

***Bacillus* spp. en el crecimiento y rendimiento de *Capsicum chinense* Jacq.**

Miguel Ángel Mejía-Bautista^{1§}

Jairo Cristóbal-Alejo¹

Juan Ramiro Pacheco-Aguilar²

Arturo Reyes-Ramírez¹

¹Tecnológico Nacional de México. Avenida Tecnológico s/n, Conkal, Yucatán, México. CP. 97345. Tel. 999 9124135. (arturo.rr@conkal.tecnm.mx; jairoca54@hotmail.com). ²Facultad de Química-Universidad Autónoma de Querétaro. Cerro de las campanas s/n, Colonia las Campanas, Querétaro, México. CP. 76010. Tel. 442 1921200, ext. 5531. (juanramiro29@yahoo.com.mx).

§Autor para correspondencia: mmejia@suryucatan.tecnm.mx.

Resumen

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, son una alternativa para mejorar la producción y rendimiento de los cultivos hortícolas como es el caso del chile habanero en Yucatán. Se evaluaron once cepas del género *Bacillus*, caracterizadas por sus propiedades relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal, encontrando la producción de ácido indol acético de 0.046 a 5.45 $\mu\text{g ml}^{-1}$, índices de solubilización de fosfato de 2.1 a 2.76 mm y de 13.01 a 55.82 mg L^{-1} de fósforo soluble y actividad ACC desaminasa. De las cuales, se seleccionaron cuatro cepas con las mejores características por sus propiedades con la promoción de crecimiento vegetal, usando como modelo el cultivo de chile habanero, en el cual se obtuvo que la cepa de *Bacillus subtilis* CBMT51 promovió el crecimiento de plántulas chile habanero mejorando en el número de hojas, área foliar y biomasa de las plántulas en 37.1, 30 y 34.6%, respectivamente. En ensayos de invernadero con la misma cepa se observó incremento en el número de frutos y el rendimiento del cultivo en 79.5 y 58.8%, respectivamente, en relación con el testigo. Siendo *B. subtilis* CBMT2, la cepa que mejoró algunas variables de crecimiento como altura final (56%), número de brotes (92%) y biomasa seca total (86%) respecto al testigo. En conclusión, los resultados del presente trabajo muestran el potencial de la cepa de *B. subtilis* CBMT51 para ser empleado como biofertilizante en la producción de chile habanero.

Palabras clave: *Bacillus subtilis*, ácido indol acético, actividad ACC desaminasa, solubilización de fosfatos.

Recibido: noviembre de 2021

Aceptado: febrero de 2022

Introducción

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) ocupa un lugar muy importante en la dieta de la población Yucateca, por sus características organolépticas se ha convertido en un símbolo de pungencia para el resto de los cultivares, por su alto contenido de capsaicinoides, propiedad del fruto que ha propiciado la siembra de más superficies, buscando tecnologías más eficientes para el desarrollo de este cultivo (Pérez-Gutiérrez *et al.*, 2008). La fertilización es una de las prácticas de gran importancia para la obtención de plántulas de calidad, asegurando con ello, buen crecimiento, desarrollo y el rendimiento del cultivo de chile habanero, es por ello que optimizar la cantidad de fertilizante es una medida utilizada para evitar el deterioro de los suelos y disminuir el impacto de la fertilización en el ambiente (Noh-Medina *et al.*, 2010).

Dentro de la fertilidad de los suelos, los microorganismos juegan un rol importante, no solo por el reciclaje de nutrientes, sino también por las asociaciones benéficas con las plantas que mejoran la disponibilidad de nutrientes (Jacoby *et al.*, 2017). En los ecosistemas agrícolas, el género *Bacillus* es uno de los más estudiados, por su capacidad para producir toxinas contra insectos, antibióticos y antifúngicos contra bacterias y hongos (Villareal-Delgado *et al.*, 2018) y por promover el crecimiento de las plantas al optimizar el uso de fertilizantes, lo cual lo hace una alternativa viable para hacer eficiente el uso de estos recursos minerales (Souchie *et al.*, 2006).

Entre las actividades bioquímicas y metabólicas que emplean las cepas de *Bacillus* spp. para promover el crecimiento vegetal, se encuentra la fijación de nitrógeno atmosférico (Yousuf *et al.*, 2017) la producción de auxinas, que inducen el desarrollo radical (Garay-Arroyo *et al.*, 2014), la solubilización de fosfatos (Corrales *et al.*, 2014) la producción de sideróforos que favorecen la asimilación de hierro por las plantas (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012) y la enzima ACC desaminasa que degrada al precursor del etileno, para disminuir el estrés biótico y abiótico (Esquivel-Cote *et al.*, 2013).

Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal, por sus diversos mecanismos de acción, pueden ayudar en la nutrición vegetal, mejorando características fisiológicas en el cultivo e incrementando el rendimiento de estos, reduciendo con ello, el impacto por el uso excesivo de fertilizantes. Por lo que, además de promover el crecimiento de las plantas, pueden reducir hasta 50% la dosis recomendada de fertilización química (Hernández-Leal *et al.*, 2011). En este estudio se determinaron las propiedades de *Bacillus* spp. Para solubilizar fosfato de calcio, producir ácido indolacético, sideróforos y actividad ACC desaminasa, asociados en la promoción crecimiento y rendimiento de *C. chinense* Jacq.

