

SEP

POLIBOTÁNICA

ISSN 1405-2768



Enero 2022

Núm. 53

POLIBOTÁNICA



CONACYT



Núm. 53

CONACYT
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Enero 2022

PÁG.

CONTENIDO

- 1 Fabáceas del Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca, Chihuahua, México
Fabaceae of the Flora and Fauna Protection Area Médanos de Samalayuca, Chihuahua, Mexico
J.R. Rueda-Torres | L. De León Pesqueira | A.B. Gatica Colima
- 13 Estudio de la flora presente en apiarios de tres municipios en el estado de Yucatán, México
Study of flora present in apiaries of three municipalities in the state of Yucatan, Mexico
C.I. Briceño Santiago | J. Cano Sosa | A.L. Ramos Díaz | R. Noriega Trejo | D.I. Couoh May
- 35 Relaciones filogenéticas de especies de *Phaseolus* de México con base en marcadores de ADN cloroplástico
Phylogenetic relationships of Phaseolus species from México based on chloroplastic DNA markers
V.H. Villarreal Villagrán | J. S. Muruaga Martínez | M.L.P. Vargas Vázquez | N. Mayek Pérez | S. Hernández Delgado
- 53 Las ingresiones e islas de los bosques espinosos del Caldenal dentro de los pastizales Austral Pampeanos
The Caldenal thorny forests ingressions and islands inside the Austral Pampean grasslands
E.L. Guerrero
- 69 Diversidad de especies de plantas arvenses en tres monocultivos del Bajío, México
Diversity of weed species in three monocultures from Bajío, Mexico
R. Guzmán Mendoza | V. Hernández Hernández | M.D. Salas Araiza | H.G. Núñez Palenius
- 87 Genetic diversity and genetic structure of *Capsicum annuum* L., from wild, homegarden and cultivated populations in a heterogeneous environment in Oaxaca, Mexico
Diversidad genética y estructura genética de Capsicum annuum L., de poblaciones silvestres, de traspatio y cultivadas en un ambiente heterogéneo en Oaxaca, México
R.T. Tapiaez | J.M. Peñaloza Ramírez | A.P. Olvera | A.L. Albarran Lara | K. Oyama
- 105 Morfología polínica de *Neomillspaughia* y *Podopterus* (Polygonaceae: Eriogonoideae: Coccolobeae)
Pollen morphology of Neomillspaughia and Podopterus (Polygonaceae: Eriogonoideae: Coccolobeae)
K.C. Durán Escalante | J.J. Ortiz Díaz | M. M. Ferrer | J. Tun Garrido
- 119 Morfoanatomía, histoquímica y germinación de las semillas de *Mammillaria parkinsonii* Ehrenb. (Cactaceae)
Morphoanatomy, histochemistry and germination of the seeds of Mammillaria parkinsonii Ehrenb. (Cactaceae)
Y. Uribe Salazar | A. Quintanar Isaías | C. Barbosa Martínez | J. Flores | C.L. Jiménez Sierra
- 135 Asymbiotic germination, *ex situ* conservation and *in vitro* plant regeneration of *Catasetum integerrimum* Hook
Germinación asimbiótica, conservación ex situ e in vitro regeneración de plantas de Catasetum integerrimum Hook
G. López Puc | G.J. Herrera Cool
- 151 Fitoquímicos y propiedades nutraceuticas de durazno (*Prunus persica* L.) cultivado en Zacatecas
Phytochemicals and nutraceutical properties of peach (Prunus persica L.) harvested in Zacatecas
J. Aguayo Rojas | S. Mora Rochín | X. Tovar Jiménez | J.J. Rochín Medina | R.O. Navarro Cortez
- 167 Evaluation of extracts of endemic trees (*Magnolia* spp.) in Mexico against the fruit fly pest and preliminary phytochemical study
Evaluación de extractos de árboles endémicos (Magnolia spp.) de México contra la plaga de la mosca de la fruta y estudio fitoquímico preliminar
S.G. Vásquez Morales | E.A. Alvarez Vega | D.A. Infante Rodríguez | J.P. Huchin Mian | M. Pedraza Reyes
- 183 Características fenotípicas, nutricionales y nutraceuticas de frutos de chile x'catik, dulce y su híbrido fl (*Capsicum annuum* L.)
Phenotypic, nutritional and nutraceutical traits of x'catik chili fruits, sweet and its fl hybrid (Capsicum annuum L.)
Y.A. Mís Valdez | M.J. Hernández Pinto | R. Garruña | K.B. Medina Dzul | R.H. Andueza Noh
- 197 Mecanismos de infección endógena en frutos de cacao con *Moniliophthora roreri*
Mechanisms of endogenous infection in cocoa fruits with Moniliophthora roreri
V. Flores | L. Gómez Rodríguez | J.A. López García | J. Grajales Conesa
- 211 Efectos de *Bacillus subtilis* cepas GBO3 y IN937b en el crecimiento de maíz (*Zea mays* L.)
Effects of Bacillus subtilis strains GBO3 and IN937b on the growth of corn (Zea mays L.)
A.E. Gutiérrez Calvo | A. Gutiérrez Estrada | C.L. Miceli Méndez | M.A. López Miceli
- 219 Conhecimentos etnobotánicos de mateiros em comunidades rurais da região da Serra das Almas, Paraná - Brasil
Conocimiento etnobotánico de los silvicultores en comunidades rurales de la región Serra das Almas, Paraná - Brasil
Ethnobotanical knowledge of foresters in rural communities in the Serra das Almas region, Paraná - Brazil
M. Ferreira Clarindo | A. Staniski | J. Strachulski
- 239 Valor cultural de los recursos forestales no maderables en comunidades zapotecas de la Sierra Juárez de Oaxaca
Cultural value of non-timber forest resources in Zapotec communities of the Sierra Juarez de Oaxaca
J. Martínez López | N.G. Molina Luna | S. Rangel Landa | C. Aquino Vázquez | A. Acosta Ramos

Portada

Podopterus mexicanus Humb. & Bonpl. Polygonaceae. "Rompe capa". Árboles o arbustos de 1.5-6.0 m de altura, ramas con espina terminal, braquiblastos, hojas fasciculadas, flores blancas a verdosas en fascículos, y frutos cubiertos por el perianto externo que forma alas delgadas y largamente decurrentes hacia el pedicelo. Crece en bosques tropicales caducifolios y bosques espinosos, sobre suelo rocoso negro derivado de rocas ígneas. En elevaciones de 550-760 m. Florece de abril a mayo y fructifica de junio a septiembre. Se distribuye desde México hasta Centroamérica. En México se encuentra en los estados de Colima, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán. Se utiliza como planta melífera y para leña.



Podopterus mexicanus Humb. & Bonpl. Polygonaceae. "Rompe capa". Trees or shrubs 1.5-6.0 m tall, branches with a terminal spine, brachyblasts, fasciculate leaves, white to greenish flowers in fascicles, and fruit covered by the external perianth that forms thin wings and longly decurrent towards the pedicel. It grows in tropical deciduous forests and thorny forests, on black, rocky soil derived from igneous rocks. At elevations of 550-760 m. Blossoms from April to May and bears fruit from June to September. It is distributed from Mexico to Central America. In Mexico it is found in the states of Colima, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Tamaulipas, Veracruz and Yucatán. It is used as a melliferous plant and for firewood.

por/by **Rafael Fernández Nava**



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Director General: *Dr. Arturo Reyes Sandoval*

Secretario General: *Mtro. Juan Manuel Cantú Vázquez*

Secretario Académico: *Dr. David Jaramillo Viguera*

Secretario de Extensión e Integración Social: *Dr. Luis Alfonso Villa Vargas*

Secretario de Investigación y Posgrado: *Dra. Laura Arreola Mendoza*

Secretario de Servicios Educativos: *Dra. Ana Lilia Coria Páez*

Secretario de Administración: *M. en C. Javier Tapia Santoyo*

Director de Educación Superior: *Mtro. Mauricio Igor Jasso Zaranda*

ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Directora:

Dra. Yadira Rivera Espinoza

Subdirectora Académica:

M. en C. Martha Patricia Cervantes Cervantes

Subdirector Administrativo:

Ing. Raúl Chávez Alvircio

Jefe de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación:

Dr. Gerardo Aparicio Ozores

Subdirector de Servicios Educativos e Integración Social:

Dr. Felipe Neri Rodríguez Casasola

POLIBOTÁNICA, Año 27, No. 53, enero-junio 2022, es una publicación semestral editada por el Instituto Politécnico Nacional, a través de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas C.P. 11340 Delegación Miguel Hidalgo México, D.F. Teléfono 57296000 ext. 62331. <http://www.herbario.encb.ipn.mx/>, Editor responsable: Rafael Fernández Nava. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título No. 04-2015-011309001300-203. ISSN impreso: 1405-2768, ISSN digital: 2395-9525, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Unidad de informática de la ENCB del IPN, Rafael Fernández Nava, Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas C.P. 11340 Delegación Miguel Hidalgo México, D.F.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Politécnico Nacional.

