INOCULACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL Y SU EFECTO EN ECOTIPOS DE TOMATE

INOCULATION OF PLANT GROWTH-PROMOTING BACTERIA AND THEIR EFFECT ON TOMATO ECOTYPES

Nancy Lizbeth Hernández-Valladares¹, Francisco Palemón-Alberto¹*, Agustín Damián-Nava¹, Blas Cruz-Lagunas¹, Natividad Delfina Herrera-Castro², Santo Ángel Ortega-Acosta¹, Jeiry Toribio-Jiménez³ y Guadalupe Reyes-García¹

¹Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro), Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Maestría en Ciencias Agropecuarias y Gestión Local, Iguala de la Independencia, Guerrero, México. ²UAGro, Instituto de Investigación Científica, Área Ciencias Naturales, Chilpancingo, Guerrero, México. ³UAGro, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Chilpancingo, Guerrero, México.

*Autor de correspondencia (alpaf75@hotmail.com)

RESUMEN

La especie Solanum lycopersicum L. muestra variación en intensidad de color, forma y tamaño de fruto, y hábitos de crecimiento, por lo que es importante identificar variedades sobresalientes en características agronómicas y someterlas a un proceso de mejoramiento genético. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la inoculación con Klebsiella variicola, K. quasipneumoniae y K. pneumoniae en plantas de 19 ecotipos de tomate. Se estableció un experimento en un diseño de bloques completos al azar bajo un arreglo factorial generalizado con cinco repeticiones en condiciones de bioespacio. Las variables evaluadas fueron días a floración, peso fresco de fruto, longitud de raíz, peso fresco de raíz, volumen de raíz, peso seco de raíz y número de semillas. El análisis de varianza mostró diferencias significativas en las fuentes de variación cepas de bacteria y ecotipos de tomate. Los resultados indicaron variación en el sistema radicular, características agronómicas y componentes de rendimiento de fruto con la aplicación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en ecotipos nativos de tomate. Las cepas bacterianas favorecen la producción de frutos de tomate con atributos para ser comercializados.

Palabras clave: Solanum lycopersicum, Klebsiella neumoniae, K. quasineumoniae, K. variicola, simbiosis.

SUMMARY

The species *Solanum lycopersicum* L. shows variation in intensity of color, fruit shape and size, and growth habits, thus, it is important to identify outstanding varieties in agronomic characteristics and subject them to a breeding process. The objective of this study was to evaluate the effect of inoculation with *Klebsiella variicola, K. quasipneumoniae* and *K. pneumoniae* in plants of 19 tomato ecotypes. An experiment was established in a randomized complete block design under a generalized factorial arrangement with five replications under biospace conditions. The variables evaluated were days to flowering, fresh fruit weight, root length, fresh root weight, root volume, dry root weight and number of seeds. The analysis of variance showed significant differences in the sources of variation bacterial strains and tomato ecotypes. Results indicated variation in the root system, agronomic characteristics and fruit yield components with the application of plant growth promoting bacteria in native tomato ecotypes. Bacterial strains favor the production of tomato fruits with attributes to be commercialized.

Index words: Solanum lycopersicum L., Klebsiella neumoniae, K.

quasineumoniae, K. variicola, symbiosis.

INTRODUCCIÓN

El centro de origen del tomate (Solanum lycopersicum L.) es la región andina que comparten Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile, donde crecen diversas especies nativas de este género (Esquinas y Nuez, 2001). La amplia distribución del tomate criollo permite disponer de poblaciones con características agronómicas para enfrentar factores adversos del ambiente. El género Solanum puede variar en color, forma y tamaño de fruto, hábito de crecimiento y morfología de la hoja (Grandilio et al., 1996; Holtan y Hake, 2003; van der Knaap et al., 2002). Vallejo et al. (1994) mencionaron que las formas silvestres de tomate presentan mayor número de flores por racimo, carácter que se relaciona con la productividad potencial. Las variedades de tomate que tienen mayor demanda en el mercado nacional son de tipo saladette, bola y cherry, y los tomates criollos conocidos localmente como arriñonados. ojo de venado y tomate de pájaro tienen su mayor demanda en los mercados regionales.

Por otra parte, se han realizado estudios sobre bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas con gramíneas para incrementar, estimular, movilizar, solubilizar y transformar los nutrimentos, con los géneros bacterianos Azospirillum, Azotobacter, Bacillus, Beijerinckia, Burkholderia, Enterobacter, Erwinia, Flavobacterium, Microbacterium, Pseudomonas, Rhizobium y Serratia, que se consideran como bacterias solubilizadoras de fosfato (Mehnaz y Lazarovits 2006). Bacterias promotoras de crecimiento vegetal, como Bacillus subtilis (Qiao et al., 2017) y Rhizobium spp. (Radwan et al., 2004; Santillana et al., 2005) se aplicaron en tomate; en arroz silvestre (Oryza officinalis) se probaron los géneros Azospirillum,

Recibido: 17 de noviembre de 2020 Aceptado: 8 de junio de 2021 Herbaspirillum, Burkholderia, Azotobacter y Bacillus (Elbeltagy et al., 2001); en Salicornia bigelovii se inoculó Azospirillum halopraeferens, Klebsiella pneumoniae (Rueda-Puente et al., 2009), y en lechuga (Lactuca sativa) se inoculó Hafnia alvei P-3, Pseudomonas aeruginosa, Azospirillum, Enterobacter cloacae y Klebsiella pneumoniae (Díaz et al., 2001).

