

Obtención de *Bacillus* y *Pseudomonas* de la rizósfera de *Opuntia quitensis* “tuna” como promotores de crecimiento en *Zea mays* L.

Obtaining *Bacillus* and *Pseudomonas* from the rhizosphere of *Opuntia quitensis* "tuna" as growth promoters in *Zea mays* L.

Lizbeth Maribel Córdova-Rojas ^{1*}; Heber Max Robles Castillo ²;

Carmen Rosa Carreño Farfán ³; Gabriel Esteban Zuñiga Valdera ³; María Margarita Mora Costilla ²

¹ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Jaén, Jr. Cuzco N°250 – Pueblo Libre – Ciudad Universitaria, Jaén, Perú.

² Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

³ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Calle Juan XXIII N° 391 Ciudad Universitaria - Lambayeque

* Autor correspondiente: lizbeth_cordova@unj.edu.pe (L. Córdova-Rojas)

DOI: [10.17268/rev.cyt.2022.02.09](https://doi.org/10.17268/rev.cyt.2022.02.09)

RESUMEN

Bacillus sp. y *Pseudomonas* sp. son capaces de promover el crecimiento de las plantas y disminuir el estrés ocasionado por la salinidad, ante ello el presente estudio buscó determinar el potencial de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. aisladas de la rizósfera de *Opuntia quitensis* “tuna” como promotoras de crecimiento en *Zea mays* L. “maíz” bajo estrés salino. Se realizó la obtención de la muestra de raíces y suelo rizosférico de tuna y se llevó al laboratorio para el aislamiento e identificación fenotípica de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp., para posteriormente determinar su actividad ACC desaminasa y la capacidad para incrementar la tasa de germinación de semillas de maíz, así mismo, a los diez cultivos de bacterias con mejores resultados se les cuantificó indoles, fósforo soluble e índice de solubilización. Se encontró que, de 170 bacterias aisladas, 100 corresponden al género *Bacillus* sp. y 53 al género *Pseudomonas* sp. Además, el 10% de *Bacillus* sp. y el 30,18% de *Pseudomonas* sp. demostraron tener actividad ACC desaminasa, incrementaron la tasa de germinación de las semillas de maíz en 42,30%. Ambas bacterias mostraron la capacidad de producir indoles y solubilizar fosfatos, evidenciándose su potencial como promotores del crecimiento en plantas bajo estrés salino.

Palabras clave: *Bacillus* spp.; *Pseudomonas* spp.; estrés salino; *Zea mays* L.; 1-aminociclopropano-1- ácido carboxílico (ACC) desaminasa

ABSTRACT

Bacillus sp. and *Pseudomonas* sp. they are capable of promoting plant growth and reducing the stress caused by salinity. Given this, the present study sought to determine the potential of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. isolated from the rhizosphere of *Opuntia quitensis* "prickly pear" as growth promoters in *Zea mays* L. "corn" under saline stress. The sample of roots and rhizospheric soil of prickly pear was carried out and it was taken to the laboratory for the isolation and phenotypic identification of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp., to subsequently determine their ACC deaminase activity and the ability to increase the germination rate of corn seeds, likewise, the ten bacterial cultures with the best results were quantified indoles, soluble phosphorus and solubilization index. It was found that, of 170 isolated bacteria, 100 correspond to the genus *Bacillus* sp. and 53 to the genus *Pseudomonas* sp. Furthermore, 10% of *Bacillus* sp. and 30.18% of *Pseudomonas* sp. demonstrated to have ACC deaminase activity, increased the germination rate of corn seeds by 42.30%. Both bacteria showed the ability to produce indoles and solubilize phosphates, showing their potential as growth promoters in plants under saline stress.

Keywords: *Bacillus* spp.; *Pseudomonas* spp.; saline stress; *Zea mays* L.; 1-aminociclopropano-1- ácido carboxílico (ACC) desaminase

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de los cultivos agrícolas como *Zea mays* L. “maíz” es afectado en forma significativa por la baja fertilidad del suelo, este es un problema para la agricultura convencional, en el que es indispensable el



uso de fertilizantes químicos para suplir los requerimientos nutricionales de las plantas (Karyoti et al., 2018); sin embargo, de todo el fertilizante que se le aplica a la planta solo es absorbido el 50, 30 y 60 % para el nitrógeno, fósforo y potasio, respectivamente (Liu et al. 2018). El resto, se pierde o contamina el ambiente y no es aprovechado por los cultivos.

El estrés ambiental causado por factores bióticos y abióticos como la salinidad también es limitante en el cultivo de maíz (Shrivastava et al., 2015). En el Perú, la salinidad del suelo afecta el 40 % de la superficie cultivable en la costa, siendo Lambayeque una de las regiones más impactadas. La salinidad disminuye el potencial hídrico del suelo, dificulta la absorción del agua por las raíces (Lamsal et al., 1999) y provoca el estrés hídrico en los cultivos, como consecuencia, se acelera la producción, excreción y dispersión del etileno, cesa el crecimiento de la radícula, promueve el envejecimiento y abscisión de flores y frutos y como consecuencia la muerte de las plantas (Saltveit, 1999).