Materiales y métodos

Microorganismos utilizados

Se utilizaron once aislados de *Bacillus* spp., de la colección del Laboratorio de Microbiología del Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Conkal. Las bacterias se activaron en agar nutritivo (AN) por cuatro a cinco días a 28 °C hasta su autólisis y fueron conservadas a 4 °C hasta su uso. Las pruebas realizadas fueron la actividad de la ACC desaminasa, producción de ácido indolacético (AIA), producción de sideróforos y solubilización de fosfato de calcio.

Actividad del 1-aminociclopropano 1-carboxilato de desaminasa (ACC desaminasa)

La actividad cualitativa de la ACC desaminasa de las 11 bacterias, se realizó mediante el uso del medio mínimo Dworkin y Foster (DF) con sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Penrose y Glick, 2003). Primeramente, se inocularon las cepas por estría en el medio DF, utilizando como fuente de nitrógeno el $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y después de 48 h de crecimiento, se transfirieron a placas conteniendo medio DF con 1-aminociclopropano 1-carboxilato (ACC) (Sigma-Aldrich®) como fuente de nitrógeno, en ausencia del sulfato de amonio. Después, las cajas Petri fueron incubadas durante 3 días a 30 °C. Las bacterias que mostraron crecimiento fueron consideradas con actividad ACC desaminasa.

Producción de ácido indol acético (AIA)

Para determinar la producción microbiana de AIA, matraces que contenían 50 ml de caldo nutritivo suplementado con 1 g L⁻¹ de L-triptófano, fueron inoculados con cada una de las cepas a una densidad de 1×10^8 UFC ml⁻¹, posteriormente, fueron llevados a un agitador orbital para ser incubados durante 72 h a 180 rpm y 30 °C. Al término, se recuperó el sobrenadante por centrifugación a 3 000 por gravedad (xg) por 15 min. A 1 ml de sobrenadante se le adicionó 1 ml de reactivo de Salkowski. La mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 min y se determinó la concentración de AIA en un espectrofotómetro (Genesys 10UV) a 535 nm. Para determinar la concentración, se empleó una curva estándar de 5 a 40 µg ml⁻¹ de AIA (Sigma) (Badía *et al.*, 2011; Almoneafy *et al.*, 2012).

Producción de sideróforos

Para la producción de sideróforos, las cepas fueron crecidas previamente en 7 ml de medio de cultivo que contenía sales mínimas (SM), se dejaron durante 16 h en agitación a 120 rpm a 30 °C y transcurrido el tiempo, se tomaron 70 µl del cultivo bacteriano que fueron transferidos nuevamente al medio SM, dejando en agitación durante 24-30 h en las mismas condiciones de agitación y temperatura. Posteriormente, el sobrenadante se recuperó por centrifugación a 8 000 por gravedad (xg) durante 10 min, se tomó 1 ml de éste mezclando con 1 ml cromo azurol-S (CAS), el cambio en la coloración del reactivo CAS de azul a naranja, se consideró positivo para la producción de sideróforos (Alexander y Zuberer, 1991).

Solubilización de fosfato de calcio

La actividad cualitativa de la solubilización de fosfato se realizó inoculando 8 µl de una suspensión bacteriana de 1×10^8 UFC ml⁻¹, en medio sólido Pikovskaya (PKV) (Pradhan y Sukla, 2005). Los aislados que formaron halos de color amarillo en el medio de cultivo que contenía azul de bromofenol como indicador, fueron considerados como positivos para la solubilización de fosfatos, cuyo índice de solubilización (IS) fue determinado por el diámetro del halo (Qureshi *et al.*, 2012).

Mientras que la determinación cuantitativa se realizó inoculando por picadura en 25 ml de medio NBRIP con un pH inicial de 7.2, que contenía fosfato tricálcico insoluble como única fuente de fósforo (Mehta y Nautiyal, 2001), los cultivos fueron mantenidos en agitación constante a 200 rpm por cinco días a 30 °C. Al término, los cultivos fueron centrifugados 8 000 por gravedad (xg) durante 10 min para recuperar el sobrenadante, en el cual fue determinado el fósforo soluble mediante el método de azul de molibdeno (Mussa *et al.*, 2009).

***Bacillus* spp., en el crecimiento de plántulas de chile habanero (*C. chinense* Jacq.)**

El ensayo se evaluó con las cepas de *B. subtilis* CBRF8, CBMT51 y CBMT2 y *B. cereus* BL18, mismas que mostraron mejor capacidad de solubilizar fosfatos, producción de AIA, así como la actividad ACC desaminasa y la selección se realizó con base a un análisis de conglomerados. Para el ensayo, se utilizaron semillas de chile habanero variedad naranjo criollo, las cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2%, seguido de tres lavados con agua destilada estéril, después, las semillas fueron sembradas en charolas de poliestireno con sustrato estéril comercial Cosmopeat® dándole el manejo agronómico correspondiente (Soria *et al.*, 2002).

