

# Respuesta morfo-productiva de plantas de pimiento morrón biofertilizadas con *Pseudomonas putida* y dosis reducida de fertilizantes sintéticos en invernadero

## Morpho-productive response of bell pepper plants biofertilized with *Pseudomonas putida* and reduced dosage of synthetic fertilizers in greenhouse

Luis Guillermo Hernández-Montiel<sup>1</sup> , Bernardo Murillo-Amador<sup>1</sup> ,  
César Josué Chiquito-Contreras<sup>2</sup> , Cristina Elizabeth Zuñiga-Castañeda<sup>2</sup> ,  
Juan Ruiz-Ramírez<sup>2</sup>  y Roberto Gregorio Chiquito-Contreras<sup>2†</sup> 

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. Av. Instituto Politécnico Nacional No. 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Sur. 23096 La Paz, Baja California Sur, México.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Agrícolas-Xalapa, Universidad Veracruzana. Circuito Universitario Gonzalo Aguirre Beltrán, Colonia Zona Universitaria. 91090 Xalapa, Veracruz, México.

† Autor para correspondencia / ‡ Corresponding author (rchiquito@uv.mx)

---

### RESUMEN

La población mundial genera un alto consumo de alimentos, situación que provoca el incremento del uso de fertilizantes sintéticos, los cuales, son costosos y contaminan al medio ambiente. Las bacterias rizosféricas son una alternativa a la aplicación de fertilizantes sintéticos, debido a que estimulan el crecimiento y la productividad de las plantas, no contaminan al medio ambiente y su aplicación es de bajo costo. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la inoculación de tres cepas rizobacterianas de *Pseudomonas putida* y aplicación de dos concentraciones de fertilización sintética sobre parámetros morfológicos y rendimiento de fruto en plantas de pimiento morrón variedad ‘California Wonder’ en condiciones de invernadero. Las plantas fueron inoculadas con tres rizobacterias de *P. putida* catalogadas como FA-8, FA-56 y FA-60 de manera individual y combinada. La concentración de la fertilización sintética fue del 100 y 75%. Se determinó la altura, el diámetro de tallo, longitud y volumen de raíz, biomasa fresca y seca, rendimiento y contenido de sólidos solubles totales de fruto y población bacteriana. Los resultados indican que las bacterias y las dosis de fertilización sintética incrementaron todos los parámetros morfológicos y de productividad

### SUMMARY

Human populations generate high food consumption, so this situation causes an increase in the application of synthetic fertilizers that are expensive and contaminate the environment. Rhizosphere bacteria are an alternative to synthetic fertilizer application because they stimulate plant growth and productivity, do not contaminate the environment, and their application is low cost. Thus the objective of this study was to determine the inoculation effect of three rhizobacterial strains of *Pseudomonas putida* and the application of two synthetic fertilization concentrations on the morphological parameters and fruit yield in bell pepper plants variety ‘California Wonder’ in greenhouse conditions. The plants were inoculated with the rhizobacteria *P. putida* cataloged as FA-8, FA-56, and FA-60, individually and in combination; two concentrations of synthetic fertilization were applied at 100 and 75% to determine plant height, stem diameter, root length and volume, fresh and dry biomass, yield and total soluble solid content of fruit and bacterial population. The results indicated that bacteria and synthetic fertilization dosage increased all the morphological parameters and productivity of bell pepper. The use of *P. putida* as a bio-fertilizer can be

---

#### Cita recomendada / Recommended citation:

Hernández-Montiel, L. G., B. Murillo-Amador, C. J. Chiquito-Contreras, C. E. Zuñiga-Castañeda, J. Ruiz-Ramírez y R. Gregorio Chiquito-Contreras. 2020. Respuesta morfo-productiva de plantas de pimiento morrón biofertilizadas con *Pseudomonas putida* y dosis reducida de fertilizantes sintéticos en invernadero. Terra Latinoamericana Número Especial 38-3: 583-596.  
DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.651>

---

Recibido / Received: octubre / October 09, 2019.

Acceptado / Accepted: enero / January 06, 2020.

Publicado en / Published in Terra Latinoamericana 38: 583-596.

del pimiento morrón. El uso de *P. putida* como un bio-fertilizante puede ser importante dentro de la producción sustentable de cultivos hortícolas como el pimiento morrón.

**Palabras clave:** *Capsicum annuum*, *rizobacterias*, *fertilización inorgánica*, *crecimiento*, *fruto*.

## INTRODUCCIÓN

En México el pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) también llamado chile verde morrón, por su volumen de producción es considerado un cultivo de importancia económica en el rubro de la exportación agrícola, se estima que más del 80% de los frutos producidos en suelo mexicano son destinados principalmente hacia los Estados Unidos y Canadá, con valor económico superior a los 520 millones de pesos (SIAP, 2017). Actualmente en el sector hortícola se implementan estrategias de producción intensiva, con la finalidad de aumentar la superficie de cultivo y productividad de las plantas, lo que impulsa el uso constante y excesivo de fertilizantes sintéticos, insumos agrícolas costosos y en extremo contaminantes tanto del suelo y agua, así como de la salud humana y animal (Schulz y Glaser, 2012; Watanabe *et al.*, 2015).

Ante la utilización desmedida de insumos nutricionales sintéticos se han diseñado alternativas de producción agrícola sostenibles e inocuas para los recursos naturales, entre estas se encuentra el aprovechamiento de biofertilizantes elaborados a base de diversos tipos de microorganismos benéficos, como por ejemplo los formulados con cepas rizobacterianas capaces de promover el crecimiento y desarrollo de las plantas (Noh-Medina *et al.*, 2014; Hernández-Montiel *et al.*, 2017; Naili *et al.*, 2018), entre las comunidades rizobacterianas destacan numerosas especies distribuidas entre los géneros: *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, entre otros de importancia agrícola (Kamou *et al.*, 2015; Espinosa *et al.*, 2017; Pérez-Velasco *et al.*, 2019).

Las rizobacterias como agentes biofertilizantes son capaces de estimular directa e indirectamente el crecimiento, desarrollo y productividad de las plantas, mediante diferentes rutas metabólicas como la solubilización del fósforo mineral, fijación biológica del nitrógeno presente en la atmósfera (Zaidi *et al.*, 2015; Coy *et al.*, 2019) y la producción de hormonas

important in the sustainable production of horticultural crops such as *C. annuum*.

**Index words:** *Capsicum annuum*, *rhizobacteria*, *inorganic fertilization*, *growth*, *fruit*.

## INTRODUCTION

In Mexico bell pepper (*Capsicum annuum* L.), also known as green pepper, is considered an important economic crop in agricultural exports because of its production volume; more than 80% of the fruit produced in Mexican soil is exported mainly to the United States and Canada with an economic value higher than MX 520 million pesos (SIAP, 2017). Currently, in the horticultural sector intensive production strategies have been implemented to increase cultivation surface and plant productivity, which have promoted the constant and excessive use of synthetic fertilizers, costly agricultural supplies, and to an extreme, contaminants both in soil and water, linked to human and animal health problems (Schulz and Glaser, 2012; Watanabe *et al.*, 2015).

Facing the excessive use of synthetic nutritional supplies, sustainable and innocuous agriculture production alternatives for natural resources have been designed, among others, a better use of biofertilizers based on different types of beneficial microorganisms, for example, those formulated with rhizobacterial strains capable of promoting plant growth and development (Noh-Medina *et al.*, 2014; Hernández-Montiel *et al.*, 2017; Naili *et al.*, 2018); among the rhizobacterial communities, numerous species that stand out are in the genera: *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, among others of agricultural importance (Kamou *et al.*, 2015; Espinosa *et al.*, 2017; Pérez-Velasco *et al.*, 2019).