Las especies de *Opuntia* han desarrollado adaptaciones fisiológicas y estructurales para el crecimiento y supervivencia en condiciones áridas y semiáridas donde no sobreviven otras plantas por el estrés hídrico y baja fertilidad (Bariagabre et al. 2016); no obstante, también desempeñan un rol muy importante los microorganismos como las especies de *Bacillus* y *Pseudomonas* que se localizan en la rizósfera (Sivasakthi et al. 2014) y que mediante diferentes mecanismos (Eduardo et al., 2012), favorecen a las plantas, denominándose bacterias promotoras de crecimiento de las plantas por sus siglas en inglés: plant growth promoting rhizobacteria, PGPR (Altamirano et al. 2020).

Las PGPR son reconocidas por su capacidad para proporcionar nutrientes a las plantas, pero también por disminuir el estrés ocasionado por la salinidad (Etesami y Maheshwari, 2018) entre otras condiciones desfavorables (Egamberdieva et al., 2017). Las PGPR pueden ser aisladas y caracterizadas, con la finalidad de constituir bioinoculantes para los cultivos agrícolas como *Zea mays* L. “maíz”; no obstante, la investigación es escasa y no se cuenta con inóculos bacterianos validados para su aplicación en condiciones de invernadero y campo (Iglesias-Osores, 2020).

Bacillus sp. y *Pseudomonas* sp. son microorganismos ubicuos, que bajo condiciones adversas permanece viables y crecen con facilidad en cualquier sustrato accesible y económico, cualidades que permiten su aumento masivo para su utilización como bio-inoculante en los cultivos agrícolas (Karlupudi et al. 2018). Asimismo, *Bacillus* sp. forma esporas que resisten y se mantienen metabólicamente activas bajo condiciones desfavorables, siendo ideales para utilizarse en la formulación de productos viables y estables para el control biológico (Jackson et al., 2010).

La agricultura es una de las principales actividades económicas en la región de Lambayeque, habiéndose registrado 27 mil ha cultivadas con maíz (Cano, 2013). Los cultivos de maíz serán favorecidos con la aplicación de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. adaptadas a las condiciones ecológicas de la zona y que benefician el cultivo como parte de una agricultura sustentable (García et al., 2015). En ese sentido, se propuso la presente investigación cuyo objetivo fue: Determinar el potencial de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. aisladas de la rizósfera de *Opuntia quitensis* “tuna” como promotoras de crecimiento en *Zea mays* L. “maíz”.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material biológico

El material biológico constó de semillas de *Zea mays* L. “maíz” y diez cultivos de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* aislados de raíces de tuna, caracterizados *in vitro* como rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas, (PGPR), y aisladas en la Sección de Biotecnología Microbiana Laboratorio de Biotecnología e Ingeniería Genética Dpto. de Microbiología y Parasitología. Fac. CCBB, en la Universidad Nacional de Trujillo.

2.2.1 Lugar de muestreo y obtención de muestras de suelo

Las muestras de *Opuntia quitensis* se colectaron en suelos cultivados y no cultivados en el distrito de Chongoyape ubicado a 60 kilómetros del Nor Este de la provincia de Chiclayo.

Para la recogida de muestras se fragmento con una barreta la capa superficial del suelo a 0,2 m de la base del tallo de las plantas de *Opuntia quitensis*. Después, con ayuda de un badilejo se quitó el suelo cuidadosamente hasta alcanzar las raíces, aproximadamente a 0,10 m de profundidad, colectándose conjuntamente con el suelo que estaba adherido a las raíces (0,1 kg), para el traslado al laboratorio se dispusieron en bolsas de polietileno correctamente codificadas y se trasladaron en una caja térmica (10±1°C) directamente al laboratorio de Biotecnología e Ingeniería Genética Dpto. de Microbiología y Parasitología. Fac. CCBB, en la Universi-

dad Nacional de Trujillo.

2.2.2 Aislamiento e identificación fenotípica de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. de la rizosfera de *Opuntia quitensis*.

Con el fin de aislar los microorganismos, se procedió a retirar el suelo rizosférico adherido de las raíces y se colectó en una placa petri (Vardharajula et al., 2011). A continuación, en 9 mL de solución salina esterilizada (NaCl 0,85%, p/v) se agregó 1 g del suelo rizosférico y se agitó constante por 10 minutos.

Para el aislamiento de *Bacillus* sp. se tomó 5mL de la suspensión del suelo, se llevó a 80°C, por 10 minutos y enfriándose en seguida con agua corriente. A continuación, se procedió a sembrar una alícuota de la suspensión de suelo en agar nutritivo y se incubó las placas de Petri a 30°C durante 48 horas. Para luego de acuerdo al Manual de Bergey's of Determinative Bacteriology y MacFaddin se identificó a bacilos Gram positivos, móviles y catalasa positivo (Bergey, 2000; MacFaddin, 2004); sembrándose en agar Trypticasa Soya (TSA), constituyendo los cultivos puros que se conservaron en refrigeración (8°C) para su posterior utilización (Chávez-Ambriz et al., 2016).

Para el aislamiento de *Pseudomonas* sp., se sacaron alícuotas de cada suspensión del suelo y se cultivaron en un medio estéril, bajo condiciones de asepsia en agar Mac Conkey por la técnica de agotamiento y estría, incubándose a 30°C, por 48 horas, de todas las colonias se seleccionaron los bacilos Gram negativos (Guerra et al., 2011) y según el Manual de Bergey's of Determinative Bacteriology que incluyen las pruebas de catalasa, oxidasa, fermentación de carbohidratos en agar hierro triple azúcar, producción del pigmento fluorescente en agar King B, descarboxilación de la lisina y utilización de citrato como fuente de carbono y energía, se procedió con la identificación del género *Pseudomonas* (Bergey, 2000).

