

## Efecto de tratamientos pre germinativos e inoculación microbiana en cacahuate (*Arachis hypogaea* L.)\*

### Effect of pre-germinate treatments and microbial inoculation in peanut (*Arachis hypogaea* L.)

Esau Ruiz-Sánchez<sup>1</sup>, Martín Canul-Díaz<sup>1</sup>, Jesse Pacheco-Aguirre<sup>1</sup>, Alfonso Pérez-Gutiérrez<sup>1</sup>, Arturo Reyes-Ramírez<sup>1</sup> y Horacio S. Ballina-Gómez<sup>1§</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Conkal-Departamento de Fitopatología. Antigua Carretera Mérida-Motul, km 16.3, Conkal, Yucatán, México. C. P. 97345. Tel: 01 52 999 912 4135. (esau\_ruiz@hotmail.com; mecd388@hotmail.com; jessep2010@gmail.com; riegoeficiente@hotmail.com; arte\_rey@hotmail.com). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: horacio.ballina@itconkal.edu.mx.

#### Resumen

El cultivo de cacahuate (*Arachis hypogaea* L.), ampliamente utilizado por los agricultores por su rentabilidad y mejoramiento de las propiedades físicas y químicas edáficas, presenta una prolongada latencia de semillas, que va hasta seis meses. En otras especies vegetales la latencia de semillas se ha tratado con inductores de germinación como el ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), el ácido indolacético y naproxeno (NPX). Otro problema técnico en el cultivo de cacahuate es el crecimiento lento de las primeras etapas de las plantas. Lo anterior podría incrementarse con el uso de cepas bacterianas promotoras de crecimiento. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de AG<sub>3</sub> y NPX como inductores de germinación, y cepas de *Bacillus* spp. como promotoras de crecimiento vegetal. En la germinación se usaron dos concentraciones y dos tiempos de inmersión en AG<sub>3</sub> y NPX, mientras que para mejorar el crecimiento se usaron tres cepas de *Bacillus* spp. (CBTC1, CBCC57 y CBRF12) como inoculantes. La germinación incrementó con el tratamiento de 10 mg mL<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub>; en tanto, la tasa relativa de crecimiento en altura de las plantas aumentó significativamente a los 15 días después de la siembra, cuando se inocularon con la cepa CBRF12 de *Bacillus* spp. Asimismo, se encontró un mayor crecimiento significativo de la biomasa seca de la raíz a los 30 días luego de la siembra, con la cepa CBTC1. En conclusión, el porcentaje de germinación de *A.*

#### Abstract

Peanut crop (*Arachis hypogaea* L.) is widely used by farmers for their profitability and improvement of the physical and chemical soil traits. It has a prolonged seed dormancy, which runs up to six months. In other plant species, seed dormancy has been treated with inducers of germination, such as gibberellic acid (AG<sub>3</sub>), indoleacetic acid and Naproxen (NPX). Another technical issue in the peanut crop is the slow growth of the early stages of the plants. This would increase with the use of bacterial strains to growth promoters. The aim of this study was to evaluate the effect of AG<sub>3</sub> and NPX as inducers of germination, and strains of *Bacillus* spp. as promoting plant growth. Germination and two times two concentrations immersion in AG<sub>3</sub> and NPX were used, while three strains of *Bacillus* spp were used as inoculants to enhance growth (CBTC1, CBCC57 and CBRF12). Germination increased with the treatment of 10 mg mL<sup>-1</sup> of AG<sub>3</sub>; meanwhile, the relative growth rate in height of the plants was significantly increased at 15 days after sowing, when inoculated with the strain of *Bacillus* spp CBRF12. We also found a significantly larger increase in root dry biomass at 30 days after planting, with the CBTC1 strain. In conclusion, the percentage of germination of *A. hypogaea* increased with the addition of AG<sub>3</sub>. Also, the growth of the plant increased, albeit slightly, and other significantly only

\* Recibido: enero de 2015  
Aceptado: abril de 2015

*hypogaea* incrementó con la adición de AG<sub>3</sub>. Por su parte, el crecimiento de la planta aumentó, aunque ligeramente, sí de forma significativa y sólo en algunas variables, por la inoculación de las cepas de *Bacillus* spp. Los resultados del presente estudio muestran la capacidad del AG para romper la latencia de semillas de cacahuete; así como las ventajas de usar bacterias promotoras de crecimiento, en el incremento de la altura y la biomasa de raíces de esta especie vegetal. Esto podría ser de gran ayuda en la producción de cacahuete, al disminuir el tiempo de latencia y acelerar el crecimiento.

**Palabras clave:** *Bacillus* spp., ácido giberélico, crecimiento vegetal, latencia, naproxeno.

## Introducción

El cultivo de cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) se utiliza ampliamente por los agricultores debido a su rentabilidad, que puede tener una relación beneficio/costo hasta de 1.7 dependiendo de la productividad de la variedad (Duque, 2013), y potencial para mejorar las propiedades físicas y químicas del suelo (Ossom y Rhykerd, 2008). A nivel internacional el cacahuete es el tercer producto oleaginoso producido, después de la soya y el algodón (Financiera Rural, 2011). Los frutos de cacahuete, junto con soya, algodón, canola y girasol, tienen alto contenido de aceite (aproximadamente 50%) y proteínas (22-30%), también contiene hidratos de carbono, minerales y vitaminas (Ingale y Shrivastava, 2011). Debido a estas características, los frutos de *A. hypogaea* integra la dieta diaria en algunas regiones de África y Asia, donde la situación alimentaria es precaria (Kambiranda *et al.*, 2011). En México, a pesar de las bondades del cultivo, la superficie sembrada disminuyó en casi 40% en la última década, en la actualidad la superficie cultivada con esta oleaginosa es de aproximadamente de 60 000 hectáreas, con una producción de 2.8 y 1.3 toneladas por hectárea, en riego y temporal, respectivamente (Financiera Rural, 2011).

La semilla de *A. hypogaea* recién cosechada, fisiológicamente madura y viable, no germina cuando se coloca en condiciones óptimas de luz, temperatura, oxígeno y contenido de humedad (Qin *et al.*, 2012). Este fenómeno se presenta en muchas especies oleaginosas, en las cuales la intensidad y duración del reposo depende del cultivar así como de las condiciones de cultivo y de almacenamiento. Se ha determinado que las semillas de *A. hypogaea* no germinan inmediatamente después de ser cosechadas, sino hasta 4-6 meses posteriores (Navarro *et al.*, 2012).

in some variables, by inoculating the strains of *Bacillus* spp. The results of this study show AG<sub>3</sub> capacity to break seed dormancy on peanuts; as well as the advantages of using growth promoting bacteria in the increase of height and root biomass of this plant species. This could be helpful in peanut production by reducing latency and accelerate growth.

