



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE HIDROCIENCIAS

IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO EFICIENTE DE FITORREMEDIACIÓN MEDIANTE EL USO DE CULTIVO DE *Abelmoschus Esculentus* (OKRA) INOCULADA CON BACTERIAS FLUORESCENTES

CRISTIAN ALEJANDRO ALÍ GAMBOA

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2023



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Implementación de un método eficiente de fitorremediación mediante el uso de cultivo de *Abelmoschus Esculentus* (Okra) inoculada con bacterias fluorescentes**, realizada por el estudiante: **Cristian Alejandro Alí Gamboa**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
HIDROCIENCIAS

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)

DR. ABDUL KHALIL GARDEZI

ASESOR (A)

DR. GUILLERMO CARRILLO CASTAÑEDA

ASESOR (A)

DR. HÉCTOR MANUEL ORTEGA ESCOBAR

Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, febrero de 2023

IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO EFICIENTE DE FITORREMEDIACIÓN MEDIANTE EL USO DE CULTIVO DE *Abelmoschus Esculentus* (OKRA) INOCULADA CON BACTERIAS FLUORESCENTES

Cristian Alejandro Alí Gamboa, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2023

RESUMEN

El objetivo de esta investigación ha sido estudiar cómo las semillas de *Abelmoschus esculentus* (Okra) inoculadas con células de cepas de bacterias individuales y en consorcio modifican la tolerancia de las semillas a ciertas soluciones de sulfato de cobre y condiciones de invernadero. El diseño experimental implementado en la fase laboratorio fue completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento. Los resultados son útiles para establecer un método práctico y eficiente para potenciar las características responsables de la tolerancia de las plantas al cobre y de esta manera puedan ser útiles en programas de fitorremediación. Las semillas de Okra presentan tolerancia basados en el porcentaje de germinación a concentraciones de sulfato de cobre igual o menores a 10^{-2} M, a la concentración 10^{-1} M la germinación se inhibe completamente. Tanto en laboratorio como en condiciones de invernadero, el inóculo multicepa A9, Avm, 24 fue el tratamiento que aumentó en mayor grado el porcentaje de germinación con respecto al testigo (37.5 %). Resultados favorables, también son reportados en porcentaje de emergencia, peso de biomasa seca de tallo, peso de biomasa seca de raíz, longitud de tallo y longitud de raíz con respecto al testigo, estos incrementos del 34.9 %, 5.5 %, 15.1 % y 19.6 % respectivamente. En la fase de invernadero se utilizó el inóculo multicepa A9, Avm, 24 para determinar 17 variables agronómicas: longitud del tallo, longitud de la raíz, biomasa seca y fresca de la raíz, biomasa seca y fresca de la parte aérea, biomasa seca y fresca del fruto, contenido de clorofila, número de hojas, diámetro del tallo, área foliar, días a floración, número de frutos y volumen radical. El diseño experimental fue de bloques completamente al azar con un arreglo factorial (4x2x2). Las plantas de Okra cuyas semillas fueron inoculadas mediante inóculo multicepa presentaron medias superiores en las variables evaluadas, con respecto a las que no fueron inoculadas, siendo mayor estas diferencias en las variables relacionadas con el sistema radicular. Las plantas cultivadas en suelo regado históricamente con agua de manantial expresaron un desarrollo vegetal mayor que las plantas que fueron cultivadas en suelo con historial de riego con agua residual. La aplicación de materia orgánica logró aumentos significativos en las variables agronómicas evaluadas en comparación con los tratamientos en donde no se aplicó, los resultados óptimos se observaron a dosis de 25 t ha^{-1} .

Palabras clave: sulfato de cobre (CuSO_4); rizobacterias; materia orgánica; bioaugmentación; espectrofotómetro.

IMPLEMENTATION OF AN EFFICIENT SOIL BIOREMEDIATION METHOD USING *Abelmoschus Esculentus* (OKRA) CULTURE INOCULATED WITH FLUORESCENT BACTERIA

Cristian Alejandro Alí Gamboa, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2023

ABSTRACT

The objective of this research was to study how *Abelmoschus esculentus* (Okra) seeds inoculated with cells of individual and consortium bacterial strains modify seed tolerance to certain copper sulfate solutions and greenhouse conditions. The experimental design implemented in the laboratory phase was completely randomized, with three replicates per treatment. The results are useful to establish a practical and efficient method to enhance the characteristics responsible for plant tolerance to copper so that they can be useful in phytoremediation programs. Okra seeds show tolerance based on the percentage of germination at copper sulfate concentrations equal to or lower than 10^{-2} M, at 10^{-1} M concentration germination is completely inhibited. Both in laboratory and greenhouse conditions, the multi-strain inoculum A9, Avm, 24 was the treatment that increased germination percentage to the greatest extent with respect to the control (37.5%). Favorable results are also reported in percentage of emergence, stem dry biomass weight, root dry biomass weight, stem length and root length with respect to the control, with increases of 34.9 %, 5.5 %, 15.1 % and 19.6 % respectively. In the greenhouse phase, the multi-strain inoculum A9, Avm, 24 was used to determine 17 agronomic variables: stem length, root length, root dry and fresh biomass, aerial part dry and fresh biomass, fruit dry and fresh biomass, chlorophyll content, number of leaves, stem diameter, leaf area, days to flowering, number of fruits and root volume. The experimental design was completely randomized blocks with a factorial arrangement (4x2x2). Okra plants whose seeds were inoculated with multi-strain inoculum showed higher means in the variables evaluated than those that were not inoculated, with greater differences in the variables related to the root system. Plants grown in soil historically irrigated with spring water showed greater plant development than plants grown in soil with a history of irrigation with residual water. The application of organic matter achieved significant increases in the agronomic variables evaluated in comparison with the treatments where it was not applied; the optimum results were observed at a dose of 25 t ha⁻¹.

Key words: copper sulfate (CuSO₄); rhizobacteria; organic matter; bioaugmentation; spectrophotometer.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por haberme otorgado el financiamiento para esta investigación y para llevar a cabo mis estudios de posgrado.

Al Colegio de Postgraduados por haber facilitado las instalaciones para establecer los experimentos. También un agradecimiento al Posgrado en Hidrociencias por haberme dado la oportunidad de realizar la Maestría en Hidrociencias y al Posgrado en Genética que me facilitó todo el equipo y reactivos necesarios para realizar los experimentos de laboratorio. También al personal administrativo y de laboratorio de ambos posgrados quienes siempre apoyaron en la realización de las diversas actividades.

Al Dr. Abdul Khalil Gardezi quien siempre me brindó su atención en todo momento y que estuvo a mi lado en todas las actividades de campo, laboratorio e invernadero, fungiendo como un académico de excelencia inigualable. Su destacada calidad moral, profesional e intelectual fueron la piedra angular de sostuvieron la presente investigación, por lo cual le estaré siempre agradecido.

Al Dr. Guillermo Carrillo Castañeda quien me apoyó en todo momento y me brindó su conocimiento para realizar las actividades de laboratorio. Además de su apoyo en la revisión de la presente tesis.

Al Dr. Mario U. Larqué Saavedra por sus aportaciones en los análisis estadísticos y al Dr. Héctor Manuel Ortega Escobar por formar parte de mi consejo.

A todos los profesores que me brindaron sus conocimientos a través de los cursos durante mi estancia en la maestría, los cuales fueron de gran ayuda para realizar esta investigación.

A mi esposa Aranza Navarrete Torres por su apoyo emocional y profesional, y cuyos consejos lograron promover la calidad del presente trabajo de investigación.

DEDICATORIA

A la grandiosa mujer que me impulsa con su amor y apoyo incondicional para lograr las metas propuestas, *a mi esposa Aranza Navarrete.*

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA.....	vi
LISTAS DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos específicos	3
2.3. Hipótesis general	4
2.4. Hipótesis específicas	4
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
3.1. Biorremediación	5
3.2. Fitorremediación	6
3.2.1. Definición y características.....	6
3.2.2. Plantas hiperacumuladoras de metales pesados	7
3.2.3. Limitaciones	9
3.2.4. Rizofiltración.....	10
3.2.5. Fitoextracción	12
3.2.6. Fitovolatilización	13
3.2.7. Fitoestabilización.....	15
3.3. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal	16
3.3.1. Definición	16
3.3.2. Rizobios	17
3.3.3. Bacilos.....	18
3.3.4. Pseudomonas	19
3.5. Fitorremediación asistida por bioaumentación.....	20
3.6. Elementos potencialmente tóxicos.....	22
3.6.1. Definición	22

3.6.2.	Cobre (Cu)	23
3.6.3.	Cromo (Cr)	23
3.6.4.	Cobalto (Co)	24
3.6.5.	Cadmio (Cd)	24
3.6.6.	Níquel (Ni)	25
3.6.7.	Hierro (Fe)	25
3.6.8.	Zinc (Zn)	25
3.6.9.	Plomo (Pb)	26
3.6.10.	Molibdeno (Mo)	26
3.6.11.	Manganeso (Mn)	27
3.7.	Cultivo de Okra	27
3.7.1.	Descripción general y fitorremediación	27
3.7.2.	Requerimientos edafoclimáticos	30
3.7.3.	Utilidad comercial y nutricional	31
3.7.4.	Labores culturales	33
3.7.4.1.	Preparación del terreno	33
3.7.4.2.	Siembra	33
3.7.4.3.	Fertilización	33
3.7.4.4.	Control de plagas y enfermedades	34
3.7.4.5.	Cosecha	34
3.7.5.	Rentabilidad económica	35
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	47
4.1.	Trabajo de laboratorio	47
4.1.1.	Efecto del sulfato de cobre en la germinación de semilla de Okra	47
4.1.2.	Aislamientos bacterianos	47
4.1.3.	Inoculación de semillas de Okra	49
4.1.4.	Efecto de las bacterias en la germinación de semillas de Okra	50
4.1.5.	Efecto de las bacterias en el vigor de plántula de Okra in vitro	51
4.1.6.	Efecto sobre la germinación de semillas de Okra inoculados con multicepas en condiciones de estrés por sulfato de cobre	52

4.1.7.	Efecto de la inoculación de semillas de Okra con inóculos multicepa en la emergencia y el vigor en condiciones de invernadero.	52
4.1.8.	Análisis estadístico.....	53
4.2.	Trabajo de invernadero.....	53
4.2.1.	Material vegetativo.....	53
4.2.2.	Recolección de muestras de suelo.....	54
4.2.3.	Selección de inóculo multicepa.....	59
4.2.4.	Acondicionamiento de muestras de suelo.....	59
4.2.5.	Tratamiento solarización.....	60
4.2.6.	Análisis salinidad.....	61
4.2.7.	Análisis de las propiedades química, nutrimentales, además de metales potencialmente tóxicos.....	63
4.2.8.	Preparación de experimento y diseño experimental.....	65
4.2.9.	Trasplante.....	67
4.2.10.	Riego.....	68
4.2.11.	Control de malezas.....	68
4.2.12.	Variables evaluadas.....	68
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL.....	71
5.1.	Resultados etapa de laboratorio.....	71
5.1.1.	Efecto del sulfato de cobre en la germinación de semilla de Okra.....	71
5.1.2.	Efecto de las bacterias en la germinación de semilla de Okra.....	72
5.1.3.	Efecto de las bacterias sobre el vigor de plántula de Okra en condiciones de laboratorio.....	74
5.1.4.	Efecto de inóculos multicepa en la germinación de semillas de Okra en condiciones de estrés por sulfato de cobre.....	77
5.1.5.	Efecto de inóculos multicepa en las semillas de Okra en la emergencia y vigor en condiciones de invernadero.....	78
5.2.	Resultados etapa de invernadero.....	80
5.2.1.	Caracterización de suelo.....	80
5.2.2.	Mediciones 60, 90, 120 días después de la siembra.....	84
5.2.3.	Días a floración.....	87

5.2.4. Determinación a 120 días	89
VI. CONCLUSIÓN	102
VII. RECOMENDACIONES	103
VIII. LITERATURA CITADA.....	104
ANEXOS	127

LISTAS DE CUADROS

Cuadro 1. Plantas con capacidad de extraer mediante rizofiltración metales potencialmente tóxicos.	11
Cuadro 2. Plantas con capacidad de extraer mediante fitoextracción metales potencialmente tóxicos.	13
Cuadro 3. Plantas con capacidad de eliminar mediante fitovolatilización metales potencialmente tóxicos.	15
Cuadro 4. Plantas con capacidad de eliminar mediante fitoestabilización metales potencialmente tóxicos.	16
Cuadro 5. Efectos benéficos de rizobios en diferentes especies vegetales.	18
Cuadro 6. Efectos benéficos de bacilos en diferentes especies vegetales.	18
Cuadro 7. Efectos benéficos de Pseudomonas en diferentes especies vegetales.	20
Cuadro 8. Efectos benéficos de fitorremediación asistida por bioaumentación mediante cepas individuales.	21
Cuadro 9. Efectos benéficos de fitorremediación asistida por bioaumentación mediante multicepa.	22
Cuadro 10. Estadísticas de producción de Okra por estado en 2019.	31
Cuadro 11. Clasificación de la rentabilidad.	35
Cuadro 12: La Okra en la etnomedicina de varios países.	40
Cuadro 13. Sistema de costos del cultivo de Okra con precios actualizados al año 2022 en México.	42
Cuadro 14. Relación de beneficios según estado productor de Okra en México.	43
Cuadro 15. Costos de inoculación de una libra de semilla de Okra.	44
Cuadro 16. Sistema de costos del cultivo de Okra, aplicando la técnica de inoculación de semillas con precios actualizados al año 2022 en México.	45
Cuadro 17. Relación de beneficios aplicando la técnica de inoculación de semilla, según estado productor de Okra en México.	46
Cuadro 18. Cepas bacterianas seleccionadas para la inoculación de semillas de Okra.	48

Cuadro 19. Marchas analíticas utilizadas en las determinaciones químicas de las muestras de suelo extraídas del Valle del Mezquital.....	61
Cuadro 20. Metodología de determinación de los suelos estudiados.	64
Cuadro 21. Posición de cada una de las unidades experimentales en invernadero.	65
Cuadro 22. Efecto de la inoculación bacteriana sobre el porcentaje de germinación total y el vigor de las plántulas de Okra.....	75
Cuadro 23. Efecto de la inoculación bacteriana sobre el vigor de las plántulas de Okra durante el cultivo en la bandeja de germinación (20 días después de la siembra). Composición del inóculo: M1 (A9, 1, 24), M2 (A9, Avm, D), M3 (A9, Avm, 24) y testigo (sin inóculo).	79
Cuadro 24. Propiedades químicas y de fertilidad de los perfiles de los suelos estudiados.....	81
Cuadro 25. Determinación de metales (Mg, Ca y Na) y metales potencialmente tóxicos (Pb, Ni, Cd, Cu, B, Fe, Mn y Zn) en los perfiles de los suelos estudiados.....	81
Cuadro 26. Composición iónica de los diferentes estratos de los suelos estudiados.	83
Cuadro 27. Composición del residuo seco evaporado y calcinado (ppm) de los diferentes estratos de los suelos estudiados.....	84
cuadro 28. evaluación de la longitud del tallo del cultivo de okra en distintos periodos, con diferentes factores y niveles.....	85
Cuadro 29. Evaluación del diámetro de tallo del cultivo de Okra en distintos periodos, con diferentes factores y niveles.....	87
Cuadro 30. Evaluación de los días a floración del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.....	88
Cuadro 31. Evaluación de la biomasa fresca del fruto, parte aérea y raíz en el cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.....	90
Cuadro 32. Evaluación de la biomasa seca del fruto, parte aérea y raíz en el cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.....	92
Cuadro 33. Evaluación de la longitud de raíz del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.....	93

Cuadro 34. Evaluación del volumen radical del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.....	96
Cuadro 35. Evaluación del contenido de clorofila del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.....	97
Cuadro 36. Evaluación del área foliar del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.	98
Cuadro 37. Evaluación del número de hojas del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.....	99
Cuadro 38. Evaluación del número de frutos del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.....	99
Cuadro 39. Evaluación del ancho del fruto del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.....	100
Cuadro 40. Evaluación del largo del fruto del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.	101
Cuadro 41. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente peso fresco de fruto (g).....	127
Cuadro 42. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente peso seco de fruto (g).....	128
Cuadro 43. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente número de frutos.	128
Cuadro 44. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente peso seco de tallo (g).	129
Cuadro 45. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente peso seco de raíz (g).....	129
Cuadro 46. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente área foliar (cm ²).....	130
Cuadro 47. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente días a floración.....	130
Cuadro 48. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente diámetro de tallo (mm).	131

Cuadro 49. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente altura de tallo (cm).....	131
Cuadro 50. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente ancho de fruto (mm).....	132
Cuadro 51. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente largo de fruto (mm).....	132
Cuadro 52. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente número de hojas.....	133
Cuadro 53. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente contenido de clorofila (SPAD).....	133
Cuadro 54. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente volumen radical (cm ³).	134
Cuadro 55. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente longitud de raíz (cm).....	134

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de los diferentes tipos de biorremediación (Bala <i>et al.</i> , 2022)	5
Figura 2. Representación esquemática de diferentes enfoques de fitorremediación (Rigoletto <i>et al.</i> , 2020).	7
Figura 3. Plantas hiperacumuladoras de metales pesados (Rascio y Navari-Izzo, 2011).	9
Figura 4. Representación esquemática de las estrategias de fitorremediación por rizofiltración (Favas <i>et al.</i> , 2016).	11
Figura 5. Fitoextracción de metales potencialmente tóxicos (Anoopkumar <i>et al.</i> , 2020).	12
Figura 6. Varios procesos en el método de fitovolatilización (Chandra y Kumar, 2018).	14
Figura 7. Esquema que muestra los mecanismos de fitoestabilización, incluida la precipitación de metales por superficies bacterianas y radiculares, la precipitación de metales por exudados bacterianos y radiculares, la absorción y secuestro bacteriano de metales y la absorción radicular de metales (Mendez y Maier, 2008).	15
Figura 8. Representación de los efectos beneficiosos mediados por la Okra que se han establecido científicamente hasta la fecha (Elkhalifa <i>et al.</i> , 2021).	32
Figura 9. Componentes de elementos monetarios y no monetarios (Robledo, 1991).	36
Figura 10. Flujo de costos y rentabilidad (Molina, 2017).....	38
Figura 11. Cajas de Petri con agar King's B, inoculadas con cepas bacterianas incubadas durante 24 horas.	49
Figura 12. Suspensiones bacterianas ajustadas a una absorbancia de 0.9 por espectrofotómetro.	49
Figura 13. Espectrómetro marca BAUSCH & LOMB ESPECTRONIC.....	50
Figura 14. Preparación de suspensiones bacterianas en agua destilada estéril con aproximadamente 1.2×10^9 UFC mL ⁻¹	50

Figura 15. Preparación de tratamientos (antes de colocarlos en cámaras de germinación, inoculamos las semillas, preparamos las cajas de Petri y dispusimos los tratamientos).....	51
Figura 16. Medición de tallos y raíces de plántulas de okra.....	52
Figura 17. Semilla de okra variedad Clemson Spineless 80.	54
Figura 18. Margen izquierda del embalse de la presa de Endhó.	55
Figura 19. Vista local de la parcela de muestreo de suelo regada con aguas residuales.....	56
Figura 20. Vista general de la parcela de muestreo de suelo regada con aguas residuales.....	56
Figura 21. Vista general de la parcela de muestra de suelo regada con agua limpia.	57
Figura 22. Muestreo de suelo regado con aguas residuales.....	57
Figura 23. Muestreo de suelo regado con aguas limpias.....	58
Figura 24. Vista local de la parcela de muestra de suelo regada con agua limpia.....	58
Figura 25. Suelo tamizado con malla de 20 MESH.....	59
Figura 26. Preparación de suelo en fase de invernadero.....	60
Figura 27. Flamómetro IL Autocal Flame Photometer 643.....	62
Figura 28. Titulación con EDTA y Eriocromo Negro T como indicador.	62
Figura 29. Determinación de residuo seco evaporado y calcinado.	63
Figura 30. Preparación de unidades experimentales en invernadero.	66
Figura 31. Germinación de semillas de Okra en charolas.....	67
Figura 32. Plántula de Okra colocada en su correspondiente maceta.	67
Figura 33. Germinación total de semillas de <i>A. esculentus</i> expuestas a diferentes concentraciones de sulfato de cobre.....	71
Figura 34. Efecto de la inoculación de semillas de Okra sobre el porcentaje de germinación a los siete días (media \bar{x} desviación estándar).	73
Figura 35. Diferencias porcentuales en la longitud de las raíces de las semillas inoculadas indicadas con respecto al testigo (7,88 mm \bar{x} 0,29, a). Las medias con una letra común entre columnas no son significativamente	

	diferentes ($p \leq 0,05$). Todos los valores son medias de las diferencias porcentuales con respecto al testigo ($n=3$) \pm DE.....	76
Figura 36.	Efecto de la inoculación con bacterias (multicepas) sobre el porcentaje de germinación de las semillas de Okra expuestas al estrés de sulfato de cobre (0,05 M), según los siguientes tratamientos T1 (A9, Avm, 1, 24), T2 (A9, Avm, 1), T3 (A9, Avm, 24), T4 (A9, 1, 24), T5 (Avm, 1, 24), Test1 (Sin inóculo), Test2 (Sin inóculo y germinación en agua destilada). Las medias con una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Todos los valores son medias de las diferencias porcentuales con respecto al testigo ($n=3$) \pm DE.....	77
Figura 37.	Vigor de las plántulas de Okra en bandejas de germinación (20 días después de la siembra) con los siguientes tratamientos M1 (A9, 1, 24), M2 (A9, Avm, D), M3 (A9, Avm, 24) y testigo (Sin inóculo).....	80
Figura 38.	Aspecto de las plantas de Okra desarrolladas en invernadero de donde fueron obtenidas las longitudes del tallo y diámetro de tallo, 60 días después de la siembra.	86
	Figura 39. Floración de plantas de okra en invernadero.	89
Figura 40.	Inspección de experimento de invernadero.....	90
Figura 41.	Preparación y etiquetado de muestras para secado en estufa.	92
Figura 42.	Sistema radicular de plántulas en Okra, 120 días después de la siembra en invernadero. A) Cultivo en suelo regado con agua limpia y semilla inoculada B) Cultivo en suelo regado con agua limpia y semilla no inoculada C) Cultivo en suelo regado con agua residual y semilla inoculada B) Cultivo en suelo regado con agua residual y semilla no inoculada.....	95
Figura 43.	Medición de volumen radical de plantas de Okra.....	97
Figura 44.	Medición del contenido de clorofila en plantas de Okra.	98
Figura 45.	Fruto de Okra 90 días después de la siembra.	100

I. INTRODUCCIÓN

La toxicidad de los metales repercute y amenaza la salud, a medida que ingresan a la cadena alimenticia. La contaminación de los suelos agrícolas con metales potencialmente tóxicos se ha convertido en un problema mundial grave. Una alternativa prometedora para luchar contra la contaminación de los suelos por estos metales es aplicar la técnica de fitorremediación que es el uso de las plantas para reducir la presencia de sustancias peligrosas del ambiente. En los cultivos que se desarrollan en suelos contaminados, el problema inicia con la reducción de la germinación (Sanjosé *et al.*, 2021) y el vigor (Işik, 2021, Zhao *et al.*, 2021) que causa retardo de las etapas tempranas de desarrollo. En estas condiciones, el establecimiento de los cultivos se ve seriamente afectado, situación que causa pérdidas en el rendimiento de los cultivos. La germinación de semillas y emergencia de plántulas son las etapas de mayor importancia y vulnerabilidad a condiciones abióticas (Knežević *et al.*, 2021).

Las plantas absorben los metales del suelo donde se desarrollan, pero en distinto grado, dependiendo de la especie vegetal, pues ciertas plantas como *Thlaspi* y *Chenopodium* (McGrath *et al.*, 2006), conocidas como hiperacumuladoras, además de tolerar altos concentraciones de metales pesados, tienen la capacidad de asimilarlos y acumularlos. Existe mucho interés y grandes expectativas en utilizar a los microorganismos en particular las bacterias (Efe, 2020, Gardezi *et al.*, 2022), para reducir la acumulación de metales pesados en los cultivos y más importante, en las partes comestibles de la planta de los cultivos desarrollados en los suelos contaminados. Las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas conocidas como PGPB (Kloepper y Schroth, 1978), además de estimular el desarrollo de las plantas, algunas de ellas son importantes en la absorción de metales pesados de los suelos contaminados. Estas bacterias al colonizar las raíces de las plantas hiperacumuladoras, hacen más eficiente la asimilación de estos compuestos por la planta (Mahmood *et al.*, 2016).

Ciertas bacterias PGPB reducen los metales pesados presentes en el suelo, y la absorción y cantidad de metales pesados en los tejidos vegetales (Han *et al.*, 2018). Las interacciones planta-microorganismo se estudian con detalle (Pilon-Smits, 2005, Gardezi *et al.*, 2019), para identificar y seleccionar a las bacterias útiles en estos procesos. La

técnica general consiste en inocular las semillas con células de cepas bacterianas para determinar a los microorganismos que tienen la capacidad de promover el desarrollo de las plantas (Nezarat y Gholami, 2008). La inoculación de la semilla con estas bacterias es una técnica que permite potenciar el desarrollo de las plantas, porque las bacterias proporcionan nutrientes y ayudan a aliviar el estrés biótico y abiótico, secretan fitohormonas y fitoqueladores (Zuluaga *et al.*, 2021). La técnica de inoculación de semillas con bacterias benéficas es útil tanto para actividades productivas en terrenos agrícolas contaminados históricamente mediante productos químicos para el combate de plagas y enfermedades, un ejemplo típico es la aplicación de fungicidas a base de cobre (Clasen *et al.*, 2021), como para procesos de fitorremediación de suelos contaminados con metales potencialmente tóxicos. Sin embargo, se ha demostrado que diferentes cepas bacterianas tienen efectos distintos sobre una misma planta (Rivera-Conde *et al.*, 2018, Yildirim *et al.*, 2021), por lo tanto, la dificultad de la aplicación de esta tecnología radica en determinar la asociación que garantice maximizar variables deseadas.

El objetivo de esta investigación ha sido identificar a microorganismos capaces de incrementar el porcentaje de emergencia, velocidad de emergencia de semillas de *A. esculentus* y el desarrollo de raíces y brotes, dejando para investigaciones subsecuentes su clasificación y caracterización. Para lograr este objetivo, las semillas serán inoculadas con células de cepas bacterianas individuales y en consorcios de bacterias seleccionadas (inóculos multicepa), para analizar los efectos y la tolerancia de las semillas a ciertas soluciones de sulfato de cobre y su efecto al ser cultivadas en dos tipos de suelo (regado históricamente con agua residual y agua limpia de manantial). Esta información será valiosa para establecer un método práctico y eficiente para potenciar las características responsables involucradas en la tolerancia de las plantas para que puedan ser útiles y más eficientes en programas de fitorremediación. La investigación en este campo sobre el cultivo de Okra en México es reducido, por lo tanto, la presente investigación es relevante en la generación de conocimiento.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. Objetivo general

Utilizando el cultivo de Okra, determinar el efecto de bacterias *Pseudomonas* asociadas a las raíces, tanto en laboratorio como invernadero en el vigor de manera comparativa, en raíz, tallo, hojas y fruto, y su tolerancia a condiciones de estrés en medios con sulfato de cobre y suelos contaminados históricamente con agua residuales.

2.2. Objetivos específicos

Realizar experimentación en laboratorio para determinar la capacidad de germinación de semilla de Okra en presencia de soluciones de sulfato de cobre en el medio de germinación, así como inoculada con células bacterianas.

Realizar pruebas de germinación y vigor en plántulas de Okra inoculadas con bacterias *Pseudomonas*.

Estimar en condiciones de laboratorio controladas (*in vitro*) el efecto en el vigor de plántulas de Okra inoculadas con multicepas.

Medir el efecto de inóculos multicepa en vigor de plántulas de Okra cultivadas en suelo y en condiciones de invernadero.

Estimar el efecto de inóculos multicepa, dos tipos de suelo (regado con aguas limpias y aguas residuales) y cuatro dosis de materia orgánica en el desarrollo vegetativo de plantas de Okra (raíz, tallo, hojas, fruto).

2.3. Hipótesis general

El uso de bacterias *Pseudomonas* asociadas a las raíces de cultivo de Okra, en un medio contaminado con cobre por el riego con aguas residuales, mejorara el vigor de la raíz, tallo hojas y fruto del cultivo de Okra significativamente.

2.4. Hipótesis específicas

La germinación y vigor en plántulas de Okra inoculadas con bacterias *Pseudomonas* mejorar significativamente en más de 30 %.

El vigor de la plántula de Okra mejora significativamente cuando se inocula con multicepas en condiciones controladas de laboratorio.

El vigor de la plántula de Okra mejora significativamente cuando se inocula con multicepas en condiciones de siembra en suelo e invernadero.

Se tiene un mejor y significativo desarrollo vegetativo de la raíz, tallo, hojas y fruto del cultivo de Okra, cuando se inocula con multicepas y se cultivan en suelo regado históricamente con agua limpia.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Biorremediación

La biorremediación es un proceso en el que se utilizan organismos biológicos (hongos, algas, plantas y bacterias) para eliminar o neutralizar un contaminante ambiental en suelo o agua mediante un proceso metabólico (Sharma, 2021). Las dos principales ventajas comparativamente con métodos convencionales de remediación son su bajo costo y ser una solución permanente que proporciona una transformación completa del contaminante en sus componentes moleculares, como el dióxido de carbono y el agua (Van-Dillewijn *et al.*, 2009).

Al existir diversidad en los organismos biológicos que se pueden utilizar para efectuar el proceso de biorremediación de suelo y agua, su aplicación pueda clasificar de maneras diversas como se muestra a continuación.

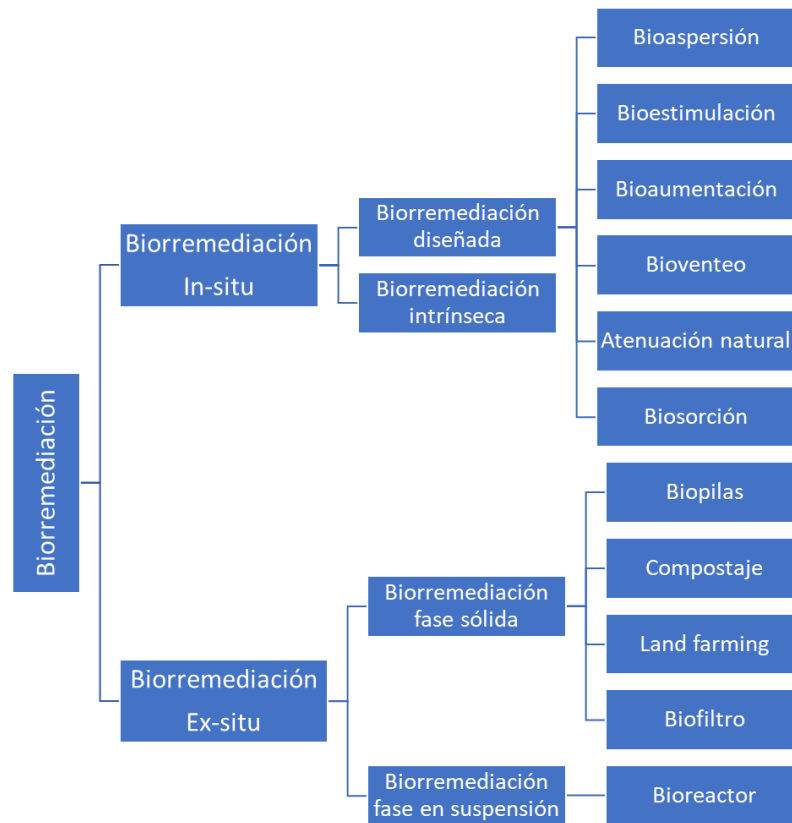


Figura 1. Clasificación de los diferentes tipos de biorremediación (Bala *et al.*, 2022)

Como se observa en la Figura 1, las técnicas de biorremediación se pueden realizar fuera del sitio de contaminación (*ex-situ*) o en el sitio de contaminación (*in-situ*). La técnica adecuada a utilizar depende de algunos factores que incluyen la naturaleza del contaminante, la concentración del contaminante, el tipo de ambiente, el costo de la técnica de remediación, la profundidad del contaminante y las políticas ambientales, y otros factores abióticos y edáficos, como las concentraciones de oxígeno, la temperatura y el pH (Alori *et al.*, 2022).

En general las técnicas de biorremediación *ex-situ* tienen un mayor costo que las *in-situ*, esto al requerirse excavación y traslado del material contaminado. Por lo tanto, son utilizadas de forma preferente las técnicas que tienen la capacidad de remediar agua y suelo en el lugar donde fueron contaminados. El éxito en la aplicación de una determinada técnica de biorremediación está directamente relacionado con un adecuado diseño y selección de sus componentes.

3.2. Fitorremediación

3.2.1. Definición y características

La fitorremediación es una técnica que aprovecha la capacidad de absorber compuestos iónicos en el suelo, incluso en bajas concentraciones, a través del sistema radicular de las plantas, lo que implica extraer y eliminar contaminantes elementales o reducir su biodisponibilidad en el suelo (Yan *et al.*, 2020). Por lo tanto, siendo una técnica prometedora y efectiva desde el punto de vista económico, que utiliza plantas para eliminar metales pesados en ecosistemas acuáticos o terrestres, además se caracteriza por ser una tecnología rentable, sencilla y respetuosa con el medio ambiente, con una alteración mínima (Alaboudi *et al.*, 2018).

La fitorremediación depende para su aplicación eficiente de las características morfológicas, fisiológicas y anatómicas de la planta que afectan los mecanismos de absorción de iones (figura 2), además es indispensable realizar ciclos secuenciales de siembra y cosecha de las plantas hiperacumuladoras y finalmente reduciendo la concentración de metales tóxicos en los suelos a un nivel aceptable para otros usos (Shehata *et al.*, 2019).