2.2.3 Selección de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. con actividad ACC desaminasa

Las bacterias con actividad ACC desaminasa fueron evaluadas de forma cualitativa por su capacidad de desarrollarse en el medio mínimo Dworkin & Foster (DF) con ACC como única fuente de nitrógeno. El medio mínimo DF estéril se ajustó a un pH de 7,2 y se adicione como fuente de nitrógeno una solución 0,5 M de ACC esterilizada por filtración de membrana de 0,2µm, lo necesario para obtener 3,0mM (Penrose y Glick, 2003).

Bacillus sp. y *Pseudomonas* sp. fueron cultivadas en 1 mL de medio mínimo Dworkin & Foster y posteriormente por dos veces sucesivas en 5 mL de medio DF, como medio selectivo con 3 mM de ACC se inocularon, y en 5 mL de medio DF con 2 gL⁻¹ de sulfato de amonio como control positivo. Tras 72 horas de incubación a 30°C, con agitación diaria durante 5 minutos, se calculó la absorbancia en un espectrofotómetro para luz visible (modelo Tenso Med NV203) a 600 nm. La utilización del ACC se constató comparando la absorbancia con el control positivo. (Azadikhah et al., 2019).

2.2.4 Efecto de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. en la germinación de semillas de *Zea mays* L. “maíz” bajo estrés salino

El inóculo bacteriano fue obtenido con agitación manual continua durante 5 minutos diarios por 9 días. Posterior al segundo cultivo se concentró la biomasa bacteriana por centrifugación, se lavó consecutivamente por triplicado con una solución de MgSO₄ a 0,03 M y se estandarizó a una concentración de 3,0x10⁸ células mL⁻¹ (Corrales-Lozada et al., 2020).

Para el ensayo de germinación de *Zea mays*, se prepararon 84 placas de Petri (estériles) con tres láminas de papel filtro como base, humedecido con agua destilada (testigo) con CE de 0 dSm⁻¹ y una solución de 80 mM NaCl con CE 6,94 dSm⁻¹ para los tratamientos. Las semillas de maíz fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio 3% por 1 minuto y posteriormente se enjuago por cinco veces sucesivas con agua destilada esterilizada (Orhan, 2016); para los tratamientos se inocularon las semillas sumergiéndolas en un 1 mL del inóculo bacteriano, a una temperatura de 30°C por 10 horas, además incluyendo un testigo absoluto con agua destilada esterilizada y un testigo NaCl (Qin et al., 2014), luego por triplicado se colocaron 20 semillas por cada placa de Petri, para después ser cubierta con papel aluminio y colocada en la estufa a 30°C. Se registro durante 12 días con intervalos de cada 3 días, el porcentaje de germinación y la tasa de germinación teniendo en cuenta el número de semillas germinadas, desechándolas una vez contadas.

La tasa de germinación se determinó mediante la ecuación (Rueda, 2009):

$$M = n_1/t_1 + n_2/t_2 + \dots + n_{20}/t_{12} \dots \dots \dots (1)$$

donde n₁, n₂...n₂₀ representa el número de semillas germinadas en el tiempo t₁, t₂ ... t₁₂ días.

2.1.5 Características de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal 6+

La caracterización de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. *in vitro* radicó en determinar los índoles producidos y fosfatos solubilizados (Etesami y Maheshwari, 2018). El inóculo se obtuvo cultivando *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. en 5 mL de caldo nutritivo, a una temperatura de 30 °C, por 24 horas. Transcurrido el tiempo se centrifugó a 3500 rpm durante 5 minutos, a continuación, se eliminó el sobrenadante, el sedimento se lavó con solución salina esterilizada (NaCl 0,85 % p/v) y su concentración se estandarizó por turbidimetría a 9×10^8 cel mL⁻¹ (tubo 3 del nefelómetro de Mc Farland).

Para la medición de índoles producidos *in vitro* se utilizó el método colorimétrico de Salkowski (Lara et al., 2011). El inóculo se sembró por tres veces consecutivas en 5 mL de caldo tripticasa soya suplementado con triptófano y 5 % de NaCl. Luego se incubó a 30 °C, durante 4 días, para posteriormente centrifugar a 3000 RPM, por 5 minutos. El sobrenadante (0,4 mL) de cada cultivo se depositó en tubos, se añadió 1,6 mL de reactivo de Salkowski modificado, se mezcló y se dejó en reposo en oscuridad por 30 minutos. La reacción se consideró positiva cuando el medio vió a un color rosado. La producción de índoles se calculó leyendo la absorbancia en el espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 530nm. Las concentraciones de índoles se determinaron con la ecuación de la curva de calibración elaborada previamente con diluciones sucesivas de una solución de 100ppm de ácido indolacético.

La solubilización de fosfatos *in vitro* por *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp se determinó mediante el método colorimétrico del molibdato. El inóculo se sembró por tres veces consecutiva en 5 mL de caldo National Botanical Research Institute's phosphate (NBRIP). A continuación, se incubó a 30 °C, durante 4 días, para posteriormente centrifugar a 3000 RPM, por 5 minutos; y en el sobrenadante se cuantificó el fósforo soluble, observándose una coloración azul positiva. La solubilización del fosfato se calculó leyendo la absorbancia en el espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 690nm. Las concentraciones de fosforo soluble se determinaron con la ecuación de la curva de calibración elaborada previamente con diluciones sucesivas de una solución de 10 ppm de fosforo.