A los 15 días después de la germinación (DDG), se realizó una inoculación inicial a nivel del tallo con una suspensión bacteriana ajustada a 1×10^8 UFC ml⁻¹. Una segunda aplicación se realizó a los 28 días después de la germinación (DDG). Posteriormente, se realizó el trasplante en vasos de unicel de 32 onzas con sustrato de suelo tipo Luvisol con bovinaza en una proporción 2:1, previamente esterilizada. A los 60 DDG se midió altura, diámetro de tallo, número de hojas, área foliar, volumen radical, longitud de la raíz, biomasa fresca y seca de la parte aérea y raíz.

Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos (cepas bacterianas) con 10 repeticiones y un testigo que consistió en plántulas sin inoculación bacteriana. Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza (Andeva) con una prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$) con ayuda del paquete estadístico SAS versión 9.3 para Windows (SAS Institute, 2010). Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza (Andeva) con una prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$) con ayuda del paquete estadístico SAS versión 9.3 para Windows (SAS Institute, 2010).

Efecto de *Bacillus* spp., en el rendimiento de chile habanero (*C. chinense* Jacq.)

Para evaluar el efecto de las cepas de *Bacillus* sobre la producción del chile habanero, se realizó un ensayo en un invernadero asimétrico ubicado en las instalaciones de Instituto Tecnológico de Conkal. Dentro del cual, se utilizaron plántulas de 28 DDG, con dos inoculaciones como se describió en el apartado anterior, Posteriormente se realizó el trasplante en bolsas de 10 kg, que contenían una mezcla de suelo Luvisol con bobinaza en una proporción 2:1. Una tercera inoculación se realizó después a ocho días del trasplante. La fertilización fue realizada con base a las recomendaciones regionales del cultivo (Soria *et al.*, 2002).

Las temperaturas máximas y mínimas promedio registradas dentro del invernadero fueron de 35.4 y 24 °C, manteniéndose una humedad promedio de 73.4%. Las plantas se mantuvieron hasta los 140 días, en las cuales se evaluaron las mismas variables de crecimiento anteriormente descritas, adicionalmente, se incluyeron variables relacionadas con rendimiento del cultivo, tales como: número de frutos por planta, diámetro polar y ecuatorial del fruto y peso total de frutos por planta. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos (cepas bacterianas) con ocho repeticiones y un testigo que consistió en plántulas sin inoculación bacteriana. Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza (Andeva) con una prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$) con ayuda del paquete estadístico SAS versión 9.3 para Windows (SAS Institute, 2010).

Resultados y discusión

Actividad del 1-aminociclopropano 1-carboxilato de desaminasa (ACC desaminasa)

En el medio mínimo DF, se observó el crecimiento de 10 de las 11 cepas bacterianas, indicando que poseen la capacidad de producir la enzima ACC desaminasa, siendo *Bacillus* sp., CBRF4 la única que no presentó crecimiento (Cuadro 1). Cabe mencionar que fueron observadas diferencias en el crecimiento de las bacterias, los aislados CBLMA4, CBCK44, CBCC58 y CBMT2 mostraron mayor crecimiento en el medio de cultivo. Esta actividad ha sido reportada como parte de las características de microorganismos que han sido empleados en la promoción del crecimiento vegetal en pimiento (*C. annuum*) y tomate (*Lycopersicon esculentum*) (Luna Martínez *et al.*, 2013; Hernández-Forte *et al.*, 2015).

Cuadro 1. Propiedades bioquímicas de *Bacillus* spp., relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal.

Aislados	ACC desaminasa	AIA ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	IS (mm)	P (mg L^{-1})	pH
CBLMA4	++++	0.05 e	2.22 cd	23.9 \pm 9.38 cde	5.51 \pm 0.04 f
CBRF11	+	0.6 bcd	2.68 ab	13.01 \pm 2.62 e	5.3 \pm 0.03 ef
CBRF4	-	2.153 b	2.76 a	16.26 \pm 5.9 de	5.16 \pm 0.03 de
CBRM9	+++	0.518 bcd	2.43 abcd	27.1 \pm 2.78 cd	5.05 \pm 0.12 cd
CBCK44	++++	1.697 bcd	2.25 c	23.19 \pm 1.2 cde	4.99 \pm 0.02 bcd
CBRF5	+	2.106 b	2.52 abcd	17.06 \pm 7.43 de	4.96 \pm 0.07 bcd
CBMT51	+	1.619 bcd	2.51 abcd	55.82 \pm 3 a	4.9 \pm 0.1 abc
CBCC58	++++	0.235 cd	2.64 abc	27.2 \pm 4.25 cd	4.87 \pm 0.12 abc
CBMT2	++++	5.455 a	2.3 bcd	42.47 \pm 3.87 ab	4.84 \pm 0.04 abc
CBRF8	++	1.823 bc	2.34 abcd	36.86 \pm 3.75 bc	4.81 \pm 0.02 ab
BL18	++	4.37 a	2.1 d	50.02 \pm 0.74 ab	4.71 \pm 0.03 a
DMS		1.69	0.43	13.94	0.21

Medias con letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). += actividad o crecimiento; ++= intensidad de crecimiento; +++= menor crecimiento; ++++= mayor crecimiento; -= sin crecimiento; ACC-desaminasa= 1-aminociclopropano 1-carboxilato de desaminasa; AIA= ácido indolacético; IS= índice de solubilización; P= fósforo; DMS= diferencia mínima significativa.

