



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Licenciatura en Horticultura Ambiental



“Efecto de la inoculación de *Bacillus simplex* y

*Arthrobacter ilicis* en chile serrano (*Capsicum annuum*) como bacterias promotoras de  
crecimiento vegetal”

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Licenciado en Horticultura Ambiental

**Presenta:**

Marco Antonio Velázquez Cortés

**Dirigido por:**

Dr. Juan Antonio Valencia Hernández

**SINODALES**

Juan Antonio Valencia Hernández  
Presidente

\_\_\_\_\_  
Firma

Emma Fabiola Magallán Hernández  
Secretaria

\_\_\_\_\_  
Firma

Santiago Vergara Pineda  
Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

Ma. Anaberta Cardador Martínez  
Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Miguel Ángel Ramos López  
Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Santiago de Querétaro, Querétaro

Junio de 2025.

**México**

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

## RESUMEN

Los microorganismos promotores de crecimiento han demostrado ser un excelente aliado en los cultivos comerciales, su investigación y aplicación es reciente, sin embargo, han despertado interés en los científicos y productores. En el presente estudio se experimentó con la inoculación en chile serrano (*Capsicum annum*) de *Arthrobacter ilicis*, *Bacillus simplex*, un consorcio de ambas bacterias y un control sin inoculación, también se realizó un experimento en *in vitro* con los mismos tratamientos y además un quinto tratamiento de inóculo comercial (NitromaxS, Querétaro) de *Rhizobium japonicum*. El experimento se llevó a cabo en un diseño completamente al azar con 3 repeticiones para los respectivos tratamientos. Las variables evaluadas en *in vivo* fueron: altura, número de flores, número de frutos, peso de fruto, rendimiento, pH de frutos, grados brix de frutos, acidez titulable, cantidad de capsaicina, longitud y ancho de frutos; PAL; pH del suelo; y en *in vitro*: % de germinación, altura de plántula, longitud de raíz, presencia de microorganismos en tallo, solubilidad de fósforo y producción de giberelinas. El rendimiento total, resultado de todas las cosechas, con respecto a la planta sin inoculación, fue significativamente mayor para los tratamientos inoculados con *A. ilicis* y *B. simplex* con medias respectivas de 283.0±32.0, 460.2±10.9 y 564.0±61.3 g por planta. En el experimento en *in vitro* el inóculo comercial mostró diferencias significativas negativas en el % de germinación 53±6, en la altura de las plántulas las diferencias favorecieron al consorcio con respecto al inóculo comercial con medias 36.50±7.33 y 25.47±7.91 mm respectivamente. Las longitudes de las raíces de plántula mostraron diferencias significativas entre el control y *B. simplex* mostrando medias respectivas de 17.95±11 y 26.5±4.95 mm.

Palabras clave: Rizobacterias, chile serrano, desarrollo vegetal, *B. simplex*, *A. ilicis*.

## SUMMARY

Plant growth-promoting microorganisms are a perfect ally in commercial crops. The research around is recent. However, it has gained interest from the scientific community and growers.

In the present study, experiments were carried out with the inoculation of *Arthrobacter ilicis*, *Bacillus simplex*, the consortium of both bacteria, and a control (uninoculated plant); also, the same treatments were experimented *in vitro* with the same treatments and other treatments with commercial inoculum (NitromaxS) of *Rhizobium japonicum*. The experiment was made in a randomized block design with three repetitions for each treatment. The variables evaluated in *in vivo* were (plant height, number of flowers, number of fruits, fruit weight, yield, fruit pH, Brix degrees, titratable acidity, capsaicin, length and width of fruit, PAL, soil pH) and in *in vitro* (germination percentage, seedling height, root length, microorganisms in the stem, phosphorus solubility and gibberellins). Total field yield, result of full harvest, was significantly higher for the inoculated treatments with *A. ilicis* y *B. simplex* with respective means of  $460.2 \pm 10.9$  and  $564.0 \pm 61.3$ . On the *in vitro* experiment, the commercial inoculum was significantly lower in the germination percentage  $53 \pm 6$  %, in the height seedling the differences favored the consortium al respect to the commercial inoculum with means of  $36.5 \pm 7.33$  y  $25.47 \pm 7.91$  mm respectively. The root length showed significant differences between the control and *B. simplex* showed means respectively of  $17.95 \pm 11$  y  $26.5 \pm 4.95$ .

Keywords: Rhizobacteria, serrano chili, growth, *B. simplex*, *A. ilicis*.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a:

La Facultad de Ciencias Naturales de la UAQ, al director José Guadalupe Gómez Soto por su apoyo y liderazgo, a la secretaria académica Kruskaia Karenia Caltzontzin Hernández, en especial a mi asesor de tesis Juan Antonio Valencia Hernández por su amistad, paciencia y conocimientos; a mis sinodales Fabiola Magallán Hernández, Santiago Vergara Pineda, Miguel Ángel Ramos López y Ma. Anaberta Cardador Martínez por su apoyo en el desarrollo de este proyecto.

## **DEDICATORIA**

A Dios por la vida con la que me bendice todos los días, al suelo por brindarnos sustento y satisfacemos nuestras necesidades básicas, a las plantas que a lo largo de nuestra historia como seres humanos nos han acompañado brindándonos comida, medicina y materiales útiles; también quiero agradecer a la UAQ por brindar el apoyo para llevar mis estudios de una manera más amena y por facilitar los medios necesarios para que esta investigación fuera posible, a mi asesor de tesis Juan Antonio Valencia Hernández por ayudarme en todo momento y guiándome para que esta investigación se llevara a cabo, a Gema que donó la semilla con la cual empezó este trabajo, a joss por brindarme su apoyo cuando fue requerido, a mis amigos Aranza, Ari, Don Beto, Fer, Frida, Misael, Pankesito, Paola, Sal y Sarita, que me apoyaron y acompañaron en esta investigación aprendiendo mutuamente de manera bilateral, a mi novia y amiga Frida que me ayudó y motivó en todo momento, a mis profesores que me transmitieron conocimiento valioso muy útil para mi formación como horticultor ambiental en especial al Dr. Candelario Mondragón , Dra. Kruskaia Karenia Caltzontzin, Dra. Rosalinda González Santos; mis padres que me mostraron siempre su cariño y sustento, a mis hermanos David y Yolotzín gracias por ser parte de mi vida, a mi sobrino Valentín y a mis vecinos Juan y cheli por ser parte de esta etapa.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Rizosfera. ....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Microorganismos promotores de crecimiento .....</b>	<b>5</b>
<b>2.3 Bacterias .....</b>	<b>6</b>
<b>2.4 Bacterias promotoras de crecimiento vegetal .....</b>	<b>7</b>
<b>2.5 Función de las bacterias promotoras de crecimiento .....</b>	<b>8</b>
2.5.1. Síntesis de hormonas .....	8
2.5.2. Solubilización de fósforo .....	9
2.5.3. Fijación de nitrógeno .....	9
<b>2.6 Chile.....</b>	<b>10</b>
2.6.1 Chile serrano .....	11
2.6.2 Problemáticas en Chile serrano .....	12
<b>2.7 Descripción de bacterias utilizadas .....</b>	<b>12</b>
<b>3. ANTECEDENTES.....</b>	<b>15</b>
<b>4. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>22</b>
<b>5. HIPÓTESIS.....</b>	<b>23</b>
<b>6. OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
<b>6.1 Objetivo general .....</b>	<b>23</b>

6.2	Objetivos específicos.....	23
<b>7.</b>	<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>24</b>
7.1	Sitio de trabajo .....	24
7.2	Diseño experimental y evaluación en <i>in vivo</i> . .....	24
7.2.1	Inoculación de los microorganismos en planta de chile en <i>in vivo</i> .....	25
7.2.2	Toma de datos morfológicos y rendimiento .....	25
7.2.3	Variables de calidad del fruto .....	26
7.2.4	Capsaicina .....	28
7.2.5	Evaluación de pH en suelo (NOM-021-SEMARNAT-2000) .....	28
7.2.6	Actividad enzimática PAL (Método reportado por Toscano et al. (2018) con modificaciones). ..	29
7.3	Evaluación de la planta en <i>in vitro</i> .....	30
7.3.1	Conteo de UFC/cm <sup>3</sup> .....	30
7.3.2	Preparación de agar Murashige y Skoog en frascos.....	31
7.3.3	Esterilización de semillas.....	31
7.3.4	Inoculación de semillas .....	31
7.3.5	Variables bioquímicas .....	33
7.3.5.1	Prueba de solubilización de fósforo .....	33
7.3.5.2	Prueba de ácido giberélico ( <i>AG<sub>3</sub></i> ) .....	34
<b>8.</b>	<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>35</b>
<b>9.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>36</b>
9.1	Evaluación en planta de chile del efecto de la inoculación de <i>A. ilicis</i> y <i>B. simplex</i> en <i>in vivo</i> .....	36
9.1.1	Rendimiento y datos morfológicos de la planta .....	36
9.1.2	Evaluación del fruto .....	40

9.1.3 Bioquímica de la planta (PAL) .....	42
9.1.4 Capsaicinoides.....	44
9.1.5 pH en suelo .....	44
<b>9.2 Evaluaciones en <i>in vitro</i> .....</b>	<b>45</b>
9.2.1 Efecto de la inoculación en la morfología de la plantula del chile .....	45
29.2.2 Pruebas bioquímicas de los microorganismos .....	48
<b>10. CONCLUSIONES .....</b>	<b>51</b>
<b>11. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>54</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Comparación de bacterias Gram + y Gram – (Morales, 2018). .....	7
Cuadro 2. Datos morfológicos del cultivo en in vivo. ....	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Variabilidad de <i>Capsicum</i> spp. ....	11
Figura 2. . Morfología de <i>B. simplex</i> .....	13
Figura 3. Colonia de <i>Paenarthrobacter ilicis</i> . . .	14
Figura 4. Mecanismos de control biológico empleados por microorganismos.....	16
Figura 5. Croquis del diseño experimental para la evaluación en <i>in vivo</i> .....	24
Figura 6. Densidad de siembra de plantas de chiles.....	24
Figura 7. Medición de la longitud de frutos.....	26
Figura 8. Muestra de chiles molidos y refractómetro. ....	27
Figura 9. Rotavapor.....	28
Figura 10. Plántula crecida en <i>in vitro</i> . ....	32
Figura 11. Puntos al azar donde se midió el halo con las bacterias .....	34
Figura 12. Valores medios de PAL de plantas en <i>in vivo</i> . ....	43
Figura 13. Variables morfológicas de plántula inoculada.....	47
Figura 14. Medidas de ácido giberélico formado por <i>B. simplex</i> y <i>A. ilicis</i> . ....	49
Figura 15. Graficas de medias de PAL de plántulas desarrolladas en <i>in vivo</i> . ....	50

## 1. INTRODUCCIÓN

La agricultura es una actividad fundamental en el desarrollo económico de los países. México es un país que se caracteriza por su producción agrícola en diversas frutas y hortalizas. El incremento poblacional, la demanda excesiva de productos agrícolas y el uso inconsciente de fertilizantes y pesticidas actualmente se ha vuelto un problema para la seguridad alimentaria, haciendo necesario el uso de productos menos nocivos para el medio ambiente y al mismo tiempo lograr un mayor rendimiento de los cultivos (Moreno et al., 2018; Torriente, 2010). Recientemente la investigación y aplicación científica se muestra interesada en el uso de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV). las BPCV favorecen el crecimiento de las plantas mediante dos caminos: 1) de manera directa (producción de fitohormonas, regulación de producción de hormonas por las plantas, disponibilidad de los nutrientes debido a la participación directa en los ciclos biogeoquímicos, fijación biológica de nitrógeno, solubilidad del fósforo, producción de ACC-desaminasa, etc.); 2) de manera indirecta (inducción de la resistencia fitopatógenos, control biológico de plagas y enfermedades, producción de antibióticos, producción de sideróforos, disminuir el estrés generado por diversos factores químicos y ambientales como salinidad, sequía, la presencia de metales pesados, plaguicidas, cambios climáticos, etc.) (Moreno et. al. 2018).

En México, el chile (*Capsicum annuum L.*) es una especie hortícola de gran importancia por el valor de su fruto. Se cultivan diferentes tipos de chile en todos los estados de la República Mexicana, desde el nivel del mar, hasta los 2500 m de altura; además de ser centro de origen y diversificación, por lo que constituye un recurso valioso. Los tipos de chile más importantes en el ámbito nacional son el ancho, jalapeño, serrano, mirasol (conocido en seco como guajillo) y dulce o pimiento morrón que representan de 70 a 80 % de la producción nacional (Aguirre-Mancilla et al., 2017).

Se han llevado a cabo trabajos en plantas de *Capsicum annuum* inoculadas con BPCV en las diferentes etapas fenológicas, en donde se han obtenido resultados favorables en las plantas inoculadas. Algunos ejemplos son, *Bacillus simplex* en plantas de pimiento con tres estados diferentes de capacidad de campo del suelo que consisten en 80 %, 60 % y 40 %, registrando las siguientes variables, peso seco total, superficie foliar, peso seco de las hojas, peso seco de las raíces, peso fresco de las raíces, volumen de las raíces, área foliar específica, peso foliar específico, relación peso foliar, longitud de las raíces, superficie de las raíces, diámetro de las raíces y densidad de superficie de las raíces (Karimi et al., 2024); y, *Pseudomonas tolaasii* en plantas de chile serrano, los factores de estudio fueron, la inoculación con *P. tolaasii*, la esterilización del sustrato y el abonado (solución nutritiva con Steiner y té de vermicompost), las variables evaluadas fueron diámetro de tallo, altura de plántula, número de hojas, área foliar, la longitud y volumen radical (Cabanzo-Atilano et al., 2020).

Es por lo anterior, que el objetivo de este trabajo fue investigar cómo se desarrolla el chile serrano (*Capsicum annuum*) en *in vitro* y en campo ante la inoculación de *Bacillus simplex* y/o *Arthrobacter ilicis*.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Rizosfera

La rizosfera es el conjunto de suelo que se encuentra más cercano a las raíces de las plantas, se conforma de sustratos minerales, partículas de suelo, agua, raíces, nutrientes en forma de compuestos orgánicos e inorgánicos y microorganismos (Flores-Álvarez y Sánchez-Minutti, 2020). La zona rizosférica puede contener nematodos, bacterias, hongos, artrópodos, herbívoros, etc., y es considerada como uno de los ecosistemas más complejos del planeta (Rehman et al., 2020). La investigación de los microorganismos y su relación con la rizosfera comenzó a finales del siglo XIX descubriendo microorganismos en las raíces de algunas plantas gramíneas y leguminosas (Bhattacharyya y Jha, 2012).

### 2.2 Microorganismos promotores de crecimiento

Los microorganismos promotores de crecimiento vegetal (PCV), son especies microbiológicas que incrementan el desarrollo y productividad en las plantas. Entre los organismos más estudiados, se encuentran las especies de los géneros *Rhizobium sp.*, *Pseudomonas sp.* M, y *Azospirillum*. Los microorganismos PCV, se pueden clasificar en dos grupos: (I) Mecanismos relacionados con su metabolismo (produciendo hormonas, solubilizando fosfatos o fijando nitrógeno), influyendo positivamente en el metabolismo de las planta (aumentando la absorción de agua y minerales), favoreciendo el desarrollo radicular, mejorando la actividad enzimática de la planta o ayudando a que otros microorganismos benéficos hagan simbiosis con las plantas hospederas; (II) Mecanismos con capacidad de control biológico, las cuales promueven el crecimiento de la planta al suprimir los fitopatógenos (Camelo et al. 2011).