El género Klebsiella incluye bacterias no móviles de aspecto mucoide, usualmente presentan cápsulas, son oxidasas negativas, productoras de β-lactamasas, lisina, no descarboxilan la ornitina y fermentan glucosa y lactosa (Winn et al., 2008). Klebsiella guasipneumoniae es un patógeno humano y animal que está ampliamente distribuido en el medio ambiente (Brisse et al., 2006). Klebsiella variicola es una bacteria que fue identificada por Holt et al. (2015) en humanos y se ha estudiado en cultivos de importancia agrícola como maíz (Zea mays) (Yang y Yang, 2020), trigo (Triticum aestivum) (Wang et al., 2020) y tomate (Guerrieri et al., 2020), donde se ha observado como fijadora de nitrógeno (Herrera-Quiterio et al. 2020); ésta se clasifica en el grupo de las rizobacterias, capaces de producir fitohormonas que promueven el crecimiento de plantas (Carcaño-Montiel et al., 2006). Dado el interés en reducir el uso de productos agroquímicos y favorecer la agricultura orgánica, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal constituyen una alternativa al uso de fertilizantes para ampliar el espectro de suelos favorables al cultivo. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la inoculación de Klebsiella spp. sobre características agronómicas de ecotipos nativos de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento

El estudio se desarrolló en condiciones de bioespacio en el Campus Tuxpan de la Universidad Autónoma de Guerrero, en Iguala, Guerrero, México (18° 20' 45" N, 99° 29' 40" O, 735 msnm) cuyo clima es el más seco de los cálidos subhúmedos, lluvias en verano distribuidas de junio a octubre, precipitación media anual de 978 mm y temperatura media anual de 25.7 °C (García, 2004).

Material genético y diseño experimental

Se utilizaron 19 ecotipos de tomate criollo con frutos de tamaño grande provenientes de los estados de Puebla, Guerrero, Oaxaca y Yucatán, México. Se usó un diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo factorial generalizado con cinco repeticiones; los factores estudiados fueron 19 ecotipos criollos de tomate en combinación con cinco tratamientos (T) de cepas de bacteria: Klebsiella variicola (PB06) (T1), K.

quasipneumoniae (HPA 4-3) (T2), K. pneumoniae (PB02) (T3), solución nutritiva (T4) y agua con pH 6.0 (T5), la unidad experimental fue una planta y se condujeron a un solo tallo principal y se eliminaron los brotes vegetativos.

Aislamiento y aplicación de las cepas bacterianas

Las cepas bacterianas K. variicola (PB06), K. quasipneumoniae (HPA 4-3), K. pneumoniae (PB02) fueron aisladas de la rizósfera de plantas e identificadas por métodos moleculares, cada cepa se cultivó por separado en matraces con capacidad de 500 mL de caldo nutritivo en agitación constante de 180 rpm (Shaker SSI5-SSI5R, Applied Instruments Corporation, San Juan Capistrano, California, EUA) a 30 °C hasta obtener una densidad óptica de 1.0 a 600 nm; posteriormente, se realizó una dilución 1:1 con solución glucosada 10 % para cada cepa, esta suspensión fue ajustada al tubo 2 de Nefelómetro de Macfarlan que contenía aproximadamente de 4 × 108 UFC mL⁻¹ y se inocularon las plantas con 10 mL de la suspensión usando jeringas estériles con las cepas por separado. Este procedimiento se realizó tres veces, a los 10, 30 y 50 días después del trasplante, a cada planta se le aplicaron 10 mL de suspensión bacteriana por evento.

Solución nutritiva y agua

La solución nutritiva se preparó con 116.25 g de Ca $(NO_3)_2$, 28.5 g de multi NPK, 41.25 g de K $_2$ SO $_4$, 57. 75 g de MgSO $_4$ y 15 g de KH $_2$ PO $_4$ para tener una conductividad eléctrica de 1.5 dS m $^{-1}$, la cual se verificó con un medidor portátil de pH/CE/TDS/Temperatura (HANNA® Modelo HI 9813-6, Smithfield, Rhode Island, EUA); la solución nutritiva se aplicó tres veces por semana. Para los tratamientos de nutrición y agua con pH 6.0 se aplicaron en la etapa vegetativa y reproductiva volúmenes de 300 y 400 mL, ambos tratamientos se consideraron como testigos y se aplicaron a partir de los 10 días después del trasplante cada tercer día.

Establecimiento y conducción del experimento

Para germinar las semillas de tomate se usaron vasos de unicel con capacidad de 1 L, a los que se les hicieron tres orificios en la base con la finalidad de tener buen drenaje de agua; posteriormente, se les agregó composta, la cual fue preparada un año antes al mezclar estiércol bovino podrido y hojarasca de tamarindo descompuesto en relación 3:1 y se agregó agua con pH 6.0 para humedecerla; además, previamente se realizó un análisis químico a la composta que se utilizó como sustrato y al agua de riego en el laboratorio de Edafología del Colegio de Postgraduados. Se sembraron tres semillas por vaso a una profundidad de 1 cm, y se aplicó riego ligero a cada

vaso después de la siembra.

Después de haber germinado las semillas, las plántulas se regaron con 100 mL de agua potable cada tercer día hasta el trasplante. Posteriormente, las plantas se trasplantaron del contenedor de unicel a bolsas de polietileno con capacidad de 6 kg de sustrato, este nuevo sistema fue humedecido previamente con 1.5 L de agua potable. El trasplante se realizó el día 25 de julio del 2018; para tutoreo de las plantas de tomate se utilizó alambre calibre 12 y rafia de color negro.

Muestreo y medición de variables

En cada planta se muestrearon cuatro racimos y de cada uno de ellos se cortaron dos frutos en madurez fisiológica para medir sus características. Al término de la producción de frutos las plantas fueron separadas de las macetas para registro de datos adicionales.

Variables de estudio

Se cuantificaron las variables días a floración, peso de fruto en g con una balanza de precisión (OHAUS® Modelo Adventure, Parsippany, Nueva Jersey, EUA), número de lóculos del fruto, peso fresco de hoja en g, longitud de raíz y longitud de tallo en cm con una regla graduada, así como peso fresco de tallo y peso fresco de raíz en g. Las muestras de hoja, tallo y raíz se colocaron en un horno de secado (NOVATECH®, Tlaquepaque, Jalisco, México) para su deshidratación durante 72 h a 62 °C; posteriormente, se registraron las variables peso seco de hoja, peso seco de tallo y peso seco de raíz en g, y número de semillas por fruto.