REVISTA BOTÁNICA INTERNACIONAL DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

EDITOR EN JEFE

Rafael Fernández Nava

EDITORA ASOCIADA

María de la Luz Arreguín Sánchez

COMITÉ EDITORIAL INTERNACIONAL

Christiane Anderson
University of Michigan
Ann Arbor, Michigan, US

Edith V. Gómez Sosa
Instituto de Botánica Darwinion
Buenos Aires, Argentina

Heike Vibrans
Colegio de Postgraduados
Estado de México, México

Jorge Llorente Bousquets
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

Graciela Calderón de Rzedowski
Instituto de Ecología del Bajío
Pátzcuaro, Mich., México

Delia Fernández González
Universidad de León
León, España

Theodore S. Cochrane
University of Wisconsin
Madison, Wisconsin, US

Jerzy Rzedowski Rotter
Instituto de Ecología del Bajío
Pátzcuaro, Mich., México

Hugo Cota Sánchez
University of Saskatchewan
Saskatoon, Saskatchewan, Canada

Luis Gerardo Zepeda Vallejo
Instituto Politécnico Nacional
Ciudad de México, México

Fernando Chiang Cabrera
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

Claude Sastre
Muséum National d'Histoire Naturelle
Paris, Francia

Thomas F. Daniel
California Academy of Sciences
San Francisco, California, US

Mauricio Velayos Rodríguez
Real Jardín Botánico
Madrid, España

Francisco de Asis Dos Santos
Universidad Estadual de Feira de Santana
Feira de Santana, Brasil

Noemi Waksman de Torres
Universidad Autónoma de Nuevo León
Monterrey, NL, México

Carlos Fabián Vargas Mendoza
Instituto Politécnico Nacional
Ciudad de México, México

Julieta Carranza Velázquez
Universidad de Costa Rica
San Pedro, Costa Rica

José Luis Godínez Ortega
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

Tom Wendt
University of Texas
Austin, Texas, US

José Manuel Rico Ordaz
Universidad de Oviedo
Oviedo, España

DISEÑO Y FORMACIÓN ELECTRÓNICA

Luz Elena Tejeda Hernández

OPEN JOURNAL SYSTEM Y TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN

Pedro Aráoz Palomino

Toda correspondencia relacionada con la revista deberá ser dirigida a:

Dr. Rafael Fernández Nava
Editor en Jefe de

POLIBOTÁNICA

Departamento de Botánica
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional
Apdo. Postal 17-564, CP 11410, Ciudad de México

Correo electrónico:
polibotanica@gmail.com
rfernan@ipn.mx

Dirección Web
http://www.polibotanica.mx

POLIBOTÁNICA es una revista indexada en:

CONACYT, índice de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnológica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

SciELO - Scientific Electronic Library Online.

Google Académico - Google Scholar.

DOAJ, Directorio de Revistas de Acceso Público.

Dialnet portal de difusión de la producción científica hispana.

REDIB Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico.

LATINDEX, Sistema regional de información en línea para revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal.

PERIODICA, Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias.



EFFECTOS DE *Bacillus subtilis* CEPAS GBO3 y IN937b EN EL CRECIMIENTO DE MAÍZ (*Zea mays* L.)

EFFECTS OF *Bacillus subtilis* STRAINS GBO3 AND IN937b ON THE GROWTH OF CORN (*Zea mays* L.)

Gutiérrez-Calvo, A.E.; A. Gutiérrez Estrada; C.L. Miceli-Méndez y M.A. López-Miceli.

EFFECTOS DE *Bacillus subtilis* CEPAS GBO3 y IN937b EN EL CRECIMIENTO DE MAÍZ (*Zea mays* L.).

EFFECTS OF *Bacillus subtilis* STRAINS GBO3 AND IN937b ON THE GROWTH OF CORN (*Zea mays* L.).



EFFECTOS DE *Bacillus subtilis* CEPAS GBO3 y IN937b EN EL CRECIMIENTO DE MAÍZ (*Zea mays* L.).**EFFECTS OF *Bacillus subtilis* STRAINS GBO3 AND IN937b ON THE GROWTH OF CORN (*Zea mays* L.).****A.E. Gutiérrez-Calvo**

Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

A. Gutiérrez Estrada

Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Chiapas

C.L. Miceli-Méndez/ clara.miceli@unicach.mx**M.A. López-Miceli**

Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas

Gutiérrez-Calvo, A.E.;
A. Gutiérrez Estrada;
C.L. Miceli-Méndez
y M.A. López-Miceli.EFFECTOS DE *Bacillus subtilis*
CEPAS GBO3 y IN937b EN
EL CRECIMIENTO DE
MAÍZ (*Zea mays* L.).EFFECTS OF *Bacillus subtilis*
STRAINS GBO3 AND IN937b
ON THE GROWTH OF
CORN (*Zea mays* L.).

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 211-218. Enero 2022

DOI:

10.18387/polibotanica.53.14

RESUMEN: La utilización de agroquímicos sintéticos para la producción de maíz (*Zea mays* L.) genera riesgos a la salud, además de: interrupción del ciclo ecológico natural de los nutrientes, contaminación ambiental y destrucción de comunidades biológicas. Por ello, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos de las cepas GBO3 y IN937b de *Bacillus subtilis* en el crecimiento de plantas de *Z. mays*. Durante el experimento se realizaron tres inoculaciones de las cepas, una el día de la siembra, otras a los 15 días y la última en los 30 días posteriores. Ambas cepas se inocularon a concentraciones de 1×10^7 UFC•mL⁻¹ y 1×10^8 UFC•mL⁻¹, evaluándose cinco tratamientos: cuatro tratamientos experimentales y un testigo, con 18 repeticiones cada uno, utilizando una semilla por repetición. Los tratamientos que contenían las cepas GBO3 a 10^8 UFC•mL⁻¹ y IN937b a 10^7 UFC•mL⁻¹ de *B. subtilis* presentaron los efectos más significativos en el crecimiento del *Z. mays* para un peso total de 11.29 g en ambos tratamientos, y 6.58 g para el testigo. Así mismo, la totalidad de los tratamientos experimentales incrementaron significativamente la biomasa de las plantas, (Valor $p \leq 0.05$ en el test de Kruskal-Wallis) aplicado debido a la falta de homogeneidad de varianza. Los resultados obtenidos demostraron diferencias significativas en la capacidad de las cepas para estimular positivamente el crecimiento en *Z. mays*.

Palabras clave: Biofertilizante, rizobacterias, PGPR, rizosfera, crecimiento.