### 2.3 Bacterias

Las bacterias son procariotas abundantes presentes en casi todo el planeta, viven de manera libre o asociadas a otros microorganismos. Su morfología es de distintas formas, pueden ser esféricas, alargadas o espirales. Algunas especies extremófilas se caracterizan por vivir en condiciones extremas de presión y temperatura. La mayoría de las bacterias juegan un rol benéfico para los organismos donde viven y solo un pequeño porcentaje de bacterias son consideradas patógenas, son de suma importancia en los procesos biogeoquímicos lo que las hace esenciales para la vida sobre la tierra (Pastor et al. 2020).

Las bacterias se clasifican en dos grandes grupos: (I) las Gram positivas (+) se caracteriza por tener una sola membrana citoplasmática bajo de una capa abundante de peptidoglicano, lo cual consigue que la tinción Gram con colorante violeta de genciana vire a color azul intenso o violeta; (II) las Gram negativas (-) tienen dos membranas citoplasmáticas separadas por una capa poco abundante de peptidoglicano responsable de que la tinción vire a color roja o rosada (Cuadro 1) (Morales, 2018).

*Cuadro 1. Comparación de bacterias Gram + y Gram – (Morales, 2018).*

<b>Característica</b>	<b>Gram +</b>	<b>Gram -</b>
Membrana externa	X	Si
Pared celular	Gruesa	Delgada
LPS	X	Si
Endotoxina	X	Si
Ácido teicoico	Presenta a menudo	X

La X indica ausencia de la característica; LPS es lipopolisacárido.

#### 2.4 Bacterias promotoras de crecimiento vegetal

Por sus siglas en ingles PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) es el conjunto de bacterias presentes en la rizosfera, en las plantas generan beneficios importantes. Potencian su crecimiento, facilitando la disponibilidad o la absorción de minerales, nitratos, fosfatos, etc., fomentan la producción de hormonas indispensables para el desarrollo de los vegetales como por ejemplo fitohormonas, giberelinas, entre otras. Además, protegen a plantas contra agentes patógenos y ayudan a la remediación de suelos contaminados por agentes orgánicos o inorgánicos (Benjumeda, 2017).

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) constituyen una alternativa para reducir el uso de productos agroquímicos, pueden ser utilizadas en un sistema de producción orgánico, además de ampliar el espectro de suelos útiles para el cultivo, disminuyendo el estrés y aumentando

la producción de las plantas cultivadas en suelos pobres, degradados o incluso contaminados (Ahemad y Kibret, 2014; de-Bashan et al., 2012).

## 2.5 Función de las bacterias promotoras de crecimiento

Las plantas que presentan estas rizobacterias logran un mejor desarrollo, estas bacterias interfieren directamente en la disponibilidad de nutrientes o a través de la síntesis de moléculas, también puede ser de manera indirecta como por ejemplo el antagonismo evitando que microorganismos patógenos prosperen en ese nicho o mediante la prevención de estrés abiótico (Rojas-Tapias et al., 2012). El uso de BPCV en la agricultura recientemente se ha vuelto tendencia, debido a sus efectos benéficos sobre el suelo y las plantas, así como en la reducción del uso de fertilizantes químicos, para cuya producción se emplean grandes cantidades de combustibles fósiles (Ramakrishna et al., 2019).

### 2.5.1. Síntesis de fitohormonas

Al disminuir los niveles de etileno pueden permitirle a la planta un mayor crecimiento. En cuanto a las estrategias indirectas para estimular el crecimiento de las plantas, se encuentran las siguientes:

- 1) producción de sideróforos: compuestos afines al hierro, de ayuda para aumentar la disponibilidad de hierro y también para reducir las poblaciones patógenas (antagonismo);
- 2) producción de enzimas hidrolíticas y antibióticos: útiles para prevenir o mitigar la actividad y efecto de organismos patógenos, inhibiendo su crecimiento;
- 3) producción de biopelículas: se forman sobre la raíz y puede disminuir el efecto negativo de una alta salinidad y sequía (Ahemad y Kibret, 2014; Maheshwari, 2015);
- 4) la producción de fitohormonas: ácido indolacético, giberelinas y citoquininas (Kumar et al., 2022).

### 2.5.2. Solubilización de fósforo

La capacidad de convertir el P insoluble en formas asimilables para las plantas, presente en las bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSF), estas bacterias pueden ser una excelente alternativa para reducir la cantidad de fertilizantes aplicados (Kaur et al., 2014). Las BSF pueden solubilizar el fósforo orgánico, como el fósforo inorgánico, varios y diversos géneros se incluyen en la lista. Sin embargo, los estudios que profundizan su potencial de solubilización y los mecanismos que emplean son reducidos (Park et al., 2010).

Se ha demostrado que los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Mesorhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pantoea* y *Erwinia* tienen la capacidad de solubilizar fosfato (Rodríguez et al., 1999; Poonguzhali et al., 2008; Sharan et al., 2008).

Los géneros con mayor potencial de uso son *Pseudomonas* y *Bacillus*. Entre sus mecanismos de acción más relevantes incluyen la producción de ácidos orgánicos, la quelación de elementos responsables de la insolubilidad de fosfatos y asimilación directa de fosfatos insolubles (Restrepo et al., 2015).

### 2.5.3. Fijación de nitrógeno

En la atmósfera es donde se encuentra la más abundante reserva de nitrógeno. El nitrógeno atmosférico no es utilizable directamente, algunas plantas en simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno pueden generar compuestos nitrogenados aprovechables por la planta. La disponibilidad de nutriente está ligado al desarrollo de las plantas en especial el nitrógeno, siendo el principal elemento para el desarrollo de las plantas en la agricultura (Calvo-García, 2011).

La reducción de  $N_2$ , comúnmente llamada “fijación de nitrógeno”, se lleva a cabo de manera biológica o química (Shin et al., 2016). La fijación biológica de nitrógeno es un proceso importante ya que provee las cantidades de N suficiente para los ecosistemas y agroecosistemas, importante para la recuperación y mantenimiento de la fertilidad en los suelos (Figueiredo et al., 2013). Las bacterias del suelo que no dependen de los exudados de la raíz de la planta se denominan de vida libre (Sharma et al., 2014). Los microorganismos capaces de fijar nitrógeno son un grupo de bacterias que pueden reducir y transformar el nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) en amonio ( $NH_4^+$ ) asimilable para las plantas (Bano e Iqbal, 2016).

## 2.6 Chile

*Capsicum annuum* comúnmente conocido como chile es una planta perteneciente a la familia solanáceas, originaria de México, sur de Estados Unidos Americanos, Centroamérica, las Antillas y norte de Sudamérica (Heike-Vibrans, 2009).

### Descripción técnica

A continuación, se muestra la descripción técnica, la cual fue basada en Correll y Johnston (1970), D’Arcy (2001); Nee (1986) y observaciones propias (A. Hanan):

Hábito y forma de vida: Hierba o arbusto.

Tamaño: De hasta 4 m de alto, aunque generalmente mucho más pequeño.

Tallo: Erecto o trepador, ramificado.

Hojas: Solitarias o en pares en cada nudo, alternas, ovadas, con una longitud máxima de 10 cm.

Inflorescencia: Flores solitarias, raramente en pares, en las axilas de las hojas. Los pedicelos son más largos que las flores, curvados hacia el ápice.

Flores: Cáliz acampanado y terminado en cinco dientes; la corola blanca o verdosa, en ocasiones amarillenta o violeta, con cinco pétalos algo triangulares, unidos en la base formando un tubo corto; cinco anteras grandes.

Frutos y semillas: El fruto es de color, forma y tamaño variable, carnosos o secos, hueco en el centro, generalmente picante (Figura 1). Semillas numerosas, circulares, aplanadas, amarillentas.



*Figura 1. Variabilidad de Capsicum spp. (SNICS, 2017).*

### 2.6.1 Chile serrano

El chile Serrano o verde se produce casi todo el año. La cosecha del ciclo otoño-invierno inicia en diciembre y concluye en agosto, los principales estados productores son Chihuahua, Sinaloa y Zacatecas (SIAP, 2010; SAGARPA, 2017). Los tipos de chile de mayor consumo en México son: los Anchos, Jalapeños, Serranos (verde), Mirasol (conocido como guajillo en seco) y pimiento.

En el año 2022 se registró una producción de chile verde de tres millones 112 mil toneladas

### 2.6.2 Problemáticas en chile serrano

Los cultivos agrícolas y los ecosistemas en México y el mundo enfrentan fuertes problemáticas originadas a consecuencia del calentamiento global y derivado de ello el cambio climático. A lo largo del siglo XXI, los efectos del cambio climático provocarán una reducción el crecimiento económico, los esfuerzos por reducir la pobreza se verán afectados al igual que la seguridad alimentaria (Field et al., 2014).

El sector agrícola será el más afectado económicamente hablando, por los efectos negativos del cambio climático (Fischer et al., 2005; Mendelsohn, 2009). El cambio climático no solo afecta disminuyendo la producción de alimentos provenientes de la agricultura, también las plagas y enfermedades se vuelven cada vez más frecuentes (Miranda-Galarza, 2024).

El problema fitopatológico puede llegar a ocasionar una pérdida de que va del 40 al 60 % de la producción de chile. Entre las plagas que más afectan al chile podemos encontrar las siguientes: picudo del chile (*Anthonomus eugenii*), Mosquita blanca (*Bemisia tabaci*), gusano soldado y del fruto (*Spodoptera exigua*, *Heliothis spp.*), paratrioza (*Bactericera cockerelli*), Trips (*Thrips spp*), Minador de la hoja (*Liriomiza spp*); enfermedades secaderas del chile (*Phytophthora spp*, *Pythium spp*, *Fusarium spp*, *Rizoctonia spp*) y Cenicilla polvorienta (*Oidium spp*) (UAEM, 2019).

### 2.7 Descripción de bacterias utilizadas

Clasificación taxonómica de *Bacillus simplex*:

Dominio: *Bacteria*

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Bacilli*

Orden: *Bacillales*

Familia: *Bacillaceae*

Género: *Bacillus*

Especie: *Bacillus simplex*.

Nombre científico completo: *Bacillus simplex* Priest et al. 1989 emend (Figura2). Heyrman et al. 2005

(Leibniz Institut DSMZ).

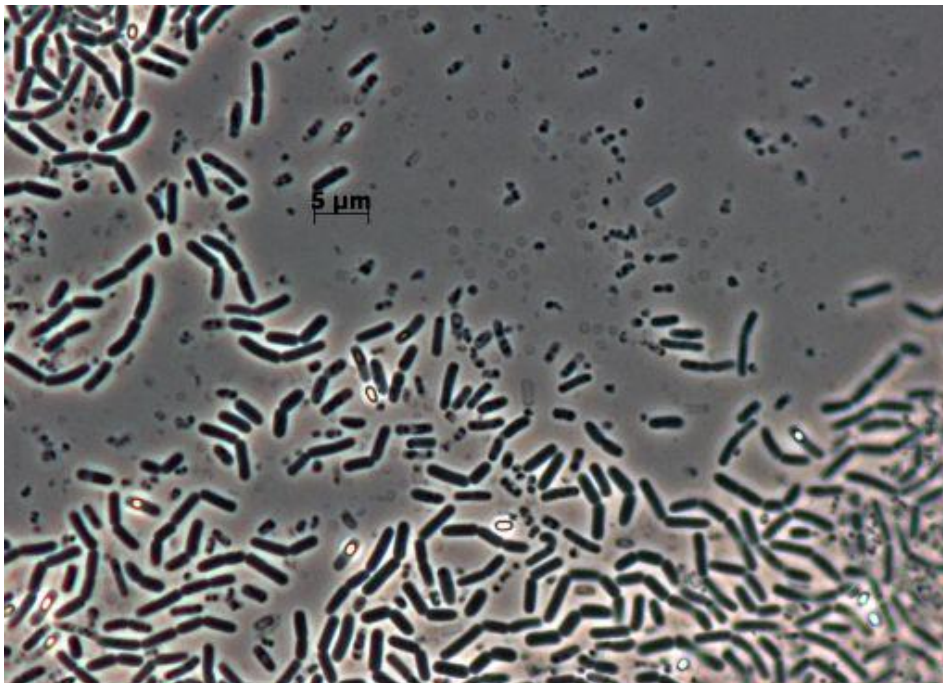


Figura 2. . Morfología de *B. simplex* (Leibniz-Institute, S.F.).

Clasificación taxonómica de *Arthrobacter ilicis* o *Paenarthrobacter ilicis*:

Última actualización LPSN: 14-12-2023 (DD-MM-YYYY).

Dominio: *Bacteria*.

Filo: *Actinomycetota*

Clase: *Actinomycetes*

Orden: *Mirococcales*

Familia: *Mirococcaceae*

Género: *Paenarthrobacter*

Especie: *Paenarthrobacter ilicis*

Nombre científico completo: *Paenarthrobacter ilicis* (Collins et al. 1982) (Figura 3). Busse, 2016.

Sinónimo: *Arthrobacter ilicis*.

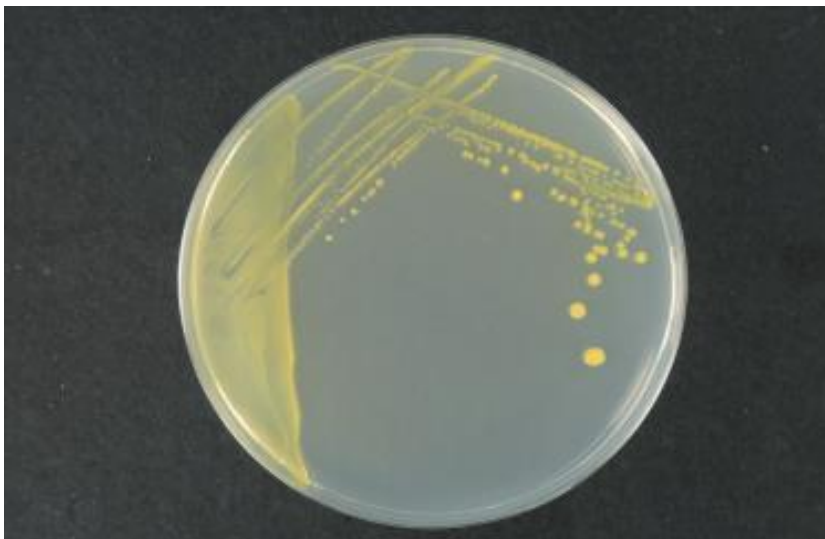


Figura 3. Colonia de *Paenarthrobacter ilicis* . © Landcare Research.

### 3. ANTECEDENTES

Karimi et al. (2024) experimentó con *Bacillus simplex* como bacteria promotora de crecimiento en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum L.*) en diferentes condiciones de riego. Los tratamientos consistieron en la inoculación de *B. simplex* y tres porcentajes diferentes de riego que consisten en 80%, 60% y 40% de la capacidad de campo del suelo. Las plantas fueron cosechadas pasados los 50 días y se registraron los siguientes parámetros, peso seco total, superficie foliar, peso seco de las hojas, peso seco de las raíces, peso fresco de las raíces, volumen de las raíces, área foliar específica (SLA), peso foliar específico (SLW), relación peso foliar (LWR), longitud de las raíces, superficie de las raíces, diámetro de las raíces y densidad de superficie de las raíces. La inoculación podría aumentar significativamente el peso seco total de los órganos aéreos en 23%, 27% y 46% y el peso seco de las hojas en 15%, 19% y 37%, respectivamente, en condiciones de riego normal, estrés hídrico moderado y severo. El área foliar aumentó respectivamente en 12% y 29% solo en las condiciones de estrés hídrico moderado y severo. La inoculación bacteriana en condiciones de riego normal y estrés hídrico medio aumentó el peso seco de la raíz en 37% y 42%, respectivamente, pero el peso húmedo de la raíz en estrés hídrico severo disminuyó en 28%. La inoculación *B. simplex* causó un aumento del volumen de la raíz en 27%, 31% y 51% y la superficie de la raíz en 16%, 20% y 38% respectivamente, en condiciones de riego normal y estrés hídrico moderado y severo. El diámetro de la raíz, la densidad del tejido radicular y la densidad de la superficie de la raíz aumentaron en 38%, 29% y 17%, respectivamente, en condiciones de estrés hídrico severo por inoculación bacteriana.

