Monza, J. (1999). Acumulación de prolina en plantas en respuesta al estrés osmótico. *Agrociencia*. Vol. III. N°1. Pag 1-10.
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S., Saud, S., Ihsan, M. Z., Alharby, H., Wu, C., Wang, D., & Huang, J. (2017). Crop Production under Drought and Heat Stress: Plant Responses and Management Options. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01147>

FAO (2024). Evaluación mundial en 50 años sobre suelos contaminados por sales. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

FAOSTAT (2022). “Tomato Production in Mexico”. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

FAOSTAT (2024). “Tomato Production in Mexico”. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Florido Bacallao, M., & Bao Fundora, L. (2014). Tolerancia a estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales*, 35(3), 70–88.

Franco., C.M. (2008). Evaluación de caracteres PGPRs en Actinomicetos e Interacciones de estas Rizobacterias con Hongos Formadores de Micorrizas (Tesis doctoral). Universidad de Granada.

Garzón, P., & García, M. (2011). Efecto del estrés por NaCl sobre la anatomía radical y foliar en dos genotipos de Frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Bioagro*, 23(3), 153–160.

Glick, B.R. (2012). Plant growth promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 1-15.

Gen, J. A., Sarmiento, M. E. F., Maldonado, G. J. C., Manzano, G. L. A., Solís, Z. S., Rincón, M. C. I., Rincón, R. R., (2025). Bacterias Rizosféricas y Endófitas con Potencial PGPB aisladas del cultivo de maíz (*Zea mays* L.) en Chiapas, México: *Terra Latinoamericana*. 43. Doi: <https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2002>

González-Morales, S., Solís-Gaona, S., Valdés-Caballero, M. V., Juárez-Maldonado, A., Loredot-Treviño, A., & Benavides-Mendoza, A. (2021). Transcriptomics of Biostimulation of Plants Under Abiotic Stress. *Frontiers in Genetics*, 12. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.583888>

González Rodríguez, G., Espinosa Palomeque, B., Cano Ríos, P., Moreno Reséndez, A., Leos Escobedo, L., Sánchez Galván, H., Sáenz Mata, J., González Rodríguez, G., Espinosa Palomeque, B., Cano Ríos, P., Moreno Reséndez, A., Leos Escobedo, L., Sánchez Galván, H., & Sáenz Mata, J. (2018). Influencia de rizobacterias en la producción y calidad nutracéutica de tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(2), 367–379. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i2.1078>

- Gomes, K. M., Duarte, R. S., & de Freire Bastos, M. D. C. (2017). Lantibiotics produced by Actinobacteria and their potential applications. *Microbiology*, 163(2), 109-121. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000397>
- Goudjal, Y., Toumatia, O., Sabaou, N., Barakate, M., Mathieu, F., and Zitouni, A. (2013). Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 29, 1821–1829. doi: 10.1007/s11274-013-1344-y
- Gowdar, S. B., Deepa, H., & Amaresh, Y. S. (2018). A brief review on biocontrol potential and PGPR traits of *Streptomyces* sp. For the management of plant diseases. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(5), 3–7.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signaling & Behavior*, 7(11), 1456–1466. <https://doi.org/10.4161/psb.21949>
- Hernandez, C., S., Cerrillo, R. V. G., Morales, D. J. F. (2025). Capítulo 11: Estudio del estrés abiótico en plantas. Departamento de Química del Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes. 287-299. <https://libros.uaa.mx/index.php/uaa/catalog/download/157/147/2631?inline=1>
- Horstmann, J. L., Dias, M. P., Ortolan, F., Medina-Silva, R., Astarita, L. V., & Santarém, E. R. (2020). *Streptomyces* sp. CLV45 from Fabaceae rhizosphere benefits growth of soybean plants. *Brazilian Journal of Microbiology: [Publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 51(4), 1861–1871. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00301-5>
- Hosseini-fard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyła, Ł., & Garneczarska, M. (2022). Contribution of Exogenous Proline to Abiotic Stresses Tolerance in Plants: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5186. <https://doi.org/10.3390/ijms23095186>
- INTAGRI. 2018. Plantas C3, C4 y CAM. Serie Nutrición Vegetal, Núm. 125. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 5p.
- Islas-Lugo, F., Gutiérrez-García, V., Cruz-Arredondo, A., Ríos-Muñiz, D. E., & Evangelista-Martínez, Z. (2024). Evaluación de la capacidad promotora del crecimiento vegetal y actividad

antagonista contra hongos fitopatógenos de las bacterias *Streptomyces*. *Enfoques Transdisciplinarios: Ciencia y Sociedad*, 2(2), 137–148.