**Keywords:** *Bacillus* spp, gibberellic acid, latency, naproxen, plant growth.

## Introduction

The peanut crop (*Arachis hypogaea* L.) is widely used by farmers because of its profitability, which may have a benefit/cost ratio to 1.7 depending on the productivity of the variety (Duque, 2013), and potential to improve physical and chemical soil traits (Ossom and Rhykerd, 2008). Worldwide, the peanut is the third oil product produced, after soybean and cotton (Financiera Rural, 2011). Peanut fruit, along with soybeans, cotton, canola and sunflower have high oil content (about 50%) and protein (22-30%), also contains carbohydrates, minerals and vitamins (Ingale and Shrivastava, 2011). Because of these characteristics, the fruits of *A. hypogaea* is part of the daily diet in parts of Africa and Asia, where the food situation is precarious (Kambiranda *et al.*, 2011). In Mexico, despite the benefits of crop acreage decreased by almost 40% in the last decade, currently cultivated with this oilseed area is approximately 60 000 hectares, with a production of 2.8 and 1.3 tons per hectare, irrigation and temporal, respectively (Financiera Rural, 2011).

The seed of *A. hypogaea* freshly harvested physiologically mature and viable, do not germinate when placed in optimal conditions of light, temperature, oxygen and moisture content (Qin *et al.*, 2012). This phenomenon occurs in many oilseed species, in which the intensity and duration of sleep depends on cultivar and growing conditions and storage. It has been determined that, the seeds of *A. hypogaea* do not germinate immediately after being harvested, but up to 4-6 months (Navarro *et al.*, 2012).

In order to shorten the rest of *A. hypogaea*, different treatments have been tried, for example, Gómez *et al.* (2001) found that the use of high, temperatures close to 40 °C significantly stimulates germination. Moreover,

Con el fin de acortar el periodo de reposo de *A. hypogaea*, se han probado diferentes tratamientos, por ejemplo, Gómez *et al.* (2001) encontró que el uso de temperaturas altas, cercanas a 40°C estimula significativamente la germinación. Por otra parte, dentro de los tratamientos químicos, el uso de etileno ha demostrado ser eficiente para promover la germinación; este compuesto, a concentraciones de 8 g L<sup>-1</sup>, por periodos de 48 horas, produce resultados similares a los obtenidos por tratamientos con calor (Lin *et al.*, 2009; Nawangsih *et al.*, 2012).

Otro regulador que podría actuar de manera indirecta sobre la germinación en semillas es el naproxeno (NPX), ya que es considerado un inhibidor de la biosíntesis del ácido abscísico (ABA), la cual es una hormona vegetal, involucrada en diferentes procesos fisiológicos del crecimiento y desarrollo de la planta, como la dormancia en las semillas (Cassán *et al.*, 2008). Se ha reportado que el tratamiento de semillas con NPX disminuye significativamente los niveles de ABA endógeno y el gen de transcripción AhNCED1 en la germinación de la semilla, proporcionando un aumento en la actividad de la  $\alpha$ -amilasa, cuyo efecto se traduce en incremento de la tasa de germinación e índice de viabilidad en la germinación (Hu *et al.*, 2010).

Por otra parte, el crecimiento inicial de la planta constituye una fase importante en el desarrollo del cultivo, ya que mediante el rápido establecimiento de elevado número de tallos primarios, generación y expansión del sistema foliar e incremento en expansión radicular, las plantas incrementan su capacidad competitiva y de absorción de nutrientes del suelo (Mohammadi, 2013). En este sentido, una alternativa para promover el crecimiento inicial es la aplicación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal, los cuales pueden actuar por diferentes vías, como fijación de nitrógeno atmosférico, producción de fitohormonas, y solubilización de elementos minerales (Gutiérrez *et al.*, 2001). Estos microorganismos pueden ser explotados como una estrategia sustentable para incrementar la productividad de *A. hypogaea* (Muñoz *et al.*, 2011).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del ácido giberélico y naproxeno como inductores de germinación, y el efecto posterior de *Bacillus* spp. como promotor de crecimiento en plantas de *Arachis hypogaea* L.

within the chemical treatments, the use of ethylene has proved efficient to promote germination; this compound at concentrations of 8 g L<sup>-1</sup>, for periods of 48 hours produces similar to those obtained by heat treatments results (Lin *et al.*, 2009; Nawangsih *et al.*, 2012).

Another regulator which could act indirectly on germination in seeds is Naproxen (NPX) because it is considered an inhibitor of the biosynthesis of abscisic acid (ABA), which is a plant hormone involved in different physiological processes of growth and plant development such as seed dormancy (Cassán *et al.*, 2008). It has been reported that, the treatment of seeds with NPX significantly lowers the levels of endogenous ABA and gene transcription AhNCED1 in seed germination, providing an increase in the activity of  $\alpha$ -amylase, which effect results in increased germination rate and index of germination viability (Hu *et al.*, 2010).

Moreover, the initial growth of the plant is an important phase in the development of the crop, and that by the rapid establishment of large number of main stems, leaf generation system expansion and increased root growth, increase plant capacity competitive and absorption of nutrients from the soil (Mohammadi, 2013). In this regard, an alternative to promote the initial growth is the application of plant growth promoting microorganisms, which may act in different ways, such as nitrogen fixation, production of phytohormones, and solubilization of minerals (Gutiérrez *et al.*, 2001). These microorganisms can be exploited as a sustainable strategy to increase the productivity of *A. hypogaea* (Muñoz *et al.*, 2011).

The aim of this study was to evaluate the effect of gibberellic acid and naproxen as inducing germination and subsequent effect of *Bacillus* spp. as plant growth promoter of *Arachis hypogaea* L.

## Materials and methods

### Location of the experiment

Seed treatment and preparation of bacterial inoculum were performed in the Laboratory of Microbiology Conkal Institute of Technology, Yucatan, Mexico. The evaluation

## Materiales y métodos

### Ubicación del experimento

El tratamiento de semillas y la preparación de inóculos bacterianos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán, México. El experimento de evaluación de inoculantes microbianos y germinación se llevó a cabo en la ciudad de Hunucmá, Yucatán, México, ubicada a 21° 10' 0" latitud norte y 90° 2' 0" longitud oeste. Hunucma presenta un clima calido semihumedo con lluvias en verano, una temperatura media anual de 26 °C y una precipitación media anual que va de 400 a 1 200 mm (INEGI, 2010).