El género *Bacillus* es diverso y muchas especies de este género han demostrado tener actividad antagónica contra diversos microorganismos fitopatógenos de cultivos agrícolas (Wang et al., 2014; Li et al., 2015). Diferentes mecanismos evitan el establecimiento y desarrollo de organismos

fitopatógenos: A) la excreción de antibióticos, B) sideróforos, C) enzimas líticas, D) toxinas y E) induciendo la resistencia sistémica de la planta (IRS) (Figura 4) (Layton et al., 2011; Tejera-Hernández et al., 2011).

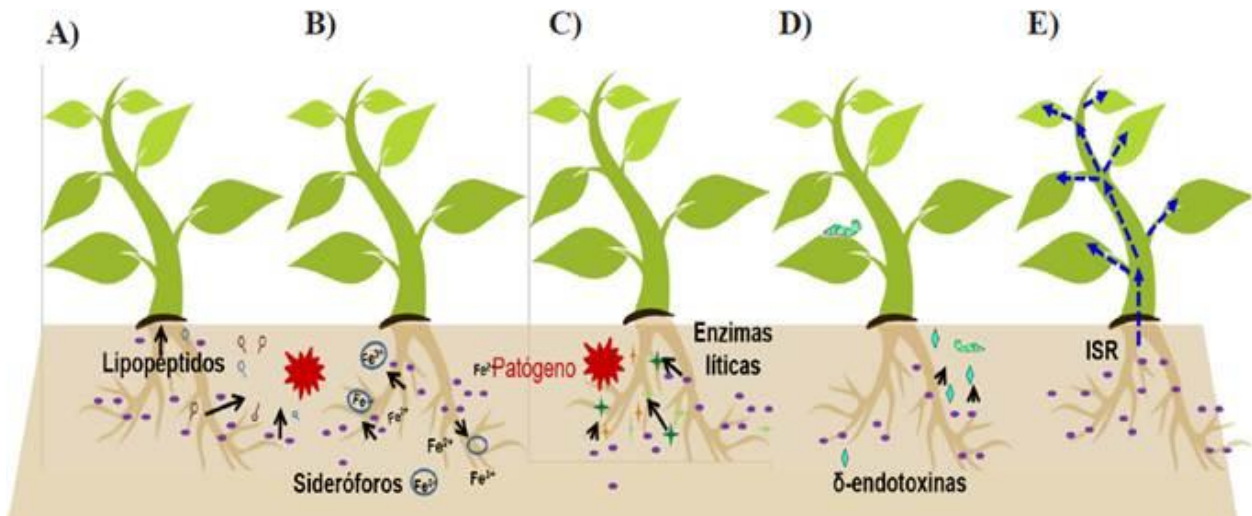


Figura 4. Mecanismos de control biológico empleados por microorganismos (Layton et al., 2011; Tejera-Hernández et al., 2011).

Hansen et al. (2020) realizaron dos experimentos en macetas para investigar el efecto de la inoculación simple y combinada de *Penicillium bilaiae* y *Bacillus simplex* evaluando el crecimiento y estado nutricional del trigo cultivado en invierno bajo diferentes niveles de fertilización con P además de la colonización y persistencia de los inóculos microbianos en las semillas y raíces del trigo de invierno. La inoculación con *B. simplex* resultó en mayores concentraciones de Mg, Mn y S en los brotes con una fertilización de cero potasio y mayor concentración de P en las raíces a todos los niveles de P. *B. simplex* mostró un efecto positivo en cuanto a la colonización de la semilla de trigo.

Los estudios existentes sobre la colonización de raíces por *B. simplex* son limitados (Hassen y Labuschagne, 2010). En este estudio documentaron la producción de ácido indolacético por *B. simplex* con un impacto positivo en el crecimiento de las plantas y las raíces. La mineralización de

P orgánico por cepas de *Bacillus* pueden aumentar la disponibilidad de P del suelo para las plantas y estimular el crecimiento de las plantas, como se muestra con *B. amyloliquefaciens* (Idriss et al. 2002). La aplicación combinada también resultó en una mayor absorción de P en el nivel de fertilización con P.

Cabanzo-Atilano et al. (2020) evaluaron el efecto de biofertilizantes en el desarrollo de plántulas de chile serrano. Los factores de estudio fueron: con y sin inocular *P. tolaasii* (P), sustrato esterilizado (SE) y sustrato no esterilizado (SNE) y solución nutritiva con Steiner (St) y té de vermicompost (Te). Como inóculo se utilizó la cepa bacteriana P61 de *P. tolaasii*, El cual se inoculó a los seis días de la emergencia de la plántula, se aplicó 1 mL de inóculo a una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> /cada plántula. A los 56 días se realizó una toma de datos destructiva. La mayor producción biomasa fresca de plántulas de chile serrano se logró inoculando *Pseudomonas tolaasii* y la aplicación de solución Steiner al 25% como fuente nutrimental. Mientras que la mayor longitud de raíz se dio con la aplicación de té de composta más *P. tolaasii* y un sustrato no esterilizado. La biomasa seca de la raíz mejora su rendimiento en un sustrato sin esterilizar y aplicaciones de tés de composta.

Cervera-Achur y Velasco (2023) experimentaron con los siguientes tratamientos en semillas de trigo: control (sin inocular), inoculación con *Azospirillum argentinense* (Az39) e inoculación con *Bacillus simplex* (BS), en proporciones de 0, 10 y 0.65 mL/Kg respectivamente. Se evaluaron los componentes del rendimiento en 1 m de longitud de 2 surcos centrales para determinar el peso individual de los granos (peso de mil granos) y total (rendimiento). En promedio la productividad del trigo tratado con Az39 fue independiente del nivel de productividad del sitio mientras que el tratamiento BS varió entre niveles de productividad. En los tratamientos con BS la producción de

granos no aumentó significativamente, contrario del tratamiento con Az39 que mostro un incremento en los rendimientos medios de aproximadamente 9% con respecto al control.

La evaluación de los aislados bacterianos *Bacillus simplex* (KBS1F-3), *Bacillus megaterium* (NAS7-L), *Bacillus cereus* (KFP9-F) para la promoción del crecimiento en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) realizada por Hassen y Labuschagne (2010), se llevó a cabo en condiciones de campo después de una selección preliminar en el invernadero. Tratando de siete tratamientos en este ensayo que incluyeron tres inoculaciones simples de NAS7-L, KFP9-F y KBS1F-3 respectivamente, así como inoculaciones combinadas de NAS7-L + KBS1F-3, NAS7L + KFP9-F, NAS7-L + KBS1F-3 + KFP9-F y el control sin inocular. A las semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. Money Maker) y después del trasplante se les aplicaron 75 ml de solución bacteriana a cada planta, la inoculación se aplicó cada 10 días. Cuatro semanas después de la inoculación inicial, se cosecharon las plantas y se lavaron sus raíces. La inoculación única con los aislados KBS1F-3 y KFP9-F resultó en un aumento en el peso fresco de los brotes. El aumento fue del 73.6% para KBS1F-3 y del 57.4% para KFP9-F. Se registró un aumento significativo del peso fresco con inoculaciones combinadas de los tres aislados, NAS7-L + KBS1F-3 + KFP9-F, aumentando el 56.6%. Sin embargo, no se observó ningún cambio estadísticamente significativo en el peso seco de los brotes con ninguno de los tratamientos utilizados. Las inoculaciones únicas con KBS1F-3 y KFP9-F respectivamente, resultaron en un aumento significativo del peso seco de la raíz con un aumento del 71.4 y 66.5% respectivamente en comparación con el control. La inoculación con KBS1F-3 y KFP9-F aplicadas individualmente, respectivamente, resultó en un aumento del 54.7 y 56.9% en la longitud total de la raíz en comparación con el control.

Erturk et al. (2010) estudiaron el potencial enraizador de rizobacterias en esquejes de kiwi (*Actinidia deliciosa*), usando siete bacterias no fitopatógenas, *Bacillus RC23*, *Paenibacillus*

*polymyxa RC05*, *Bacillus subtilis OSU 142*, *Bacillus RC03*, *Comamonas acidovorans RC41*, *Bacillus megaterium RC01* y *Bacillus simplex RC19*. Con una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/mL. Las bacterias también fueron analizadas para la producción de ácido indol-3-acético (IAA). El material vegetal usado fue tallo de madera dura y semidura de esquejes de kiwi cv. Hayward. Se notó gran variación en la capacidad de producción de IAA entre las rizobacterias promotoras de crecimiento analizadas. Todas las cepas lograron producir fitohormona promotora del crecimiento de las plantas, IAA (ácido indol-3-acético), lo que confirma la capacidad natural de las PGPR para sintetizar IAA. La cantidad de IAA producida varió entre las bacterias, desde 4.3 (*Bacillus RC23*) hasta 7.2  $\mu\text{g}$  (*Bacillus simplex RC19*) en ausencia de suplementos de triptófano. Cuando las cepas se cultivaron en presencia de 25  $\mu\text{g}$  de triptófano por mL durante aproximadamente 48-168 h, las PGPR produjeron niveles más altos de IAA. *Bacillus simplex RC19* y *Paenibacillus polymyxa RC05* produjeron niveles más altos de IAA (33.6 y 32.8  $\mu\text{g/mL}$  (unidad OD600)-1), mientras que la producción más baja de IAA se detectó en *Bacillus RC23* (20.4  $\mu\text{g/mL}$  (unidad OD600)-1). La mayor longitud y diámetro de raíz de esqueje osciló entre 9.76 (IBA “ácido indol-3-butírico” 400 ppm), 9.22cm (IBA 2000 ppm), 8.63 cm (*Bacillus simplex RC19*), y 7.70 cm (*Comamonas acidovorans RC41*). En conclusión, este estudio demostró que las rizobacterias promotoras de crecimiento perteneciente al género *Bacillus*, *Paenibacillus* y *Comamonas* tiene potencial para incentivar la formación de raíces en esquejes de kiwi. Se encontró que *Bacillus RC03*, *Bacillus simplex RC19* y *Comamonas acidovorans RC41* producen más AIA maximizando el rendimiento de esquejes enraizados.

Nawaz et al. (2024), evaluando la deficiencia de riego en plantas de maíz inoculadas con *Bacillus simplex*, obtuvieron los siguientes resultados: La mayor altura de la planta (125 cm), diámetro del tallo (18.02 mm), área foliar (350  $\text{cm}^2$ ), peso de la planta (180.42 g en fresco, 73.58 g en seco),

longitud de la raíz (92.83 cm), peso de la raíz (91.70 g en fresco, 28.66 g en seco) se registraron en macetas aplicadas con 100% de riego seguido de 75%. Las plantas tratadas con *Bacillus* mostraron un aumento de área foliar (214.20 cm<sup>2</sup>), peso fresco de la planta (91.65 g) y peso seco (42.05 g), longitud de la raíz (79.20 cm), raíz fresca (53.52 g) y peso seco (16.70 g) en comparación con el control (sin inoculación de bacterias). La mayor eficiencia de uso del agua se registró como 0.67 g/maceta/mm con la inoculación del Tratamiento B +. Asimismo, las macetas inoculadas con *Bacillus* dieron como resultado una mayor eficiencia en el uso del agua (0.44 g/maceta/mm) en comparación con ninguna aplicación (0.36 g/maceta/mm).

Se estudió la respuesta del maíz inoculado con *Arthrobacter sp.* y *Bacillus sp.* en suelos deficientes en fósforo y afectados por la salinidad. Vanissa et al. (2020) evaluaron 4 tratamientos: #1 (control) en el que se suministró una solución nutritiva de Hoagland; #2 (estrés salino), se complementó la solución del tratamiento #1 con NaCl para generar una CE de 12 dS/m; #3 (deficiencia de P), se les proporcionó la solución de Hoagland carente de fosfato soluble, pero con fosfato de roca añadido (RP) en macetas (350 mg P/g suelo) CE de 0 dS/m ; y #4 (estrés salino combinado y P deficiente el medio contenía tanto RP como NaCl (CE de 12 dS/m). Las plantas se evaluaron seis semanas después del trasplante en el invernadero. El estrés salino comprometió la elongación de los brotes, así como la acumulación de biomasa en brotes y raíces de manera más notoria que deficiencia de P, la combinación de ambos limitantes resulto incluso más dañina. Las raíces no fueron inhibidas en su crecimiento por ningún factor limitante e incluso le favoreció la deficiencia de P. La inoculación con cada una de las cepas de bacterias en plantas sometidas a estrés combinado de sal y P fue significativa, mejorando la acumulación de biomasa en el brote como en las raíces y promoviendo el alargamiento en las raíces y los brotes. Las plantas expuestas a estrés combinado acumularon menos Na<sup>+</sup> en su biomasa cuando se inocularon con rizobacterias. Efecto

no tan claro en las raíces. Una comparación entre las concentraciones de  $K^+$  en el brote y la raíz y sus proporciones  $K^+ / Na^+$  indicó que las BPCV presentes en la raíz beneficiaron dependiendo de la cepa, así como de la variedad de maíz. Se observó un efecto positivo en el número de brotes y raíces de plantas inoculadas, también influyó en el contenido de P.

Chhetri et al. (2022), en plantas de arroz (*Oryza sativa L.*) inocularon *Arthrobacter sp.* GN70 para probar la capacidad de producción de biopelículas. En este estudio, se seleccionó únicamente *Arthrobacter sp.* GN70 para evaluar su efecto antimicrobiano ante microbios patógenos. Se utilizaron sesenta semillas para el control (sin inocular) y sesenta semillas inoculadas con GN70 y se plantaron en macetas. Las células formaron biopelículas, que se confirmaron por la presencia de películas flotantes. GN70 se puede utilizar como promotor de crecimiento de plantas, supresor de patógenos de las plantas y coadyuvante en el estrés por déficit de agua. La actividad antifúngica de GN70 mostró inhibir *F. proliferatum* KACC 44025, que afecta a la planta de arroz. El GN70 mostró un efecto significativo en el crecimiento de la planta de arroz, notable en el sistema de brotes y raíces laterales. En comparación con los grupos de control, las semillas inoculadas con GN70 aumentaron en longitud de brote, longitud de raíz, peso fresco de planta y peso seco de planta en 57,7%, 26,7%, 89,6% y 97,1%, respectivamente.

Banerjee et al. (2010) probaron la solubilización de fosfatos inducidas por *Arthrobacter sp.* y *Bacillus sp.* en la rizosfera de los tomates. Estas dos cepas aisladas son solubilizadoras altamente eficientes de tres fosfatos insolubles comunes:  $Ca_3(PO_4)_2$ ,  $AlPO_4$  y  $FePO_4$ . Estas bacterias producen amoníaco. Metabolito que influye directamente en el crecimiento de las plantas. El cianuro de hidrógeno fue otro metabolito secundario producido por *Bacillus sp.* Dicho metabolito inhibe el crecimiento de otros microorganismos patógenos en la rizosfera de la planta.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

México es uno de los principales productores de chile a nivel mundial y se ha mantenido en ese lugar por años, sin embargo, su manejo y el inconsciente uso de fertilizantes químicos trae consigo consecuencias negativas a los suelos y por lo tanto a los cultivos e incluso ecosistemas aledaños, volviendo menos fértiles y compactos los suelos, formando un nicho reservorio de microorganismos patógenos; sumado a los efectos de cambio climático hacen cada vez más complicado obtener cosechas abundantes y remunerativas para los agricultores. Los microorganismos promotores de crecimiento vegetal son una alternativa perfecta para contrarrestar estos efectos negativos y formar parte del manejo y restauración integral de los suelos.