Rhizobacteria as bio-fertilizer agents are capable of directly and indirectly stimulating plant growth, development and productivity by different metabolic routes, such as mineral phosphorus solubilization, biological fixation of the nitrogen found in the atmosphere (Zaidi *et al.*, 2015; Coy *et al.*, 2019) and plant hormone production, such as auxins and gibberellins and cytokinins (Hernández-Montiel *et al.*, 2017; Puente *et al.*, 2018). Because of the effects that rhizobacteria have in plants, they are considered natural elicitor microorganisms with the ability of improving crop growth and productivity; thus, they are

vegetales como auxinas, giberelinas y citosinas (Hernández-Montiel *et al.*, 2017; Puente *et al.*, 2018). Debido a los efectos que presentan las rizobacterias en las plantas, estos son considerados microorganismos elicitores naturales con la habilidad de mejorar crecimiento y productividad de los cultivos, resultando ser una alternativa biotecnológica como biofertilizante factible de bajo costo y fácil aplicación, aprovechable en la producción sustentable y no contaminante de cultivos agrícolas establecidos en campo o invernadero, favoreciendo la reducción de fertilizantes sintéticos que dañan al ambiente (Yang *et al.*, 2009; Sunar *et al.*, 2015; Dar *et al.*, 2018).

Estudios sobre la aplicación de rizobacterias y fertilizantes sintéticos reportan aumentos en el crecimiento de las plantas, como resultado de una mayor capacidad de absorción y asimilación de nutrimentos promovida por el aumento poblacional y acción metabólica rizobacteriana (Dinesh *et al.*, 2013; Díaz *et al.*, 2018; Tahir *et al.*, 2018). Al respecto Chiquito-Contreras *et al.* (2017), señalan que la aplicación de rizobacterias de la especie *Pseudomonas putida* más fertilización sintética reducida al 75% de macro y micronutrientes incrementó significativamente el rendimiento de fruto y crecimiento vegetativo de chile habanero en invernadero. Por su parte Naseri y Mirzaei (2010) en un estudio similar indican que la aplicación de rizobacterias del género *Azotobacter* y *Azospirillum* con fertilización sintética reducida al 50% de nitrógeno inorgánico en condiciones de campo incrementó significativamente el crecimiento de plantas de cártamo. En el estudio realizado en campo por Yousefi y Barzegar (2014), reportan rendimientos similares en plantas de trigo tratadas con fertilizante fosforado al 100% y plantas inoculadas con *Azotobacter chroococcum* y *Pseudomonas fluorescens* con aplicación del 50% del mismo fertilizante sintético. Aun cuando es consistente el efecto positivo de la combinación de rizobacterias con dosis reducidas de fertilizantes sintéticos en las plantas, es indispensable conocer y determinar la mejor combinación que facilite el proceso sinérgico entre los agentes biológicos e insumos nutricionales sintéticos, que coadyuve en la obtención de mayor crecimiento y productividad de plantas de importancia económica (Hernández-Montiel *et al.*, 2017; Tripti *et al.*, 2017; Cordero *et al.*, 2018). De acuerdo con lo antes descrito, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la inoculación de tres cepas rizobacterianas de *Pseudomonas putida*

a biotechnological alternative as feasible biofertilizers with low cost and easy application, which can be used in sustainable and non-contaminant production of agricultural crops established in field or greenhouse, favoring the reduction of synthetic fertilizers that harm the environment (Yang *et al.*, 2009; Sunar *et al.*, 2015; Dar *et al.*, 2018).

Studies on rhizobacteria and synthetic fertilizers have reported plant increase as a result of greater nutrient absorbance and assimilation capacity promoted by population increase and rhizobacterial metabolic action (Dinesh *et al.*, 2013; Díaz *et al.*, 2018; Tahir *et al.*, 2018). In that respect Chiquito-Contreras *et al.* (2017) pointed out that the application of rhizobacteria of the species *Pseudomonas putida* with synthetic fertilization reduced at 75% of macro and micronutrients increased fruit yield and plant growth of bell pepper in greenhouse. On the other hand, Naseri and Mirzaei (2010) indicated in a similar study that the application of rhizobacteria of the genus *Azotobacter* and *Azospirillum* with synthetic fertilization reduced at 50% of inorganic N in field conditions increased safflower plant growth. In a study performed in field, Yousefi and Barzegar (2014) reported similar yields in wheat plants treated with phosphorus fertilizer at 100% and plants inoculated with *Azotobacter chroococcum* and *Pseudomonas fluorescens* with the application of 50% of the same synthetic fertilizer. Even though the positive effect of combining rhizobacteria with reduced doses of synthetic fertilizers in plants is consistent, it is essential to know and determine the best combination that facilitates the synergic process between the biological agents and synthetic nutritional supplies that contribute to obtain the greatest growth and productivity of economically important plants (Hernández-Montiel *et al.*, 2017; Tripti *et al.*, 2017; Cordero *et al.*, 2018). Therefore, the objective of this study was to determine the effects of inoculating three rhizobacterial strains of *Pseudomonas putida* and applying two synthetic fertilization concentrations on the morphological parameters and fruit yield in bell pepper plants in greenhouse conditions.

## MATERIALS AND METHODS

### Study Area

This research study was implemented in a greenhouse type tunnel of 160 m<sup>2</sup> and 3 m in height in the

y aplicación de dos concentraciones de fertilización sintética sobre parámetros morfológicos y rendimiento de fruto en plantas de pimiento morrón en condiciones de invernadero.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de Estudio

La investigación se implementó en un invernadero tipo túnel de 160 m<sup>2</sup> y 3 m de altura en la parte central con ventilación lateral, localizado en la Facultad de Ciencias Agrícolas-Xalapa de la Universidad Veracruzana, a una altura de 1450 msnm, cuyas coordenadas geográficas son: 19° 30' N y 96° 55' O, en la ciudad de Xalapa, Veracruz, México.

### Obtención y Crecimiento de Rizobacterias

Se utilizaron tres cepas de *Pseudomonas putida* clasificadas como FA-8, FA-56 y FA-60, proporcionadas por el Laboratorio de Química Agrícola perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrícolas-Xalapa. Las rizobacterias fueron cultivadas individualmente en medio líquido B-King (compuesto por: peptona 15 g L<sup>-1</sup>, sulfato de magnesio al 1.0 M 1 mL L<sup>-1</sup>, fosfato de potasio dibásico 1.5 g L<sup>-1</sup> y glicerol 10 mL L<sup>-1</sup>), posteriormente se colocaron en una incubadora (Binder™ BF 400, Tuttlingen, Alemania) durante 48 h a 26 °C con agitación orbital a 180 rpm. La concentración de cada rizobacteria fue ajustada a 1 × 10<sup>9</sup> células mL<sup>-1</sup> (mediante disolución con solución estéril de NaCl del 0.85% p/v) utilizando un espectrofotómetro digital (Thermo Spectronic Genesys 20, corporación Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), calibrado a una longitud de onda de 660 nm hasta obtener una absorbancia de 1.0 en la concentración de cada cultivo bacteriano.

### Producción de Plántulas de Pimiento (*Capsicum annuum* L.)

Para la obtención de plántulas de pimiento morrón se utilizaron semillas de la variedad 'California Wonder' de la compañía Hortaflores-Rancho Los Molinos® (Tepoztlán, Morelos, México), cultivar caracterizado por presentar frutos cuadrados, gruesos y dulces, con crecimiento vegetativo determinado y

central part with lateral ventilation, in the experimental field of the Facultad de Ciencias Agrícolas-Xalapa at Universidad Veracruzana (UV) located at 1450 m above the sea level, 19° 30' N and 96° 55' W in the city of Xalapa, Veracruz, México.

### Obtaining Rhizobacteria and Growth

Three *Pseudomonas putida* strains, classified as FA-8, FA-56, and FA-60, provided by the Chemical Agriculture Laboratory from the Facultad de Ciencias Agrícolas-Xalapa were used. The rhizobacteria were cultivated individually in King's B medium (composed of: peptone 15 g L<sup>-1</sup>, magnesium sulfate at 1.0 M 1 mL L<sup>-1</sup>, dipotassium phosphate 1.5 g L<sup>-1</sup> and glycerol 10 mL L<sup>-1</sup>), subsequently placed in an incubator (Binder™ model BF 400, Tuttlingen, DE) at 26 °C with orbital agitation at 180 rpm for 48 h. The concentration of each rhizobacteria was adjusted to 1 × 10<sup>9</sup> cells mL<sup>-1</sup> (by dissolution with sterile solution of NaCl at 0.85% p/v) utilizing a digital spectrophotometer (Thermo Spectronic Genesys 20, Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) calibrated at a wavelength of 660 nm until an absorbance of 1.0 was obtained in the concentration of each bacterial culture.

### Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) Seedling Production

To obtain bell pepper plants, the seeds used were of the variety 'California Wonder' cultivar of the company Hortaflores-Rancho Los Molinos® (Tepoztlán, Morelos, México), characterized by having square, thick and sweet fruit with determined plant growth and semi-precocious cultivation cycle. For seed germination, a 2.5 × 2.5 × 6 cm rigid polystyrene germinator 200-well tray was used, previously disinfected with sodium hypochlorite at 5%; the germinator cavities were filled with substrate based on pumice, sand and vermi-compost in a ratio of 2:1:2 (v/v), disinfected and sanitized with Anibac 580® liquid solution (Promotora Técnica Industrial, S.A. de C.V. Jiutepec, Morelos, México, active ingredient: double-chain quaternary ammonium salts at 3.7% and first generation quaternary ammonium at 8.6%) in a dose of 10 mL L<sup>-1</sup>. One seed per tray well was placed at depth of 1 cm and subsequently left at greenhouse temperature conditions of 25 ± 3 °C and relative humidity of 55 ± 5% for 40 days; irrigation

ciclo de cultivo semi-precoz. Para la germinación de las semillas se utilizó una bandeja germinadora de 200 cavidades de poliestireno rígido con dimensiones de  $2.5 \times 2.5 \times 6$  cm, la cual previamente se desinfectó con hipoclorito de sodio al 5%, las cavidades de la bandeja fueron llenadas con el sustrato a base de tepetzil, arena y lombricomposta en relación 2:1:2 (v/v), desinfectada y sanitizada con una solución líquida de Anibac 580® (Promotora Técnica Industrial, S.A. de C.V. Jiutepec, Morelos, México; ingrediente activo: sales cuaternarias de amonio de doble cadena al 3.7% y cuaternario de amonio de primera generación al 8.6%) a una dosis de  $10 \text{ mL L}^{-1}$ . En cada cavidad de la bandeja a una profundidad de 1 cm fue colocada una semilla, posteriormente la bandeja germinadora permaneció por un periodo de 40 días en condiciones de invernadero a temperatura de  $25 \pm 3$  °C y humedad relativa de  $55 \pm 5\%$ , se aplicaron riegos con agua corriente diariamente hasta la obtención de plantas con altura de 18 cm en promedio al momento del trasplante.

#### Trasplante y Biofertilización de Plantas de Pimiento con *P. putida*

Al momento del trasplante la raíz de cada plántula fue lavada con agua destilada, posteriormente se establecieron diez grupos con ocho plántulas dentro de vasos de precipitados de 250 mL de capacidad para su inoculación por inmersión de las raíces en 150 mL de suspensión bacteriana ( $1 \times 10^9$  células  $\text{mL}^{-1}$ ) durante 20 min para cada cepa rizobacteriana de forma individual y combinación de las tres cepas (tratamiento MIX). Al finalizar el tiempo de inmersión las plántulas se depositaron en bolsas de polietileno ( $40 \times 40$  cm) con capacidad de 10 kg, las cuales contenían 9 kg de tepetzil como sustrato inerte, previamente lavado con agua corriente y desinfectado mediante la aplicación de una solución líquida de Anibac 580® en concentración de  $5 \text{ mL L}^{-1}$ . El diseño experimental implementado fue de bloques completamente al azar con diez tratamientos y ocho plantas como repetición, de los cuales dos grupos de plantas sin aplicación de suspensión bacteriana se les suministro solución nutritiva al 75 y 100% de concentración como tratamiento control. Establecido el experimento las plantas fueron fertilizadas diariamente con solución nutritiva, la cual se dosificó de acuerdo con las etapas de desarrollo vegetativo del cultivo, a los dos días después del trasplante (ddt) se aplicó

with tap water was applied daily until a plant height of 18 cm in average was obtained at the moment of transplant.

#### Transplant and Biofertilization of Bell Pepper Plants with *Pseudomonas putida*

At the moment of transplanting, the root of each seedling was washed with distilled water; subsequently, 10 groups were established with eight seedlings in 250 mL beakers for inoculation by root immersion in 150 mL of bacterial suspension ( $1 \times 10^9$  cells  $\text{mL}^{-1}$ ) individually and combined with the three rhizobacterial strains (MIXED treatment) for 20 min. At the end of immersion time, the seedlings were deposited in 10 kg polyethylene bags ( $40 \times 40$  cm) containing 9 kg of pumice as inert substrate, previously washed with tap water, and disinfected by applying Anibac 580® liquid solution in a concentration of  $5 \text{ mL L}^{-1}$ . The experiment was a randomized complete block design with 10 treatments and eight plants as replicate, of which two groups of plants without bacterial suspension application were provided a nutritive solution at 75 and 100% of concentration as control treatments. When the experiment was established, the plants were fertilized daily with the nutritive solution, dosed according to the plant development cultivation stage; two days after transplant (DAT), 0.3 L of nutritive solution were applied per plant; the volume was increased at  $1 \text{ L day}^{-1}$  at 25 DAT and  $1.8 \text{ L day}^{-1}$  from 70 DAT until the end of the experiment. The concentrations of the nutritive solution provided to the plants were 75 and 100% (Table 1), both solutions with the pH adjusted to 6.0. All the bell pepper plants remained in greenhouse for a period of 135 DAT; during the experimental stage, an average temperature of  $25 \pm 2$  °C and relative humidity of 55-60 % were maintained. When the experimental stage concluded, the following quantifications were performed: stem diameter (mm), height (cm), radicle volume ( $\text{cm}^3$ ), root length (cm), fresh biomass (g), dry biomass (g), colony forming units (CFU) in roots, fresh fruit weight (g) and percentage of total soluble solids content in fruit juice (three fruit per plant) by the refractometry method (Refracto 30PX, Mettler Toledo, Columbus, OH, USA) expressed as °Brix.

0.3 L de solución nutritiva por planta, el volumen se incrementó a 1 L día<sup>-1</sup> a los 25 ddt y 1.8 L día<sup>-1</sup> a partir de los 70 ddt hasta finalizar el experimento. Las concentraciones de solución nutritiva suministrada a las plantas fueron del 75 y 100% (Cuadro 1), ambas soluciones con pH ajustado en 6. Todas las plantas de pimiento morrón permanecieron en invernadero por un periodo de 135 días después del trasplante, durante la fase experimental se mantuvo una temperatura promedio de 25 ± 2 °C y humedad relativa del 55-60%. Al concluir la fase experimental se efectuaron las siguientes cuantificaciones: diámetro de tallo (mm), altura (cm), volumen radical (cm<sup>3</sup>), longitud de raíz (cm), biomasa fresca (g), biomasa seca (g), unidades formadoras de colonias (UFC) en raíces, peso fresco de frutos (g) y contenido porcentual de sólidos solubles totales en jugo de fruto (tres frutos por planta) por el método refractométrico (Refracto 30PX, Mettler Toledo, Columbus, Ohio, USA) expresado como °Brix.

### Cuantificación de Población Rizobacteriana en Raíces

La determinación de poblaciones rizobacterianas (UFC) presentes en las raíces de las plantas de pimiento morrón se realizó al finalizar la fase experimental, para tal propósito se efectuó la colecta de una muestra compuesta por 3 g de raíces frescas procedentes de plantas biofertilizadas con las cepas rizobacterianas y sin biofertilizar (control), las muestras de raíces de los diferentes tratamientos evaluados fueron colocadas

### Quantification of Rhizobacterial Population in Roots

The colony-forming unit (CFU) of the rhizobacteria in bell pepper plant roots was estimated at the end of the experimental stage. For such purpose, a sample composed of 3 g of fresh roots from bio-fertilized plants with rhizobacterial strains and without bio-fertilizer (control group) were collected; the root samples of the different treatments assessed were placed individually in Petri boxes, which contained a sterilized physiological solution of NaCl (0.85% p/v). Subsequently, following Holguin and Bashan (1996) methodology, the roots were macerated with a sterilized glass rod; from the mixture obtained, 1 mL was collected and deposited inside a test tube; then, 9 mL of sterile physiological solution of NaCl (0.85% p/v) were added to reach a final volume of 10 mL; from the final volume obtained, serial dilutions were performed to obtain CFU in triplicate for each treatment in Petri plates containing solid B-King culture medium; the Petri plates were incubated at a constant temperature of 26 °C for a period of 72 h. The rhizobacterial population obtained in each treatment was expressed as CFU log 10<sup>7</sup> g<sup>-1</sup> of root.