Para calcular el índice de solubilización de fosfato en medio sólido, se cultivó en TSA a 30 °C por 24 horas, se sembraron por duplicado en las placas de Petri, a través de la técnica de puntura superficial en agar NBRIP suplementado con 1 gL⁻¹ P inorgánico, equivalente a 5,6 g de fosfato tricálcico. Se incubaron a una temperatura de 30 °C, por 96 horas y cada 24 horas se midió el diámetro de la colonia bacteriana y diámetro del halo de solubilización. A las 96 horas, se calculó el índice de solubilización de fosfato:

$$\text{Índice de solubilización} = \frac{\text{Diámetro del halo} + \text{Diámetro de colonia}}{\text{Diámetro de colonia}} \dots\dots (2)$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las muestras de suelo rizosférico de *Opuntia quitensis* “tuna” colectadas (54 muestras) se aislaron 170 bacterias, entre las que 58,82 % (100) pertenecientes a bacilos Gram positivos y 41,18 % (70) a bacterias Gram negativas (figuras 1 y 2). Los bacilos Gram positivos con crecimiento aerobio y móviles presentaron esporas no deformantes y positividad en la prueba de catalasa, identificándose el género *Bacillus*. Entre las bacterias Gram negativas el 75,71 % (53) fue positivo en las pruebas de catalasa y oxidasa, no fermentó carbohidratos en agar TSI y descarboxiló la lisina en agar LIA, identificándose el género *Pseudomonas*. El 10 % (10) de *Bacillus* sp. y el 30,18 % (16) de *Pseudomonas* sp. demostraron tener actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio al desarrollar en medio mínimo DF con ACC (Penrose y Glick, 2003) como fuente de nitrógeno y sulfato de amonio como fuente de carbono durante 72 horas (Tabla 1 y 2). La actividad de la desaminasa del ácido 1- aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) es utilizada por una variedad de PGPR para promover el crecimiento de las plantas bajo tensiones ambientales específicas (Esquivel-Cote et al., 2013).

Entre los aislamientos en cactus destacan las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Campana-Olaya et al. 2018). Estos aislamientos bacterianos son frecuentes también en la rizosfera de gramíneas y muestran un potencial promotor del crecimiento de las plantas (Kumar et al., 2012). Asimismo, puede ser crucial para la acción de los inoculantes microbianos utilizados como biofertilizantes, biopesticidas, fitoestimuladores y biorremediadores. Por lo tanto, *Pseudomonas*, es uno de los mejores colonizadores de raíces, se utiliza como modelo de colonizador de raíces (Lugtenberg et al., 2001). Asimismo, trabajos realizados en yuca (*Manihot esculenta*) por Galindo-Espinal y Zapata (2019), han mostrado el aumento en la proporción de

bacterias Gram negativas sobre las Gram positivas en condiciones de sequía, estas respuestas de las comunidades microbianas del suelo al estrés hídrico se hacen notorias (Manzoni et al., 2012). Lo que señala, que las bacterias Gram negativas intervienen en el mecanismo de respuesta frente al estrés.



Figura 1. Colonia de *Bacillus* sp. desarrollado en agar nutritivo.



Figura 2. Colonias de *Pseudomonas* sp. en agar MacConkey.

Tabla 1. Absorbancia (600 nm) de medio mínimo Dworkin & Foster con ACC y sulfato de amonio como fuente de nitrógeno cultivado con *Bacillus* sp.

Bacterias	ACC		Sulfato de amonio	
	Absorbancia	Absorbancia corregida	Absorbancia	Absorbancia corregida
Control	0,450	-	0,696	-
<i>Bacillus</i> sp.45	2,724	2,274	1,600	0,904
<i>Bacillus</i> sp.50	2,673	2,223	2,090	1,394
<i>Bacillus</i> sp.62	1,090	0,640	1,095	0,399
<i>Bacillus</i> sp.20	1,098	0,640	1,200	0,504
<i>Bacillus</i> sp.28	1,084	0,630	1,102	0,406
<i>Bacillus</i> sp.3	1,020	0,570	0,994	0,298
<i>Bacillus</i> sp.11	0,990	0,540	1,200	0,504
<i>Bacillus</i> sp.48	0,980	0,530	0,984	0,288
<i>Bacillus</i> sp.10	0,930	0,480	1,120	0,424
<i>Bacillus</i> sp.5	0,880	0,430	1,070	0,374

Tabla 2. Absorbancia (600 nm) de medio mínimo Dworkin & Foster con ACC y sulfato de amonio como fuente de nitrógeno cultivado con *Pseudomonas* sp.

Bacterias	ACC		Sulfato de amonio	
	Absorbancia	Absorbancia corregida	Absorbancia	Absorbancia corregida
Control	0,450	-	0,696	-
<i>Pseudomonas</i> sp.58	3,080	2,630	3,245	2,549
<i>Pseudomonas</i> sp.44	2,985	2,535	2,900	2,204
<i>Pseudomonas</i> sp.59	2,801	2,351	2,850	2,154
<i>Pseudomonas</i> sp.61	2,640	1,944	2,198	1,748
<i>Pseudomonas</i> sp.49	2,580	1,884	2,090	1,640
<i>Pseudomonas</i> sp.51	2,280	1,830	2,300	1,604
<i>Pseudomonas</i> sp.4	2,520	1,824	2,118	1,668
<i>Pseudomonas</i> sp.28	1,198	0,748	0,975	0,279
<i>Pseudomonas</i> sp.35	2,198	1,748	2,200	1,504
<i>Pseudomonas</i> sp.16	2,430	1,734	2,014	1,564
<i>Pseudomonas</i> sp.1	2,108	1,658	1,990	1,294
<i>Pseudomonas</i> sp.41	2,089	1,639	1,334	0,638
<i>Pseudomonas</i> sp.56	1,089	0,639	1,200	0,504
<i>Pseudomonas</i> sp.70	2,025	1,575	2,090	1,394
<i>Pseudomonas</i> sp.8	2,018	1,568	2,108	1,412
<i>Pseudomonas</i> sp.17	2,018	1,568	2,180	1,484