La presente investigación busca documentar el efecto de las BPCV *Bacillus simplex* y *Arthrobacter ilicis*, así como un consorcio de ambas y evaluar su potencial para favorecer el desarrollo y rendimiento (kg) de chile serrano, a su vez, se busca evaluar parámetros de calidad del fruto, conocer su efecto solubilizador de fósforo y conocer su influencia en las condiciones de pH del suelo. Es de importancia el estudio de estos microorganismos en los suelos y adoptarlos como una herramienta para minimizar el uso de fertilizantes y pesticidas de síntesis química y a su vez aumentar el rendimiento de las cosechas.

## 5. HIPÓTESIS

La inoculación de las bacterias *Bacillus simplex* y *Arthrobacter ilicis* promoverá positivamente el crecimiento de la planta y rendimiento del chile serrano (*Capsicum annuum*).

## 6. OBJETIVOS

### 6.1 Objetivo general

Evaluar la influencia de la inoculación de *Bacillus simplex* y *Arthrobacter ilicis* en planta de chile serrano en el crecimiento de la planta, rendimiento, contenido de metabolitos especializados y respuesta bioquímica, así como su influencia en el pH del suelo.

### 6.2 Objetivos específicos

- 1) Evaluación de variables morfológicas de planta de chile inoculada con *B. simplex* y *A. ilicis*.
- 2) Conocer el rendimiento y calidad del fruto de chile de planta inoculada con *B. simplex* y *A. ilicis*.
- 3) Determinar la influencia de la inoculación de *B. simplex* y *A. ilicis* en la bioquímica de la planta y en el contenido total de capsaicinoides.
- 4) Conocer el efecto de *B. simplex* y *A. ilicis* en el pH de un suelo alcalino.
- 5) Realizar pruebas bioquímicas y en *in vitro* de planta de chile inoculada con *B. simplex* y *A. ilicis* para conocer el efecto promotor de crecimiento.

## 7. METODOLOGÍA

### 7.1 Sitio de trabajo

El cultivo de la planta se llevó a cabo en la parcela experimental ubicada en el estado de Querétaro, municipio el Marqués en la localidad de Amazcala dentro la parcela experimental de la universidad autónoma de Querétaro campus Amazcala, FCN (20°42'35''N; 100°15'21''O).

### 7.2 Diseño experimental y evaluación en *in vivo*.

En un diseño de bloques al azar (Figura 5) se incluyeron 4 tratamientos: testigo (T1); *Arthrobacter ilicis* (T2); *Bacillus simplex* (T3); *A. ilicis*+ *B. simplex* (T4). Cada bloque se compone de 3 surcos de 10 m de largo, con una densidad de siembra de 5 plantas/metro (figura 6) y entre cada bloque se dejó un surco de separación a forma de barrera en el cual no se aplicó ningún tratamiento. Se llevaron a cabo 3 repeticiones.

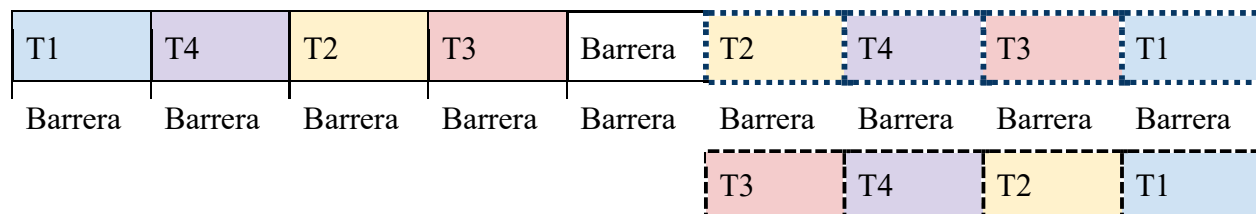


Figura 5. Croquis del diseño experimental para la evaluación en *in vivo*.



Figura 6. Densidad de siembra de plantas de chiles A) adultas; B) plántula.

### 7.2.1 Inoculación de los microorganismos en planta de chile en *in vivo*

Se utilizó planta de chile de la variedad llanero (SAKATA). La semilla se sembró el 19 de febrero y se trasplantó a los 81 días a la parcela (11 de mayo de 2023). Después del trasplante, se inoculó  $1 \times 10^9$  UFC mediante aspersion del suelo (Lovaisa et al., 2018) a los 32, 76 días y 102 días, con un total de tres aplicaciones, el 12 de junio, 26 de julio y 21 de agosto. La bacteria se activó previamente en 250 mL de caldo Luria Bertani.

### 7.2.2 Toma de datos morfológicos y rendimiento

Se llevaron a cabo 6 mediciones de 5 plantas seleccionadas al azar de cada uno de los tratamientos y sus repeticiones, una vez que el cultivo se estableció en el campo experimental. 1) se documentaron las alturas con ayuda de un flexómetro, número de frutos y de inflorescencias; 2) aproximadamente, un mes después se contó el número de frutos y se pesaron con ayuda de una balanza granataria; 3) una semana más tarde se realizó una segunda cosecha en la cual se tomó en cuenta la altura, número de flores y frutos y peso de frutos; 4) dos semanas después se tomó otra medición de alturas; 5) posteriores dos semanas se midió la altura, se contó el número de frutos y su peso. 6) de igual manera se midieron el tamaño de los frutos de la última cosecha (figura 7), por último, se midió la longitud y peso de la parte aérea y de la raíz de la planta.



*Figura 7. Medición de la longitud de frutos.*

### 7.2.3 Variables de calidad del fruto

Las variables de calidad evaluadas para el fruto fueron pH, acidez titulable y SST ( $^{\circ}$ Brix). Con un mortero se molieron por separado 6 frutos, de la cosecha del 18/7/23 y 26/7/23, de cada tratamiento y se diluyó con agua destilada. El pH de las muestras de fruto fue determinado según lo describe el método de la NOM-F-317-S-1978. Para la determinación de SS (sólidos solubles), la muestra fue colocada en el prisma del refractómetro (figura 8), posteriormente se registró la lectura directa en  $^{\circ}$ Brix, como se describe en la NMX-F-112-NORMEX-2010.



Figura 8. Muestra de chiles molidos y refractómetro.

La acidez titulable AT se reportó como % de ácido málico, de acuerdo a la NMX-F-102-NORMEX-2010. Se colocaron 5 mL de muestra y se añadieron 2 gotas de fenolftaleína y posteriormente se tituló con NaOH 0.1 N. El cálculo de acidez titulable se hizo con la siguiente fórmula (Ecuación 1):

$$\% \text{ acidez} = (V \text{ NaOH}) (N \text{ NaOH}) (\text{meq ácido málico}) * 100 / V \text{ muestra} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde;

V NaOH = Volumen de la solución de NaOH utilizado (mL)

N NaOH = Normalidad de la solución de NaOH

meq ác. mál = Miliquivalentes ácido málico = 0.067

V muestra = Volumen de muestra (mL)

#### 7.2.4 Capsaicinoides

Para determinar el contenido de capsaicina se llevó a cabo una extracción que consistió en moler 5 frutos de chile sin pedúnculo previamente deshidratados, se dejaron macerar en acetona a una relación de 1:6 (chile:acetona) (masa/volumen) durante al menos 15 minutos. Con un rotavapor BÜCHI R-200/205 a 46°C, 80.5 rpm a una presión de vacío de 200 mba/hpa (figura 9) se extrajo la oleoresina con capsaicinoides, el residual de acetona presente en la oleoresina se dejó evaporar en un lugar oscuro a temperatura ambiente (Arciniega-Yáñez et al. 2017).



*Figura 9. Rotavapor.*

#### 7.2.5 Evaluación de pH en suelo (NOM-021-SEMARNAT-2000)

Para realizar el muestreo en los diferentes tratamientos, se utilizaron muestras compuestas, a una profundidad de 30 cm. El análisis de pH se ejecutó siguiendo la metodología que indica la NOM-021, la cual describe que se debe colocar suelo:agua (1:2) (agua destilada), se debe agitar 7 veces cada cinco minutos (por media hora) y se deja reposar por 15 minutos, se vuelve a agitar y se toma la lectura con un pH-metro.

7.2.6 Actividad enzimática PAL (Método reportado por Toscano et al. (2018) con modificaciones).

Búfer de extracción (Borato 0.1 M, 0.1% v/v de 2-Mercaptoetanol, pH 8.8). Se disolvió 0.451 g de ácido bórico y 1.029 g de borato de sodio en 60 mL de agua destilada. Posteriormente, se añadió 100  $\mu$ L de 2-mercaptoetanol y aforó a un volumen final de 100 mL con agua destilada.

Búfer de reacción (Borato 0.1 M, L-Fenilalanina 10 mM, pH 8.8). Se disolvió 0.451 g de ácido bórico, 1.029 g de borato de sodio y 0.1652 g de L-Fenilalanina en 60 mL de agua destilada posteriormente, se aforó a un volumen final de 100 mL con agua destilada.

Solución Stock de ácido cinámico [3 mg/mL]. Se disolvieron 0.075 g de ácido cinámico en 20 mL de agua destilada y se aforó a un volumen final de 25 mL con agua destilada.

Para la preparación del extracto enzimático se pesó 50 mg de muestra vegetal y homogeneizó en un mortero con 1 mL de búfer de extracción; Posteriormente, se colocó la muestra homogeneizada en un tubo de ensayo, se agregó 1 mL de búfer de extracción y agitar en vortex durante 2 min; Se centrifugó la mezcla a 12,000 rpm durante 15 min, y se separó el sobrenadante (extracto enzimático).

El ensayo de actividad enzimática se realizó en celdas, colocando 2.3 mL de buffer de reacción y se añadió 0.2 mL de extracto enzimático y se incubó la mezcla a 40 °C durante 60 min., una vez transcurrido el tiempo de incubación, se añadió 0.5 mL de solución de HCl 1 N (para detener la reacción) y se dejó reposar durante 10 min. La absorbancia se midió a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 290 nm.

### 7.3 Evaluación de la planta en *in vitro*

Para la reactivación de las bacterias se utilizó agar LB, utilizando 100 µL de muestra, y se dejó en incubación por 72 h a 21 °C para su crecimiento (Prola & Bortolato, 2022).

#### 7.3.1 Conteo de UFC/cm<sup>3</sup>

A las cajas Petri previamente sembradas se les agregó agua estéril, se hizo un raspado con una varilla de vidrio, después se decantó esta solución a un tubo graduado, la solución de *B. simplex* se aforó con agua estéril hasta alcanzar 5 mL (solución 1-B), y la muestra *A. ilicis* se aforó con agua esterilizada hasta llegar a 7 mL (solución 1-A) (Piedrahita, 2013).

Para el conteo de UFC/cm<sup>3</sup> de *B. simplex* se hizo una disolución 1:6 (tomando 0.5mL de la solución 1-B y 2.5 mL de agua estéril), se colocó 10µl de la disolución en la cámara de Neubauer para contar con ayuda de un microscopio óptico. Se utilizó el factor proporcionado de la cámara de Neubauer, para poder conocer la concentración de UFC/cm<sup>3</sup> de la bacteria se realizó con la ecuación 2.

$$\text{UFC/cm}^3 = (\text{UFC totales contadas} * \text{dilución}) / (\text{profundidad de la cámara} * \text{superficie contada})$$

Ecuación 2. concentración de UFC/cm<sup>3</sup> (Piedrahita, 2013).

Para el conteo de UFC/cm<sup>3</sup> de la bacteria *A. ilicis* se hizo el mismo procedimiento que en la anterior, pero con una disolución 1:20 (tomando 0.5 mL de la solución 1-A y 10 mL de agua estéril).

### 7.3.2 Preparación de agar Murashige y Skoog en frascos

Se utilizaron 150 mL de agua destilada, 2.1 g de agar bacteriológico y 0.66 g de medio de cultivo Murashige y Skoog, después se procedió a esterilizar en la autoclave a 121 °C por 15 minutos a 15 PSI, posterior a eso se vertieron a 15 frascos 10 mL del medio, y se llevaron al refrigerados por 72 horas para descartar la presencia de contaminantes presentes para su posterior uso.

### 7.3.3 Desinfección de semillas

Se seleccionaron 150 semillas, fueron lavadas 2 veces con agua y jabón con la finalidad de descartar cualquier residuo contaminante presente en el fruto (detergente FOCA en polvo), para proceder con la desinfectar la semilla en la solución de hipoclorito de sodio al 1% (solución 1:9) durante 3 minutos, pasado el tiempo se enjuagaron 3 veces con agua destilada estéril (Camacho et al., 2022).

### 7.3.4 Inoculación de semillas

En este caso para el experimento llevado a cabo en *in vitro* se tomaron en cuenta 5 tratamientos: un control con bacterias promotora de crecimiento vegetal comercial (NitromaxS, Querétaro), hecho en México por Biochem Systems S.A de C.V, formulado con  $1 \times 10^9$  UFC/g de bacterias activas de *Rhizobium japonicum*; un control al cual no se le agregan bacterias (semilla sola); *Bacillus simplex*; *Arthrobacter ilicis* y un consorcio (*B. simplex* y *A. ilicis*). Se realizó por triplicado, con una unidad experimental de 10 semillas.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el conteo de las UFC/cm<sup>3</sup>, se realizaron cálculos para estimar la cantidad de solución de bacterias para realizar una inoculación final de  $7.8889 \times 10^{10}$  UFC/cm<sup>3</sup>.

Para la inoculación, cada una de las semillas fueron sumergidas en las soluciones, se colocaron 10 en cada frasco con ayuda de pinzas, se hizo triplicado de cada uno de los tratamientos, al terminar se llevaron a incubación por 72 h a 21 °C. Se tomaron datos de germinación (figura 10).



*Figura 10. Plántula crecida en in vitro.*

Cuando todas las plantas ya tenían sus primeras hojas verdaderas, se midió longitud de raíz y parte aérea con un calibrador vernier digital.

Para rectificar la presencia de las bacterias en las plántulas, se tomaron 3 plantas de cada frasco y se le tomó 1 cm de tallo de cada una, se colocaron en 10 mL de agua estéril, de esta solución se tomó 0.33 mL y se vertió en un tubo graduado, posterior a esto se aforó a 1 mL, y se sembró por la técnica de extensión superficial vertiendo 0.1 mL de la solución.

Se tomó 1 cm de raíz de estas 3 plantas y se realizó el mismo procedimiento.

### 7.3.5 Variables bioquímicas

#### 7.3.5.1 Prueba de solubilización de fósforo

Para preparar 500 ml de agar para prueba de solubilización de fósforo se utilizaron: 2.5 g de fosfato tribásico de calcio, 0.0125 g de azul de bromofenol, 9 g de agar bacteriológico, 5 g de glucosa, 2.5 g de cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ), 0.125 g de sulfato de magnesio ( $MgSO_4$ ), 0.1 g de cloruro de potasio (KCl) y 0.05 g de sulfato de amonio  $(NH_4)_2SO_4$ . Posteriormente en un recipiente de 500 mL se vertieron 132 mL de agua destilada, la cual se calentó en una parrilla sin llegar a ebullición, se le agregaron 0.75 g de  $Ca_3(PO_3)_3$ , 0.007g de Azul de bromofenol y 2.7 g de Agar bacteriológico. En un recipiente de 100 mL se vertieron 6 mL de agua y 1.5 g de glucosa.