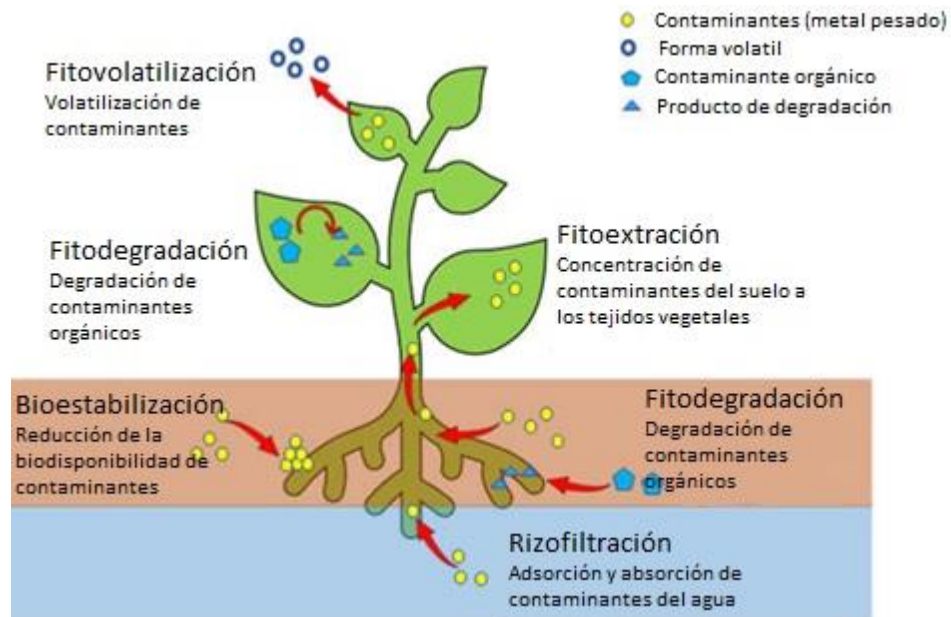


Figura 2. Representación esquemática de diferentes enfoques de fitorremediación (Rigoletto *et al.*, 2020).

En función de sus características genéticas, morfológicas, fisiológicas y anatómicas de las plantas, existen diferentes categorías de fitorremediación, que incluyen; fitoextracción, rizofiltración, fitoestabilización, fitovolatilización y fitodegradación, según los mecanismos de remediación. (Lone *et al.*, 2008).

3.2.2. Plantas hiperacumuladoras de metales pesados

El término “hiperacumulador” se refiere a un conjunto de plantas que pertenecen a familias distintas, pero que comparten la capacidad de crecer en suelos metalíferos y de acumular cantidades extraordinariamente altas de metales pesados en los órganos aéreos, muy por encima de los niveles que se encuentran en la mayoría de las especies, sin sufrir efectos fitotóxicos (Rascio y Navari-Izzo, 2011). Si una planta acumula al menos

1000 mg/kg (peso seco) de un metal específico o metaloide, se clasifican como hiperacumuladores (Muthusaravanan *et al.*, 2020). Los hiperacumuladores son plantas inusuales que acumulan metales o metaloides particulares en sus tejidos vivos a niveles que pueden ser cientos o miles de veces mayores de lo normal para la mayoría de las plantas (Reeves, 2003). La hiperacumulación de metales es una característica presente en más de 500 especies de plantas y aproximadamente en el 0.2 % de todas las angiospermas, dichos rasgos son heredados genéticamente, y estudiados para ser usados para la fitorremediación ya que son tolerantes a los metales pesados (Sarma, 2011).

Las plantas hiperacumuladoras son de gran interés fundamental e importancia práctica para remediación principalmente de suelos contaminados con metales potencialmente tóxicos, sin bien, el conjunto de estas plantas es reducido, sus requerimientos edafológicos son variados, por lo tanto, con un adecuado estudio de caso, es factible remediar suelo bajo un amplio espectro de metales contaminantes y condiciones ambientales (figura 3). Los hiperacumuladores son modelos excepcionales para que la ciencia fundamental comprenda la regulación de los metales, incluida la fisiología de la absorción, el transporte y el secuestro de metales, así como la evolución y adaptación en entornos extremos (Krämer, 2010).

Las características únicas de las plantas hiperacumuladoras también se explotan en biotecnologías aplicadas, incluidas la fitominería y la fitorremediación (Vander-Ent *et al.*, 2015), y aplicaciones prácticas en biofortificación de elementos esenciales (Clemens, 2017).

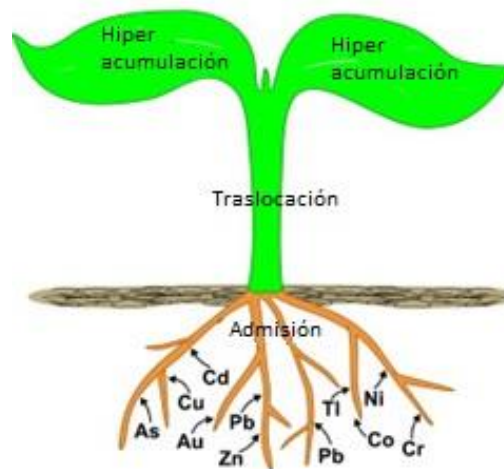


Figura 3. Plantas hiperacumuladoras de metales pesados (Rascio y Navari-Izzo, 2011).

3.2.3. Limitaciones

La fitorremediación con hiperacumuladores naturales tiene actualmente algunas limitaciones, ya que es un proceso que requiere mucho tiempo para limpiar el suelo contaminado con metales pesados, particularmente en sitios moderada y altamente contaminados, es más lento que los métodos convencionales y puede tardar de tres a cinco años en mostrar los resultados completos (Kafle *et al.*, 2022). Esto puede deberse en parte a la lenta tasa de crecimiento y la baja producción de biomasa de estos hiperacumuladores. Por lo tanto, mejorar el rendimiento de la planta es un paso crítico para desarrollar una fitorremediación altamente efectiva (Yan *et al.*, 2020).

La literatura indica que la concentración de contaminantes, la toxicidad y la biodisponibilidad y la elección de la planta y la tolerancia al estrés son las principales desventajas de la fitorremediación, como se enlistan a continuación:

- Acumulación de metales potencialmente tóxicos en fruto y otras partes comestibles de cultivos y hortalizas (Zhou *et al.*, 2016).
- Tasas de bioacumulación bajas: proceso de fitoextracción prolongado, por lo que varios siembra y cosecha requeridas para la descontaminación (Suman *et al.*, 2018).
- La acumulación única selectiva específica de un elemento metálico en hiperacumulador (Sinha *et al.*, 2021).

- Contaminación ambiental causada por los quelatos generados por fitorremediación (Melo *et al.*, 2008).
- Método de tratamiento muy lento y estacionalmente eficaz (Asante-Badu *et al.*, 2020; Doty, 2008).
- Manejo y disposición de plantas contaminadas a través de la fitorremediación es la principal huella de esta tecnología verde (Farraji *et al.*, 2020).
- Movilización de radionucleidos a través de la translocación en plantas (Leslie *et al.*, 1999).
- No aplicable para todos los compuestos contaminantes, no se ha observado utilidad con compuestos orgánicos (Bashir *et al.*, 2022).

3.2.4. Rizofiltración

La rizofiltración es la adsorción y/o absorción en las raíces de las plantas de contaminantes que están en solución alrededor de la zona radicular (Srivastava *et al.*, 2021). La técnica se utiliza para la remediación de aguas residuales, lixiviados de minas y aguas subterráneas con concentraciones de metales que pueden dañar la salud humana, por medio de plantas acuáticas o terrestres, algunos elementos en los que se ha comprobado su extracción mediante rizofiltración son el Pb, Cd, Cu, Ni, Zn y Cr (Surriya *et al.*, 2015). En el cuadro 1, se pueden observar algunos ejemplos de plantas que pueden extraer del agua mediante rizofiltración metales potencialmente tóxicos.

Cuadro 1. Plantas con capacidad de extraer mediante rizofiltración metales potencialmente tóxicos.

Nombre científico	Fuente de agua	Elemento extraído	Referencia
<i>Helianthus annuus</i> L.	Subterránea	Uranio	(Lee y Yang, 2010)
<i>Lactuca sativa</i>	Cond. hidropónicas	Uranio	(Han <i>et al.</i> , 2020)
<i>Typha angustifolia</i>	Cond. hidropónicas	Cadmio	(Woraharn <i>et al.</i> , 2021)
<i>Ipomoea aquatica</i>	Residual	Plomo y cromo	(Suherman <i>et al.</i> , 2021)
<i>Brassica juncea</i>	Cond. hidropónicas	Uranio	(Eapen <i>et al.</i> , 2003)
<i>Cucurbita pepo</i>	Cond. hidropónicas	Cadmio y Níquel	(Simon <i>et al.</i> , 2008)

La rizofiltración es similar a la fitoextracción, pero se ocupa principalmente de la remediación de las aguas contaminadas (figura 4), esto implica el uso de las raíces de las plantas para absorber, concentrar y precipitar los contaminantes del agua y las corrientes de desechos acuosos, las raíces de las plantas actúan como un filtro para la adsorción de contaminantes (Kaur *et al.*, 2020).



Figura 4. Representación esquemática de las estrategias de fitorremediación por rizofiltración (Favas *et al.*, 2016).

3.2.5. Fitoextracción

La fitoextracción es una tecnología emergente para la remediación de suelos contaminados con metales pesados que utiliza las plantas para transferir los metales del suelo a la parte aérea, que luego puede ser eliminada de la zona contaminada (Nascimento y Xing, 2006). La acumulación de metales potencialmente tóxicos por parte de las plantas ornamentales procedentes de suelos agrícolas contaminados es una técnica única que puede además reducir eficazmente la carga de metales en la cadena alimentaria (Awad *et al.*, 2021), por otra parte, algunos cultivos agrícolas pueden ser utilizados, sin embargo, deben ser manejados de manera adecuada, evitando que los metales potencialmente tóxicos se incorporen a la cadena trófica. En la figura 5, se puede observar un esquema simplificado del proceso de extracción, traslocación y acumulación de metales potencialmente tóxicos en el tejido vegetal (tallo, hojas y frutos).

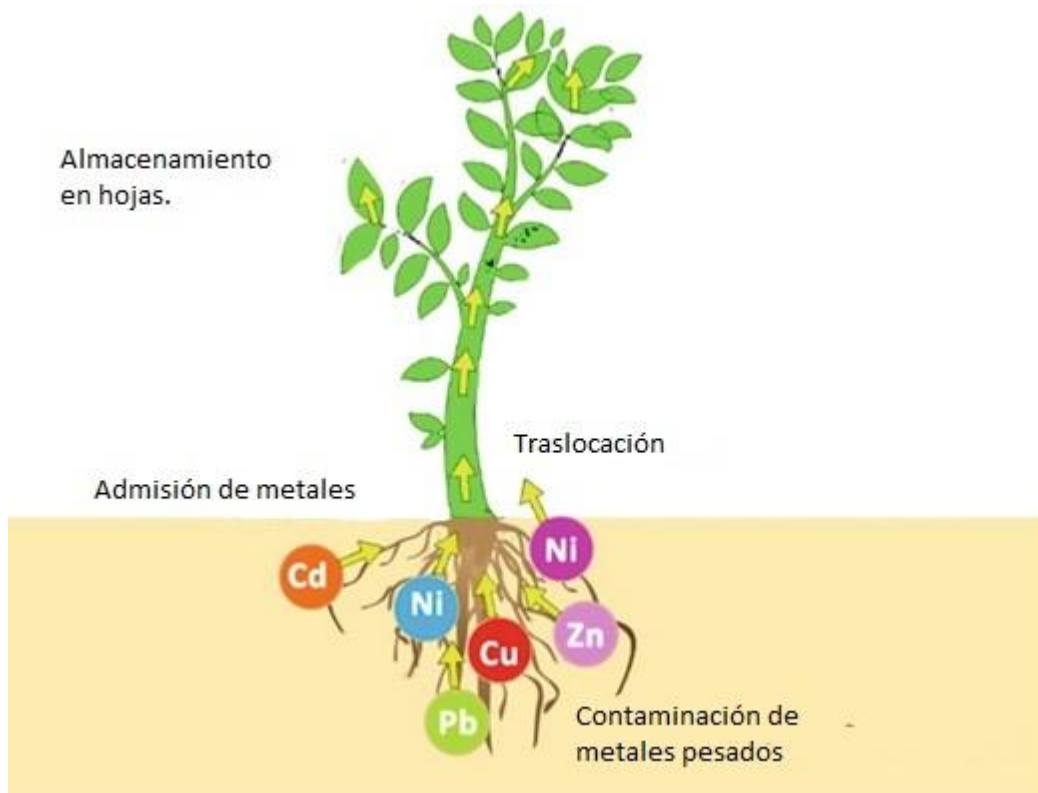


Figura 5. Fitoextracción de metales potencialmente tóxicos (Anoopkumar *et al.*, 2020).

La fitoextracción es una tecnología muy prometedora para la eliminación de contaminantes metálicos del medio ambiente, donde las partes cosechables, ricas en metales potencialmente tóxicos, pueden ser procesadas de manera fácil y segura mediante secado, incineración o compostaje, algunos metales extraídos también se pueden recuperar de las cenizas, lo que genera ingresos por reciclaje, cuando estos elementos son de alto valor comercial (Garbisu y Alkorta, 2001). Investigaciones actuales han comprobado la eficiencia de diferentes especies vegetales en la acumulación en sus tejidos de elementos químicos específicos como se puede observar en el cuadro 2, un argumento para tomar en cuenta al momento en que se diseña un proyecto de fitorremediación por fitoextracción.

Cuadro 2. Plantas con capacidad de extraer mediante fitoextracción metales potencialmente tóxicos.

Nombre científico	Elemento acumulado	Referencia
<i>Panicum maximum</i>	Níquel y plomo	(Coulibaly <i>et al.</i> , 2020)
<i>Sedum alfredii</i>	Plomo	(Ning <i>et al.</i> , 2019)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Plomo	(Meza <i>et al.</i> , 2022)
<i>Brassica juncea</i> L.	Cadmio	(Wang <i>et al.</i> , 2022)
<i>Abelmoschus esculentus</i> L.	Plomo	(Akpan <i>et al.</i> , 2022),
	Fe, Mn, Cu, Zn	(Khalifeh y Aldal'in, 2015)
<i>Crotalaria juncea</i>	Plomo	(Silva <i>et al.</i> , 2021)
<i>Cynodon dactylon</i> L.	Cadmio	(Song <i>et al.</i> , 2022)
<i>Zea mays</i> L.	Cromo	(Ali <i>et al.</i> , 2018)
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill	Hierro, cadmio, níquel	(Andal, 2019)

3.2.6. Fitovolatilización

La fitovolatilización es una estrategia de fitorremediación que utiliza plantas para absorber los contaminantes del suelo, convertir estos elementos tóxicos en una forma volátil menos tóxica y, posteriormente, liberarlos a la atmósfera mediante el proceso de transpiración de las plantas a través de las hojas o el follaje (Yan *et al.*, 2020c). Este proceso es impulsado por la evapotranspiración de las plantas, por lo tanto, una alta tasa

de evapotranspiración son las más útiles para la fitovolatilización, cultivos de cobertura total son los más estudiados por esta misma razón.

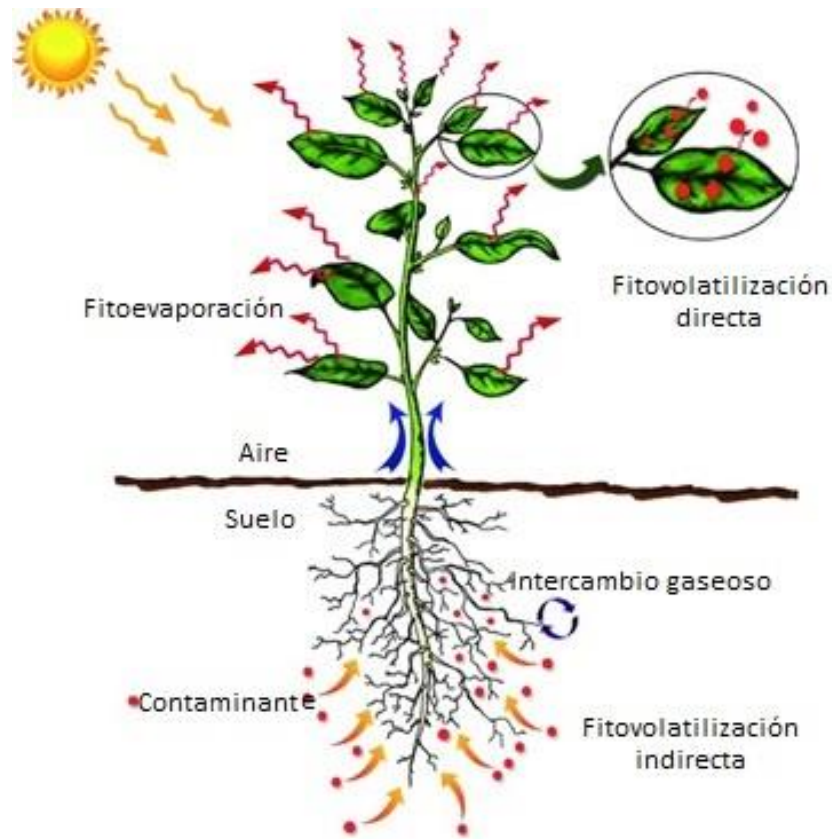


Figura 6. Varios procesos en el método de fitovolatilización (Chandra y Kumar, 2018).

La fitovolatilización es útil para remover contaminantes orgánicos, especialmente los compuestos orgánicos volátiles (COV), los cuales son volatilizados pasivamente por las plantas y los metales potencialmente tóxicos, un ejemplo es el Selenio, el cual pueden ser volatilizados por las plantas mediante su conversión en dimetilselenuro (Assunção *et al.*, 2001). En el cuadro 3, se puede apreciar los contaminantes (orgánicos e inorgánicos) y las especies vegetales eficientes para su volatilización, que sean investigados recientemente.

Cuadro 3. Plantas con capacidad de eliminar mediante fitovolatilización metales potencialmente tóxicos.

Nombre científico	Elemento volatilizado	Referencia
<i>Pinus sp.</i>	Gasolina	(Arnold <i>et al.</i> , 2007)
<i>Brassica juncea</i>	Mercurio	(Moreno <i>et al.</i> , 2008)
<i>Nicotiana tabacum</i>	Mercurio	(Ashraf <i>et al.</i> , 2010)
<i>Arundo donax</i>	Arsénico	(Guarino <i>et al.</i> , 2020)
<i>Oryza sativa</i>	2,4-dibromofenol	(Zhang <i>et al.</i> , 2020)

3.2.7. Fitoestabilización

Cuando la fitoextracción no es posible o deseable, la fitoestabilización es la opción adecuada. La fitoestabilización se define como el uso de especies de plantas tolerantes a los metales potencialmente tóxicos para inmovilizarlos bajo tierra y disminuir su biodisponibilidad, evitando así su migración al ecosistema y reduciendo la probabilidad de que los metales entren en la cadena alimentaria (Marques *et al.*, 2009).

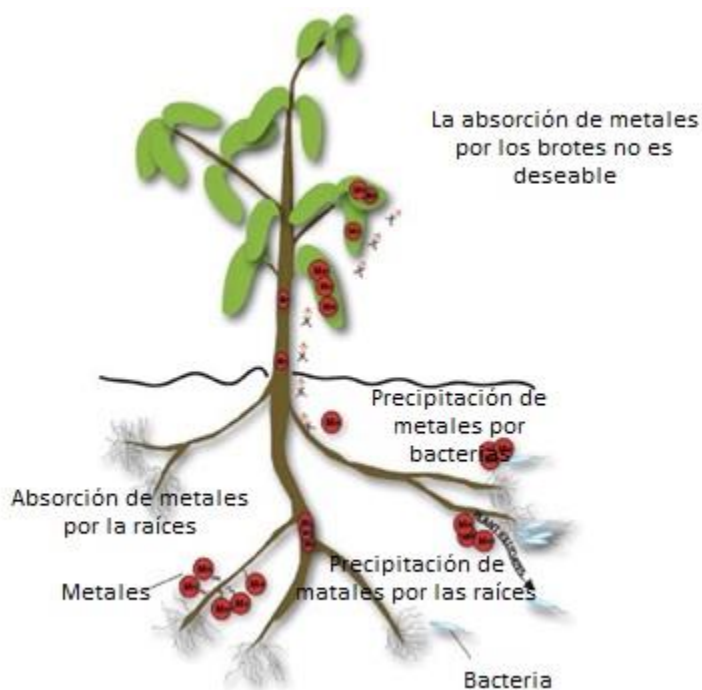


Figura 7. Esquema que muestra los mecanismos de fitoestabilización, incluida la precipitación de metales por superficies bacterianas y radiculares, la precipitación de metales por exudados bacterianos y radiculares, la absorción y secuestro bacteriano de metales y la absorción radicular de metales (Mendez y Maier, 2008).

Como se puede observar en la figura 7, la fitoestabilización puede ocurrir a través de la precipitación de metales pesados o la reducción de la valencia del metal en la rizosfera, la absorción y el secuestro dentro de los tejidos de la raíz, o la adsorción en las paredes de las células de la raíz, algunos de estos procesos suceden con la asociación de bacterias (Gerhardt *et al.*, 2017).

La fitoestabilización, también conocida como fitorrestauración, es una técnica de remediación a base de plantas que tiene como objetivo reducir el riesgo de contaminantes metálicos al estabilizarlos mediante la formación de una cubierta vegetal. Dicha cubierta vegetal debe formar un denso y uniforme volumen radical para garantizar un proceso eficiente de secuestro (unión y sorción) inmovilizan los metales para que no estén disponibles para el ganado, la vida silvestre y la exposición humana, en el cuadro siguiente se puede observar la efectividad de esta técnica con diferentes metales.

Cuadro 4. Plantas con capacidad de eliminar mediante fitoestabilización metales potencialmente tóxicos.

Nombre científico	Elemento estabilizado	Referencia
<i>Boehmeria nivea</i> L.	Cadmio y plomo	(Lan <i>et al.</i> , 2020)
<i>Miscanthus giganteus</i>	Cadmio y mercurio	(Zgorelec <i>et al.</i> , 2020)
<i>Festuca rubra</i> L.	Cromo	(Radziemska <i>et al.</i> , 2020)
<i>Brachiaria decumbens</i>	Cobre	(Andreazza <i>et al.</i> , 2013)
<i>Zea mays</i> L.	Zinc y cadmio	(Sigua <i>et al.</i> , 2019)

3.3. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

3.3.1. Definición

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR por sus siglas en inglés (Plant growth-promoting Rhizobacteria), son aquellas bacterias que pueden mejorar el crecimiento de las plantas y protegerlas de enfermedades y estrés abiótico a través de una amplia variedad de mecanismos (Souza *et al.*, 2015).

Kloepper y Schroth (1978), acuñó por primera vez el término rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, haciendo referencia al conjunto de bacterias (rizosféricas y endófitas), que pueden generar un efecto benéfico al desarrollo de las plantas. El término rizobacterias, por su parte, hace referencia a las bacterias que están presentes en la rizosfera de las plantas, estas pueden tener un efecto neutral, perjudicial o beneficioso sobre el crecimiento de las plantas. Actualmente se conoce que alrededor del 2 al 5 % de las rizobacterias ejercen un efecto beneficioso sobre el crecimiento de las plantas (Antoun y Prévost, 2005), conforma el grupo de las PGPR.

Las especies bacterianas identificadas como PGPR aumentaron como resultado de los numerosos estudios a especies silvestres y cultivos de importancia agrícola e industrial y, debido al progreso en la comprensión de los diferentes mecanismos de acción de PGPR de taxones bacterianos diversos (Lucy *et al.*, 2004), a continuación, se presenta una clasificación de los géneros y especies PGPR que ilustran su diversidad.

3.3.2. Rizobios

Rhizobia y bradyrhizobia son bien conocidos como microbios simbióticos de las leguminosas, que forman nódulos fijadores de N_2 . Los rizobios pueden producir fitohormonas, las cuales son importantes reguladores del crecimiento sintetizados en órganos definidos de la planta que tienen un impacto destacado en el metabolismo de la planta y desempeñan un papel importante en la mitigación del estrés abiótico (Egamberdieva *et al.*, 2017), sideróforos, son compuestos orgánicos con masas moleculares bajas que son producidos por microorganismos y plantas que crecen en condiciones de bajo contenido de hierro (Ahmed y Holmström, 2014) y cianuro de hidrógeno (HCN), pueden solubilizar fosfatos orgánicos e inorgánicos escasamente solubles y pueden colonizar las raíces de muchas plantas no leguminosas. A continuación, se presentan, avances en el área de investigación de rizobios.

Cuadro 5. Efectos benéficos de rizobios en diferentes especies vegetales.

Nombre científico	Efecto	Referencia
<i>Vicia fabae</i> L.	Fijación de nitrógeno	(Gedamu <i>et al.</i> , 2021)
<i>Glycine max</i> L.	Fijación de nitrógeno	(Herliana <i>et al.</i> , 2019)
<i>Vicia villosa</i>	Fijación de nitrógeno	(Roper <i>et al.</i> , 2020)
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Producción de metabolitos secundarios	(Pérez-Peralta <i>et al.</i> , 2019)

3.3.3. Bacilos

Los bacilos son un tipo de especie importante de rizobacterias que pueden formar esporas que pueden sobrevivir en el suelo durante un largo período de tiempo en condiciones ambientales adversas. Los bacilos mejoran el crecimiento de las plantas a través de la inducción de resistencia sistémica, antibiosis y omisión competitiva. Por lo tanto, la aplicación de microbios puede usarse para inducir resistencia sistémica en plantas contra agentes bióticos y mejorar la tolerancia al estrés ambiental (Hashem *et al.*, 2019). Se ha investigado ampliamente el efecto positivo de estas bacterias sobre el desarrollo vegetal (cuadro 6), actualmente sigue siendo un área de investigación que sigue prosperando con la implementación de nuevas tecnologías, principalmente en el mapeo genéticos.

Cuadro 6. Efectos benéficos de bacilos en diferentes especies vegetales.

Nombre científico	Efecto	Referencia
<i>Fragaria annanasa</i>	Mejora el crecimiento, el rendimiento y el contenido de antioxidantes en fruto.	(Rahman <i>et al.</i> , 2018)
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Aumento del porcentaje de germinación, longitud de la raíz y altura de la planta.	(Santiago-Santiago <i>et al.</i> , 2020)
<i>Musa paradisiaca</i>	Suprime la enfermedad del marchitamiento.	(Kesaulya <i>et al.</i> , 2018)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Promueve el crecimiento vegetal.	(Asari <i>et al.</i> , 2017)
<i>Distichlis palmeri</i>	biofertilizantes donde la producción de biomasa y semilla.	(Ruiz-Alvarado <i>et al.</i> , 2018)

3.3.4. *Pseudomonas*

Las *Pseudomonas* asociadas a plantas viven como saprofitos y parásitos en las superficies de las plantas y en el interior de los tejidos de las plantas, muchas de estas bacterias promueven el crecimiento (Preston, 2004). La asociación de *Pseudomonas* con plantas de cultivo obtiene varios mecanismos secretores y de retroalimentación basados en electrones para regular el crecimiento de las plantas y las actividades de control de fitopatógenos a través de la secreción de varias fitohormonas (auxinas, giberelinas, ácido indol-3-acético), metabolitos secundarios (flavonoides) y enzimas (aminociclopropano-1-carboxilato, fenilalanina amoniaco-liasas), las aplicaciones ecológicamente de *Pseudomonas* en biocontrol y bioaumentación son cruciales para mantener la seguridad alimentaria (Sah *et al.*, 2021).

Los beneficios relevantes de las *Pseudomonas* incluyen la producción de sideróforos, la solubilización de fosfatos, la fijación de nitrógeno, las fenazinas, los antibióticos y la resistencia sistémica inducida por varias especies de *Pseudomonas* como *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas syringae* (Garrido-Sanz *et al.*, 2017). Los beneficios se han comprobado en numerosos estudios como se puede observar en el cuadro 7, las especies de plantas asociadas con *Pseudomonas* y los beneficios son variados, y útiles para mejorar el rendimiento y la calidad de cosecha de cultivos agrícolas, así como, en técnicas de fitorremediación, al aumentar la tolerancia de las plantas utilizadas a condiciones de estrés abiótico.

Cuadro 7. Efectos benéficos de *Pseudomonas* en diferentes especies vegetales.

Nombre científico	Efecto	Referencia
<i>Cannabis sativa L.</i>	Aumentar el rendimiento de biomasa.	(Balthazar <i>et al.</i> , 2022)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Inhibir el alargamiento de la raíz primaria y promoviendo la formación de pelo radicular y de la raíz lateral.	(Zamioudis <i>et al.</i> , 2013)
<i>Zea mays</i>	Promover el crecimiento y desarrollo.	(Vacheron <i>et al.</i> , 2018)
<i>Solanum lycopersicum</i>	Mejora las respuestas al estrés por sequía.	(Mekureyaw <i>et al.</i> , 2022)
<i>Abelmoschus esculentus</i>	Aumento del rendimiento.	(Gardezi, 2019)
<i>Oryza sativa</i>	Aumentar la tolerancia al estrés por Arsénico (As).	(Thongnok <i>et al.</i> , 2022)

3.4. Fitorremediación asistida por bioaumentación

La bioaumentación se define como la adición de microorganismos cultivados para mejorar la comunidad microbiana, siendo una opción para remediar áreas contaminadas (Kurniawan *et al.*, 2022). La fitorremediación asistida por bioaumentación se basa en el uso de plantas, microorganismos eficientes y rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR) para optimizar el efecto sinérgico de ambos y mejorar la biodisponibilidad de metales en el suelo y la absorción de metales por plantas y la biomasa (Boechat *et al.*, 2020).

El procedimiento que se utiliza en una fitorremediación asistida por bioaumentación, es la inoculación. Esta puede definirse como el proceso de agregar bacterias efectivas a la semilla de la planta huésped antes de la siembra, esto se realiza con el propósito de asegurarse de que haya suficiente bacteria del tipo correcto presente en el suelo para que se establezca una simbiosis planta-bacteria exitosa (Heydarian *et al.*, 2016).

Resultados favorables se han reportado tanto en inóculos con una sola cepa bacteriana (cuadro 8), como en inóculos multicepa (cuadro 9) al mejorar los procesos de fitorremediación de suelos contaminados con metales potencialmente tóxicos. Los efectos benéficos se han presentado tanto en las etapas tempranas del desarrollo

vegetal, al aumentar la tolerancia a la intoxicación por metales pesados, como al promover la fitoextracción y aumentar la acumulación de elementos metálicos en el tejido vegetal (fitoacumulación).

Cuadro 8. Efectos benéficos de fitorremediación asistida por bioaumentación mediante cepas individuales.

Planta	Cepa	Efecto	Referencia
<i>Salix integra</i>	<i>Bacillus</i> sp.	Aumento en el coeficiente de transferencia de Pb	(Niu <i>et al.</i> , 2021)
<i>Zea Mays</i> L.	<i>Priformospora indica</i>	Aumenta el potencial de fitoextracción de Pb.	(Asilian <i>et al.</i> , 2018)
<i>Pistia stratiotes</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Mejora la eficiencia en la eliminación de Pb.	(Zahari <i>et al.</i> , 2021)
<i>Canna indica</i> L.	<i>Funnelliformis mosseae</i>	Alivia la inhibición fisiológica de la atrazina en el crecimiento de las plantas y promover la fotosíntesis.	(Dong <i>et al.</i> , 2016)
<i>Medicago sativa</i>	<i>Piriformospora indica</i>	Promueve efectivamente la acumulación de cadmio.	(Li <i>et al.</i> , 2020)
<i>Helianthus annuus</i> L.	<i>Pseudomonas</i> sp.	Mejoró la absorción de Cr ⁶⁺ .	(Gupta <i>et al.</i> , 2018)

Cuadro 9. Efectos benéficos de fitorremediación asistida por bioaumentación mediante multicepa.

Planta	Multicepa	Efecto	Referencia
<i>Triticum aestivum</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Serratia ficaria</i> y <i>Burkholderia phytofirmans</i>	Promover el desarrollo y el rendimiento.	(Zafar-ul-Hye <i>et al.</i> , 2020)
<i>Brassica napus</i> L.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> y <i>Variovorax sp.</i>	Aumenta la extracción y estabilización de Cd y Zn.	(Dąbrowska <i>et al.</i> , 2017)
<i>brassica juncea</i>	<i>pseudomonas aeruginosa</i> , <i>alcaligenes feacalis</i> y <i>bacillus subtilis</i>	Proteger las plantas contra los efectos tóxicos de los metales pesados (Cd, Cr y Ni), y aumenta el crecimiento y la acumulación de metales en las plantas.	(Ndeddy Aka y Babalola, 2016)
<i>Medicago lupulina</i>	<i>Pseudomonas brassicacearum</i> y <i>Sinorhizobium meliloti</i>	Mejora el crecimiento de las plantas, la nutrición de nitrógeno y la extracción de Cu.	(Kong <i>et al.</i> , 2017)

3.5. Elementos potencialmente tóxicos

3.5.1. Definición

Los elementos potencialmente tóxicos son dañinos para los humanos y otros organismos incluso en bajas concentraciones, entre ellos se incluyen el cobre (Cu), cromo (Cr), cobalto (Co), cadmio (Cd), níquel (Ni), hierro (Fe), zinc (Zn), plomo (Pb), molibdeno (Mo) y manganeso (Mn) (Rehman *et al.*, 2020). Algunos de estos elementos son nutrientes esenciales que se requieren para diversas funciones bioquímicas y fisiológicas, sin embargo, el suministro inadecuado de estos micronutrientes da como resultado una variedad de enfermedades o síndromes por deficiencia en los seres humanos y en otras especies (Tchounwou *et al.*, 2012). En seguida se trata cada uno de los elementos anteriormente mencionados y las circunstancias en las que se presenta la toxicidad en los seres humanos.