Bacillus sp. y *Pseudomonas* sp. aisladas de *Opuntia quitensis* “tuna” incrementaron la tasa de germinación (9,22 - 31,44) de las semillas de *Zea mays* L. “maíz”, en comparación con el testigo NaCl (6,00). Además, el 42,30 % (11) de las bacterias obtuvo una tasa de germinación (27,56 - 31,44) mayor que la del testigo absoluto (27,44) (Tabla 3). Los resultados obtenidos también son similares a los reportados por Galindo-Espinal y Zapata (2019) quienes al evaluar el efecto de *Bacillus* sp. aisladas de *Prosopis limensis* “algarrobo” evidenciaron el incremento de la tasa de germinación de las semillas de rabanito (4,10 - 13,33) en comparación con el testigo NaCl (3,62) y cinco cultivos de *Bacillus* sp. superaron (10,65 - 13,33) al testigo absoluto. Igualmente, Reinoza y Valladolid (2021) en su investigación demostraron el incremento en la tasa de germinación de las semillas de rabanito por efecto de *Pseudomonas* sp., demostrando su potencial en la promoción del crecimiento de las plantas sometidas a estrés salino, por lo que estas bacterias se seleccionaron para determinar las características que demuestran *in vitro* promoción de crecimiento vegetal. Por el contrario Adesemoye, Obini, y Ugoji (2008) no obtuvieron ninguna diferencia significativa entre los rendimientos generales de los dos organismos (*Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp.) en los cultivos inoculados.

Los diez cultivos de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. con los cinco mayores valores en la tasa de germinación de maíz seleccionados para determinar las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal, produjeron índoles y solubilizaron fosfato tricálcico. Se cuantificaron 50,02 a 66,13 ppm de índoles

con *Bacillus* sp. 20 y 62 respectivamente. En la solubilización de fosfato tricálcico en medio líquido, se cuantificaron 27,54 a 28,65 ppm de fósforo soluble con *Bacillus* sp. 50 y 45 respectivamente. En la solubilización de fosfato tricálcico en medio sólido, se observaron halos transparentes alrededor de las colonias (Figura 3), alcanzándose índices de solubilización de 2,17 a 3,45 con *Bacillus* sp. 50 y 62 respectivamente; de este modo, el valor de indoles obtenido por *Bacillus* sp. 62 fue superior al reportado por Robles et al. (2020) en sus estudios realizados en plántulas de *Triticum turgidum*, donde se destacó la cepa TRQ65 con el valor de 22.8 ppm de indoles, además de demostrar la capacidad de *Bacillus* sp. de sintetizar sideróforos y solubilización de fosfatos, así como tolerancia a estrés salino (NaCl 5%).

Tabla 3. Tasa de germinación de semillas de *Zea mays* L. “maíz”. bajo estrés salino por efecto de *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp., Lambayeque, 2020

Tratamientos	Germinación/días				Tasa de germinación
	3	6	9	12	
<i>Bacillus</i> sp.45	3,11	6,44	9,44	12,44	31,44
<i>Bacillus</i> sp.62	3,33	6,33	9,33	12,22	31,22
<i>Bacillus</i> sp.50	3,11	6,22	9,33	12,44	31,11
<i>Pseudomonas</i> sp.49	3,22	6,33	9,44	12,11	31,11
<i>Pseudomonas</i> sp.44	3,22	6,11	9,33	12,44	31,11
<i>Pseudomonas</i> sp.59	3,33	6,22	9,11	12,22	30,89
<i>Pseudomonas</i> sp.58	3,11	6,11	9,00	12,11	30,33
<i>Pseudomonas</i> sp.61	3,11	5,89	9,00	12,11	30,11
<i>Pseudomonas</i> sp.4	3,33	6,00	8,56	11,00	28,89
<i>Pseudomonas</i> sp.1	3,00	5,56	8,56	11,56	28,67
<i>Pseudomonas</i> sp.56	3,00	5,78	8,33	10,44	27,56
Testigo absoluto	2,89	5,44	8,22	10,89	27,44
<i>Bacillus</i> sp.20	2,22	5,22	8,22	11,33	27,00
<i>Bacillus</i> sp.11	2,67	5,56	8,11	10,56	26,89
<i>Bacillus</i> sp.5	2,89	5,33	8,11	10,22	26,56
<i>Bacillus</i> sp.10	3,11	5,44	7,78	9,78	26,11
<i>Pseudomonas</i> sp.8	2,67	5,11	7,78	9,67	25,22
<i>Bacillus</i> sp.3	2,56	5,00	7,56	9,67	24,78
<i>Bacillus</i> sp.48	2,44	4,22	6,67	9,56	22,89
<i>Bacillus</i> sp.28	2,11	4,78	6,44	8,78	22,11
<i>Pseudomonas</i> sp.35	2,22	3,78	6,33	8,89	21,22
<i>Pseudomonas</i> sp.41	2,44	3,89	5,33	6,56	18,22
<i>Pseudomonas</i> sp.16	1,89	3,67	5,56	6,78	17,89
<i>Pseudomonas</i> sp.28	1,67	3,33	5,00	7,11	17,11
<i>Pseudomonas</i> sp.17	0,67	2,67	5,67	7,89	16,89
<i>Pseudomonas</i> sp.51	1,44	3,00	4,78	5,56	14,78
<i>Pseudomonas</i> sp.70	1,00	1,56	2,89	3,78	9,22
Testigo NaCl	0,56	1,22	1,78	2,44	6,00