ABSTRACT: The use of synthetic fertilizers for production of corn (*Zea mays* L.) generates health risks, interruption of natural ecological cycle of nutrients, environmental contamination and destruction of biological communities, therefore, the present research aimed to evaluate the effects of *Bacillus subtilis* strains GBO3 and IN937b on the growth of maize plants. During the experiment, three inoculations of the strains were carried out, one on the day of sowing, others more at 15 and 30 days later, both strains were tested at concentrations of 1×10^7 CFU•mL⁻¹ and 1×10^8 CFU •mL⁻¹, evaluating five treatments, four experimental treatments and one control, each with 18 repetitions, using one seed per repetition, for a total of 90 experimental units, the treatments containing the GBO3 strains at 10^8 CFU •mL⁻¹ and IN937b at 10^7 CFU •mL⁻¹ of *B. subtilis* showed effects more marked in growing of *Z. mays*, with a total weight of 11.29 g in both treatments, and 6.58 g in the control treatment, likewise, all the experimental treatments significantly increased biomass and plant development, agree with Kruskal-Wallis test ($p \leq 0.05$) applied for non-homogeneous variances, the results of this research showed that the strains have the ability to stimulate positively the growth *Z. mays*.

Key words: Rhizobacteria; *Zea mays*; *Bacillus subtilis*; Plant growth promoting bacteria.

INTRODUCCIÓN

Z. mays es uno de los cereales más cultivados en el mundo (Agbodjato *et al.*, 2018), y debido a ello, existe una alta demanda del grano, lo cual ha derivado en prácticas de cultivo asociadas al uso intensivo de productos agroquímicos sintéticos, que a su vez, han generado una disminución de la fertilidad del suelo (Amogou *et al.*, 2018), contaminación ambiental, riesgos a la salud, interrupción del ciclo ecológico natural de los nutrientes y la destrucción de comunidades biológicas (Bhardwaj *et al.*, 2017).

Tomando en consideración estas problemáticas, durante los últimos años se han desarrollado e implementado diversas técnicas y prácticas que promueven la restauración del equilibrio biológico de los suelos, una de estas alternativas es el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (*Plant growth promoting rhizobacteria*, PGPR), que producen alteraciones de toda la comunidad microbiana en el nicho de la rizósfera a través de la producción de diversas sustancias (Kloepper *et al.*, 1980). aportando beneficios como, tolerancia al estrés por sequía, salinidad y biótico, además de incrementar la absorción de nutrientes, mejorar la tasa de germinación, estimular el crecimiento de las plantas mediante producción de fitohormonas, mejora del suelo, biorremediación de metales pesados y contaminantes, además de modular los metabolitos secundarios de las plantas (Basu *et al.*, 2021).

Las PGPR actúan directamente sobre las plantas facilitando la adquisición de recursos como nitrógeno, fósforo y minerales esenciales a través de la fijación biológica de nitrógeno, la solubilización de fosfato y el secuestro de hierro por el sideróforo, respectivamente, o modulando los niveles de hormonas vegetales como auxinas, giberelinas (GA), citoquininas (CK) y óxido nítrico (NO), o bien, de manera indirecta con la competencia en la rizósfera, la resistencia sistémica inducida (ISR) y biosíntesis de fitohormonas relacionadas con el estrés como el ácido jasmónico (JA), cadaverina (Cad) o con el catabolismo del etileno como la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa (Parray *et al.*, 2016).

En este sentido, se han realizado diversos trabajos sobre el efecto de las PGPR en *Z. mays*, Kumar *et al.*, (2020) evaluaron el efecto de las nanopartículas de plata y *Bacillus cereus* LPR2 sobre el crecimiento de *Z. mays* determinaron que ambos pueden ser empleados como bioinoculantes y estimulantes del crecimiento y, *B. cereus* LPR2 como un inhibidor de crecimiento de patógenos, por su parte Ferreira *et al.*, (2018) realizaron un estudio sobre el efecto de *B. subtilis* en la mejora a la tolerancia del *Z. mays* a la sequía, analizando cuatro niveles de salinidad, encontraron que la salinidad influye negativamente en el crecimiento de *Z. mays*, sin embargo, la inoculación de *B. subtilis* mejora el crecimiento de las plantas en condiciones de salinidad al igual disminuye los daños bioquímicos. Mientras que, (Ahmad *et al.*, 2019), empleó *Bacillus aryabhatai* S10 y *Bacillus subtilis* ZM63 como bioinoculantes en frijol y *Z. mays*, encontrando que ambas cepas aumentan el crecimiento de las plantas y el estado nutricional.

Considerando lo antes mencionado, y bajo la hipótesis de que el uso de las cepas GBO3 o IN937b de *B. subtilis* promueven la organogénesis en plantas de *Z. mays*, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de *B. subtilis* en el crecimiento de *Z. mays*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y microorganismos

El presente trabajo se desarrolló en dos fases, durante la primera fase se realizó la reactivación de las cepas de IN937b y GBO3 de *B. subtilis* en agar de soya tripticaseína (TSA - tryptic soy agar) a una temperatura de 20 °C durante 24 horas (h), y posteriormente, se cultivaron colonias aisladas en caldo soya tripticaseína (TSB - tryptic soy broth) durante 24 h a 28 °C en un agitador orbital a 150 rpm, luego las células se cosecharon por centrifugación a 8000 x g y se

resuspendieron en agua destilada estéril a una concentración 1×10^7 UFC•mL⁻¹ y 1×10^8 UFC•mL⁻¹ (Pulido Jiménez, 2016), previo a la inoculación en una variedad criolla de *Z. mays* L. llamada Campeón, de la región Frailesca, Chiapas, México. La determinación de la población bacteriana se realizó con la técnica del Número Más Probable (NMP) (Ranganayaki *et al.*, 2006). Las cepas fueron donadas por el Laboratorio del Departamento de Entomología y Patología Vegetal de la Universidad de Alburn Estados Unidos.

Tratamientos

Para la determinación de los tratamientos se empleó un diseño de bloques al azar, para cinco tratamientos, cuatro de ellos experimentales y un testigo, cada tratamiento constó de 18 repeticiones, el experimento tuvo una duración de 40 días contados a partir de la siembra de las semillas. Los procesos de preparación del inóculo, desinfección de semilla e inoculación se describen mas adelante.

Tabla 1. Tratamientos para la determinación del efecto de la aplicación de las cepas IN937b y GBO3 de *B. subtilis* en plantas de *Z. mays*.

Tratamientos	<i>Bacillus subtilis</i>	Concentraciones	Unidades Experimentales
T1	GB03	10^7 UFC•mL ⁻¹	18
T2	GB03	10^8 UFC•mL ⁻¹	18
T3	IN937b	10^7 UFC•mL ⁻¹	18
T4	IN937b	10^8 UFC•mL ⁻¹	18
T5	TESTIGO	Agua destilada	18

Las soluciones bacterianas se aplicaron en tres fases, la primera fue la inoculación previa a la siembra de las semillas, la segunda 15 días posteriores a la siembra, ésto durante la etapa de trasplante a macetas y la tercera fue 30 días posteriores a la siembra, los procedimientos de inoculación, siembra y trasplante se detallan más adelante.

Desinfección e inoculación de la semilla

Se realizó la selección de semillas de tamaño similar, para posteriormente desinfectarlas mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio comercial (Cloralex®) al 6% durante 2 min, en agitación constante para favorecer el contacto del agente de esterilización. Una vez finalizada la agitación se retiró el hipoclorito de sodio por decantación, y se realizaron tres lavados con agua destilada estéril con una duración de 1 min cada uno (Canto-Martín *et al.*, 2004; Reyes *et al.*, 2008).

Una vez desinfectadas las semillas, se sumergieron en 500 mL de la solución bacteriana o en agua destilada de acuerdo al tratamiento, durante 20 min, posterior a ello las semillas se sembraron a 3 cm de profundidad en charolas de germinación de 70 cavidades (cavidad 6 cm de diámetro por 15 cm de profundidad) con 1 semilla por cavidad; el sustrato empleado fue Peat moss (Premier®) previamente esterilizado en autoclave a 15 PSI durante 15 minutos y humedecido con agua corriente, finalizada la siembra se agregaron 5 mL de la solución respectiva al tratamiento de cada semilla. Las charolas se llevaron a un invernadero tipo capilla de 9 m de ancho, con una altura de 3 m al canalón y 4.5 m al zenit con cubierta plástica y malla sombra del 40%, con una temperatura máxima de 30°C, una mínima de 20 °C y humedad relativa del 65%, las charolas se colocaron en estructuras metálicas que las mantuvieron separadas del suelo, el riego se realizó manualmente hasta el trasplante (Canto-Martín *et al.*, 2004; García-Olivares *et al.*, 2007).