3.5.2. Cobre (Cu)

Cu (número atómico 29, peso molecular medio 63.55) es un micronutriente esencial y ubicado en el grupo XI, período IV de la tabla periódica. Su configuración explica la reactividad del Cu y su utilidad enzimática a través de la oxidación y reducción lábil entre Cu(I) y Cu(II) en condiciones fisiológicas. Los iones de Cu no unidos o "libres" generalmente no se encuentran en las células en ninguno de los estados de valencia. El Cu es esencial para muchos procesos fisiológicos, incluida la homeostasis del hierro, la angiogénesis, la biosíntesis de neurotransmisores, la función inmunitaria (incluida la activación de los neutrófilos y la función de los macrófagos) y el metabolismo energético (Barber *et al.*, 2021).

El ser humano es capaz de metabolizar ingestas relativamente altas de Cu, sin embargo, la toxicidad del Cu puede ser ocasionada por la exposición en exceso, causado por accidentes, riesgos laborales, contaminación ambiental, así como insuficiencia de las glándulas suprarrenales, errores congénitos del metabolismo del Cu y otros factores. El nivel máximo de ingesta tolerable por el ser humano en el rango de 19 a 70 años es de 10 mg al día (Gaetke *et al.*, 2014).

3.5.3. Cromo (Cr)

El cromo ha sido reconocido durante mucho tiempo como un metal tóxico, mutagénico y cancerígeno, dañino para microorganismos, plantas, animales y humanos. El cromo es uno de los principales contaminantes ambientales inorgánicos, que se agrega al medio ambiente a través de diversas actividades naturales y antropogénicas y existe principalmente en dos formas: Cr (III) y Cr (VI) (Mishra y Bharagava, 2016). Es el segundo contaminante metálico más común en las aguas subterráneas, el suelo y los sedimentos, el cromo presenta una grave amenaza ambiental para el uso industrial generalizado. Cr (III) y Cr (VI) son los más estables de los diferentes estados de oxidación (Chen *et al.*, 2022). El cromo en forma de Cr (VI) es más tóxico para los animales y los humanos que el Cr (III) porque es más soluble, móvil y venenoso (Wang *et al.*, 2021).

3.5.4. Cobalto (Co)

El Cobalto es un elemento beneficioso para las plantas leguminosas para el crecimiento, metabolismo y desarrollo de nódulos de raíz, su importancia para el resto de las especies de plantas es todavía equívoca (Tsyganov *et al.*, 2020).

El cobalto desempeña un papel importante en las actividades de varias enzimas y coenzimas como la vitamina cianocobalamina (B₁₂) en el ser humano (Adolfo *et al.*, 2016). Los efectos sistémicos en la salud por intoxicación por Cobalto se caracterizan por un síndrome clínico complejo, que incluye principalmente trastornos neurológicos (deterioro auditivos y visuales), déficits cardiovasculares y endocrinos (Leyssens *et al.*, 2017) . El consumo aproximado de Co por los seres humanos a partir de los alimentos es de 5 a 40 µg/día (Tvermoes *et al.*, 2014).

3.5.5. Cadmio (Cd)

El cadmio (Cd) es un metal de transición no esencial tóxico que representa un riesgo para la salud tanto de humanos como de animales, se encuentra de forma natural en el medio ambiente como un contaminante derivado de fuentes agrícolas e industriales, generalmente como un catión divalente, complejado con otros elementos. La exposición al cadmio se produce principalmente a través de la ingestión de alimentos y agua contaminados y, en gran medida, a través de la inhalación y el tabaquismo (Genchi *et al.*, 2020).

El cadmio ocupa el séptimo lugar entre las 20 principales toxinas y entra en las tierras de cultivo a través de diversos procesos industriales y prácticas agrícolas (White y Brown, 2010). La toxicidad del cadmio en el ser humano se ha demostrado en varios órganos, induce lesiones tisulares mediante la creación de estrés oxidativo, cambios epigenéticos en la expresión del ADN, inhibición o aumento de las vías de transporte particularmente en el segmento proximal del túbulo renal (Bernhoft, 2013). La ingesta diaria tolerable establecida por la OMS es de 60 y 70 µg diariamente respectivamente, para mujeres y hombres adultos (Dutta *et al.*, 2021).

3.5.6. Níquel (Ni)

El níquel es un metal de transición duro, dúctil, de color blanco plateado; es el elemento 28 en la tabla periódica. Puede existir en varios estados oxidativos (de -1 a +4); sin embargo, el estado de oxidación +2 (Ni^{+2}) es el más extendido en el medio ambiente y los sistemas biológicos (Das *et al.*, 2019). El níquel tiene efectos antagónicos en animales y humanos, posee propiedades cancerígenas y puede causar reacciones de sensibilización en humanos (Begum *et al.*, 2022).

Aunque la exposición al níquel provoca reacciones alérgicas, afecciones respiratorias y cáncer en humanos y roedores, las ramificaciones del exceso de níquel en el medio ambiente para la salud animal y humana siguen sin describirse en gran medida (Rudel *et al.*, 2013). Se necesitan dosis iguales o mayores de 250 μg de níquel al día para producir signos de toxicidad ratas, ratones, pollos, conejos y monos, al retrasar el crecimiento (Nielsen, 2021).

3.5.7. Hierro (Fe)

El hierro es un micronutriente esencial que es problemático para los sistemas biológicos ya que es tóxico, al generar radicales libres al interconvertirse entre formas ferrosas (Fe^{+2}) y férricas (Fe^{+3}), además es un átomo muy abundante que representa aproximadamente el 5 % de la corteza terrestre, debido en parte a su capacidad de existir en una amplia gama de estados de oxidación (Eid *et al.*, 2017). El hierro es necesario para los procesos esenciales para la vida, pero la sobrecarga de hierro libre provoca consecuencias a la salud humana peligrosas (Kozlova *et al.*, 2022). La ingesta dietética mediana de hierro es de aproximadamente 16 a 18 mg/día para hombres y 12 mg/día para mujeres. El nivel máximo de ingesta tolerable para adultos es de 45 mg/día de hierro, un nivel basado en el malestar gastrointestinal como efecto adverso (Institute of Medicine, 2001a).

3.5.8. Zinc (Zn)

El zinc es un metal de transición generalmente presente en la naturaleza en su estado divalente. Se considera un mineral esencial ya que es necesario para la producción de

cientos de enzimas en todo el cuerpo, sin embargo, los niveles elevados de zinc pueden volverse tóxicos (Agnew y Slesinger, 2022). El zinc es un cofactor esencial en una variedad de procesos celulares que incluyen la síntesis de ADN, las respuestas conductuales, la reproducción, la formación ósea, el crecimiento y la cicatrización de heridas (Barceloux y Barceloux, 1999).

El zinc es un oligoelemento esencial, tiene una toxicidad bastante baja, y un impacto severo en la salud humana por intoxicación con zinc es un evento relativamente raro. Sin embargo, a nivel celular, el zinc afecta la supervivencia y puede ser un regulador crucial de la apoptosis, así como de la muerte neuronal después de una lesión cerebral (Plum *et al.*, 2010).

3.5.9. Plomo (Pb)

El plomo es el elemento pesado tóxico más importante en el medio ambiente, a nivel mundial, es una sustancia química ambiental importante, pero peligrosa, abundantemente distribuida, debido a su naturaleza no biodegradable y uso continuo, su concentración se acumula en el medio ambiente con peligros crecientes (Wani *et al.*, 2015). El plomo se acumula en el cuerpo humano a través de la absorción, la biodisponibilidad, la bioconcentración y la biomagnificación que altera los sistemas neurológico, esquelético, reproductivo, hematopoyético, renal y cardiovascular (Collin *et al.*, 2022). La ingesta diaria tolerable de plomo es de 3.6 µg al día por kilogramo de peso corporal (Chamannejadian *et al.*, 2013).

3.5.10. Molibdeno (Mo)

El molibdeno es un oligoelemento esencial tanto para animales como para plantas. En los mamíferos, el molibdeno es un componente de ciertas metaloavoproteínas, incluidas la xantina oxidasa, el sulfito oxidasa y el aldehído oxidasa. En las plantas, es necesario para la fijación del nitrógeno atmosférico por parte de las bacterias al inicio de la síntesis de proteínas (Vyskočil y Viau, 1999). El nivel máximo de ingesta tolerable es de 2 mg al día, un nivel basado en la reproducción y el crecimiento deficientes en los animales (Institute of Medicine, 2001b). El molibdeno puede ser muy tóxico para ciertos animales, especialmente para el ganado vacuno y ovino, debido a que el alto consumo de

molibdeno induce una deficiencia secundaria de cobre en estos animales. Sin embargo, el potencial de toxicidad del molibdeno en humanos es bajo, la ingesta superior a la tolerable se ha asociado con dolor en las articulaciones, síntomas parecidos a la gota, hiperuricosuria (Novotny y Peterson, 2018).

3.5.11. Manganeso (Mn)

El oligoelemento manganeso es esencial para el desarrollo normal y la función corporal a lo largo de la vida de todos los mamíferos, este se une y/o regula muchas enzimas en todo el cuerpo, además es un cofactor necesario para la arginasa, que es responsable de la producción de urea en el hígado, el superóxido dismutasa, que es fundamental para prevenir el estrés oxidativo celular, y el piruvato carboxilasa, una enzima esencial en la gluconeogénesis (Crossgrove y Zheng, 2004). Se estableció un nivel máximo de ingesta tolerable 11 mg/día para adultos con base en un nivel sin efectos adversos observados para las dietas occidentales (Institute of Medicine, 2001).

3.6. Cultivo de Okra

3.6.1. Descripción general y fitorremediación

El origen de la Okra no está claro, pero se cree que procede de África. Hay evidencia de que se cultivó en Egipto. antes del 2000 a. C., otras fuentes indican que el área de origen de la Okra es Etiopía o Sudán (Fabianová *et al.*, 2022).

Okra (*Abelmoschus esculentus*), se conoce también como dedos de dama, bhindi, bamia o gumbo, es una planta con flores valorada por sus vainas de semillas verdes comestibles (Featherstone, 2016). La Okra es un cultivo tropical, miembro de la familia Malvaceae, y es un cultivo vegetal que crece en partes tropicales y subtropicales del mundo (Gardezi *et al.*, 2019; Shivaramgowda *et al.*, 2016). La Okra es un cultivo vegetal tolerante al calor con alto rendimiento económico e importancia nutricional en Asia, África y América (Schafleitner *et al.*, 2021). A nivel mundial, India ocupa el primer lugar en producción de Okra con una superficie de 509 mil hectáreas con un crecimiento anual de seis millones de toneladas y una productividad de 12 toneladas por hectárea (Moulana *et al.*, 2020).

Según Elzebroek y Wind (2008) la clasificación del cultivo de Okra es la siguiente:

Dominio: *Eucariota*

Reino: *Plantae*

Filo: *Espermatofita*

Subfilo: *Angiospermas*

Clase: *Dicotiledóneas*

Orden: *Malvales*

Familia: *Malváceas*

Género: *Abelmoschus*

Especie: *Abelmoschus esculentus*

El cultivo de Okra ha sido estudiado como una alternativa en procesos de biorremediación por su capacidad de hiperacumular metales potencialmente tóxicos como el cadmio (Mousavi *et al.*, 2021), mercurio (Mohammadi *et al.*, 2021), plomo (Khaliq *et al.*, 2022), entre otros.

Un ejemplo de este tipo de estudios es el efectuado por Aziz *et al.*, (2022), donde se realizó la aplicación de hongos endófitos presentes en el sistema radicular en chiles tolerantes al estrés por cadmio y cromo, con la finalidad de transferir sus calidades y apoyar a plantas de Okra expuestas al mismo estrés. Sus resultados mostraron que la inoculación mejoró la clorofila total, longitud de brote, longitud de raíz, peso fresco, peso seco, azúcares, proteínas, prolina, flavonoides, fenoles, AIA, catalasa y oxidasa de ácido ascórbico de las plantas de Okra asociadas. De lo cual, se extrae que es una opción factible transferir organismos benéficos de una especie vegetal a otra, si bien, esto no garantiza el éxito de la promoción del desarrollo vegetal, ayuda en acotar los organismos que pueden ser factibles para aumentar tolerancia a factor abióticos, como es el caso de los metales potencialmente tóxicos. También se han reportado estudios donde demuestran que la Okra cultivada en suelos contaminados con petróleo crudo cuando se inocula con *Giagaspora gigantea* (Hongo Micorrízico Arbuscular) puede superar el estrés fisiológico causado por la contaminación (Ifeanyi y Asimiea, 2018).

Además, se ha estudiado el cultivo de Okra, en procesos de fitorremediación asistida por bacterias, siendo un método exitoso para el tratamiento de aguas y suelos contaminadas con metales de diferentes sitios. Los consorcios de rizobacterias que promueven el crecimiento potencial, las bacterias degradantes y las bacterias endófitas pueden emplear el proceso de fitorremediación de la reducción de metales en los suelos contaminados con aguas residuales. El uso exitoso de estos métodos integrados se centra en la investigación de los procesos de fitorremediación potenciada por bacterias y la caracterización de bacterias. En este sentido, se ha realizado investigación, utilizando la aplicación combinada de inóculo con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal y lodo prensado de caña de azúcar, y con ellos recuperando significativamente el impacto negativo del cromo y el crecimiento de las plantas de Okra, logrando niveles similares al tratamiento no contaminado sin inoculación (Mushtaq *et al.*, 2021) .

A nivel mundial se estudia de manera rigurosa las múltiples variables que pueden influir en aumento del desarrollo vegetal, a partir de la inoculación de semilla mediante rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. En el caso del cultivo de Okra, Perveen *et al.*, (2022) han estudiado el efecto del tipo de sustrato (lodo de prensa de caña de azúcar, carbón vegetal, biocarbón, turba y composta) y la inoculación sobre el crecimiento vegetal. Los resultados reportados mostraron que todos los tratamientos aumentaron significativamente en crecimiento de Okra, contenido de nutrientes y rendimiento de Okra junto con el aumento de la biomasa microbiana en el suelo, pero el tratamiento que contenía consorcio bacteriano con turba provocó el máximo incremento.

De lo anterior, se establece que el desarrollo tecnológico de las técnicas de fitorremediación e inoculación de semillas siguen en desarrollo, y más aún, en cultivos como Okra, al no ser una hortaliza convencional. Las variables que se deben considerar para lograr el éxito de la aplicación de la técnica de inoculación de semillas son numerosas y más aún cuando consideramos que su uso puede estar enfocado a diferentes fines. Como cualquier otra tecnología, su aplicación conlleva un costo, por lo tanto, el reducir los márgenes de error, o bien, maximizar las probabilidades de éxito es imperativo. Una forma de lograr esto, es realizar una investigación con un amplio

espectro, la tendencia actual es evaluar a la vez diferentes factores que se presuman puedan apoyar las técnicas de inoculación con organismos benéficos, seleccionando especies y variedades óptimas según los objetivos planteados, la utilización de organismos genéticamente modificados, la aplicación de mejoradores de suelo, la utilización de multicepas cuya composición bacteriana se complemente según los requerimientos establecidos, entre otros.

3.6.2. Requerimientos edafoclimáticos

Las plantas de cultivo crecen mejor donde las temperaturas medias mínima y máxima son 18 °C y 35 °C, respectivamente. Las temperaturas altas durante el día (42 °C) puede causar la caída de las flores debido al aumento de la tasa de respiración (Dhankhar *et al.*, 2012). El rendimiento de Okra es mayor en suelos de textura franco arcillosos, en alturas de 0 a 1500 metros sobre el nivel del mar (Díaz *et al.*, 2007; Guerrero, 2006). Se reporta con óptimo crecimiento y floración, así como altos rendimientos tanto en días largos (12.5 horas de luz) como cortos (5.2-5.7 h), lo cual se debe a que es una planta facultativa, es decir, que se adapta a variaciones del ambiente (Katung, 2007).

Considerando una temperatura base de 6°C, el requerimiento térmico de la Okra es como se describe a continuación: 122 UC de siembra a emergencia; 1118 de siembra a inicio de floración, 1728 de siembra a final de floración y 2439 UC de siembra a madurez fisiológica. Al hacer cortes de fruta en una plantación de Okra, el requerimiento térmico siembra-fin de floración se incrementa a 2500 UC, y el requerimiento siembra-madurez fisiológica aumenta a 3150 UC (Escalante-Estrada *et al.*, 2000).

Dado que el cultivo de Okra es una especie esencialmente tropical, desarrolla bien en áreas tropicales de baja altura, prosperando en suelos delgados, con un espesor mayor a 50 cm, en terrenos planos con buen drenaje, no tolera suelos húmedos, su rango de pH es de 4.3 a 8.7, con un óptimo de 6.4, no tolera salinidad ni sodicidad (Guerrero, 2006). La evapotranspiración de cultivo es de 258 mm de la siembra al final de la floración, y, de 365 mm de la siembra a la madurez fisiológica, siendo el óptimo de precipitación 1200 mm (Escalante-Estrada *et al.*, 2000).

3.6.3. Utilidad comercial y nutricional

Los frutos frescos (vainas) de Okra son exportados por países de África y caribeños a Europa y América donde hay demanda lista de los grupos étnicos residentes de zonas tropicales y subtropicales en países que incluyen indios, africanos occidentales, paquistaníes y surinameses, sin embargo, existen factores limitantes de la producción de Okra entre otros incluyen manejo de malezas, prácticas de labranza, variedades de bajo rendimiento y suelos pobres (Iyagba, 2013).

En México la Okra es una hortaliza no tradicional de gran importancia 2019 Se cosecharon 4,387.31 ha, con una producción de 42,206.54 ton y un rendimiento promedio de 9.62 t ha⁻¹, a un precio rural promedio de \$ 4,448.71 t⁻¹, generando un ingreso bruto de 187.7 millones de pesos a nivel nacional (SIAP, 2021). La producción se comercializa fresca, no más de 36 horas después del corte, mediante contratos con empresas del sur de Texas (Díaz *et al.*, 2007).

Cuadro 10. Estadísticas de producción de Okra por estado en 2019.

Entidad	Superficie (ha)			Prod. (t)	Rend. (t ha ⁻¹)	P.M.R. (\$ t ⁻¹)	Valor de producción (miles de pesos)
	Sembrada	Cosechada	Siniestrada				
Guerrero	116.61	116.61	0.00	942.83	8.09	8902.99	8394.00
Morelos	406.90	406.90	0.00	4672.67	11.48	5134.03	23989.61
Nayarit	7.00	7.00	0.00	89.04	12.72	5450.00	485.27
Sinaloa	4.00	4.00	0.00	39.00	9.75	4220.38	164.59
Tamaulipas	3882.80	3882.80	0.00	36463.00	9.46	4243.51	154731.12
Total	4417.31	4417.31	0.00	42206.54	9.62	4448.71	187764.59

Fuente: SIAP, 2021

La Okra es rica en aceite, proteínas, carbohidratos, fibras, vitamina C, minerales y antioxidantes. Además, el aceite de Okra es una fuente de biocombustible. Las hojas y botones florales de la Okra se consumen como alimento y su mucílago tiene aplicaciones medicinales e industriales (Akinyele y Temikotan, 2007; Anwar *et al.*, 2010; Gardezi *et al.*, 2019; Gemedede, 2015; Hasanuzzaman *et al.*, 2009).

Un informe reciente aclaró que las fracciones de flavonoides purificados de las flores de la planta de Okra tenían un efecto antitumoral significativo en la malignidad colorrectal, ejerciendo una fuerte potencia antioxidante con efectos antiproliferativos sustanciales en el crecimiento tumoral (Deng *et al.*, 2020).

Los investigadores han informado de los efectos antidiabéticos del extracto acuoso de las semillas y las vainas de la planta de Okra. Provocar hipoglucemia en ratas; una especie de inhibición de la α -glucosidasa y la α amilasa, que actúa degradando los polisacáridos. Da como resultado la disponibilidad de glucosa (Lu *et al.*, 2016; Sabitha *et al.*, 2012).



Figura 8. Representación de los efectos beneficiosos mediados por la Okra que se han establecido científicamente hasta la fecha (Elkhalifa *et al.*, 2021).

3.6.4. Labores culturales

3.6.4.1. Preparación del terreno

La Okra prospera bien tanto en suelos livianos como en suelos pesados. No tolera los suelos salinos (los efectos de la salinidad son detectables cuando superan 4 dS m^{-1} , pero son más pronunciados a 8 dS m^{-1} , y pueden ser parcialmente afectados por pH elevado. Cuando el pH es inferior a 5.8 las vainas no se desarrollarán apropiadamente.

Arar y rastrillar de 2 a 3 veces alternativamente con un intervalo de una semana para evitar el crecimiento de malas hierbas. Arar a una profundidad de entre 15 a 20 cm para una mejor penetración de las raíces. Un suelo bien pulverizado promueve una buena aireación del suelo y mejora la formación de raíces. Establecer surcos después de la última rastra o hacer parcelas de 75 cm de ancho a una distancia de 100 cm entre hileras (Brandenberger *et al.*, 2018).

3.6.4.2. Siembra

La siembra se realiza en México con los genotipos Cajun Delight, Green Best, North y South, Annie Oakley y Clemson Spineless (Díaz *et al.*, 2007). La siembra se realiza de manera directa, del 01 de febrero al 15 de abril, a una profundidad de aproximadamente 5 cm, remojando previamente la semilla con agua templada 24 horas antes de la siembra para conseguir una germinación más rápida y uniforme, una distancia entre líneas de 90 a 100 cm y entre plantas de 20 a 30 cm (Díaz-Franco *et al.*, 2003).

La densidad de siembra apropiada oscila entre 25.000 y 30.000 plantas por hectárea. En relación con las densidades óptimas de siembra hay que tener en cuenta dos factores: las poblaciones bajas favorecen el desarrollo de plantas muy ramificadas y difíciles de manejar, y, por el contrario, densidades muy altas producen plantas con poca ramificación y cosecha más concentrada.

3.6.4.3. Fertilización

Lo recomendable es realizar un análisis de suelo para obtener los requerimientos precisos en cuanto a cantidades y tipos de fertilizantes para aplicar. De todas maneras,

se pueden tener en cuenta algunas indicaciones generales. Se requiere la aplicación de 50 a 60 kg/ha de N y 50 kg a ha de P en presiembra e igual cantidad de nitrógeno se aplica en las dos primeras semanas de cosecha (INIFAP, 2004). La aplicación de fertilizantes foliares se justificaría solo cuando alguna deficiencia nutrimental haya sido adecuadamente diagnosticada en el cultivo. Sin embargo, es conveniente a futuro determinar la posible influencia de la fertilización foliar y reguladores del crecimiento sobre la calidad del fruto de Okra.

3.6.4.4. Control de plagas y enfermedades

Se conocen aproximadamente 10 enfermedades infecciosas de la Okra, de todas ellas la que ha tenido recientemente mayor impacto en la producción es la virosis conocida como virus del moteado amarillo de la Okra, transmitida por la mosca blanca (Lozano y Artinian, 2018). Las tres plagas de mayor relevancia en las regiones productoras de México son: moscas blancas, gusano rosado y los áridos. Se han reportado tres especies de moscas blancas infestando Okra en México: *Bemisia tabaci* (Genn.), *B. argentifolii* (Bellow y Perring) (sin. *B. tabaci* biotipo B) y *Trialeurodes vaporariorum* West (Díaz *et al.*, 2007).

En la región noreste de México se recomienda en presiembra si existe presencia de maleza, aplicar Treflan (Tretox, Herban, etc.) a razón de 2.0 l ha⁻¹ e incorporado al suelo, por su parte, en contra el Pulgón o borseguí, gusano del fruto y mosca blanca, se recomienda aplicar mevinfos a razón de 500 gramos de ingrediente activo por hectárea (INIFAP, 2004).

3.6.4.5. Cosecha

Las vainas de Okra deben ser recogidas (generalmente cortadas) cuando están blandas y no han madurado. Se inicia la cosecha de los 55 a los 70 días después de la emergencia, cuando la vaina alcanza una longitud de 5 a 11 cm, los cortes se realizan cada dos días, en el pico de la producción es posible realizar cortes diariamente, (Kemble y Musgrove, 2004). Durante la cosecha se debe tener cuidado con los pelos finos del tallo, las hojas y la fruta. El uso de mangas largas y guantes de goma reducirá la irritación de la piel, se recomienda usar tijeras para cortar los tallos fibrosos.

3.6.5. Rentabilidad económica

La rentabilidad económica es una medida del rendimiento de los activos en una empresa, esto independiente a su financiamiento en un determinado periodo, siendo esta una herramienta básica para juzgar la eficiencia empresarial (Caiza *et al.*, 2019). Medir la rentabilidad económica de un proyecto es necesario para evaluar la eficiencia en los cambios de los proyectos. La rentabilidad económica medirá dos parámetros costos y resultados y es una forma de determinar el valor del dinero para determinar cuánto se gastará en una inversión y si se podrá mantener o bien expandir un proyecto determinado (Torre y Vallejos, 2021).

Cuadro 11. Clasificación de la rentabilidad.

Clase	Ecuación	Interpretación
Rentabilidad bruta sobre ventas	$\frac{\textit{Utilidad bruta}}{\textit{Ventas}}$	Mide el palanqueo financiero a corto plazo.
Rentabilidad neta sobre ventas	$\frac{\textit{Util. Neta desp. de impu.}}{\textit{Ventas netas}}$	Determina el margen de utilidad obtenido luego de deducir las ventas de todos los costos y gastos.
Rendimiento sobre el patrimonio	$\frac{\textit{Util. Neta desp. de imp.}}{\textit{Patrimonio neto}}$	Más conocido como ROE miden el retorno del capital de accionistas.
Rendimiento sobre el activo total	$\frac{\textit{Utilidad neta}}{\textit{activo total}}$	ROA determina la oportunidad o rentabilidad de las ventas como resultado del empleo de los activos.

Fuente: Caiz *et al.*, 2019

Es una metodología que evalúa los costos y beneficios de un proyecto, esto con el objetivo de determinar si el proyecto es óptimo desde un punto de vista del bien social y si es así determinar en qué medida. En esta fórmula los costos y beneficios deben ser cuantificados en unidades monetarias, con el fin de calcular los beneficios netos del proyecto para sociedad en conjunto, aquí se muestra quien gana y quien pierde y si es así por cuanto, como resultado de la ejecución del proyecto (Ortega, 2012).

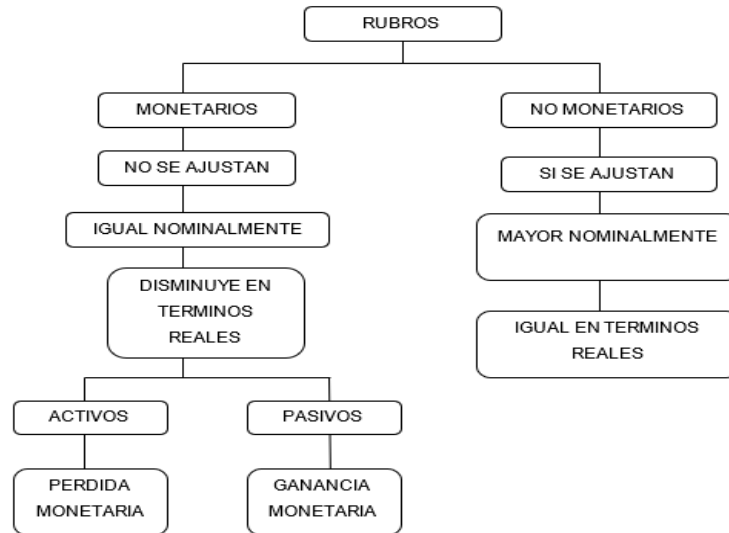


Figura 9. Componentes de elementos monetarios y no monetarios (Robledo, 1991).

Tanto la rentabilidad del tipo operativa (ROI) como la del tipo financiera (ROE) se determinarán con base en la Utilidad Neta (UN) que se obtenga por la empresa, y que sea afectada por el REME, existiendo otra forma de determinar la rentabilidad ROE, calculándola en función de ROI, de la cantidad del endeudamiento (E) y del costo de la deuda (p) precisando la gestión operativa y financiera del negocio (Contreras, 2006).

(Spitsin *et al.*, 2020), mencionan algunos factores que afectan la rentabilidad.

- Internos propios de la empresa, estos incluyen sus activos, pasivos, así como la capacidad técnica.
- Ambientales, incluidas las condiciones de mercado, así como las condiciones meso, macro y mega económicas.

La rentabilidad puede ser medida con métodos complejos y métodos simples. Los métodos complejos utilizan los indicadores de Valor Actual (VA), Valor Actual neto (VAN), Tasa Interna de Retorno (TIR) y el periodo de recuperación de inversión (PRIN). Mientras que el método simple utiliza los estados financieros, pero no considerando el valor del dinero en el tiempo (Cruz *et al.*, 2016). Si bien la información financiera es la principal fuente para tomar decisiones financieras, el administrador financiero es el encargado de

analizar las medidas de inversión elegir la propuesta que contribuya efectivamente el valor empresarial (Aguirre *et al.*, 2020)

- VAN: Su objetivo es medir la generación de riqueza cuando se realiza una inversión mediante un proyecto, mide la generación de riqueza o valor, mide el valor de un proyecto. El VAN es un indicador de rentabilidad en el análisis de las inversiones y su enfoque es económico, debe usar en evaluación de proyectos (Andia, 2011).
- TIR: Es una tasa que mide la rentabilidad de los saldos de dinero que permanecen invertidos en el proyecto. Por eso recibe el nombre de tasa interna de retorno. esto hace que sea una característica propia de cada proyecto y, además, independiente de la tasa de oportunidad del inversionista, pues considera reinversión, pero en el mismo proyecto y a la misma tasa Al ser una tasa interna generada implícitamente por los flujos de caja del proyecto, no depende de las tasas de interés que se presenten en el mercado (Álvarez, 2017).
- PRIN: Es el cálculo que indica el tiempo exacto que requiere una empresa para recuperar su Inversión inicial en un proyecto. Se estima a partir de las entradas de efectivo (Canales, 2015).

Cuando se considera un cultivo rentable

CONEVAL (2019) indica que a nivel nacional 42% de la población se encuentra en situación de pobreza y 7.4% ubicados en pobreza extrema, siendo el sector rural el rubro en que desde hace décadas se encuentre en mayor rezago y vulnerabilidad del país. Bazzani, (2008) indica que para considerar la rentabilidad de un cultivo se debe conocer el proceso de producción completo, todas las fases o etapas que lo componen. En el campo agrícola la producción está representada por el conjunto de labores que van desde la siembra hasta la cosecha. Estas etapas son repetitivas en cualquier tipo de cultivo siendo el éxito del proceso productivo la atención que se otorga a cada una de ellas y con ellas realizar el análisis de costos de producción.

Se recomiendan que para generar utilidad en el sector agrícola en terrenos muy fraccionados formar asociaciones de productores que permitan compartir objetivos de

producción, de tal forma que se incrementen los rendimientos y haya diversificación de cultivos, con el fin de que el volumen de excedentes pueda competir en los mercados locales o regionales y generando ingresos económicos que incentiven a los productores a continuar con la práctica agrícola como alternativa de trabajo y a invertir en capital que potencialice su proceso de producción. En la producción agrícola se vislumbran los costos de producción como una herramienta inquietante para los agricultores, pues exige planificar, controlar y tomar decisiones que mantengan o mejoren la rentabilidad de un negocio agrícola (Molina, 2017).

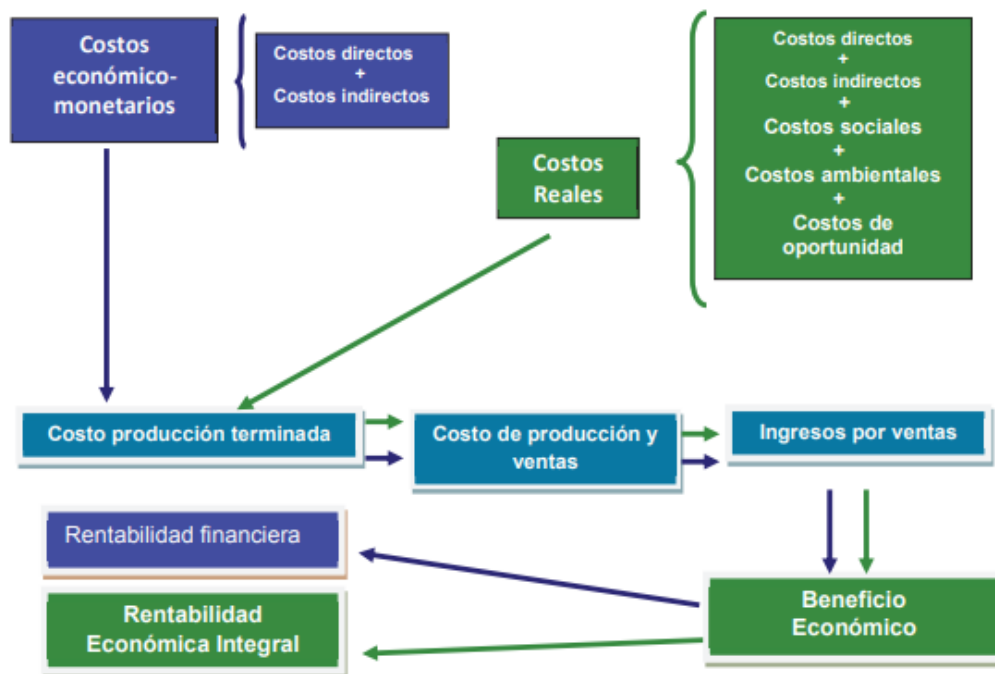


Figura 10. Flujo de costos y rentabilidad (Molina, 2017)

Romero y Navarrete, (2019), reportó que, en el 2017, Estados Unidos de América invirtió aproximadamente 43.4 millones de dólares en importaciones de Okra (fresca, refrigerada y congelada) según datos del departamento de agricultura. Mientras que Nicaragua recibió apoyo técnico del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) para desarrollar este producto no tradicional.

