



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS CAMPECHE  
POSTGRADO EN BIOPROSPECCIÓN Y SUSTENTABILIDAD  
AGRÍCOLA EN EL TRÓPICO**

## **RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL CON POTENCIAL BIOFERTILIZANTE EN EL CULTIVO DE CHILE HABANERO**

**MIGUEL ESPINOZA JIMÉNEZ**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**SIHOCHAC, CHAMPOTÓN, CAMPECHE, MÉXICO**

**2021**

---

## **CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe; **Miguel Espinoza Jiménez**, alumno de esta institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección de la profesora Dra. **Arely Anayansi Vargas Díaz**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal con potencial biofertilizante en el cultivo de chile habanero** y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos que se pueden derivar serán registrados a nombre del colegio de postgraduados y de las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la institución, el consejero o director de tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta institución.

Sihochac, Champotón, Campeche a 03 de diciembre de 2021.



---

**LDS. Miguel Espinoza Jiménez**



---

**Vo.Bo.**  
**Dra. Arely Anayansi Vargas Díaz**

La presente tesis titulada: **Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal con potencial biofertilizante en el cultivo de chile habanero** realizado por el alumno: **Miguel Espinoza Jiménez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

**BIOPROSPECCIÓN Y SUSTENTABILIDAD AGRÍCOLA EN EL TRÓPICO**

CONSEJO PARTICULAR:

CONSEJERA:

  
\_\_\_\_\_  
DRA. ARELY ANAYANSI VARGAS DÍAZ

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
DR. EUGENIO CARRILLO ÁVILA

ASESORA:

  
\_\_\_\_\_  
DRA. MÓNICA LETICIA OSNAYA GONZÁLEZ

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
DR. JUAN JOSÉ ALMARAZ SUÁREZ

Sihochac, Champotón, Campeche a 03 de diciembre de 2021.

# RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL CON POTENCIAL BIOFERTILIZANTE EN EL CULTIVO DE CHILE HABANERO

Miguel Espinoza Jiménez  
Colegio de Postgraduados, 2021

## RESUMEN

El chile habanero es de gran importancia en la península de Yucatán, sin embargo, su cultivo conlleva al incremento del uso de fertilizantes químicos, los cuales ocasionan graves daños ambientales. La utilización de inoculantes microbianos es una alternativa sustentable a la fertilización química, ya que pueden aumentar el rendimiento productivo, sin ocasionar daños adversos al ambiente. Por tal razón, el objetivo del trabajo consistió evaluar el efecto de la inoculación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) y la aplicación de un fertilizante inorgánico sobre el crecimiento y rendimiento de *Capsicum chinense* en invernadero. Para ello, primero se realizó el aislamiento de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) asociadas a *Capsicum chinense* en dos sitios de producción del estado de Campeche ubicados en las localidades de Xcampeu, Mpio. de Campeche y Crucero Oxá, Mpio. de Hopelchén. En total se aislaron 17 cepas bacterianas, diez en Crucero de Oxá y siete en Xcampeu. Las cepas MHPO2, MHPO8 y MHBX10 mostraron una mayor capacidad para solubilizar fosfatos, potasio y producir ácidos orgánicos en las pruebas *in vitro*. La caracterización molecular de las tres cepas permitió identificarlas en los géneros *Bacillus* sp. MHPO2, *Staphylococcus caprae* MHPO8 y *Bacillus stratosphericus* MHBX10. Por otro lado, las plántulas inoculadas con las cepas *Bacillus* sp. MHPO2 y *Staphylococcus caprae* MHPO8 con fertilización presentaron la mayor altura y biomasa seca aérea y radical en relación con el testigo sin fertilización. La evaluación de la cepa *Bacillus* sp. MHPO2 en invernadero, permitió observar que en las variables de producción la fertilización convencional al 100 % (T1) y la inoculación de la cepa de *Bacillus* sp. MHPO2 más el fertilizante convencional al 50% (T3) favorecieron significativamente el número de frutos por planta, peso de frutos por planta y rendimiento por ha, en comparación con los otros tratamientos. Estos resultados indican que el uso de la rizobacteria *Bacillus* sp. MHPO2 presenta potencial como biofertilizante en el cultivo de *Capsicum chinense* Jacq.