Trasplante

A los 15 días posteriores a la siembra, las plantas de *Z. mays* se trasplantaron a macetas de plástico de 20 cm de diámetro por 15 cm de profundidad, el sustrato empleado consistió en 50% de Peat moss (Premier®) y 50% de tierra negra previamente esterilizados en autoclave a 15 PSI durante 15 minutos (Sánchez-López *et al.*, 2012).

Al momento del trasplante las raíces de cada planta fueron sumergidas durante 1 min en la solución respectiva a su tratamiento; una vez trasplantadas se aplicaron 10 mL de solución correspondiente junto al tallo. Las macetas se colocaron en estructuras metálicas en invernadero y se regaron manualmente de forma homogénea con 300 mL de agua por unidad experimental, con un intervalo de 3 días; 15 días después del trasplante se aplicaron 10 mL de la solución del tratamiento correspondiente.

Una vez finalizado el periodo de 40 días posteriores a la siembra de las semillas, se retiraron manualmente las plantas de las macetas y removieron los restos de sustrato sacudiendo las raíces cuidadosamente, para posteriormente medir los siguientes parámetros (Tabla 2).

Tabla 2. Parámetros y criterios de medición del crecimiento en *Z. mays* L.

Parámetros	Método
1.- Longitud del tallo/parte aérea (cm)	Se midió desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja más nueva, con un vernier digital Traceable®
2.- Longitud de raíz (cm)	Se midió desde la base de las raíces hasta la punta de la raíz más larga, con un vernier digital Traceable®
3.- Diámetro del tallo (cm)	Se midió el diámetro basal del tallo con un vernier digital Traceable®
4.- Peso fresco del tallo/parte aérea (g)	Se determinó pesando el tallo con sus hojas en una balanza analítica Ohaus®.
5.- Peso fresco de la raíz (g)	Se determinó retirando los residuos de sustrato del sistema radical para después pesar todas las raíces en una balanza analítica Ohaus®.
6.- Peso Total (g)	Se determinó pesando la parte aérea y el sistema radical de cada planta con una balanza analítica Ohaus®.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de Kruskal-Wallis ($p \leq 0.05$) debido a que no presentaban homogeneidad de varianza, aunado a lo anterior se aplicó un contraste múltiple de rangos LSD mediante el programa Statgraphics Centurion XV.

RESULTADOS

En el presente estudio se observó que las cepas *B. subtilis* GBO3 y IN937b presentan efectos sobre el crecimiento general de plántulas de *Z. mays* (Tabla 3), obteniéndose pesos de raíz de 7.3 y 6.67 g para los tratamientos 2 y 3, respectivamente (cepas GBO3 1×10^8 UFC•mL⁻¹ y IN937b 1×10^7 UFC•mL⁻¹), superando los 3.54 g del testigo, si bien existió un mayor peso en las raíces de las plántulas, esto no se vio reflejado en su longitud ($P=0.2532$).

En lo referente al peso del tallo, la totalidad de los tratamientos experimentales presentaron una media significativamente superior al testigo siendo los tratamientos 2 y 3 los de mayor peso con 3.99 y 4.62 g, respectivamente, mientras que el testigo presentó un peso de 3.04 g, por otra parte para el diámetro del tallo el único tratamiento estadísticamente diferente del testigo fue el tratamiento 3, con un promedio de 0.6 cm, que representa un incremento del 20% respecto al tratamiento testigo, los resultados obtenidos muestran además un incremento en el peso total, siendo los tratamientos 2 y 3 los mayores, ambos con 11.29 g, mismos que equivalen a un incremento del 72% respecto a los 6.58 g del testigo (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de las cepas GBO3 y IN937b de *B. subtilis* en el crecimiento de plantas de *Z. mays*.

Tratamiento	Longitud de raíz (mm)	Peso de raíz (g)	Longitud de tallo (mm)	Diámetro de tallo (mm)	Peso de tallo (g)	Peso total (g)
T1	67.92±20.84 a	6.03±2.36 bc *	18.6±1.98 ab	0.51±0.08 a	3.8 ±1.13 b*	9.84±3.23 b*
T2	82.75±17.77 c	7.3±2.02 c *	21.6±3.86 cd	0.54±0.07 ab	3.99±0.84 bc*	11.29±2.34 b*
T3	75.96±13.67 bc	6.67±1.39 bc *	23.67±3.15 d*	0.6±0.06 b*	4.62±0.65 c*	11.29±1.57 b*
T4	78.17±21.08 bc	5.95±1.37 b *	16.51±3.44 a*	0.51±0.09 a	3.95±0.97 b*	9.91±2.05 b*
T5	73.03±18.32 bc	3.54±1.41 a	19.97±4.18 bc	0.5±0.05 a	3.04±0.67 a	6.58±1.79 a

Medias con letras diferentes pertenecen a grupos estadísticamente heterogéneos (Tukey, $\alpha=0.05$). Los valores después del signo \pm corresponden a la desviación estándar de la media. * Diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo, mediante contraste múltiple de Duncan.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos señalan que las cepas *B. subtilis* GBO3 y IN937b, presentan efecto sobre el peso de las raíces de *Z. mays*, obteniéndose un peso significativamente mayor ($P=5.5 \times 10^{-6}$), sin embargo en la longitud de la raíz no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P=1.661$). El incremento en peso de la raíz coincide con los resultados reportados por Rodríguez-Hernández *et al.*, (2020) quienes obtuvieron un mayor peso fresco, ésto podría deberse a que de acuerdo con lo referido por García *et al.*, (2015) las cepas tienen la capacidad de solubilizar fosfatos, produciendo un aumento en el crecimiento y el contenido de fósforo en los tejidos de las plantas. Otros estudios han caracterizado bacterias endofíticas de raíces de *Z. mays* entre ellas *Bacillus* sp. cuyas cepas presentan características positivas en la fijación de nitrógeno mediante la caracterización del gen 16S rDNA, donde cuatro cepas presentan características positivas para la producción de nitrógeno (Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020).

Por otra parte la cepa GBO3 ha sido reportada como una cepa con la capacidad de producir compuestos orgánicos implicados en la interrupción de la producción de etileno mediante la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa, (Choudhary *et al.*, 2011), la interrupción en la producción del etileno permite mejorar el crecimiento general de las plantas al aumentar su capacidad de fitoextracción y mejorar la movilidad de los metales pesados y aumentar su biodisponibilidad mediante la liberación de agentes quelantes, acidificación, solubilización de fosfato y cambios redox (Parray *et al.*, 2016), además de evitar la generación de etileno y con ello los procesos de senescencia derivados del mismo. Por lo que, la inhibición del etileno es en sí un estímulo para el crecimiento. Por tanto, el incremento general del peso de la planta es el resultado de este conjunto de estímulos.

Lo anterior concuerda con lo observado en otros órganos, ya que el crecimiento de las plantas inoculadas fue mayor en la longitud ($P=1.4 \times 10^{-5}$), diámetro ($P=1.9 \times 10^{-5}$) y peso de los tallos ($P=1.9 \times 10^{-5}$). Estos resultados concuerdan con lo reportado por García *et al.*, (2015), quienes lograron incrementar la longitud y peso seco del tallo de *Z. mays* mediante el empleo de especies del género *Bacillus*. De igual manera Rojas-Badía *et al.*, (2020), emplearon cepas de *Bacillus* en *Z. mays* obteniendo plantas con mayor vigor.

Uno de los compuestos más importantes para la obtención de plantas vigorosas es el nitrógeno, en este sentido se ha demostrado que los efectos benéficos de los microorganismos rizosféricos están relacionados con la fijación del mismo, en el caso del género *Bacillus*, se consideran fijadores de dinitrógeno, por lo que se utilizan en la promoción del crecimiento de plantas de maíz, además, Rojas *et al.* (2016) demostraron que la totalidad de las cepas de *Bacillus* de su estudio presentaron capacidad para crecer en medios carentes de nitrógeno y fijarlo, permitiendo así obtener plantas más vigorosas.