Sin embargo, una de las aplicaciones más interesantes de las cepas que poseen esta propiedad, es la relacionada con la reducción del estrés ambiental donde la aplicación de cepas de *Bacillus*, redujo el estrés causado por la salinidad del suelo en plantas de maíz (Misra y Singh, 2020). Por otro lado, el estrés biótico causado por enfermedades también puede ser disminuido por la actividad ACC deaminasa, en donde el uso de una cepa de *Paenibacillus lentimorbus* B-30488 (antes *Bacillus lentimorbus*) reduce el estrés causado por la infección en tomate por el hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* (Dixit *et al.*, 2016).

Producción de ácido indolacético (AIA) y sideróforos

Las 11 bacterias ensayadas produjeron AIA en un rango entre 0.046 a 5.45 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Las cepas CBMT2 y BL18 mostraron la mayor producción con 5.45 y 4.37 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente (Cuadro 1) Luna-Martínez *et al.* (2013), en su investigación con cepas de *Bacillus* spp., lograron la producción de AIA en concentraciones similares a los generados en este estudio, con el cual obtuvieron incrementos en el crecimiento de plántulas de pimienta (*C. annuum* L.) y tomate (*S. lycopersicum* L.), como las generadas en *C. chinense* Jacq. En esta evaluación. La capacidad de producir AIA depende de varios factores: de la cepa bacteriana, de los genes implicados que moderan o regulan las rutas biosintéticas y de la presencia de enzimas para convertir el AIA en sus formas conjugadas (Patten y Glick, 2002).

Las cepas de *Bacillus* que producen AIA, han sido reportadas con capacidad para promover el crecimiento en plántulas de soya (*G. max*) (Wahyudi *et al.*, 2011), en trigo (*Triticum aestivum* L.) (Abbasi *et al.*, 2011) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Almoneafy *et al.*, 2012). Esta hormona modula el crecimiento celular y la diferenciación de tejidos, participa en los fenómenos fototropismo y gravitropismo y tiene una función importante durante la formación raíz y xilema (Vega-Celedón, 2016). Estudios en suelo revelan que la producción microbiana de AIA, depende de la presencia de su precursor, el triptófano (Sarwar *et al.*, 1992). En cuanto a la producción de sideróforos, no se observaron cambios de coloración en el reactivo CAS, sugiriendo que en las condiciones evaluadas las bacterias no sintetizaron sideróforos (Alexander y Zuberer, 1991).

Solubilización de fosfato de calcio

En los ensayos *in vitro*, realizados en laboratorio, las 11 bacterias mostraron diferentes índices de solubilización (IS) de fosfato de calcio, la mayor actividad se observó a los siete días de crecimiento bacteriano (Wahyudi *et al.*, 2011; Almoneafy *et al.*, 2012). Los IS encontrados fueron de 2.1 a 2.76 mm, el mayor IS se obtuvo con la cepa CBRF4 (Cuadro 1). Qureshi *et al.* (2012) reportaron valores de IS entre 3.3 a 3.8, superiores a los obtenidos en este estudio. Sin embargo, los IS reportados en *Bacillus* spp., en este estudio concuerda con los reportados por Badía *et al.* (2011).

En el ensayo en medio líquido, las cepas de estudio produjeron concentraciones de 13.01 a 55.82 mg L^{-1} (Cuadro 1). La cepa *B. subtilis* CBMT51 fue la que mostró la mayor solubilización con 55.82 mg L^{-1} , este resultado es similar al reportado para *B. megaterium* (MA06) con una solubilización de fósforo 56 mg L^{-1} (Luna-Martínez *et al.*, 2013). Se ha demostrado que la producción de ácidos orgánicos por las bacterias disminuye el pH, el cual a la vez favorece la solubilización de fosfatos. En este estudio se encontró una disminución del pH final del medio, fluctúan entre 4.71 a 5.51 (Cuadro 1), lo que explica en parte, que la solubilización de fosfatos por las bacterias está relacionada con el descenso del pH (Mehta *et al.*, 2010; Walpola y Yoon, 2013).