**Palabras clave:** biofertilizantes, inoculantes microbianos, rizobacterias, suelo rizosférico.

# PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA WITH BIOFERTILIZING POTENTIAL IN THE CROP OF HABANERO PEPPER.

Miguel Espinoza Jiménez  
Colegio de Postgraduados, 2021

## ABSTRACT

The habanero pepper is of great importance in the Yucatan peninsula, however, its cultivation leads to an increase in the use of chemical fertilizers, which cause serious environmental damage. The use of microbial inoculants is a sustainable alternative to chemical fertilization, since they can increase productive performance, without causing adverse damage to the environment. For this reason, the objective of the work was to evaluate the effect of the inoculation of native rhizobacteria and an inorganic fertilizer on the growth and yield of *Capsicum chinense* Jacq., in a greenhouse. To do this, first the isolation of plant growth promoting rhizobacteria (RPCV) associated with *Capsicum chinense* was carried out in two production sites in the state of Campeche located in the town of Xcampeu, Campeche and Oxá, Hopelchén. In total, 17 bacterial strains were isolated, ten in Crucero de Oxá and seven in Xcampeu. Strains MHPO2, MHPO8 and MHBX10 showed a greater capacity to solubilize phosphates, potassium and produce organic acids in in vitro tests. The molecular characterization of the three strains allowed them to be identified in the genera *Bacillus* sp. MHPO2, *Staphylococcus caprae* MHPO8 and *Bacillus stratosphericus* MHBX10. On the other hand, the seedlings inoculated with the *Bacillus* sp. MHPO2 and *Staphylococcus caprae* MHPO8 with fertilization presented the highest height and dry aerial and radical biomass in relation to the control without fertilization. The evaluation of the strain *Bacillus* sp. MHPO2 in greenhouse, allowed to observe that the production variables the conventional fertilization to 100% (T1) and the inoculation of the strain of *Bacillus* sp. MHPO2 plus conventional 50% fertilizer (T3) significantly favored the number of fruits per plant, weight of fruits per plant and yield per ha, compared to the other treatments. These results indicate that the use of the rhizobacterium *Bacillus* sp. MHPO2 has potential as a biofertilizer in the cultivation of *Capsicum chinense* Jacq.

**Key words:** biofertilizers, microbial inoculants, random sampling, rhizobacteria, rhizospheric soil.

## AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (CONACyT) por la beca de maestría otorgada para la realización del presente trabajo de investigación.

Al **Colegio de Postgraduados**, Campus Campeche, por todo el apoyo durante mi desarrollo de la maestría para superación personal, profesional y académica.

Personalmente a mi consejo particular; Dra **Arely Anayansi Vargas Díaz**, por su apoyo, dedicación, paciencia, conocimiento, orientación y particularmente de manera tangible por el acceso a los materiales, equipo e instalaciones de laboratorio de Bioprocesos, así como de personal calificado, al Dr. **Eugenio Carrillo Ávila**, por su orientación, consejos y dedicación en campo, a la Dra. **Mónica Osnaya González**, por su orientación académica y consejo de investigación para la tesis, por ultimo, a mi asesor externo al Dr. **Juan José Almaraz Suárez** por su dedicación y consejos en investigación y consultas de diversos artículos científicos de interés en esta investigación.

A los compañeros del laboratorio de Bioprocesos, en particular a las Lic. Delmy Chablé Yah e Ing. Yaritza Quintal Vargas, por su dedicación y acompañamiento durante las fases de esta investigación.

Al personal de campo y administrativo del Campus, pero en particular al Lic. Enrique Arias por su orientación al ingreso de la maestría en ciencias, así como de su acompañamiento durante todo el proceso administrativo.

## DEDICATORIA

Agradecimiento a Dios por ser la luz de mi camino en esta maestría y nunca olvidarse de mí en los momentos más difíciles.

A mis hijos, Jimena y Cristian Miguel Espinoza Sánchez, por ser mi motor día a día.

A todos aquellos que colaboraron de manera directa o indirecta en la realización de esta tesis ¡gracias!

Y finalmente a mi madre Geny María Jiménez Puga y mis abuelos Soledad Puga Gamboa y Alonso Jiménez Rodríguez, por darme la fortaleza que necesité en mi formación como persona.

## INDICE GENERAL

RESUMEN .....	i
ABSTRACT .....	ii
AGRADECIMIENTOS .....	iii
DEDICATORIA.....	iv
INDICE DE FIGURAS Y TABLAS .....	viii
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 CHILE HABANERO.....	3
2.1.1 Importancia del chile habanero .....	3
2.1.2 Producción de chile habanero .....	3
2.1.3 Descripción botánica de <i>Capsicum chinense</i> Jacq.....	4
2.1.4 Clasificación taxonómica de <i>Capsicum chinense</i> Jacq.....	5
2.1.5 Cultivo del chile habanero .....	5
2.1.6 Requerimientos nutricionales en chile habanero .....	6
2.2 Microorganismos del suelo.....	8
2.2.1 Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal .....	9
2.2.2 Bacterias solubilizadoras de fosfatos .....	11
2.2.3 Bacterias fijadoras de nitrógeno .....	12
2.2.4 Bacterias productoras de ácido indoloacético .....	13
2.3 Microorganismos con potencial biofertilizante en chile habanero .....	14
3 JUSTIFICACIÓN.....	16
4 OBJETIVOS E HIPOTESIS .....	17
4.1 Objetivo general .....	17
4.2 Objetivos particulares.....	17
4.3 Hipótesis general .....	17
5 MATERIALES Y MÉTODOS.....	18

5.1	Aislamiento y caracterización de cepas nativas de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV).....	18
5.1.1	Colecta de suelo rizosférico .....	18
5.1.2	Aislamiento y caracterización de microorganismos .....	18
5.1.3	Selección <i>in vitro</i> de las RPCV.....	19
5.1.4	Caracterización molecular de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) .....	20
5.1.5	Análisis estadístico.....	21
5.2	Efecto de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal seleccionadas sobre el crecimiento y desarrollo de plántulas de chile habanero.....	22
5.2.1	Preparación del inóculo bacteriano .....	22
5.2.2	Selección de las RPCV en plántulas en invernadero .....	22
5.2.3	Variables agronómicas.....	24
5.2.4	Diseño experimental y análisis estadístico .....	24
5.3	Determinación del efecto la rizobacteria promotora de crecimiento vegetal <i>Bacillus</i> sp. MHPO2 sobre el crecimiento y producción en chile habanero en invernadero .....	24
5.3.1	Ubicación y características del sitio experimental .....	24
5.3.2	Material biológico .....	25
5.3.3	Establecimiento en invernadero .....	25
5.3.4	Riego .....	25
5.3.5	Tratamientos evaluados .....	26
5.3.6	Fertilización.....	26
5.3.7	Control de plagas y enfermedades.....	27
5.3.8	Variables agronómicas evaluadas.....	27
5.3.9	Diseño experimental y análisis estadístico .....	28
6	RESULTADOS .....	29
6.1	Aislamiento y selección <i>in vitro</i> de la rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) .....	29
6.1.1	Aislamiento y caracterización morfológica de las bacterias .....	29
6.1.2	Selección <i>in vitro</i> de las RPCV.....	31