CONCLUSIONES

A nivel de invernadero las inoculaciones de *B. subtilis* cepas GBO3 y IN937b presentan efectos estimuladores en el crecimiento de plantas de *Z. mays*, de la variedad Campeón de la región Frailesca, Chiapas, México incrementando el peso total, el peso fresco en raíz y la longitud, diámetro y peso fresco en tallo. Siendo cepas promisorias para la promoción del crecimiento vegetal.

LITERATURA CITADA

- Agbodjato, A. N., Noumavo, A. P., Amogou, O., Adoko, M., Dagbenonbakin, G., Falcon-Rodriguez, A., De La Noval Pons, M. B., Adjanohoun, A., & Baba-Moussa, L. (2018). Impact de l'utilisation des Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des Plantes (PGPR) en combinaison avec le chitosane sur la croissance et le rendement du maïs (*Zea mays* L.) sur sol ferrallitique au Sud-Bénin. *Microbiological Research*, 4(0), 395–407.
- Ahmad, M., Adil, Z., Hussain, A., Mumtaz, M. Z., Nafees, M., Ahmad, I., & Jamil, M. (2019). Potential of phosphate solubilizing bacillus strains for improving growth and nutrient uptake in mungbean and maize crops. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 56(2), 283–289. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/19.7285>
- Amogou, O., Dagbénonbakin, G., Agbodjato, N. A., Noumavo, P. A., Salami, H. A., Valère, S., Aguegue, R. M., Assogba, S. A., Djihal, K. F., & Adjanohoun, A. (2018). Influence of Isolated PGPR Rhizobacteria in Central and Northern Benin on Maize Germination and Greenhouse Growth. *American Journal of Plant Sciences*, 9(13), 27775–2793.
- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., & Enshasy, H. El. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (Pgpr) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability (Switzerland)*, 13(3), 1–20. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
- Bhardwaj, G., Shah, R., Joshi, B., & Patel, P. (2017). Klebsiella pneumoniae VRE36 as a PGPR isolated from *Saccharum officinarum* cultivar Co99004. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(01), 047–052.
- Canto-Martín, J. C., Medina-Peralta, S., & Morales Avelino, D. (2004). Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 4, 21–27.
- Choudhary, D. K., Sharma, K. P., & Gaur, R. K. (2011). Biotechnological perspectives of microbes in agro-ecosystems. *Biotechnol Lett*, 33, 1905–1910.

Recibido:
31/marzo/2021

Aceptado:
4/enero/2022

- Ferreira, N. C., Mazzuchelli, R. de C. L., Pacheco, A. C., de Araujo, F. F., Antunes, J. E. L., & de Araujo, A. S. F. (2018). *Bacillus subtilis* improves maize tolerance to salinity. *Ciencia Rural*, 48(8), 6–9. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170910>
- García-olivares, J., Moreno-Medina, V., Rodríguez-Luna, I., Mendoza-Herrera, A., & Mayek-Pérez, N. (2007). Efecto de cepas de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento y rendimiento de maíz. *Fitotec*, 30(3), 305–310.
- García, R. A., Lovaisa, N. C., & Ulla, E. L. (2015). Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfatos del Noroeste Argentino y su efecto en la promoción de crecimiento en maíz (*Zea mays* L.). *Revista Agronómica Del Noroeste Argentino*, 35(1), 13–28.
- Kloepper, J., Schroth, M., & T, M. (1980). “Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield”. *Phytopathology*. *Phytopathology*, 70, 1078–1082.
- Kumar, P., Pahal, V., Gupta, A., Vadhan, R., Chandra, H., & Dubey, R. C. (2020). Effect of silver nanoparticles and *Bacillus cereus* LPR2 on the growth of *Zea mays*. *Scientific Reports*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77460-w>
- Parry, J. A., Jan, S., Kamili, A. N., Qadri, R. A., Egamberdieva, D., & Ahmad, P. (2016). Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(3), 877–902. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9583-4>
- Pulido Jiménez, A. C. (2016). *Evaluación del efecto de Bacillus subtilis EA-CB0575 en la promoción de crecimiento de Zea mays y Solanum lycopersicum a nivel de invernadero* [Universidad EAFIT]. <http://hdl.handle.net/10784/9735>
- Ranganayaki, N., Tilak, K., Manoharachary, C., & Mukerji, K. (2006). Methods and Techniques for Isolation, Enumeration and Characterization of Rhizosphere Microorganisms. In K. Mukerji, C. Manoharachary, & J. Singh (Eds.), *Microbial Activity in the Rhizosphere* (pp. 17–38). Springer.
- Reyes, I., Alvarez, L., El-Ayoubi, H., & Valery, A. (2008). Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. *Bioagro*, 20(1), 37–48.
- Rodríguez-Hernández, M. G., Gallegos-Robles, M. Á., Rodríguez-Sifuentes, L., Fortis-Hernández, M., Guadalupe Luna-Ortega, J., & González-Salas, U. (2020). Native *Bacillus* spp. Strains as sustainable alternative in the yield of corn forage. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 323–331. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.690>
- Rojas-Badía, M. M., Bello-González, M. A., Ríos-Rocafull, Y., Lugo-Moya, D., & Rodríguez Sánchez, J. (2020). Utilización de cepas de *Bacillus* como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales. *Acta Agronómica*, 69(1), 54–60. <https://doi.org/10.15446/acag.v69n1.79606>
- Rojas, M. M., Tejera, B., Bosh, D. M., Ríos, Y., Rodríguez, J., & Heydrich, M. (2016). Potencialidades de cepas de *Bacillus* para la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.). *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50(3), 485–496.
- Sánchez-López, D. B., Gómez-Vargas, R. M., Garrido-Rubiano, M. F., & Bonilla-Buitrago, R. R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(7), 1401–1405.

EFFECTOS DE *Bacillus subtilis* CEPAS GBO3 y IN937b EN EL CRECIMIENTO DE MAÍZ (*Zea mays* L.)

EFFECTS OF *Bacillus subtilis* STRAINS GBO3 AND IN937b ON THE GROWTH OF CORN (*Zea mays* L.)

Gutiérrez-Calvo, A.E.; A. Gutiérrez Estrada; C.L. Miceli-Méndez y M.A. López-Miceli.

EFFECTOS DE *Bacillus subtilis* CEPAS GBO3 y IN937b EN EL CRECIMIENTO DE MAÍZ (*Zea mays* L.).

EFFECTS OF *Bacillus subtilis* STRAINS GBO3 AND IN937b ON THE GROWTH OF CORN (*Zea mays* L.).



EFFECTOS DE *Bacillus subtilis* CEPAS GBO3 y IN937b EN EL CRECIMIENTO DE MAÍZ (*Zea mays* L.).**EFFECTS OF *Bacillus subtilis* STRAINS GBO3 AND IN937b ON THE GROWTH OF CORN (*Zea mays* L.).****A.E. Gutiérrez-Calvo**

Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

A. Gutiérrez Estrada

Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Chiapas

C.L. Miceli-Méndez/ clara.miceli@unicach.mx**M.A. López-Miceli**

Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas

Gutiérrez-Calvo, A.E.;
A. Gutiérrez Estrada;
C.L. Miceli-Méndez
y M.A. López-Miceli.EFFECTOS DE *Bacillus subtilis*
CEPAS GBO3 y IN937b EN
EL CRECIMIENTO DE
MAÍZ (*Zea mays* L.).EFFECTS OF *Bacillus subtilis*
STRAINS GBO3 AND IN937b
ON THE GROWTH OF
CORN (*Zea mays* L.).