### Statistical Data Analysis

With the data obtained in the variables of study, the respective analysis of variance (ANOVA) and Tukey's ( $P \leq 0.05$ ) multiple comparison of means were

**Cuadro 1. Cantidad de fertilizantes sintéticos utilizados en la elaboración de solución nutritiva suministrada a plantas de pimiento morrón para su crecimiento y producción.**

**Table 1. Quantity of synthetic fertilizers used in the production of nutritive solution provided to bell pepper plants for their growth and production.**

Fertilizante comercial / Commercial fertilizer	Fórmula / Formula	Cantidad (Dosis al 100 %) / Quantity (Dose at 100%)	Cantidad (Dosis al 75 %) / Quantity (Dose at 75%)
			- - - gL <sup>-1</sup> - - -
Nitrato de calcio / Calcium nitrate	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.43	1.07
Nitrato de magnesio / Magnesium nitrate	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.90	0.67
Nitrato de potasio / Potassium nitrate	KNO <sub>3</sub>	0.35	0.26
Fosfato monopotásico / Monopotassium phosphate	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.35	0.26
Micronutrientes (Tradecorp®AZ) <sup>†</sup> / Micronutrients (Tradecorp®AZ) <sup>†</sup>	Fe, Zn, Mn, B, Cu, Mo	0.04	0.03

<sup>†</sup> Trade Corporation International, S.A.U. (Madrid, España).

<sup>†</sup> Trade Corporation International, S.A.U. (Madrid, ES).

de forma individual en cajas Petri, las cuales contenían una solución fisiológica esterilizada de NaCl (0.85% p/v). Posteriormente, siguiendo la metodología de Holguin y Bashan (1996), las raíces se maceraron por medio de una varilla de vidrio esterilizada, de la mezcla obtenida se procedió a colectar 1 mL el cual se depositó dentro de un tubo de ensayo, a continuación se agregaron 9 mL de solución fisiológica estéril de NaCl (0.85% p/v), alcanzando un volumen final de 10 mL, a partir del volumen final obtenido se procedió a efectuar diluciones seriadas para la obtención de UFC por triplicado para cada tratamiento en placas de Petri conteniendo medio de cultivo B-King sólido, las placas de Petri fueron incubadas por un periodo de 72 h a temperatura constante de 26 °C. La población rizobacteriana obtenida en cada tratamiento se expresó como UFC log 10<sup>7</sup> g<sup>-1</sup> de raíz.

### Análisis Estadístico de Datos

Con los datos obtenidos en las variables de estudio se realizó su respectivo análisis de varianza y comparación múltiple de medias de acuerdo con la prueba Tukey ( $P \leq 0.05$ ), mediante el paquete estadístico Statistica® v. 10.0 para Windows (StatSoft).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos, el análisis estadístico muestra diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) para las variables agronómicas de crecimiento y productividad de las plantas de pimiento morrón biofertilizadas de forma individual y combinada con las cepas rizobacterianas de *P. putida* más la aplicación de dos concentraciones de fertilización sintética (Cuadro 2). Las plantas inoculadas con la combinación de las cepas rizobacterianas FA-8, FA-56 y FA-60 (tratamiento MIX) más dosis de fertilización al 100% incrementaron la altura y biomasa fresca respecto al control (fertilización sintética al 100%) en un 28.54% y 19.29% respectivamente, comparando con los resultados obtenidos para las mismas variables de altura y biomasa fresca en plantas con nutrición sintética en dosis del 75% e inoculadas con la cepa FA-56 y MIX se obtuvieron incrementos del 25.03 y 18.80 % respectivamente en comparación con las plantas fertilizadas al 100% (control), tales valores son destacables considerando que se utilizó 25% menos fertilizante sintético en la nutrición de las

performed with the statistical package Statistica® v. 10.0 for Windows (StatSoft).

## RESULTS AND DISCUSSION

According to the results obtained, the statistical analysis showed significant ( $P \leq 0.05$ ) differences for the agronomic variables of bio-fertilized bell pepper plant growth and productivity, individually and combined, with the rhizobacterial strains of *P. putida* and the application of two concentrations of synthetic fertilization (Table 2). The plants inoculated with the combination of rhizobacterial strains FA-8, FA-56, and FA-60 (MIX Treatment) with the fertilization dosage at 100% increased height and fresh biomass compared with the control (synthetic fertilization at 100%) group in 28.54% and 19.29%, respectively, and compared to the results obtained for the same height and fresh biomass variables in plants with synthetic nutrition in dosage at 75% inoculated with the strain FA-56 and MIX, obtaining an increase of 25.03 and 18.80%, respectively; compared with the fertilized plants at 100%, such values were outstanding considering that 25% less of the synthetic fertilizer was used in bio-fertilized plant nutrition. In the dry biomass and stem diameter variables, the plants with the FA-56 strain and synthetic fertilization at 75% showed an increase of 27.25 and 37.85%, respectively, compared with the control plants with synthetic nutrition at 100%.

For root length, radicle volume, and fruit yield the best result was obtained in bio-fertilized plants with the MIX treatment (combination of three rhizobacterial strains) with synthetic fertilization at 75%, obtaining increases of 18.91, 31.86, and 25.78%, respectively, compared with the control plants fertilized at 100%. In the percentage of total sugar content °Brix (total soluble solids) variable found in mature bell pepper, the results did not indicate the presence of significant ( $P \leq 0.05$ ) differences between the treatment of bio-fertilized plants with *P. putida* strains and synthetic nutrition in dosage of 75 and 100% (Table 2).

With respect to the increase in fruit growth and yield determined on bell pepper plants bio-fertilized with *P. putida* rhizobacteria and reduced synthetic fertilization at 75%, the response observed was related with its metabolic capacity to produce regulating growth hormones, particularly of the auxin group, such as indole acetic acid (IAA) metabolic activity capable of inducing plant growth through cell division

plantas biofertilizadas. En las variables biomasa seca y diámetro de tallo, las plantas con la cepa FA-56 y fertilización sintética al 75% mostraron un aumento del 27.25 y 37.85% respectivamente, en comparación a las plantas control con nutrición sintética al 100%.

Para longitud de raíz, volumen radical y rendimiento de fruto, el mejor resultado se obtuvo en las plantas biofertilizadas con el tratamiento MIX (combinación de las tres cepas rizobacterianas) con fertilización sintética al 75%, obteniendo aumentos del 18.91, 31.86 y 25.78% respectivamente, con relación a las plantas control fertilizadas al 100%. En la variable contenido porcentual de azúcares totales °Brix (sólidos solubles totales) presentes en jugo de fruto maduro de pimiento, los resultados no indican presencia de diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos de plantas biofertilizadas con las cepas de *P. putida* y nutrición sintética en dosis del 75 y 100% (Cuadro 2).

and differentiation of expressed tissues in yield and biomass increase (Nadeem *et al.*, 2016; Ghosh *et al.*, 2018).

On the other hand, rhizobacteria have been described as having the ability to improve the mineral nutrition process in plants, facilitating its availability, and increasing nutrient absorption, such as N, P and chelating ions, as Fe (Kumar-Solanki *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2018). In that respect, several authors have pointed out the importance of using rhizobacterial strains of the genus *Pseudomonas* as biofertilizer agents because of their capacity to stimulate growth and/or productivity in plants of economic interest, such as tomato (Hernández-Montiel *et al.*, 2017), habanero pepper (Chiquito-Contreras *et al.*, 2017), bell pepper (Bacilio *et al.*, 2016), potato (Arseneault *et al.*, 2015), soybean (Rubina *et al.*, 2018), wheat (Imperiali *et al.*, 2017), maize (Di Salvo *et al.*, 2018), among others.