6.1.3 Caracterización molecular de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal .....	32
6.2 Efecto de las RPCV seleccionadas sobre el crecimiento <i>in vivo</i> en plántulas de chile habanero.....	33
6.3 Efecto de <i>Bacillus</i> sp. MHPO2 y la fertilización convencional sobre el crecimiento y rendimiento en plantas de chile habanero en invernadero.....	36
6.3.1 Efecto de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. MHPO2 y la fertilización convencional en el crecimiento de las plantas.....	36
6.3.1. Efecto de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. MHPO2 y la fertilización mineral en el rendimiento de las plantas de chile habanero .....	38
7 DISCUSIÓN.....	40
7. CONCLUSIONES .....	44
8. PERSPECTIVAS .....	45
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

## INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Comparación entre los tratamientos en el crecimiento de la planta .....	37
Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Capsicum chinense</i> Jacq (USDA, 2011). .....	5
Tabla 2. Dosis de fertilización en cada etapa de desarrollo del cultivo de chile habanero (Noh-Medina et al., 2010). .....	8
Tabla 3. Microorganismos con potencial biofertilizante en cultivo de chile habanero. ....	15
Tabla 4. Tratamientos evaluados a nivel plántula en chile habanero .....	23
Tabla 5. Necesidad de riego por etapa fenológica del cultivo de chile habanero .....	25
Tabla 6. Necesidad de riego por etapa del cultivo de chile habanero. ....	26
Tabla 8. Caracterización morfología de las bacterias aisladas en dos sitios de cultivo de chile habanero en Campeche. ....	30
Tabla 9. Características promotoras de crecimiento vegetal de las cepas aisladas .....	32
Tabla 10. Identificación molecular de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal aisladas de suelos rizosféricos de chile habanero. ....	33
Tabla 11. Variables morfométricas del efecto de la rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal sobre el crecimiento de plántulas de chile habanero a los 30 días después de la inoculación. ....	35
Tabla 12. Efecto de la inoculación de la cepa <i>Bacillus</i> sp. MHPO2 y un fertilizante orgánico en el crecimiento de <i>Capsicum chinense</i> en invernadero. ....	39
Tabla 13. Efecto de la inoculación de la cepa <i>Bacillus</i> sp. MHPO2 y un fertilizante orgánico en el rendimiento de <i>Capsicum chinense</i> en invernadero. ....	39

## 1 INTRODUCCIÓN

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es uno de los pimientos más reconocidos a nivel internacional por su alta pungencia (Oney-Montalvo *et al.*, 2020). En México la superficie sembrada es de 1283 ha, con una producción 21,973 t y con un rendimiento promedio por hectárea de 18 t (SIAP, 2021). Este cultivo ocupa un papel importante en la Península de Yucatán, debido a su alta versatilidad de usos, ya que su fruto se consume fresco y procesado en salsas y encurtidos en la cocina mexicana y asiática (Borges-Gómez *et al.*, 2008). Asimismo, es usado en la industria farmacéutica como analgésicos terapéuticos y antimicrobianos por su alto contenido de capsaisina. Además, se utiliza para la creación de aerosoles para protección personal (gas lacrimógeno) (García-Vázquez, 2019). Por tal razón, es considerado como la principal especie hortícola en la Península de Yucatán, siendo la base de una fuente considerable de ingresos (Medina-Lara *et al.*, 2008). En la Península Yucatán se produce 6,013 toneladas al año, lo que contribuye al 40% de la producción nacional (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2021). Actualmente, para satisfacer la demanda regional e internacional la superficie establecida de este cultivo aumenta significativamente cada año en el país. Sin embargo, el aumento en la producción de este cultivo conlleva el aumento y uso indiscriminado de fertilizantes químicos causando efectos adversos al suelo y agua, además de elevar los costos de producción (González-Mancilla *et al.*, 2017). Por tal motivo, es importante buscar nuevas alternativas de producción dentro de una agricultura sustentable.

Una alternativa es el uso de biofertilizantes a base de microorganismos, los cuales son más amigables con el medio ambiente (Kennedy *et al.*, 2004). Los biofertilizantes e inoculantes a base de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) constituyen una alternativa prometedora debido a que estos organismos son capaces de fijar Nitrógeno, solubilizar fosfatos y potasio, producir auxinas como ácido indolacético (AIA) que favorecen el crecimiento de las plantas (Aguirre-Medina *et al.*, 2016). Existen algunos reportes sobre rizobacterias que pueden promover el crecimiento del chile habanero, entre los géneros reportados se encuentran *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus* (Martin *et al.*, 2004; Castillo-Aguilar *et al.*, 2017; Constantino *et*