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 211-218. Enero 2022

DOI:

10.18387/polibotanica.53.14

RESUMEN: La utilización de agroquímicos sintéticos para la producción de maíz (*Zea mays* L.) genera riesgos a la salud, además de: interrupción del ciclo ecológico natural de los nutrientes, contaminación ambiental y destrucción de comunidades biológicas. Por ello, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos de las cepas GBO3 y IN937b de *Bacillus subtilis* en el crecimiento de plantas de *Z. mays*. Durante el experimento se realizaron tres inoculaciones de las cepas, una el día de la siembra, otras a los 15 días y la última en los 30 días posteriores. Ambas cepas se inocularon a concentraciones de 1×10^7 UFC•mL⁻¹ y 1×10^8 UFC•mL⁻¹, evaluándose cinco tratamientos: cuatro tratamientos experimentales y un testigo, con 18 repeticiones cada uno, utilizando una semilla por repetición. Los tratamientos que contenían las cepas GBO3 a 10^8 UFC•mL⁻¹ y IN937b a 10^7 UFC•mL⁻¹ de *B. subtilis* presentaron los efectos más significativos en el crecimiento del *Z. mays* para un peso total de 11.29 g en ambos tratamientos, y 6.58 g para el testigo. Así mismo, la totalidad de los tratamientos experimentales incrementaron significativamente la biomasa de las plantas, (Valor $p \leq 0.05$ en el test de Kruskal-Wallis) aplicado debido a la falta de homogeneidad de varianza. Los resultados obtenidos demostraron diferencias significativas en la capacidad de las cepas para estimular positivamente el crecimiento en *Z. mays*.

Palabras clave: Biofertilizante, rizobacterias, PGPR, rizosfera, crecimiento.

ABSTRACT: The use of synthetic fertilizers for production of corn (*Zea mays* L.) generates health risks, interruption of natural ecological cycle of nutrients, environmental contamination and destruction of biological communities, therefore, the present research aimed to evaluate the effects of *Bacillus subtilis* strains GBO3 and IN937b on the growth of maize plants. During the experiment, three inoculations of the strains were carried out, one on the day of sowing, others more at 15 and 30 days later, both strains were tested at concentrations of 1×10^7 CFU•mL⁻¹ and 1×10^8 CFU •mL⁻¹, evaluating five treatments, four experimental treatments and one control, each with 18 repetitions, using one seed per repetition, for a total of 90 experimental units, the treatments containing the GBO3 strains at 10^8 CFU •mL⁻¹ and IN937b at 10^7 CFU •mL⁻¹ of *B. subtilis* showed effects more marked in growing of *Z. mays*, with a total weight of 11.29 g in both treatments, and 6.58 g in the control treatment, likewise, all the experimental treatments significantly increased biomass and plant development, agree with Kruskal-Wallis test ($p \leq 0.05$) applied for non-homogeneous variances, the results of this research showed that the strains have the ability to stimulate positively the growth *Z. mays*.

Key words: Rhizobacteria; *Zea mays*; *Bacillus subtilis*; Plant growth promoting bacteria.

INTRODUCCIÓN

Z. mays es uno de los cereales más cultivados en el mundo (Agbodjato *et al.*, 2018), y debido a ello, existe una alta demanda del grano, lo cual ha derivado en prácticas de cultivo asociadas al uso intensivo de productos agroquímicos sintéticos, que a su vez, han generado una disminución de la fertilidad del suelo (Amogou *et al.*, 2018), contaminación ambiental, riesgos a la salud, interrupción del ciclo ecológico natural de los nutrientes y la destrucción de comunidades biológicas (Bhardwaj *et al.*, 2017).

Tomando en consideración estas problemáticas, durante los últimos años se han desarrollado e implementado diversas técnicas y prácticas que promueven la restauración del equilibrio biológico de los suelos, una de estas alternativas es el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (*Plant growth promoting rhizobacteria*, PGPR), que producen alteraciones de toda la comunidad microbiana en el nicho de la rizósfera a través de la producción de diversas sustancias (Kloepper *et al.*, 1980). aportando beneficios como, tolerancia al estrés por sequía, salinidad y biótico, además de incrementar la absorción de nutrientes, mejorar la tasa de germinación, estimular el crecimiento de las plantas mediante producción de fitohormonas, mejora del suelo, biorremediación de metales pesados y contaminantes, además de modular los metabolitos secundarios de las plantas (Basu *et al.*, 2021).

Las PGPR actúan directamente sobre las plantas facilitando la adquisición de recursos como nitrógeno, fósforo y minerales esenciales a través de la fijación biológica de nitrógeno, la solubilización de fosfato y el secuestro de hierro por el sideróforo, respectivamente, o modulando los niveles de hormonas vegetales como auxinas, giberelinas (GA), citoquininas (CK) y óxido nítrico (NO), o bien, de manera indirecta con la competencia en la rizósfera, la resistencia sistémica inducida (ISR) y biosíntesis de fitohormonas relacionadas con el estrés como el ácido jasmónico (JA), cadaverina (Cad) o con el catabolismo del etileno como la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa (Parray *et al.*, 2016).

En este sentido, se han realizado diversos trabajos sobre el efecto de las PGPR en *Z. mays*, Kumar *et al.*, (2020) evaluaron el efecto de las nanopartículas de plata y *Bacillus cereus* LPR2 sobre el crecimiento de *Z. mays* determinaron que ambos pueden ser empleados como bioinoculantes y estimulantes del crecimiento y, *B. cereus* LPR2 como un inhibidor de crecimiento de patógenos, por su parte Ferreira *et al.*, (2018) realizaron un estudio sobre el efecto de *B. subtilis* en la mejora a la tolerancia del *Z. mays* a la sequía, analizando cuatro niveles de salinidad, encontraron que la salinidad influye negativamente en el crecimiento de *Z. mays*, sin embargo, la inoculación de *B. subtilis* mejora el crecimiento de las plantas en condiciones de salinidad al igual disminuye los daños bioquímicos. Mientras que, (Ahmad *et al.*, 2019), empleó *Bacillus aryabhatai* S10 y *Bacillus subtilis* ZM63 como bioinoculantes en frijol y *Z. mays*, encontrando que ambas cepas aumentan el crecimiento de las plantas y el estado nutricional.

Considerando lo antes mencionado, y bajo la hipótesis de que el uso de las cepas GBO3 o IN937b de *B. subtilis* promueven la organogénesis en plantas de *Z. mays*, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de *B. subtilis* en el crecimiento de *Z. mays*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y microorganismos

El presente trabajo se desarrolló en dos fases, durante la primera fase se realizó la reactivación de las cepas de IN937b y GBO3 de *B. subtilis* en agar de soya tripticaseína (TSA - tryptic soy agar) a una temperatura de 20 °C durante 24 horas (h), y posteriormente, se cultivaron colonias aisladas en caldo soya tripticaseína (TSB - tryptic soy broth) durante 24 h a 28 °C en un agitador orbital a 150 rpm, luego las células se cosecharon por centrifugación a 8000 x g y se

resuspendieron en agua destilada estéril a una concentración 1×10^7 UFC•mL⁻¹ y 1×10^8 UFC•mL⁻¹ (Pulido Jiménez, 2016), previo a la inoculación en una variedad criolla de *Z. mays* L. llamada Campeón, de la región Frailesca, Chiapas, México. La determinación de la población bacteriana se realizó con la técnica del Número Más Probable (NMP) (Ranganayaki *et al.*, 2006). Las cepas fueron donadas por el Laboratorio del Departamento de Entomología y Patología Vegetal de la Universidad de Alburn Estados Unidos.

Tratamientos

Para la determinación de los tratamientos se empleó un diseño de bloques al azar, para cinco tratamientos, cuatro de ellos experimentales y un testigo, cada tratamiento constó de 18 repeticiones, el experimento tuvo una duración de 40 días contados a partir de la siembra de las semillas. Los procesos de preparación del inóculo, desinfección de semilla e inoculación se describen mas adelante.

Tabla 1. Tratamientos para la determinación del efecto de la aplicación de las cepas IN937b y GBO3 de *B. subtilis* en plantas de *Z. mays*.