### Obtención de las semillas

Las semillas de *A. hypogaea* de origen criollo, se obtuvieron en el municipio El Parral, Chiapas, México. Presenta las siguientes: arbusto que produce dos almendras por vaina y el tiempo de emergencia a cosecha es de 110-120 días. Las semillas usadas en los experimentos pre germinativos no tuvieron más de 30 días después de la cosecha y las usadas para la evaluación de inoculantes microbianos no más de 12 meses.

### Aplicación de tratamientos pre germinativos en cacahuete

Para la evaluación del efecto del ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) y naproxeno (NPX) en la inducción de germinación de *A. hypogaea*, se seleccionaron semillas en buen estado y tamaño homogéneo. Estas se separaron en lotes de 10 para cada repetición de los tratamientos. Las semillas se introdujeron en soluciones que contenían cada promotor de germinación a dos concentraciones y el testigo, y dos tiempos de inmersión (Cuadro 1). El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar. En cada tratamiento se emplearon tres réplicas.

### Evaluación de la germinación

Las semillas tratadas con AG<sub>3</sub> y NPX se dejaron secar a temperatura ambiente durante siete días. Una vez secas se sembraron con el hipocotilo hacia abajo en sustrato Cosmopeat® empleando charolas de polietileno de 10 x 20 cm. Las charolas se mantuvieron al aire libre a temperatura ambiente y con riego diario, para mantener el sustrato a capacidad de campo. Las variables respuesta para cada

experimento de microbio inoculantes and germination took place in the city of Hunucmá, Yucatan, Mexico, located at 2° 10' 0" North latitude and 90° 2' 0" West longitude. Hunucmá has a semi-humid warm climate with summer rains, an average annual temperature of 26 °C and an annual rainfall ranging from 400 to 1 200 mm (INEGI, 2010).

### Obtaining seeds

The seeds of *A. hypogaea* of Native origin is obtained in the municipality of El Parral, Chiapas, Mexico. Presents the following: almond bush produces two per pod and time of emergence to harvest is 110-120 days. The seeds used in the pre germination experiments were not more than 30 days after harvest and used for evaluation of microbial inoculants no more than 12 months.

### Application of pre-treatments in peanut germ

In order to evaluate the effect of gibberellic acid (AG<sub>3</sub>) and naproxen (NPX) in inducing germination of *A. hypogaea* seeds were selected in good shape and uniform size. These were separated into groups of 10 for each repeat treatments. The seeds were placed in solutions containing each promoter germination at two concentrations and the witness, and two-time immersion (Table 1). The experiment was set under a completely randomized design. Three replicates per treatment were used.

**Cuadro 1. Condiciones experimentales para la evaluación de tratamientos pre germinativos en *A. hypogaea*.**  
**Table 1. Experimental conditions for evaluating treatments in pre-germ *A. hypogaea*.**

*Tratamientos	Tipo de promotor de germinación	Cantidad del promotor en agua (mg·100 mL <sup>-1</sup> )	Tiempo de inmersión en la solución promotora (h)
T1	AG <sub>3</sub>	10	2
T2	AG <sub>3</sub>	10	4
T3	AG <sub>3</sub>	20	2
T4	AG <sub>3</sub>	20	4
T5	NPX	37.5	2
T6	NPX	37.5	4
T7	NPX	81.25	2
T8	NPX	81.25	4
Testigo	Agua destilada	0	4

AG<sub>3</sub>= ácido giberélico; NPX= naproxeno.

tratamiento se calcularon como lo indica Ranal *et al.* (2009): porcentaje de germinación, tiempo medio de germinación, coeficiente de variación del tiempo de germinación, velocidad media de germinación e incertidumbre de germinación. Los datos para cada variable fueron tomados diariamente a la misma hora durante 15 días. Se consideró como semilla germinada al momento de la aparición de la radícula.

### **Efecto de *Bacillus* spp. en plántulas de *A. hypogaea***

Para la evaluación *Bacillus* spp. como promotor de crecimiento, se utilizaron tres cepas bacterianas (CBTC1, CBCC57 y CBRF12) del cepario conservado en el laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán, México. Las cepas fueron aisladas inicialmente de la península de Yucatán, de muestras de suelo de la rizosfera de diversos cultivos y malezas (Sosa-Pech *et al.*, 2012). Estas fueron reproducidas en agar nutritivo a temperatura de incubación de 30 °C. Las esporas se obtuvieron por raspado de las colonias y suspensión sucesiva en un matraz Erlenmeyer con 100 mL agua estéril hasta tener una concentración de  $1 \times 10^8$  CFU mL<sup>-1</sup>. La inoculación de las cepas bacterianas se realizó en plantas de *A. hypogaea* de tres días de emergencia, se aplicaron 3 ml de suspensión bacteriana a las plántulas establecidas en charolas de polietileno de 10 x 20 cm con sustrato Cosmopeat®. El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar. Se utilizaron 10 plántulas por repetición. Se tuvieron tres repeticiones para cada tratamiento (cepa bacteriana). El testigo consistió de plantas sin inocular.

Tres días después de la primera inoculación, las plántulas fueron trasplantadas en vasos de poliestireno de 600 mL con una mezcla de suelo, gravilla y Cosmopeat®, en proporción volumétrica de 50%, 20% y 30%, respectivamente; y a los 15 días posteriores a la primera inoculación, se llevó a cabo una segunda inoculación con 3ml de suspensión bacteriana, la cual fue obtenida como se describió anteriormente. Todas las plantas se mantuvieron a riego constante hasta su evaluación final.

### **Evaluación de promoción del crecimiento de *A. hypogaea***

A los 15 y 30 días después del trasplante, se evaluó la altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas, biomasa fresca y seca (tallo, raíz y hojas) y la tasa relativa de crecimiento. En el caso de la biomasa seca, las muestras se secaron a peso constante en una estufa de convección a 70 °C durante 48 horas. La RGR se calculó de acuerdo al método de Causton y Venus (1981) usando los datos de biomasa seca (RGR<sub>Bio</sub>,

### **Evaluation of germination**

Seeds treated with AG<sub>3</sub> and NPX allowed to dry at room temperature for seven days. Once dry seeded with hypocotyl down Cosmopeat® substrate using polyethylene trays 10 x 20 cm. Outdoor trays at room temperature and maintained daily watering to keep the soil at field capacity. The response variables were calculated for each treatment as indicated by Ranal *et al.* (2009): germination percentage, mean germination time, coefficient of variation of germination time, average speed of germination and germination uncertainty. The data for each variable were taken daily at the same time for 15 days. It was considered germinated seed at the radicle.