al., 2008; Chiquito-Contreras *et al.*, 2017; Reyes-Ramírez *et al.*, 2014; Sosa-Pech *et al.*, 2019; Valdovinos-Nava *et al.*, 2020). Sin embargo, los microorganismos nativos están adaptados a una región determinada por lo que son ideales en los procesos de selección de cepas, ya que podrían ser más competitivos que las bacterias introducidas (Elmaati *et al.*, 2020). Actualmente, no existen reportes de rizobacterias nativas de Chile habanero a pesar de que este cultivo es de gran importancia en Península de Yucatán. Por lo tanto, es de gran interés seleccionar cepas nativas de la región para asegurar sus efectos en campo. Las rizobacterias pueden sustituir parcialmente a los fertilizantes químicos, sin embargo, se ha documentado que las rizobacterias pueden aumentar más los rendimientos en Chile habanero en combinación con fertilizantes inorgánicos (Chiquito-Contreras *et al.*, 2017; Valdovinos-Nava *et al.*, 2020). Por todo lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la inoculación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) y la aplicación de un fertilizante inorgánico sobre el crecimiento y rendimiento de *Capsicum chinense* en invernadero

## 2 REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Chile habanero

#### 2.1.1 Importancia del chile habanero

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.), es de gran importancia en la Península Yucatán y es ampliamente conocido en el sureste mexicano, donde forma parte de la gastronomía regional. Es una de las hortalizas más rentables, y es una fuente importante de nutrientes como vitamina A, vitamina B, ácido fólico, manganeso, molibdeno, potasio y tiamina (Datta *et al.*, 2011). Es reconocido como uno de los chiles más picosos debido a su alto contenido de capsaicina, de entre 200,000 y 500,000 unidades “Scoville” (Borges-Gómez *et al.*, 2008), lo que ha contribuido en el incremento de la demanda de esta especie en el mercado nacional e internacional. Esta demanda es principalmente en la industria farmacéutica por su contenido de capsaisina, que se utiliza para el tratamiento de enfermedades como la artritis reumatoide, para la osteoartritis y otros trastornos neuropáticos periféricos, así como analgésicos terapéuticos y como antimicrobiano. La capsaisina además es utilizada para la fabricación de cosméticos, pinturas, gases lacrimógenos y salsas (Borges-Gómez *et al.*, 2010). Por tal razón, el chile habanero es de gran importancia en la Península de Yucatán debido a su superficie cultivada y valor de la producción (Gutiérrez-Luna *et al.*, 2010).

#### 2.1.2 Producción de chile habanero

Los chiles y pimientos son las plantas hortícolas más consumidas en el mundo y de mayor importancia económica dentro de la horticultura, siendo China el principal productor mundial, con más de 18.1847 millones de toneladas por año, con un rendimiento de 23.40 t ha<sup>-1</sup>. México ocupa el segundo lugar mundial, con más de 3.379 millones de toneladas, y un rendimiento medio de 20.54 t ha<sup>-1</sup> (FAOSTAT 2020). Los chiles son de los productos agrícolas con mayor crecimiento en superficies establecidas en nuestro país, con un promedio de aumento de 4.82% en el periodo 2003-2016. La producción de estos cultivos mostró una participación creciente y estable en la oferta nacional de productos agropecuarios (SIAP-SAGARPA, 2019).

Por lo que respecta al chile habanero, la producción nacional es de 21,973 t, con un rendimiento por hectárea de 18 t y con un valor comercial de 166.9 millones de pesos. En México, entre los principales estados productores de chile habanero se encuentra Tabasco, Campeche, Quintana Roo, Sonora, Veracruz, Chiapas y Baja California Sur. La producción de chile habanero en la península de Yucatán es de 6,013.26 t. El estado de Tabasco ocupa el primer lugar en producción con 2456 t. El estado de Campeche ocupa el segundo lugar de producción con 2003 toneladas, y en tercer lugar, el estado de Yucatan con una producción de 1554 toneladas (SIAP, 2021). El 80% de esta producción se comercializa como fruto fresco y el 20% está dirigida a las industrias salseras, pastas y deshidratados (Rodríguez *et al.*, 2013).

### **2.1.3 Descripción botánica de *Capsicum chinense* Jacq**

Es una planta de ciclo anual, que puede alcanzar hasta 12 meses de vida dependiendo del manejo agronómico. Su altura puede variar entre 75 y 120 centímetros en condiciones de invernadero. Tiene raíz pivotante y un sistema radical bien desarrollado cuyo tamaño depende de la edad de la planta; su tallo es grueso, erecto y generalmente tiene tendencia a formar tres tallos en la primera ramificación para después continuar bifurcándose. Las hojas son simples, lisas y alternas, y de forma lanceolada, de tamaño variable, lo mismo que su color, el cual puede presentar diferentes tonos de verde, dependiendo de la variedad. Las flores son de color blanco; se pueden presentar solitarias o en racimos de hasta seis flores. Su tamaño varía entre 1.5 y 2.5 centímetros de diámetro de la corola. El número de sépalos y pétalos es variable, de cinco a siete, aún dentro de la misma especie, lo mismo que la longitud del pedúnculo floral (López-Puc, 2020). El fruto es una baya poco carnosas y hueca; tiene entre tres y cuatro lóbulos, las semillas se alojan en las placentas y son lisas y pequeñas, con testa de color café claro a oscuro, y su periodo de germinación varía entre ocho y quince días y presenta en promedio seis frutos por axila; éstos son de un tamaño entre 2 y 6 cm, el color es verde cuando son tiernos, y anaranjados, amarillos, cafés o rojos cuando maduros; son además muy picantes y aromáticos dependiendo del cultivar (López-Puc *et al.*, 2020).