Tratamientos	<i>Bacillus subtilis</i>	Concentraciones	Unidades Experimentales
T1	GB03	10^7 UFC•mL ⁻¹	18
T2	GB03	10^8 UFC•mL ⁻¹	18
T3	IN937b	10^7 UFC•mL ⁻¹	18
T4	IN937b	10^8 UFC•mL ⁻¹	18
T5	TESTIGO	Agua destilada	18

Las soluciones bacterianas se aplicaron en tres fases, la primera fue la inoculación previa a la siembra de las semillas, la segunda 15 días posteriores a la siembra, ésto durante la etapa de trasplante a macetas y la tercera fue 30 días posteriores a la siembra, los procedimientos de inoculación, siembra y trasplante se detallan más adelante.

Desinfección e inoculación de la semilla

Se realizó la selección de semillas de tamaño similar, para posteriormente desinfectarlas mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio comercial (Cloralex®) al 6% durante 2 min, en agitación constante para favorecer el contacto del agente de esterilización. Una vez finalizada la agitación se retiró el hipoclorito de sodio por decantación, y se realizaron tres lavados con agua destilada estéril con una duración de 1 min cada uno (Canto-Martín *et al.*, 2004; Reyes *et al.*, 2008).

Una vez desinfectadas las semillas, se sumergieron en 500 mL de la solución bacteriana o en agua destilada de acuerdo al tratamiento, durante 20 min, posterior a ello las semillas se sembraron a 3 cm de profundidad en charolas de germinación de 70 cavidades (cavidad 6 cm de diámetro por 15 cm de profundidad) con 1 semilla por cavidad; el sustrato empleado fue Peat moss (Premier®) previamente esterilizado en autoclave a 15 PSI durante 15 minutos y humedecido con agua corriente, finalizada la siembra se agregaron 5 mL de la solución respectiva al tratamiento de cada semilla. Las charolas se llevaron a un invernadero tipo capilla de 9 m de ancho, con una altura de 3 m al canalón y 4.5 m al zenit con cubierta plástica y malla sombra del 40%, con una temperatura máxima de 30°C, una mínima de 20 °C y humedad relativa del 65%, las charolas se colocaron en estructuras metálicas que las mantuvieron separadas del suelo, el riego se realizó manualmente hasta el trasplante (Canto-Martín *et al.*, 2004; García-Olivares *et al.*, 2007).

Trasplante

A los 15 días posteriores a la siembra, las plantas de *Z. mays* se trasplantaron a macetas de plástico de 20 cm de diámetro por 15 cm de profundidad, el sustrato empleado consistió en 50% de Peat moss (Premier®) y 50% de tierra negra previamente esterilizados en autoclave a 15 PSI durante 15 minutos (Sánchez-López *et al.*, 2012).

Al momento del trasplante las raíces de cada planta fueron sumergidas durante 1 min en la solución respectiva a su tratamiento; una vez trasplantadas se aplicaron 10 mL de solución correspondiente junto al tallo. Las macetas se colocaron en estructuras metálicas en invernadero y se regaron manualmente de forma homogénea con 300 mL de agua por unidad experimental, con un intervalo de 3 días; 15 días después del trasplante se aplicaron 10 mL de la solución del tratamiento correspondiente.

Una vez finalizado el periodo de 40 días posteriores a la siembra de las semillas, se retiraron manualmente las plantas de las macetas y removieron los restos de sustrato sacudiendo las raíces cuidadosamente, para posteriormente medir los siguientes parámetros (Tabla 2).

Tabla 2. Parámetros y criterios de medición del crecimiento en *Z. mays* L.

Parámetros	Método
1.- Longitud del tallo/parte aérea (cm)	Se midió desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja más nueva, con un vernier digital Traceable®
2.- Longitud de raíz (cm)	Se midió desde la base de las raíces hasta la punta de la raíz más larga, con un vernier digital Traceable®
3.- Diámetro del tallo (cm)	Se midió el diámetro basal del tallo con un vernier digital Traceable®
4.- Peso fresco del tallo/parte aérea (g)	Se determinó pesando el tallo con sus hojas en una balanza analítica Ohaus®.
5.- Peso fresco de la raíz (g)	Se determinó retirando los residuos de sustrato del sistema radical para después pesar todas las raíces en una balanza analítica Ohaus®.
6.- Peso Total (g)	Se determinó pesando la parte aérea y el sistema radical de cada planta con una balanza analítica Ohaus®.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de Kruskal-Wallis ($p \leq 0.05$) debido a que no presentaban homogeneidad de varianza, aunado a lo anterior se aplicó un contraste múltiple de rangos LSD mediante el programa Statgraphics Centurion XV.

RESULTADOS

En el presente estudio se observó que las cepas *B. subtilis* GBO3 y IN937b presentan efectos sobre el crecimiento general de plántulas de *Z. mays* (Tabla 3), obteniéndose pesos de raíz de 7.3 y 6.67 g para los tratamientos 2 y 3, respectivamente (cepas GBO3 1×10^8 UFC•mL⁻¹ y IN937b 1×10^7 UFC•mL⁻¹), superando los 3.54 g del testigo, si bien existió un mayor peso en las raíces de las plántulas, esto no se vio reflejado en su longitud ($P=0.2532$).

En lo referente al peso del tallo, la totalidad de los tratamientos experimentales presentaron una media significativamente superior al testigo siendo los tratamientos 2 y 3 los de mayor peso con 3.99 y 4.62 g, respectivamente, mientras que el testigo presentó un peso de 3.04 g, por otra parte para el diámetro del tallo el único tratamiento estadísticamente diferente del testigo fue el tratamiento 3, con un promedio de 0.6 cm, que representa un incremento del 20% respecto al tratamiento testigo, los resultados obtenidos muestran además un incremento en el peso total, siendo los tratamientos 2 y 3 los mayores, ambos con 11.29 g, mismos que equivalen a un incremento del 72% respecto a los 6.58 g del testigo (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de las cepas GBO3 y IN937b de *B. subtilis* en el crecimiento de plantas de *Z. mays*.

Tratamiento	Longitud de raíz (mm)	Peso de raíz (g)	Longitud de tallo (mm)	Diámetro de tallo (mm)	Peso de tallo (g)	Peso total (g)
T1	67.92±20.84 a	6.03±2.36 bc *	18.6±1.98 ab	0.51±0.08 a	3.8 ±1.13 b*	9.84±3.23 b*
T2	82.75±17.77 c	7.3±2.02 c *	21.6±3.86 cd	0.54±0.07 ab	3.99±0.84 bc*	11.29±2.34 b*
T3	75.96±13.67 bc	6.67±1.39 bc *	23.67±3.15 d*	0.6±0.06 b*	4.62±0.65 c*	11.29±1.57 b*
T4	78.17±21.08 bc	5.95±1.37 b *	16.51±3.44 a*	0.51±0.09 a	3.95±0.97 b*	9.91±2.05 b*
T5	73.03±18.32 bc	3.54±1.41 a	19.97±4.18 bc	0.5±0.05 a	3.04±0.67 a	6.58±1.79 a

Medias con letras diferentes pertenecen a grupos estadísticamente heterogéneos (Tukey, $\alpha=0.05$). Los valores después del signo \pm corresponden a la desviación estándar de la media. * Diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo, mediante contraste múltiple de Duncan.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos señalan que las cepas *B. subtilis* GBO3 y IN937b, presentan efecto sobre el peso de las raíces de *Z. mays*, obteniéndose un peso significativamente mayor ($P=5.5 \times 10^{-6}$), sin embargo en la longitud de la raíz no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P=1.661$). El incremento en peso de la raíz coincide con los resultados reportados por Rodríguez-Hernández *et al.*, (2020) quienes obtuvieron un mayor peso fresco, ésto podría deberse a que de acuerdo con lo referido por García *et al.*, (2015) las cepas tienen la capacidad de solubilizar fosfatos, produciendo un aumento en el crecimiento y el contenido de fósforo en los tejidos de las plantas. Otros estudios han caracterizado bacterias endofíticas de raíces de *Z. mays* entre ellas *Bacillus* sp. cuyas cepas presentan características positivas en la fijación de nitrógeno mediante la caracterización del gen 16S rDNA, donde cuatro cepas presentan características positivas para la producción de nitrógeno (Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020).