Entre los ácidos orgánicos secretados durante la actividad de solubilización, se han reportado ácido láctico, isovalérico, isobutírico y acético (Metha y Nautiyal, 2001). Esta actividad reviste de gran importancia para mejorar la adquisición de fosfatos por la planta, ya que por sus características, cuando se agrega en forma de fertilizante al suelo, el fosfato es complejado con el calcio, fierro o aluminio presente, formando especies insolubles, no disponibles para la planta (Beltrán, 2014). Prakash y Kumar (2019), reportan que la inoculación de *Bacillus* sp., STJP (caracterizado previamente como solubilizador de fosfatos) en *Mentha arvensis*, incrementó el contenido de fósforo en raíces, tallos y hojas, conduciendo también a un incremento en la biomasa, y en la cantidad del aceite esencial.

***Bacillus* spp., en el crecimiento de plántulas de chile habanero (*C. chinense* Jacq.)**

Para realizar el escrutinio de las cepas con las mejores características promotoras del crecimiento vegetal, se realizó un análisis de conglomerados, seleccionando cuatro cepas: CBMT51, CBMT2, CBRF8 y BL18. Posteriormente, estas cepas fueron inoculadas en plántulas de chile habanero de 28 DDG. A los 60 DDG, y se encontró que las plantas mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la altura, número de hojas, área foliar, peso fresco y peso seco de la parte aérea, volumen radical y peso fresco de raíz. En la prueba de comparación de medias, la cepa CBMT51 mostró el mejor efecto sobre el crecimiento de las plantas (Cuadro 2), con respecto a los demás tratamientos y al testigo.

Cuadro 2. Efecto de *Bacillus* spp., en la promoción de crecimiento de plántulas de *C. chinense* Jacq. 60 días posteriores al trasplante.

Cepas	Al (cm)	NH	AF (cm ²)	VR (cm ³)	PFR (g)	PFPA (g)	PSR (g)	PSPA (g)
CBRF8	20.2 b	17 b	288.4 b	3.9 bc	3.9 b	7.9 b	0.41 a	1.3 b
CBMT2	21.4 b	21 ab	329.8 ab	4.1 bc	3.9 b	9 b	0.41 a	1.4 ab
CBMT51	25.4 a	25.1 a	421.1 a	5.9 a	5.8 a	11.7 a	0.54 a	1.8 a
BL18	20.9 b	19.4 ab	321.4 b	4.8 b	4.3 b	8.5 b	0.52 a	1.3 b
Testigo	22.3 ab	18.3 b	323.8 b	3.4 c	4.3 b	8.7 b	0.41 a	1. b
DMS	3.1	4.9	91.6	3.9	1.3	1.9	0.25	0.6

Medias con letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). Al= altura; NH= número de hojas; AF= área foliar, VR= volumen radical; PFR= peso fresco de la raíz; PFPA= peso fresco de la parte aérea; PSR= peso seco de raíz; PSPA= peso seco de la parte aérea; DMS= diferencia mínima significativa.

Solamente, en el peso seco de raíz (0.41 a 0.54 g) no se observaron diferencias entre los tratamientos. Varios autores reportaron a *Bacillus* spp., como una bacteria capaz de promover el crecimiento en *C. annuum* (Luna Martínez *et al.*, 2013; Amaresan *et al.*, 2014). Ogugua *et al.* (2018) reportan que la biomasa de plántulas de chile, después de 35 días, se vio incrementada 32.3%, similar al reportado en este estudio (34.6%). Las giberelinas, son otras hormonas producidas también por cepas de *Bacillus*, las cuales han sido involucradas en la promoción de crecimiento de plántulas de chile, tal como lo reportan Gil-Jae *et al.* (2004), lo que muestra la versatilidad del género.

Efecto de *Bacillus* spp., en el rendimiento de chile habanero (*C. chinense* Jacq.)

En el ensayo en invernadero se observó que la cepa *B. subtilis* CBMT51 presentó el mejor efecto al inducir mayor número de frutos y mayor peso fresco de los mismos, incrementándose en 79.5 y 58.8%, respectivamente, en relación con el testigo (Cuadro 3). La cepa *B. subtilis* CBMT2 indujo mayor altura, diámetro de tallo, número de brotes, biomasa fresca y seca total (Cuadro 3). Estudios previos, reportaron bacterias capaces de promover el crecimiento vegetal en *C. annuum* (Luna Martínez *et al.*, 2013; Amaresan *et al.*, 2014). En chile habanero inoculado con especies de *Azospirillum* sp., se obtuvieron incrementos en la biomasa aérea y radical del cultivo (Canto-Martín *et al.*, 2004).

Cuadro 3. Efecto de *Bacillus* spp., en el desarrollo y rendimiento del cultivo de *C. chinense* Jacq. 140 días posteriores al trasplante.