Del mismo modo, se cuantificó 48,24 a 65,68 ppm de indoles con *Pseudomonas* sp. 49 y 61 respectivamente. En la solubilización de fosfato tricálcico en medio líquido, se cuantificaron 27,67 a 28,63 ppm de fósforo soluble con *Pseudomonas* sp. 59 y 44 respectivamente. En la solubilización de fosfato tricálcico en medio sólido, se observaron halos transparentes alrededor de las colonias, alcanzándose índices de solubilización de 2,77 a 3,52 con *Pseudomonas* sp. 58 y 59 respectivamente (Tabla 4). Valores superiores a los reportados por Alcarraz et al. (2019) que indican que la cepa *Pseudomonas putida* 2J alcanzó 21.06 ppm de indoles y un índice de solubilidad de 3.08. Otros ensayos *in vitro* demuestran que *Pseudomonas* y *Bacillus* son capaces de producir indoles y solubilizar fosfatos, representando una alternativa para una agricultura sustentable y ami-

gible con el ambiente (Eduardo et al. 2012; Sánchez y Pérez, 2018).

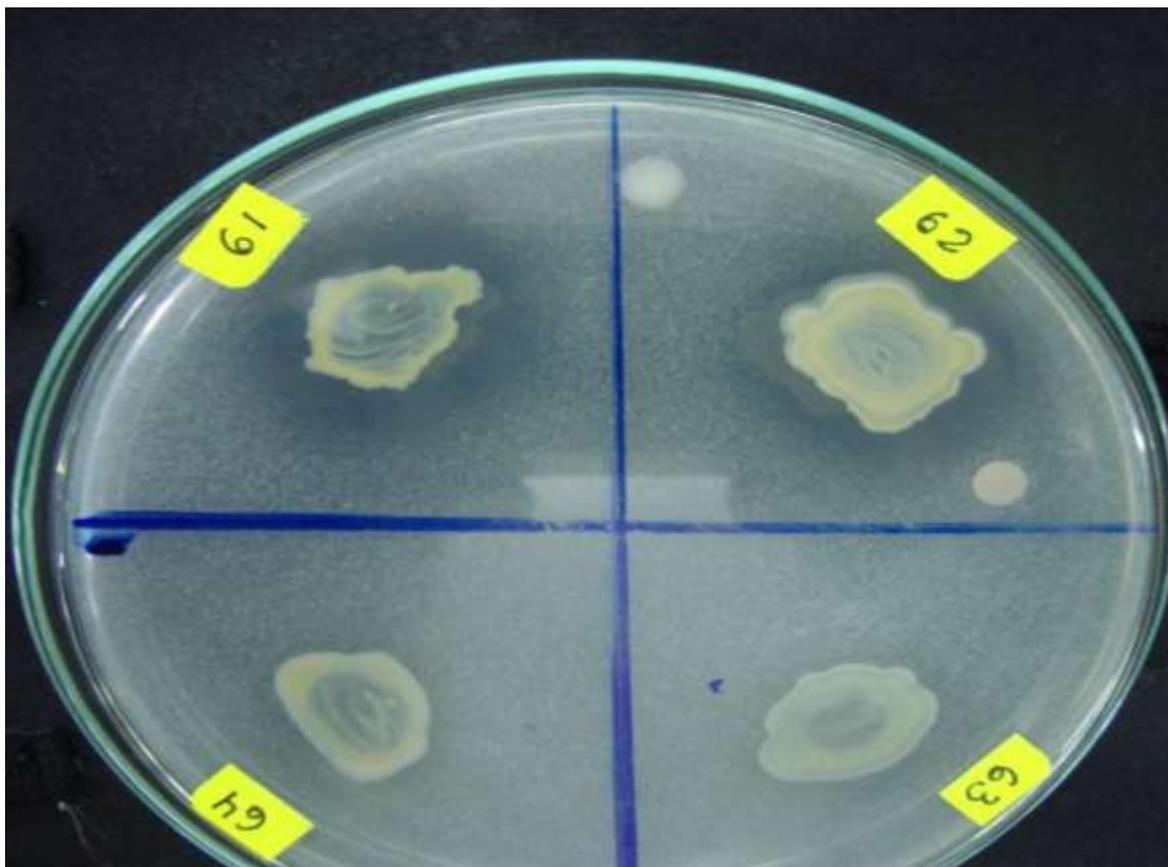


Figura 3. *Pseudomonas* sp. sembrada en agar NBRIP donde se evidencian los halos de solubilización

Tabla 4. Indoles, fósforo soluble e índices solubilización de fosfato alcanzado por *Bacillus* sp. y *Pseudomonas* sp. seleccionadas