En México el cultivo de Okra, ha estado presente en el Norte de Tamaulipas que es una región subtropical, actualmente se encuentra en Matamoros, Rio Bravo y Valle Hermoso, el 85 % de las siembras son del sector ejidal y se utilizan hasta 20 ha, que son

comercializadas en el sur de Texas. Su precio fluctúa de \$2.60 a \$3.00 dólares americanos por kilogramo de fruto fresco. En mercados donde se consume el producto en fresco su precio puede llegar al doble, lo que indica que su rentabilidad es alta ya que de cada peso se obtienen 35 centavos de dólar presentando un rendimiento de 6 t ha⁻¹ (Díaz *et al.*, 2007).

Cuadro 12: La Okra en la etnomedicina de varios países.

Parte de la planta	Forma de uso	Nombre del sistema de medicina donde se usa	Aplicación
Fruto	Infusión del mucilago del fruto	India	Tratamiento de la disentería y diarrea, en inflamaciones agudas e irritación del estómago, ardor urinario, gonorrea. Infecciones catarrales de los intestinos y riñones
	Infusión del mucilago del fruto	India	Antipirético y sustituto de plasma
	Decocción del fruto inmaduro	India	Cataplasma con acción demulcente y emoliente
Raíces	Extracto de raíces	India	Cataplasma demulcente y emoliente.
	Jugo de las raíces	Nepal	Para tratar cortes, heridas y furúnculos.
	Infusión de raíces	Medicina tradicional de la costa atlántica de Nicaragua y Turquía	Usada para tratar diabetes, úlceras, ictericia y como laxante
	Infusión de raíces	India y Malasia	Usada para tratar sífilis
Semillas	Semillas	India	Antiespasmódicas, refrescantes y estimulantes
	Infusión de semillas tostadas	India	Tiene propiedades sudoríferas.
	Semillas	India	Tratamiento de la espermatorea
	Semillas	Medicina folklórica turca	En el manejo del incremento de la concentración de glucosa en sangre.
	Semillas Infusión de semillas tostadas	Latinoamérica Turquía	Remedio para tumores Para la terapia de diabetes mellitus.
Flores	Decocción de hojas y flores	India	Usada para el tratamiento de bronquitis y neumonía.

Fuente: Lozano, 2018

Los resultados sobre los costos de producción del cultivo de Okra bajo riego, en el ciclo agrícola primavera verano, se expresan en el cuadro 13, según cifras de los FIRA (2022) y prácticas culturales reportadas por el INIFAP (2004).

El cuadro 14 se construyó con base en datos reportados del año 2019 (SIAP, 2021), referidos al cultivo de Okra, de los cuales se extrajeron estados productores, rendimiento medio, precio medio rural, con lo cual se obtuvieron la utilidad bruta esperada y relación costos beneficio por estado.

Aun cuando los costos reales pueden variar entre los estados productores de Okra, el cuadro 15, establece un punto de referencia aceptable, con los que se puede aseverar desde el punto de vista económico que es una actividad productiva rentable. Sin embargo, la utilidad bruta esperada cambia según el estado donde se realice la actividad, el estado de Guerrero al tener el mayor precio medio rural (P.M.R.), permite una relación costo beneficio de hasta 2.44, es decir una recuperación de la inversión de 2.44 pesos por cada peso invertido.

Cuadro 13. Sistema de costos del cultivo de Okra con precios actualizados al año 2022 en México.

Costos por hectárea							
Actividad	Descripción	Unidad	Cantidad	Rep.	P.U.	Subtotal	Total
Preparación del terreno	Barbecho	ha	1	1	\$1,000.00	\$1,000.00	\$4,750.00
	Rastreo	ha	1	2	\$1,500.00	\$3,000.00	
	Emparejamiento y bordeo.	ha	1	1	\$750.00	\$750.00	
Semilla	Clemson Spineless 80	lb	16	1	\$225.07	\$3,601.12	\$8,101.12
Siembra riego	Mano de obra	jor	15	1	\$300.00	\$4,500.00	\$2,400.00
	Rodado por surcos (gravedad)	ha	1	5	\$180.00	\$900.00	
Fertilización	Jornal	jor	1	5	\$300.00	\$1,500.00	\$3,271.50
	Superfosfato de calcio simple	kg	50	1	\$14.21	\$710.50	
	Urea	kg	50	2	\$13.61	\$1,361.00	
Labores culturales	Aplicación	jor	2	2	\$300.00	\$1,200.00	\$2,400.00
	Tumba de bordo	jor	4	1	\$300.00	\$1,200.00	
Control de malezas y plagas	Desyerbe	jor	2	2	\$300.00	\$1,200.00	\$2,538.00
	Treflan	l	2	1	\$499.00	\$998.00	
Cosecha	Dupont (100 g)	pz	4	1	\$160.00	\$640.00	\$6,000.00
	Mano de obra	jor	3	1	\$300.00	\$900.00	
	Mano de obra	jor	2	10	\$300.00	\$6,000.00	\$6,000.00
						TOTAL	\$29,460.62

Cuadro 14. Relación de beneficios según estado productor de Okra en México.

Estado	Rend. (t ha ⁻¹)	P.M.R. (\$ t ⁻¹)	Ingreso (\$)	Costo (\$)	Utilidad (\$)	Relación Costo Beneficio
Guerrero	8.09	\$8,902.99	\$72,025.19	\$29,460.62	\$42,564.57	2.44
Morelos	11.48	\$5,134.03	\$58,938.66	\$29,460.62	\$29,478.04	2.00
Nayarit	12.72	\$5,450.00	\$69,324.00	\$29,460.62	\$39,863.38	2.35
Sinaloa	9.75	\$4,220.38	\$41,148.71	\$29,460.62	\$11,688.09	1.40
Tamaulipas	9.46	\$4,243.51	\$40,143.60	\$29,460.62	\$10,682.98	1.36

Esta misma proyección se ha realizado considerando los efectos de la aplicación de la técnica de inoculación de semillas con multicepas, la cual se ha estudiado en el presente trabajo de investigación, considerando un incremento en la producción de Okra (peso de vaina fresca) en un 28.19 %, valor que se ha tomado del análisis que se presenta a detalle más adelante.

El primer aspecto a considerar son los costos asociados a la aplicación de la técnica de inoculación de semillas, en este sentido, es importante señalar que no existe en México el uso de esta técnica de manera generalizada, por lo tanto, para fines de reportar un costo apegado a la realidad, se utilizaron los costos aproximados surgidos de insumos, usos de instalaciones y equipos y, mano de obra especializada de la presente investigación y extrapolados a una producción de gran escala, con la finalidad de optimizar costo, similar a los que se realiza de manera industrial. En el cuadro 15, se puede observar el resumen de los costos por concepto de inoculación en semillas de Okra.

En cuadro 16 se evidencia un incremento en los costos de producción de Okra por concepto de inoculación de semilla del 39.98 %, con esto se deduce que la relación costo beneficio será menor si se compara a la producción donde no se aplica la técnica de inoculación de semillas. Lo anterior se ocasiona al presentarse rendimientos en las plantas con semillas inoculadas que no generan utilidades que compensan los incrementos en el costo de producción, dato que se puede verificar contrastando los cuadros 14 y 17.

Cuadro 15. Costos de inoculación de una libra de semilla de Okra.

Concepto	Unidad	Cantidad	P.U.	Total
Caja Petri plástico estéril 100 x 15 mm	pz	10.00	\$5.50	\$55.00
Agar King's B	l	1.25	\$225.00	\$281.25
Preparación de inóculo mediante espectrofotómetro Bausch & Lomb espectral	l	0.25	\$600.00	\$150.00
Inoculación de semillas (incluye material de laboratorio)	lb	1.00	\$50.00	\$50.00
Mano de obra especializada	jor	0.20	\$1,000.00	\$200.00
			TOTAL	\$736.25

Aunque esto podría desincentivar el desarrollo de las técnicas de promoción del desarrollo vegetal a partir de la inoculación de semillas de plantas de interés alimentario, industrial, medicinal, entre otros, es importante señalar que en México la disponibilidad de tierras cultivables es limitada y la distribución de la tierra se da principalmente en minifundios, por lo tanto, otro punto importante que se debe analizar es el incremento de la utilidad generada por hectárea.

En el cuadro 15, se puede observar cómo se incrementa la utilidad cuando se ha aplicado la técnica de inoculación en los estados de Guerrero, Morelos y Nayarit, estados donde se tienen los mayores precios medios rural, logrando incrementos hasta del 20 % (caso del estado de Guerrero). Con lo anterior, se puede concluir que es posible incrementar los ingresos de los productores de Okra, sin que estos requieran cultivar mayor superficie, con aplicación de una tecnología sustentable con el ambiente, como lo es la inoculación de semillas.

Cuadro 16. Sistema de costos del cultivo de Okra, aplicando la técnica de inoculación de semillas con precios actualizados al año 2022 en México.

Costos por hectárea							
Actividad	Descripción	Unidad	Cantidad	Rep.	P.U.	Subtotal	Total
Preparación del terreno	Barbecho	ha	1	1	\$1,000.00	\$1,000.00	\$4,750.00
	Rastreo	ha	1	2	\$1,500.00	\$3,000.00	
	Emparejamiento y bordeo.	ha	1	1	\$750.00	\$750.00	
Semilla	Clemson Spineless 80	lb	16	1	\$225.07	\$3,601.12	\$8,101.12
Siembra	Mano de obra	jor	15	1	\$300.00	\$4,500.00	
Riego	Rodado por surcos (gravedad)	ha	1	5	\$180.00	\$900.00	\$2,400.00
	Jornal	jor	1	5	\$300.00	\$1,500.00	
Fertilización	Superfosfato de Calcio simple	kg	50	1	\$14.21	\$710.50	\$3,271.50
	Urea	kg	50	2	\$13.61	\$1,361.00	
	Aplicación	jor	2	2	\$300.00	\$1,200.00	
Labores culturales	Tumba de bordo	jor	4	1	\$300.00	\$1,200.00	\$2,400.00
	Desyerbe	jor	2	2	\$300.00	\$1,200.00	
Control de malezas y plagas	Treflan	l	2	1	\$499.00	\$998.00	\$2,538.00
	Dupont (100 g)	pz	4	1	\$160.00	\$640.00	
Cosecha inoculación de semilla	Mano de obra	jor	3	1	\$300.00	\$900.00	\$6,000.00
	Mano de obra	jor	2	10	\$300.00	\$6,000.00	
	Inoculación	lb	16	1	\$736.25	\$11,780.00	\$11,780.00
						TOTAL	\$41,240.62

Cuadro 17. Relación de beneficios aplicando la técnica de inoculación de semilla, según estado productor de Okra en México.

Estado	Rend. (t ha⁻¹)*	P.M.R. (\$ t⁻¹)	Ingreso (\$)	Costo (\$)	Utilidad (\$)	Relación Costo Beneficio
Guerrero	10.37	\$8,902.99	\$92,329.09	\$41,240.62	\$51,088.47	2.24
Morelos	14.72	\$5,134.03	\$75,553.47	\$41,240.62	\$34,312.85	1.83
Nayarit	16.31	\$5,450.00	\$88,866.44	\$41,240.62	\$47,625.82	2.15
Sinaloa	12.50	\$4,220.38	\$52,748.52	\$41,240.62	\$11,507.90	1.28
Tamaulipas	12.13	\$4,243.51	\$51,460.09	\$41,240.62	\$10,219.47	1.25

Nota: *Rendimiento ajustado, con un incremento esperado del 28.19 %, según los resultados obtenidos en el presente trabajo.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Trabajo de laboratorio

4.1.1. Efecto del sulfato de cobre en la germinación de semilla de Okra

En la prueba de germinación con sulfato de cobre se analizaron siete tratamientos más el testigo. Los tratamientos consistieron en germinar la semilla en solución de sulfato de cobre: 10^{-1} M, 10^{-2} M, 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M y agua destilada. Para cada tratamiento, las semillas se colocaron en placas Petri de plástico estéril sobre tres capas de papel toalla interdoblada, MARQUIS® Georgia Pacific (25 semillas de Okra, variedad Clemson Spineless 80, tres repeticiones) y posteriormente el papel fue humedecido con 5 mL de la solución de cobre correspondiente. Posteriormente se colocaron en oscuridad entre 28 ± 2 °C en una cámara germinadora Blue M hasta que la germinación se detuvo en todos los tratamientos. El conteo diario de las semillas germinadas se realizó, con la finalidad de construir la curva de germinación y evaluar el porcentaje de germinación total de cada tratamiento.

4.1.2. Aislamientos bacterianos

Una colección de 17 cepas bacterianas aisladas de tres diferentes orígenes fue utilizada: tres cepas aisladas de la rizósfera de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), nueve cepas de aislamientos de lodos de la planta tratadora de aguas residuales ubicada en Atlacomulco, en el Edo. de México y cinco cepas de la rizósfera de maíz (*Zea mays*). Las bacterias se cultivaron en placas Petri con medio B de King e incubaron a 28 ± 2 °C por 24 h, extraídas de bancos de tubos con agar inclinado previamente establecidos. Las poblaciones de P. fluorescentes se verificaron por la emisión de fluorescencia de las colonias bajo luz UV (cuadro 18).

Cuadro 18. Cepas bacterianas seleccionadas para la inoculación de semillas de Okra.

Cepa	Grupo	Color de fluorescencia
M40	Aislamiento raíces Jamaica	Verde
M67	Aislamiento raíces Jamaica	N/A**
M88	Aislamiento raíces Jamaica	N/A
A	Lodos de aislamiento*	Azul
D	Lodos de aislamiento*	Verde
1	Lodos de aislamiento*	Verde
2	Lodos de aislamiento*	Verde
6	Lodos de aislamiento*	Verde
7	Lodos de aislamiento*	Verde
11	Lodos de aislamiento*	N/A
24	Lodos de aislamiento*	N/A
29	Lodos de aislamiento*	N/A
A7	Aislamiento raíces maíz	Verde
A9	Aislamiento raíces maíz	Verde
Avm	Aislamiento raíces maíz	N/A
Sv	Aislamiento raíces maíz	Verde
T16	Aislamiento raíces maíz	Verde

Nota: *Bacterias extraídas de lodos de la planta de tratamiento de Atlacomulco, Edo. de México. **No aplicable, bacterias no fluorescentes.



Figura 11. Cajas de Petri con agar King's B, inoculadas con cepas bacterianas incubadas durante 24 horas.

4.1.3. Inoculación de semillas de Okra.

A partir de los cultivos en placas Petri se prepararon suspensiones bacterianas en agua destilada estéril con densidad celular de aproximadamente 1.2×10^9 UFC·mL⁻¹ (absorbancia de 0.9 en un espectrofotómetro marca BAUSCH & LOMB ESPECTRONIC, 620-660 nm). Se inocularán por triplicado para cada una de las cepas mediante la inmersión de 25 semillas por 15 min en 0.8 mL.

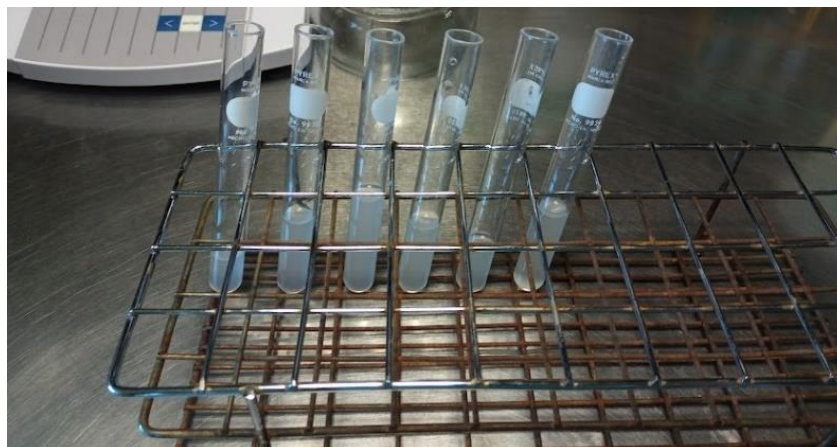


Figura 12. Suspensiones bacterianas ajustadas a una absorbancia de 0.9 por espectrofotómetro.



Figura 13. Espectrómetro marca BAUSCH & LOMB ESPECTRONIC.



Figura 14. Preparación de suspensiones bacterianas en agua destilada estéril con aproximadamente 1.2×10^9 UFC mL⁻¹.

4.1.4. Efecto de las bacterias en la germinación de semillas de Okra.

Las semillas inoculadas se colocaron en placas Petri con tres capas de papel filtro estéril, se agregaron 4.5 mL de agua destilada y se colocaron en una cámara de germinación a 28 ± 2 °C durante 7 días. El efecto de la inoculación de las bacterias se comparó con semillas tratadas solo con agua destilada, para lo cual se realizaron recuentos diarios de semillas germinadas con radículas mayores a 1.0 mm. Los resultados se expresaron en porcentaje de germinación a los 7 días de cada cepa inoculada y se determinó el tiempo (días) en que germinó 50 % de las semillas (T_{50}).



Figura 15. Preparación de tratamientos (antes de colocarlos en cámaras de germinación, inoculamos las semillas, preparamos las cajas de Petri y dispusimos los tratamientos).

4.1.5. Efecto de las bacterias en el vigor de plántula de Okra in vitro.

Las pruebas de vigor se realizaron únicamente en las cepas bacterianas que presentaron un porcentaje de germinación igual o superior al testigo. Se realizó la inoculación de semillas siguiendo el mismo procedimiento que la prueba de germinación. Se colocaron 10 semillas inoculadas a un 1.0 cm del borde de un papel filtro hidratado con agua destilada, posteriormente enrollado sobre sí mismo, estableciendo tres repeticiones por tratamiento. Posteriormente fueron colocados en un cuarto con iluminación controlada (8 horas al día) durante 10 días. Las raíces y los tallos se separaron y se mantuvieron en una estufa a una temperatura de 45 °C durante tres días, posteriormente se trasladaron a una estufa a una temperatura de 70 °C durante tres días. Finalmente se midieron las siguientes variables: longitud de raíz, longitud de tallo, biomasa seca de raíz y biomasa seca de tallo con follaje.



Figura 16. Medición de tallos y raíces de plántulas de okra.

4.1.6. Efecto sobre la germinación de semillas de Okra inoculados con multicepas en condiciones de estrés por sulfato de cobre.

Los inóculos multicepa se elaboraron a partir de 4 cepas bacterianas que expresaron variables de vigor con medias significativamente superiores al testigo, se realizaron mezclas con igual volumen de la suspensión bacteriana correspondiente (absorbancia de 0.9 en un espectrofotómetro marca BAUSCH & LOMB ESPECTRONIC 20 a 660 nm).

Utilizando el mismo método que utilizado para determinar el efecto de las bacterias en la germinación de semilla de Okra, se expusieron semillas de Okra a estrés por sulfato de cobre (0.05 M), con los siguientes tratamientos: T1 (A9, Avm, 1, 24), T2 (A9, Avm, 1), T3 (A9, Avm, 24), T4 (A9, 1, 24), T5 (Avm, 1, 24), Test1 (Sin inóculo), Test2 (Sin inóculo y germinación en agua destilada).

4.1.7. Efecto de la inoculación de semillas de Okra con inóculos multicepa en la emergencia y el vigor en condiciones de invernadero.

El efecto de inóculos multicepa sobre el vigor de las plántulas de Okra en condiciones de invernadero se estudió en los siguientes tratamientos: M1 (A9, 1, 24), M2 (A9, Avm, D), M3 (A9, Avm, 24) y Testigo (Sin inóculo). El experimento se llevó a cabo en condiciones de invernadero en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México, a 19° 27' Latitud Norte y 98° 54' Longitud Oeste, con una altitud de 2245 msnm. El invernadero consiste en techos planos triangulares simétricos. El techo es de cristal con

un 70% de luminosidad y estructura metálica con ventilación a través de las ventanas frontales y laterales.

Las semillas fueron sembradas en bandejas de germinación sobre suelo extraído del poblado El Manantial, Tezontepec de Aldama, Edo. de Hidalgo, cada tratamiento fue integrado de diez semillas por tres repeticiones cada uno. El riego se realizó diariamente mediante microaspersión, al igual que el conteo de plántulas emergidas. El experimento finalizó veinte días después de la siembra, momento en el cual se inició el proceso de preparación de muestras para la evaluación de variables de vigor.

4.1.8. Análisis estadístico.

El diseño experimental utilizado para evaluar el porcentaje de germinación fue un diseño completamente al azar con 17 tratamientos, un testigo y tres repeticiones. Con los resultados se hizo análisis de varianza con un nivel de significancia de 5 % y comparación múltiple de medias con el método de Duncan con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System version 8, 1990).

4.2. Trabajo de invernadero

4.2.1. Material vegetativo

Se utilizaron semillas de Okra de la variedad Clemson Spineless 80 inoculadas con un inóculo multicepa bacteriana (A9, Avm, 24) seleccionada bajo los criterios mencionados posteriormente. La siembra en invernadero se realizó en bolsas de polietileno de 3 kg con suelo contaminado, regado durante más de cuatro décadas con aguas residuales, y suelo limpio, regado con aguas de manantial, ambos provenientes del área dominada por la Presa Endhó, en el estado de Morelos.



Figura 17. Semilla de okra variedad Clemson Spineless 80.

4.2.2. Recolección de muestras de suelo

Se recolectaron suelos de dos lotes ubicados en el Valle del Mezquital, Edo. Hidalgo, en la zona de influencia de la Presa Endhó, uno históricamente regado con aguas residuales y el otro solo con agua limpia. Se realizó un muestreo aleatorio compuesto en zigzag a las siguientes profundidades:

- 0-5cm
- 5-10 cm
- 10-40 cm

Se tomó suficiente suelo del horizonte de 0 a 40 cm del mismo punto de muestreo para llevar a cabo la fase de invernadero.



Figura 18. Margen izquierda del embalse de la presa de Endhó.

El muestreo de suelo regado históricamente con aguas residuales se obtuvo de la coordenada 20°12'21.8" latitud Norte, 99°12'42.1" longitud Oeste, en la localidad de Mixquiahuala de Juárez, Edo. Hidalgo, a 17 kilómetros del Embalse de Presa Endhó, en una parcela de 1.50 has.



Figura 20. Vista general de la parcela de muestreo de suelo regada con aguas residuales.

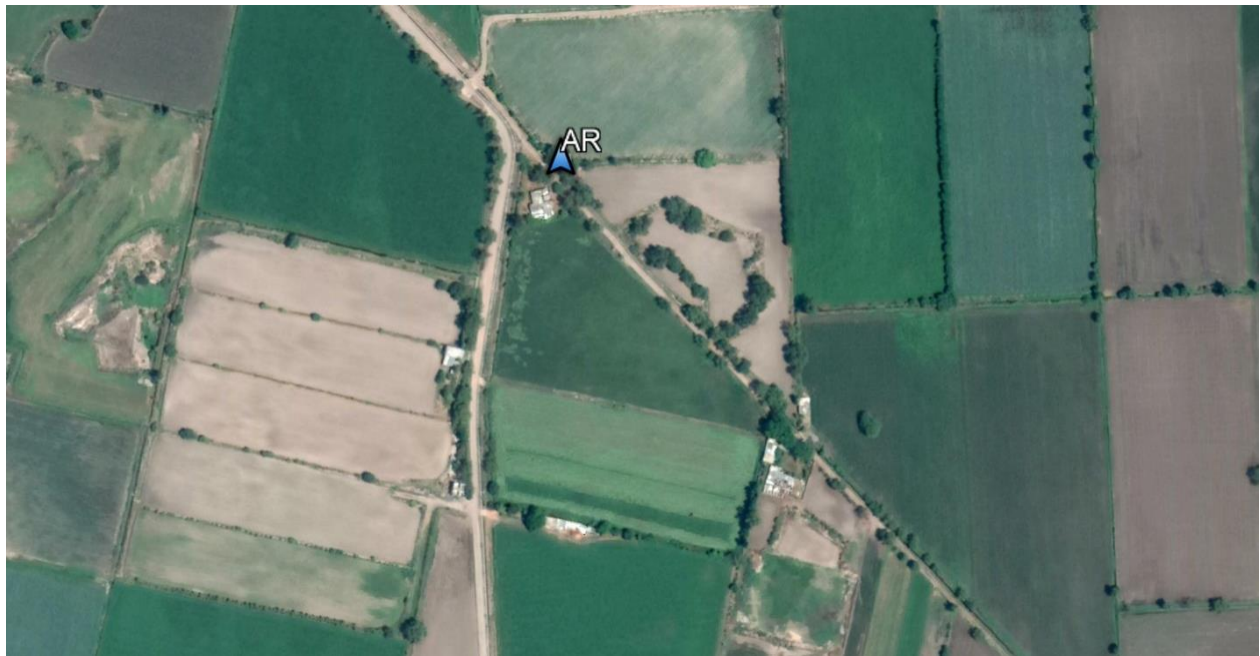


Figura 19. Vista local de la parcela de muestreo de suelo regada con aguas residuales.



Figura 22. Muestreo de suelo regado con aguas residuales.



Figura 21. Vista general de la parcela de muestra de suelo regada con agua limpia.

El muestro de suelo regado en agua de manantial, se realizó en la coordenada 20°11'35.8" latitud Norte, 99°16'49.9" longitud Oeste, ubicado en la localidad El manantial, Tezontepec de Aldama, Hidalgo, a 10 kilómetros del Embalse de Presa Endhó, en una parcela de 0.50 hectáreas.



Figura 24. Vista local de la parcela de muestra de suelo regada con agua limpia.



Figura 23. Muestreo de suelo regado con aguas limpias.

4.2.3. Selección de inóculo multicepa

Se selecciono el inóculo multicepa que expresó un porcentaje de germinación en condiciones de estrés por sulfato de cobre, emergencia y el vigor en condiciones de invernadero con medias significativamente superiores al testigo.

4.2.4. Acondicionamiento de muestras de suelo

Las muestras de suelo recolectadas de cada horizonte se integraron para formar una muestra compuesta, de la cual se extrajeron aproximadamente 400 g de suelo (tamizado con un tamiz de 20 MESH). Las seis muestras compuestas se utilizaron para realizar las siguientes determinaciones:

- Determinación de salinidad.
- Determinación de propiedades químicas de suelo.
- Determinación de metales potencialmente tóxicos.



Figura 25. Suelo tamizado con malla de 20 MESH.

4.2.5. Tratamiento solarización

El suelo utilizado para cada una de las unidades experimentales se pasó por un tamiz grueso con la finalidad de eliminar rocas y desintegrar terrones, posteriormente se aplicó un tratamiento de solarización, calentado el suelo en verano en capas de 25 centímetros sobre un plástico negro durante cuatro semanas, bajo invernadero, en el periodo de mayor radiación solar, logrando así, un incremento en la temperatura para que destruya a los agentes patógenos. Tiene buena eficacia sobre ciertos patógenos y posee, además, un efecto herbicida. Su utilización no permite aspirar a una desinfección completa del suelo, pero sí disminuir las dosis de productos químicos.



Figura 26. Preparación de suelo en fase de invernadero.

4.2.6. Análisis salinidad

Con la finalidad de caracterizar las concentraciones totales iónicas en las aguas residuales, en el Cuadro 19 se presentan los métodos analíticos para la determinación de los parámetros químicos realizados en cada una de las muestras colectadas.

Cuadro 19. Marchas analíticas utilizadas en las determinaciones químicas de las muestras de suelo extraídas del Valle del Mezquital.

Determinación	Método	Referencia
pH	Potenciométrico, con Potenciómetro marca Beckman, modelo Hoffman Pinther Boswork	(Eaton, 1950)
Conductividad Eléctrica	Conductimetría, mediante Conductímetro con puente de Wheastone con celda de vidrio	(Richards, 1973)
Residuo Seco Evaporado	Gravimetría, mediante parrilla marca Hot-Plate modelo 2200 Thermolyne	(Eaton, 1950)
Sodio y potasio	Flamometría, mediante Flamómetro IL Autocal Flame Photometer 643, $\lambda = 589 \text{ nm}$, calibrado con soluciones estándar de 145 mmolc L^{-1} para Na y de 5 mmolc L^{-1} para K	(APHA, 1995)
Calcio y magnesio	Volumétrico, mediante titulación con EDTA y Eriocromo Negro T como indicador, para Ca + Mg y Murexida para Ca	(APHA, 1995)
Carbonatos	Volumétrico, mediante titulación con ácido sulfúrico y Fenolftaleína como indicador	(APHA, 1995)
Bicarbonatos	Volumétrico, mediante titulación con ácido sulfúrico y Anaranjado de Metilo como indicador	(APHA, 1995)
Cloruros	Titulación con Nitrato de Plata y Cromato de Potasio al 5% como indicador	(APHA, 1995)
Sulfatos	Turbidimetría, mediante el Espectrofotómetro modelo Perkin Elmer 35, $\lambda = 420 \text{ nm}$	(APHA, 1995)
Boro	Espectrofotometría, mediante el Espectrofotómetro modelo Perkin Elmer 35, $\lambda = 690 \text{ nm}$, Azomethina-H	(Rhoades <i>et al.</i> , 1992)



Figura 27. Flamómetro IL Autocal Flame Photometer 643.

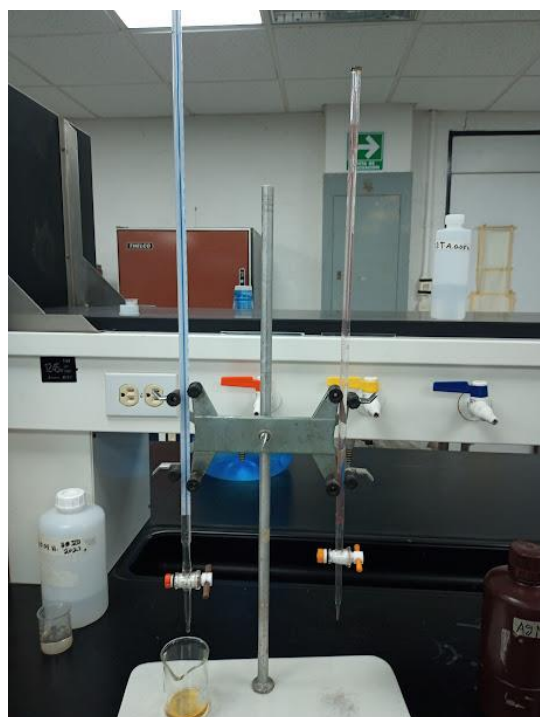


Figura 28. Titulación con EDTA y Eriocromo Negro T como indicador.



Figura 29. Determinación de residuo seco evaporado y calcinado.

4.2.7. Análisis de las propiedades química, nutrimentales, además de metales potencialmente tóxicos.

La metodología utilizada para la determinación de propiedades químicas de los diferentes estratos y tipos de suelo estudiados se presentan en el cuadro 20, con las cuales se analizaron metales potencialmente tóxicos (contaminantes), nutrientes y variables químicas relacionadas con la fertilidad de suelos (CE, pH, CIC, entre otros).

Cuadro 20. Metodología de determinación de los suelos estudiados.

Propiedad química	Método
Plomo	Determinación de contaminantes en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
Níquel	Determinación de contaminantes en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
Cobre	Determinación de micronutrientes en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
Hierro	Determinación de micronutrientes en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
Manganeso	Determinación de micronutrientes en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
Zinc	Determinación de micronutrientes en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
Cadmio	Determinación de contaminantes en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
Boro	Determinación de contaminantes en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
Calcio	Determinación de bases intercambiables (calcio, magnesio, sodio y potasio) en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
Magnesio	Determinación de bases intercambiables (calcio, magnesio, sodio y potasio) en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
Sodio	Determinación de bases intercambiables (calcio, magnesio, sodio y potasio) en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
CE	Medición con potenciómetro
M.O.	Determinación de materia orgánica por espectrofotometría en suelos
CIC	Determinación de la capacidad de intercambio catiónico por el método de sumatoria de bases
Nitratos	Determinación de nitratos en suelo por el método de Salicilato de sodio
Fosforo	Determinación de fosforo disponible por el método Olsen en suelos
Potasio	Determinación de bases intercambiables (calcio, magnesio, sodio y potasio) en suelo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)
pH	Medición con potenciómetro

4.2.8. Preparación de experimento y diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental de bloques completamente al azar con 16 tratamientos (2x4x2) en arreglo factorial con tres repeticiones. Los factores y niveles estudiados fueron: 1) suelo con dos niveles, regado con agua residual (AR) y regado con agua limpia (AL); 2) materia orgánica agregada, con cuatro niveles, 0 t ha⁻¹ (00), 25, t ha⁻¹ (25), 50 t ha⁻¹ (50) y 75 t ha⁻¹ (75); 3) cepa bacteriana, con dos niveles, sin cepa (SN), y multicepa (MI) Para los análisis de varianza y comparación de medias (Tukey, p= 0.05) se utilizaron los procedimientos ANOVA del paquete computacional estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 8.0 (SAS, 1999).

Se prepararon bolsas de polietileno con tres kilogramos de los suelos según corresponda, se utilizó vermicompost como fuente de materia orgánica. Se aplicaron cuatro dosis, donde cada bolsa con tres kilogramos se mezcló; 0.00 g, 28.86 g, 57.7 g y 86.46 g de lombricomposta equivalente a 0, 25, 50 y 75 t ha⁻¹ de materia orgánica respectivamente. En el cuadro 21, se puede observar el diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones establecido en invernadero, y la posición real de cada una de las unidades experimentales sobre el bancal donde se estableció el experimento.

Cuadro 21. Posición de cada una de las unidades experimentales en invernadero.

	1	2	3	4
1	ALSN253	ARMI003	ARMI753	ALMI253
2	ARSN253	ALMI003	ARSN503	ALMI503
3	ALSN503	ARSN003	ARMI503	ARMI253
4	ALSN003	ALSN753	ALMI753	ARSN753
5	ALMI752	ARMI502	ALMI502	ARSN252
6	ARSN752	ALSN002	ARMI752	ALSN502
7	ARMI002	ARSN502	ARSN002	ARMI252
8	ALMI002	ALSN752	ALSN252	ALMI252
9	ALSN251	ARMI501	ARSN751	ALMI501
10	ALMI751	ALSN501	ALMI001	ALSN001
11	ALMI251	ARSN001	ARMI251	ARSN501
12	ARMI751	ALSN751	ARSN251	ARMI001

Nota: Suelo regado con agua limpia (AL), suelo regado con agua residual (AR), Sin cepa (SN), con multicepa (MI), aplicación de vermicompost 0 t ha⁻¹ (00), 25, t ha⁻¹ (25), 50 t ha⁻¹ (50) y 75 t ha⁻¹ (75), el último dígito indica el número de repetición



Figura 30. Preparación de unidades experimentales en invernadero.