Por otra parte la cepa GBO3 ha sido reportada como una cepa con la capacidad de producir compuestos orgánicos implicados en la interrupción de la producción de etileno mediante la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa, (Choudhary *et al.*, 2011), la interrupción de la producción del etileno permite mejorar el crecimiento general de las plantas al aumentar su capacidad de fitoextracción y mejorar la movilidad de los metales pesados y aumentar su biodisponibilidad mediante la liberación de agentes quelantes, acidificación, solubilización de fosfato y cambios redox (Parray *et al.*, 2016), además de evitar la generación de etileno y con ello los procesos de senescencia derivados del mismo. Por lo que, la inhibición del etileno es en sí un estímulo para el crecimiento. Por tanto, el incremento general del peso de la planta es el resultado de este conjunto de estímulos.

Lo anterior concuerda con lo observado en otros órganos, ya que el crecimiento de las plantas inoculadas fue mayor en la longitud ($P=1.4 \times 10^{-5}$), diámetro ($P=1.9 \times 10^{-5}$) y peso de los tallos ($P=1.9 \times 10^{-5}$). Estos resultados concuerdan con lo reportado por García *et al.*, (2015), quienes lograron incrementar la longitud y peso seco del tallo de *Z. mays* mediante el empleo de especies del género *Bacillus*. De igual manera Rojas-Badía *et al.*, (2020), emplearon cepas de *Bacillus* en *Z. mays* obteniendo plantas con mayor vigor.

Uno de los compuestos más importantes para la obtención de plantas vigorosas es el nitrógeno, en este sentido se ha demostrado que los efectos benéficos de los microorganismos rizosféricos están relacionados con la fijación del mismo, en el caso del género *Bacillus*, se consideran fijadores de dinitrógeno, por lo que se utilizan en la promoción del crecimiento de plantas de maíz, además, Rojas *et al.* (2016) demostraron que la totalidad de las cepas de *Bacillus* de su estudio presentaron capacidad para crecer en medios carentes de nitrógeno y fijarlo, permitiendo así obtener plantas más vigorosas.

CONCLUSIONES

A nivel de invernadero las inoculaciones de *B. subtilis* cepas GBO3 y IN937b presentan efectos estimuladores en el crecimiento de plantas de *Z. mays*, de la variedad Campeón de la región Frailesca, Chiapas, México incrementando el peso total, el peso fresco en raíz y la longitud, diámetro y peso fresco en tallo. Siendo cepas promisorias para la promoción del crecimiento vegetal.

LITERATURA CITADA

- Agbodjato, A. N., Noumavo, A. P., Amogou, O., Adoko, M., Dagbenonbakin, G., Falcon-Rodriguez, A., De La Noval Pons, M. B., Adjanohoun, A., & Baba-Moussa, L. (2018). Impact de l'utilisation des Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des Plantes (PGPR) en combinaison avec le chitosane sur la croissance et le rendement du maïs (*Zea mays* L.) sur sol ferrallitique au Sud-Bénin. *Microbiological Research*, 4(0), 395–407.
- Ahmad, M., Adil, Z., Hussain, A., Mumtaz, M. Z., Nafees, M., Ahmad, I., & Jamil, M. (2019). Potential of phosphate solubilizing bacillus strains for improving growth and nutrient uptake in mungbean and maize crops. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 56(2), 283–289. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/19.7285>
- Amogou, O., Dagbénonbakin, G., Agbodjato, N. A., Noumavo, P. A., Salami, H. A., Valère, S., Aguegue, R. M., Assogba, S. A., Djihal, K. F., & Adjanohoun, A. (2018). Influence of Isolated PGPR Rhizobacteria in Central and Northern Benin on Maize Germination and Greenhouse Growth. *American Journal of Plant Sciences*, 9(13), 27775–2793.
- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., & Enshasy, H. El. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (Pgpr) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability (Switzerland)*, 13(3), 1–20. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
- Bhardwaj, G., Shah, R., Joshi, B., & Patel, P. (2017). Klebsiella pneumoniae VRE36 as a PGPR isolated from *Saccharum officinarum* cultivar Co99004. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(01), 047–052.
- Canto-Martín, J. C., Medina-Peralta, S., & Morales Avelino, D. (2004). Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 4, 21–27.
- Choudhary, D. K., Sharma, K. P., & Gaur, R. K. (2011). Biotechnological perspectives of microbes in agro-ecosystems. *Biotechnol Lett*, 33, 1905–1910.

Recibido:
31/marzo/2021

Aceptado:
4/enero/2022

- Ferreira, N. C., Mazzuchelli, R. de C. L., Pacheco, A. C., de Araujo, F. F., Antunes, J. E. L., & de Araujo, A. S. F. (2018). *Bacillus subtilis* improves maize tolerance to salinity. *Ciencia Rural*, 48(8), 6–9. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170910>
- García-olivares, J., Moreno-Medina, V., Rodríguez-Luna, I., Mendoza-Herrera, A., & Mayek-Pérez, N. (2007). Efecto de cepas de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento y rendimiento de maíz. *Fitotec*, 30(3), 305–310.
- García, R. A., Lovaisa, N. C., & Ulla, E. L. (2015). Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfatos del Noroeste Argentino y su efecto en la promoción de crecimiento en maíz (*Zea mays* L.). *Revista Agronómica Del Noroeste Argentino*, 35(1), 13–28.
- Kloepper, J., Schroth, M., & T, M. (1980). “Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield”. *Phytopathology*. *Phytopathology*, 70, 1078–1082.
- Kumar, P., Pahal, V., Gupta, A., Vadhan, R., Chandra, H., & Dubey, R. C. (2020). Effect of silver nanoparticles and *Bacillus cereus* LPR2 on the growth of *Zea mays*. *Scientific Reports*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77460-w>
- Parry, J. A., Jan, S., Kamili, A. N., Qadri, R. A., Egamberdieva, D., & Ahmad, P. (2016). Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(3), 877–902. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9583-4>
- Pulido Jiménez, A. C. (2016). *Evaluación del efecto de Bacillus subtilis EA-CB0575 en la promoción de crecimiento de Zea mays y Solanum lycopersicum a nivel de invernadero* [Universidad EAFIT]. <http://hdl.handle.net/10784/9735>
- Ranganayaki, N., Tilak, K., Manoharachary, C., & Mukerji, K. (2006). Methods and Techniques for Isolation, Enumeration and Characterization of Rhizosphere Microorganisms. In K. Mukerji, C. Manoharachary, & J. Singh (Eds.), *Microbial Activity in the Rhizosphere* (pp. 17–38). Springer.
- Reyes, I., Alvarez, L., El-Ayoubi, H., & Valery, A. (2008). Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. *Bioagro*, 20(1), 37–48.
- Rodríguez-Hernández, M. G., Gallegos-Robles, M. Á., Rodríguez-Sifuentes, L., Fortis-Hernández, M., Guadalupe Luna-Ortega, J., & González-Salas, U. (2020). Native *Bacillus* spp. Strains as sustainable alternative in the yield of corn forage. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 323–331. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.690>
- Rojas-Badía, M. M., Bello-González, M. A., Ríos-Rocafull, Y., Lugo-Moya, D., & Rodríguez Sánchez, J. (2020). Utilización de cepas de *Bacillus* como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales. *Acta Agronómica*, 69(1), 54–60. <https://doi.org/10.15446/acag.v69n1.79606>
- Rojas, M. M., Tejera, B., Bosh, D. M., Ríos, Y., Rodríguez, J., & Heydrich, M. (2016). Potencialidades de cepas de *Bacillus* para la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.). *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50(3), 485–496.
- Sánchez-López, D. B., Gómez-Vargas, R. M., Garrido-Rubiano, M. F., & Bonilla-Buitrago, R. R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(7), 1401–1405.