### **Effect of *Bacillus* spp. on seedlings of *A. hypogaea***

For the evaluation *Bacillus* spp. as growth promoter, three bacterial strains (CBTC1, CBCC57 and CBRF12) the strain collection maintained in the laboratory of Microbiology Conkal Institute of Technology, Yucatan, Mexico were used. The strains were initially isolated from the Yucatan Peninsula, soil samples from the rhizosphere of various crops and weeds (Sosa-Pech *et al.*, 2012). These were replicated on a nutrient agar incubation temperature of 30 °C. The spores were scraped from the colonies and subsequent suspension in a 100 ml Erlenmeyer flask with sterile water to a concentration of  $1 \times 10^8$  CFU mL<sup>-1</sup>. Inoculation of the bacterial strains was performed in plants of *A. hypogaea* at three days of emergence, 3 ml of bacterial suspension were applied to the seedlings established in polyethylene trays 10 x 20 cm with Cosmopeat® substrate. The experiment was set under a completely randomized design. 10 seedlings per replication were used. Three replicates for each treatment (bacterial strain) were taken. The control consisted of uninoculated plants.

Three days after the first inoculation, the seedlings were transplanted into polystyrene cups with 600 mL of a mixture of soil, gravel and Cosmopeat®, in volumetric ratio of 50%, 20% and 30% respectively; and 15 days after the first inoculation was conducted a second inoculation with 3ml of bacterial suspension, which was obtained as described above. All plants were maintained at constant watering to its final evaluation.

### **Evaluation of promoting the growth of *A. hypogaea***

At 15 and 30 days after transplanting, plant height, stem diameter, number of leaves, fresh and dried (stem, root and leaves) biomass and relative growth rate were evaluated. In

g g<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>), altura del tallo (RGR<sub>Alt</sub>, cm cm<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) y diámetro del tallo (RGR<sub>Dia</sub>, mm mm<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) mediante la siguiente ecuación:

$$RGR = \frac{\ln(B_2) - \ln(B_1)}{(t_1 - t_2)}$$

Donde= B<sub>1</sub>= biomasa inicial; B<sub>2</sub>= biomasa final; t<sub>1</sub>= tiempo al inicio; t<sub>2</sub>= tiempo en días transcurridos del experimento.

### Análisis de datos

Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza de efectos principales (ANOVA) para cada variable de respuesta, en la germinación los factores fueron la concentración de los inductores y el tiempo de respuesta (horas); y en el crecimiento los factores fueron la cepa bacteriana y el tiempo de respuesta (días). Todos los análisis se realizaron en Statistica v.8 (2007). Los datos fueron expresados como medias y desviaciones estándar. Previo a los análisis, únicamente los datos de porcentaje se transformaron con el arcoseno de la raíz cuadrada para lograr los supuestos de normalidad e igualdad de varianza.

## Resultados y discussion

### Efecto de los tratamientos pre germinativos

Los tratamientos pre germinativos afectaron de forma significativa ( $p < 0.05$ ) la germinación de las semillas de cacahuete. Aunque sólo el tratamiento T2 (10 mg 100 mL<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub> por 4h) (Cuadro 1) incrementó la germinación hasta 53%. El resto de los parámetros del proceso germinativo no presentaron diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 2; Figura 1).

### Cuadro 2. Efecto de los tratamientos en la germinación de *A. hypogaea*.

Table 2. Effect of treatments on the germination of *A. hypogaea*.

Tratamientos	Germinación (%)	MT	CVT	MR	I
T1	33.33 ± 3.33 ab	8.92 ± 0.43 a	54.74 ± 2.51 a	0.11 ± 0.01 a	1.56 ± 0.03 a
T2	53.33 ± 3.33 a	7.11 ± 0.63 a	38.40 ± 3.77 a	0.14 ± 0.01 a	1.70 ± 0.4 a
T3	30.00 ± 0.00 ab	7.11 ± 0.29 a	19.86 ± 9.16 a	0.14 ± 0.01 a	1.36 ± 0.22 a
T4	36.67 ± 8.82 ab	7.33 ± 0.88 a	55.23 ± 14.97 a	0.14 ± 0.02 a	1.61 ± 0.38 a
T5	26.67 ± 6.67 b	8.33 ± 2.85 a	27.08 ± 11.94 a	0.15 ± 0.04 a	1.17 ± 0.17 a
T6	23.33 ± 8.82 b	9.50 ± 1.89 a	52.61 ± 25.96 a	0.11 ± 0.02 a	0.83 ± 0.44 a
T7	16.67 ± 3.33 b	4.83 ± 0.17 a	22.00 ± 6.29 a	0.21 ± 0.01 a	0.67 ± 0.33 a
T8	23.33 ± 3.33 b	6.72 ± 1.67 a	41.05 ± 16.02 a	0.17 ± 0.03 a	1.19 ± 0.20 a
Testigo	20.00 ± 0.00 b	8.00 ± 1.04 a	17.77 ± 5.34 a	0.13 ± 0.01 a	1.00 ± 0.00 a

Letras diferentes dentro de una columna indican diferencia estadística (Tukey < 0.05). MT= tiempo medio de germinación; CVT= coeficiente de variación del tiempo; MR= velocidad media de germinación; I= incertidumbre.

the case of dry biomass, the samples were dried to constant weight in a convection oven at 70 °C for 48 hours. The RGR was calculated according to the method of Causton and Venus (1981) using data of dry biomass (RGR<sub>Bio</sub>, g g<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>), stem height (RGR<sub>Alt</sub>, cm cm<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) and diameter stem (RGR<sub>Dia</sub>, mm mm<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) by the following equation:

$$RGR = \frac{\ln(B_2) - \ln(B_1)}{(t_1 - t_2)}$$

Where= B<sub>1</sub>= initial biomass; B<sub>2</sub>= final biomass; t<sub>1</sub>= time at the beginning; t<sub>2</sub>= time elapsed days of the experiment.

### Data analysis

Data were analysed using analysis of variance main effects (ANOVA) for each response variable, in germination were the concentration factor of the inductors and the response time (hours); and growth factors were the bacterial strain and the response time (days). All analyses were performed in Statistica v.8 (2007). Data were expressed as means and standard deviations. Prior to the analysis, only the percentage data were transformed to arcsine square root to achieve the assumptions of normality and equal variance.

## Results and discussion

### Effect of pre-germinative treatments

The pre-germ treatments affected significantly ( $p < 0.05$ ) germination of seeds of peanut. Although, only T2 (10 mg 100 mL<sup>-1</sup> of AG<sub>3</sub> per 4h) (Table 1) treatment increased germination to 53%. The rest of the germination process parameters did not show statistically significant differences (Table 2, Figure 1).