En un vaso de precipitado de 100 mL se vertieron 12 mL de agua destilada y se procedió a disolver 0.75 g de  $MgCl_2$ , 0.038 g de  $MgSO_4$ , 0.03 g de KCl y 0.015 g de  $(NH_4)_2SO_4$ , esto se vertió en el recipiente de 500 mL y se procedió a esterilizar junto con el recipiente de 100 mL con glucosa a  $121^\circ C$  por 15 minutos a 15 psi. Se dejó en reposo durante 30 minutos, para después homogeneizar los contenidos de los recipientes, se vertió la solución en cajas Petri y se refrigeró por 48 h.

Para la inoculación se sembró con la técnica de estriado (cada bacteria por triplicado), se llevaron a incubación por 7 días a  $21^\circ C$ , las bacterias solubilizadoras de fósforo forman un halo alrededor de las colonias virando el color del medio de cultivo de azul (Figura 11) a amarillo (Buono & Ulla, 2016).

Se realizaron cinco repeticiones con una unidad experimental de diez bacterias. Se midió la bacteria sola y bacteria con halo por medio de un calibrador vernier digital, se estimó la eficiencia de producción por medio de la siguiente fórmula (Ecuación 3) (Buono & Ulla, 2016).

$$\% EP = (\text{Diámetro de halo} - \text{Diámetro de la colonia}) / \text{Diámetro de la colonia}$$

Ecuación 3 para estimar la eficiencia de producción.

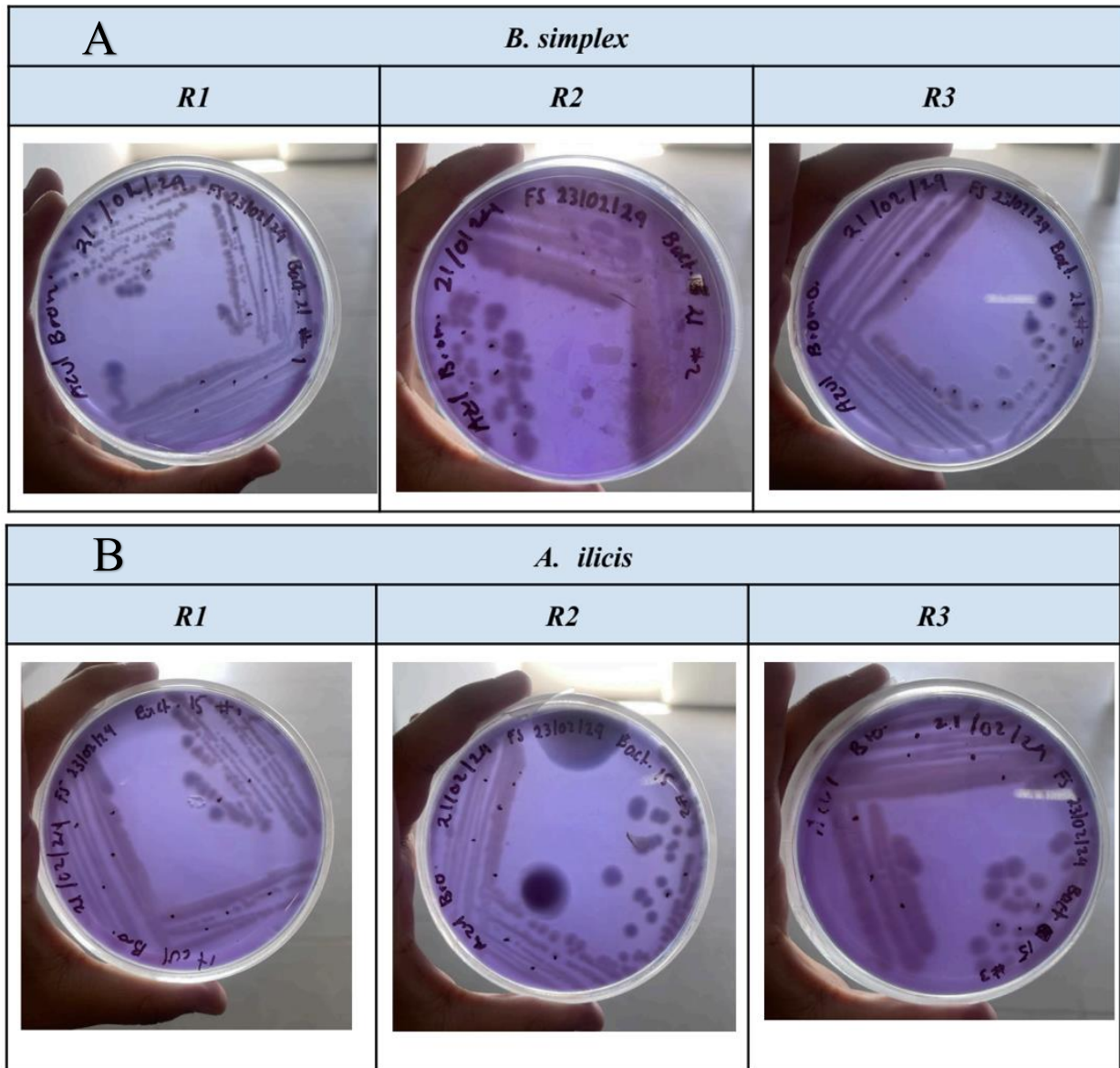


Figura 11. Puntos al azar donde se midió el halo con las bacterias A) *B. simplex*; B) *A. ilicis*.

### 7.5.2 Prueba de ácido giberélico ( $AG_3$ )

Se vertió caldo LB en 6 tubos de ensayo para cada bacteria (*B. simplex* y *A. ilicis*) por triplicado y se esterizaron a 121°C por 15 minutos a 15 psi, se llevaron a refrigeración por 24 h, se vertió en dos viales para cada bacteria (*B. simplex* y *A. ilicis*) 600 µl de agua estéril, se tomó muestra de cada bacteria activada, se homogeneizó y se vertió 150 µl en cada vial (cada bacteria por triplicado) para posteriormente incubar a 21°C por 72 h.

Se tomaron 2 mL de cada tubo y se vertieron a un vial. Posteriormente se centrifugaron a 13000 rpm por 10 minutos para eliminar biomasa celular, se tomó 1 mL, se vertió a un tubo graduado y se aforó a 10 mL con ácido clorhídrico (HCl). Reposar por 30 minutos. En cada tubo se hizo una dilución de 2:5, y se llevó al espectrofotómetro a 254 nm para medir la absorbancia de cada muestra. Se hizo una curva de calibración a partir de soluciones estándar de: 50, 100, 200, 300, 400, 500 y 600 µg/mL, para estimar la cantidad de ácido giberélico producido, estas fueron preparadas a partir de una solución madre de 100 mg AG3 en 250 mL de etanol absoluto. Las soluciones se acidificaron y se extrajeron con acetato de etilo. Los valores de absorbancia contra concentración se graficaron y ajustaron mediante regresión lineal, y se obtuvo la ecuación de acuerdo con la curva de calibración (Rentería et al., 2019).

## **8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Para la detección de diferencias entre los tratamientos se empleó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $p=0.05$  utilizando el paquete estadístico Graph Pad PRISM software, versión 8.

## 9. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 9.1 Evaluación en planta de chile del efecto de la inoculación de *A. ilicis* y *B. simplex* en *in vivo*

#### 9.1.1 Rendimiento y datos morfológicos de la planta

Para la primera fecha del muestreo realizada a los 43 días se midieron las variables de altura, número de frutos y número de flores en las cuales no hubo diferencias significativas entre tratamientos. A los 69 días se mostraron diferencias significativas en las variables de número de frutos y rendimiento, siendo *B. simplex* mayor que el control, el resultado para el número de frutos de la planta inoculada con *B. simplex* fue de  $17 \pm 5$  frutos y para el control fue de  $11 \pm 5$  frutos, el rendimiento de la planta inoculada con *B. simplex* obtuvo una media de  $123.9 \pm 44.0$  g y para el control  $75.6 \pm 51.3$  g (Cuadro 2).

A los 77 días se evaluó altura, número de frutos, número de flores y rendimiento no hubo diferencias significativas al igual que a los 89 días que se evaluaron las alturas. Siendo hasta el día 103 donde se encontraron diferencias significativas en las variables de número de frutos y rendimiento, la media estadística para la variable número de frutos de la planta inoculada con *A. ilicis* fue  $28 \pm 10$  frutos y el control  $11 \pm 8$  frutos, mientras que el resultado la planta inoculada con el consorcio también fue mayor con respecto al control, de  $28 \pm 21$  frutos; en cuanto al rendimiento, las diferencias significativas fueron entre las plantas inoculadas con las bacterias y el control, arrojando medias de  $248.8 \pm 125.9$  g,  $228.8 \pm 161.1$  g y  $239.5 \pm 197.4$  g, respectivamente para *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio, para el control la media fue de  $87.9 \pm 75$  g (Cuadro 2).

El último día se evaluaron pesos y longitudes tanto de la parte aérea como de la raíz. El peso seco de la parte aérea de la planta no mostró diferencias significativas, las medias fueron  $85.2 \pm 24.7$  g,  $85 \pm 31.54$  g,  $109.9 \pm 45.5$  g y  $70.77 \pm 24.07$  g, para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio,

respectivamente. El peso de la raíz no mostró diferencias significativas, las medias fueron  $28.61 \pm 8.1$  g,  $25.4 \pm 12.3$  g,  $25.5 \pm 15$  g y  $27.3 \pm 15.3$  g, para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio, respectivamente. La longitud de la parte aérea de la planta medida en centímetros, no mostró diferencias significativas, las medias fueron  $38.13 \pm 5.1$ ,  $38.64 \pm 3.06$ ,  $39.81 \pm 2.46$  y  $39.4 \pm 5.34$ , para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio, respectivamente. La longitud de la raíz medida en centímetros no mostró diferencias significativas, las medias fueron  $20.5 \pm 2.9$ ,  $18.64 \pm 5.12$ ,  $19.99 \pm 2.20$  y  $17.96 \pm 3.23$ , para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio, respectivamente (Cuadro 2).

El rendimiento total expresado en gramos, resultado de todas las cosechas, fue significativamente mayor para los tratamientos inoculados con *A. ilicis* y *B. simplex* con medias respectivas de  $460.2 \pm 10.9$  y  $564.0 \pm 61.3$ , con respecto al control cuya media fue de  $283.0 \pm 32$  (Cuadro 2).

Cuadro 2. Datos morfológicos del cultivo en in vivo.

Días	Variable	Control	<i>A. ilicis</i>	<i>B. simplex</i>	Consorcio
43 (22/06/2023)	Altura (cm)	$34.1 \pm 5.4$	$35.5 \pm 4.4$	$37.3 \pm 3.4$	$34.2 \pm 5.0$
	Número de frutos	$6 \pm 3$	$8 \pm 3$	$6 \pm 4$	$9 \pm 4$
	Número de flores	$2 \pm 1$	$2 \pm 1$	$3 \pm 2$	$2 \pm 1$
69 (18/07/2023)	Número de frutos	$11 \pm 5$ b	$13 \pm 6$ ab	$17 \pm 5$ a	$14 \pm 4$ ab
	Rendimiento (g)	$75.6 \pm 51.3$ b	$104.0 \pm 64.5$ ab	$123.9 \pm 44.0$ a	$97.4 \pm 44.8$ ab
77 (26/07/2023)	Altura (cm)	$35.1 \pm 4.4$	$35.2 \pm 5.7$	$33.4 \pm 3.6$	$36.2 \pm 2.8$

	Número de frutos	10±7	14±5	16±8	16±8
	Número de flores	3±2	4±3	4±3	5±2
	Rendimiento (g)	91.2±71.1	124.8±65.5	142.2±88.3	122.8±73.3
89	Altura (cm)	36.5±3.3	35.7±3.7	35.3±3.5	34.7±4.1
(07/08/2023)					
103	Altura (cm)	35.6±4.3	37.2±4.4	36.2±4.4	35.4±5.0
(21/08/2023)					
	Número de frutos	11±8 b	28±10 a	23±14 ab	28±21 a
	Rendimiento (g)	87.9±75 b	248.8±125.9 a	228.8±161.1 <sup>a</sup>	239.5±197.4 a
Total	Rendimiento (g)	283±32 c	460.2±10.9 ab	564±61.3 a	400.7±57.2 bc

Las letras indican diferencia entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ).

Las plantas que se inocularon con *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio en las diferentes etapas (Cuadro 2), no presentaron diferencias significativas en los valores de altura, valor contrario a otros estudios en *in vivo*. Amaresan et al. (2012), encontraron un mayor tamaño en el cultivo de chile, con respecto a la planta sin inocular, durante los primeros días después de la inoculación en semilla con *Bacillus sp.* *Bacillus cereus*, *Bacillus sp.*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus megaterium*, los cuales son de 142.2, 167.2, 126.5, 175 y 157.0 %, respectivamente.

Las investigaciones de Amaresan et al. (2012) y Camacho-Rodríguez et al. (2022), en sus resultados no encontraron diferencias significativas en altura de la planta al comparar planta

inoculada con *Arthrobacter* sp, lo cual coincide con los resultados obtenidos en la presente investigación.

Para el número de frutos, se observaron diferencias significativas en el muestreo a los 69 días, teniendo más frutos la planta inoculada con *B. simplex*, con respecto del control del 155 %. Cruz-Trejo (2019) no obtuvo diferencias significativas al trabajar con *Bacillus subtilis* en chile jalapeño, lo cual se justifica con una varianza elevada de 48.48 en una media de 16 chiles. González et al. (2018), en cultivo de tomate obtuvo resultados favorables con una media de 35 frutos de jitomate tipo saladet por planta teniendo diferencias significativas con una cepa de *Bacillus* sp. Camacho-Rodríguez et al (2022), obtuvo un mayor número de frutos en la planta de chile jalapeño inoculada con *Arthrobacter* sp, del 169 %, sin embargo, en la presente evaluación no se obtuvo diferencia entre *A. ilicis* y el control (Cuadro 2).

En la mayoría de las diferentes variables evaluadas ya comentadas, no hubo diferencia, sin embargo, para el rendimiento, si se obtuvieron diferencias significativas con respecto a la planta sin inocular, los cuales fueron del 162.6% para *A. ilicis* y 199.2 % para *B. simplex*. En un estudio realizado por Cruz-Trejo (2019), no encontró diferencias significativas con las cepas usadas (*B. subtilis* y *B. aeromonas*) reportando una media general de rendimiento de 502.05 g por planta de chile jalapeño. Miranda-Molina (2014), encontró diferencias significativas entre los rendimientos de las plantas de chile serrano inoculadas con *Bacillus* sp. más fertilización orgánica, y las plantas sin inocular además de las plantas inoculadas con *Bacillus* sp. más fertilización química, el mayor rendimiento fue en las plantas inoculadas más fertilización orgánica, de 0.65 kg/m<sup>2</sup>, la producción del reciente estudio que fue de 3.52 kg/m<sup>2</sup> en la planta inoculada con *B. simplex*. Los resultados presentados por Miranda-Molina (2014), coinciden con los obtenidos en la presente investigación, obteniendo el mejor rendimiento en las plantas de chile inoculadas con *Bacillus*.

### 9.1.2 Evaluación del fruto

La longitud de los chiles medida en centímetros, no mostró diferencias significativas, las medias fueron  $9.4\pm 0.8$ ,  $9.5\pm 1.1$ ,  $9.4\pm 1.1$  y  $9.0\pm 1$ , para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio, respectivamente, de igual manera Angulo-Castro (2017), no encontró diferencias significativas en el largo de pimientos inoculados con *P. tolaasii* más hongos micorrízicos, *P. tolaasii*, hongos micorrízicos y un testigo absoluto. Camacho-Rodríguez et al. (2022), tampoco encontraron diferencias significativas al trabajar con *Arthrobacter* sp., *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Serratia plymuthica*, testigo absoluto y testigo fertilizado.