**Cuadro 2. Efecto de la inoculación de *Pseudomonas putida* y fertilización sintética en el crecimiento de plantas y rendimiento de fruto de pimiento morrón variedad ‘California Wonder’ en invernadero.**

**Table 2. Effect of *Pseudomonas putida* inoculation and synthetic fertilization on plant growth and fruit yield of bell pepper variety ‘California Wonder’ in greenhouse.**

Tratamientos / Treatment	Altura / Height	Diámetro de tallo / Stem diameter	Longitud radical / Radicle length	Volumen radical / Radicle volume	Biomasa fresca / Fresh biomass	Biomasa seca / Dry biomass	Rendimiento / Yield	SST °Brix
	cm	mm	cm	cm <sup>3</sup>	g	g		%
Fertilización química 100% <sup>†</sup> / Synthetic fertilization 100 % <sup>†</sup>								
Cepa FA-8	106.00 ab	12.89 a	56.97 abc	79.00 ab	265.11 abc	82.30 ab	335.20 ab	8.5 a
Cepa FA-56	108.30 ab	13.47 a	57.29 abc	91.70 a	298.60 ab	87.80 ab	330.55 ab	8.8 a
Cepa FA-60	100.50 abc	12.62 a	57.04 abc	85.75 a	280.85 abc	79.50 abc	370.70 ab	8.5 a
MIX <sup>‡</sup>	118.75 a	12.97 a	57.60 ab	89.50 a	311.85 a	94.40 a	400.30 a	9.0 a
Control	92.38 bc	10.04 b	50.08 bcd	70.15 b	261.43 bc	75.05 bc	325.00 ab	8.5 a
Fertilización química 75% / Synthetic fertilization 75 %								
Cepa FA-8	96.88 abc	12.59 a	50.50 cd	77.00 ab	267.94 abc	76.63 abc	316.63 b	8.5 a
Cepa FA-56	115.50 a	13.84 a	56.60 abc	86.60 a	307.65 ab	95.50 a	353.75 ab	9.0 a
Cepa FA-60	110.70 ab	12.07 a	52.54 bcd	86.40 a	282.95 abc	84.90 ab	347.80 ab	8.8 a
MIX	114.00 ab	12.65 a	59.55 a	92.50 a	310.60 a	93.70 a	408.80 a	9.0 a
Control	86.38 c	9.74 b	48.60 d	69.75 b	240.54 c	62.74 c	300.55 b	8.5 a

SST = sólidos solubles totales. Medias de la misma columna con letras distintas indican la presencia de diferencias significativas, según la prueba Tukey ( $P \leq 0.05$ ). <sup>†</sup> Solución nutritiva elaborada con: KNO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y micronutrientes (Zn, Fe, B, Mn, Mo y Cu). <sup>‡</sup> MIX = Inoculación simultánea con las tres cepas de *Pseudomonas putida* en plantas de pimiento morrón.

SST = Total soluble solids. Means in the same column with different letters indicate significant differences, according to Tukey's ( $P \leq 0.05$ ) test. <sup>†</sup> Nutritive solution made with: KNO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> and micronutrients (Zn, Fe, B, Mn, Mo and Cu). <sup>‡</sup> MIX = Simultaneous inoculation with the three *Pseudomonas putida* strains in bell pepper plants.



En cuanto al aumento del crecimiento y rendimiento de fruto determinados en las plantas de pimiento biofertilizadas con las cepas rizobacterianas de la especie *P. putida* y dosis reducida de fertilización sintética al 75%, la respuesta observada ésta relacionada con la capacidad metabólica de *P. putida* para producir hormonas reguladoras del crecimiento, particularmente del grupo de las auxinas como el ácido indolacético (AIA), actividad metabólica capaz de inducir el crecimiento vegetal, a través de la división celular y diferenciación de tejidos expresado en un incremento de biomasa y rendimiento (Nadeem *et al.*, 2016; Ghosh *et al.*, 2018).

Por otra parte, se ha descrito que las rizobacterias poseen la habilidad para mejorar el proceso de nutrición mineral de las plantas, al facilitar la disponibilidad y aumentar la absorción de nutrimentos como N, P y quelatización de iones como el Fe (Kumar-Solanki *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2018). Al respecto, diversos autores han señalado la importancia de utilizar cepas rizobacterianas del género *Pseudomonas* como agentes biofertilizantes, debido a su capacidad para estimular el crecimiento vegetal y/o productividad de plantas de interés económico como: tomate (Hernández-Montiel *et al.*, 2017), chile habanero (Chiquito-Contreras *et al.*, 2017), pimiento morrón (Bacilio *et al.*, 2016), papa (Arseneault *et al.*, 2015), soya (Rubina *et al.*, 2018), trigo (Imperiali *et al.*, 2017), maíz (Di Salvo *et al.*, 2018), entre otros.

Díaz *et al.* (2015) indican que la aplicación en campo de agentes rizobacterianos de la especie *Azospirillum brasilense* en plantas de sorgo más fertilización sintética al 50%, aumentó significativamente el número de granos por panoja, contenido de proteína y rendimiento total de grano, en comparación con las plantas de sorgo sin biofertilizar y con dosis de fertilización al 100%.

Por su parte Carlier *et al.* (2008) en un estudio similar reportan que la biofertilización en campo de plantas de trigo con cepas de *Pseudomonas* sp. y dosis de fertilización sintética reducida al 50% mostró un aumento significativo en el peso de semilla y número de espigas. Dubey *et al.* (2014) reportan que la inoculación de plantas de garbanzo con cepas rizobacterianas de *Bacillus subtilis* más fertilización sintética en dosis reducida al 50%, mejoró significativamente el rendimiento de semilla, respecto a las plantas fertilizadas al 100% sin inocular. Chiquito-Contreras *et al.* (2017) al evaluar en plantas de chile habanero

Díaz *et al.* (2015) indicated that the application in field of rhizobacterial agents of the species *Azospirillum brasilense* in sorghum plants with synthetic fertilization at 50%, increased the number of grains per panicle, protein content, and total grain yield compared with the sorghum plants without biofertilizer and with a fertilization dose at 100%.

In a similar study, Carlier *et al.* (2008) reported that biofertilization of wheat plants in field with *Pseudomonas* sp. strains and synthetic fertilization dose reduced at 50% showed a relevant effect on seed weight and ears of wheat number with a significant increase in both. Dubey *et al.* (2014) reported that inoculation in chickpea plants with rhizobacterial strains of *Bacillus subtilis* and synthetic fertilization in reduced dosage at 50%, improved seed yield compared with fertilized plants at 100% without inoculant. Chiquito-Contreras *et al.* (2017), while assessing the effect of different rhizobacterial *P. putida* strains and synthetic fertilization in a dose at 75% on habanero pepper plants, obtained a significant increase in fruit yield compared with plants with a dose at 100% of synthetic fertilization and without inoculation. These authors concluded that the application of a reduced dosage of synthetic fertilizers allowed a decrease in crop production costs, generating at the same time, a lower harmful impact toward the environment because of the continuous use of inorganic supplies. In this study, when bio-fertilized bell pepper plants were assessed with the three rhizobacterial *P. putida* strains (MIX treatment) and synthetic fertilization at 75%, fruit yield showed a relevant increase of 25% compared with fertilized plants at 100%.

With respect to nutritional fruit composition, particularly in total soluble solids content (°Brix), some studies have pointed out that this organoleptic quality in fruits of bio-fertilized plants could be influenced by the rhizobacterial metabolic activity and potential to favor absorption and assimilation of essential nutrimental elements; additionally, the stimulation regulated by ethylene (Gamalero and Glick, 2015) a volatile organic compound that intervenes in enzyme production with a reduction function of sugars located on the fruit cell wall gives rise to simple monosaccharides that increase progressively during the fruit maturity stage (Ordookhani and Zare, 2011; Pérez-Velasco *et al.*, 2019).

el efecto de diferentes cepas rizobacterianas de *P. putida* con fertilización sintética en dosis del 75% en condiciones de invernadero, obtuvieron un incremento significativo en el rendimiento de fruto respecto a las plantas con dosis del 100% de fertilización sintética y sin inocular, concluyendo que la aplicación de dosis reducidas de fertilizantes sintéticos permitirá una disminución en los costos de producción del cultivo, generando a su vez un menor impacto nocivo hacia el ambiente por el uso continuo de insumos inorgánicos. En el presente estudio al evaluar plantas de pimiento morrón biofertilizadas con las tres cepas rizobacterianas de *P. putida* (tratamiento MIX) y fertilización sintética al 75%, mostró un incremento significativo en el rendimiento de fruto del 25%, en comparación con las plantas control fertilizadas al 100%.