Análisis estadístico

Los datos se sometieron a análisis de varianza y prueba de medias mediante la prueba de Tukey ($P \le 0.05$), se utilizó el programa estadístico SAS Versión 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La conductividad eléctrica fue de 0.282 y 3.08 dS m⁻¹ y el pH fue de 7.59 y 7.06 para el agua y el sustrato, respectivamente. Dyśko *et al.* (2020) usaron lana roca como sustrato en tomate con pH de 7.5 y observaron mayor rendimiento de frutos. Melo *et al.* (2019) utilizaron sustrato de fibra de coco con pH 6.0 y reportaron mayor materia seca de planta y raíz en tomate. El pH del sustrato que se utilizó en el experimento se encuentra dentro de los valores reportados por Melo *et al.* (2019) y Dyśko *et al.* (2020).

Análisis de varianza

Rev. Fitotec. Mex. Vol. 44 (4) 2021

Los cuadrados medios del análisis de varianza se presentan en el Cuadro 1. En la fuente de variación cepas bacterianas se observó significancia estadística ($P \le 0.05$) para días a floración, peso fresco de tallo, peso seco de hoja, mientras que para peso de fruto y longitud de raíz, se observaron diferencias altamente significativas ($P \le 0.01$). Las variables número de lóculos, peso fresco de hoja, longitud de tallo, peso fresco de raíz, volumen de raíz, peso seco de tallo, peso seco de raíz y número de semillas no mostraron variación. En la fuente de variación ecotipos se encontraron diferencias altamente significativas para las 13 variables (Cuadro 1).

Klebsiella spp., solución nutritiva y agua

Se observó similitud entre cepas bacterianas y solución nutritiva, y diferencia con respecto al tratamiento testigo (agua). Estos resultados indican que la floración fue afectada por los tratamientos. Al inocular *K. quasipneumoniae* en la base del tallo las plantas de tomate retrasaron en 24 h la apertura floral, mientras que *K. pneumoniae*, SN y *K. variicola* aceleraron en 22 h la apertura floral de los ecotipos, y con la aplicación de agua con pH 6.0 las plantas exhibieron 45 h de precocidad.

Elmayorpeso defruto correspondió a K. quasipneumoniae (45.76 g), seguido de K. pneumoniae (43.21 g), solución nutritiva (41.07 g), agua (37.16 g) y K. variicola (35.18 g). Estos resultados indican que los tratamientos afectaron de manera diferencial el peso de fruto de los ecotipos. Juárez-Maldonado et al. (2015) evaluaron siete ecotipos de tomate tipo Cherry y reportaron frutos de 35.9 g en promedio, dicho resultado difiere de los observados en la presente investigación.

Con respecto al número de lóculos, los tratamientos mostraron similar respuesta ($P \le 0.05$), por lo que se deduce que dicho carácter es controlado genéticamente. Agudelo et al. (2011) reportaron dos lóculos por fruto en tomate tipo Cereza, y en el presente estudio se observaron seis lóculos en los tratamientos testigo SN y agua; la variación entre ambos estudios es debida al tipo de material genético utilizado y origen geográfico.

En peso fresco de la hoja, *K. quasipneumoniae* indujo mayor valor (43.52 g), seguida de *K. variicola, K. pneumoniae* y SN (38 g), y el menor valor (32 g) fue para el tratamiento de agua. Estos resultados indicaron que *K. quasipneumoniae* promovió mayor peso fresco de la hoja en comparación con los tratamientos restantes. Juárez-Maldonado *et al.* (2015) estudiaron el hibrido Caimán de habito de crecimiento indeterminado con frutos tipo Bola

Cuadro 1. Cuadrados medios de 13 variables, efecto de cepas bacterianas y ecotipos de tomate.

Variables	Cepas	Gen	Error	CV (%)	R ²	Media
DAF	8.87*	7.40**	3.16	3.66	1.78	48.51
PDF	710.67 **	1220.29 **	222.80	36.86	14.92	40.47
NL	6.41 ns	31.12 **	7.18	47.18	2.67	5.68
PFH	620.49 ns	10.73 **	330.53	47.50	18.18	38.27
LR	1694.23 **	1431.59 **	506.37	37.27	22.50	60.36
LT	1377.85 ns	7937.66 **	1015.23	20.46	31.86	155.67
PFT	2780.15 *	14717.37 **	1016.49	29.64	31.88	107.55
PFR	4.06 ns	425.31 **	63.17	53.49	7.94	14.85
VR	22.86 ns	205.21 **	34.65	44.84	5.88	13.12
PSH	75.53 *	183.71 **	29.81	44.01	5.46	12.40
PST	25.04 ns	446.10 **	143.56	62.21	11.98	19.25
PSR	14.49 ns	155.42 **	13.97	74.06	3.73	5.04
NS	13232.86 ns	47088.05 **	14350.04	44.48	119.79	269.30
GL	4	18				

Gen: ecotipos, CV: coeficiente de variación, R²: coeficiente de determinación, DAF: días a floración, PDF: peso fresco de fruto, NL: número de lóculos, PFH: peso fresco de hoja, LR: longitud de raíz, LT: longitud de tallo, PFT: peso fresco de tallo, PFR: peso fresco de raíz, VR: volumen de raíz, PSH: peso seco de hoja, PST: peso seco de tallo, PSR: peso seco de raíz, NS: número de semillas, GL: grados de libertad, **: altamente significativo ($P \le 0.05$), ns: no significativo.

y reportaron en promedio 1000 g de peso fresco de hoja por planta, mientras que en el presente estudio el resultado fue inferior (39 g), ya que las hojas se contabilizaron al momento de arrancar las plantas sin considerar las que se eliminaron previamente. Sunera et al. (2020) reportaron que la cepa bacteriana *K. variicola* incrementó la longitud de brotes vegetativos y el peso seco de hoja de tomate y frijol.