#### 2.1.4 Clasificación taxonómica de *Capsicum chinense* Jacq

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Capsicum chinense* Jacq (USDA, 2011).

<b>Reino</b>	<b>Plantae</b>
<b>Subreino</b>	Trachebionta
<b>Superdivisión</b>	Spermatophyta
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Asteridae
<b>Subclase</b>	Dicotyledoneae
<b>Orden</b>	Solanales
<b>Familia</b>	Solaneceae
<b>Género</b>	<i>Capsicum</i>
<b>Especie</b>	<i>Capsicum chinense</i> Jacq.

#### 2.1.5 Cultivo del chile habanero

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq) se cultiva de manera tradicional en la Península de Yucatán; los rendimientos de fruto en campo abierto varían de 15 a 43 toneladas por hectárea según su manejo agronómico o variedad utilizada (Navarrete-Mapen, 2020). Su rendimiento medio en la región es de 1 a 4 kg por metro cuadrado, aunque en algunos casos se obtienen hasta 12. Este cultivo inicia en semillero y después de un tiempo de crecimiento vegetativo de 30 días como máximo con una altura de 30 cm, es trasplantado. La distancia entre hileras más utilizada por los productores es de 1.8 metros y de planta a planta de entre 0.3 y 0.6 metros. Posteriormente, al mes del trasplante, se realiza el tutorado cuando la planta está al principio de la etapa de floración mediante alambre o hilo de rafia (Rodríguez *et al.*, 2013).

Las condiciones ideales para el cultivo de chile habanero son definidas principalmente por dos factores: el primero es la temperatura media de 33 °C y el segundo es una humedad relativa promedio de 80 %. (Rodríguez *et al.*, 2013). El chile es un cultivo susceptible al estrés hídrico debido a su gran área foliar y su elevada apertura estomatal. En caso de estrés hídrico los estomas son los primeros que se ven afectados, y el cierre estomatal puede afectar la fotosíntesis. El estrés hídrico reduce significativamente la

materia seca de hoja y tallo, además afecta negativamente la producción del fruto e incrementa su número con una mala calidad (Delfine *et al.*, 2001). Por lo tanto, el abastecimiento de sistemas de riego para satisfacer las necesidades de agua del cultivo es un factor importante para que las plantas tengan un desarrollo adecuado (Incrocci *et al.*, 2017). La demanda hídrica, las características hidráulicas del suelo y la demanda evaporativa del ambiente son de gran importancia para establecer un sistema de riego (Locascio, 2005). Según Noh-Medina *et al.* (2010), la cantidad de volumen hídrico requerido varía de acuerdo al estado fenológico de la planta. Por ejemplo, estos autores señalan que en la fase de desarrollo el chile habanero requiere una cantidad de 315 metros cúbicos por hectárea de agua divididos en los primeros 50 días del cultivo por hectarea. En la segunda fase denominado etapa de floración y fructificación, la planta requiere de una cantidad volumétrica de 240 metros cúbicos por hectarea comprendida entre los siguientes 25 días. La tercera fase de maduración del fruto, la planta requiere 360 metros cúbicos por hectarea, y la última fase, denominada cosecha, requiere de 256 metros cúbicos de agua por hectarea. Otros autores determinaron la huella hídrica en el cultivo de chile habanero y concluyeron que 148 litros de agua en temporada de lluvia son suficientes para producir un kilo del fruto de chile habanero (Gutiérrez-Gómez *et al.*, 2018).

Por otra parte, el cultivo, también requiere de un óptimo manejo fitosanitario desde su inicio, para lo que se aplican productos químicos comerciales con intervalos aproximados de cada ocho días durante todo el ciclo, ya que la plaga con más incidencia para el cultivo de chile habanero es la mosquita blanca, que se controla con productos comerciales como endo-sulfan y thiodan con endosulfan. Para las enfermedades del suelo causadas por hongos fitopatógenos, se aplica una mezcla de pervicur+derosal+rooting (Macías-Rodríguez *et al.*, 2013).

### **2.1.6 Requerimientos nutricionales en chile habanero**

La nutrición de los cultivos mediante el uso de fertilizantes debe realizarse oportunamente, en las cantidades adecuadas (dosis) y en el momento adecuado (frecuencia), en función de la necesidad fisiológica (fenología) de la planta (Tapia-Vargas *et al.*, 2010; Noh-Medina *et al.*, 2010). A pesar de la importancia económica del cultivo de

chile habanero en México, son insuficientes los trabajos de investigación sobre el manejo de la fertilización y los niveles óptimos de nutrientes requeridos para su correcto desarrollo y óptimos rendimientos (Castañon-Najera *et al.*, 2010). Además, es indispensable conocer las fuentes de nutrientes más adecuadas para las condiciones específicas de cada tipo de suelo en el que se establecerá el cultivo y los aportes del suelo o el sustrato utilizado, para obtener la mayor eficiencia de los mismos (Nieves-González *et al.*, 2015). La interacción entre los macro y micronutrientes provoca alteraciones sub-celulares que se manifiestan en cambios en las tasas de división y expansión celular, en el uso y transporte de carbohidratos y ácidos orgánicos, en la fotosíntesis, la respiración, etc, los cuales finalmente influyen en el rendimiento y calidad del chile habanero (Arellano-Gil & Gutiérrez-Coronado, 2003).