El ancho de los chiles medido en milímetros no mostró diferencias significativas las medias fueron  $16.9\pm 1.8$ ,  $17.3\pm 1.4$ ,  $17.6\pm 2.6$  y  $17.5\pm 2.6$ , respectivamente para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio. Camacho-Rodríguez et al. (2022), no encontraron diferencia entre el ancho y largo de frutos de chile jalapeño inoculado con *Arthrobacter* sp. En un estudio realizado por Ruiz-Cisneros et al. (2019), el tamaño de los frutos de plantas de jitomate inoculadas con las cepas de *Bacillus* (*B. amyloliquefaciens*; *B. methylophilus* y *B. subtilis* subsp. *inaquosorum*), fue mayor (21 %) los producidos por plantas inoculadas con *B. subtilis* (>55 mm de diámetro) que en el resto de los tratamientos.

El fruto no mostró diferencias significativas en cuanto al pH con medias de  $8.73\pm 0.32$ ,  $8.63\pm 0.25$ ,  $8.63\pm 0.21$ ,  $8.80\pm 0.10$ , respectivamente para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio. En un estudio realizado por Miranda-Molina (2014), encontró diferencias significativas en el pH de chile serrano producido en invernadero, para la primer cosecha encontraron diferencias entre los frutos del tratamiento de fertilización química más *Bacillus* sp. y los tratamientos con fertilización orgánica con y sin inóculo con medias respectivas de 5.91, 5.47 y 5.59; en la segunda cosecha se

encontraron diferencias significativas entre fertilización orgánica con inóculo y fertilización química con medias de 6.04 y 5.89, respectivamente. De igual manera Angulo-Castro (2017), encontró diferencias significativas en el pH entre plantas de pimiento tratadas con *Pseudomonas tolaasii* y pimientos libres de dicho tratamiento obteniendo medias de  $5.37 \pm 0.04$  y  $5.47 \pm 0.02$ , respectivamente, dichos tratamientos no tuvieron diferencias estadísticas con el tratamiento sin rizobacterias, pero si con hongo micorrízico.

En los frutos cosechados a los 69 días los grados Brix no mostraron diferencias significativas las medias obtenidas fueron las siguientes  $2.73 \pm 0.25$ ,  $2.67 \pm 0.29$ ,  $3.07 \pm 0.12$ ,  $2.83 \pm 0.47$ °Brix, respectivamente para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio. Los frutos cosechados a los 77 días los grados Brix tampoco mostraron diferencias significativas las medias obtenidas fueron las siguientes  $3.40 \pm 0.35$ ,  $4.27 \pm 0.46$ ,  $3.40 \pm 0.53$ ,  $3.83 \pm 0.59$  °Brix, para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio, al igual que Angulo Castro (2017), no encontró diferencias significativas en los grados brix de pimientos inoculados con *Pseudomonas tolaasii* y hongos micorrízicos u hongos plantas sin estos tratamientos. No existe una norma en cuanto a la cantidad de grados Brix, sin embargo, Miranda-Molina (2014), obtuvo diferencias significativas en el tratamiento fertilizado de manera orgánica más la inoculación con *Bacillus* sp con una media de 7.33°Brix la cual fue significativamente más baja que los tratamientos de fertilización química con y sin la aplicación de inoculante.

La acidez titulable de los frutos cosechados a los 69 días tampoco mostro diferencias significativas las medias respectivas son  $0.264 \pm 0.015$ ,  $0.147 \pm 0.082$ ,  $0.277 \pm 0.081$ ,  $0.255 \pm 0.070\%$ , para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio. Para los frutos cosechados a los 77 días la acidez titulable tampoco mostró diferencias significativas las medias obtenidas fueron las siguientes  $0.304 \pm 0.041$ ,  $0.299 \pm 0.039$ ,  $0.295 \pm 0.027$ ,  $0.290 \pm 0.062\%$ , respectivamente para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y

consorcio. Ruiz-Cisneros et al. (2019), no encontró diferencias significativas en frutos de jitomate inoculados con *B. amyloliquefaciens*; *B. methylotrophicus* y *B. subtilis* subsp. *inaquosorum*. A diferencia de Miranda-Molina (2014), encontró diferencias significativas entre tres tratamientos los cuales fueron fertilización orgánica más *Bacillus* sp., fertilización química y fertilización química más *Bacillus* sp. con medias respectivas de 2.29, 3.02 y 2.79%.

### 9.1.3 Bioquímica de la planta (PAL)

El muestreo de planta, realizado a los 77 días, presentó un mayor valor de PAL la planta del tratamiento control que fue de  $26.402 \pm 4.987$  U/g, en cambio la planta con el consorcio presentó un menor valor  $15.832 \pm 4.251$  U/g de planta (figura 12). El PAL es una respuesta del estrés oxidativo, el cual aumenta de manera proporcional, Ahemad y Kibret (2014) y de-Bashan et al., (2012) proponen que las bacterias promotoras de crecimiento disminuyen el estrés en las plantas.

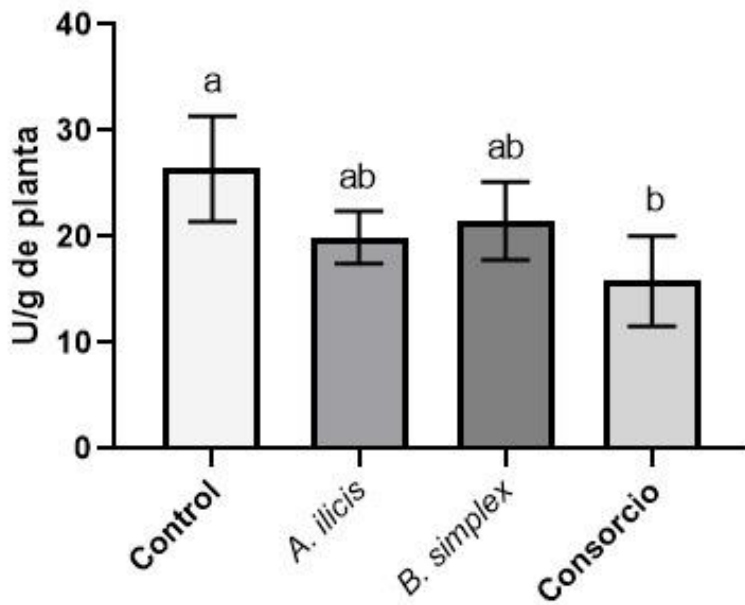


Figura 12. Valores medios de PAL de plantas en in vivo. Las letras indican diferencia entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ).

El muestreo de la planta realizado a los 103 días no mostró diferencias significativas y las medias para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio fueron  $15.899 \pm 3.690$ ,  $19.656 \pm 4.002$ ,  $14.982 \pm 3.746$ ,  $20.275 \pm 3.973$  U/g, respectivamente.

Debido a que la actividad enzimática PAL está relacionada con el estrés, los resultados indican que la planta inoculada con el consorcio se ve menos afectada por los factores bióticos y abióticos presentes durante los primeros 77 días del cultivo. Resultado que cambia a la segunda toma de datos donde no hay diferencia significativa entre tratamientos.

#### 9.1.4 Capsaicinoides

Se calculó los  $\mu\text{g}$  de capsaicina por gramo (g) de chile fresco, en la cual no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y las medias fueron  $1.857 \pm 0.666$ ,  $1.192 \pm 0.532$ ,  $1.108 \pm 0.242$  y  $1.304 \pm 0.122$   $\mu\text{g}$  respectivamente para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio. A diferencia con el estudio realizado por Miranda-Molina (2014), en el cual se muestran diferencias significativas entre los tratamientos fertilización orgánica más *Bacillus* sp., fertilización química, fertilización química más *Bacillus* sp. y un control sin fertilización ni *Bacillus* sp. con medias respectivas de 0.873, 0.341, 0.663 y 0.742 mg/g de chile seco entre los últimos dos tratamientos no existe diferencia significativa.

En los  $\mu\text{g}$  de capsaicina en gramo (g) de chile seco, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y las medias fueron  $20.589 \pm 6.317$ ,  $13.344 \pm 6.204$ ,  $11.713 \pm 2.371$  y  $14.005 \pm 2.411$   $\mu\text{g}$  respectivamente para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y consorcio. Valadez-Sánchez (2016), obtuvo de la variedad pepper don Vicente  $42.719$   $\mu\text{g}$  de capsaicina/g base seca de chile serrano.

#### 9.1.5 pH en suelo

No se encontraron diferencias significativas las medias para el control, *A. ilicis*, *B. simplex* y el consorcio fueron de  $8.53 \pm 0.35$ ,  $8.80 \pm 0.10$ ,  $8.80 \pm 0.10$ ,  $8.67 \pm 0.15$  respectivamente, valor contrario a otros estudios. Cervantes (2024) encontró diferencias significativas en suelos inoculados con *A. aurescens*, *A. ilicis* y *B. simplex* en el pH del suelo inoculado con estas bacterias y el control, siendo las medias respectivamente de  $7.4 \pm 0.1$ ,  $7.2 \pm 0.2$ ,  $7.1 \pm 0.1$  y  $9.4 \pm 0.1$  para el control (Cervantes-Martínez et al., 2017; Buckman et al., 1991). Hansen et al. (2020), al realizar la inoculación única

con *B. simplex* y la inoculación combinada (*B. simplex* + *P. bilaiae*) redujeron significativamente el pH del suelo cultivado con trigo en comparación con el control.

## 9.2 Evaluaciones en *in vitro*

### 9.2.1 Efecto de la inoculación en la morfología de la plántula del chile

El porcentaje de germinación exhibió diferencias significativas entre el inóculo comercial (*Rhizobium japonicum*) y el resto de los tratamientos, siendo las medias  $90\pm 0$ ,  $97\pm 6$ ,  $97\pm 6$ ,  $93\pm 6$  y  $53\pm 6$  % correspondientes a el control, *A. ilicis*, *B. simplex*, consorcio y *R. japonicum* (Figura 13A). Wilches (2018), pasados 5 días después de la siembra de la semilla inoculadas de jitomate no encontró diferencias significativas entre los tratamientos *B. subtilis*, hongos micorrízicos arbusculares, *Trichoderma harzianum*, testigo no inoculado y testigo fertilizado químicamente.

Las alturas de la plántula medidas en mm en *in vitro* mostraron diferencias significativas entre el consorcio y *R. japonicum* las medias fueron  $28.92\pm 14.52$ ,  $38.82\pm 7.09$ ,  $28.13\pm 15.32$ ,  $36.5\pm 7.33$  y  $25.47\pm 7.91$  mm, respectivamente para el control, *A. ilicis*, *B. simplex*, consorcio y *R. japonicum* (Figura 13B). Wilches (2018), no infiere en diferencias significativas entre semillas inoculadas con *B. subtilis*, hongos micorrízicos arbusculares, *Trichoderma harzianum*, testigo no inoculado y testigo fertilizado químicamente. Hariprasad (2009), encontró diferencias significativas entre plántulas de tomate inoculadas con diferentes cepas de *Bacillus* como *B. subtilis*, *Bacillus* sp, *B. amyloliqueficans* y un testigo sin inóculo favoreciendo la longitud de plántulas de tomate inoculadas desde semilla, con medias de 7.8, 7.4, 7.5 y 6.1 cm respectivamente.

Las longitudes de las raíces de plántula medidas en mm en *in vitro* mostraron diferencias significativas entre el control y *B. simplex* el resultado para las medias fue  $17.95\pm 11$ ,  $22.58\pm 9.77$ ,  $26.5\pm 4.95$ ,  $21.43\pm 9.80$  y  $21.45\pm 4.18$  mm respectivamente para el control, *A. ilicis*, *B. simplex*,

consorcio y *R. japonicum* (Figura 13C). Hariprasad (2009) experimentando con semillas de jitomate inoculadas con diferentes rizobacterias promotoras de crecimiento entre ellas *B. subtilis*, *Bacillus* sp, *B. amyloliqueficanes* y un control sin inocular, siendo diferentemente mayor la longitud de las semillas inoculadas con el control, con medias de 9.0, 8.4, 8.2 y 6.5 mm respectivamente.

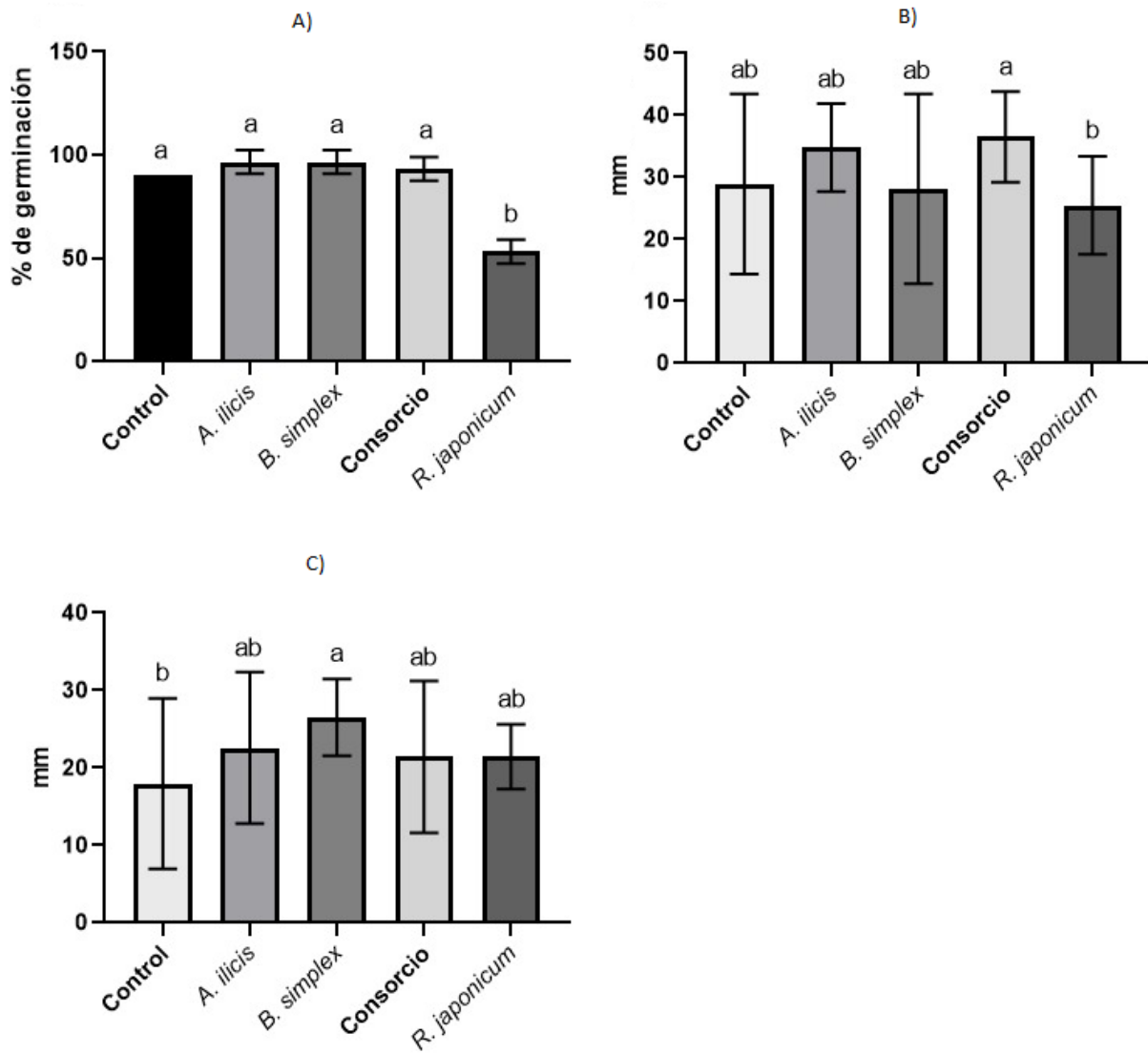


Figura 13. Variables morfológicas de plántula inoculada A) % de germinación; B) Altura de la plántula; C) Longitud de la raíz. Las letras indican las diferencias entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ).