La mayor longitud de raíz (67 cm) fue promovida por *K. pneumoniae*, seguida de solución nutritiva (66 cm) y agua (59 cm), mientras que *K. variicola* indujo menor valor (51 cm). Guerrieri et al. (2021) informaron que hubo mayor longitud de raíz y biomasa en tomate con la aplicación de la cepa bacteriana *K. variicola* bajo un manejo orgánico; además, dicha bacteria produce ácido indol-3-acético (Guerrieri et al. 2021) y es fijadora de nitrógeno (Herrera-Quiterio et al. 2020). Al contrastar los valores extremos, se observaron 16 cm de variación en longitud de raíz. Gómez-Dorantes et al. (2008) reportaron 45 cm de longitud de raíz en tomate criollo, promedio inferior a lo observado en la presente investigación al aplicar *K. pneumoniae* en la base del tallo de la planta.

La longitud de tallo de los ecotipos difirió en la etapa final de desarrollo de la planta. La bacteria *K. quasipneumoniae* promovió mayor valor (161 cm) a los 142 ddt, seguida de K. pneumoniae, solución nutritiva y agua, mientras que las plantas tratadas con K. variicola presentaron menor longitud de tallo (145 cm), con lo cual se deduce que Klebsiella promueve de manera diferencial el crecimiento vegetativo de las plantas de tomate. Las cepas bacterianas indujeron similar peso fresco de tallo y de raíz con respecto a la solución nutritiva, y al aplicar sólo agua la respuesta de las plantas fue inferior en ambos caracteres. Francisco-Francisco et al. (2012) aplicaron Trichoderma harzianum en plantas de tomate y reportaron 6.10 g en el tratamiento testigo; en contraste, el promedio observado (15 g) fue superior a los 8.9 g en peso fresco de raíz.

Los tratamientos mostraron similar volumen de la raíz. Urbina-Sánchez *et al.* (2006) reportaron 1.83 cm³ en volumen de raíz de tomate, al estudiar la granulometría gruesa de zeolita cargada con K⁺, Ca²⁺ o Mg²⁺; al contrastar ambos valores, se detectó variación de 15.1 cm³ en volumen de raíz de los ecotipos de tomate. La variación observada en peso seco de la hoja es debida a que el efecto de los tratamientos durante el crecimiento y desarrollo de los ecotipos de tomate fue de manera diferencial en la etapa fenológica y al final se reflejó en la acumulación de materia seca. Juárez-Maldonado *et al.* (2015) reportaron 100 g de peso seco de hoja, mientras que en este estudio los tratamientos aplicados en la base del tallo de los ecotipos mostraron menor promedio (13.81 g).

En peso seco de tallo y peso seco de la raíz, los tratamientos mostraron similar respuesta. Urbina-Sánchez et al. (2006) reportaron 0.16 g al aplicar bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate cv. Mitsuri, dicho resultado fue inferior a lo observado (20.52 g) en los tratamientos de este estudio. Gómez-Dorantes et al. (2008) reportaron 2.0 g de peso seco en la raíz al inocular plantas de tomate con hongos micorrízicos arbusculares, en contraste con el resultado del presente estudio donde el valor (5.60 g) fue superior en los ecotipos de tomate criollo.

Con respecto al número de semillas extraídas en los frutos de los ecotipos de tomate, no hubo variación entre tratamientos. Delgado-Vargas et al. (2018) evaluaron variedades nativas de tomate Campeche (C-40), Yucatán (Y-25), Malinalco (M-430) y la variedad comercial Moneymaker (MM) y reportaron 167 semillas por fruto; Álvarez-Hernández et al. (2009) reportaron 113.5, mientras que en el presente estudio se cuantificaron 269.30 semillas por fruto en los ecotipos de tomate.

Características agronómicas de los ecotipos

Al comparar los días a floración se observó el mayor valor (49 días) en 10 de los ecotipos evaluados; el ecotipo P48THOAX fue el que mostró menor cantidad (46.4) de días en la floración (Cuadro 2). Al contrastar los valores extremos se detectaron tres días de precocidad entre los ecotipos de tomate. Rodríguez et al. (2017) evaluaron 15 ecotipos de tomate y reportaron 42 días a la floración después del trasplante, en el caso de los ecotipos del presente estudio la floración fue a los 49 días después del trasplante.

El ecotipo P49THOAX presentó mayor peso de fruto (58.60 g) y estadísticamente superó a 13 ecotipos (Cuadro 2). Las poblaciones P71VCOAX (53.10 g) y P25ZINPB (53.0 g) mostraron características semejantes en peso de fruto, mientras que en 12 ecotipos los valores oscilaron de 33.60 a 48.10 g. Los ecotipos P108CHIGRO (18.0 g) y P106RJ (14.9 g) exhibieron menor peso de fruto. Los resultados indican que existe variabilidad genética en el peso de fruto, debido a que los ecotipos produjeron diversos tamaños, formas y colores de fruto. Al contrastar los resultados del presente estudio con los reportados por Juárez-López et al. (2012), éstos coincidieron ligeramente con el promedio en peso de fruto (35.9 g), este resultado significa que los ecotipos mostraron respuesta positiva al aplicar las tres especies de Klebsiella en la base del tallo. Martínez et al. (2020) también observaron resultados positivos el aplicar bacterias promotoras del crecimiento en plantas de lechuga.

Con respecto al número de lóculos en el fruto, los ecotipos P70VCOAX y P65VCOAX presentaron mayor valor promedio (8.7 y 8.4), mientras que P106RJ exhibió menor número (2.30 lóculos). Al contrastar los valores extremos, se detectaron seis lóculos de variación entre ecotipos. Álvarez-Hernández et al. (2009) evaluaron colectas de tomate provenientes de Michoacán y reportaron 2 lóculos por fruto, valor mucho menor al compáralo con el resultado del presente estudio (5.68 lóculos), lo cual se deduce que existe variación entre ecotipos de tomate. En peso fresco de hoja, el ecotipo P47THOAX exhibió mayor valor (54.30 g), y el menor peso (16.40 g) fue para P70VCOAX. Los ecotipos P25ZINPB, P50THOAX, P37CHIGR, P48THOAX y P108CHIGRO fluctuaron entre 52.30 y 45.40 g, y al contrastar los valores extremos se detectó una variación de 7 g en peso fresco de hoja.