Cepas	Al (cm)	DT (mm)	NB	NF	PFF (g)	DPF (mm)	DEF (mm)	BFT (g)	BST (g)
CBRF8	82.5 bc	12.1 ab	12 b	19.5 b	89.2 b	37.2 a	23.3 a	165.2 b	43.7 ab
CBMT2	129.7 a	13.1 a	20 a	15.4 c	69.6 c	39 a	22.6 a	187.1 a	50.8 a
CBMT51	100.6 b	11.9 ab	15.4 ab	24.6 a	104.5 a	39.7 a	24 a	152.3 b	36.1 ab
BL18	77.6 c	12.2 ab	13.2 ab	18.7 b	93.8 b	40.4 a	24.3 a	159.2 b	46.6 a
Testigo	83 bc	11.3 b	10.4 b	13.7 c	65.8 c	38.9 a	22.9 a	97.6 c	27.3 b
DMS	21.6	1.8	7.1	2	8.6	5.9	2.5	42	16.5

Medias con letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). Al= altura; DT= diámetro de tallo; NB= número de brotes; NF= número de frutos; PFF= peso fresco de frutos; DPF= diámetro polar del fruto; DEF= diámetro ecuatorial del fruto; BFT0 biomasa fresca total; BST= biomasa seca total; DMS= diferencia mínima significativa.

Por otro lado, inoculaciones con especies de *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformes* y *B. subtilis* en *C. annuum* incrementaron la altura, el número de frutos y el rendimiento (Datta *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2011), cambios que se pudieron observar en este estudio con la aplicación de *B. subtilis* CBMT51. Peña-Yam *et al.* (2016), reportan que la inoculación de plántulas de chile *cv* Jalapeño con la cepa de *Bacillus cereus* ITC-BL18, incrementó el número de yemas florales, lo que pudo también haber ocurrido en el presente trabajo con *B. subtilis* CBMT51, lo que finalmente condujo a un mayor número de frutos.

La mejora en el crecimiento y desarrollo de las plantas cuando se inoculan con este tipo de bacterias, se asocia, principalmente con la producción de ácido indol acético y la solubilización de fosfatos (López-Bucio *et al.*, 2009), propiedades que se demostraron con las cepas en estudio, siendo las cepas *B. subtilis* CBMT51, *B. cereus* BL18 y *B. subtilis* CBMT2 las que mostraron mejor efecto en las plantas de chile habanero para las variables evaluadas. El empleo de *Bacillus* como biofertilizante, no solo mejora el desarrollo y producción de las plantas, estudios recientes, muestran que en los frutos de chile, mejora su calidad organoléptica e incrementa el contenido de ácido ascórbico y la actividad antioxidante (Cisternas-Jamet *et al.*, 2020).

Conclusiones

Las cepas bacterianas en estudio presentaron propiedades bioquímicas relacionadas con la promoción de crecimiento vegetal. En la evaluación de promoción de crecimiento y rendimiento en *C. chinense* Jacq., se obtuvo que la cepa de *Bacillus subtilis* CBMT51 tuvo efecto en la promoción de crecimiento de plántulas de *C. chinense* Jacq. Y aumentó el número de frutos y rendimiento del cultivo; mientras que la cepa de *B. subtilis* CBMT2 aumentó el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Agradecimientos

Proyecto parcialmente financiado por DGEST (clave: 5067.13-P).

Literatura citada

- Abbasi, M. K.; Sharif, S.; Kazmi, M.; Sultan, T. and Aslam, M. 2011. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. *Plant Biosystems*. 145(1):159-168. <https://doi.org/10.1080/11263504.2010.542318>.
- Aguado-Santacruz, G. A.; Moreno-Gómez, B.; Jiménez-Francisco, B.; García-Moya, E. and Preciado-Ortiz, R. 2012. Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Rev. Fitotec. Mex.* 35(1):9-21. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v35n1/v35n1a4.pdf>.
- Alexander, D. B. and Zuberer, D. A. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*. 12(1):39-45. <https://doi.org/10.1007/BF00369386>.
- Almoneafy, A. A.; Xie, G. L.; Tian, W. X.; Xu, L. H.; Zhang, G. Q. and Ibrahim, M. 2012. Characterization and evaluation of *Bacillus* isolates for their potential plant growth and biocontrol activities against tomato bacterial wilt. *Afr. J. Biotechnol.* 11(28):7193-7201. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2963>.
- Amarean, N.; Jayakumar, V. and Thajuddin, N. 2014. Isolation and characterization of endophytic bacteria associated with chilli (*Capsicum annuum*) grown in coastal agricultural ecosystem. *Indian J. Biotechnol.* 13(2):247-255. <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/29149>.
- Badía, M. M. R.; Hernández, B. T.; Murrel, J. A. L.; Mahillon, J. y Pérez, M. H. 2011. Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus* asociadas al cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Rev. Bras. Agroecol.* 6(1):90-99. <https://orgprints.org/23097/1/Bad%C3%ADa-Aislamiento.pdf>.
- Beltrán, P. 2014. La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 15(1):101-113. <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v15n1/v15n1a09.pdf>.
- Canto-Martín, J. C.; Medina-Peralta, S. y Morales-Avelino, D. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. En plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Trop. Subtrop. Agroecosys.* 4(1):21-27. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=939/93940104>.
- Cisternas-Jamet, J.; Salvatierra-Martínez, R.; Vega-Gálvez, A.; Stoll, A.; Uribe, E. and Goñi, M. G. 2020. Biochemical composition as a function of fruit maturity stage of bell pepper (*Capsicum annuum*) inoculated with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Sci. Hortic.* 263:109107. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109107>.
- Corrales, R. L. C.; Sánchez, L. L. C.; Arévalo, G. Z. Y. y Moreno, B. V. E. 2014. Bacillus: género bacteriano que demuestra ser un importante solubilizador de fosfato. *Nova*. 12(22):165-177. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v12n22/v12n22a06.pdf>.
- Datta, M.; Palit, R.; Sengupta, C.; Pandit, M. K. and Banerjee, S. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria enhance growth and yield of chilli (*Capsicum annuum* L.) under field conditions. *Australian J. Crop Sci.* 5(5):531-536. <https://pdfs.semanticscholar.org/0edd/62370223f6a2a4d8e912cf799eb008b378e4.pdf> <https://searchinformit.com.au/documentSummary;dn=280235183147214;res=IELHSS>.
- Dixit, R.; Agrawal, L.; Gupta, S.; Kumar, M.; Yadav, S.; Singh, P. C. and Shekhar N. C. 2016. Southern blight disease of tomato control by 1- aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase producing *Paenibacillus lentimorbus* B-30488. *Plant Signaling and Behavior*. 11(2):1113363. <https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1113363>.