En chile habanero se ha documentado que se requiere de tres etapas para su dinámica de nutrición: la primera comprende las primeras tres semanas después de que la plántula es trasplantada; la segunda a partir de la cuarta semana después del trasplante y hasta el inicio de su producción, y la tercera etapa corresponde a toda la parte de cosecha y postcosecha (Macías-Rodríguez *et al.*, 2013). Actualmente, las dosis de fertilización aplicadas, muchas veces se basan únicamente en amplias experiencias locales, lo cual es útil para obtener buenos rendimientos, sin embargo, no son efectivas ni económicas, y frecuentemente ocasionan contaminación de acuíferos por el exceso de fertilizantes aplicados (Arellano-Gil & Gutiérrez-Coronado, 2006).

Entre los fertilizantes usados para que el chile habanero manifieste su máximo potencial de rendimiento y calidad, se encuentran aquellos con contenidos de macro y micronutrientes como calcio, magnesio, nitrógeno, fósforo y potasio (Noh-Medina *et al.*, 2010). Los principales elementos que requiere este cultivo son nitrato de potasio, ácido fosfórico y mezclas de urea con fosfonitrato en la proporción de 1:1.5 (Gutiérrez-Castorena *et al.*, 2015). Por su parte Noh-Medina *et al.* (2010) reportaron que con una densidad de población de 25000 plantas por hectárea, la fertilización adecuada debe ser de 130-120-160 de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y K<sub>2</sub>O, respectivamente, a través de un sistema de ferti-riego. Además, las dosis de fertilización cambian según el estado fenológico del cultivo (Tabla 2).

**Tabla 2. Dosis de fertilización en cada etapa de desarrollo del cultivo de chile habanero (Noh-Medina *et al.*, 2010).**

No	Etapa del cultivo	ddt	Dosis aplicada (Kg ha <sup>-1</sup> )			Volumen de riego (m <sup>3</sup> ha <sup>-1</sup> )
			N	P <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> O	
I	Desarrollo	50	35	35	35	315
II	Floración y fructificación	75	55	50	65	240
III	Maduración de fruto	100	20	15	25	360
IV	Cosecha	120	20	20	35	256

ddt \*días después del trasplante

Por otra parte, Reyes-Ramírez *et al.* (2014) recomendaron la fórmula de fertilización 125 N - 100 P - 150 K, fraccionada según el desarrollo del cultivo: 1) etapa de crecimiento vegetativo, 63% N, 33% P y 33% K; 2) etapa de floración y amarre de frutos 25% N, 50% P y 22% K; 3) etapa de fructificación, 12% N, 17% P y 45% K. Asimismo, recomiendan dos aplicaciones de calcio foliar (Poliquel calcio®, 2 mL L<sup>-1</sup> de agua) en la etapa de floración y la segunda en la etapa de fructificación. A su vez López-López *et al.* (2018) reportaron que se pueden obtener hasta 80 t ha<sup>-1</sup> con la fórmula de fertilización 200 N - 150 P - 180 K; suministrando el 30% de N, 70% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 40 % de K<sub>2</sub>O, como fertilización de fondo. Por su parte, la fertilización óptima utilizada por Noh-Medina *et al.*, (2010) es de 130 N 120 P y 160 K. El conocimiento de la fertilización solo se podrá obtener mediante la realización de ensayos de nutrición vegetal controlados, por lo tanto, las dosis de fertilización pueden variar dependiendo del tipo de suelo.

## 2.2 Microorganismos del suelo

El suelo es un ser vivo, ya que alberga un universo de poblaciones de organismos, los cuales son responsables de mejorar la aireación e intervienen en los ciclos de nutrientes como la nitrificación (Navarro & Navarro, 2003). Entre los organismos que alberga el suelo se encuentran nemátodos, protozoos, rotíferos, algas, hongos, actinomicetos y bacterias. Los microorganismos del suelo realizan un papel importante en la descomposición de minerales e intervienen en los ciclos de nutrientes, y funcionan como reguladores para la transformación de la materia orgánica, así como promotores del crecimiento vegetal debido a que activan varias repuestas en las células vegetales a nivel bioquímico,

fisiológico y morfológico (Tsavkelova *et al.*, 2006). También tienen un efecto en la capacidad de intercambio catiónico, en la reserva de N, S, P y en la formación de micro y macromoléculas, mejorando las propiedades relacionadas con la fertilidad de los suelos (Beltrán-Pineda *et al.*, 2017). Por ejemplo, el incremento de los niveles de materia orgánica se traduce en una mayor fertilidad del suelo, debido a los altos contenidos de materiales nutritivos, lo que permite una mayor diversidad de microorganismos manteniendo el funcionamiento sustentable de los ecosistemas (Mader *et al.*, 2002; Oehl *et al.*, 2002).

La diversidad de microorganismos del suelo está conformada principalmente por bacterias, arqueas, hongos protozoos, algas y artrópodos (Palacios-Vargas, 2014). Las interacciones que se establecen entre ellos y otros constituyentes del suelo producen cambios significativos en los ciclos biogeoquímicos del suelo y en la disponibilidad de nutrimentos para las plantas. Por tal razón, los microorganismos son de gran importancia para mantener la sostenibilidad del suelo (Ferrera-Cerrato & Alárcon, 2001).