El ecotipo P23ZINPB exhibió la mayor longitud de raíz (87.10 cm) y el menor valor (35.10 cm) fue para P75VCOAX. Al contrastar los valores extremos se detectó variación de 52 cm. Los resultados indican que la respuesta de los ecotipos fue positiva al aplicar los tratamientos en la base del tallo, lo cual significa que la longitud de las raíces de los ecotipos de tomate exploraron de manera variable el sustrato contenido en la bolsa para absorber nutrimentos. Aunado a lo anterior, estas bacterias, además de promover el crecimiento del sistema radical de las plantas de tomate, son antagónicas a Corynespora cassicola, causante del manchado de hojas y cálices (Patricio-Hernández et al. 2020). Lara et al. (2013) reportaron 16 cm de longitud de raíz al aplicar Azospirillum en arroz (Oryza sativa L.), al contrastar con el valor promedio (60.36 cm) observado en la presente investigación, la variación fue de 44.36 cm en longitud de raíz.

El ecotipo P37CHIGR exhibió mayor longitud de tallo con 197.10 cm, y estadísticamente superó a 11 ecotipos, mientras que el menor valor (102.90 cm) fue para P13TEHPB; al contrastar ambos valores se detectó variación de 50 cm en longitud de tallo. Rodríguez et al. (2013) evaluaron tomate Saladet SUN 7705 y reportaron 190 cm en altura de planta a los 71 días después del trasplanté, en promedio, en este estudio los ecotipos de tomate criollo exhibieron mayor porte de planta (34 cm).

Con respecto al peso fresco de tallo, el ecotipo P23ZINPB presentó mayor valor (182.30 g) comparado con los 16 ecotipos restantes, P95VCOAX mostró menor valor (60.40 g); al contrastar ambos valores se detectó variación de 121.90 g entre los ecotipos (Cuadro 3). Los ecotipos de tomate criollo, al estar expuestos a diferentes tratamientos durante su etapa fenológica mostraron variación en el peso fresco del tallo, relacionado con la existencia de plantas

Cuadro 2. Prueba de medias de seis variables medidas en 19 ecotipos de tomate inoculados con cepas de Klebsiella.

Ecotipos	DAF	PDF (g)	NL	PFH (g)	LR (cm)	LT (cm)
P13TEHPB	49.80 a	45.00 bcde	5.90 cdefg	37.00 bcdef	63.30 bcde	102.90 h
P21ZINPB	47.30 bcd	39.60 cdef	4.70 defgh	35.80 cdefg	77.40 ab	109.50 h
P23ZINPB	48.50 abc	42.30 bcdef	3.30 hi	33.60 efg	87.10 a	117.50 gh
P25ZINPB	48.50 abc	53.00 ab	6.60 abcde	52.30 ab	71.80 abc	184.00 abc
P37CHIGR	48.30 abc	39.30 cdef	3.80 fghi	48.20 abcd	66.30 bcd	197.10 a
P47THOAX	47.40 bcd	41.90 bcdef	6.80 abcd	54.30 a	59.50 bcde	188.60 ab
P48THOAX	46.40 d	43.00 bcdef	6.30 bcde	47.20 abcd	71.70 abc	171.80 abcd
P49THOAX	48.50 abc	58.60 a	7.70 abc	33.20 defg	67.20 abcd	173.90 abc
P50THOAX	49.00 a	48.10 abc	4.40 efghi	50.00 abc	65.20 bcd	183.20 abc
P51MXOAX	48.80 ab	48.30 abc	4.80 defgh	39.00 a	56.30 cde	172.00 abcd
P61PCHAX	47.10 cd	45.80 abcd	4.80 defgh	47.80 abcd	56.90 cde	176.80 abc
P65VCOAX	49.20 a	38.80 cdef	8.40 ab	35.80 cdefg	44.50 ef	145.00 defg
P108CHIGRO	49.00 a	18.00 gh	3.70 bcd	45.40 abcde	55.70 cde	156.10 cdef
P106RJ	49.00 a	14.90 h	2.30 i	32.90 defg	58.40 bcde	165.50 bcde
P90MEYUC	49.00 a	31.20 fg	6.70 abcde	38.00 bcdef	52.30 cdef	159.30 cd
P95VCOAX	49.00 a	33.60 def	7.40 abc	29.20 fgh	35.10 f	140.10 efg
P71VCOAX	49.00 a	53.10 ab	5.50 cdefgh	30.20 efgh	55.70 cde	162.00 bcd
P70VCOAX	49.00 a	42.50 bcdef	8.70 a	16.40 h	50.60 def	128.50 fgh
P66VCOAX	49.00 a	32.10 ef	6.10 bcdef	20.80 gh	51.90 cdef	124.00 gh

Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \le 0.05$). DAF: días a floración, PDF: peso de fruto, NL: número de lóculos, PFH: peso fresco de hoja, LR: longitud de raíz, LT: longitud de tallo.

con mayor longitud y grosor de esta estructura. Juárez-Maldonado et al. (2015) realizaron análisis de crecimiento del híbrido Caimán y reportaron que el peso fresco de tallo correlacionó positivamente con el peso fresco de hoja y biomasa total, en el presente estudio se observaron resultados semejantes a los reportados por estos autores.

En relación con el peso fresco de raíz, el ecotipo P25ZINPB presentó mayor promedio (31.60 g), y el menor valor (7.10 g) fue para P75VCOAX; al contrastar ambos valores se detectó 23.9 g de variación entre ecotipos. Uribe-Lorío et al. (2014) reportaron 44.15 g en peso fresco de raíz en plantas de chile, dicho promedio fue mayor a lo observado en tomate criollo (31.60 g). El ecotipo P13TEHPB presentó mayor valor (23.5 mL) en volumen de raíz y estadísticamente superó al resto de los ecotipos; mientras que el menor promedio (5.20 mL) correspondió a P70VCOAX; al contrastar ambos valores se

detectó 18.3 mL de variación en esta variable. Parra et al. (2012) evaluaron concentraciones de solución nutritiva y las aplicaron en plantas de tomate cv. Slolly F_1 tipo Bola, y reportaron 0.26 mL de volumen de raíz, valor inferior (13.1 mL) a lo observado en los ecotipos de tomate criollo.