4.2.9. Siembra en charolas

s semillas utilizadas para el experimento llevado a cabo en el invernadero tanto inoculadas como no inoculadas fueron germinadas en charolas de germinación con el suelo correspondiente. Se colocaron los diferentes tratamientos en diferentes charolas para evitar interferencias entre un tratamiento y otro.



Figura 31. Germinación de semillas de Okra en charolas.

4.2.10. Trasplante

Pasados 20 días después de la siembra, momento en el cual las plántulas presentaron su primera hoja verdadera, se realizó el trasplante de la plántula de Okra, en su posición correspondiente dentro el diseño experimental.



Figura 32. Plántula de Okra colocada en su correspondiente maceta.

4.2.11. Riego

El riego se realizó cada cuarto día, utilizando un recipiente de medio litro para que fuera homogéneo en todas las macetas. Este procedimiento se llevó a cabo durante toda la duración del experimento en invernadero, aplicando el riego mediante una regadera para evitar la compactación del suelo.

4.2.12. Control de malezas

El control de malezas se realizó cada cinco días, durante el desarrollo del experimento, impidiendo el crecimiento de hiervas que pudieran afectar el desarrollo del cultivo.

4.2.13. Variables evaluadas

Se evaluaron 17 variables durante la duración total del experimento, de cuales dos se midieron a los 60 y 90 días después de la siembra y todas las variables a los 120 dds, es decir, al final del experimento.

Número de hojas. Se consideraron únicamente las hojas jóvenes, con una longitud mínima de 3.00 cm, realizando el conteo en cada una de las unidades experimental.

Días a floración. Se registraron los días a floración en cada una de las unidades experimentales.

Diámetro de tallo. Con un vernier se midió el diámetro del tallo en milímetros a una altura de 2 cm de la base del tallo de las plantas.

Largo de tallo. Se uso un flexómetro, se midió en centímetros desde la base del tallo principal hasta el ápice de cada una de las plantas de las unidades experimentales.

Contenido de clorofila. El contenido de clorofila se evaluó utilizando el medidor Konica Minolta SPAD 502 PLUS. La lectura se llevó a cabo en 4 hojas por cada planta de las unidades experimentales, para posteriormente obtener un promedio por unidad experimental. El reporte de los datos se realizó en unidades SPAD.

Área foliar. Para la estimación de esta variable se utilizó un integrador de área foliar modelo LI-3100 (LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA). Los datos obtenidos se reportaron en m².

Biomasa fresca de la parte aérea. Para obtener la biomasa fresca de la parte aérea se separó de la parte radicular y se pesó con una báscula analítica.

Biomasa fresca de la parte de raíz. Para obtener la biomasa fresca de la parte de raíz se separó de la parte aérea y se pesó con una báscula analítica.

Biomasa seca de la parte aérea. Para obtener la biomasa seca del tallo, éstos fueron separados y conservados en una estufa ajustada a la temperatura de 60 °C por 48 horas, hasta llegar a peso constante (Sadzawka *et al.*, 2007).

Biomasa seca de la parte raíces. Para obtener la biomasa seca de la raíz, éstos fueron separados y conservados en una estufa ajustada a la temperatura de 60 °C por 48 horas, hasta llegar a peso constante (Sadzawka *et al.*, 2007).

Biomasa fresca de fruto. Para obtener la biomasa fresca de fruto se separó de la parte aérea y se pesó con una báscula analítica.

Biomasa seca del fruto. Para obtener la biomasa seca del fruto, éstos fueron separados y conservados en una estufa ajustada a la temperatura de 60 °C por 48 horas, hasta llegar a peso constante (Sadzawka *et al.*, 2007).

Largo del fruto. Se uso un flexómetro, se midió en centímetros la longitud total de cada fruto cosechado.

Ancho del fruto. Con un vernier se midió el diámetro del fruto en milímetros al centro de este.

Número de frutos. Se llevó un registro de los frutos cosechados de cada una de las unidades experimentales.

Longitud de raíz. La longitud de raíz se midió con una cinta métrica, a partir de la base del tallo hasta la punta de la raíz principal.

Volumen radical. Para determinar el volumen radical se utilizó el método de volumen de agua desplazado por raíz en una probeta graduada (Ortiz-Texon *et al.*, 2016). La raíz fue sumergida en un volumen de agua conocido, el volumen aumentado correspondió al volumen radical.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL

5.1. Resultados etapa de laboratorio

5.1.1. Efecto del sulfato de cobre en la germinación de semilla de Okra

El porcentaje germinación de semillas de *A. esculentus* no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al testigo hasta la concentración de sulfato de cobre 10^{-2} M, sin embargo, la concentración de sulfato de cobre 10^{-1} M inhibió completamente la germinación de las semillas de Okra.

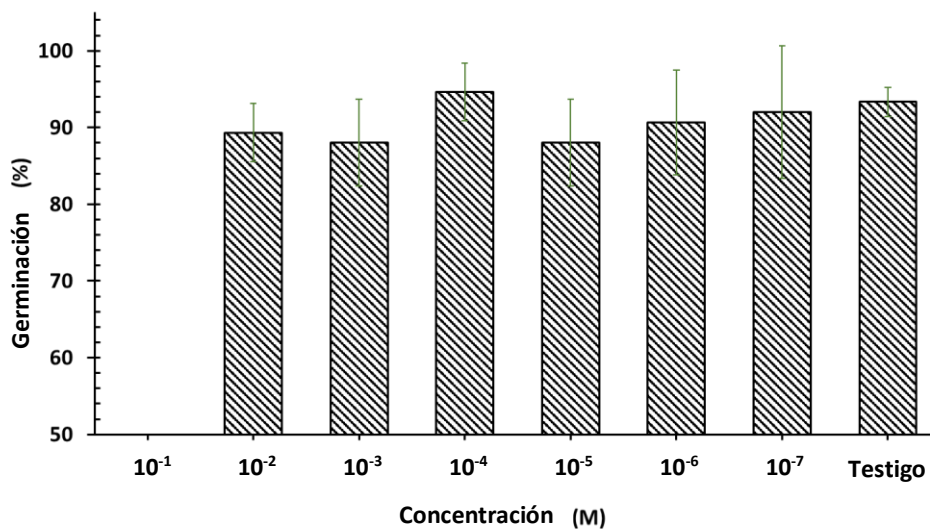


Figura 33. Germinación total de semillas de *A. esculentus* expuestas a diferentes concentraciones de sulfato de cobre.

Los resultados del presente estudio de germinación de semillas de *A. esculentus* en soluciones de CuSO_4 , demuestra la imposibilidad de germinar a concentraciones de 0.1 M (figura 33). En las plantas, el cobre interactúa con una amplia gama de procesos bioquímicos y fisicoquímicos (Draobżkiewicz *et al.*, 2004). Concentraciones elevadas de cobre en el medio, tienen efectos negativos en el crecimiento, las respuestas antioxidantes y de defensa de las plantas (Gao *et al.*, 2008). Debe indicarse que las concentraciones de cobre que promueven las actividades enzimáticas, de la serie de enzimas en las que el cobre es cofactor, se presentan en un rango de concentraciones muy estrecho. Los efectos benéficos del cobre se observan en un rango estrecho de concentraciones en el medio (Ouzounidou, 1995; Verma *et al.*, 2011) y, fuera de este,

las actividades enzimáticas se inhiben; sin embargo, a nivel de germinación, la semilla tuvo la habilidad de germinar en el amplio rango de concentraciones de cobre, que van desde 10^{-2} a 10^{-7} M y, puede considerarse que las enzimas que participan, por ejemplo, en la hidrólisis de la materia de reserva no son afectadas. Este contrasta con lo que ocurre al nivel enzimático en la planta. La germinación de semillas se ve reducida a causa de nivel excesivo de cobre al restringir la hidrólisis de la materia de reserva (almidón y sacarosa) por la inhibición de la actividad enzimática que sufren las isoenzimas alfa-amilasa e invertasa (Mir *et al.*, 2021).

Cultivos como *Lens culinaris* no presentan disminución en el porcentaje de germinación hasta concentraciones de sulfato de cobre de 0.15 M (Iqbal *et al.*, 2018), concentración 15 veces superior a la tolerada por las semillas de *A. esculentus* (0.01 M). Semillas de *Lactuca sativa* L. no tuvieron reducción en el porcentaje de germinación hasta concentraciones de CuSO_4 de 0.05 M (Shams *et al.*, 2018), pero de *Cajanus cajan* por su parte, se vio afectada negativamente a partir de concentraciones de 0.001 M (P. Sharma *et al.*, 2017). El rango de tolerancia de las semillas a germinar en medios con altas concentraciones de CuSO_4 es amplio. El cultivo de Okra según lo reportado en la literatura presenta una tolerancia moderada comparativamente con otras plantas, sin embargo, sus capacidades de hiperacumular metales potencialmente tóxicos lo hace idónea para utilizarse en procesos de fitorremediación (Ng *et al.*, 2016). Esto demuestra que la tolerancia de las semillas de Okra presentan hasta cierta concentración de sulfato de cobre, lo cual representa un área de oportunidad para aumentar dicha tolerancia mediante técnica de bioaumentación.

5.1.2. Efecto de las bacterias en la germinación de semilla de Okra

La comparación de medias no indicó diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al testigo de los tratamientos de semillas inoculadas con bacterias, si bien, aumentarla no se incluye entre los objetivos del presente trabajo, es necesario verificar que, al menos, no se presente una disminución en el porcentaje de germinación por el efecto de la inoculación de semillas.

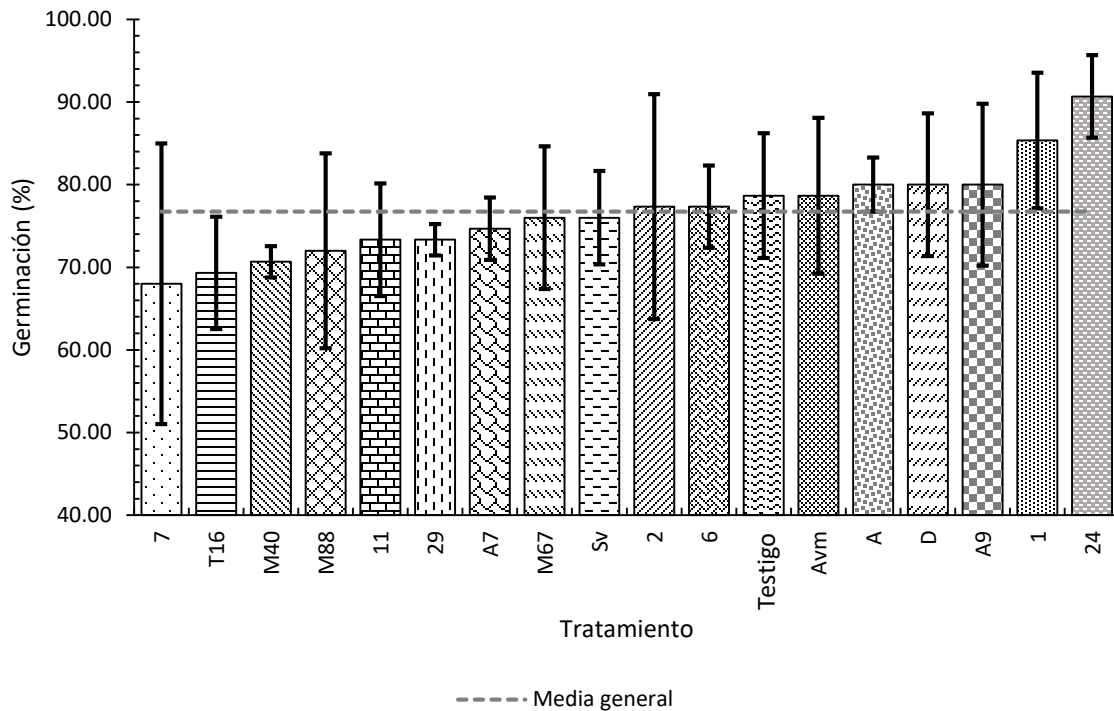


Figura 34. Efecto de la inoculación de semillas de Okra sobre el porcentaje de germinación a los siete días (media \pm desviación estándar).

El porcentaje de germinación de semillas de Okra no fue afectado significativamente mediante la inoculación de bacterias. Estudios han reportado resultados similares en cultivos como *Gossypium hirsutum* y *Solanum lycopersicum* L. (Irizarry y White, 2017; Rivera-Conde *et al.*, 2018). El presente trabajo no tiene el objetivo principal de promover la germinación por medio de la inoculación de semillas, sin embargo, es importante no tener efectos adversos como lo reportado en *Chenopodium quinoa* (Al-Barakah y Sohaib, 2019). El término rizobacteria se acuñó para referirse a las bacterias que colonizan las raíces de las plantas y promueven su crecimiento (Kloepper, 1981), las que posteriormente fueron denominadas como “rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal” (Cook, 2000), término que hace inferencia a que los efectos benéficos de la inoculación deben esperarse cuando se establece la raíz de las plantas.

5.1.3. Efecto de las bacterias sobre el vigor de plántula de Okra en condiciones de laboratorio

Como se observa en el cuadro 17, no se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al testigo en el porcentaje de germinación total, por otra parte, las variables de vigor presentaron diferencias significativas. Las plántulas de semillas inoculadas con las cepas A9 y Avm mostraron un aumento significativo (1.29 % y 0.97 % respectivamente) en el peso de biomasa seca de tallo. El peso de biomasa seca de raíz no mostró diferencias significativas en referencia a las semillas no inoculadas. La longitud de tallo de plántulas de Okra inoculadas con respecto al testigo fue afectada por la inoculación de semillas tanto de manera favorable como en el caso de la inoculación con la cepa D (12.19 %), y de forma negativa como en el caso de las cepas A y A9 (12.19 % y 14.22 % respectivamente). Los aumentos significativos en el peso biomasa seca de tallo en Okra (cuadro 22), también se ha reportado en plántulas de *Allium cepa* L. inoculadas con bacterias autóctonas con densidad de inóculo de 10^{10} UFC mL⁻¹ y un tiempo de inoculación de 20 minutos (Pellegrini *et al.*, 2021).

Cuadro 22. Efecto de la inoculación bacteriana sobre el porcentaje de germinación total y el vigor de las plántulas de Okra.

Cepa bacteriana	Germinación (%)	Vigor			
		Peso de biomasa seca (mg) **		Longitud (mm)	
		Brote	Raíz	Brote	Raíz
A	80.00 $\bar{\pm}$ 3.27 a*	103.83 $\bar{\pm}$ 0.24 ab	13.00 $\bar{\pm}$ 0.41 a	3.89 $\bar{\pm}$ 0.25 a	8.45 $\bar{\pm}$ 0.41 ab
D	80.00 $\bar{\pm}$ 8.64 a	103.83 $\bar{\pm}$ 0.47 ab	12.83 $\bar{\pm}$ 0.47 a	4.97 $\bar{\pm}$ 0.19 c	8.51 $\bar{\pm}$ 0.76 ab
A9	80.00 $\bar{\pm}$ 9.80 a	104.50 $\bar{\pm}$ 0.41 b	12.83 $\bar{\pm}$ 0.24 a	3.80 $\bar{\pm}$ 0.22 a	9.50 $\bar{\pm}$ 0.57 b
Avm	78.67 $\bar{\pm}$ 9.43 a	104.17 $\bar{\pm}$ 0.24 b	12.83 $\bar{\pm}$ 0.24 a	4.03 $\bar{\pm}$ 0.26 ab	9.20 $\bar{\pm}$ 0.21 b
1	85.33 $\bar{\pm}$ 8.22 a	104.00 $\bar{\pm}$ 0.41 ab	13.17 $\bar{\pm}$ 0.24 a	4.42 $\bar{\pm}$ 0.13 b	9.25 $\bar{\pm}$ 0.63 b
24	90.67 $\bar{\pm}$ 4.99 a	103.67 $\bar{\pm}$ 0.47 ab	13.00 $\bar{\pm}$ 0.41 a	4.19 $\bar{\pm}$ 0.19 ab	9.49 $\bar{\pm}$ 0.28 b
Testigo	78.67 $\bar{\pm}$ 7.54 a	103.17 $\bar{\pm}$ 0.24 a	12.67 $\bar{\pm}$ 0.24 a	4.43 $\bar{\pm}$ 0.12 b	7.88 $\bar{\pm}$ 0.29 a

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Todos los valores son medias ($n=3$) \pm desviación estándar. **Peso del conjunto de material vegetal de cinco plántulas.

En la figura 35 se puede observar incrementos significativos en la longitud de raíz con los inóculos A9, Avm, 1 y 24 de 20.56 %, 16.75 %, 17.39 % y 20.43 % respectivamente con respecto al testigo. Características deseables para aumentar el área de absorción nutrientes de las plantas.

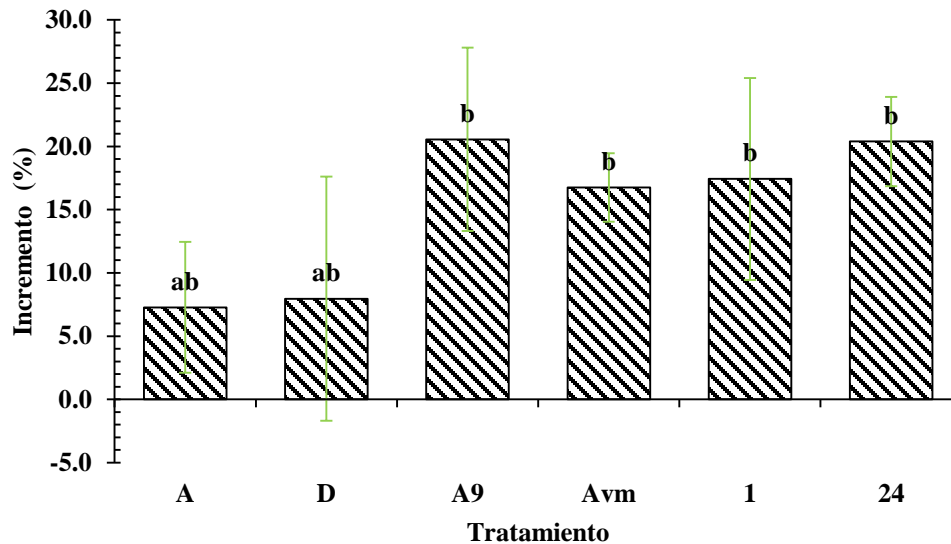


Figura 35. Diferencias porcentuales en la longitud de las raíces de las semillas inoculadas indicadas con respecto al testigo (7,88 mm \pm 0,29, a). Las medias con una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Todos los valores son medias de las diferencias porcentuales con respecto al testigo ($n=3$) \pm DE.

El estudio de vigor del presente trabajo no proporcionó una fuente de nutrientes durante el desarrollo de las plántulas de Okra, si bien, se presentó un aumento del 20 % en la longitud de raíz, los tratamientos correspondientes tuvieron una reducción en la longitud de tallo cercana al 14 % (cuadro 22). Hay alteraciones comparables en la arquitectura de la raíz de Okra al estar inoculada con *B. amyloliquifaciens* (Irizarry y White, 2017), además resultados similares se han encontrado en *S. lycopersicum* L, con semillas inoculadas con bacterias autóctonas con un tiempo de contacto de 96 horas (Cabra-Cendales *et al.*, 2017). Esto es posible por efecto de biosíntesis de AIA (ácido indol-3-acético) por parte de *P. fluorescente*, la cual funge como promotor del crecimiento de raíces al estimular la división y elongación celular, aumentando así la capacidad de adquisición de nutrientes (Rivera-Conde *et al.*, 2018).

5.1.4. Efecto de inóculos multicepa en la germinación de semillas de Okra en condiciones de estrés por sulfato de cobre

En la figura 36 se observa los resultados del porcentaje de germinación total de semillas de Okra en condiciones de estrés (solución de sulfato de cobre a 0.05 M), se presenta un porcentaje de germinación total de 53.3 % significativamente inferior al que genera la germinación de estas semillas en un medio estéril con agua destilada (80.0 %). El tratamiento T3 (multicepa A9, Avm, 24) que presentó un porcentaje de germinación de 73.3 % es significativamente superior al testigo de semillas germinadas en solución de sulfato de cobre a 0.05 M (Test1), siendo estadísticamente similar al valor de las semillas germinadas en agua destilada (Test2), por lo tanto, lo hace un tratamiento eficiente para aumentar la tolerancia de las semillas de Okra a concentración de sulfato de cobre mayores a 10^{-2} M.

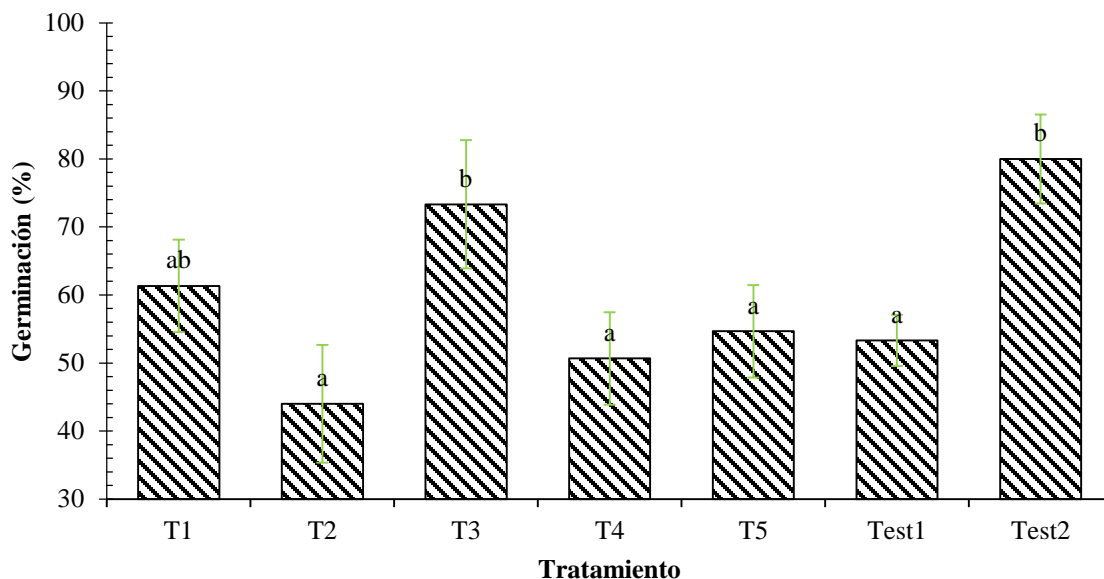


Figura 36. Efecto de la inoculación con bacterias (multicepas) sobre el porcentaje de germinación de las semillas de Okra expuestas al estrés de sulfato de cobre (0,05 M), según los siguientes tratamientos T1 (A9, Avm, 1, 24), T2 (A9, Avm, 1), T3 (A9, Avm, 24), T4 (A9, 1, 24), T5 (Avm, 1, 24), Test1 (Sin inóculo), Test2 (Sin inóculo y germinación en agua destilada). Las medias con una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Todos los valores son medias de las diferencias porcentuales con respecto al testigo ($n=3$) \pm DE.

5.1.5. Efecto de inóculos multicepa en las semillas de Okra en la emergencia y vigor en condiciones de invernadero

En el cuadro 23 se observa que el tratamiento multicepa M3 (A9, Avm, 24) presentó las mayores diferencias significativas favorables en el porcentaje total de emergencia, peso de biomasa seca de tallo, peso de biomasa seca de raíz, longitud de tallo y longitud de raíz de plántula con respecto al testigo que no fue inoculado, siendo estos incrementos del 34.9 %, 5.5 %, 10.5 %, 15.1 % y 19.6 % respectivamente. Por su parte el tratamiento M2 obtuvo resultados que aumentan variables de vigor y emergencia en menor medida. De manera contraria el tratamiento M1 tuvo respuestas desfavorables significativas en comparación al testigo en tiempo medio de emergencia y peso de biomasa seca de tallo (11.0 % y 4.8 % respectivamente). Resultados que demuestran que es posible a nivel de invernadero promover y acelerar desarrollo del cultivo de Okra mediante inóculos multicepa, sin embargo, una inadecuada selección de cepas bacterianas en la aplicación de la presente técnica puede producir efectos adversos en el cultivo, es ahí donde recae la importancia de generar un método eficiente para lograr los resultados esperados a nivel de campo.

Un aumento en la tolerancia de plantas a germinar en condiciones de estrés a causa del efecto de inóculos multicepa se reportan en cultivos como maíz expuesto a alta salinidad (Zahir *et al.*, 2019). Otros estudios reportan que la mezclas multicepa con bacterias inducen la tolerancia de las plantas a factores abióticos, a pesar de que los aislamientos individuales al probarse no lo presentaron (Thomloudi *et al.*, 2019). Lo anterior sigue la tendencia de los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación (figura 34), al reportarse una promoción en el porcentaje de germinación de semillas de Okra cuando están bajo estrés por CuSO_4 , inclusive llegando a porcentajes similares a los encontrados cuando germinan sin CuSO_4 .

Los aumentos en el porcentaje de emergencia de plántulas de Okra (cuadro 23), así como los efectos benéficos en el vigor general, cuando estas son tratadas con inóculos multicepa y plantadas en suelo no estéril, se ha reportado en otros cultivos, generalmente relacionados con la mejora del suministro de nutrientes (fijación asociativa de nitrógeno, solubilización de fosfato, etc.), la modulación del equilibrio hormonal de la planta

(producción de auxinas, citoquininas, óxido nítrico (NO), defensa vegetal mejorada contra enfermedades bacterianas y fungosas, entre otros (Emami *et al.*, 2019; Vacheron *et al.*, 2016). La reducción en el vigor de plántulas y emergencia en el tratamiento M1 (cuadro 18), se ha presentado en *Arabidopsis thaliana*, al ser inoculadas con multicepas de bacterias al disminuir peso de raíz y tallo, determinándose que la multicepa utilizada era incompatible *in vitro* (Pangesti *et al.*, 2017).

Cuadro 23. Efecto de la inoculación bacteriana sobre el vigor de las plántulas de Okra durante el cultivo en la bandeja de germinación (20 días después de la siembra). Composición del inóculo: M1 (A9, 1, 24), M2 (A9, Avm, D), M3 (A9, Avm, 24) y testigo (sin inóculo).

Inoculo	Emergencia (%)	T ₅₀ (Días)	Vigor			
			Peso de biomasa seca (mg) **		Longitud (mm)	
			Brote	Raíz	Brote	Raíz
M1	53.33 ± 9.43 a*	9.56 ± 0.48 b	46.19 ± 0.21 a	14.29 ± 0.09 a	8.65 ± 0.47 a	6.41 ± 0.63 ab
M2	80.00 ± 0.00 bc	8.67 ± 0.21 a	49.89 ± 0.05 b	14.77 ± 0.06 b	9.72 ± 0.36 b	6.83 ± 0.26 b
M3	90.00 ± 8.16 c	8.40 ± 0.11 a	51.25 ± 0.18 c	16.17 ± 0.08 c	9.91 ± 0.16 b	6.83 ± 0.02 b
Testigo	66.67 ± 9.43 ab	8.61 ± 0.16 a	48.54 ± 0.16 d	14.63 ± 0.32 ab	8.61 ± 0.25 a	5.71 ± 0.25 a

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Todos los valores son medias ($n=3$) ± DE.

Las plántulas de Okra germinadas en bandejas (figura 35) presentaron una mayor uniformidad y longitud de tallo con el tratamiento M3 (9.91 mm) con respecto al testigo (8.61 mm), seguido por el tratamiento M2 (9.72 mm). La media de longitud de tallo del tratamiento M1 (8.65 mm) expresa diferencias con respecto a los tratamientos M2 y M3, no teniendo diferencias significativas con respecto al testigo.



Figura 37. Vigor de las plántulas de Okra en bandejas de germinación (20 días después de la siembra) con los siguientes tratamientos M1 (A9, 1, 24), M2 (A9, Avm, D), M3 (A9, Avm, 24) y testigo (Sin inóculo).

5.2. Resultados etapa de invernadero

5.2.1. Caracterización de suelo

Se utilizaron dos tipos de suelo en el presente trabajo de investigación, uno regado con aguas residuales y otro regado con agua limpia. El suelo regado con aguas residual, se presentó una textura arcillosa y el suelo regado con agua limpia presentó una textura franco arenoso, con un pH medianamente alcalino en ambos casos, siendo más alcalino el suelo regado con agua limpia. La conductividad eléctrica fue más alta de igual manera en el suelo regado con agua limpia, al igual que el contenido de nitrato y el contenido fósforo, con excepción del potasio siendo ligeramente superior en el suelo regando con agua residual. Además, el suelo regado con aguas limpias presentó un mayor porcentaje de materia orgánica y capacidad de intercambio catiónico (ver Cuadro 24).

Cuadro 24. Propiedades químicas y de fertilidad de los perfiles de los suelos estudiados.

Prof. cm	pH	CE dS/m	MO %	CIC cmol+/kg	Nitratos mg/kg	Fósforo mg/kg	Potasio cmol+/kg
Suelo regado con agua limpia							
0-5	8.47	0.50	5.55	32	44.38	256.30	2.10
5-10	8.61	0.44	5.00	32	29.24	233.30	1.99
10-40	8.59	0.47	3.39	30	26.82	173.90	1.69
Suelo regado con agua residual							
0-5	8.38	0.34	3.95	35	14.53	65.50	2.12
5-10	8.51	0.35	4.00	36	13.69	62.10	1.79
10-40	8.56	0.34	3.33	37	12.10	53.20	1.96

Nota: pH: potencial de hidrógeno, CE: conductividad eléctrica, MO: materia orgánica, CIC: capacidad de intercambio catiónico

Con base a las referencias de interpretación de la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, en los diferentes horizontes de suelo analizados cuando este fue regado con agua limpia los niveles de nitratos son altos, a diferencia con el suelo regado con agua residuales los niveles de nitratos son bajos. Nutrientes como el fósforo, el potasio y CIC se presentan en ambos casos en niveles altos.

Cuadro 25. Determinación de metales (Mg, Ca y Na) y metales potencialmente tóxicos (Pb, Ni, Cd, Cu, B, Fe, Mn y Zn) en los perfiles de los suelos estudiados.

Prof. cm	Pb	Ni	Cu	Fe	Mn	Zn	Cd	B	Ca	Mg	Na
	mg kg ⁻¹							cmol+ kg ⁻¹			
Suelo regado con agua limpia											
0-5	1.22	0.46	0.88	5.67	2.41	4.53	0.14	5.60	20.80	7.41	0.96
5-10	1.17	0.46	0.85	5.77	1.83	4.10	0.13	5.65	20.70	7.18	1.30
10-40	1.01	0.42	0.76	5.93	1.71	3.46	0.11	4.18	20.00	6.58	1.25
Suelo regado con agua residual											
0-5	3.28	1.56	2.28	3.28	1.68	8.77	0.22	4.78	24.10	6.87	1.33
5-10	3.27	1.52	2.36	3.36	1.42	9.00	0.22	5.02	24.80	6.57	1.79
10-40	3.52	1.40	2.21	2.90	1.63	7.79	0.23	5.20	26.30	6.55	1.96

De acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, muestreo y análisis, los niveles de las concentraciones plomo, níquel y cadmio en los dos tipos de suelos estudiados son

normales. Sin embargo, es importante indicar que las concentraciones de estos elementos potencialmente tóxicos catalogados como contaminantes en la norma antes indicada, son de dos a tres veces superiores en los suelos regados históricamente con aguas residuales en comparación con los suelos regados con aguas limpias de manantial, es decir, existe un incremento de las concentraciones de metales potencialmente tóxicos y el riego con aguas residuales.

Del grupo de micronutrientes cobre, manganeso y zinc en ambos tipos de suelo se presentan en concentraciones adecuadas, por su parte, las concentraciones de hierro se determinaron como marginales en las muestras de suelo regados con aguas residuales, en todos los estratos estudiados. Las concentraciones de boro y sodio son muy altas en los suelos regados con aguas residuales en las muestras extraídas de 5 a 10 centímetros de profundidad y en suelo regado con agua limpia en las muestras tomas de 10 a 40 centímetros de profundidad.

Cuadro 26. Composición iónica de los diferentes estratos de los suelos estudiados.

Prof. (cm)	pH	CE	Concentración (meq L ⁻¹)									
		mmhos cm ⁻¹	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Na ⁺¹	K ⁺¹	Suma	CO ₃ ⁻²	HCO ₃ ⁻¹	Cl ⁻¹	SO ₄ ⁻²	Suma
Método pasta saturara												
Suelos regados con agua limpia												
0-5	7.78	1.499	3.40	4.34	6.30	2.52	16.56	0.00	10.76	2.70	2.89	16.35
5-10	7.90	1.488	3.40	2.93	6.80	2.03	15.16	0.00	9.75	2.75	2.69	15.19
10-40	7.80	1.477	3.10	3.90	6.00	1.94	14.94	0.00	10.70	1.80	2.51	15.01
Suelos regados con agua residual												
0-5	7.80	0.954	2.50	2.20	4.60	0.53	9.83	0.00	7.40	1.60	1.07	10.07
5-10	8.00	0.992	2.30	2.03	5.60	0.59	10.52	0.00	7.50	1.70	1.30	10.50
10-40	7.91	1.003	2.50	2.08	5.60	0.42	10.60	0.00	7.50	1.75	1.20	10.45
Método proporción 01:05												
Suelos regados con agua limpia												
0-5	7.72	0.312	0.68	0.87	1.26	0.50	3.31	0.00	2.15	0.54	0.58	3.27
5-10	7.82	0.277	0.68	0.59	1.36	0.40	3.03	0.00	1.95	0.55	0.54	3.04
10-40	7.69	0.266	0.62	0.78	1.20	0.40	3.00	0.00	2.14	0.36	0.50	3.00
Suelos regados con agua residual												
0-5	7.48	0.218	0.50	0.48	0.92	0.11	2.01	0.00	1.48	0.32	0.21	2.01
5-10	7.53	0.227	0.46	0.41	1.12	0.11	2.10	0.00	1.50	0.34	0.26	2.10
10-40	7.56	0.238	0.50	0.42	1.12	0.08	2.12	0.00	1.60	0.35	0.24	2.19

Nota: Pasta saturada (PS), Relación uno a cinco (01:05).