### **2.2.1 Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal**

La rizósfera es la zona estrecha del suelo que es influenciada por el sistema radical de la planta y que es de 3 a 5 cm de espesor (Cordero-Ramírez *et al.*, 2012). Por lo que la rizósfera es una zona de interacción única y dinámica entre raíces de plantas y microorganismos del suelo. Esta región especializada está caracterizada por el aumento de la actividad y biomasa microbiana (Beneduzi *et al.*, 2012). Está colonizada por una amplia gama de taxones microbianos, incluidos las procariotas (arqueas, bacterias y virus) y eucariotas (hongos, oomicetos, nemátodos, protozoos, algas y artrópodos) que presentan funciones ecológicas fundamentales. La rizósfera concentra una cantidad de bacterias, por lo general de 10 a 100 veces más que en las partículas del suelo (Weller & Thomashow, 1994). Esto es porque esta zona es rica en nutrientes debido a la acumulación de una variedad de exudados vegetales, como aminoácidos y azúcares, proporcionando una fuente rica de energía y nutrientes para las bacterias (Beneduzi *et al.*, 2012). Entre los taxones microbianos, a las bacterias de vida libre que prosperan en la rizósfera, y colonizan las raíces de las plantas y facilitan el crecimiento de las mismas se les denomina Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) y pueden ser

aerobias, anaerobias o anaerobias facultativas (Basu *et al.*, 2021). Estas bacterias se caracterizan por producir o secretar reguladores de crecimiento y tienen el objetivo de contribuir a una mejor adquisición de nutrientes disponibles para las plantas. Además, de que también son antagónicas contra microorganismos fitopatógenos (Khoshru *et al.*, 2020; Pellegrini *et al.*, 2021).

Las RPCV son altamente competitivas en la rizósfera, ya que colonizan las raíces de las plantas en cantidades altamente significativas después de la inoculación (Basu *et al.*, 2021). Los mecanismos de acción por los cuales las RPCV pueden promover el crecimiento están clasificados como directos e indirectos. Entre los mecanismos directos, se encuentran dos procesos esenciales: el primero consiste en la producción de sustancias orgánicas, producto del metabolismo secundario de las bacterias, que son capaces de promover respuestas fisiológicas específicas en las células vegetales. El segundo mecanismo se puede encontrar en la intervención directa de los microorganismos en los ciclos biogeoquímicos, en los cuales pueden hacer disponibles compuestos orgánicos e inorgánicos que son aprovechados por las plantas, como la solubilización de fosfatos, potasio y la fijación de nitrógeno (Ahn *et al.*, 2007; Basu *et al.*, 2021). Por lo general, las sustancias promotoras del crecimiento vegetal son de carácter orgánico que activan varias repuestas en la célula vegetal, a nivel bioquímico, fisiológico y morfológico. De acuerdo a varias clasificaciones se encuentran distribuidas en cinco grupos principales: auxinas, giberelinas, etileno, ácido abscísico y citoquinas (Tsavkelova *et al.*, 2006). Entre los principales géneros de RPCV se encuentra *Serratia*. Esta es una bacteria ubicua Gram negativa que se ha aislado en la rizósfera de plantas de todo el mundo, ya sea en vida libre o como organismo endófito y tiene el potencial de estimular el crecimiento vegetal mediante la exudación de sideróforos, la producción de ácido indol acético, la solubilización de fosfatos, la creación de películas protectoras de la rizósfera y la biosíntesis de quitinasas y proteasas (De Vleeschauwer & Hofte, 2003; Molina-Romero *et al.*, 2015). Otro ejemplo es *Azospirillum*; este género tiene diversas propiedades ya que posee la capacidad para sintetizar ácido indolacético (AIA) a través de la vía del ácido indol-3-pirúvico (Glick, 1998). Según Camelo *et al.* (2011), las bacterias del género *Azospirillum* pueden producir de 16.5 a 38  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de ácido indolacético. Asimismo, se ha documentado que los géneros *Azotobacter* y *Azospirillum* también son

las mayores productoras de auxinas, las cuales pueden incrementar la longitud de tallo en plántulas (Suman *et al.* 2011). Existen otros géneros reportados como RPCV entre ellos se encuentran *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Allorhizobium*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azorhizobium*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Delftia*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Frankia*, *Gluconacetobacter*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Streptomyces* y *Thiobacillus* (Ahemad & Kibret, 2014).

Entre los mecanismos indirectos que utilizan las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) se encuentra la inducción de la resistencia sistémica a fitopatógenos, el control biológico de enfermedades por la producción de antibióticos o enzimas líticas o cianuro de hidrógeno que impactan sobre los mismos fitopatógenos debido a la función de hidrólisis de las moléculas como el ácido fusárico que libera 1-3-glucanasa, con lo cual se inhibe el desarrollo de la pared fúngica de los hongos (Tsavkelova *et al.*, 2006; Moreno-Reséndez, *et al.*, 2018). Asimismo, la producción de sideróforos como mecanismo quelante para secuestrar hierro disponible en el suelo limitando el desarrollo y la presencia de dichos patógenos (Basu *et al.*, 2021; Tsavkelova *et al.*, 2006). Se ha reportado que las rizobacterias son antagónicas de hongos como *Phytium ultimum* y *Rhizoctonia solani* por competencia de nutrimentos o de espacio del nicho ecológico (Moreno-Reséndez, *et al.*, 2018).