Jose, P. A., Maharshi, A., & Jha, B. (2021). Actinobacteria in natural products research: Progress and prospects. *Microbiological Research*, 246, 126708. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126708>

Khan, M. Y., Nadeem, S. M., Sohaib, M., Waqas, M. R., Alotaibi, F., Ali, L., Zahir, Z. A., & Al-Barakah, F. N. I. (2022). Potential of plant growth promoting bacterial consortium for improving the growth and yield of wheat under saline conditions. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.958522>

Kopecká, R., Kameniarová, M., Černý, M., Brzobohatý, B., & Novák, J. (2023). Abiotic Stress in Crop Production. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7). <https://doi.org/10.3390/ijms24076603>

Koza, N. A., Adedayo, A. A., Babalola, O. O., & Kappo, A. P. (2022). Microorganisms in Plant Growth and Development: Roles in Abiotic Stress Tolerance and Secondary Metabolites Secretion. *Microorganisms*, 10(8), 1528. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081528>

Kumar, R. R., & Jadeja, V. J. (2018). Characterization and partial purification of an antibacterial agent from halophilic actinomycetes *Kocuria* sp. strain rsk4. *BiolImpacts* : BI, 8(4), 253–261. <https://doi.org/10.15171/bi.2018.28>

Kumar, A., Singh, S., Gaurav, A. K., Srivastava, S., & Verma, J. P. (2020). Plant Growth-Promoting Bacteria: Biological Tools for the Mitigation of Salinity Stress in Plants. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01216>

Kushwaha, P., Kashyap, P. L., Bhardwaj, A. K., Kuppusamy, P., Srivastava, A. K., & Tiwari, R. K. (2020). Bacterial endophyte mediated plant tolerance to salinity: Growth responses and mechanisms of action. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(2), 26. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-2804-9>

Lamz Piedra, A., & González Cepero, M. C. (2013). La salinidad como problema en la agricultura: La mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos Tropicales*, 34(4), 31–42. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-

[59362013000400005#:~:text=El%20estr%C3%A9s%20salino%20causa%20reducci%C3%B3n,expuestas%20a%20condiciones%20de%20salinidad.](#)

Ledesma, N., Sevillano, C., Medina, M., & Hidalgo, M. (2019). Effect of salinity stress in growth and relative water content in *Oryza sativa* “rice”, var. IR-43 and Amazonas (Poaceae). *Arnaldoa*, 26, 931–942. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26305>

Malon (2026). Los bioestimulantes como aliados para enfrentar el estrés abiótico. *Mundoagro*. <https://mundoagro.io/pe/los-bioestimulantes-como-aliados-para-enfrentar-el-estres-abiotico/>

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/10.1016/j.envexpbot.2020.104023>

Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5), 591–592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>

Lynch, M. D. J., & Neufeld, J. D. (2015). Ecology and exploration of the rare biosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 13(4), 217–229. doi:10.1038/nrmicro3400

López, N. E., Heidelberg, K. B., Nelson, W. C., García, F., Eguiarte, L. E., & Souza, V. (2013). Microbial secondary succession in soil microcosms of a desert oasis in the Cuatro Ciénegas Basin, Mexico. *PeerJ*, (1), 1–21. <https://doi.org/10.7717/peerj.47>

Lozano,E. (2022). Tomatoes and products annual. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. Global Agricultural Information Network (GAIN). MX2022-0035. Doi: https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Tomatoes%20and%20Products%20Annual_Monterrey%20ATO_Mexico_MX2022-0035.pdf

Mauceri, A., Puccio, G., Faddetta, T., Abbate, L., Polito, G., Caldiero, C., Renzone, G., Lo Pinto, M., Alibrandi, P., Vaccaro, E., Abenavoli, M. R., Scaloni, A., Sunseri, F., Cavalieri, V., Palumbo Piccionello, A., Gallo, G., & Mercati, F. (2024). Integrated omics approach reveals the molecular

pathways activated in tomato by *Kocuria rhizophila*, a soil plant growth-promoting bacterium. *Plant Physiology and Biochemistry*, 210, 108609. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108609>