La respuesta a la germinación en todos los tratamientos evaluados en el presente estudio se consideró baja con respecto a lo que han reportado otros autores para el caso de semillas de *A. hypogaea*, donde han documentado hasta 64% de germinación (Saravanakumar y Samiyappan, 2007; Shweta *et al.*, 2008). Es importante tomar en cuenta que existe amplia variación en la latencia de los diferentes genotipos de esta especie, de tal manera que el efecto de inductores de germinación puede ser diferencial en los diferentes materiales genéticos o incluso lotes del mismo material (Enríquez y Quero, 2001). En el presente trabajo, se obtuvieron efectos significativos ( $p < 0.05$ ) en la germinación de *A. hypogaea* para el tratamiento T2 (10 mg 100 mL<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub> por 4h) con un incremento de 33.33%, respecto al testigo (Figura 1). En general, el ácido giberélico ha sido usado con éxito en la promoción de la germinación de semillas. En este sentido, Atrip y O'Reilly (2007) observaron un incremento de 15% en la germinación de la semilla de *Betula pubescens* sobre el control, usando ácido giberélico (20 mg 100 mL<sup>-1</sup>).

Por su parte, Thammina *et al.* (2012) reportaron un incremento de 26% en la germinación de semillas de *Euonymus alatus* sobre el control, usando una concentración baja de ácido giberélico (0.05 mg100mL<sup>-1</sup>). En nuestro estudio, se confirma que el ácido giberélico ayuda a eliminar la latencia de las semillas de *A. hypogaea* y proporciona una mayor germinación de ellas. Aunque en el presente estudio se encontró que el mayor porcentaje de germinación fue a un tiempo de imbibición de 4 horas, Herrera-Corredor *et al.* (2011) mencionan que semillas de *Allium cepa* con tiempos de imbibición con la hormona BAP (benziladenina) mayores a 5 min disminuyen sus porcentajes de germinación. En este sentido, habría la necesidad de mayores estudios con AG<sub>3</sub>, ya que son casi nulos en la actualidad.

Por otra parte, no se observaron efectos significativos del naproxeno sobre la germinación de *A. hypogaea*. En trabajos previos, el naproxeno se ha considerado un inhibidor de la biosíntesis del ácido abscísico (ABA), que permite incrementar la germinación de semillas (Wan y Li, 2006). Inclusive, Hu *et al.* (2010) reportan que la aplicación de naproxeno por 12 h aproximadamente incrementa la germinación de *A. hypogaea* hasta 96%, seis días después de la aplicación. Aquí, la aplicación de naproxeno fue solamente por 2 ó 4 h, lo cual pudo haber afectado el resultado, pues el tiempo de exposición y la concentración de naproxeno son factores determinantes en la germinación de *A. hypogaea* (Matusova *et al.*, 2005).

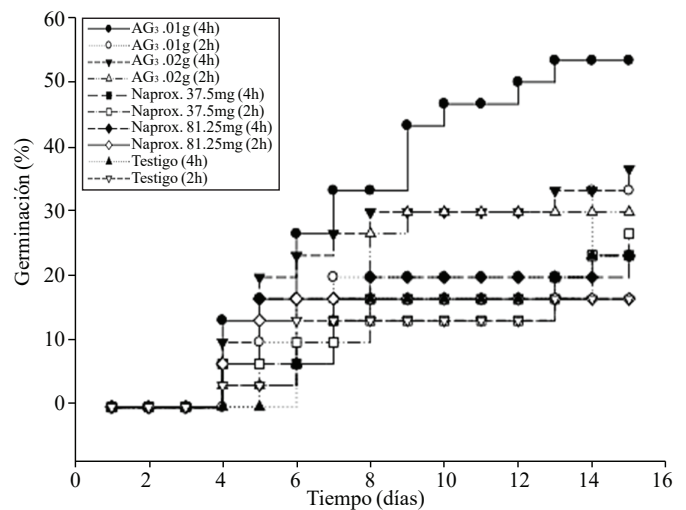


Figura 1. Porcentaje de germinación de semillas de *A. hypogaea*. AG<sub>3</sub>= ácido giberélico.

Figure 1. Percentage of germination of *A. hypogaea*. AG<sub>3</sub>= gibberellic acid.

The answer to the germination in all treatments evaluated in this study was considered low compared to what other authors have reported the case of seeds of *A. hypogaea*, where they have documented up to 64% germination (Saravanakumar and Samiyappan, 2007; Shweta *et al.*, 2008). It is important to note that there is wide variation in the latency of the different genotypes of this species, so that the effect of inducing germination can be spread in different genetic materials or even lots of the same material (Enríquez and Quero, 2001). In this paper, significant effects ( $p < 0.05$ ) were obtained in the germination of *A. hypogaea* for T2 (10 mg 100 mL<sup>-1</sup> of AG<sub>3</sub> to 4h) treatment with an increase of 33.33% compared to the control (Figure 1). Generally, gibberellic acid has been successfully used to promote seed germination. In this sense, ATRIP and O'Reilly (2007) observed a 15% increase in seed germination of *Betula pubescens* on control, using gibberellic acid (20 mg 100 mL<sup>-1</sup>).

Thammina *et al.* (2012) reported a 26% increase in seed germination of *Euonymus alatus* on the control, using a low concentration of gibberellic acid (0.05 mg100 mL<sup>-1</sup>). In our study it confirms that gibberellic acid helps to remove seed dormancy in *A. hypogaea* and, provides enhanced germination of them. Although, this study found that, the highest percentage of germination was a soaking time of 4 hours, Herrera-Corredor *et al.* (2011) mentioned that, the strain *Allium cepa* seed soaking with hormone BAP (benzyladenine) larger than 5 min, decrease their percentage of germination. In this sense, there would be the need for more studies with AG<sub>3</sub>, since they are almost nil at present.