En base al cuadro 26, el suelo es ligeramente salino y medianamente alcalino en todos los casos estudiados, siendo mayormente salino en suelo regados con agua limpia. Sin embargo, en ambos casos, los niveles de salinidad son suficientes para empezar a afectar algunos cultivos.

Cuadro 27. Composición del residuo seco evaporado y calcinado (ppm) de los diferentes estratos de los suelos estudiados.

Prof. (cm)	Concentración (ppm)	
	RSE	RSC
Método pasta saturara		
Suelos regados con agua limpia		
0 -5	1336	724
5-10	1300	660
10-40	1316	676
Suelos regados con agua residual		
0 -5	772	440
5-10	768	496
10-40	741.7	429.2
Método proporción 01:05		
Suelos regados con agua limpia		
0 -5	316	124
5-10	268	100
10-40	204	72
Suelos regados con agua residual		
0 -5	256	96
5-10	200	92
10-40	208	92

Nota: Residuo seco evaporado (RSE), Residuo seco calcinado (RSC)

Los sólidos totales disueltos y sales solubles analizadas en las muestras de suelo son congruentes con las determinaciones de conductividad eléctrica, aproximadamente el 50 % de los sólidos totales disueltos corresponden a materia orgánica. Las sales solubles son hasta 30 % superiores en suelos regados con aguas limpias de manantial en comparación a suelos regados con aguas residuales.

5.2.2. Mediciones 60, 90, 120 días después de la siembra

En el cuadro 28 se pueden observar diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el factor tipo de suelo a partir de las mediciones realizadas 60, 90 y 120 días después de la siembra, reportando mayor longitud de tallo en los tratamientos donde se utilizó suelo regado históricamente con agua de manantial, siendo superior con respecto a las plantas cultivadas en suelos regando con agua residuales un 43.53 %, 27.13 % y 21.26 % en las mediciones realizadas 60, 90 y 120 días después de la siembra respectivamente.

Por su parte, el factor inoculo presento diferencias significativas a partir de las mediciones realizadas 90 días después de la siembra, siendo las plantas de Okra cuyas semillas fueron inoculadas con multicepas las que mayor longitud de tallo expresaron con respecto a las que no fueron inoculadas, siendo superior en 8.90 % y 9.24 % en la toma de datos que se hicieron 90 y 120 días después de la siembra correspondientemente. Efectos similares se ha reportado en *A. esculentus* con semillas inoculas con multicepas (Ekundayo, 2018), dicho comportamiento también se ha observado en cultivos como tomate, maíz y alfalfa (Azeem *et al.*, 2022; Jafari *et al.*, 2018; Salehin *et al.*, 2021). El factor vermicomposta en todos los niveles evaluados, según el análisis estadístico, no tiene efectos sobre la longitud del tallo (ver figura 38).

cuadro 28. evaluación de la longitud del tallo del cultivo de okra en distintos periodos, con diferentes factores y niveles.

Factores y niveles	Longitud (cm)					
	60 dds		90 dds		120 dds	
Tipo de suelo						
Suelo regado con agua limpia	23.08	a*	30.08	a	44.37	a
Suelo regado con aguas residuales	16.08	b	23.66	b	36.62	b
Inóculo						
Multicepa	20.58	a	28.04	a	42.29	a
Sin cepa	18.58	a	25.71	b	38.71	b
Vermicomposta						
0 t ha ⁻¹	18.75	a	25.75	a	38.17	a
25 t ha ⁻¹	18.75	a	26.00	a	40.83	a
50 t ha ⁻¹	20.42	a	29.25	a	41.08	a
75 t ha ⁻¹	20.42	a	26.50	a	41.92	a

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).



Figura 38. Aspecto de las plantas de Okra desarrolladas en invernadero de donde fueron obtenidas las longitudes del tallo y diámetro de tallo, 60 días después de la siembra.

En el siguiente cuadro se reporta el efecto de diferentes niveles (tipo de suelo, inoculación con multicepa y aplicación de vermicomposta como fuente de materia orgánica) sobre el diámetro de tallo de la planta de Okra, en tres diferentes mediciones después de la siembra. Las plantas cultivadas en suelo regado con agua limpia formaron tallos con diámetros superiores a las cultivadas en suelo regado con agua residual, en un 35.56 %, 21.86 % y 17.81 % en las mediciones realizadas a 60, 90 y 120 días después de la siembra.

Efectos similares se reportan en plantas que fueron inoculadas con multicepa, siendo los diámetros de tallo de estas plantas superiores a las que no fueron inoculadas en un 27.36 %, 19.43 % y 15.22 % en las mediciones realizadas 60, 90 y 120 días después de la siembra

correspondientemente. El aumento del diámetro del tallo de plantas cuyas semillas han sido inoculadas con una cepa o multicepas, se ha presentado en otros cultivos con el tomate y *Morus alba* (Bécquer *et al.*, 2021; Zulueta-Rodríguez *et al.*, 2020), como se ha establecido anteriormente las bacterias promotoras del crecimiento tiene este efecto, cuando la relación de planta y bacteria es la adecuada, algunos otros estudios no reportan este tipo de efectos en las plantas de jamaica inoculadas (Gardezi *et al.*, 2022), esto se puede deber a que la relación entre especies, no es la correcta, como lo ha demostrado por Stolp *et al.*, (1965). La aplicación de vermicomposta como fuente de materia orgánica en los distintos tratamientos no tiene un efecto determinante en el diámetro de tallo de plantas de Okra.

Cuadro 29. Evaluación del diámetro de tallo del cultivo de Okra en distintos periodos, con diferentes factores y niveles.

Factores y niveles	Diámetro (mm)					
	60 días		90 días		120 días	
Tipo de suelo						
Suelo regado con agua limpia	2.63	a*	3.40	a	4.43	a
Suelo regado con aguas residuales	1.94	b	2.79	b	3.76	b
Inóculo						
Multicepa	2.56	a	3.38	a	4.39	a
Sin cepa	2.01	b	2.83	b	3.81	b
Vermicomposta						
0 t ha ⁻¹	1.98	a	2.76	a	3.87	a
25 t ha ⁻¹	2.08	a	3.02	ab	4.12	a
50 t ha ⁻¹	2.48	a	3.17	ab	4.10	a
75 t ha ⁻¹	2.61	a	3.45	b	4.32	a

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

5.2.3. Días a floración

En el cuadro que se presenta a continuación se puede observar una diferencia significativa en los días a floración, relacionado con el factor tipo de suelo. Las plantas de Okra cultivadas en suelo regado con agua limpia son las que presentan menos días a floración con respecto a las que han sido cultivadas en suelo regado con aguas residuales, siendo esta diferencia del 3.04 %. En la figura 39, se presentan la primera floración de las plantas de Okra en el experimento, en la cual se puede identificar que la floración de

esta especie es axilar, solitaria y de color entre blanco y amarillo. Investigaciones recientes han demostrado que las bacterias promotoras del crecimiento intervienen de manera favorable y directa en el crecimiento de las plantas al mejorar la disponibilidad de nutrientes, la regulación de fitohormonas e inducir indirectamente la resistencia sistémica a factores abióticos (Etesami, 2020), en la presente investigación no se ha observado este efecto. Sin embargo, factores abióticos, como la salinidad, el estrés hídrico y la disponibilidad de nutrientes, principalmente nitrógeno, modifican significativamente los días a floración de un determinado cultivo, resultados comparativamente similares a los expuestos en cuadro 30, donde se presenta el efecto del tipo suelo sobre los días a floración, son reportados por Lopes *et al.*, (2021).

Cuadro 30. Evaluación de los días a floración del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

Días a floración (días)		
Factores y niveles		
Tipo de suelo		
Suelo regado con agua limpia	71.33	a*
Suelo regado con aguas residuales	73.5	b
Inóculo		
Multicepa	72.08	a
Sin cepa	72.75	a
Vermicomposta		
0 t ha ⁻¹	71.50	a
25 t ha ⁻¹	72.67	a
50 t ha ⁻¹	73.17	a
75 t ha ⁻¹	72.33	a

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).



Figura 39. Floración de plantas de okra en invernadero.

5.2.4. Determinación a 120 días

En el cuadro 31, se presenta el análisis estadístico de las variables biomasa fresca, de fruto, parte aérea y raíz en función a los factores tipo de suelo, inoculación y aplicación de materia orgánica. En los tres factores antes mencionados se encontraron diferencias significativas.

La biomasa fresca de fruto, parte aérea y de raíz son superiores en las plantas que se han desarrollado en suelo regado con agua limpia, siendo superior en pesos fresco de fruto en un 78.97 %, en peso fresco de parte aérea en un 90.00 % y en peso fresco de raíz en un 60.61 %. La misma tendencia se presenta con el factor inoculación, existiendo un efecto favorable en las plantas cuya semilla fue inoculada con multicepas con respecto a las que no fueron inoculadas, siendo estas diferencias del 28.19 %, 38.46 % y 34.97 % en peso de biomasa fresca de fruto, parte aérea y raíz respectivamente.

Con lo que respecta al peso fresco de fruto y su relación a los diferentes niveles de materia orgánica aplicados, se presenta un beneficio estadísticamente significativo óptimo a una dosis de 25 t ha⁻¹, siendo 16.01 % superior con respecto a las plantas que

fueron cultivadas en suelo donde no se agregó materia orgánica. Con la finalidad de disminuir alteraciones en el experimento, debido al manejo agronómico de la fase experimental se realizaron inspecciones cada 15 días, se puede observar en la figura 40.

Cuadro 31. Evaluación de la biomasa fresca del fruto, parte aérea y raíz en el cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

Factores y niveles	Biomasa fresca (g)					
	Fruto		Parte aérea		Raíz	
Tipo de suelo						
Suelo regado con agua limpia	6.64	a*	6.90	a	3.10	a
Suelo regado con aguas residuales	3.71	b	3.63	b	1.93	b
Inóculo						
Multicepsa	5.82	a	6.12	a	3.01	a
Sin cepa	4.54	b	4.42	b	2.23	b
Vermicomposta						
0 t ha ⁻¹	4.62	a	4.47	a	2.16	a
25 t ha ⁻¹	5.36	b	5.57	b	2.66	b
50 t ha ⁻¹	5.52	b	5.53	b	2.74	bc
75 t ha ⁻¹	5.22	ab	5.51	b	2.92	c

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).



Figura 40. Inspección de experimento de invernadero.

En la figura 41, se puede observar el proceso de preparación y etiquetado de muestras, para su posterior secado y determinación de peso de biomasa seca, datos con los cuales

se construyó el siguiente análisis estadístico de las variables biomasa seca de fruto, parte aérea y raíz en función de los tres factores evaluados en el experimento de invernadero (cuadro 32). En los tres factores estudiados se encontraron diferencias significativas.

La biomasa seca del fruto, parte aérea y de raíz son superiores en las plantas que se han desarrollado en suelo regado con agua limpia, siendo superior en pesos seco de fruto en un 69.85 %, en peso seco de parte aérea en un 83.18 % y en peso seco de raíz en un 69.44 %.

La misma tendencia se presenta con el factor inoculación, existiendo un efecto favorable en las plantas cuya semilla fue inoculada con multicepas con respecto a las que no fueron inoculadas, siendo estas diferencias del 26.54 %, 35.29 % y 26.74 % en peso de biomasa seca de fruto, parte aérea y raíz respectivamente. La promoción del desarrollo vegetal de plantas cuyas semillas han sido inoculadas con rizobacterias ha sido apoyada por múltiples estudios científicos, por lo cual, son congruentes los resultados obtenidos en la presente investigación y reportados en el cuadro 32, con respecto a la biomasa seca de fruto, parte área y raíz y su relación con la inoculación de semillas de Okra con una multicepa (Aguirre-Medina y Moreno-Espinosa, 2016).

En el análisis del peso seco de fruto y su relación a los diferentes niveles de materia orgánica aplicados, se presenta un beneficio estadísticamente significativo óptimo a una dosis de 25 t ha⁻¹, siendo 15.75 % superior con respecto a las plantas que fueron cultivadas en suelo donde no se agregó materia orgánica. Por su parte, el enriquecimiento de materia orgánica de suelos mediante la aplicación de diferentes dosis de vermicomposta, aún no ha sido contrastada. En este tema, se obtienen resultados favorables a partir de dosis 25 t ha⁻¹ de vermicomposta, para dosis superiores el incremento sobre biomasa seca del fruto, parte aérea y raíz no es significativamente superior a la dosis antes mencionada, pero sí con respecto a tratamiento donde no se ha agregado materia orgánica, en este sentido, se ha obtenido resultados similares en pepino (Sallaku *et al.*, 2009).

Cuadro 32. Evaluación de la biomasa seca del fruto, parte aérea y raíz en el cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

Factores y niveles	Biomasa seca (g)					
	Fruto		Parte aérea		Raíz	
Tipo de suelo						
Suelo regado con agua limpia	2.31	a*	2.07	a	1.22	a
Suelo regado con aguas residuales	1.36	b	1.13	b	0.72	b
Inóculo						
Multicepa	2.05	a	1.84	a	1.09	a
Sin cepa	1.62	b	1.36	b	0.86	b
Vermicomposta						
0 t ha ⁻¹	1.65	a	1.40	a	0.81	a
25 t ha ⁻¹	1.91	b	1.66	b	1.00	b
50 t ha ⁻¹	1.94	b	1.68	b	1.02	b
75 t ha ⁻¹	1.84	ab	1.67	b	1.07	b

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).



Figura 41. Preparación y etiquetado de muestras para secado en estufa.

Se ha determinado que la longitud de raíz de las plantas de Okra es diferente en función a tipo de suelo, inóculo y dosis de materia orgánica, como se pudo observar en el cuadro 33. Por lo que respecta al factor tipo de suelo la diferencia en longitud de raíz entre los dos tipos de suelo es del 58.99 %, presentándose la mayor longitud en las plantas

cultivadas en suelo regado históricamente con agua limpia de manantial. En el factor inoculo esta diferencia en longitud de raíz es del 86.06 %, teniendo un efecto favorable en aquellas plantas que fueron cultivadas a partir de semillas inoculadas con multicepa, promoviendo raíces con un volumen de exploración mayor en comparación con las que no fueron inoculadas de ninguna manera con bacterias promotoras del crecimiento. El desarrollo del sistema radicular de las plantas inoculadas con rizobacterias se ha estudiado en maíz, sorgo y trigo, cultivos en los cuales se ha reportado un aumento en la longitud de raíz (Grover *et al.*, 2021), este efecto en las características de las raíces da como resultado una mejora significativa en el funcionamiento del sistema de raíces y finalmente en aumento de rendimiento, al generar mayor peso en la parte aérea de los cultivos y mayor peso de fruto y/o grano.

La aplicación de materia orgánica mediante vermicomposta también tiene un efecto positivo al promover la longitud de las raíces de Okra, todos los niveles evaluados de este factor presentan diferencias significativas, la tendencia es directamente proporcional, es decir, a mayor materia orgánica agregada al suelo, mayor fue la longitud de raíces que alcanzaron las plantas de Okra. Las plantas cultivadas en suelo con dosis de 75 t ha⁻¹ de vermicomposta tuvieron longitudes de raíz 43.71 % superiores a las que fueron cultivadas en suelo sin adición de materia orgánica.

Cuadro 33. Evaluación de la longitud de raíz del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

LONGITUD (cm)		
Factores y niveles		
Tipo de suelo		
Suelo regado con agua limpia	33.15	a*
Suelo regado con aguas residuales	20.85	b
Inóculo		
Multicepa	35.13	a
Sin cepa	18.88	b
Vermicomposta		
0 t ha ⁻¹	21.41	a
25 t ha ⁻¹	26.98	b
50 t ha ⁻¹	28.87	c
75 t ha ⁻¹	30.77	d

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

En la figura 43 se puede observar el procedimiento de medición de volumen radical, la tendencia de los resultados obtenidos mediante el análisis estadístico es similar a los obtenidos en la variable longitud de tallo. Los resultados revelan que el volumen radical de las plantas de Okra es diferente en función a tipo de suelo, inoculo y dosis de materia orgánica, como se puede observar en el cuadro 34. Al analizar el factor tipo de suelo la diferencia en volumen radical entre los dos tipos de suelo es del 15.45 %, presentándose el mayor volumen en las plantas cultivadas en suelo regado históricamente con agua limpia de manantial.

En el factor inóculo la diferencia en el volumen radicular es del 18.56 %, teniendo un efecto positivo en aquellas plantas de Okra que fueron cultivadas a partir de semillas inoculadas con multicepa en comparación con las que no han sido inoculadas con cepas bacterianas. En la figura 40 se muestra gráficamente estos efectos, tanto del factor tipo de suelo, así como de la inoculación mediante multicepa. El aumento del volumen radical por el efecto de rizobacterias se ha reportado en investigaciones en cultivos como *A. esculentus* L. (Okra), *L. esculentum* L. (tomate) y *Amaranthus* sp. (Adesemoye y Ugoji, 2009).

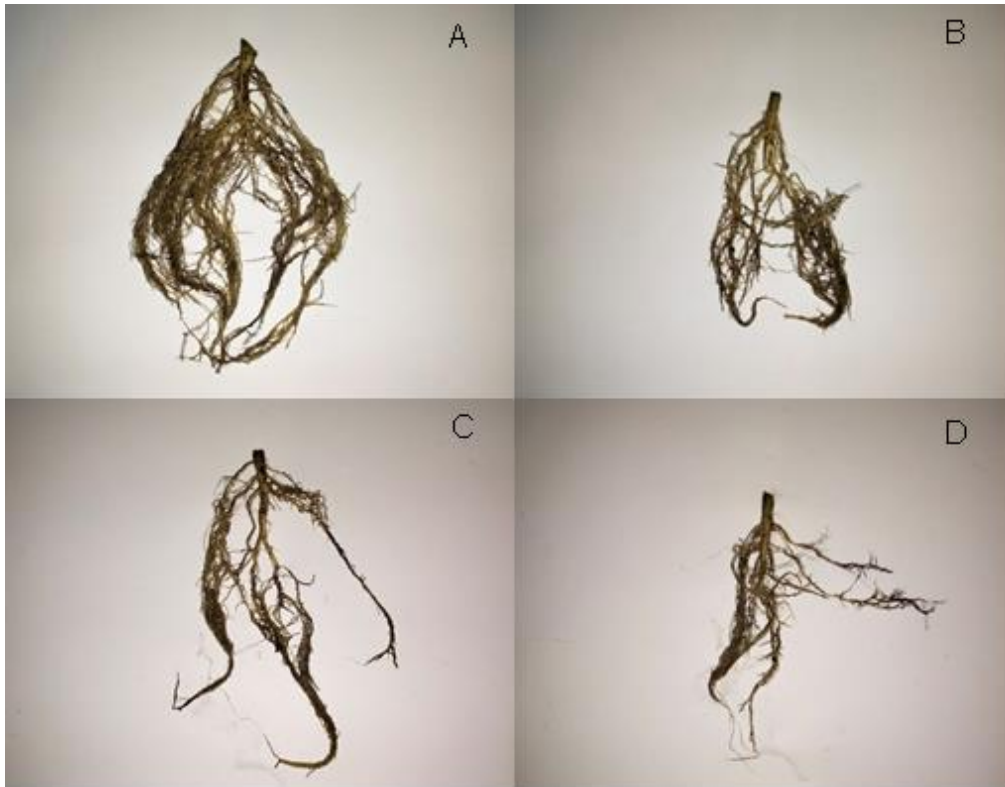


Figura 42. Sistema radicular de plántulas en Okra, 120 días después de la siembra en invernadero. A) Cultivo en suelo regado con agua limpia y semilla inoculada B) Cultivo en suelo regado con agua limpia y semilla no inoculada C) Cultivo en suelo regado con agua residual y semilla inoculada B) Cultivo en suelo regado con agua residual y semilla no inoculada.

La aplicación de materia orgánica tiene un efecto significativamente diferente al promover el volumen de las raíces de Okra, todos los niveles evaluados de este factor provocan un mayor volumen radical, siendo mayor a mayor dosis de materia orgánica agregada al suelo. Las plantas cultivadas en suelo con dosis de 75 t ha^{-1} de vermicomposta tuvieron longitudes de raíz 17.38 % superiores a las que fueron cultivadas en suelo sin adición de materia orgánica.

Cuadro 34. Evaluación del volumen radical del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

Volumen (cm³)		
Factores y niveles		
Tipo de suelo		
Suelo regado con agua limpia	5.23	a*
Suelo regado con aguas residuales	4.53	b
Inóculo		
Multicepa	5.30	a
Sin cepa	4.47	b
Vermicomposta		
0 t ha ⁻¹	4.43	a
25 t ha ⁻¹	4.78	b
50 t ha ⁻¹	5.12	bc
75 t ha ⁻¹	5.20	c

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

En el siguiente cuadro se ilustra el efecto significativo del inóculo multicepa de las semillas de Okra sobre el contenido de clorofila a partir de la variable SPAD (ver figura 42). La inoculación de semillas de Okra genera un aumento en del SPAD del 5.10 % con respecto a las plantas de cuyas semillas no han sido inoculadas. Habib *et al.*, (2016) reporta un incremento en la producción de clorofila en plantas de Okra tratadas con bacterias promotoras de crecimiento vegetal (UPMR2 y UPMR18), siendo el efecto más pronunciado cuando plantas son expuestas a condiciones de estrés por salinidad.



Figura 43. Medición de volumen radical de plantas de Okra.

Cuadro 35. Evaluación del contenido de clorofila del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

Contenido de clorofila (SPAD)		
Factores y niveles		
Tipo de suelo		
Suelo regado con agua limpia	52.88	a*
Suelo regado con aguas residuales	52.83	a
Inóculo		
Multicepa	54.18	a
Sin cepa	51.55	b
Vermicomposta		
0 t ha ⁻¹	52.08	a
25 t ha ⁻¹	52.84	a
50 t ha ⁻¹	52.60	a
75 t ha ⁻¹	53.93	a

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

El área foliar es una variable importante para determinar el desarrollo vegetal, por lo cual, a continuación, se resume su análisis en el cuadro 36. El tipo de suelo y la inoculación de semillas promueven el desarrollo del follaje del cultivo, siendo mayor cuando se cultiva en suelo regado con agua limpia y cuando las semillas son inoculadas con multicepa,

siendo estas diferencias 5.25 % y 9.47 % respectivamente. La adición de materia orgánica no genera diferencias significativas en ninguno de sus niveles.



Figura 44. Medición del contenido de clorofila en plantas de Okra.

Cuadro 36. Evaluación del área foliar del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

Área (cm ²)		
Factores y niveles		
Tipo de suelo		
Suelo regado con agua limpia	839.35	a*
Suelo regado con aguas residuales	797.47	b
Inóculo		
Multicepa	855.45	a
Sin cepa	781.39	b
Vermicomposta		
0 t ha ⁻¹	817.81	a
25 t ha ⁻¹	817.28	a
50 t ha ⁻¹	815.07	a
75 t ha ⁻¹	823.50	a

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

El número de hojas, según el análisis realizado, solo se vio influenciado por el tipo de suelo en el que fueron cultivado las plantas y no así por la inoculación de semillas con multicepas ni por la aplicación de materia orgánica en el suelo utilizado en el experimento. Se presentó un mayor número de hojas cuando las plantas fueron cultivadas en suelo regado con agua limpia, siendo un 11.33 % mayor que el número de hojas presentes en plantas cultivadas en suelo regado con agua residual.

Cuadro 37. Evaluación del número de hojas del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

Número de hojas		
Factores y niveles		
Tipo de suelo		
Suelo regado con agua limpia	7.37	a*
Suelo regado con aguas residuales	6.62	b
Inóculo		
Multicepsa	7.17	a
Sin cepa	6.83	a
Vermicomposta		
0 t ha ⁻¹	7.33	a
25 t ha ⁻¹	7.00	a
50 t ha ⁻¹	6.67	a
75 t ha ⁻¹	7.00	a

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

El número de frutos no se vio afectado significativamente por ninguno de los factores evaluados, como se puede observar en el cuadro 38. Sin embargo, en análisis anteriores se ha determinado que el peso de biomasa fresca y seca se ve afectada por los tres factores analizados, en la figura 45 se puede observar claramente uno de estos frutos.

Cuadro 38. Evaluación del número de frutos del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

Número de frutos		
Factores y niveles		
Tipo de suelo		
Suelo regado con agua limpia	1.29	a*
Suelo regado con aguas residuales	1.20	a
Inóculo		
Multicepsa	1.29	a
Sin cepa	1.21	a
Vermicomposta		
0 t ha ⁻¹	1.42	a
25 t ha ⁻¹	1.25	a
50 t ha ⁻¹	1.17	a
75 t ha ⁻¹	1.17	a

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).



Figura 45. Fruto de Okra 90 días después de la siembra.

Una de las variables analizadas relacionadas con el fruto de la planta de Okra fue ancho de fruto, lo que también es conocido como calibre del fruto, un aspecto importante que debe tenerse en cuenta para su comercialización y está relacionada con la calidad de la cosecha. En el presente estudio

Cuadro 39. Evaluación del ancho del fruto del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

Ancho (mm)		
Factores y niveles		
Tipo de suelo		
Suelo regado con agua limpia	18.85	a*
Suelo regado con aguas residuales	15.16	b
Inóculo		
Multicepa	18.24	a
Sin cepa	15.78	b
Vermicomposta		
0 t ha ⁻¹	16.27	a
25 t ha ⁻¹	17.60	b
50 t ha ⁻¹	17.30	ab
75 t ha ⁻¹	16.88	ab

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

La variable “largo de fruto” analizada tuvo una expresión de diferencias significativas tanto el factor tipo de suelo como en el factor inoculación, con mejores cualidades de fruto cuando las plantas fueron cultivadas en agua limpia, siendo 26.46 % superior en contraste con las plantas que se desarrollaron en suelo regado con agua residual. Con lo referente al efecto causado por la inoculación de semillas de Okra con multicepas, estas plantas inoculadas generaron frutos más largos que las plantas cuyas semillas no inoculas, siendo esta diferencia del 19.40 %.

Cuadro 40. Evaluación del largo del fruto del cultivo de Okra, con diferentes factores y niveles.

Largo (mm)		
Factores y niveles		
Tipo de suelo		
Suelo regado con agua limpia	68.76	a*
Suelo regado con aguas residuales	54.37	b
Inóculo		
Multicepa	67.02	a
Sin cepa	56.13	b
Vermicomposta		
0 t ha ⁻¹	60.91	a
25 t ha ⁻¹	61.31	a
50 t ha ⁻¹	62.17	a
75 t ha ⁻¹	61.91	a

Nota: *Las medias seguidas de una letra común entre columnas no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

El tipo de suelo donde es cultivada una planta es determinante en el rendimiento final del mismo, más aún cuando los tipos de suelo difieren en gran proporción en disponibilidad de nutrientes y/o generan condiciones de estrés por salinidad o por la presencia de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Por otra parte, se ha informado mediante investigaciones científicas que es posible aumentar el rendimiento y calidad de la cosecha de Okra al realizar inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, así como de modificar significativamente su valor nutricional (Perveen *et al.*, 2022), de manera similar como se ha reportado en la presente investigación.

VI. CONCLUSIÓN

1. La inoculación de semillas de okra con bacterias *Pseudomonas* individuales no benefician la germinación. Por otra parte, las variables de vigor en plántulas de okra inoculadas con *Pseudomonas* (peso de materia seca de tallo y raíz, y longitud de tallo y raíz) son promovidas significativamente hasta en un 14.0 %, valor menor a lo esperado.
2. El vigor de plántulas de Okra mejora significativamente cuando sus semillas se inoculan con multicepas en condiciones controladas en invernadero, presentando incrementos del 20.64 %.
3. Los efectos positivos de la inoculación de semillas de Okra se presentan en mayor grado cuando las semillas se encuentran en condiciones de estrés. El inóculo multicepa es una técnica eficiente para aumentar la tolerancia del cultivo en suelos contaminados con cobre, aumentando su porcentaje de emergencia y vigor en estas condiciones y potenciando los procesos de fitorremediación.
4. El vigor y emergencia de plántulas de Okra aumenta significativamente cuando sus semillas se inoculan con multicepas y se cultivan en condiciones de invernadero en suelo.
5. Los resultados de la prueba de invernadero, el factor de suelo generó diferencias significativas en todas las variables evaluadas, con excepción de contenido de clorofila y número de frutos, obteniendo mejores resultados en plantas cultivadas en suelos regados históricamente con agua limpia. La inoculación mediante multicepas de plantas Okra promovió significativamente el desarrollo vegetal principalmente en la biomasa fresca y seca de la raíz, así como de longitud de la raíz, volumen radicular. El factor dosis de materia orgánica (vermicomposta) tuvo efectos significativos en el peso de biomasa fresca y seca de fruto y parte aérea, y longitud de fruto y ancho de fruto, variables relacionadas con la cantidad y calidad de la cosecha.
6. Una adecuada selección *in vitro* de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal que complementen sus efectos y su inoculación mediante multicepa genera resultados favorables a nivel de campo.

VII. RECOMENDACIONES

En la presente investigación se identificaron elementos importantes que no fueron explorados por estar fuera de los objetivos, sin embargo, se recomiendan estudiar en un siguiente trabajo, con la finalidad de ampliar el área de conocimiento, y por aplicarlo a nivel de campo. Por lo tanto, es necesario:

- Conducir un experimento similar al que se llevó a cabo en la presente investigación para observar el comportamiento de las plantas inoculadas con multicepas.
- Determinar los metales potencialmente tóxicos a nivel de tejido vegetal en plantas inoculadas y cultivadas en suelos contaminados por metales, como cadmio, cobre, hierro, plomo, mercurio, boro, molibdeno y níquel, y determinar; el efecto de la inoculación en la tasa absorción de los metales antes mencionados, el aumento de la tolerancia al estrés por metales potencialmente tóxicos como efecto de la inoculación, en diferentes los órganos de las plantas donde se acumulan los metales.
- Generar nuevos inóculos multicepas, que puedan generar un efecto específico en la acumulación de cierto metal, o bien, en la promoción de cierta variable agronómica deseada.
- Promover de la tecnología desarrollada con los productores de Okra a nivel nacional.