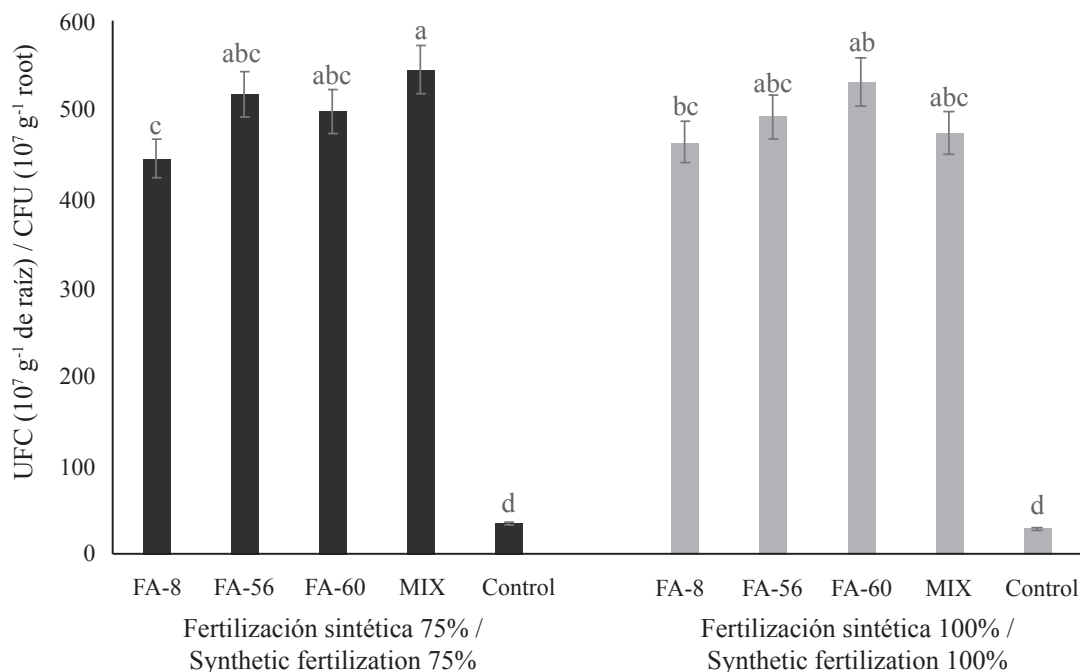
En cuanto a la composición nutricional del fruto, en particular al contenido de sólidos solubles totales (°Brix), algunos estudios señalan que esta cualidad organoléptica en frutos de plantas biofertilizadas, puede estar influenciada por la actividad metabólica y potencial de las rizobacterias para favorecer la absorción y asimilación de elementos nutrimentales esenciales, así como por la estimulación regulada por el etileno (Gamalero y Glick, 2015), compuesto orgánico volátil que interviene en la producción de enzimas con función reductora de los azúcares que se localizan en la pared celular del fruto, dando origen a monosacáridos simples que aumentan progresivamente durante la fase de maduración del fruto (Ordookhani y Zare, 2011; Pérez-Velasco *et al.*, 2019).

Respecto a la tasa poblacional (UFC) de células bacterianas de *P. putida* cuantificadas en las muestras de raíces de las plantas de pimiento morrón, las cepas rizobacterianas más dosis de fertilización sintética al 75 y 100% mostraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 1). Las plantas del tratamiento MIX biofertilizadas simultáneamente con las tres cepas de *P. putida* (FA-8, FA-56 y FA-60) más fertilización sintética al 75% mostraron la mayor tasa poblacional de células con 545 UFC ( $10^7$  g<sup>-1</sup> de tejido fresco de raíces), por su parte, las plantas biofertilizadas con las cepas de forma individual y combinada más fertilización sintética al 100% mostraron poblaciones bajas de UFC.

As to the CFU of bacterial *P. putida* cells quantified in the bell pepper plant root samples, the rhizobacterial strains with the synthetic fertilization at 75 and 100%, showed differences between treatments (Figure 1). The plants of the MIX treatment, bio-fertilized simultaneously with the three *P. putida* strains (FA-8, FA-56, and FA-60) and synthetic fertilization at 75%, showed the greatest cell population rate with 545 CFU ( $10^7$  g<sup>-1</sup> of fresh root tissue) whereas the bio-fertilized plants with the individual and combined strains and synthetic fertilization at 100% showed the lowest CFU count.

Evidence has pointed out the negative effect of synthetic fertilizers on population rate and metabolic activity of the rhizobacteria inoculated in plants, as it occurs in different rhizobacterial species capable of performing biological fixation of atmospheric nitrogen, an essential nutritional element for optimum plant growth and metabolism (Pankiewicz *et al.*, 2015); generally, this type of microorganisms in the presence of inorganic nitrogen show a reduction on the metabolic biologic N fixation because the action of this type of rhizobacteria is particularly significant when this nutrimental element is scarce in the plant rhizosphere (Nadeem *et al.*, 2016; Moreau *et al.*, 2019).

Some studies have described that fluctuations in rhizobacterial population rate is conditioned to the type of the rhizobacterial inoculation method used on plants, as well as the quantity and quality of the organic compounds produced in root exudation, which highlights the presence of different hormone groups (such as, auxins, gibberellins and cytokinins), sugars, vitamins, amino acids, enzymes, organic acids, and phenols (Aung *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2018). Finally, both the amount and quality of the root exudate compounds were capable of stimulating rhizobacterial activity through competence of the metabolites present in the exudates; furthermore, the area where roots emerge, spaces between the unions of epidermal cells and growth zones, are the ideal points for proliferation of the microbial populations with greater adhesion, activity, and microbial attraction (Vacheron *et al.*, 2013; Sasse *et al.*, 2018).



**Figura 1. Unidades formadoras de colonias contabilizadas en raíces de plantas de pimiento morrón variedad ‘California Wonder’, biofertilizadas con cepas de *Pseudomonas putida* y plantas control con fertilización sintética, a los 135 días posteriores al trasplante.** Letras distintas presentes en las barras indican diferencias significativas, según la prueba de rango múltiple Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

**Figure 1. Colony forming unit count in bell pepper plant roots, variety ‘California Wonder’, biofertilized with *Pseudomonas putida* strains and control group of plants with synthetic fertilization at 135 days after transplant.** Different letters in bars indicate significant differences according to Tukey’s ( $P \leq 0.05$ ) multiple range test.

Hay evidencias que señalan el efecto negativo de los fertilizantes sintéticos sobre la tasa poblacional y actividad metabólica de las rizobacterias inoculadas en plantas, tal y como ocurre en diversas especies rizobacterianas capaces de realizar la fijación biológica del nitrógeno atmosférico, elemento nutricional esencial para el óptimo crecimiento y metabolismo de las plantas (Pankievicz *et al.*, 2015), generalmente este tipo de microorganismos en presencia de nitrógeno inorgánico presentan una reducción en su habilidad metabólica para la fijación biológica de N, debido a que la acción de este tipo de rizobacterias es particularmente significativa cuando este elemento nutricional se encuentra escaso entorno a la rizósfera de las plantas (Nadeem *et al.*, 2016; Moreau *et al.*, 2019).

Algunos estudios han descrito que las fluctuaciones en la tasa poblacional de rizobacterias, está condicionada de acuerdo con el método de inoculación de las rizobacterias sobre las plantas, así como por la cantidad y calidad de los compuestos orgánicos

## CONCLUSIONS

The determined response in bell pepper variety ‘California Wonder’ bio-fertilized with *Pseudomonas putida* strains, both individually and combined with synthetic fertilization dosage reduced at 75%, showed the greatest increase in the different morphologic growth variables (root length, root volume, stem diameter, and dry biomass), bacterial population, and fruit production. The use of rhizobacteria may contribute to a decrease in synthetic fertilizer quantity supplied to plants up to 25%, which allows a considerable reduction in production costs of bell pepper crop and contributes to soil fertility conservation besides minimizing environmental impact. Detailed studies in field conditions should be performed where the implementation of synthetic fertilization is contemplated in a reduced dosage to validate the capacity of the species *P. putida* rhizobacterial strains as bio-fertilizers capable of promoting plant growth

producidos en la exudación de las raíces, sobresaliendo la presencia de diversos grupos hormonales (como las auxinas, giberelinas y citoquininas), azúcares, vitaminas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgánicos y fenoles (Aung *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2018). Finalmente, tanto la cantidad como la calidad de los compuestos exudados generados por las raíces de las plantas son capaces de estimular la actividad de las rizobacterias a través de competencia por la diversidad de metabolitos presentes en los exudados, así como por el área que ocupan sobre las raíces, siendo los puntos idóneos para la proliferación de las poblaciones microbianas los espacios entre las uniones de las células epidérmicas y las zonas de crecimiento por donde emergen las raíces, zonas con mejor adhesión, mayor actividad y atracción microbiana (Vacheron *et al.*, 2013; Sasse *et al.*, 2018).