El ecotipo P25ZINPB exhibió mayor valor (25.90 g) y superó estadísticamente al resto de los ecotipos, el menor promedio (6.30 g) fue para P70VCOAX. Al contrastar los valores extremos se detectó 19.6 g de variación en peso seco de hoja. Parra et al. (2012) aplicaron HCO_3^- en plantas de tomate cv. Slolly F_1 y reportaron 0.55 g de peso seco de hoja, resultado inferior a lo observado en este estudio (12.4 g) en los ecotipos de tomate criollo.

El ecotipo P25ZINPB superó al resto de los ecotipos de tomate en el peso seco de tallo; el menor valor promedio (11.3 g) fue para P95VCOAX, y al comparar ambos

Cuadro 3. Prueba de medias de siete variables medidas en 19 ecotipos de tomate inoculados con cepas de Klebsiella.

Ecotipos	PFT (g)	PFR (g)	VR (mL)	PSH (g)	PST (g)	PSR (g)	NS
P13TEHPB	179.40 a	25.70 ab	23.50 a	12.40 bcde	19.90 bcd	6.80 bcd	340.00 abc
P21ZINPB	181.00 a	19.80 bcd	16.40 b	10.50 def	22.80 bc	5.30 cdef	211.70 def
P23ZINPB	182.30 a	23.00 bc	22.00 b	9.90 def	19.40 bcd	8.70 b	251.10 bcdef
P25ZINPB	146.00 b	31.60 a	16.40 b	25.90 a	40.60 a	18.90 a	239.90 cdef
P37CHIGR	115.00 c	14.20 defg	12.50 bc	17.10 b	22.50 bc	4.70 def	213.30 def
P47THOAX	104.90 cd	14.80 f	12.50 bc	15.50 bc	21.90 bcd	4.00 defg	351.00 ab
P48THOAX	103.00 cd	14.50 def	16.00 b	12.40 bcde	17.40 cd	4.70 def	350.00 ab
P49THOAX	86.10 de	12.40 efgh	13.30 bc	10.10 def	15.00 cd	3.60 defg	314.00 abcd
P50THOAX	114.80 c	11.90 efgh	12.70 bc	9.20 def	15.80 cd	3.90 defg	239.20 cdef
P51MXOAX	87.60 cde	10.50 fg	12.90 bc	13.50 bcd	17.40 cd	3.60 defg	218.00 def
P61PCHAX	106.80 cd	10.10 fgh	13.30 bc	13.30 bcd	19.50 bcd	3.60 dg	162.00 f
P65VCOAX	63.60 e	7.30 g h	9.00 cde	13.20 bcd	12.90 cd	2.00 fg	153.70 f
P108CHIGRO	88.40 cde	18.60 cde	13.00 bc	12.10 cde	16.70 cd	8.30 bc	370.00 a
P106RJ	71.20 e	9.50 fgh	13.60 bc	11.30 cde	16.10 cd	3.30 efg	360.80 a
P90MEYUC	72.50 e	12.50 efgh	10.20 cde	9.60 def	12.70 cd	2.70 fg	301.00 abcde
P95VCOAX	60.40 e	7.10 h	6.40 de	7.70 ef	11.30 d	2.00 fg	301.00 abcde
P71VCOAX	86.70 cde	10.00 fgh	9.30 cde	16.00 bc	29.60 b	2.20 c	309.80 abcd
P70VCOAX	88.50 cde	10.50 fgh	5.20 e	6.30 f	16.40 cd	1.20 g	230.70 def
P66VCOAX	105.40 cd	18.30 cde	11.20 bcd	9.70 def	18.00 cd	6.40 bcde	199.60 ef

Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05). PFT: peso fresco de tallo, PFR: peso fresco de raíz, VR: volumen de raíz, PSH: peso seco de hoja, PST: peso seco de tallo, PSR: peso seco de raíz, NS: número de semillas.

valores se detectó 29.3 g de variación en peso seco de tallo entre los ecotipos. Reybet *et al.* (2012) inocularon semillas de tomate con *Pseudomonas fluorescens* P190 a una concentración de 108 UFC mL⁻¹ de suspensión, y reportaron 68 g de materia seca, mientras que en la presente investigación el promedio fue inferior.

Con respecto al peso seco de raíz, P25ZINPB superó el resto de los ecotipos, el menor peso (1.20 g) fue para P70VCOAX, al contrastar ambos valores se detectó 17.70 g, lo cual significa que cada ecotipo expresó capacidad diferente en desarrollar su sistema radical para absorber nutrimentos. Santillana et al. (2005) inocularon plantas de tomate con la cepa bacteriana PEVF01 y reportaron 110 mg

de materia seca de raíz, mientras que Sánchez et al. (2012) inocularon plantas de tomate variedad Sofía con las cepas *Enterobacter* sp. TVL-2 y *P. putida* PS014, y reportaron 5.80 g de peso seco de raíz, resultado semejante (5.04 g) e inferior alo reportado por Santillana et al. (2005).

El ecotipo P108CHIGR presentó mayor valor en número de semillas por fruto (370) y estadísticamente superó a nueve ecotipos, el menor promedio (153.70) correspondió a P65VCOAX, y al contrastar ambos valores extremos se detectó variación de 216 semillas entre ecotipos de tomate criollo. La variabilidad genética en número de semillas se atribuye a la producción de granos de polen fértiles para fecundar al óvulo.

CONCLUSIONES

Las cepas bacterianas promovieron el peso fresco y seco de la raíz y de hoja, peso fresco de fruto y número de semillas en los ecotipos de tomate. Se detectaron ecotipos con características agronómicas deseables, como precocidad en P48THOAX, peso de fruto en P49THOAX, peso fresco de hoja en P47THOAX, longitud de raíz en P23ZINPB, longitud de tallo en P37CHIGR, peso fresco y seco de hoja, peso seco de tallo y raíz en P25ZINPB. Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal pueden aplicarse como alternativa para producir frutos que se pueden comercializar en el mercado regional y nacional; además, existe la posibilidad de seleccionar ecotipos con características agronómicas aceptables y usarlos para generar líneas e híbridos a corto plazo.