Bacterias	Indoles (ppm)	Fósforo soluble (ppm)	IS
<i>Bacillus</i> sp.45	54,58	28,65	2,22
<i>Bacillus</i> sp.50	57,33	27,54	2,17
<i>Bacillus</i> sp.62	66,13	27,89	3,45
<i>Bacillus</i> sp.20	50,02	27,46	2,95
<i>Bacillus</i> sp.11	58,25	28,21	3,12
<i>Pseudomonas</i> sp.58	49,32	27,69	2,77
<i>Pseudomonas</i> sp.44	56,24	28,63	3,27
<i>Pseudomonas</i> sp.59	58,66	27,67	3,52
<i>Pseudomonas</i> sp.61	65,68	27,97	3,50
<i>Pseudomonas</i> sp.49	48,24	28,38	2,89

4. CONCLUSIONES

Bacillus sp. y *Pseudomonas* sp. aisladas de la rizósfera de *Opuntia quitensis* “tuna” demostraron tener actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio al desarrollar en medio mínimo DF, teniendo como

fuentes de nitrógeno el ACC y como fuente de carbono al sulfato de amonio; aumento la tasa de germinación de las semillas de maíz en 42,30% (27,56 - 31,44), siendo mayor que la del testigo absoluto y testigo NaCl. Los diez cultivos de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. con mayor tasa de germinación de semillas de maíz, produjeron indoles, solubilizaron fósforo soluble y alcanzaron altos índices de solubilización en fosfato tricalcico en medio sólido; esto las convierte en potenciales promotoras de crecimiento en *Zea mays* L. “maíz”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcarraz, M.; Heredia, V.; Julian, J. 2019. Cepas bacterianas nativas con actividades promotoras del crecimiento vegetal aisladas de la rizósfera de *Coffea* spp. en Pichanaqui, Perú. *Biotecnología Vegetal*, 19(4): 285-295.
- Adesemoye, A.; Obini, M.; Ugoji, E. 2008. Comparison of plant growth-promotion with *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in three vegetables. *Brazilian Journal of Microbiology* 39(3): 423–26.
- Altamirano, L.; Ramos, E.; Iglesias-Osores, S.; Carreño-Farfan, C. 2020. Potencialidades de bacterias productoras de polihidroxialcanoatos (PHA) aisladas de *Asparagus officinalis* L. DOI:10.1590/SciELOPreprints.646
- Azadikhah, M.; Jamali, F.; Nooryazdan, H.; Bayat, F. 2019. Growth promotion and yield enhancement of barley cultivars using ACC deaminase producing *Pseudomonas fluorescens* strains under salt stress. *Spanish Journal of Agricultural Research* 17(1). DOI: 10.5424/sjar/2019171-13828
- Bariagabre, S.; Asante, I.; Gordon, C.; Anang, T. 2016. Cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.) a valuable crop for restoration of degraded soils in northern Ethiopia. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 6(8): 11–18.
- Bergeys, D. 2000. *Manual of the Determinative Bacteriology 1989-2000*. 8 th ed. Philadelphia; 2:540-589
- Campana-Olaya, J.; Luis-Alaya, B.; Mendez-Farroñan, S.; Quezada-Salirrosas, M.; Nouchi-Moromizato, E.; Munaya-Sáenz, N.; Sánchez-Suárez, H.; Prada-Gutiérrez, E.; Mialhe E. 2018. Caracterización molecular de la microbiota rizosférica nativa de *Opuntia ficus-indica* y evaluación de los efectos de cepas microbianas aisladas sobre el desarrollo del cactus. *Manglar* 14(1): 3–11.
- Cano, Á. 2013. ¿«De arriba hacia abajo» o «de abajo hacia arriba»? : participación social, agricultura y minería en la gestión integrada de la cuenca Chancay-Lambayeque. *Apuntes: Revista de Ciencias Sociales* 40(73): 43–76.
- Chávez-Ambríz; Lluvia, A.; Hernández-Morales, A.; Cabrera-Luna, J.; Luna-Martínez, L.; Pacheco-Aguilar, J. 2016. Aislados de *Bacillus* provenientes de la rizósfera de cactus incrementan la germinación y la floración en *Mammillaria* spp. (Cactaceae). *Revista Argentina de Microbiología* 48(4): 333–41.
- Corrales-Lozada, M.; Lumbres, V.; Iglesias-Osores, S.; Carreno-Farfan, C. 2020. Potentialities of plant growth promoting bacteria, isolated from *Portulaca oleracea* L. in soils with salinity. *Pastos y Forrajes* 43(2): 87–95.
- Eduardo, F.; Costa, F.; Melo, I. 2012. Endophytic and rhizospheric bacteria from *Opuntia ficus-indica* mill and their ability to promote plant growth in cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *African Journal of Microbiology Research* 6(6): 1345–53. <http://www.academicjournals.org/AJMR> (16 de junio de 2021).
- Egamberdieva, D.; Wirth, S.; Shurigin, V.; Hashem, A.; Abd-Allah, E. 2017. Endophytic bacteria improve plant growth, symbiotic performance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and induce suppression of root rot caused by *Fusarium solani* under salt stress. *Frontiers in Microbiology* 8:1887. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01887
- Esquivel-Cote, R.; Gavilanes-Ruiz, M.; Cruz-Ortega, R.; Huante, P. 2013. Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(3): 251–58.
- Etesami, H.; Maheshwari, DK. 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: 225–46.
- Galindo-Espinal, D.; Zapata T. 2019. Caracterización de bacterias asociadas a la rizosfera de plantas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) sometidas a estrés por déficit hídrico. Universidad Santiago de Cali. <https://repository.usc.edu.co/handle/20.500.12421/1741> (16 de junio de 2021).
- García, R.; Lovaisa, N.; Ulla, E. 2015. Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfatos del Noroeste Argentino y su efecto en la promoción de crecimiento en maíz (*Zea mays* L.). *Rev. agron. noroeste argen* 35(1): 13–28. DOI:10.13140/RG.2.1.1763.8246
- Guerra, G.; Betancourth, C.; Salazar, C. 2011. Antagonismo de *Pseudomonas fluorescens* Migula frente a *Fusarium oxysporum* fsp. pisi Shtdl en arveja *Pisum sativum* L. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 14(2). DOI:10.5897/AJMR11.1503
- Iglesias-Osores, S. 2020. Incipiente industria biotecnológica en el Perú, una amenaza que se asoma. *Manglar* 17(1): 5. 2020b. Sistema débil ciencia tecnología innovación en el Perú, resaltante en tiempo de crisis.