### Efecto de *Bacillus* en el crecimiento de la planta de *A. hypogaea*

En plantas de *A. hypogaea* se evaluó la tasa relativa de crecimiento en altura ( $RGR_{\text{Altura}}$ ,  $\text{cm cm}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ) y la tasa de crecimiento de diámetro de tallo ( $RGR_{\text{Diámetro}}$ ,  $\text{mm día}^{-1}$ ), así como el ritmo de emisión foliar durante los 15 y 30 días (Cuadro 3). Para las variables  $RGR_{\text{Diámetro}}$  y número de hojas, no se observaron diferencias significativas por efecto de los inoculantes. Para la variable  $RGR_{\text{Altura}}$ , sólo se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) a los 15 días después de la siembra, donde las plantas inoculadas con CBRF12 presentaron mayores valores para esta variable comparado con las plantas del testigo. Nawangsih *et al.* (2012) reportaron en *A. hypogaea* un efecto en el incremento de altura por uso de inoculantes bacterianos a partir de la quinta semana (35 días) posterior a la siembra de las semillas. Sin embargo, en este estudio sólo se observaron efectos en la segunda semana (15 días después de la siembra), mientras que en la evaluación a los 30 días después de la siembra no se observaron diferencias ( $p < 0.05$ ) en la variable  $RGR_{\text{Altura}}$ . Este incremento en altura de la plantas pudo deberse a un mejor desarrollo de los pelos radicales o absorbentes, característico de las primeras semanas de inoculación bacteriana, sin embargo, este incremento no provoca cambios iniciales en la biomasa radical, lo que a la larga podría o no dar lugar a un incremento en la biomasa aérea (Cuevas *et al.*, 2000). El efecto de los inoculantes bacterianos a base de *Bacillus* spp., ha sido atribuido principalmente a la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal, tales como vitaminas, ácido indolacético y giberélico, y citoquininas (Gutiérrez *et al.*, 2001; Cardenas *et al.*, 2010).

Moreover, no significant effects of naproxen on the germination of *A. hypogaea* were observed. In previous work, naproxen has been considered an inhibitor of the biosynthesis of abscisic acid (ABA), which can increase seed germination (Wan and Li, 2006). Even Hu *et al.* (2010) reported that, the application of naproxen increased by approximately 12 h germination up to 96%, six days after application. The application of naproxen was only for 2 to 4 hours, which may have affected the outcome, because the exposure time and the concentration of naproxen are determining factors in the germination of *A. hypogaea* (Matusova *et al.*, 2005).

### *Bacillus* effect on plant growth of *A. hypogaea*

In plants of *A. hypogaea* relative height growth rate ( $RGR_{\text{Height}}$ ,  $\text{cm cm}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) and the growth rate of stem diameter ( $RGR_{\text{Diameter}}$ ,  $\text{mm day}^{-1}$ ) and the leaf emission rate was evaluated during the 15 and 30 days (Table 3). For the variables  $RGR_{\text{Diameter}}$  and number of leaves, no significant differences due inoculants were observed.  $RGR_{\text{Height}}$  for variable, significant differences ( $p > 0.05$ ) at 15 days were observed after planting, where CBRF12 inoculated plants showed higher values for this variable compared with the control plants. Nawangsih *et al.* (2012) reported in *A. hypogaea* an effect on the increase in height by use of bacterial inoculants from the fifth week (35 days) after planting seeds. However, in this study only effects were observed during the second week (15 days after seeding), while in the evaluation at 30 days after sowing no differences ( $p < 0.05$ ) were observed in the variable  $RGR_{\text{Height}}$ . This increase in height of the plants could be due to better development

**Cuadro 3. Efecto de la inoculación de *Bacillus* spp., en el crecimiento de las plantas de *A. hypogaea* después de 15 y 30 días. Table 3. Effect of inoculation of *Bacillus* spp., on growing plants of *A. hypogaea*, after 15 and 30 days.**

Cepa bacteriana	15 días después de la siembra			30 días después de la siembra		
	$RGR_{\text{Altura}}$ ( $\text{cm cm}^{-1} \text{ día}^{-1}$ )	$RGR_{\text{Diámetro}}$ ( $\text{mm día}^{-1}$ )	Número de hojas	$RGR_{\text{Altura}}$ ( $\text{cm cm}^{-1} \text{ día}^{-1}$ )	$RGR_{\text{Diámetro}}$ ( $\text{mm día}^{-1}$ )	Número de hojas
CBTC1	9.87 ± 0.31 ab	3.31 ± 0.04 a	8.00 ± 0.19 a	19.53 ± 0.53 a	3.70 ± 0.06 a	16.40 ± 0.62 a
CBCC57	10.15 ± 0.29 ab	3.35 ± 0.04 a	7.77 ± 0.24 a	20.23 ± 0.70 a	3.76 ± 0.05 a	16.13 ± 0.73 a
CBRF12	10.32 ± 0.36 a	3.33 ± 0.04 a	7.77 ± 0.29 a	19.30 ± 0.70 a	3.75 ± 0.06 a	15.20 ± 1.03 a
Testigo	9.05 ± 0.20 b	3.28 ± 0.03 a	7.70 ± 0.21 a	18.00 ± 0.62 a	3.65 ± 0.05 a	15.73 ± 0.56 a

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey  $\leq 0.05$ ). RGR= tasa relativa de crecimiento de la planta.

Con respecto a la altura de las plantas en la evaluación a los 30 días después de inoculadas con las cepas CBTC1, CBCC57 y CBRF12 (19.30-20.23 cm), se observó que

of radical or absorbent characteristic of the first weeks of bacterial inoculation hairs; however, this increase does not cause radical changes in the initial biomass, which could



en general los valores fueron ligeramente menores a los obtenidos por Dey *et al.* (2004) en plantas de *A. hypogaea* (22.9 cm) a los 45 días después de la siembra y que fueron inoculadas con la rizobacteria (PGPR6, 1998). Anandham *et al.* (2007) reportaron un crecimiento similar a obtenido en este trabajo en plantas de *A. hypogaea* a los 40 días después de la siembra, donde se observó 19.54 y 19.84 cm de altura cuando se inocularon con las cepas SWA4 y SWA5 de *Thiobacillus* sp. Por lo que el crecimiento de las plantas de *A. hypogaea* inoculadas con *Bacillus* spp. estuvo en el rango normal de crecimiento que han reportado otros autores en estudios de efecto de inoculantes microbianos.

En el caso de biomasa seca (Cuadro 4), no se observaron diferencias significativas en biomasa seca aérea. En contraste, se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en biomasa seca de raíz a los 30 días después de la siembra, donde la inoculación con la cepa CBTC1 causó mayor ganancia de peso (0.27 g) de raíz en las plantas. Este efecto lento en el crecimiento de la raíz pudo deberse a que la relación simbiótica entre bacteria y raíz no se presentó de manera inmediata, por lo que quizá haya que esperar por lo menos 3 o 4 semanas para que pueda observarse un efecto significativo en el crecimiento vegetal (Cuevas *et al.*, 2000; Dey *et al.*, 2004).