- Esquivel-Cote, R.; Gavilanes-Ruiz, M.; Cruz-Ortega, R. and Huante, P. 2013. Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Rev. Fitote. Mex.* 36(3):251-258. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v36n3/v36n3a10.pdf>.
- Garay-Arroyo, A.; Sánchez, M. P.; García-Ponce, B.; Álvarez-Buyilla, E. R. and Gutiérrez, C. 2014. La homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *Rev. Educ. Bioqu.* 33(1):13-22. <http://www.scielo.org.mx/pdf/reb/v33n1/v33n1a3.pdf>.
- Gil-Jae, J.; Young-Mog, K.; In-Jung, L.; Kyung-Sik, S. and In-Koo, R. 2004. Growth promotion of red pepper plug seedlings and the production of gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus*. *Biotechnol. Letters.* 26(6):487-491. <https://link.springer.com/article/10.1023/B:BILE.0000019555.87121.34>.
- Gupta, M.; Kiran, S.; Gulati, A.; Singh, B. and Tewari, R. 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. *Microbiological Research.* 167(6):358-363. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.02.004>.
- Hernández-Forte, I.; Nápoles-García, M. C. y Morales-Mena, B. 2015. Caracterización de aislados de rizobios provenientes de nódulos de soya (*Glycine max* L. Merrill) con potencialidades en la promoción del crecimiento vegetal. *Cultivos Tropicales.* 36(1):65-72. <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci.arttext&pid=S025859362015000100008&lng=es&nrm=iso>.
- Hernández-Leal, L. T.; Carrión, G. y Heredia, G. 2011. Solubilización *in vitro* de fosfatos por una cepa de *Paecilomyces lilacinus* (thom) samson. *Agrociencia.* 45(8):881-892. <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci.arttext&pid=S140531952011000800003&lng=es&nrm=iso>.
- Jacoby, R.; Peukert, M.; Succurro, A.; Koprivova, A. and Kopriva S. 2017. The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition-current knowledge and future directions. *Frontiers in plant science.* 19(8):1-9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5610682/pdf/fpls-08-01617.pdf>.
- Luna-Martínez, L.; Martínez, P. R. A.; Hernández, I. M.; Arvizu, M. S. M. y Pacheco, A. J. R. 2013. Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Rev. Fitot. Mex.* 36(1):63-69. <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci-arttext&pid=S018773802013000100007&lng=es&nrm=iso>.
- López-Bucio, J.; Campos-Cuevas, J. C.; Valencia-Cantero, E.; Velázquez-Becerra, C.; Farías-Rodríguez, R. y Macías-Rodríguez, L. I. 2009. *Bacillus megaterium* modifica la arquitectura de la raíz de *Arabidopsis* independientemente de auxinas y etileno. *Rev. Biológicas.* 11(1):1-8. <http://www.usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/tecnologicas-20/arquitectura/46.pdf>.
- Mehta, P.; Chauhan, A.; Mahajan, R.; Mahajan, P. K. and Shirkot, C. K. 2010. Strain of *Bacillus circulans* isolated from apple rhizosphere showing plant growth promoting potential. *Current Sci.* 98(4):538-542. <https://www.jstor.org/stable/24111705>.
- Mehta, S. and Nautiyal, C. S. 2001. An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current Microbiol.* 43(1):51-56. <https://doi.org/10.1007/s002840010259>.
- Misra, S. and Singh, C. P. 2020. ACC deaminase-producing rhizosphere competent *Bacillus* spp. mitigate salt stress and promote *Zea mays* growth by modulating ethylene metabolism. *3 biotech.* 10(3):119. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-020-2104-y>.