VIII. LITERATURA CITADA

- Adesemoye, A. O., y Ugoji, E. O. (2009). Evaluating *Pseudomonas aeruginosa* as plant growth-promoting rhizobacteria in West Africa. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 42(2), 188–200. <https://doi.org/10.1080/03235400601014791>
- Adolfo, F. R., do Nascimento, P. C., Bohrer, D., de Carvalho, L. M., Viana, C., Guarda, A., Nunes Colim, A., y Mattiazzi, P. (2016). Simultaneous determination of cobalt and nickel in vitamin B12 samples using high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 147, 241–245. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.073>
- Agnew, U. M., y Slesinger, T. L. (2022). Zinc toxicity. StatPearls Publishing.
- Aguirre, B. M., y Dávila, D. (2020). La rentabilidad como herramienta para la toma de decisiones: análisis empírico en una empresa industrial. *Valor Contable*, 7, 50–64.
- Aguirre-Medina, J. F., y Moreno-Espinosa, A. J. (2016). Growth and yield of *Capsicum annum* L. inoculated with endomycorrhiza and rhizobacterias. In *Rev. Mex. Cienc. Agríc* (Vol. 7).
- Ahmed, E., y Holmström, S. J. M. (2014). Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microbial Biotechnology*, 7(3), 196–208. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>
- Akinyele, B. O., y Temikotan, T. (2007). Effect of variation in soil texture on the vegetative and pod characteristics of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. *International Journal of Agricultural Research*, 2(2), 165–169. <https://doi.org/10.3923/ijar.2007.165.169>
- Akpan, E. N., Denise, y Ntuen, E. M. (2022). Phytoextraction of lead polluted soil using *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. www.seahipaj.org
- Alaboudi, K. A., Ahmed, B., y Brodie, G. (2018). Phytoremediation of Pb and Cd contaminated soils by using sunflower (*Helianthus annuus*) plant. *Annals of Agricultural Sciences*, 63(1), 123–127. <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2018.05.007>
- Al-Barakah, F. N. I., y Sohaib, M. (2019). Evaluating the germination response of *Chenopodium quinoa* seeds to bacterial inoculation under different germination media and salinity conditions. *Seed Science and Technology*, 47(2), 161–169. <https://doi.org/10.15258/sst.2019.47.2.05>
- Ali, J., Amna, Mahmood, T., Hayat, K., Afridi, M. S., Ali, F., y Chaudhary, H. J. (2018). Phytoextraction of Cr by maize (*Zea mays* L.). The role of plant growth promoting endophyte and citric acid under polluted soil. *Archives of Environmental Protection*, 44(2), 73–82. <https://doi.org/10.24425/119705>

- Alori, E. T., Gabasawa, A. I., Elenwo, C. E., y Agbeyegbe, O. O. (2022). Bioremediation techniques as affected by limiting factors in soil environment. *Frontiers in Soil Science*, 2. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.937186>
- Álvarez, S. (2017). Técnicas para evaluar financieramente proyectos de inversión. *Facultad de Ciencias Administrativas y Económicas*, 1–42. http://www.icesi.edu.co/departamentos/finanzas_contabilidad/
- Andal, F. (2019). Phytoremediation potential of tomato (*Lycopersicon Esculentum Mill*) in artificially contaminated soils. de la Salle University, Manila, Philippines.
- Andia, V. (2011). Indicador de rentabilidad de proyectos: el valor actual neto (van) o el valor económico agregado (EVA). *Revista de La Facultad de Ingeniería Industrial*, 14, 15–18.
- Andreazza, R., Bortolon, L., Pieniz, S., Camargo, F. A. O., y Bortolon, E. S. O. (2013). Copper phytoextraction and phytostabilization by *Brachiaria decumben* in vineyard soils and a copper mining waste. *Open Journal of Soil Science*, 03(06), 273–282. <https://doi.org/10.4236/ojss.2013.36032>
- Anoopkumar, A. N., Rebello, S., Devassy, E., Kavya Raj, K., Puthur, S., Aneesh, E. M., Sindhu, R., Binod, P., y Pandey, A. (2020). Phytoextraction of heavy metals (pp. 267–276). https://doi.org/10.1007/978-3-030-48985-4_12
- Antoun, H., y Prévost, D. (2005). Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In *PGPR: Biocontrol and Biofertilization* (pp. 1–38). Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/1-4020-4152-7_1
- Anwar, F., Rashid, U., Ashraf, M., y Nadeem, M. (2010). Okra (*Hibiscus esculentus*) seed oil for biodiesel production. *Applied Energy*, 87(3), 779–785. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.09.020>
- APHA. (1995). Standard methods for the examination of water and wastewater (American Public Health Association Inc., Ed.; 19th ed.).
- Arnold, C. W., Parfitt, D. G., y Kaltreider, M. (2007). Phytovolatilization of oxygenated gasoline-impacted groundwater at an underground storage tank site via conifers. *International Journal of Phytoremediation*, 9(1), 53–69. <https://doi.org/10.1080/15226510601139409>
- Asante-Badu, B., Kgorutla, L. E., Li, S. S., Danso, P. O., Xue, Z., y Qiang, G. (2020). Phytoremediation of organic and inorganic compounds in a natural and an agricultural environment: a review. *Applied Ecology and Environmental Research*, 18(5), 6875–6904. https://doi.org/10.15666/aeer/1805_68756904
- Asari, S., Tarkowská, D., Rolčík, J., Novák, O., Palmero, D. V., Bejai, S., y Meijer, J. (2017). Analysis of plant growth-promoting properties of *Bacillus amyloliquefaciens* UCMB5113 using *Arabidopsis thaliana* as host plant. *Planta*, 245(1), 15–30. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2580-9>

- Ashraf, M., Ozturk, M., y Ahmad, M. S. A. (2010). Toxins and their phytoremediation in *plant adaptation and phytoremediation* (pp. 1–32). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9370-7_1
- Asilian, E., Ghasemi-Fasaei, R., Ronaghi, A., Sepehri, M., y Niazi, A. (2018). Effects of microbial inoculations and surfactant levels on biologically- and chemically-assisted phytoremediation of lead-contaminated soil by maize (*Zea Mays* L.). *Chemistry and Ecology*, 34(10), 964–977. <https://doi.org/10.1080/02757540.2018.1520844>
- Assunção, A. G. L., Martins, P. D. C., de Folter, S., Vooijs, R., Schat, H., y Aarts, M. G. M. (2001). Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant, Cell & Environment*, 24(2), 217–226. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2001.00666.x>
- Awad, M., El-Desoky, M. A., Ghallab, A., Kubes, J., Abdel-Mawly, S. E., Danish, S., Ratnasekera, D., Sohikul Islam, M., Skalicky, M., Brestic, M., Baazeem, A., Alotaibi, S. S., Javed, T., Shabbir, R., Fahad, S., Habib ur Rahman, M., y Sabagh, A. (2021). Ornamental plant efficiency for heavy metals phytoextraction from contaminated soils amended with organic materials. *Molecules*, 26(11), 3360. <https://doi.org/10.3390/molecules26113360>
- Azeem, M., Haider, M. Z., Javed, S., Saleem, M. H., y Alatawi, A. (2022). Drought stress amelioration in maize (*Zea mays* L.) by inoculation of bacillus spp. strains under sterile soil conditions. *Agriculture*, 12(1), 50. <https://doi.org/10.3390/agriculture12010050>
- Aziz, L., Hamayun, M., Rauf, M., Iqbal, A., Husssin, A., Khan, S. A., Shafique, M., Arif, M., Ahmad, A., Rehman, G., Ali, S., Kang, S. M., y Lee, I.-J. (2022). *Aspergillus violaceofuscus* alleviates cadmium and chromium stress in Okra through biochemical modulation. *PLOS ONE*, 17(10), e0273908. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273908>
- Bala, S., Garg, D., Thirumalesh, B. V., Sharma, M., Sridhar, K., Inbaraj, B. S., y Tripathi, M. (2022). Recent strategies for bioremediation of emerging pollutants: a review for a green and sustainable environment. *Toxics*, 10(8), 484. <https://doi.org/10.3390/toxics10080484>
- Balthazar, C., Joly, D. L., y Fillion, M. (2022). Exploiting beneficial *Pseudomonas* spp. for cannabis production. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.833172>
- Barber, R. G., Grenier, Z. A., y Burkhead, J. L. (2021). Copper toxicity is not just oxidative damage: zinc systems and insight from wilson disease. *Biomedicines*, 9(3), 316. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030316>
- Barceloux, D. G., y Barceloux, D. (1999). Zinc. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 37(2), 279–292. <https://doi.org/10.1081/CLT-100102426>

- Bashir, T., Zafar, S., y Bashir, S. (2022). Phytoremediation of micropollutants. In *Environmental Micropollutants* (pp. 365–386). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90555-8.00001-5>
- Bazzani, C. y Cruz, T.E. (2008). “Análisis de riesgo en un proyecto de inversión: un estudio de caso” en *Scientia et Technica*. Año XIV, No 38, Universidad Tecnológica de Pereira. pp. 309-314.
- Bécquer, C. J., Puentes, A. B., Cabrera, A., Hernández, M., y Sánchez, A. (2021). Effect of inoculation with beneficial microorganisms on agroproductive variables of *Morus alba* Efecto de la inoculación con microorganismos benéficos en variables agroproductivas de *Morus alba*. In *Cuban Journal of Agricultural Science* (Vol. 55, Issue 2). <https://orcid.org/0000-0002-5738-7838>
- Begum, W., Rai, S., Banerjee, S., Bhattacharjee, S., Mondal, M. H., Bhattarai, A., y Saha, B. (2022). A comprehensive review on the sources, essentiality and toxicological profile of nickel. *RSC Advances*, 12(15), 9139–9153. <https://doi.org/10.1039/D2RA00378C>
- Bernhoft, R. A. (2013). Cadmium toxicity and treatment. *The Scientific World Journal*, 2013, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2013/394652>
- Boechat, C. L., Carlos, F. S., Nascimento, C. W. A. do, Quadros, P. D. de, Sá, E. L. S. de, y Camargo, F. A. de O. (2020). Bioaugmentation-assisted phytoremediation of As, Cd, and Pb using *Sorghum bicolor* in a contaminated soil of an abandoned gold ore processing plant. *Revista Brasileira de Ciência Do Solo*, 44. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20200081>
- Brandenberger, L., Shrefler, J., Damicone, J., y Rebek, E. (2018). Extension vegetable specialist extension plant pathologist nutritional content. <https://ndb.nal.usda.gov/>
- Cabra, T., Rodríguez, C. A., Villota, C. P., Tapasco, O. A., y Hernández, A. (2017). Bacillus effect on the germination and growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L). *Acta Biológica Colombiana*, 22(1), 37. <https://doi.org/10.15446/abc.v22n1.57375>
- Caiza, V. N., y Bedoya, J. (2019). Decisiones de inversión y rentabilidad bajo la valoración financiera en las empresas industriales grandes de la provincia de Cotopaxi, Ecuador. *Universidad y Empresa*, 22, 1–29.
- Canales, S. (2015). Criterios para la toma de decisión de inversiones. *Revista Electrónica de Investigación En Ciencias Económicas*, 3(5), 1–17.
- Chamannejadian, A., Sayyad, G., Moezzi, A., y Jahangiri, A. (2013). Evaluation of estimated daily intake (EDI) of cadmium and lead for rice (*Oryza sativa* L.) in calcareous soils. *Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 10(1), 28. <https://doi.org/10.1186/1735-2746-10-28>

- Chandra, R., y Kumar, V. (2018). Phytoremediation: a green sustainable technology for industrial waste management (pp. 1–42).
- Chen, F., Ma, J., Akhtar, S., Khan, Z. I., Ahmad, K., Ashfaq, A., Nawaz, H., y Nadeem, M. (2022). Assessment of chromium toxicity and potential health implications of agriculturally diversely irrigated food crops in the semi-arid regions of South Asia. *Agricultural Water Management*, 272, 107833. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2022.107833>
- Clasen, B., Ferreira, T., Santana, N. A., Portela, V. O., Loro, V. L., Murussi, C. R., Leitemperger, J., Tiecher, T. L., Domínguez, J., Jacques, R. J. S., Storck, T. R., y Antonioli, Z. I. (2021). *Eisenia andrei* behavioral and antioxidative responses to excess of copper in the soil. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(11), 443. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05395-7>
- Clemens, S. (2017). How metal hyperaccumulating plants can advance Zn biofortification. *Plant and Soil*, 411(1–2), 111–120. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2920-3>
- Collin, M. S., Venkatraman, S. K., Vijayakumar, N., Kanimozhi, V., Arbaaz, S. M., Stacey, R. G. S., Anusha, J., Choudhary, R., Lvov, V., Tovar, G. I., Senatov, F., Koppala, S., y Swamiappan, S. (2022). Bioaccumulation of lead (Pb) and its effects on human: A review. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 7, 100094. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100094>
- CONEVAL (2019). Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social. Resultados de pobreza en México 2018 a nivel nacional y por entidades federativas. <https://www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Paginas/Pobreza-2018.aspx>. Enero de 2023.
- Contreras, I. (2006). Analysis of the economic profitability (ROI) and financier (ROE) in business ventures and bank companies in an inflationary context. *Visión Gerencial*, 1, 13–28.
- Cook, R. J. (2000). Advances in plant health management in the twentieth century. *annual review of phytopathology*, 38(1), 95–116. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.38.1.95>
- Coulibaly, H., Messou, A., Pét, J.-M., y Coulibaly, L. (2020). Phytoextraction capacity of panicum maximum grown on synthetic heavy metals contaminated soil. *Trends in Applied Sciences Research*, 15(4), 281–292. <https://doi.org/10.3923/tasr.2020.281.292>
- Crossgrove, J., y Zheng, W. (2004). Manganese toxicity upon overexposure. *NMR in Biomedicine*, 17(8), 544–553. <https://doi.org/10.1002/nbm.931>
- Cruz, P. R., Torres García, A. F., Cruz Chávez, G. R., y Juárez Mancilla, J. (2016). Metodología para medir la rentabilidad de un proyecto de inversión: estudio de caso de agua. *3C Empresa: Investigación y Pensamiento Crítico*, 5(4), 1–11. <https://doi.org/10.17993/3cemp.2016.050428.1-11>

- Dąbrowska, G., Hryniewicz, K., Trejgell, A., y Baum, C. (2017). The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on the phytoextraction of Cd and Zn by *Brassica napus* L. *International Journal of Phytoremediation*, 19(7), 597–604. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1244157>
- Das, K. K., Reddy, R. C., Bagoji, I. B., Das, S., Bagali, S., Mullur, L., Khodnapur, J. P., y Biradar, M. S. (2019). Primary concept of nickel toxicity – an overview. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 30(2), 141–152. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2017-0171>
- Deng, Y., Li, S., Wang, M., Chen, X., Tian, L., Wang, L., Yang, W., Chen, L., He, F., y Yin, W. (2020). Flavonoid-rich extracts from Okra flowers exert antitumor activity in colorectal cancer through induction of mitochondrial dysfunction-associated apoptosis, senescence and autophagy. *Food & Function*, 11(12), 10448–10466. <https://doi.org/10.1039/D0FO02081H>
- Dhankhar, S. K., Deswal, D. P., y Singh, S. (2012). Impact of weather variables on yield and yield attributes in Okra under different growing environments. *Journal of Agrometeorology*, 14(1), 54–56. <https://doi.org/10.54386/jam.v14i1.1382>
- Díaz, A. F., Loera-Gallardo, J., Robles, E. R., Carrillo, M. A., y Serna, S. A. (2007). Producción y tecnología de la Okra (*Abelmoschus esculentus*) en el noreste de México. In *Agricultura Técnica en México* (Vol. 33).
- Díaz-Franco, A., Ortegón-Morales, A. S., Garza-Cano, E., y de León, J. A. R. (2003). Producción de Okra (*Abelmoschus esculentus*) en siembra tardía. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 4(1), 28–34. <https://doi.org/10.1080/11358120309487615>
- Díaz, F., Loera, G., Rosales, R., Alvarado, C. y Ayvar, S. (2007). Producción y tecnología de la Okra (*Abelmoschus esculentus*) en el noroeste de México. *Agricultura Técnica En México*, 33, 297–307.
- Dong, J., Wang, L., Ma, F., Yang, J., Qi, S., y Zhao, T. (2016). The effect of *Funnelliformis mosseae* inoculation on the phytoremediation of atrazine by the aquatic plant *Canna indica* L. var. Flava Roxb. *RSC Advances*, 6(27), 22538–22549. <https://doi.org/10.1039/C5RA23583A>
- Doty, S. L. (2008). Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytologist*, 179(2), 318–333. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02446.x>
- Draobzkiewicz, M., Skórzyńska-Polit, E., y Krupa, Z. (2004). Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in *Arabidopsis thaliana*. *BioMetals*, 17(4), 379–387. <https://doi.org/10.1023/B:BIOM.0000029417.18154.22>
- Dutta, A., Patra, A., Singh Jatav, H., Singh Jatav, S., Kumar Singh, S., Sathyanarayana, E., Verma, S., y Singh, P. (2021). Toxicity of cadmium in soil-plant-human continuum and its bioremediation techniques. In soil contamination - threats and sustainable solutions. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.94307>

- Eapen, S., Suseelan, K. N., Tivarekar, S., Kotwal, S. A., y Mitra, R. (2003). Potential for rhizofiltration of uranium using hairy root cultures of *Brassica juncea* and *Chenopodium amaranticolor*. *Environmental Research*, 91(2), 127–133. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(02\)00018-X](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(02)00018-X)
- Eaton, F. M. (1950). Significance of carbonates in irrigation waters. *Soil Science*, 69(2), 123–134. <https://doi.org/10.1097/00010694-195002000-00004>
- Efe, D. (2020). Potential plant growth-promoting bacteria with heavy metal resistance. *Current Microbiology*, 77(12), 3861–3868. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02208-8>
- Egamberdieva, D., Wirth, S. J., Alqarawi, A. A., Abd_Allah, E. F., y Hashem, A. (2017). Phytohormones and beneficial microbes: essential components for plants to balance stress and fitness. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02104>
- Eid, R., Arab, N. T. T., y Greenwood, M. T. (2017). Iron mediated toxicity and programmed cell death: A review and a re-examination of existing paradigms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1864(2), 399–430. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.12.002>
- Elkhalifa, A. E. O., Alshammari, E., Adnan, M., Alcantara, J. C., Awadelkareem, A. M., Eltoum, N. E., Mehmood, K., Panda, B. P., y Ashraf, S. A. (2021). Okra (*Abelmoschus Esculentus*) as a potential dietary medicine with nutraceutical importance for sustainable health applications. *Molecules*, 26(3), 696. <https://doi.org/10.3390/molecules26030696>
- Elzebroek, T., y Wind, K. (2008). Guide to cultivated plants (A. Elzebroek y K. Wind, Eds.). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845933562.0000>
- Emami, S., Alikhani, H. A., Pourbabaei, A. A., Etesami, H., Sarmadian, F., y Motessharezadeh, B. (2019). Effect of rhizospheric and endophytic bacteria with multiple plant growth promoting traits on wheat growth. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(19), 19804–19813. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05284-x>
- Escalante-Estrada, J. A., Escalante-E, L. E., y Aguilar, G. L. (2000). La producción de Okra (*Abemoschus escuelentus* (L.) moench.) en función del arreglo topológico. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, VI(01), 39–48. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.1999.11.076>
- Etesami, H. (2020). Plant–microbe interactions in plants and stress tolerance. In *Plant Life Under Changing Environment* (pp. 355–396). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818204-8.00018-7>
- Fabianová, J., Šlosár, M., Kopta, T., Vargová, A., Timoracká, M., Mezeyová, I., y Andrejiová, A. (2022). Yield, antioxidant activity and total polyphenol content of okra

- fruits grown in Slovak Republic. *Horticulturae*, 8(10), 966. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100966>
- Farraji, H., Robinson, B., Mohajeri, P., y Abedi, T. (2020). Phytoremediation: green technology for improving aquatic and terrestrial environments. *Nippon Journal of Environmental Science*, 1(1). <https://doi.org/10.46266/njes.1002>
- Favas, P. J. C., Pratas, J., Paul, M. S., Sarkar, S. K., y Prasad, M. N. v. (2016). Phytofiltration of metal(loid)-contaminated water: the potential of native aquatic plants. In *Phytoremediation* (pp. 305–343). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-40148-5_11
- Featherstone, S. (2016). A complete course in canning and related processes (14th ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-16340-4>
- FIRA. (2022). Sistema de costos agrícolas. <https://www.fira.gob.mx/InfEspDtoXML/TemasUsuario.jsp>
- Gaetke, L. M., Chow-Johnson, H. S., y Chow, C. K. (2014). Copper: toxicological relevance and mechanisms. *Archives of Toxicology*, 88(11), 1929–1938. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1355-y>
- Gao, S., Yan, R., Cao, M., Yang, W., Wang, S., y Chen, F. (2008). Effects of copper on growth, antioxidant enzymes and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedling. *Plant, Soil and Environment*, 54(No. 3), 117–122. <https://doi.org/10.17221/2688-PSE>
- Garbisu, C., y Alkorta, I. (2001). Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology*, 77(3), 229–236. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00108-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00108-5)
- Gardezi, A., Andablo, K., Castañeda, G., Flores, H., Flores-Gallardo, H., Buenfil, J., Escobar, H., Escalona-Maurice, M., Saavedra, M., y Aguilar, G. (2022). Evaluación del vigor en el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) utilizando rizobacterias con fines de fitorremediación bajo condiciones de estrés ocasionado por sulfato de cobre (CuSO₄). *Nova Scientia*, 14, 1–18. <https://doi.org/10.21640/ns.v14i29.3037>
- Gardezi, A. K., Marquez-Berber, S. R., y Carrillo-Castañeda, G. (2019). Sewage water effects on okra (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench) growth affected by organic matter, and Avm of *Pseudomonas fluorescens*. *World Journal of Agriculture and Soil Science*, 1(5). <https://doi.org/10.33552/WJASS.2019.01.000524>
- Garrido-Sanz, D., Arrebola, E., Martínez-Granero, F., García-Méndez, S., Muriel, C., Blanco-Romero, E., Martín, M., Rivilla, R., y Redondo-Nieto, M. (2017). Classification of Isolates from the *Pseudomonas fluorescens* Complex into Phylogenomic Groups Based in Group-Specific Markers. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00413>

- Gedamu, S. A., Tsegaye, E. A., y Beyene, T. F. (2021). Effect of rhizobial inoculants on yield and yield components of faba bean (*Vicia fabae* L.) on vertisol of Wereillu District, South Wollo, Ethiopia. *CABI Agriculture and Bioscience*, 2(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s43170-021-00025-y>
- Gemedo, H. F. (2015). Nutritional quality and health benefits of Okra (*Abelmoschus esculentus*): A review. *Journal of Food Processing & Technology*, 06(06). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000458>
- Genchi, G., Sinicropi, M. S., Lauria, G., Carocci, A., y Catalano, A. (2020). The effects of cadmium toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(11), 3782. <https://doi.org/10.3390/ijerph17113782>
- Gerhardt, K. E., Gerwing, P. D., y Greenberg, B. M. (2017). Opinion: Taking phytoremediation from proven technology to accepted practice. *Plant Science*, 256, 170–185. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.11.016>
- Grover, M., Bodhankar, S., Sharma, A., Sharma, P., Singh, J., y Nain, L. (2021). PGPR mediated alterations in root traits: way toward sustainable crop production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.618230>
- Guarino, F., Miranda, A., Castiglione, S., y Ciatelli, A. (2020). Arsenic phytovolatilization and epigenetic modifications in *Arundo donax* L. assisted by a PGPR consortium. *Chemosphere*, 251, 126310. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126310>
- Guerrero, A. A. (2006). Guía cultivo Okra. *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura*. Representación del IICA en Nicaragua.
- Gupta, P., Rani, R., Chandra, A., y Kumar, V. (2018). Potential applications of *Pseudomonas* sp. (strain CPSB21) to ameliorate Cr⁶⁺ stress and phytoremediation of tannery effluent contaminated agricultural soils. *Scientific Reports*, 8(1), 4860. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23322-5>
- Habib, S. H., Kausar, H., y Saud, H. M. (2016). Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ros-scavenging enzymes. *BioMed Research International*, 2016, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2016/6284547>
- Han, H., Sheng, X., Hu, J., He, L., y Wang, Q. (2018). Metal-immobilizing *Serratia liquefaciens* CL-1 and *Bacillus thuringiensis* X30 increase biomass and reduce heavy metal accumulation of radish under field conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161, 526–533. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.033>
- Han, Y., Lee, J., Kim, C., Park, J., Lee, M., y Yang, M. (2020). Uranium rhizofiltration by *Lactuca sativa*, *Brassica campestris* L., *Raphanus sativus* L., *Oenanthe javanica* under different hydroponic conditions. *Minerals*, 11(1), 41. <https://doi.org/10.3390/min11010041>

- Hasanuzzaman, M., Dilruba, S., Karim, R., y Nahar, K. (2009). Yield response of Okra to different sowing time and application of growth hormones. *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, 1(1), 10–14.
- Hashem, A., Tabassum, B., y Fathi Abd_Allah, E. (2019). *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1291–1297. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>
- Herliana, O., Harjoso, T., Anwar, A. H. S., y Fauzi, A. (2019). The effect of *Rhizobium* and N fertilizer on growth and yield of black soybean (*Glycine max (L) Merrill*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 255, 012015. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/255/1/012015>
- Heydarian, Z., Yu, M., Gruber, M., Glick, B. R., Zhou, R., y Hegedus, D. D. (2016). Inoculation of soil with plant growth promoting bacteria producing 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate deaminase or expression of the corresponding *acdS* gene in transgenic plants increases salinity tolerance in *Camelina sativa*. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01966>
- Ifeanyi, A., y Asimiea, A. (2018). Response of Okra [*Abelmoschus Esculentus* (L) Moench] to arbuscular mycorrhizal fungi in crude oil contaminated soil. *New York Science Journal*, 11 (3), 33–38. <https://doi.org/10.7537/marsnys110318.05>
- INIFAP. (2004). Agenda Técnica Agropecuaria para el Norte de Tamaulipas. Centro de Investigación Regional del Noreste Campo Experimental Río Bravo.
- Institute of Medicine. (2001). Dietary reference intakes for vitamin a, vitamin k, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/10026>
- Iqbal, M. Z., Habiba, U., Nayab, S., y Shafiq, M. (2018). Effects of copper on seed germination and seedling growth performance of *Lens culinaris* Medik. *Journal of Plant Development*, 25, 85–90. <https://doi.org/10.33628/jpd.2018.25.1.85>
- Irizarry, I., y White, J. F. (2017). Application of bacteria from non-cultivated plants to promote growth, alter root architecture and alleviate salt stress of cotton. *Journal of Applied Microbiology*, 122(4), 1110–1120. <https://doi.org/10.1111/jam.13414>
- Işik, G. (2021). Growth performance, tolerance and vigor dynamics of *Salvia candidissima* subsp. *occidentalis* Hedge against heavy metal contamination. *International Journal of Secondary Metabolite*, 152–158. <https://doi.org/10.21448/ijsm.914042>
- Iyagba, U. (2013). Biostimulative effects of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) mulch on the germination of Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) grown in a crude oil contaminated soil. In *European Scientific Journal* (Vol. 9, Issue 21).
- Jafari, M., Yari, M., Ghabooli, M., Sepehri, M., Ghasemi, E., y Jonker, A. (2018). Inoculation and co-inoculation of alfalfa seedlings with root growth promoting

- microorganisms (*Piriformospora indica*, *Glomus intraradices* and *Sinorhizobium meliloti*) affect molecular structures, nutrient profiles and availability of hay for ruminants. *Animal Nutrition*, 4(1), 90–99. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.08.008>
- Kafle, A., Timilsina, A., Gautam, A., Adhikari, K., Bhattarai, A., y Aryal, N. (2022). Phytoremediation: Mechanisms, plant selection and enhancement by natural and synthetic agents. *Environmental Advances*, 8, 100203. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100203>
- Katung, M. (2007). productivity of Okra varieties as influenced by seasonal changes in Northern Nigeria. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 35. <https://doi.org/10.15835/nbha351256>
- Kaur, D., Singh, A., Abhijit Kumar, y Gupta, S. (2020). Genetic engineering approaches and applicability for the bioremediation of metalloids. In *Plant Life Under Changing Environment* (pp. 207–235). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818204-8.00010-2>
- Kemble, J., y Musgrove, M. B. (2004). Harvesting and post-harvest care of Okra. www.aces.edu
- Kesaulya, H., Hasinu, J. v, y Tuhumury, G. N. (2018). Potential of *Bacillus spp* produces siderophores insuppressing thewilt disease of banana plants. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 102, 012016. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/102/1/012016>
- Khalifeh, H., y Aldal'in, H. (2015). Phytoextraction of some heavy metals by Okra (*Abelmoschus esculentus*) and rosselle (*Hibiscus sabdariffa L.*) in different polluted soils. <http://www.journalcra.com>
- Khaliq, M. A., Javed, M. T., Hussain, S., Imran, M., Mubeen, M., Nasim, W., Fahad, S., Karuppanan, S., Al-Taisan, W. A., Almohamad, H., al Dughairi, A. A., Al-Mutiry, M., Alrasheedi, M., y Abdo, H. G. (2022). Assessment of heavy metal accumulation and health risks in Okra (*Abelmoschus Esculentus L.*) and spinach (*Spinacia Oleracea L.*) fertigated with wastewater. *International Journal of Food Contamination*, 9(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s40550-022-00097-2>
- Kloepper, J. W. (1981). Relationship of in vitro antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopathology*, 71(10), 1020. <https://doi.org/10.1094/Phyto-71-1020>
- Kloepper, J. W., y Schroth, M. N. (1978). Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, 879–882.
- Knežević, M. M., Stajković-Srbinić, O. S., Assel, M., Milić, M. D., Mihajlovski, K. R., Delić, D. I., y Buntić, A. v. (2021). The ability of a new strain of *Bacillus pseudomycooides* to improve the germination of alfalfa seeds in the presence of

fungal infection or chromium. *Rhizosphere*, 18.
<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100353>

- Kong, Z., Deng, Z., Glick, B. R., Wei, G., y Chou, M. (2017). A nodule endophytic plant growth-promoting *Pseudomonas* and its effects on growth, nodulation and metal uptake in *Medicago lupulina* under copper stress. *Annals of Microbiology*, 67(1), 49–58. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1235-1>
- Kozlova, E., Sherstyukova, E., Sergunova, V., Kozlov, A., Gudkova, O., Inozemtsev, V., y Chernysh, A. (2022). The toxic influence of excess free iron on red blood cells in the biophysical experiment: an in vitro study. *Journal of Toxicology*, 2022, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2022/7113958>
- Krämer, U. (2010). Metal hyperaccumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61(1), 517–534. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112156>
- Kurniawan, S. B., Ramli, N. N., Said, N. S. M., Alias, J., Imron, M. F., Abdullah, S. R. S., Othman, A. R., Purwanti, I. F., y Hasan, H. A. (2022). Practical limitations of bioaugmentation in treating heavy metal contaminated soil and role of plant growth promoting bacteria in phytoremediation as a promising alternative approach. *Heliyon*, 8(4), e08995. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08995>
- Lan, M.-M., Liu, C., Liu, S.-J., Qiu, R.-L., y Tang, Y.-T. (2020). Phytostabilization of Cd and Pb in highly polluted farmland soils using ramie and amendments. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(5), 1661. <https://doi.org/10.3390/ijerph17051661>
- Lee, M., y Yang, M. (2010). Rhizofiltration using sunflower (*Helianthus annuus* L.) and bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. *vulgaris*) to remediate uranium contaminated groundwater. *Journal of Hazardous Materials*, 173(1–3), 589–596. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.08.127>
- Leslie, B. W., Pickett, D. A., y Percy, E. C. (1999). Vegetation-derived insights on the mobilization and potential:transport of radionuclides from the nopal i natural analog site, Mexico. *MRS Proceedings*, 556, 833. <https://doi.org/10.1557/PROC-556-833>
- Leysens, L., Vinck, B., van der Straeten, C., Wuyts, F., y Maes, L. (2017). Cobalt toxicity in humans—A review of the potential sources and systemic health effects. *Toxicology*, 387, 43–56. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.05.015>
- Li, L., Zhu, P., Wang, X., y Zhang, Z. (2020). Phytoremediation effect of *Medicago sativa* colonized by *Piriformospora indica* in the phenanthrene and cadmium co-contaminated soil. *BMC Biotechnology*, 20(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00613-2>
- Lone, M. I., He, Z., Stoffella, P. J., y Yang, X. (2008). Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 9(3), 210–220. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0710633>

- Lopes, M. J. dos S., Dias-Filho, M. B., y Gurgel, E. S. C. (2021). Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.606454>
- Lozano, L. B., y Artinian, A. L. (2018). *Producción de Okra* (INTA).
- Lu, Y., Demleitner, M. F., Song, L., Rychlik, M., y Huang, D. (2016). Oligomeric proanthocyanidins are the active compounds in *Abelmoschus esculentus* Moench for its α -amylase and α -glucosidase inhibition activity. *Journal of Functional Foods*, 20, 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.037>
- Lucy, M., Reed, E., y R. Glick, B. (2004). Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86(1), 1–25. <https://doi.org/10.1023/B:ANTO.0000024903.10757.6e>
- Mahmood, A., Turgay, O. C., Farooq, M., y Hayat, R. (2016). Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: a review. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(8), fiw112. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw112>
- Marques, A. P. G. C., Rangel, A. O. S. S., y Castro, P. M. L. (2009). Remediation of heavy metal contaminated soils: phytoremediation as a potentially promising clean-up technology. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(8), 622–654. <https://doi.org/10.1080/10643380701798272>
- McGrath, S. P., Lombi, E., Gray, C. W., Caille, N., Dunham, S. J., y Zhao, F. J. (2006). Field evaluation of Cd and Zn phytoextraction potential by the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri*. *Environmental Pollution*, 141(1), 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.08.022>
- Mekureyaw, M. F., Pandey, C., Hennessy, R. C., Nicolaisen, M. H., Liu, F., Nybroe, O., y Roitsch, T. (2022). The cytokinin-producing plant beneficial bacterium *Pseudomonas fluorescens* G20-18 primes tomato (*Solanum lycopersicum*) for enhanced drought stress responses. *Journal of Plant Physiology*, 270, 153629. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2022.153629>
- Melo, É. E. C., Nascimento, C. W. A., Accioly, A. M. y Santos, A. C. Q. (2008). Phytoextraction and fractionation of heavy metals in soil after multiple applications of natural chelants. In *Scientia Agricola: Vol. v. vol.65 num.1*. São Paulo - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.
- Mendez, M. O., y Maier, R. M. (2008). Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments—An emerging remediation technology. *Environmental Health Perspectives*, 116(3), 278–283. <https://doi.org/10.1289/ehp.10608>
- Meza, C. L., de La Cruz, A. R. H., Suazo, J. Á., Orihuela, G. L., y de La Cruz Cerrón, L. (2022). Phytoextraction potential of lead by three plant species (*Taraxacum officinale*, *Arabidopsis thaliana*, and *Helianthus annuus*) with an ecologically friendly organic amendment. *Journal of Southwest Jiaotong University*, 57(1), 584–599. <https://doi.org/10.35741/issn.0258-2724.57.1.53>

- Mir, A. R., Pichtel, J., y Hayat, S. (2021). Copper: uptake, toxicity and tolerance in plants and management of Cu-contaminated soil. *BioMetals*, 34(4), 737–759. <https://doi.org/10.1007/s10534-021-00306-z>
- Mishra, S., y Bharagava, R. N. (2016). Toxic and genotoxic effects of hexavalent chromium in environment and its bioremediation strategies. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 34(1), 1–32. <https://doi.org/10.1080/10590501.2015.1096883>
- Mohammadi, S., Pourakbar, L., Siavash Moghaddam, S., y Popović-Djordjević, J. (2021). The effect of EDTA and citric acid on biochemical processes and changes in phenolic compounds profile of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) under mercury stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111607. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111607>
- Molina, P. (2017). Rentabilidad de la producción agrícola desde la perspectiva de los costos reales: Municipios Pueblo Llano y Rangel del estado Mérida, Venezuela. *Visión Gerencial*, 2, 217–232.
- Moreno, F. N., Anderson, C. W. N., Stewart, R. B., y Robinson, B. H. (2008). Phytofiltration of mercury-contaminated water: Volatilisation and plant-accumulation aspects. *Environmental and Experimental Botany*, 62(1), 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.07.007>
- Moulana, S., Prasad, V., y Kumar, P. (2020). Economic importance and production technology of okra.
- Mousavi, A., Pourakbar, L., Siavash Moghaddam, S., y Popović-Djordjević, J. (2021). The effect of the exogenous application of EDTA and maleic acid on tolerance, phenolic compounds, and cadmium phytoremediation by Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) exposed to Cd stress. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105456. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105456>
- Mushtaq, Z., Asghar, H. N., y Zahir, Z. A. (2021). Comparative growth analysis of Okra (*Abelmoschus esculentus*) in the presence of PGPR and press mud in chromium contaminated soil. *Chemosphere*, 262, 127865. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127865>
- Muthusaravanan, S., Sivarajasekar, N., Vivek, J. S., Vasudha Priyadharshini, S., Paramasivan, T., Dhakal, N., y Naushad, Mu. (2020). Research updates on heavy metal phytoremediation: enhancements, efficient post-harvesting strategies and economic opportunities (pp. 191–222). https://doi.org/10.1007/978-3-030-17724-9_9
- Nascimento, C. W. A. do, y Xing, B. (2006). Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Scientia Agricola*, 63(3), 299–311. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000300014>
- Ndeddy Aka, R. J., y Babalola, O. O. (2016). Effect of bacterial inoculation of strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes faecalis* and *Bacillus subtilis* on germination,