Meena, M., Divyanshu, K., Kumar, S., Swapnil, P., Zehra, A., Shukla, V., Yadav, M., & Upadhyay, R. S. (2019). Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions. *Heliyon*, 5(12), e02952. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02952>

Méndez Espinoza, C., & Vallejo Reyna, M. Á. (2019). Mecanismos de respuesta al estrés abiótico: Hacia una perspectiva de las especies forestales. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(56). <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.567>

SMEAP (2023). Funciones del Potasio en la Plantas. *SMEAP México*. <https://smeapmexico.org/funciones-del-potasio-en-las-plantas/>

Moreno F., L. P. (2009). Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 27(2), 179–191.

Moreno, R.A., García, M.V., Reyes, C.J.L., Vásquez, J.A., Cano, R.P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. Biofertilization and sustainable agricultura. doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707

Moreno-Bermúdez, L. J., Reyes, M., Rodríguez, M., Kosky, R. G., Roque, B., & Chong-Pérez, B. (2017). Respuesta de cultivares de *Musa* spp. Al estrés hídrico *in vitro* inducido con polietilenglicol 6000. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIX (2), 75–85.

Munns, R., Tester, M. (2008). *Mechanisms of salinity tolerance*. Annual Review of Plant Biology. 59, 651-681.

Mushtaq, N. U., Saleem, S., Rasool, A., Shah, W. H., Tahir, I., Seth, C. S., & Rehman, R. U. (2025). Proline Tagging for Stress Tolerance in Plants. *International Journal of Genomics*, 2025, 9348557. <https://doi.org/10.1155/ijog/9348557>

MSM (2024). Monitor de Sequía en México. Gobierno de México.

- Narsing,R.M.P., Lohmaneeratana, K., Bunyoo, C., Thamchaipenet. (2022). Actinobacteria- plant interactions in alleviating abiotic stress. *Plants*. 11(21), 2976: <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/21/2976>
- Nivedita, S., Behera, S. S., Behera, P. K., Parwez, Z., Giri, S., Behera, H. T., & Ray, L. (2024). Salt-resistant *Streptomyces* consortia promote growth of rice (*Oryza sativa* var. Swarna) alleviating salinity and drought stress tolerance by enhancing photosynthesis, antioxidant function, and proline content. *The Microbe*, 4, 100124. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100124>
- Nozari, R. M., Ortolan, F., Astarita, L. V., & Santarém, E. R. (2021). *Streptomyces* spp. Enhance vegetative growth of maize plants under saline stress. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(3), 1371–1383. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00480-9>
- Nunes, P. S. O., Lacerda-Junior, G. V., Mascarin, G. M., Guimarães, R. A., Medeiros, F. H. V., Arthurs, S., & Bettiol, W. (2024). Microbial consortia of biological products: Do they have a future? *Biological Control*, 188, 105439. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105439>
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 33(11), 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- ONU (2024). Impacto de la desertificación en la población mundial. Naciones Unidas.
- Orosco, A.B. E., Núñez, P.H.G, Pérez, M.L, Valencia, P.M, L. I., Trejo, Díaz, S.F.R, y Abraham, J.M.R. (2018). Tolerancia a salinidad en plantas cultivadas: una visión agronómica. *Agroproductividad* 11:51-57.
- Ortiz, A.M.L., Chiappa, C.X. (2017). Microbiología ambiental en México. 1ra edición.
- Pacheco-Treviño, S., & Manzano-Camarillo, M. G. F. (2024). Review of water scarcity assessments: Highlights of Mexico's water situation. *WIREs Water*, 11(4), e1721. <https://doi.org/10.1002/wat2.1721>
- SADER (2024). *Jitomate mexicano, entre los cinco principales productos agrícolas generadores de divisas: Agricultura*. gob.mx. Recuperado el 16 de abril de 2026, de <http://www.gob.mx/agricultura/prensa/jitomate-mexicano-entre-los-cinco-principales-productos-agricolas-generadores-de-divisas-agricultura>

Padilla Cantero, J. M. (2024). *Evaluación de bacterias nativas con potencial biofertilizante en plantas de arroz (Oryza sativa L.) en Montería-Colombia*. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/8582>

Palacio, R. R., Ramos, B. P., Coria, A. J. L., Nava, R. B., Sáenz, M. J. (2016). Mecanismos de las PGPR para mitigar el estrés abiótico de plantas. Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez del Estado de Durango. doi: https://www.researchgate.net/publication/349043748_MEKANISMOS_DE_LAS_PGPR_PARA_MITIGAR_EL_ESTRES ABIOTICO_DE_PLANTAS_PGPR_MECHANISMS_TO_ALLEVIATE_THE ABIOTIC_STRESS_OF_PLANTS

Pan, F., Zhang, Q., Zhu, H., Junming, L., Wen, Q. (2023). Transcriptome and Metabolome provide insights into fruit ripening of cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme). Plants Basel. doi: 10.3390/plants12193505.