### CONCLUSIONES

La respuesta determinada en las plantas de pimiento morrón variedad ‘California Wonder’, biofertilizadas con cepas de *Pseudomonas putida* de forma individual y combinada más fertilización sintética en dosis reducida al 75% mostró mayores incrementos en diferentes variables morfológicas de crecimiento (longitud de raíz, volumen de raíz, diámetro de tallo y biomasa seca), población bacteriana y producción de frutos. La utilización de rizobacterias puede contribuir a la disminución de la cantidad de fertilizantes sintéticos suministrados a las plantas hasta en un 25%, permitiendo una reducción considerable en los costos de producción del cultivo de pimiento morrón, coadyuvar en la conservación de la fertilidad del suelo y minimizar el impacto ambiental. Es necesario realizar estudios detallados en condiciones de campo, en donde se contemple la implementación de fertilización sintética en dosis reducidas, para validar la capacidad de las cepas rizobacterianas de la especie *P. putida* como biofertilizantes capaces de promover el crecimiento vegetativo y rendimiento de fruto en plantas de pimiento morrón con un enfoque de producción agrícola sustentable y ecológicamente viable.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores del presente trabajo agradecen a la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana Campus Xalapa, el uso de instalaciones

and fruit yield in bell pepper plants with a sustainable agriculture production approach and ecologically viable.

### ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Facultad de Ciencias Agrícolas of Universidad Veracruzana Campus Xalapa, for using the facilities and technical support provided by the responsible staff of the Agricultural Chemistry Laboratory and greenhouse area; to D. Fischer for translation and editorial services.

-End of english version-

y soporte técnico proporcionado a través del personal responsable del Laboratorio de Química Agrícola y del área de invernaderos; a D. Fischer por los servicios de edición y traducción.

-Fin de la versión en español-

### REFERENCIAS / REFERENCES

- Arseneault, T., C. Goyer, and M. Filion. 2015. *Pseudomonas fluorescens* LBUM223 increases potato yield and reduces common scab symptoms in the field. *Phytopathology* 105: 1311-1317. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-14-0358-R>.
- Aung, H. P., A. D. Mensah, Y. S. Aye, S. Djedidi, Y. Oikawa, T. Yokoyama, S. Suzuki, and S. D. Bellingrath-Kimura. 2016. Transfer of radiocesium from rhizosphere soil to four cruciferous vegetables in association with a *Bacillus pumilus* strain and root exudation. *J. Environ. Radioact.* 164: 209-219. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2016.07.006>.
- Bacilio, M., M. Moreno, and Y. Bashan. 2016. Mitigation of negative effects of progressive soil salinity gradients by application of humic acids and inoculation with *Pseudomonas stutzeri* in a salt-tolerant and a salt-susceptible pepper. *Appl. Soil Ecol.* 107: 394-404. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.04.012>.
- Carlier, E., M. Rovera, A. Rossi Jaume, and S. B. Rosas. 2008. Improvement of growth, under field conditions, of wheat inoculated with *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* SR1. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 2653-2658. doi: <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9791-6>.

- Coy, R. M., D. W. Held, and J. W. Klopper. 2019. Rhizobacterial colonization of bermudagrass by *Bacillus* spp. in a Marvyn loamy sand soil. *Appl. Soil Ecol.* 141: 10-17. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.04.018>.
- Chiquito-Contreras, R. G., B. Murillo-Amador, C. J. Chiquito-Contreras, J. C. Márquez-Martínez, M. V. Córdoba-Matson, and L. G. Hernández-Montiel. 2017. Effect of *Pseudomonas putida* and inorganic fertilizer on growth and productivity of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) in greenhouse. *J. Plant Nutr.* 40: 2595-2601. doi: <https://doi.org/10.1080/01904167.2017.1381119>.
- Cordero, I., L. Balaguer, A. Rincón, and J. J. Pueyo. 2018. Inoculation of tomato plants with selected PGPR represents a feasible alternative to chemical fertilization under salt stress. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 181: 694-703. doi: <https://doi.org/10.1002/jpln.201700480>.
- Dar, Z. M., A. Rouf, A. Masood, M. Asif, and M. A. Malik. 2018. Review on plant growth promoting rhizobacteria and its effect on plant growth. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 7: 2802-2804.
- Di salvo, L. P., G. C. Cellucci, M. E. Carlino, and I. E. García de Salamone. 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation and nitrogen fertilization increase maize (*Zea mays* L.) grain yield and modified rhizosphere microbial communities. *Appl. Soil Ecol.* 126: 113-120. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.02.010>.
- Díaz Franco, A., D. Gálvez López y F. E. Ortiz Cháirez. 2015. Bioinoculación y fertilización química reducida asociadas con el crecimiento de planta y productividad de sorgo. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 31: 245-252.
- Díaz Franco, A., F. E. Ortiz Cháirez, O. A. Grageda Cabrera y E. Fernández Cruz. 2018. Nutrición mineral y rendimiento de sorgo inoculado con cepas microbianas en dos agroambientes. *Terra Latinoamericana* 36: 229-238. doi: <https://dx.doi.org/10.28940/terra.v36i3.295>.
- Dinesh, R., M. Anandaraj, A. Kumar, V. Srinivasan, Y. K. Bini, K. P. Subila, R. Aravind, and S. Hamza. 2013. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria and NPK fertilizers on biochemical and microbial properties of soils under ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) cultivation. *Agric. Res.* 2: 346-353. doi: <https://doi.org/10.1007/s40003-013-0080-8>.
- Dubey, R. C., S. Khare, P. Kumar, and D. K. Maheshwari. 2014. Combined effect of chemical fertilisers and rhizosphere-competent *Bacillus subtilis* BSK17 on yield of *Cicer arietinum*. *Arch. Phytopathol. Plant Protect.* 47: 2305-2318. doi: <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.876744>.
- Espinosa Palomeque, B., A. Moreno Reséndez, P. Cano Ríos, V. P. Álvarez Reyna, J. Sáenz Mata, H. Sánchez Galván y G. González Rodríguez. 2017. Inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. afrodita en invernadero. *Terra Latinoamericana* 35: 169-178. doi: <https://doi.org/10.28940/terra.v35i2.194>.
- Gamalerio, E. and B. R. Glick. 2015. Bacterial modulation of plant ethylene levels. *Plant Physiol.* 169: 13-22. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.15.00284>.
- Ghosh, D., A. Gupta, and S. Mohapatra. 2018. Dynamics of endogenous hormone regulation in plants by phytohormone secreting rhizobacteria under water-stress. *Symbiosis* 77: 265-278. doi: <https://doi.org/10.1007/s13199-018-00589-w>.
- Hernández-Montiel, L. G., C. J. Chiquito-Contreras, B. Murillo-Amador, L. Vidal-Hernández, E. E. Quiñones-Aguilar, and R. G. Chiquito-Contreras. 2017. Efficiency of two inoculation methods of *Pseudomonas putida* on growth and yield of tomato plants. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 17: 1003-1012. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162017000400012>.
- Holguin, G. and Y. Bashan. 1996. Nitrogen-fixation by *Azospirillum brasilense* Cd is promoted when co-cultured with a mangrove rhizosphere bacterium (*Staphylococcus* sp.). *Soil Biol. Biochem.* 28: 1651-1660. doi: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00251-9](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00251-9).
- Imperiali, N., X. M. Chiriboga, K. Schlaeppli, M. Fesselet, D. Villacrés, G. Jaffuel, S. F. Bender, F. Dennert, R. Blanco-Pérez, M. G. A Van der Heijden, M. Maurhofer, F. Mascher, T. C. J. Turlings, C. Keel, and R. Campos-Herrera. 2017. Combined field inoculations of *Pseudomonas* bacteria, arbuscular mycorrhizal fungi, and entomopathogenic nematodes and their effects on wheat performance. *Front. Plant Sci.* 8: 1-17. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01809>.
- Kamou, N. N., H. Karasali, G. Menexes, K. M. Kasiotis, M. C. Bon, E. N. Papadakis, G. D. Tzelepis, L. Lotos, and A. L. Lagopodi. 2015. Isolation screening and characterization of local beneficial rhizobacteria based upon their ability to suppress the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and tomato foot and root rot. *Biocontrol Sci. Technol.* 25: 928-949. doi: <https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1020762>.
- Kumar-Solanki, M., R. Kumar-Singh, S. Srivastava, S. Kumar, P. Lal-Kashyap, A. K. Srivastava, and D. K. Arora. 2014. Isolation and characterization of siderophore producing antagonistic rhizobacteria against *Rhizoctonia solani*. *J. Basic Microbiol.* 54: 585-597. doi: <https://doi.org/10.1002/jobm.201200564>.
- Moreau, D., R. D. Bardgett, D. Finlay, D. L. Jones, and L. Philippot. 2019. A plant perspective on nitrogen cycling in the rhizosphere. *Funct. Ecol.* 33: 540-552. doi: <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13303>.
- Nadeem, S. M., M. Ahmad, M. Naveed, M. Imran, Z. A. Zahir, and D. E. Crowley. 2016. Relationship between *in vitro* characterization and comparative efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria for improving cucumber salt tolerance. *Arch. Microbiol.* 198: 379-387. doi: <https://doi.org/10.1007/s00203-016-1197-5>.
- Naili, F., M. Neifar, D. Elhidri, H. Cherif, B. Bejaoui, M. Aroua, Z. Bejaoui, M. Abassi, K. Mguiz, H. Chouchane, H. I. Ouzari, and A. Cherif. 2018. Optimization of the effect of PGPR-based biofertilizer on wheat growth and yield. *Biom. Biostat. Int. J.* 7: 226-232. doi: <https://doi.org/10.15406/bbij.2018.07.00213>.
- Naseri, R. and A. Mirzaei. 2010. Response of yield and yield components of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to seed inoculation with *Azotobacter* and *azospirillum* and different nitrogen levels under dry land condition. *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.* 9: 445-449.
- Noh-Medina, J., C. Yam-Chimal, L. Borges-Gómez, J. J. Zúñiga-Aguilar y G. Godoy-Hernández. 2014. Aislados bacterianos con potencial biofertilizante para plántulas de tomate. *Terra Latinoamericana* 32: 273- 281.
- Ordookhani, K. and M. Zare. 2011. Effect of *Pseudomonas*, *Azotobacter* and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) on lycopene, antioxidant activity and total soluble solid in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) F1 Hybrid, Delta. *Adv. Environ. Biol.* 5: 1290-1294.