- growth and heavy metal (cd, cr, and ni) uptake of *Brassica juncea*. *International Journal of Phytoremediation*, 18(2), 200–209. <https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1073671>
- Nezarat, S., y Gholami, A. (2008). Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12(1), 26–32. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.26.32>
- Ng, C. C., Rahman, M. M., Boyce, A. N., y Abas, M. R. (2016). Heavy metals phyto-assessment in commonly grown vegetables: water spinach (*L. aquatica*) and Okra (*A. esculentus*). *SpringerPlus*, 5(1), 469. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2125-5>
- Nielsen, F. (2021). Nickel. *Advances in Nutrition*, 12(1), 281–282. <https://doi.org/10.1093/advances/nmaa154>
- Ning, Y., Liu, N., Song, Y., Luo, J., y Li, T. (2019). Enhancement of phytoextraction of Pb by compounded activation agent derived from fruit residue. *International Journal of Phytoremediation*, 21(14), 1449–1456. <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1633266>
- Niu, X., Wang, S., Zhou, J., Di, D., Sun, P., y Huang, D. (2021). Inoculation with indigenous rhizosphere microbes enhances aboveground accumulation of lead in *Salix integra* Thunb. by improving transport coefficients. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.686812>
- Novotny, J. A., y Peterson, C. A. (2018). Molybdenum. *Advances in Nutrition*, 9(3), 272–273. <https://doi.org/10.1093/advances/nmx001>
- Ortiz-Texon, J. A., Delgadillo-Martínez, J., Rodríguez-Mendoza, M. N., y Calderón-Zavala, G. (2016). Bacterial inoculation of five strawberry varieties in contrasting soil ph: effect on growth and fruit quality. *Terra Latinoamericana*, 34, 177–185.
- Ortega, B. (2012). Análisis Coste-Beneficio. *Extoikos*, 5, 147–149. www.bepress.com/jbca/vol2/
- Ouzounidou, G. (1995). Effect of copper on germination and seedling growth of *Minuartia*, *Silene*, *Alyssum* and *Thlaspi*. *Biologia Plantarum*, 37(3). <https://doi.org/10.1007/BF02913990>
- Pangesti, N., Vandenbrande, S., Pineda, A., Dicke, M., Raaijmakers, J. M., y van Loon, J. J. A. (2017). Antagonism between two root-associated beneficial *Pseudomonas* strains does not affect plant growth promotion and induced resistance against a leaf-chewing herbivore. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(4). <https://doi.org/10.1093/femsec/fix038>
- Pellegrini, M., Spera, D. M., Ercole, C., y del Gallo, M. (2021). *Allium cepa* L. inoculation with a consortium of plant growth-promoting bacteria: Effects on plants, soil, and the autochthonous microbial community. *Microorganisms*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030639>

- Pérez-Peralta, P. J., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Trejo-Téllez, L. I., Cruz-Ortega, R., y Silva-Rojas, H. v. (2019). Respuesta del simbiosistema frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y *Rhizobium tropici* CIAT899 ante el efecto alelopático de *Lpomoea purpurea* L. Roth. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(1), 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.01.006>
- Perveen, R., Hussain, A., Ditta, A., Dar, A., Aimen, A., Ahmad, M., Alataway, A., Dewidar, A. Z., y Mattar, M. A. (2022). Growth and yield of okra exposed to a consortium of rhizobacteria with different organic carriers under controlled and natural field conditions. *Horticulturae*, 9(1), 8. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010008>
- Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56(1), 15–39. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144214>
- Plum, L. M., Rink, L., y Haase, H. (2010). The essential toxin: impact of zinc on human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(4), 1342–1365. <https://doi.org/10.3390/ijerph7041342>
- Preston, G. M. (2004). Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1446), 907–918. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1384>
- Radziemska, M., Beś, A., Gusiatin, Z. M., Sikorski, Ł., Brtnicky, M., Majewski, G., Liniauskiene, E., Pecina, V., Datta, R., Bilgin, A., y Mazur, Z. (2020). Successful outcome of phytostabilization in Cr(VI) contaminated soils amended with alkalizing additives. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(17), 6073. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176073>
- Rahman, M., Sabir, A. A., Mukta, J. A., Khan, Md. M. A., Mohi-Ud-Din, M., Miah, Md. G., Rahman, M., y Islam, M. T. (2018). Plant probiotic bacteria *Bacillus* and *Paraburkholderia* improve growth, yield and content of antioxidants in strawberry fruit. *Scientific Reports*, 8(1), 2504. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20235-1>
- Rascio, N., y Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180(2), 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.08.016>
- Reeves, R. D. (2003). Tropical hyperaccumulators of metals and their potential for phytoextraction. *Plant and Soil*, 249(1), 57–65. <https://doi.org/10.1023/A:1022572517197>
- Rehman, I. ur, Ishaq, M., Ali, L., Muhammad, S., Din, I. U., Yaseen, M., y Ullah, H. (2020). Potentially toxic elements' occurrence and risk assessment through water and soil of Chitral urban environment, Pakistan: a case study. *Environmental Geochemistry and Health*, 42(12), 4355–4368. <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00531-4>
- Rhoades, J. D., Kandiah, A., y Mashali, A. M. (1992). The use of saline waters for crop production. *FAO Irrigation and Drainage*, FAO, Rome, 48.

- Richards, L. A. (1973). Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos: Manual No. 60. *Departamento de Agricultura de los EE. UU., Laboratorio de Salinidad*. Editorial Limusa.
- Rigoletto, M., Calza, P., Gaggero, E., Malandrino, M., y Fabbri, D. (2020). Bioremediation methods for the recovery of lead-contaminated soils: A review. *Applied Sciences*, 10(10), 3528. <https://doi.org/10.3390/app10103528>
- Rivera-Conde, M. I., Aranda-Ocampo, S., Carrillo-Castañeda, G., Gijón-Hernández, A. R., y Bueno-Aguilar, G. M. (2018). Efecto de *Pseudomonas* fluorescentes en la germinación de semilla y vigor de plántulas de jitomate. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2017.06.023>
- Roblero, A. (1991). Gestión financiera bajo inflación. Tercer Mundo Editores, Ediciones Uniandes 2ª edición. Colombia
- Romero, C. Y Navarrete, M. (2019). Evaluación del proyecto de inversión del cultivo de Okra fresca en la empresa agroesnica para el periodo 2018-2019. Universidad Autónoma de Nicaragua, Managua
- Roper, W. R., Duckworth, O. W., Grossman, J. M., y Israel, D. W. (2020). *Rhizobium leguminosarum* strain combination effects on nodulation and biological nitrogen fixation with *Vicia villosa*. *Applied Soil Ecology*, 156, 103703. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103703>
- Rudel, D., Douglas, C. D., Huffnagle, I. M., Besser, J. M., y Ingersoll, C. G. (2013). Assaying environmental nickel toxicity using model nematodes. *PLoS ONE*, 8(10), e77079. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077079>
- Ruiz-Alvarado, C., Borboa-Flores, J., y Cardenas-Salazar, V. (2018). *Bacillus amyloliquefaciens* as a plant growth promoting bacteria with the interaction with of grass salt *Distichlis palmeri* (Vasey) under field conditions, in desert of Sonora, Mexico. *Journal of Plant Science and Phytopathology*, 2(3), 059–067. <https://doi.org/10.29328/journal.jpssp.1001021>
- Sabitha, V., Panneerselvam, K., y Ramachandran, S. (2012). In vitro α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects in aqueous extracts of *Abelmoscus esculentus* (L.) Moench. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S162–S164. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60150-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60150-6)
- Sadzawka, A., Carrasco, M. A., Demanet, R., Flores, H., Grez, R., Mora, M. L., y Neaman, A. (2007). Métodos de análisis de tejidos vegetales (Segunda edición). <https://hdl.handle.net/20.500.14001/8570>
- Sah, S., Krishnani, S., y Singh, R. (2021). *Pseudomonas* mediated nutritional and growth promotional activities for sustainable food security. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100084. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100084>

- Salehin, A., Puri, R. R., Hafiz, M. H. R., y Itoh, K. (2021). Effect of co-inoculation of *Bacillus* sp. strain with bacterial endophytes on plant growth and colonization in tomato plant (*Solanum lycopersicum*). *Microbiology Research*, 12(2), 480–490. <https://doi.org/10.3390/microbiolres12020032>
- Sallaku, G., Babaj, I., Kaciu, S., y Balliu, A. (2009). The influence of vermicompost on plant growth characteristics of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings under saline conditions. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7.
- Sanjosé, I., Navarro-Roldán, F., Infante-Izquierdo, M. D., Martínez-Sagarra, G., Devesa, J. A., Polo, A., Ramírez-Acosta, S., Sánchez-Gullón, E., Jiménez-Nieva, F. J., y Muñoz-Rodríguez, A. F. (2021). Accumulation and effect of heavy metals on the germination and growth of *salsola vermiculata* L. seedlings. *Diversity*, 13(11), 539. <https://doi.org/10.3390/d13110539>
- Santiago-Santiago, H., Aranda-Ocampo, S., Hernández-Morales, J., y Peña-Lomeli, A. (2020). Effect of *Bacillus* spp. on the germination and growth of roselle plants (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Agro Productividad*, 13(10). <https://doi.org/10.32854/agrop.v13i10.1743>
- Sarma, H. (2011). Metal hyperaccumulation in plants: A review focusing on phytoremediation technology. *Journal of Environmental Science and Technology*, 4(2), 118–138. <https://doi.org/10.3923/jest.2011.118.138>
- Schafleitner, R., Lin, C.-Y., Lin, Y.-P., Wu, T.-H., Hung, C.-H., Phooi, C.-L., Chu, S.-H., Jhong, Y.-C., y Hsiao, Y.-Y. (2021). The world vegetable center Okra (*Abelmoschus esculentus*) core collection as a source for flooding stress tolerance traits for breeding. *Agriculture*, 11(2), 165. <https://doi.org/10.3390/agriculture11020165>
- Shams, M., Yildirim, E., Agar, G., Ercisli, S., Dursun, A., Ekinici, M., y Kul, R. (2018). Nitric oxide alleviates copper toxicity in germinating seed and seedling growth of *Lactuca sativa* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(1), 167–172. <https://doi.org/10.15835/nbha46110912>
- Sharma, I. (2021). Bioremediation techniques for polluted environment: Concept, advantages, limitations, and prospects. In *Trace Metals in the Environment - New Approaches and Recent Advances*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.90453>
- Sharma, P., Sirhindi, G., Singh, A. K., Kaur, H., y Mushtaq, R. (2017). Consequences of copper treatment on pigeon pea photosynthesis, osmolytes and antioxidants defense. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(4), 809–816. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0461-8>
- Shehata, S. M., Badawy, R. K., y Aboulsoud, Y. I. E. (2019). Phytoremediation of some heavy metals in contaminated soil. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 189. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0214-7>

- Shivaramgowda, K. D., Krishnan, A., Jayaramu, Y. K., Kumar, V., Yashoda, y Koh, H.-J. (2016). Genotypic variation among Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) germplasms in South India. *Plant Breeding and Biotechnology*, 4(2), 234–241. <https://doi.org/10.9787/PBB.2016.4.2.234>
- SIAP. (2021). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. <https://Nube.Siap.Gob.Mx/Cierreagricola/> .
- Sigua, G. C., Novak, J. M., Watts, D. W., Ippolito, J. A., Ducey, T. F., Johnson, M. G., y Spokas, K. A. (2019). Phytostabilization of zn and cd in mine soil using corn in combination with biochars and manure-based compost. *Environments*, 6(6), 69. <https://doi.org/10.3390/environments6060069>
- Silva, T. M., Macêdo, G. de M., Soares, N. Z. D., Fonseca, M. C. A., Lacerda, G. A., Veloso, M. das D. M., Reis, A. B. dos, Pimenta, M. A. S., y Arrudas, S. R. (2021). Phytoremediation potential of *crotalaria juncea* plants in lead-contaminated soils. *Journal of Agricultural Science*, 13(12), 27. <https://doi.org/10.5539/jas.v13n12p27>
- Simon, L., Biró, B., y Balázs, S. (2008). Impact of pseudomonads and ethylene on the cadmium and nickel rhizofiltration of sunflower, squash, and indian mustard. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 39(15–16), 2440–2455. <https://doi.org/10.1080/00103620802292806>
- Sinha, R., Singh, A. K., Baudh, K., Sharma, T. R., y Sharma, P. (2021). Phytomining: a sustainable approach for recovery and extraction of valuable metals. In *Phytoremediation of Abandoned Mining and Oil Drilling Sites* (pp. 487–506). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821200-4.00013-3>
- Song, X., Li, C., y Chen, W. (2022). Phytoremediation potential of Bermuda grass (*Cynodon dactylon* (L.) pers.) in soils co-contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons and cadmium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 234, 113389. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113389>
- Souza, R. de, Ambrosini, A., y Passaglia, L. M. P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, 38(4), 401–419. <https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150053>
- Spitsin, V., Ryzhkova, M., Vukovic, D., y Anokhin, S. (2020). Companies profitability under economic instability: evidence from the manufacturing industry in Russia. *Journal of Economic Structures*, 9(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s40008-020-0184-9>
- Srivastava, S., Anand, V., Singh, P., Roy, A., Pallavi, S., Bist, V., Kaur, J., Srivastava, S., Katiyar, R., y Srivastava, S. (2021). Microbial systems as a source of novel genes for enhanced phytoremediation of contaminated soils. In *Microbe Mediated Remediation of Environmental Contaminants* (pp. 177–198). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821199-1.00016-X>

- Stolp, H., Starr, M. P., y Baigent, N. L. (1965). Problems in speciation of phytopathogenic pseudomonads and xanthomonads. *Annual Review of Phytopathology*, 3(1), 231–264. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.03.090165.001311>
- Suherman, Rahmawati, S., Said, I., Nurbaya, Armiyanti, S., y Thamrin, N. (2021). The use of water spinach plants (*Ipomoea aquatica* Forsk.) for phytoremediation of hospital waste. *Journal of Physics: Conference Series*, 2126(1), 012026. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2126/1/012026>
- Suman, J., Uhlik, O., Viktorova, J., y Macek, T. (2018). Phytoextraction of heavy metals: A promising tool for clean-up of pollute environment? *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01476>
- Surriya, O., Sarah Saleem, S., Waqar, K., y Gul Kazi, A. (2015). Phytoremediation of soils. In *Soil Remediation and Plants* (pp. 1–36). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799937-1.00001-2>
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., y Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment (pp. 133–164). https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- Thomloudi, E.-E., Tsalgaidou, P. C., Douka, D., Spantidos, T.-N., Dimou, M., Venieraki, A., y Katinakis, P. (2019). Multistrain versus single-strain plant growth promoting microbial inoculants - The compatibility issue. *Hellenic Plant Protection Journal*, 12(2), 61–77. <https://doi.org/10.2478/hppj-2019-0007>
- Thongnok, S., Siripornadulsil, W., y Siripornadulsil, S. (2022). Responses to arsenic stress of rice varieties coinoculated with the heavy metal-resistant and rice growth-promoting bacteria *Pseudomonas stutzeri* and *Cupriavidus taiwanensis*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 191, 42–54. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.09.014>
- Torre, C. J., y Vallejos, J. B. (2021). Evaluación económica y financiera, y su relación con la rentabilidad de la empresa Multiservicios e Inversiones Kennys S.A.C- Soritor – 2021. *Sapienza: International Journal of Interdisciplinary Studies*, 3(1), 399–411. <https://doi.org/10.51798/sijis.v3i1.235>
- Tsyganov, V. E., Tsyganova, A. v., Gorshkov, A. P., Seliverstova, E. v., Kim, V. E., Chizhevskaya, E. P., Belimov, A. A., Serova, T. A., Ivanova, K. A., Kulaeva, O. A., Kusakin, P. G., Kitaeva, A. B., y Tikhonovich, I. A. (2020). Efficacy of a plant-microbe system: *Pisum sativum* (L.) cadmium-tolerant mutant and rhizobium leguminosarum strains, expressing *Pea metallothionein* genes PsMT1 and PsMT2, for cadmium phytoremediation. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00015>
- Tvermoes, B. E., Unice, K. M., Paustenbach, D. J., Finley, B. L., Otani, J. M., y Galbraith, D. A. (2014). Effects and blood concentrations of cobalt after ingestion of 1 mg/d by human volunteers for 90 d. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 99(3), 632–646. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.071449>

- Vacheron, J., Desbrosses, G., Renoud, S., Padilla, R., Walker, V., Muller, D., y Prigent-Combaret, C. (2018). Differential contribution of plant-beneficial functions from *Pseudomonas kilonensis* F113 to root system architecture alterations in *Arabidopsis thaliana* and *Zea mays*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(2), 212–223. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-17-0185-R>
- Vacheron, J., Moëgne-Loccoz, Y., Dubost, A., Gonçalves-Martins, M., Muller, D., y Prigent-Combaret, C. (2016). Fluorescent *Pseudomonas* strains with only few plant-beneficial properties are favored in the maize rhizosphere. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01212>
- Vander-Ent, A., Baker, A. J. M., Reeves, R. D., Chaney, R. L., Anderson, C. W. N., Meech, J. A., Erskine, P. D., Simonnot, M.-O., Vaughan, J., Morel, J. L., Echevarria, G., Fogliani, B., Rongliang, Q., y Mulligan, D. R. (2015). Agromining: Farming for metals in the future? *Environmental Science & Technology*, 49(8), 4773–4780. <https://doi.org/10.1021/es506031u>
- Van-Dillewijn, P., Nojiri, H., Meer, J. R., y Wood, T. K. (2009). Bioremediation, a broad perspective. *Microbial Biotechnology*, 2(2), 125–127. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00091.x>
- Verma, J. P., Singh, V., y Yadav, J. (2011). Effect of copper sulphate on seed germination, plant growth and peroxidase activity of mung bean (*Vigna radiata*). *International Journal of Botany*, 7(2), 200–204. <https://doi.org/10.3923/ijb.2011.200.204>
- Vyskočil, A., y Viau, C. (1999). Assessment of molybdenum toxicity in humans. In *JOURNAL OF APPLIED TOXICOLOGY J. Appl. Toxicol* (Vol. 19).
- Wang, Q., Zhou, Q., Huang, L., Xu, S., Fu, Y., Hou, D., Feng, Y., y Yang, X. (2022). Cadmium phytoextraction through *Brassica juncea* L. under different consortia of plant growth-promoting bacteria from different ecological niches. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 237, 113541. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113541>
- Wang, Wu, Y., y Hu, R. (2021). Authors' response to "Comment on - effects of family participatory dignity therapy on the psychological well-being and family function of patients with hematologic malignancies and their family caregivers: A randomised controlled trial." *International Journal of Nursing Studies*, 120, 103965. <https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2021.103965>
- Wani, A. L., Ara, A., y Usmani, J. A. (2015). Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary Toxicology*, 8(2), 55–64. <https://doi.org/10.1515/intox-2015-0009>
- White, P. J., y Brown, P. H. (2010). Plant nutrition for sustainable development and global health. *Annals of Botany*, 105(7), 1073–1080. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq085>
- Woraharn, S., Meeinkuirt, W., Phusantisampan, T., y Chayapan, P. (2021). Rhizofiltration of cadmium and zinc in hydroponic systems. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(5), 204. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05156-6>

- Yan, A., Wang, Y., Tan, S. N., Mohd Yusof, M. L., Ghosh, S., y Chen, Z. (2020). Phytoremediation: A promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00359>
- Yildirim, K. C., Canik Orel, D., Okyay, H., Gursan, M. M., y Demir, I. (2021). Quality of immature and mature pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds in relation to bio-priming with endophytic *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. *Horticulturae*, 7(4), 75. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7040075>
- Zafar-ul-Hye, M., Batool Zahra, M., Danish, S., Abbas, M., Rehim, A., Naeem Akbar, M., Iftikhar, A., Gul, M., Nazir, I., Abid, M., Tahzeeb-ul-Hassan, M., y Murtaza, M. (2020). Multi-strain inoculation with PGPR producing ACC deaminase is more effective than single-strain inoculation to improve wheat (*Triticum aestivum*) Growth and Yield. *Phyton*, 89(2), 405–413. <https://doi.org/10.32604/phyton.2020.08918>
- Zahari, N. Z., Tuah, P. M., y Rahim, S. A. (2021). Inoculation of *Bacillus cereus* enhance phytoremediation efficiency of *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes* in removing heavy metal Pb. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 847(1), 012012. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/847/1/012012>
- Zahir, Z., Ahmad, H., Ali, Q., Asghar, H., Yahya Khan, M., y Irfan, M. (2019). Effect of multi-strain bacterial inoculation with different carriers on growth and yield of maize under saline conditions. *International Journal of Agriculture and Biology*. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1215>
- Zamioudis, C., Mastranesti, P., Dhonukshe, P., Blilou, I., y Pieterse, C. M. J. (2013). Unraveling root developmental programs initiated by beneficial *Pseudomonas* spp. Bacteria. *Plant Physiology*, 162(1), 304–318. <https://doi.org/10.1104/pp.112.212597>
- Zgorelec, Z., Bilandzija, N., Knez, K., Galic, M., y Zuzul, S. (2020). Cadmium and Mercury phytostabilization from soil using *Miscanthus giganteus*. *Scientific Reports*, 10(1), 6685. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63488-5>
- Zhang, Q., Kong, W., Wei, L., Wang, Y., Luo, Y., Wang, P., Liu, J., Schnoor, J. L., y Jiang, G. (2020). Uptake, phytovolatilization, and interconversion of 2,4-dibromophenol and 2,4-dibromoanisole in rice plants. *Environment International*, 142, 105888. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105888>
- Zhao, X., Joo, J. C., y Kim, J. Y. (2021). Evaluation of heavy metal phytotoxicity to *Helianthus annuus* L. using seedling vigor index-soil model. *Chemosphere*, 275, 130026. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130026>
- Zhou, H., Yang, W.-T., Zhou, X., Liu, L., Gu, J.-F., Wang, W.-L., Zou, J.-L., Tian, T., Peng, P.-Q., y Liao, B.-H. (2016). Accumulation of heavy metals in vegetable species planted in contaminated soils and the health risk assessment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(3), 289. <https://doi.org/10.3390/ijerph13030289>

Zuluaga, M. Y. A., Milani, K. M. L., Miras-Moreno, B., Lucini, L., Valentinuzzi, F., Mimmo, T., Pii, Y., Cesco, S., Rodrigues, E. P., y Oliveira, A. L. M. de. (2021). Inoculation with plant growth-promoting bacteria alters the rhizosphere functioning of tomato plants. *Applied Soil Ecology*, 158, 103784. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103784>

Zulueta-Rodríguez, R., Hernández-Montiel, L. G., Reyes-Pérez, J. J., González-Morales, G. Y., y Lara-Capistrán, L. (2020). Effects of co-inoculation of *Bacillus subtilis* and *Rhizoglyphus intraradices* in tomato production (*Solanum lycopersicum* L.) in a semi-hydroponic system. *REVISTA BIO CIENCIAS*, 2007–3380, 1–17. <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e671>

ANEXOS

Análisis estadístico de variables agronómicas en invernadero 120 dds

Cuadro 41. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente peso fresco de fruto (g).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	130.759 ^a	15	8.717	27.036	0.000
Intersección	1286.919	1	1286.919	3991.299	0.000
TS	102.726	1	102.726	318.598	0.000
MO	5.569	3	1.856	5.758	0.003
IN	19.635	1	19.635	60.897	0.000
TS * MO	0.169	3	0.056	0.175	0.913
TS* IN	0.232	1	0.232	0.721	0.402
MO * IN	1.685	3	0.562	1.742	0.178
TS * MO * IN	0.741	3	0.247	0.766	0.521
Error	10.318	32	0.322		
Total	1427.996	48			
Total corregido	141.076	47			
a. R al cuadrado = .927 (R al cuadrado ajustada = .893)					

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 42. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente peso seco de fruto (g).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	218.877a	15	14.592	19.112	0.000
Intersección	850.083	1	850.083	1113.449	0.000
TS	181.663	1	181.663	237.944	0.000
MO	10.951	3	3.650	4.781	0.007
IN	0.891	1	0.891	1.167	0.288
TS * MO	6.404	3	2.135	2.796	0.056
TS* IN	0.354	1	0.354	0.463	0.501
MO * IN	13.807	3	4.602	6.028	0.002
TS * MO * IN	4.807	3	1.602	2.099	0.120
Error	24.431	32	0.763		
Total	1093.391	48			
Total corregido	243.308	47			

a. R al cuadrado = .900 (R al cuadrado ajustada = .853)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 43. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente número de frutos.

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	3.000 ^a	15	0.200	1.067	0.421
Intersección	75.000	1	75.000	400.000	0.000
TS	0.083	1	0.083	0.444	0.510
MO	0.500	3	0.167	0.889	0.457
IN	0.083	1	0.083	0.444	0.510
TS * MO	0.750	3	0.250	1.333	0.281
TS* IN	0.000	1	0.000	0.000	1.000
MO * IN	1.083	3	0.361	1.926	0.145
TS * MO * IN	0.500	3	0.167	0.889	0.457
Error	6.000	32	0.188		
Total	84.000	48			
Total corregido	9.000	47			

a. R al cuadrado = .333 (R al cuadrado ajustada = .021)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 44. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente peso seco de tallo (g).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	15.844 ^a	15	1.056	32.650	0.000
Intersección	123.139	1	123.139	3806.324	0.000
TS	10.725	1	10.725	331.511	0.000
MO	0.681	3	0.227	7.012	0.001
IN	2.690	1	2.690	83.148	0.000
TS * MO	0.106	3	0.035	1.092	0.367
TS* IN	0.993	1	0.993	30.686	0.000
MO * IN	0.277	3	0.092	2.856	0.052
TS * MO * IN	0.373	3	0.124	3.840	0.019
Error	1.035	32	0.032		
Total	140.018	48			
Total corregido	16.879	47			

a. R al cuadrado = .939 (R al cuadrado ajustada = .910)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 45. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente peso seco de raíz (g).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	4.234 ^a	15	0.282	43.423	0.000
Intersección	45.709	1	45.709	7031.855	0.000
TS	2.922	1	2.922	449.594	0.000
MO	0.495	3	0.165	25.381	0.000
IN	0.611	1	0.611	93.984	0.000
TS * MO	0.075	3	0.025	3.833	0.019
TS* IN	0.066	1	0.066	10.087	0.003
MO * IN	0.033	3	0.011	1.691	0.189
TS * MO * IN	0.032	3	0.011	1.656	0.196
Error	0.208	32	0.007		
Total	50.151	48			
Total corregido	4.442	47			

a. R al cuadrado = .953 (R al cuadrado ajustada = .931)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 46. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente área foliar (cm²).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	109333.332a	15	7288.889	4.408	0.000
Intersección	32150658.563	1	32150658.563	19444.178	0.000
TS	21043.339	1	21043.339	12.727	0.001
MO	464.089	3	154.696	0.094	0.963
IN	65821.884	1	65821.884	39.808	0.000
TS * MO	4340.276	3	1446.759	0.875	0.464
TS* IN	11128.303	1	11128.303	6.730	0.014
MO * IN	2148.811	3	716.270	0.433	0.731
TS * MO * IN	4386.631	3	1462.210	0.884	0.460
Error	52911.523	32	1653.485		
Total	32312903.419	48			
Total corregido	162244.856	47			
a. R al cuadrado = .674 (R al cuadrado ajustada = .521)					

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 47. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente días a floración.

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	149.000 ^a	15	9.933	1.863	0.069
Intersección	251720.333	1	251720.333	47197.562	0.000
TS	56.333	1	56.333	10.563	0.003
MO	17.667	3	5.889	1.104	0.362
IN	5.333	1	5.333	1.000	0.325
TS * MO	8.333	3	2.778	0.521	0.671
TS* IN	1.333	1	1.333	0.250	0.620
MO * IN	4.667	3	1.556	0.292	0.831
TS * MO * IN	55.333	3	18.444	3.458	0.028
Error	170.667	32	5.333		
Total	252040.000	48			
Total corregido	319.667	47			
a. R al cuadrado = .466 (R al cuadrado ajustada = .216)					

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 48. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente diámetro de tallo (mm).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	12.013 ^a	15	0.801	5.181	0.000
Intersección	806.880	1	806.880	5219.709	0.000
TS	5.333	1	5.333	34.501	0.000
MO	1.220	3	0.407	2.631	0.067
IN	3.968	1	3.968	25.666	0.000
TS * MO	0.420	3	0.140	0.906	0.449
TS* IN	0.041	1	0.041	0.264	0.611
MO * IN	0.922	3	0.307	1.989	0.135
TS * MO * IN	0.109	3	0.036	0.235	0.871
Error	4.947	32	0.155		
Total	823.840	48			
Total corregido	16.960	47			

a. R al cuadrado = .708 (R al cuadrado ajustada = .572)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 49. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente altura de tallo (cm).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1150.667 ^a	15	76.711	3.951	0.001
Intersección	78732.000	1	78732.000	4054.867	0.000
TS	720.750	1	720.750	37.120	0.000
MO	94.833	3	31.611	1.628	0.202
IN	154.083	1	154.083	7.936	0.008
TS * MO	170.417	3	56.806	2.926	0.049
TS* IN	5.333	1	5.333	0.275	0.604
MO * IN	3.417	3	1.139	0.059	0.981
TS * MO * IN	1.833	3	0.611	0.031	0.992
Error	621.333	32	19.417		
Total	80504.000	48			
Total corregido	1772.000	47			

a. R al cuadrado = .649 (R al cuadrado ajustada = .485)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 50. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente ancho de fruto (mm).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	280.238 ^a	15	18.683	16.885	0.000
Intersección	13889.005	1	13889.005	12552.669	0.000
TS	163.910	1	163.910	148.140	0.000
MO	12.036	3	4.012	3.626	0.023
IN	72.767	1	72.767	65.766	0.000
TS * MO	1.657	3	0.552	0.499	0.685
TS* IN	19.380	1	19.380	17.516	0.000
MO * IN	7.517	3	2.506	2.265	0.100
TS * MO * IN	2.971	3	0.990	0.895	0.454
Error	35.407	32	1.106		
Total	14204.650	48			
Total corregido	315.645	47			

a. R al cuadrado = .888 (R al cuadrado ajustada = .835)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 51. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente largo de fruto (mm).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	4345.001 ^a	15	289.667	10.682	0.000
Intersección	181978.755	1	181978.755	6710.647	0.000
TS	2484.002	1	2484.002	91.600	0.000
MO	11.721	3	3.907	0.144	0.933
IN	1422.452	1	1422.452	52.454	0.000
TS * MO	16.594	3	5.531	0.204	0.893
TS* IN	149.460	1	149.460	5.511	0.025
MO * IN	89.161	3	29.720	1.096	0.365
TS * MO * IN	171.612	3	57.204	2.109	0.119
Error	867.773	32	27.118		
Total	187191.530	48			
Total corregido	5212.775	47			

a. R al cuadrado = .834 (R al cuadrado ajustada = .755)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 52. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente número de hojas.

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	17.333 ^a	15	1.156	1.499	0.164
Intersección	2352.000	1	2352.000	3051.243	0.000
TS	6.750	1	6.750	8.757	0.006
MO	2.667	3	0.889	1.153	0.343
IN	1.333	1	1.333	1.730	0.198
TS * MO	0.917	3	0.306	0.396	0.756
TS* IN	0.083	1	0.083	0.108	0.744
MO * IN	0.667	3	0.222	0.288	0.833
TS * MO * IN	4.917	3	1.639	2.126	0.116
Error	24.667	32	0.771		
Total	2394.000	48			
Total corregido	42.000	47			

a. R al cuadrado = .413 (R al cuadrado ajustada = .137)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 53. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente contenido de clorofila (SPAD).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	158.433 ^a	15	10.562	0.631	0.827
Intersección	134133.308	1	134133.308	8013.042	0.000
TS	0.030	1	0.030	0.002	0.966
MO	22.034	3	7.345	0.439	0.727
IN	82.687	1	82.687	4.940	0.033
TS * MO	3.905	3	1.302	0.078	0.972
TS* IN	2.430	1	2.430	0.145	0.706
MO * IN	18.191	3	6.064	0.362	0.781
TS * MO * IN	29.155	3	9.718	0.581	0.632
Error	535.660	32	16.739		
Total	134827.400	48			
Total corregido	694.093	47			

a. R al cuadrado = .228 (R al cuadrado ajustada = -.133)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 54. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente volumen radical (cm³).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	19.580 ^a	15	1.305	14.371	0.000
Intersección	1144.653	1	1144.653	12601.688	0.000
TS	6.021	1	6.021	66.284	0.000
MO	4.407	3	1.469	16.171	0.000
IN	8.333	1	8.333	91.743	0.000
TS * MO	0.236	3	0.079	0.865	0.469
TS* IN	0.441	1	0.441	4.853	0.035
MO * IN	0.060	3	0.020	0.220	0.882
TS * MO * IN	0.082	3	0.027	0.303	0.823
Error	2.907	32	0.091		
Total	1167.140	48			
Total corregido	22.487	47			

a. R al cuadrado = .871 (R al cuadrado ajustada = .810)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.

Cuadro 55. Prueba de efectos inter-sujetos de la variable dependiente longitud de raíz (cm).

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	5918.126 ^a	15	394.542	159.787	0.000
Intersección	35002.801	1	35002.801	14175.957	0.000
TS	1817.941	1	1817.941	736.257	0.000
MO	587.274	3	195.758	79.281	0.000
IN	3165.501	1	3165.501	1282.012	0.000
TS * MO	46.018	3	15.339	6.212	0.002
TS* IN	231.441	1	231.441	93.732	0.000
MO * IN	65.984	3	21.995	8.908	0.000
TS * MO * IN	3.967	3	1.322	0.536	0.661
Error	79.013	32	2.469		
Total	40999.940	48			
Total corregido	5997.139	47			

a. R al cuadrado = .987 (R al cuadrado ajustada = .981)

Nota: MO: factor materia orgánica, IN: factor inoculación, TS: factor tipo de suelo.