Peleg, Z., Blumwald, E. (2011). *Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants*. Current Opinion in Plant Biology. 14(3), 290-295.

Pérez-Inocencio, J., Iturriaga, G., Aguirre-Mancilla, C. L., Vásquez-Murrieta, M. S., Lastiri-Hernández, M. A., & Álvarez-Bernal, D. (2023). Reduction in Salt Stress Due to the Action of Halophilic Bacteria That Promote Plant Growth in *Solanum lycopersicum*. *Microorganisms*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112625>

Phytohormones Regulate Accumulation of Osmolytes Under Abiotic Stress - PMC. (s/f). <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6680914/>

Quiriban, A. E., & Pereyra Cardozo, M. C. (2017). La acumulación de prolina como indicador bioquímico de tolerancia a sequía en genotipos de trigo (*Triticum aestivum* L.) sometidos a la suspensión del riego en inicio de encañazón. *Semiárida*, 27(2), 4.

Rao, M. P. N., Lohmaneeratana, K., Bunyoo, C., & Thamchaipenet, A. (2022). Actinobacteria–Plant Interactions in Alleviating Abiotic Stress. *Plants*, 11(21). <https://doi.org/10.3390/plants11212976>

Romero, R. E., Sánchez, R., Sumich, J., Añino, Y. J., Lopez, O. R. (2020). Variaciones morfológicas y densidad estomática en hojas de *Magnifera indica* bajo condiciones lumínicas contrastantes. *Tecnociencia*. ISSN: 1609-8102.

SADER (2024). *Jitomate mexicano, entre los cinco principales productos agrícolas generadores de divisas: Agricultura*. gob.mx. <http://www.gob.mx/agricultura/prensa/jitomate-mexicano-entre-los-cinco-principales-productos-agricolas-generadores-de-divisas-agricultura>

SADER (2025). Panorama agroalimentario. Edición 2025.

Salem, M. A., Ismail, M. A., Radwan, K. H., & Abd-Elhalim, H. M. (2024). Unlocking the Potential of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Enhance Drought Tolerance in Egyptian Wheat (*Triticum aestivum*). *Sustainability*, 16(11), 4605. <https://doi.org/10.3390/su16114605>

Salinas-Jasso, T. A., Moreno-Dávila, I. M. M., León-Zapata, M. Á. D., & Soria-Ortiz, A. I. (2023). Caracterización fisiológica y molecular de *Microbacterium paraoxydans* aislada de pozas de Cuatrociénegas, Coahuila. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 10(SPE3). <https://doi.org/10.19136/era.a10niii.3627>

Sánchez-Herrera, K., Sandoval, H., Mouniee, D., Ramírez-Durán, N., Bergeron, E., Boiron, P., Sánchez-Saucedo, N., & Rodríguez-Nava, V. (2017). Molecular identification of *Nocardia* species using the *sodA* gene. *New Microbes and New Infections*, 19, 96–116. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2017.03.008>

Santillana, N. (2021). Mecanismos de inducción de rizobios para reducir el estrés por sequía en las leguminosas. *Revista Investigaciones Altoandinas*, 23(4), 2–2.

Santos, M., Edwards, C., Liechty, J., Nguyen, J. B., y Sundaresan, V. (2017). El estrés por sequía da como resultado una reestructuración específica de los microbiomas asociados a las raíces del arroz. *MBio*. doi: 10.1128/mBio.00764-17

Santra, H. K., & Banerjee, D. (2024). Role of Endophytic Microbiome in Agricultural Crop Protection. En R. Z. Sayyed & N. Ilyas (Eds.), *Plant Holobiome Engineering for Climate-Smart Agriculture* (pp. 293–314). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-99-9388-8_16

Sayyed, R.Z., Ilyas.,N (2024). *Plant Holobiome Engineering for Climate-Smart Agricultura*. Pp. 33-49. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-981-99-9388-8>

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2015). Producción del chile y tomate mexicano gob.mx <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/produccion-del-chile-mexicano>

Sellstedt, A., Richau, K. H. (2013). Aspects of nitrogen-fixing Actinobacteria, in particular free-living and symbiotic *Frankia*. FEMS Microbiol. Lett. 342, 179–186. doi: 10.1111/1574-6968.12116

SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2021). “Impacto de la sequía y salinidad en cultivos agrícolas”. Gobierno del Estado de México.

SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2024). Escenario mensual de productos agroalimentarios. Dirección de análisis estratégico. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/938464/Jitomate_Julio.pdf

Solano, M. C. P., & Castro, O. C. (2018). Afectaciones fisiológicas y bioquímicas en vitroplantas de caña de azúcar en respuesta al estrés hídrico y salino. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(7), 1483–1493. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i7.1253>

Solis, B. C. (2025a). Consorcios microbianos y productos de cepa única. Potencialidades agronómicas y experiencias de uso en Cuba. *Fitosanidad*, 28, //cu-id.com/2109/v28e10.

Solis, B. C. (2025b). Consorcios microbianos y productos de cepa única. Potencialidades agronómicas y experiencias de uso en Cuba. *Fitosanidad*, 28, //cu-id.com/2109/v28e10.

Soto Marfileño, K. A. (2019). *Evaluación de actinobacterias de Cuatro Ciénegas, Coahuila, como promotoras de crecimiento en plantas*. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León]. <http://eprints.uanl.mx/18598/>

Souza, V., L. Espinosa, A., Escalante, A.E., Eguiarte, L.E., Farmer, L. L. Forney, L. Lloret, Rodriguez, M.J.M., Soberon, X., Dirzo, M., Elser, J.J. (2006). "An endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the Chihuahuan desert." *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(17): 6565-6570.

Souza, V., Siefert, J. L., Escalante, A. E., Elser, J. J., & Eguiarte, L. E. (2012). The Cuatro Ciénegas Basin in Coahuila, Mexico: An astrobiological Precambrian Park. *Astrobiology*, 12(7), 641–647. <https://doi.org/10.1089/ast.2011.0675>

Souza, V., Olmedo-álvarez, G., Editors, L. E. E., & Souza, V. (2018). *Cuatro Ciénegas Ecology, Natural History and Microbiology*. <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-93423-5>.

Valdés Oyervides, F. J., Rivas Morales, C., Benavides Mendoza, A., Núñez González, M. A., Verde Star, J., Oranday Cárdenas, A., & Robledo Torres, V. (2012). Efectos de iones y sales en la productividad y acumulación de prolina en *Lippia graveolens* H.B.K. *Phyton (Buenos Aires)*, 81(2), 191–198.

Ventura, P.R.M. (2021). Estudio del efecto promotor del crecimiento vegetal de cepas nativas halotolerantes del género *Streptomyces* en condiciones de suelo con salinidad. [Tesis de licenciatura] Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Verslues, P.E., Agarwal, M., Katiyar, A., Zhu, J.K. (2006). *Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt, and freezing, abiotic stresses in plants*. Plant journal. 45(4), 523-539.

Yadav, A. N., Verma, P., Kumar, S., Kumar, V., Kumar, M., Kumari Sugitha, T. C., (2018). “Actinobacteria from Rhizosphere,” in: Elsevier, editor. In New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering, p. 13–41.

Yang, J., Kloepper, J. W., & Ryu, C.-M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 14(1), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.004>

Zelaya-Molina, L., Chávez-Díaz, I., Reynoso-Santos, R., Gayosso-Barragán, O., Chávez-Aguilar, G., & Bautista-Ramírez, E. (2025). Consorcio tripartito de hongo-levadura-bacteria mejora el desempeño agronómico en el crecimiento temprano del maíz. *Abanico Microbiano*, 1, e2025-1.

Zhu, J.K. 2001. Plant salt tolerance. *Trends in Plants Science*. 6(2),66-71.

Zhu, Y., Zhang, P., Zhang, J., Wang, J., Lu, Y., & Pang, X. (2020). Impact on multiple antibiotic pathways reveals MtrA as a master regulator of antibiotic production in *Streptomyces* and potentially in other actinobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/aem.01201-20>.