Para conocer la presencia de los microorganismos en la planta inoculada con *A. ilicis*, *B. simplex*, consorcio (*A. ilicis* + *B. simplex*) y *R. japonicum*, se realizó el conteo de UFCs presentes en parte aérea (tallo y hoja) y raíz de la plántula de chile inoculada. El conteo de bacterias en tallo exhibió

un máximo de  $6887 \pm 3668$  y un mínimo de  $850 \pm 406$  UFCs. De igual manera, el conteo de bacterias en raíces exhibió un máximo de  $8597 \pm 4872$  y un mínimo de  $2410 \pm 1264$  UFCs. Hansen et al. (2020), demostró que dos cepas de *B. simplex* colonizaron la semilla e incluso proliferaron en las raíces de plantas de trigo con el tiempo. Se ha demostrado previamente que *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, *B. amyloliquefaciens* QST713 y *B. subtilis* promueven el crecimiento de las plantas y tienen la capacidad de colonizar las raíces de las plantas (Chen et al., 2007; Allard-Massicotte et al. 2016; Mendis et al., 2018).

### 9.2.2 Pruebas bioquímicas de los microorganismos.

#### Solubilidad de fósforo.

Para conocer el efecto promotor de crecimiento, se realizó la prueba de solubilidad de fósforo y no se mostraron diferencias significativas, los valores medios para *A. ilicis* y *B. simplex* fueron de  $163.25 \pm 68.457$  y  $196.103 \pm 84.011$  %. Chen et al. (2006), encontró diferencias en cuanto al fósforo soluble en diferentes medios inoculados con *Bacillus megaterium*, *Arthrobacter sp.* y *Arthrobacter ureafaciens* siendo las medidas más altas de fósforo soluble de 70.2, 519.7 y 316.1 mg/L respectivamente, mientras que en el tratamiento en blanco no se encontró P soluble.

#### Ácido giberélico.

Para averiguar el contenido de giberelinas se documentó la cantidad de ácido giberélico formado por *B. simplex* y *A. ilicis* entre las cuales se encontraron diferencias significativas con medias de  $15630.56 \pm 776.81$  y  $19630.00 \pm 1642.37$ , (figura 14) respectivamente. Herrera-Quintero et al. (2020) encontró que bacterias del género *Bacillus* aisladas del suelo y rizosfera fueron las principales productoras de giberelinas.

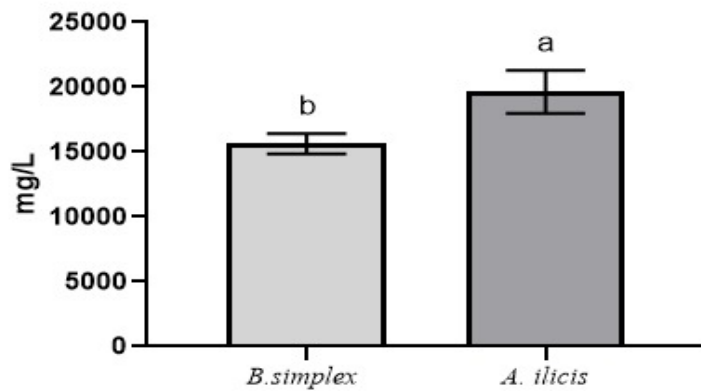


Figura 14. Medidas de ácido giberélico formado por *B. simplex* y *A. ilicis*. Las letras indican diferencia entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ).

Actividad enzimática PAL (fenilalanina amonio liasa).

En cuanto a los valores de PAL medidos en U/g de planta, se encontraron diferencias significativas entre el control y las plantas inoculadas con *A. ilicis*, *B. simplex* y el consorcio siendo las medias de  $8.817 \pm 2.341$ ,  $3.278 \pm 0.908$ ,  $4.203 \pm 1.074$ ,  $4.359 \pm 0.949$  y  $5.638 \pm 1.867$ , respectivamente para el control, *A. ilicis*, *B. simplex*, el consorcio y Nitromax (Figura 15).

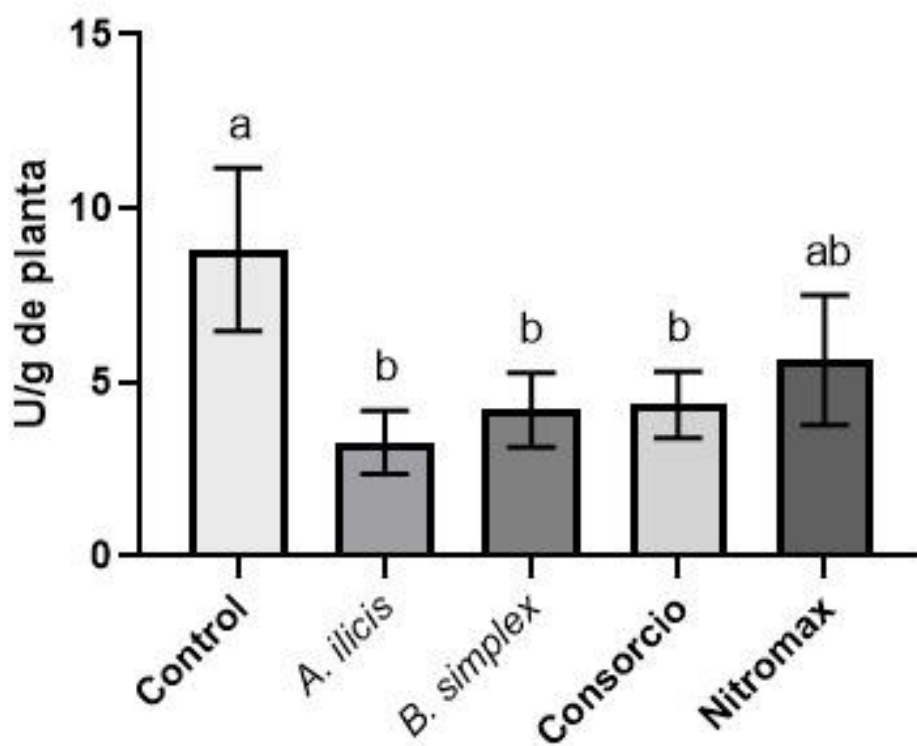


Figura 15. Graficas de medias de PAL de plántulas desarrolladas en in vivo. Las letras indican diferencia entre tratamientos ( $p \leq 0.05$ ).

## 10. CONCLUSIONES

Las alturas medidas en las diferentes etapas de la experimentación en *in vivo* no mostraron diferencias significativas. Caso contrario a las alturas de la plántula en *in vitro* que si mostraron diferencias significativas entre el consorcio y *R. japonicum* las medias fueron  $36.5 \pm 7.33$  y  $25.47 \pm 7.91$  mm respectivamente, favoreciendo la altura de las plantas inoculadas con el consorcio. Lo cual indica que en condiciones de en *in vitro* si se vio favorecida la longitud de la plántula, con este resultado se abre la oportunidad a experimentar con la inoculación de semillas de chile serrano y verificar si estas se ven favorecidas en condiciones en *in vivo*.

Las longitudes de las raíces de plántula en *in vitro* mostraron diferencias significativas entre el control y *B. simplex* el resultado de las medias estadísticas fue  $17.95 \pm 11$ ,  $26.5 \pm 4.95$  mm respectivamente. Evidenciando el potencial como promotor de crecimiento en la raíz inducido por la inoculación de *B. simplex*.

El conteo de frutos 69 días después de la siembra resultó más abundante en la planta inoculada con *B. simplex*, con respecto al control obteniendo medias respectivas de  $17 \pm 5$  y  $11 \pm 5$  chiles favoreciendo *B. simplex* el aumento en frutos. A los 103 días también se vieron diferencias significativas entre los tratamientos *A. ilicis* y consorcio con respecto al control con medias estadísticas respectivas de  $28 \pm 10$ ,  $28 \pm 21$  y  $11 \pm 8$  chiles. En la variable de numero de flores no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los días evaluados. Conectando lo descubierto en el párrafo anterior, podría una posibilidad de que las plantas inoculadas tienen un mejor amarre de frutos.

El rendimiento mostro diferencias significativas de las plantas inoculadas con respecto a la planta sin inocular, los cuales fueron del 162.6 para *A. ilicis* y 199.2 % para *B. simplex*. Fundamentado con los resultados obtenidos se recomiendan la aplicación de estas bacterias para aumentar el

rendimiento de chile cultivado en cielo abierto. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el ancho y largo del fruto, por lo tanto, estas variables no son responsables del aumento de rendimiento.

El pH, los grados Brix, la acidez titulable y la concentración de capsaicina en frutos cosechados a los 69 y 77 días no mostraron diferencias significativas.

El muestreo de la planta a los 73 días demostró diferencias significativas, presentó un mayor valor de PAL la planta del tratamiento control  $26.402 \pm 4.9871$  U/g, en cambio la planta con el consorcio presentó un menor valor  $15.832 \pm 4.251$  U/g de planta.

No se encontraron diferencias significativas, por lo que se concluye que la inoculación de bacterias no favorece ni afecta la actividad enzimática, pero si disminuye el estrés. Sin embargo, a pesar de no mostrar diferencias significativas es importante notar que si hubo un aumento de este en las plantas inoculadas.

Las mediciones del pH en el suelo no mostraron diferencias significativas, esto puede deberse a la cantidad de inóculo y el tiempo de exposición.

El porcentaje de germinación si mostró diferencias en *in vitro*, viéndose disminuida la germinación en el tratamiento de inóculo comercial con respecto a los demás tratamientos las medias fueron las siguientes  $90 \pm 0$ ,  $97 \pm 6$ ,  $97 \pm 6$ ,  $93 \pm 6$  y  $53 \pm 6$  % correspondientes a el control, *A. ilicis*, *B. simplex*, consorcio y *R. japonicum*. Esta disminución drástica en el porcentaje puede deberse a que el producto comercial es especializado para promover el crecimiento de cultivos de alfalfa.

La prueba de solubilidad de fósforo no evidenció diferencias significativas, sin embargo, en la cantidad de ácido giberélico se encontraron diferencias significativas con medias de

15630.56±776.81 y 19630±1642.37 ácido giberélico formado por *B. simplex* y *A. ilicis*. Lo cual evidencia su potencial para regular el crecimiento de las plantas.

## 11. LITERATURA CITADA

Aguirre-Mancilla, C.L., Iturriaga de la Fuente, G., Ramírez-Pimentel, J.G., Covarrubias-Prieto, J., Chablé-Moreno, F., Raya-Pérez J.C. (2017). EL CHILE (*C. annuum* L.), Cultivo y producción de semilla Chilli Cultivation and seed production. Ciencia y Tecnol. Agrop. México Vol. 5 Núm. 1: 19-27.

Ahemad, M., Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. Journal of King Saud University - Science, 26(1), 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>.

Allard-Massicotte, R., Tessier, L., Lécuyer, F, Lakshmanan, V., Lucier, J., Garneau, D., Caudwell, L., Vlamakis, H., Bais, H.P., Beaugregard, P.B. (2016). *Bacillus subtilis* early colonization of *Arabidopsis thaliana* roots involves multiple chemotaxis receptors. Am Soc Microbiol 7:1–10. <https://doi.org/10.1128/mBio.01664-16.Invited>.

Amaresan, N., Jayakumar, V., Kumar, K., Thajuddin, N. (2012). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria and their effect on tomato (*Lycopersicon esculentum*) and chilli (*Capsicum annuum*) seedling growth. Annals of microbiology, 62, 805-810.

Angulo-Castro, A. (2017). Biotecnología microbiana en el manejo del chile pimienta (*Capsicum annuum* L). Colegio de Postgraduados. Institución de Enseñanza e Investigación de Ciencias Agrícolas. Tesis para obtener el grado en Doctor en Ciencias.

Arciniega-Yáñez, M.J., Carrillo-Tepole, J.M., Fosado-Ruiz, M., Mar-Mendoza, J.D.J. (2017). Extracción de Capsaicina a partir de residuos de chile habanero para obtener un producto con valor agregado.

Bano, S.A., Sheikh, M. (2016). Biological nitrogen fixation to improve plant growth and productivity. *Int. J. Agric. Innovat. Res.* 4: 596-599.

Banerjee, S., Palit, R., Sengupta, C., Standing, D. (2010). Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* Sp. And *Bacillus* sp. isolated from tomato rhizosphere. *Australian Journal of crop science*, 4(6), 378-383.

Benjumeda, D. (2017). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones. Departamento de Microbiología y Parasitología Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Documento de tesis.

Bhattacharyya, P.N., Jha, D.K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World J Microbiol Biotechnol.*;28: 1327–1350. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-011-0979-9>.

Borges-Gómez, L., Cervantes Cárdenas, L., Ruiz Novelo, J., Soria Fregoso, M., Reyes Oregel, V., Villanueva Couoh, E. (2010). Capsaicinoides en chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) bajo diferentes condiciones de humedad y nutrición. *Terra latinoamericana*, 28(1), 35-41.

Buckman, S., Buckman, J. (1991). Microbiología. En: Pulpa y papel, química y tecnología química (J. P. Casey, comp.). Vol. 2. LIMUSA. México.

Buono, N.I., Ulla, E.L. (2016). Efectos de la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.) en condiciones controladas. *Revista agronómica del noroeste argentino*, 36(2), 45-54.

Busse, H.J. (2016). Review of the taxonomy of the genus *Arthrobacter*, emendation of the genus *Arthrobacter sensu lato*, proposal to reclassify selected species of the genus *Arthrobacter* in the novel genera *Glutamicibacter* gen. nov., *Paeniglutamicibacter* gen. nov., *Pseudoglutamicibacter* gen. nov., *Paenarthrobacter* gen. nov. and *Pseudarthrobacter* gen. nov., and emended description of *Arthrobacter roseus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66(1): 9-37.

Cabanzo-Atilano, I., Rodríguez-Mendoza, M.N., García-Cué, J.L., Almaraz-Suárez, J.J., Gutiérrez-Castorena, M.D.C. (2020). La biofertilización y nutrición en el desarrollo de plántulas de chile serrano. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(4), 699-712.

Camacho-Rodríguez, M., Almaraz-Suárez, J.J., Vázquez-Vázquez, C., Angulo-Castro, A., Ríos-Vega, M.E., González-Mancilla, A. (2022). Efecto de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en el desarrollo y rendimiento del chile jalapeño. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(SPE28), 185-196.

Camelo, M., Vera, S.P., Bonilla, R.R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Ciencia y tecnología agropecuaria.*; 12(2): 159-166. Disponible en: <https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/227>.

Cervantes-Servin, D. (2024). Efecto de la inoculación de *Arthrobacter aurescens*, *Arthrobacter ilicis* y *Bacillus simplex* en *Nicotiana glauca* para la fitorremediación de suelos contaminados con mercurio.

Cervantes-Martínez, J., Orihuela-Equihua, R., Rutiaga-Quiñones, J. (2017). Acerca del Desarrollo y Control de Microorganismos en la Fabricación de Papel. [https://www.redalyc.org/journal/944/94454631001/html/#redalyc\\_94454631001\\_ref13](https://www.redalyc.org/journal/944/94454631001/html/#redalyc_94454631001_ref13).

Cervera-Achur, J.C., Velasco, A. (2023). Formación del rendimiento de trigo tratado con microorganismos promotores de crecimiento. Universidad Católica de Argentina.

Chen, X.H., Koumoutsis, A., Scholz, R., Eisenreich, A., Schneider, K., Heinemeyer, I., Morgenstern, B., Voss, B., Hess, W.R., Reva, O., Junge, H., Voigt, B., Jungblut, P.R., Vater, J., Süssmuth, R., Liesegang, H., Strittmatter, A., Gottschalk, G., Borriss, R. (2007) Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Mol Microb Ecol Rhizosph* 2:883–898. <https://doi.org/10.1002/9781118297674.ch83>.

Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arun, A.B., Shen, F.T., Lai, W.A., Young, C.C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied soil ecology*, 34(1), 33-41.

Chhetri, G., Kim, I., Kang, M., So, Y., Kim, J., Seo, T. (2022). An isolated *Arthrobacter* sp. enhances rice (*Oryza sativa* L.) plant growth. *Microorganisms*, 10(6), 1187.

Correll, D.S., Johnston, M.C. (1970). *Manual of the Vascular Plants of Texas*. Texas Research Foundation. Renner, Texas, USA.

Collins M.D., Jones D., Kroppenstedt R.M. (1982). *Arthrobacter ilicis* comb. nov. In *Validation of the Publication of New Names and New Combinations Previously Effectively Published Outside the IJSB*, List no. 9.. *Int J Syst Bacteriol* 32:384–385.

Cruz-Trejo, C.A. (2019). Evaluación de calidad y rendimiento de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.) inoculado con rizobacterias bajo condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura en Ingeniero Agrónomo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

D'Arcy, W. (2001). Solanaceae. En W. D. Stevens, C. Ulloa U., A. Pool y O. M. Montiel (eds.). Flora de Nicaragua. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden. Vol. 85, tomo III. St. Louis, Missouri.

de-Bashan, L.E., Hernandez, J.P., Bashan, Y. (2012). The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation – A comprehensive evaluation. *Appl. Soil Ecol.* 61: 171-189.

Erturk, Y., Ercisli, S., Haznedar, A., Cakmakci, R. (2010). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. *Biological research*, 43(1), 91-98.

Etesami, H., y Maheshwari, D. K. (2018). Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156,225-246. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013>.

Fischer, G., Shah, M., Tubiello, F.N., Van Velhuizen, H. (2005), “Socio-economic and Climate Change Impacts on Agriculture: An Integrated Assessment, 1990-2080”, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 360, núm. 1 463, pp. 2 067-2 083.

Field, C. B., Barros, V.R., Dokken, D.J., Mach, K.J., Mastrandrea, M.D., Bilir T.E., White L.L. (2014). Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press / Cambridge, Reino Unido / Nueva York.

Figueiredo, M.V.B., Mergulhão, A.C.E.S., Kuklinsky-Sobral, J., Lira-Junior, M.A., Araujo, A.S.F. (2013). Biological nitrogen fixation: Importance, associated diversity, and estimates. pp. 267-289. In: N.K. Arora (ed.). Plant microbe symbiosis: Fundamentals and advances. Springer. New Delhi. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-1287-4\\_10](https://doi.org/10.1007/978-81-322-1287-4_10).

Flores-Álvarez, A.Y., Sánchez-Minutti, L. (2020). La rizosfera y su mundo microscópico. Laboratorio de Procesos Biotecnológicos, Universidad Politécnica de Tlaxcala. <http://doi.org/10.5281/zenodo.10553307>.

González-Mancilla, A. (2016). Interacción entre bacterias promotoras de crecimiento y hongos micorrízicos en el crecimiento de chile poblano (*Capsicum annuum* L). Colegio de Posgraduados. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias.

González-Rodríguez, G., Espinosa-Palomeque, B., Cano-Ríos, P., Moreno-Reséndez, A., Leos-Escobedo, L., Sánchez-Galván, H., Sáenz-Mata, J. (2018). Influencia de rizobacterias en la producción y calidad nutracéutica de tomate bajo condiciones de invernadero. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 9(2), 367-379.

Hansen, V., Bonnichsen, L., Nunes, I., Sexlinger, K., Lopez, S.R., van der Bom, F.J.T., Jensen, L.S. (2020). Seed inoculation with *Penicillium bilaiae* and *Bacillus simplex* affects the nutrient status of winter wheat. Biology and Fertility of Soils, 56, 97-109.

Hariprasad, P., Navya, H.M., Niranjana, S.R. (2009). Advantage of using PSIRB over PSRB and IRB to improve plant health of tomato. *Biological control*, 50(3), 307-316.

Hassen, A.I., Labuschagne, N. (2010). Root colonization and growth enhancement in wheat and tomato by rhizobacteria isolated from the rhizoplane of grasses. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 1837-1846.

Heike, V. (2009). Malezas de México, Ficha *Anoda cristata* (L) Schltdl. CONABIO. Página web: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/malvaceae/anoda-cristata/fichas/ficha.htm>.

Consultado el 15 de 06 de 2025.

Heyrman, J., Logan, N. A., Rodríguez-Díaz, M., Scheldeman, P., Lebbe, L., Swings, J., De Vos, P. (2005). Study of mural painting isolates, leading to the transfer of '*Bacillus maroccanus*' and '*Bacillus carotarum*' to *Bacillus simplex*, emended description of *Bacillus simplex*, re-examination of the strains previously attributed to '*Bacillus macroides*' and description of *Bacillus muralis* sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(1), 119-131.

Idriss, E.E., Makarewicz, O., Farouk, A., Rosner, K., Greiner, R., Bochow, H., Richter, T., Borriss, R. (2002). Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. *Microbiology* 148:2097–2109. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-7-2097>.

Karimi, E., Aliloo, A.A., Mosavi, S.B. (2024). Effect of *Bacillus simplex* as a growth promoting bacterium on some growth characteristic of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Seedling at Different Water Conditions. *Water and Soil Science*, 34(3), 125-141.

Kaur G., Reddy M.S. (2014). Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocational sites. *European Journal of Soil Biology*.;61: 35-40.

Kumar, S., Sindhu, S.S., Kumar, R. (2022). Biofertilizers: An ecofriendly technology for nutrient recycling and environmental sustainability. *Current Research in Microbial Sciences*,3, 100094. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100094>.

Layton, C., Maldonado, E., Monroy, L., Corrales, L.C., Sánchez, L.C. (2011). *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *Revista NOVA Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*. 9:177-187. <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.501>.

Leibniz Institute. (S.F.). DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures. Página web: <https://www.dsmz.de/collection/catalogue/microorganisms/catalogue/bacteria>. Consultado el 15 de junio de 2025.

Li, Y., Gu, Y., Li, J., Xu, M., Wei, Q., Wang, Y. (2015). Biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* LJ02 induces systemic resistance against cucurbits powdery mildew. *Frontiers Microbiology*. 6:883. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.00883>.

Lovaisa, N.C., Guevara, E.E., Delaporte-Quintana, P.G.A., Elías, J., Arroyo, J., Salazar, S.M. (2018). Efecto de la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal en plantas de maíz (*Zea mays* L.). *Revista agronómica del noroeste argentino*, 38(1), 33-38.

Mendelsohn, R. (2009). “The Impact of Climate Change on Agriculture in Developing Countries”, *Journal of Natural Resources Policy Research*, vol. 1, núm. 1, pp. 5-19. <http://dx.doi.org/10.1080/19390450802495882>.

Mendis, H.C., Thomas, V.P., Schwientek, P., Salamzade, R, Chien, J.T., Waidyarathne, P., Kloepper, J., De La Fuente, L. (2018) Strainspecific quantification of root colonization by plant growth promoting rhizobacteria *Bacillus firmus* I-1582 and *Bacillus amyloliquefaciens* QST713 in non-sterile soil and field conditions. PLoS One 13:e0193119. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193119>.

Miranda-Galarza, M.A. (2024). Impacto del cambio climático en plagas y enfermedades del agro. Universidad Técnica de Babahoyo Facultad de Ciencias Agropecuarias Escuela de Agricultura, Sivicultura, Pesca y Veterinaria, Carrera de Agropecuaria. url: <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/16022/E-UTB-FACIAG-%20AGROP-000093.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Miranda-Molina, F.D.M. (2014). Efecto del manejo orgánico sobre la producción, la calidad nutrimental y nutracéutica del chile serrano (*Capsicum annuum* L.). Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en Tecnología de Alimentos.

Morales, N. (2018). Diferenciando Bacterias Gram Positivo (+) y Gram Negativo (-) Mediante Tinción de Gram. Unidades de Apoyo para el Aprendizaje. CUAED/FES Iztacala-UNAM.

Moreno-Resendez, A., García-Mendoza, V., Reyes-Carrilo, J.L., Vazquez-Arroyo J., Cano-Ríos P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. Revista Colombiana de Biotecnología. XX(1):68-83.

Nawaz, H., Akgün, İ., & Şenyiğit, U. (2024). Effect of deficit irrigation combined with *Bacillus simplex* on water use efficiency and growth parameters of maize during vegetative stage. BMC Plant Biology, 24(1), 135.

Nee, M. (1986). *Solanaceae* I. En: Sosa, V. (ed.). Flora de Veracruz. Fascículo 49. Instituto de Ecología. Xalapa, Veracruz, México.

Park, K.H., Lee, O.M., Jung, H.I., Jeong, J.H., Jeon, Y.D., Hwang, D.Y., Lee, C.Y., Son, H.J. (2010). solubilization of insoluble phosphate by a novel environmental stress-tolerant *Burkholderia vietnamiensis* M6 isolated from ginseng rhizospheric soil. Appl. Microbiol Biotechnol.;86: 947-955.

Pastor, A., Escobar, D., Mayoral, E., Ruiz, F. (2020). Ciencias aplicadas I. (2da ed.). Madrid: Ediciones Paraninfo.

Piedrahita-Murcia, M. (2013). Implementación y reproducción del protozooario paramecium sp en laboratorios de ciencias naturales de educación secundaria. Facultad de Ciencias. Para obtener el grado de Magíster Universidad Nacional de Colombia.

Poonguzhali, S., Madhaiyan, M.S.A.T. (2008). Isolation and Identification of Phosphate Solubilizing Bacteria from Chinese Cabbage and Their Effect on Growth and Phosphorus Utilization of Plants. Journal of Microbiology and Biotechnology.; 18( 4): 773-7.

Priest F.G., Goodfellow M., Todd C. (1989); *Bacillus simplex* sp. nov., nom. rev.. In Validation of the Publication of New Names and New Combinations Previously Effectively Published Outside the IJSB List no 28 Int J Syst Bacteriol, 3993–94.

Prola, F., Bortolato, M.A. (2022). Bacterias Solubilizadoras de Fósforo en el ambiente suelo. ¿Es posible pastorear los cultivos de servicio sin perder beneficios en el suelo?, 49.

Ramakrishna, W., Yadav, R., Li, K. (2019). Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. *Applied Soil Ecology*, 138, 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.019>

Rehman, F., Kalsoom, M., Nasir, T.A., Adnan, M., Anwar, S., Zahra, A. (2020). Chemistry of plant–microbe interactions in rhizosphere and rhizoplane. *Ind. J. Pure App. Biosci.*; 8(5): 11- 19. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/344886335\\_Chemistry\\_of\\_Plant-Microbe\\_Interactions\\_in\\_Rhizosphere\\_and\\_Rhizoplane](https://www.researchgate.net/publication/344886335_Chemistry_of_Plant-Microbe_Interactions_in_Rhizosphere_and_Rhizoplane).

Rentería-Martínez, M.E., Ochoa-Meza, A., Guzmán-Ortiz, J.M., Barrera-Silva, M.Á., Fernández-Herrera, E., Moreno-Salazar, S.F. (2019). Actividad *in vitro* de promoción del crecimiento vegetal y control biológico de rizobacterias aisladas de zacate bermuda ruderal. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(2), 311-324.

Restrepo-Franco, G.M., Marulanda-Moreno, S., de la Fe-Pérez, Y., Díaz -de la Osa, A., Lucia-Baldani, V., Hernández-Rodríguez, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, vol. 46, núm., pp. 63-76

Rodríguez, H., Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances.*;17: 319-39.

Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D., Bonilla, R. (2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (pgpb) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Applied Soil Ecology*, 61, 264-272. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.01.006>.

Ruiz-Cisneros, M.F., Ornelas-Paz, J.J., Olivas-Orozco, G.I., Acosta-Muñiz, C.H., Sepúlveda-Ahumada, D.R., Zamudio-Flores, P.B., Berlanga-Reyes, D.I., Salas-Marina, M.A., Cambero-Campos, O.J., Rios-Velasco, C. (2019). Efecto de cepas de *Bacillus* solas y en interacción con hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate. *Revista bio ciencias*, 6, e541. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e541>.

Secretaría de Economía. (2010). NMX-F-102-NORMEX-2010: Alimentos- determinacion de acidez titulable en alimentos-metodo de ensayo. Estados Unidos Mexicanos. Ciudad de México: Secretaría de economía.

Secretaría de Economía. (2010). NM-F112-NORMEX-201: Alimentos-determinación de solidos solubles- método refractométrico-metodo de ensayo Estados Unidos Mexicanos. Ciudad de México: Secretaría de economía.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Rurales. (2003). NOM-021-SEMARNAT-200: Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

Secretaria de Patrimonio y Fomento de la Industria. (1978). NOM-F-317-S-1978: "Determinación de pH en Alimentos" Estados Unidos Mexicanos. Ciudad de México: Secretaría de Patrimonio y Fomento a la Industria.

Calvo-Garcia, S. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. Universidad de Salamanca.

Sharan, A., Shikha, S.D.N., Gaur, R. (2008). *Xanthomonas campestris*, a novel stress tolerant, phosphate-solubilizing bacterial strain from saline–alkali soils. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*; 24(6): 753-9.

Sharma, J., Gurung, T., Nandy, K., Mitra, A.K. (2014). Efficiency of different nitrogen fixing bacteria with respect to growth and development of legumes. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3: 799-809.

Shin, W., Islam, R., Benson, A., Joe, M.M., Kim, K., Gopal, S., Samaddar, S., Banerjee, S., Sa, T. (2016). Role of diazotrophic bacteria in biological nitrogen fixation and plant growth improvement. *Korean J. Soil Sci. Fertil.* 49: 17-29. doi: <http://dx.doi.org/10.7745/KJSSF.2016.49.1.017>.

Tejera-Hernández, B., Rojas-Badía, M.M., Heydrich-Pérez, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas.* 42:131-138. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/pdf/1812/181222321004.pdf>.

Torriente, D. (2010). Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de caña de azúcar. *Perspectivas de su uso en cuba. Cultivos tropicales.* 31(1):19-26.

Toscano, S., Ferrante, A., Leonardi, C., Romano, D. (2018). PAL activities in asparagus spears during storage after ammonium sulfate treatments. *Postharvest Biology and Technology,* 140, 34–41.

UAEM. (2019). *La Producción de Chile en México.* Zumpango.

Valadez-Sánchez, Y.M., Olivares-Sáenz, E., Vázquez-Alvarado, R.E., Esparza-Rivera, J.R., Preciado-Rangel, P., Valdez-Cepeda, R.D., García-Hernandez, J.L. (2016). Calidad y concentración de capsaicinoides en genotipos de chile Serrano (*Capsicum annuum* L.) producidos bajo fertilización orgánica. *Phyton (Buenos Aires),* 85(1), 21-26.

Vanissa, T.T.G., Berger, B., Patz, S., Becker, M., Turečková, V., Novák, O. Ruppel, S. (2020). The response of maize to inoculation with *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. in phosphorus-deficient, salinity-affected soil. *Microorganisms*, 8(7), 1005.

Wang, X., Wang, L., Wang, J., Jin, P., Liun, H., Zheng, Y. (2014). *Bacillus cereus* AR156-Induced Resistance to *Colletotrichum acutatum* Is Associated with Priming of Defense Responses in Loquat Fruit. *PLoS ONE*. 9(11):e112494. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0112494>

Wilches, L.P.G. (2018). Efecto de la aplicación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en la producción de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Doctoral dissertation, Tecnológico Nacional de México).