**Cuadro 4. Biomasa seca en plantas *A. hypogaea* sujetas a diferentes tratamientos con *Bacillus* spp. después de 15 y 30 días.**  
**Table 4. Dry biomass in plants *A. hypogaea* subject to different treatments with *Bacillus* spp. after 15 and 30 days.**

Cepa bacteriana	15 días después de la siembra		30 días después de la siembra	
	Biomasa seca de hojas (g)	Biomasa seca de raíz (g)	Biomasa seca de hojas (g)	Biomasa seca de raíz (g)
CBTC1	0.51 ± 0.02 a	0.15 ± 0.01 a	1.23 ± 0.10 a	0.27 ± 0.02 b
CBCC57	0.56 ± 0.03 a	0.14 ± 0.01 a	1.18 ± 0.10 a	0.24 ± 0.03 ab
CBRF12	0.52 ± 0.03 a	0.14 ± 0.01 a	1.17 ± 0.13 a	0.22 ± 0.02 ab
Testigo	0.47 ± 0.02 a	0.12 ± 0.01 a	1.10 ± 0.07 a	0.19 ± 0.02 a

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey  $\leq 0.05$ ).

Por otro lado, las cepas CBCC57 y CBRF12 tuvieron un efecto intermedio en la ganancia de peso de la raíz seca. En general el peso seco de las plantas observadas en el presente estudio, fueron mayores que lo observado por Taurian *et al.* (2010) a los 35 días después de la siembra, usando *Pseudomonas fluorescens* (0.16 g) y *Pantoea agglomerans* J49 (0.21 g) como agentes promotores de crecimiento. En este sentido, se considera que el uso de bacterias nativas podría ayudar a largo plazo a mejorar la absorción nutricional de la planta y consecuentemente a mejorar su rendimiento (Dey *et al.*, 2004).

eventually or may not lead to an increase in aboveground biomass (Cuevas *et al.*, 2000). The effect of bacterial *Bacillus* spp based on inoculants has been attributed mainly to the production of plant growth promoting substances such as vitamins, indole and gibberellic acid and cytokinins (Gutiérrez *et al.*, 2001; Cardenas *et al.*, 2010).

Regarding plant height, in the evaluation within 30 days after inoculated with CBTC1, CBCC57 and CBRF12 (19.30-20.23 cm), strains was observed that in general the values were slightly lower than those obtained by Dey *et al.* (2004) in plants of *A. hypogaea* (22.9 cm) at 45 days after sowing and were inoculated with rizobacteria (PGPR6, 1998). Anandham *et al.* (2007) reported a similar obtained in this work in growing plants *A. hypogaea* at 40 days after sowing, where noted 19.54 and 19.84 cm when inoculated with strains SWA5 and SWA4 of *Thiobacillus* sp., as the plant growth of *A. hypogaea* inoculated with *Bacillus* spp. It was in the normal range of growth reported by other authors in studies of effect of microbial inoculants.

In the case of dry biomass (Table 4), no significant differences were observed aerial dry biomass. In contrast, significant differences ( $p < 0.05$ ) was observed in root dry

biomass 30 days after sowing, where CBTC1 inoculation with the strain caused larger weight gain (0.27 g) in plant root. This slow effect on root growth could be due to the symbiotic relationship between bacteria and roots that did not show up immediately, so we may have to wait at least 3 or 4 weeks in order to observe a significant effect on the plant growth (Cuevas *et al.*, 2000; Dey *et al.*, 2004).

Furthermore, the strains CBRF12 and CBCC57 had an intermediate effect on the weight gain of the dried root. Generally, the dry weight of plants observed in this study

## Conclusiones

El estado de latencia de la semillas de *A. hypogaea* puede ser interrumpida por tratamiento con ácido giberélico. El tratamiento de semillas con ácido giberélico (10 mg en 100 mL<sup>-1</sup>) por 4 h de inmersión, incrementa significativamente el porcentaje de germinación. El naproxeno no tuvo efecto alguno en la germinación. La inoculación de las cepas de *Bacillus* spp. CBTC1, CBCC57 y CBRF12 mostró poco efecto en la promoción de crecimiento e incremento de peso seco aéreo y de raíz del cultivo de *A. hypogaea*. En este sentido, sólo se observaron cambios significativos en la altura a los 15 días en plantas inoculadas con la cepa CBRF12 y en biomasa seca de raíz a los 30 días, en plantas inoculadas con la cepa CBTC1.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Fundación Produce Chiapas al proyecto Núm. 2221, por el financiamiento de este trabajo de investigación.

## Literatura citada

- Anandhama, R.; Sridarb, R.; Nalayinic, P.; Poonguzhalia, S.; Madhaiyana, M. and Tongmin, S. A. 2007. Potential for plant growth promotion in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cv. ALR-2 by co-inoculation of sulfur-oxidizing bacteria and *Rhizobium*. Microbiological Res. 162:139-153.
- Atrip, N. and O'Reilly, C. 2007. Germination response of alder and birch seeds to applied gibberellic acid and priming treatment combination with chilling. Ann. Forest Sci. 64:385-394.
- Cardenas, D. M.; Garrido, M. F.; Bonilla, R. R. y Baldani, V. L. 2010. Aislamiento e identificación de cepas de *Azospirillum* sp. en pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.) del Valle del Cesar. Pastos y Forrajes. 33(3):1-1.
- Cassán, F.; Sgro, V.; Perrig, D.; Masciarelli, O. y Luna, V. 2008. Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp. aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal. In: Cassán, F. and García de Salamone, I. (Eds.), *Azospirillum* sp., cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología. 61-78 p.
- Causton, D. R. and Venus, J. C. 1981. The biometry of plant growth. Edward Arnold, London, England. 307 p.
- Cuevas, P. C.; Medina, B. N.; Díaz, L. G. S. y Morejón, R. R. 2000. Efecto de la biofertilización con bacterias rizoféricas en el cultivo del tomate. Avances. 2(2):15-21.

were larger than those observed by Taurian *et al.* (2010) at 35 days after sowing, using *Pseudomonas fluorescens* (0.16 g) and *Pantoea agglomerans* J49 (0.21 g) as growth-promoting agents. In this regard, it is considered that the use of native bacteria could help to improve long term nutritional plant uptake and consequently improve yield (Dey *et al.*, 2004).

## Conclusions

Dormancy of seeds of *A. hypogaea* can be disrupted, treated with gibberellic acid. Seed treatment with gibberellic acid (10 mg in 100 mL<sup>-1</sup>) immersion for 4 h, significantly increased the percentage of germination. Naproxen had no effect on germination. Inoculating strains of *Bacillus* spp. CBTC1, CBRF12 and CBCC57 showed little effect in promoting growth and increasing shoot dry weight and root of *A. hypogaea*. So, only significant changes were observed in the height after 15 days in the inoculated plants with CBRF12 strain and root dry biomass after 30 days, inoculated with strain CBTC1 plants.