- Mussa, S. A. B.; Elferjani, H. S.; Haroun, F. A. and Abdelnabi, F. F. 2009. Determination of available nitrate, phosphate and sulfate in soil samples. *Inter. J. Pharmtech Res.* 1(3):598-604. <http://uob.edu.ly/assets/uploads/pagedownloads/91d88-pt-35-20samira-20a-20ben-20musa-20-598-604--1-.pdf>.
- Noh-Medina, J.; Borges-Gómez, L. y Soria-Fregoso, M. 2010. Composición nutrimental de biomasa y tejidos conductores en chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq). *Trop. Subtrop. Agroecosys.* 128(2):219-228. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93913070003>.
- Ogugua, U. V.; Ntushelo, K.; Makungu, M. C. and Kanu, S. A. 2018. Effect of *Bacillus subtilis* BD2333 on seedlings growth of sweet pepper (*Capsicum annuum*), Swiss chard (*Beta vulgaris*) and lettuce (*Lactuca sativa*). *Acta Hort.* 1204(26):201-210. <https://www.ishs.org/ishs-article/1204-26>.
- Patten, C. L. and Glick, B. R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(8):3795-3801. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.8.3795-3801.2002>.
- Penrose, D. M. and Glick, B. R. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiol. Plantarum.* 118(1):10-15. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x>.
- Peña-Yam, L. P.; Ruíz-Sánchez, E.; Barboza-Corona, J. E. and Reyes-Ramírez, A. 2016. Isolation of Mexican *Bacillus* species and their effects in promoting growth of chili pepper (*Capsicum annuum* L. cv jalapeño). *Indian J. Microbiol.* 56(3):375-378. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4920762/>.
- Pérez-Gutiérrez, A.; Pineda-Doporto, A.; Latournerie-Moreno, L.; Pam-Pech, W. y Godoy-Ávila, C. 2008. Niveles de evapotranspiración potencial en la producción de chile habanero. *Terra Latinoam.* 26(1):53-59.
- Pradhan, N. and Sukla, L. B. 2005. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. *Afr. J. Biotechnol.* 5(10):850-854. <http://www.academicjournals.org/AJB>.
- Prakash, J. and Kumar, A. N. 2019. Phosphate-solubilizing *Bacillus* sp. enhances growth, phosphorus uptake and oil yield on *Mentha arvensis* L. *3 Biotech.* 9(4):126. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-019-1660-5>.
- Qureshi, M. A.; Ahmad, Z. A.; Akhtar, N.; Iqbal, A.; Mujeeb, F. and Shakir, M. A. 2012. Role of phosphate solubilizing bacteria (PSB) in enhancing P availability and promoting cotton growth. *The J. Animal Plant Sci.* 22(1):204-210.
- SAS Institute. 2010. User's guide: statistics, versión 9.3. SAS Inst. Inc., Cary, North Caroline, USA.
- Sarwar, M.; Arshad, M.; Martens, D. A. and Frankenberg J. R. 1992. Tryptophan-dependent biosynthesis of auxins in soil. *Plant and Soil.* 147(2):207-215. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00029072>.
- Soria, F. M.; Tun, S. J.; Trejo, R. A. y Terán, S. R. 2002. Paquete tecnológico para la producción de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq). SEP. DGTA. ITA-2 Conkal, Yucatán, México. 75 p.
- Souchie, E. L.; Saggin-Júnior, O. J.; Silva, E. M. R.; Campello, E. F. C.; Azcón, R. and Barea, J. M. 2006. Communities of P-solubilizing bacteria, fungi and arbuscular mycorrhizal fungi in grass pasture and secondary forest of paraty, RJ-Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências.* 78(1):183-193. <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652006000100016>.

- Vega-Celedón, P.; Canchignia, M. H.; González, M. and Seeger, M. 2016. Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacteria. *Cultivos Tropicales*. 37 (Supl. 1):33-39. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v37s1/ctr05s116.pdf>.
- Villareal-Delgado, M. F.; Villa-Rodríguez, E. D.; Cira-Chávez, L. A.; Estrada-Alvarado, M. I.; Parra-Cota, F. I. and Santos-Villalobos, S. S. 2018. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Rev. Mex. Fitopat.* 36(1):95-130. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v36n1/2007-8080-rmfi-36-01-95-en.pdf>.
- Wahyudi, A. T.; Astuti, R. P.; Widyawati, A.; Meryandini, A. and Nawangsih, A. A. 2011. Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting rhizobacteria. *J. Microbiol. Antimicrobials*. 3(2):34-40. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/54530>.
- Walpola, B. C. and Yoon, M. H. 2013. *In vitro* solubilization of inorganic phosphates by phosphate solubilizing microorganisms. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7(27):3534-3541. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.5861>.
- Yousuf, J.; Thajudeen, J.; Rahiman, M.; Krishnankutty, S.; Alikunj, A. P. and Adbulla, M. H. A. 2017. Nitrogen fixing potential of various heterotrophic *Bacillus* strains from tropical estuary and adjacent coastal regions. *J. Basic Microbiol.* 57(11):922-932. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700072>.
- Yu, X.; Ai, C.; Xin, L. and Zhou, G. 2011. The siderophore-producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on *Fusarium* wilt and promotes the growth of pepper. *Eur. J. Soil Biol.* 47(2):138-145. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.11.001>.