AGRADECIMIENTOS

La primera autora agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para realizar estudios de Maestría en Ciencias Agropecuarias y Gestión Local, por la oportunidad en desarrollar estudios de posgrado.

BIBLIOGRAFÍA

- Agudelo A. A. G., N. Ceballos A. y F. J. Orozco (2011) Caracterización morfológica del tomate tipo cereza Solanum lycopersicum Linnaeus. Agronomía (Colombia) 19:44-53.
- Álvarez-Hernández J. C., H. Cortés-Madrigal e I. García-Ruiz (2009) Exploración y caracterización de poblaciones silvestres de jitomate (Solanácea) en tres regiones de Michoacán, México. Polibotánica 28:139-159.
- Brisse S., F. Grimont and P. A. D. Grimont (2006) The genus *Klebsiella*. *In*: The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria. Third edition. Vol. 1: Symbiotic Associations, Biotechnology, Applied Microbiology. M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer and E. Stackebrandt (eds.). Springer. New York, USA. pp:159-196.
- Carcaño-Montiel M. G., R. Ferrera-Cerrato, J. Pérez-Moreno, J. D. Molina-Galán y Y. Bashan (2006) Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle. *Terra Latinoamericana* 24:493-502
- Delgado-Vargas V. A., J. J. Magdaleno-Villar, O. J. Ayala-Garay y D. Garfias-Sánchez (2018) Calidad de semillas de tres variedades nativas y una comercial de tomate producidas bajo temperaturas altas. Revista Chapingo Serie Horticultura 243:215-227, https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2018.04.009
- Díaz V. P., R. Ferrera-Cerrato, J. J. Almaraz-Suárez y G. Alcántar G. (2001) Inoculación de bacterias promotoras del crecimiento en lechuga. *Terra Latinoamericana* 19:327-335.
- Dyśko J., M. Śzczech, S. Kaniszewski and W. Kowalczyk (2020) Parameters of drainage waters collected during soilless tomato cultivation in mineral and organic substrates. *Agronomy* 10:2009, https://doi.org/10.3390/agronomy10122009
- Elbeltagy A., K. Nishioka, T. Sato, H. Suzuki, B. Ye, T. Hamada, ... and K. Minamisawa (2001) Endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species. *Applied and Environmental Microbiology* 67:5285-5293, https://doi.org/10.1128/AEM.67.11.5285-5293.2001
- Esquinas A. J. T. y F. Nuez V. (2001) Situación taxonómica, domesticación y difusión del tomate. *In*: El Cultivo de Tomate. F. Nuez (ed.).

- Mundi-Prensa. Madrid, España pp:13-42.
- Francisco-Francisco N., H. Ortega-Ortiz, A. Benavides-Mendoza, H. Ramírez, L. O. Fuentes-Lara y V. Robledo-Torres (2012) Inmovilización de *Trichoderma harzianum* en hidrogeles de quitosano y su uso en tomate (Solanum lycopersicum L.). Terra Latinoamericana 30:47-57.
- García E. (2004) Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Quinta edición. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 90 p.
- Gómez-Dorantes N., Y. Carreón-Abud y S. P. Fernández-Pavía (2008)
 Reducción de la susceptibilidad a *Phytophthora capsici*Leonian causante de la pudrición de raíz en jitomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Biológicas* 10:100-108.
- Grandilio S., H. M. Ku and S. D. Tanksley (1996) Characterization of fs8.1, a major QTL influencing fruit shape in tomato. Molecular Breeding 2:251-260, https://doi.org/10.1007/BF00564202
- Guerrieri M. C., A Fiorini, E. Fanfoni, V. Tabaglio, P. S. Cocconcelli, M. Trevisan and E. Puglisi (2020) Integrated genomic and greenhouse assessment of a novel plant growth promoting rhizobacterium for tomato plant. Frontiers in Plant Science 12:660620, https://doi.org/10.3389/fpls.2021.660620
- Herrera-Quiterio A., E. Toledo-Hernández, J. L. Aguirre-Noyola, Y. Romero, J. Ramos, F. Palemón-Alberto y J. Toribio-Jiménez (2020) Antagonic and plant growth-promoting effects of bacteria isolated from mine tailings at El Fraile, Mexico. Revista Argentina de Microbiología 52:231-239, https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.08.003
- Holt K. E., H. Wertheim, R. N. Zadoks, S. Baker, C. A. Whitehouse, D. Dance, ... and N. R. Thomson (2015) Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in Klebsiella pneumoniae, an urgent threat to public health. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 112:E3574-E3581, https://doi.org/10.1073/pnas.1501049112
- Holtan H. E. E. and S. Hake (2003) Quantitative trait locus analysis of leaf dissection in tomato using *Lycopersicon pennellii* segmental introgression lines. *Genetics* 165:1541-1550, https://doi. org/10.1093/genetics/165.3.1541
- Juárez-López P., R. Castro-Brindis, T. Colinas-León, M. Sandoval-Villa, P. Ramírez-Vallejo, W. D. Reed, ... y S. King (2012) Evaluación de características de interés agronómico de siete genotipos nativos de jitomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) cultivados en hidorponía. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 18:207-216, https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2011.02.013
- Juárez-Maldonado A., K. De Alba R., A. Zermeño G., H. Ramírez y A. Benavides M. (2015) Análisis de crecimiento del cultivo de tomate en invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6:943-954, https://doi.org/10.29312/remexca.v6i5.589
- Lara M. C., A. Álvarez S. y L. E. Oviedo Z. (2013) Impacto de inoculación con la bacteria nativa Azospirilum sobre Oriza sativa L. en Córdoba-Colombia. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial 11:37-45.
- Martínez B. B., V. Antonio V., J. Bello-Martínez, F. Palemón A., Y. Romero R., D. I. Orbe D. y J. Toribio J. (2020) Use of plant growth promoting bacteria to increase the production of Lactuca sativa L. in the field. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 11:449-452. http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v11n2/2007-0934-remexca-11-02-449-en.pdf
- Mehnaz S, and G. Lazarovits (2006) Inoculation effects of Pseudomonas putida, Gluconacetobacter azotocaptans, and Azospirillum lipoferum on corn plant growth under greenhouse conditions. Microbial Ecology 51:326-335, https://doi.org/10.1007/s00248-006-9039-7
- Melo R. A. C., M. H. A. Jorge, A. Bortolin, L. S. Boiteux, C. R. Oliveira and J. M. Marconcini (2019) Growth of tomato seedlings in substrates containing a nanocomposite hidrogel with calcium montmorillonite (NC-MMt). Horticultura Brasileira 37:199-203, https://doi.org/10.1590/S0102-053620190210
- Parra T. S., P. Lara M., M. Villareal R. y S. Hernández V. (2012) Crecimiento de plantas y rendimiento de tomate en diversas relaciones nitrato/ amonioy concentraciones de bicarbonato. Revista Fitotecnia Mexicana 35:143-153.
- Patricio-Hernández A., S. A. Ortega-Acosta, A. Ramírez-Peralta, A. Ayala-