*End of the English version*



- Dey, R.; Pal, K. K.; Bhatt, D. M. and Chauhan, S. M. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbiological Res. 159:371-394.
- Duque, M. E. C. 2013. Comparación agronómica de diez cultivares de maní (*Arachis hypogaea*; Fabacea) en Ipala, Chiquimula. Tesis profesional. Universidad Rafael Landívar - Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas. Guatemala, Guatemala.
- Enríquez, Q. J. F. y Quero, C. A. R. 2001. Producción de semilla de cacahuate forrajero con siete dosis de cal y tres fechas de cosecha. Téc. Pecu. Méx. 39 (1):31-38.
- Financiera Rural (FR). 2011. Monografía del cacahuate. Dirección general adjunta de planeación estratégica y análisis sectorial. Financiera Rural, México, D. F.
- Gómez, S. M.; Burow, G.; Burke, J. J.; Belamkar, V.; Puppala, N. and Burow, M. D. 2001. Heat stress screening of peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings for acquired thermotolerance. Plant Growth Regul. 65(1):83-91.
- Grosso, N. R.; Nepote, V. and Guzmán, C. A. 2000. Article chemical composition of some wild peanut species (*Arachis* L.) Seeds. J. Agric. Food Chem. 48 (3):806-809.
- Gutiérrez, M. F. J.; Ramos, S. B.; Probanza, A.; Mehouchi, J.; Tadeo, R. F. and Talon, M. 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. Physiol. Plant. 111(2):206-211.

- Hu, B.; Wan, X.; Liu, X.; Guo, D. and Li, L. 2010. Abscisic acid (ABA)-mediated inhibition of seed germination involves a positive feedback regulation of ABA biosynthesis in *Arachis hypogaea* L. Afr. J. Biotechnol. 9(11):1578-1586.
- Herrera-Corredor, C.; Carrillo-Castañeda, G.; González-Hernández, V.; Carrillo-Salazar, J.; Peña-Valdivia, C. y García-Nava, J. 2011. Tratamientos químicos para recuperar la germinación en semillas de cebolla. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 17 (2):63-72.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2010. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, México, D. F.
- Ingale, S. and Shrivastava S. K. 2011. Nutritional study of new variety of ground nut (*Arachis hypogaea*) JL-24 seeds. AJFS. 5(8): 490-498.
- Kambiranda, D. M.; Vasanthaiah, H. K. N.; Katam, R.; Ananga, A.; Basha, S. M. and Naik, K. 2011. Impact of drought stress on peanut (*Arachis hypogaea*) productivity and food safety. In: plants and environment. Vasanthaiah, H. (Ed.). InTech. 272 p.
- Lin, Z.; Zhong, S. and Grierson, D. 2009. Recent advances in ethylene research. J. Exp. Bot. 60 (12):3311-3336.
- Matusova, R.; Rani, K.; Verstappen, F. W.; Franssen, M. C.; Beale, M. H. and Bouwmeester, H. J. 2005. The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobanchae spp.* are derived from the carotenoid pathway. Plant Physiol. 139(2):920-934.
- Mohammadi, G. R. 2013. Alternative weed control methods: a review. In: Soloneski, S. (Ed.), weed and pest control-conventional and new challenges. InTech, Agric. Biol. Sci. 6. 17-159 pp.
- Muñoz, V.; Ibáñez, F.; Tonelli, M.; Valetti, L.; Anzuay, M. and Fabra, A. 2011. Syst. Appl. Microbiol. 34(6):446-52.
- Navarro, H.; Navarro, S. and Finkelman, S. 2012. Hermetic and modified atmosphere storage of shelled peanuts to prevent free fatty acid and aflatoxin formation. In: Athanassiou, C.; Kavallieratos, N. and Weintraub, P. (Eds.). Integrated Protection of Stored Products. 81:83-192.
- Nawangsih, A. A.; Aditya, R.; Tjahjono, B.; Negishi, H. and Suyama, K. 2012. Bioefficacy and characterization of plant growth-promoting bacteria to control the bacteria wilt disease of peanut in Indonesia. Journal of ISSAAS. 18(1):185-192.
- Ossom, E. M. and Rhykerd, R. L. 2008. Implication of associating sweet potato (*Ipomoea batatas*) with different groundnut (*Arachis hypogaea*) population on tuber yield and soil and tuber chemical properties. American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci. 3(1): 63-69.
- Qin, F.; Xu, H.; Lü, D. and Takano, T. 2012. Responses of hypocotyl elongation to light and sowing depth in peanut seedlings. J. Food, Agri. Environ. 10(2):607-612.
- Ranal, M.; García, De S. D.; Resende, F. W. and Mendes, R. C. 2009. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. Rev. Bras. Bot. 32(4):849-855.
- Saravanakumar, D. and Samiyappan, R. 2007. ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogaea*) plants. J. Appl. Microbiol. 102:1283-1292.
- Shweta, B.; Maheshwari, D. K.; Dubey, R. C.; Arora, D. S.; Bajpai, V. K. and Kang, S. C. 2008. Beneficial effects of fluorescent pseudomonads on seed germination, growth promotion, and suppression of charcoal rot in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). J. Microbiol. Biotechnol. 18 (9):1578-1583.
- Sosa-Pech, M.; Ruiz-Sánchez, E.; Mejía-Bautista, M.; Reyes-Ramírez, A.; Cristóbal-Alejo, J.; Valencia-Botín, A. y Gutiérrez-Alonzo, O. 2012. Actividad antagonista *in vitro* de aislados de la clase *Bacilli* de la península de Yucatán contra cuatro hongos fitopatógenos. Universidad y Ciencia Trópico Húmedo. 28(3): 279-284.
- Statistical Analysis System (SAS) Institute. 2007. SAS user's guide. Statistics. Version 8. SAS Inst., Cary, NC. USA. Quality, and elemental removal. J. Environ. Qual. 19:749-756.
- Taurian, T.; Anzuay, M.; Angelini, J.; Tonelli, M.; Ludueña, L.; Pena, D.; Ibáñez, F. and Fabra, A. 2010. Phosphate-solubilizing peanut associated bacteria: screening for plant growth-promoting activities. Plant Soil. 329(1-2):421-431.
- Thammina, C.; He, M.; Yu, H.; Chen, Y.; Gai, Y.; Cao, K.; Lu, L.; Zhao, D.; Wang, Y.; McAvoy, R.; Ellis, D. and Li, Y. 2012. Continuous biosynthesis of abscisic acid (ABA) may be required for maintaining dormancy of isolated embryos and intact seeds of *Euonymus alatus*. Plant Cell Tissue Organ Cult. 108:493-500.
- Wan, X. R. and Li, L. 2006. Regulation of ABA level and water-stress tolerance of *Arabidopsis* by ectopic expression of a peanut 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene. Biochem. Biophys. Res. Commun. 347:1030-1038.