- Pankievicz, V. C., F. P. do Amaral, K. F. D. N. Santos, B. Agtuca, Y. M. J. Schueller, A. C. M. Arisi, M. B. R. Steffens, E. M. de Souza, F. O. Pedrosa, G. Stacey, and R. A. Ferrieri. 2015. Robust biological nitrogen fixation in a model grass-bacterial association. *Plant J.* 81: 907-919. doi: <https://doi.org/10.1111/tpj.12777>.
- Pérez-Velasco, E. A., R. Mendoza-Villarreal, A. Sandoval-Rangel, M. Cabrera-de la Fuente, V. Robledo-Torres y L. A. Valdez-Aguilar. 2019. Evaluación del uso de endomicorrizas y *Azospirillum* sp. en la productividad y calidad nutracéutica de chile morrón (*Capsicum annuum*) en invernadero. *ITEA-Inf. Tec. Econ. Agr.* 115: 18-30. doi: <https://doi.org/10.12706/itea.2018.029>.
- Puente, M. L., J. L. Gualpa, G. A. Lopez, R. M. Molina, S. M. Carletti, and F. D. Cassán. 2018. The benefits of foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean are explained by an auxin signaling model. *Symbiosis* 76: 41-49. doi: <https://doi.org/10.1007/s13199-017-0536-x>.
- Rubina Noreen, H., F. Urooj, H. Farhat, H. A. Shafique, A. Rahman, and S. Ehteshamul-Haque. 2018. Impact of endonodule fluorescent *Pseudomonas* and Rhizobia on root rotting fungi and growth of soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Int. J. Biol. Res.* 6: 27-33.
- Sasse, J., E. Martinoia, and T. Northern. 2018. Feed your friends: Do plant exudates shape the root microbiome? *Trends Plant Sci.* 23: 25-41. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.09.003>.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera de México). 2017. Producción agrícola, resumen nacional por cultivo. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccionagricola-por-cultivo/>. (Consulta: junio 05, 2019).
- Singh, A. V., B. Prasad, and R. Goel. 2018. Plant growth promoting efficiency of phosphate solubilizing *Chryseobacterium* sp. PSR 10 with different doses of N and P fertilizers on lentil (*Lens culinaris* var. PL-5) growth and yield. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7: 2280-2289. doi: <https://doi.org/10.20546/ijemas.2018.705.265>.
- Schulz, H. and B. Glaser. 2012. Effects of biochar compared to organic and inorganic fertilizers on soil quality and plant growth in a greenhouse experiment. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 175: 410-422. doi: <https://doi.org/10.1002/jpln.201100143>.
- Sunar, K., P. Dey, U. Chkraborty, and B. Chakreborty. 2015. Biocontrol efficacy and plant growth promoting activity of *Bacillus altitudinis* isolated from Darjeeling hills, India. *J. Basic Microbiol.* 55: 91-104. doi: <https://doi.org/10.1002/jobm.201300227>.
- Tahir, M., U. Khalid, M. Ijaz, G. M. Shah, M. A. Naeem, M. Shahid, K. Mahmood, N. Ahmad, and F. Kareem. 2018. Combined application of bio-organic phosphate and phosphorus solubilizing bacteria (*Bacillus* strain MWT 14) improve the performance of bread wheat with low fertilizer input under an arid climate. *Braz. J. Microbiol.* 49: 15-24. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2017.11.005>.
- Tripti, A. Kumar, Z. Usmani, V. Kumar, and Anshumali. 2017. Biochar and flyash inoculated with plant growth promoting rhizobacteria act as potential biofertilizer for luxuriant growth and yield of tomato plant. *J. Environ. Manage.* 190: 20-27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.11.060>.
- Vacheron, J., G. Desbrosses, M. L. Bouffaud, B. Touraine, Y. Moenne-Loccoz, D. Muller, L. Legendre, F. Wisniewski-Dye, and C. Prigent-Combaret. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front. Plant Sci.* 4: 1-19. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>.
- Watanabe, M., Y. Ohta, S. Licang, N. Motoyama, and J. Kikuchi. 2015. Profiling contents of water-soluble metabolites and mineral nutrients to evaluate the effects of pesticides and organic and chemical fertilizers on tomato fruit quality. *Food Chem.* 169: 387-395. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.155>.
- Wu, L., Y. Kobayashi, J. Wasaki, and H. Koyama. 2018. Organic acid excretion from roots: a plant mechanism for enhancing phosphorus acquisition, enhancing aluminum tolerance, and recruiting beneficial rhizobacteria. *Soil Sci. Plant Nutr.* 64: 697-704. doi: <https://doi.org/10.1080/00380768.2018.1537093>.
- Yang, J., J. W. Kloepper, and C. M. Ryu. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* 14: 1-4. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.004>.
- Yousefi, A.A. and A. R. Barzegar. 2014. Effect of *Azotobacter* and *Pseudomonas* bacteria inoculation on wheat yield under field condition. *Int. J. Agric. Crop Sci.* 7: 616-619.
- Zaidi, A., E. Ahmad, M. S. Khan, S. Saif, and A. Rizvi. 2015. Role of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. *Sci. Hortic.* 193: 231-239. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.07.020>.