- SCIENDO 23(2): 91–92.
- Jackson, M.; Dunlap, C.; Jaronski, S. 2010. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. *BioControl* 55(1): 129–45. DOI:10.1007/978-90-481-3966-8_10
- Karlapudi, A.; Venkateswarulu, T.; Tammineedi, J.; Kanumuri, L.; Ravuru, B.; Dirisala, V.; Kodali, V. 2018. Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution-a review. *Petroleum* 4(3): 241–249.
- Karyoti, A.; Bartzialis, D.; Sakellariou-Makrantonaki, M.; Danalatos, N. 2018. Effects of irrigation and green manure on corn (*Zea mays* l.) biomass and grain yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 18(3): 820–832.
- Kumar, P.; Dubey, R.; Maheshwari, D. 2012. *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. *Microbiological Research* 167(8): 493–99.
- Lamsal, K.; Paudyal, G.; Saeed, M. 1999. Model for assessing impact of salinity on soil water availability and crop yield. *Agricultural Water Management* 41(1): 57–70.
- Lara, C.; Oviedo, L.; Alemán, A. 2011. Aislados nativos con potencial en la producción de ácido indol acético para mejorar la agricultura. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 9(1): 17–23.
- Liu, J.; Liu, H.; Huang, S.; Yang, X.; Wang, B.; Li, X.; Ma, Y. 2018. Apparent Accumulated Nitrogen Fertilizer Recovery in Long-Term Wheat–Maize Cropping Systems in China. *Agronomy*, 8, 293. DOI:10.3390
- Lugtenberg, B.; Dekkers, L.; Bloemberg, G. 2001. Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annual Review of Phytopathology* 39:461–490. DOI: 10.1146/annurev.phyto.39.1.461
- MacFaddin, J. 2004. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Buenos Aires: Panamericana.
- Manzoni, S.; Schimel, JP.; Porporato, A. 2012. Responses of soil microbial communities to water stress: Results from a meta-analysis. *Ecology* 93(4): 930–938. DOI: 10.1890/11-0026.1.
- Orhan, F. 2016. Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). *Brazilian Journal of Microbiology* 47(3): 621–627.
- Penrose, D.; Glick, B. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum* 118(1):10–15. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x
- Qin, S.; Zhang, YJ.; Yuan, B.; Xu, PY.; Xing, K.; Wang, J.; Jiang, JH. 2014. Isolation of ACC deaminase-producing habitat-adapted symbiotic bacteria associated with halophyte *Limonium sinense* (Girard) Kuntze and evaluating their plant growth-promoting activity under salt stress. *Plant and Soil* 374(1–2): 753–66. DOI:10.1007/s11104-013-1918-3
- Reinoza, K.; Valladolid, E. 2021. Especies de *Pseudomonas* aisladas de la rizósfera de *Prosopis limensis* Bentham y su potencial como promotoras de crecimiento en plantas bajo estrés salino. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, UNPRG, Lambayeque - Perú.
- Robles, R.; Chaparro, L.; Parra, F.; De los Santos, S. 2020. Mejorando rasgos biométricos de plántulas de trigo con la inoculación de un consorcio nativo de *Bacillus*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11(1): 229–235. DOI:10.29312/remexca.v11i1.2162
- Rueda, E.; Villegas, J.; Gerlach, L.; Tarazón, M.; Murillo, B.; García, J.; Troyo, E.; Preciado, P. 2009. Efecto de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre la germinación de *Salicornia bigelovii*. *Terra Latinoamericana*, 27(4): 345-354.
- Saltveit, ME. 1999. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 15(3): 279–292.
- Sánchez, DB.; Pérez, JV. 2018. Caracterización y evaluación de PGPRs sobre el crecimiento de plántulas de *Dioscorea rotundata* in vitro. *Agronomía Costarricense*, 42(2): 75-91.
- Shrivastava, P.; Kumar, R. 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22(2): 123–31. DOI: 10.1016/j.sjbs.2014.12.001.
- Sivasakthi, S.; Usharani, G.; Saranraj, P. 2014. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African journal of agricultural research* 9(16): 1265–77. DOI: 10.5897/AJAR2013.7914
- Vardharajula, S.; Skz, A.; Grover, M.; Reddy, G. 2011. Drought-tolerant plant growth promoting bacillus spp.: Effect on growth, osmol ytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Journal of Plant Interactions* 6(1): 1–14. DOI:10.1080/17429145.2010.535178