- Sánchez. F. Palemón-Alberto, E. Toledo-Hernández, Y. Romero-Ramírez and J. Toribio-Jiménez (2020) Antagonistic bacteria for biospace control of roselle spot (*Corynespora cassiicola*) of *Hibiscus sabdariffa*. *Mexican Journal of Phytopathology* 38:450-462, https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2006-1
- 38:450-462, https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2006-1
 Qiao J., X. Yu, X. Liang, Y. Liu, R. Borriss and Y. Liu (2017) Addition of plant-growth promoting *Bacillus subtilis* PTS-394 on tomato rhizosphere has no durable impact on composition of root microbiome. *BMC Microbiology* 17:131, https://doi.org/10.1186/s12866-017-1039-x
- Radwan M. A., M. M. Abu-Elamayem, S. M. I. Kassem and E. K. El-Maadawy (2004) Management of *Meloidogyne incognita* root-knot nematode by integration of *Bacillus thuringiensis* with either organic amendments or carbofuran. *Pakistan Journal of Nematology* 22:135-142.
- Reybet G. E., A. P. Bustamante, C. M. Reybet, S. Bramardi y A. R. Escande (2012)

 Efecto sinérgico de la solarización del suelo y la aplicación
 de *Pseudomonas fluorescens* P190 sobre el rendimiento de
 tomate en invernadero. *Horticultura Argentina* 31:5-11.
- Rodríguez D. E., E. Salcedo P., R. Rodríguez M., D. Ř. González E. y S. Mena M. (2013) Reúso del tezontle: efecto en sus características físicas y en la producción de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*). *Terra Latinoamericana* 31:275-284.
- Rodríguez V. A., M. Florido B., F. Dueñas H., L. J. Muñoz C., P. Hanson y M. Álvarez G. (2017) Caracterización morfoagronómica en líneas de tomate (Solanum lycopersicum L.) con resistencia a begomovirus. Cultivos Tropicales 38:70-79.
- Rueda-Puente E. O., J. A. Villegas-Espinoza, L. E. Gerlach-Barrera, M. A. Tarazón-Herrera, B. Murillo-Amador, J. L. García-Hernández y P. Preciado-Rangel (2009) Efecto de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre la germinación de Salicornia bigelovii. Terra Latinoamericana 27:345-354.
- Sánchez L. D. B., R. M. Gómez-Vargas, M. F. Garrido R. y R. R. Bonilla B. (2012) Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana* de Ciencias Agrícolas 3:1401-1415, https://doi.org/10.29312/

- remexca.v3i7.1346
- Santillana N., C. Arellano y D. Zúñiga (2005) Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum Miller*). *Revista Ecología Aplicada* 4:47-51, https://doi.org/10.21704/rea.v4i1-2.297
- Sunera, Amna, S. Saqib, S. Uddin, W. Zaman, F. Ullah, ... and H. J. Chaudhary (2020) Characterization and phytostimulatory activity of bacteria isolated from tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) rhizosphere. *Microbial Pathogenesis* 140:103966, https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.103966
- Urbina-Sánchez E., G. A. Baca-Castillo, R. Núñez-Escobar, M. T. Colinas-León, L. Tijerina-Chávez y J. L. Tirado-Torres (2006) Cultivo hidropónico de plántulas de jitomate en zeolita cargada con K⁺, Ca²⁺ o Mg²⁺ y diferente granulometría. Agrociencia 40:419-429.
- Uribe-Lorío L., L. Castro-Barquero, F. Arauz-Cavallini, C. Henriquez-Henríquez y M. Blanco-Meneses (2014) Pudrición basal causada por *Phytophthora capsici* en plantas de chile tratadas con vermicompost. *Agronomía Mesoamericana* 25:243-253.
- Vallejo C. F. A., J. H. Pava M., J. A. Vargas M. y P. A. Arango A. (1994) Caracterización morfo-agronómica de especies y variedades botánicas del género Lycopersicon. Acta Agronómica 44:37-50.
- van der Knaap E., Z. Lippman and S. D. Tanksley (2002) Extremely elongated tomato fruit controlled by four quantitative trait loci with epistatic interactions. *Theoretical and Applied Genetics* 104:241-247, https://doi.org/10.1007/s00122-001-0776-1
- Wang J., R. Li, H. Zhang, G. Wei and Z. Li (2020) Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer aplication. *BMC Microbiology* 20:38, https://doi.org/10.1186/s12866-020-1708-z
- Winn W., S. Allen, W. Janda, E. Koneman, G. Procop, P. Schreckenberger y G. Woods (2008) Koneman Diagnostico Microbiológico Texto y Atlas en Color. 6a edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 1691 p.
- Yang L. and K. Yang (2020) Biological funtion of *Klebsiella variicola* and its effect on the rhizosphere soil of maize seedlings. *PeerJ* 8:e9894, https://doi.org/10.7717/peerj.9894