### **2.2.2 Bacterias solubilizadoras de fosfatos**

El fósforo (P) existe en el suelo como P orgánico e inorgánico no disponible. Los microorganismos del suelo pueden movilizar el P orgánico por mineralización y ayudar a la translocación de fosfato. Por lo tanto, los microorganismos pueden facilitar la movilización de P no disponible para uso de la planta mediante diversos procesos directos e indirectos. El proceso directo implica la solubilización de fosfatos al reducir el pH del medio externo por la producción de aniones orgánicos como el ácido cítrico, ácido gluónico, succínico y oxálico. Los grupos hidroxilos y carboxilos de estos ácidos orgánicos se quelan con cationes unidos al fosfato, transformándolos en formas solubles. Otro mecanismo directo implica la hidrólisis del P orgánico producido por las fosfatasas

o fitasas (Rashid *et al.*, 2016). Los mecanismos indirectos para la solubilización de fosfatos implican la liberación de CO<sub>2</sub> durante la respiración microbiana, la cual finaliza en la formación de ácido carbónico. Otro mecanismo indirecto implica la liberación de protones durante la asimilación de NH<sub>4</sub>, que se acompaña de una disminución del pH del suelo, provocando la acidificación de las células microbianas y los entornos inmediatos, lo que libera el fosfato disponible (Alori *et al.*, 2017). Existe una diversidad de especies bacterianas que poseen capacidad de solubilizar las formas de fósforo (P) inorgánico insoluble, como son fosfato tricálcico, fosfato dicálcico, hidroxiapatitas y roca fosfórica (Rashid *et al.*, 2016). Su capacidad de solubilizar fosfatos les da la capacidad para promover el crecimiento vegetal. Entre las principales bacterias solubilizadoras de fosfatos se encuentran los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium* y *Erwinia*. La especie *Rahnella aquatilis* ha sido asociado a la solubilización de fosfatos en diversas investigaciones (Becerra *et al.*, 2011), así como los géneros de *Klebsiella* y *Enterobacter* (Anzuay *et al.*, 2017).

### **2.2.3 Bacterias fijadoras de nitrógeno**

El nitrógeno es esencial para el crecimiento y la nutrición de las plantas. Este macroelemento intervine en la síntesis de clorofila y en el proceso fotosintético de las plantas. El nitrógeno puede ser un factor esencial que limita la biomasa y actividades biológicas en los ecosistemas (Ayangbenro & Babalola 2021). Las bacterias fijadoras de nitrógeno toman el nitrógeno directamente del aire, originando compuestos asimilables a las plantas. Solo algunos microorganismos procariontes son capaces de utilizar el nitrógeno atmosférico, en un proceso denominado fijación biológica de nitrógeno, en el cual N<sub>2</sub> se convierte en NH<sub>3</sub> (amoníaco), mediante el uso de energía (ATP). Dentro de las bacterias fijadoras de nitrógeno existen dos tipos: unas de vida libre que se encuentran en el suelo rizósferico y otras bacterias que son simbióticas fijadoras de nitrógeno. Dentro de los organismos fijadores de vida libre podemos encontrar bacterias anaerobias estrictas, como *Clostridium*, y facultativas, como *Klebsiella*, pero también aerobias como *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Beijerinckia* y *Azospirillum*. Estas últimas también son llamadas BPCV, ya que tienen la capacidad de incrementar la productividad y crecimiento de las

plantas de interés agrícola, gracias a que son capaces de fijar nitrógeno atmosférico (Camelo *et al.*, 2011; Glick *et al.*, 2007). Se encuentran también en este grupo, arqueobacterias como *Methanosarcina* y *Methanococcus*, bacterias fotosintéticas como *Rhodospirillum* y *Chromatium* y cianobacterias sin heterocistos como *Oscillatoria* y *Gloeotheca* y con heterocistos como *Nostoc* y *Anabaena* (Glick *et al.*, 2007).

Las bacterias como *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Acetobacter* sp., también son llamadas BPCV, ya que tienen la capacidad de incrementar la productividad y crecimiento de las plantas, gracias a la cualidad de fijar nitrógeno atmosférico (Camelo *et al.*, 2011; Glick *et al.*, 2007). Las especies *Stenotrophomonas maltophilia* y *Serratia marcescens* también han sido reconocidas por fijar nitrógeno en las plantas (Gonzales-Mancilla *et al.*, 2016).

#### **2.2.4 Bacterias productoras de ácido indoloacético**

Las auxinas son reguladores esenciales del crecimiento y desarrollo vegetal. El ácido indol acético (AIA) es la auxina más estudiada debido a su clara acción en la formación de dominios apicales, diferenciación vascular y en el desarrollo de órganos (Tsavkelova *et al.*, 2006). El 80 % de las bacterias de la rizósfera son capaces de producir AIA (Vega-Seledon *et al.*, 2016). La síntesis de AIA en rizobacterias, está ligada principalmente a tres rutas metabólicas ampliamente conocidas por tener como precursor al triptófano. El triptófano es el principal precursor en las vías de biosíntesis de AIA en bacterias (Vega-Seledon *et al.*, 2016). La primera ruta es la del ácido indol-3-pirúvico (IPyA), presente en plantas y en varios microorganismos (Baca & Elmerich, 2007). La segunda ruta corresponde a la formación de la triptamina a partir del triptófano, y se presenta como una vía alternativa para la producción de AIA. La tercera es mediante la síntesis de AIA vía indol-3-acetamida (IAM) estudiada en bacterias simbióticas como *Rhizobium* (Tsavkelova *et al.*, 2006). Baca & Elmerich (2007) sugieren una cuarta ruta metabólica dependiente de triptófano, esta ruta es la del indol-3-acetonitrilo (IAN), que ha sido caracterizada en plantas y bacterias, en la cual participan activamente enzimas como las nitrilasas encargadas de generar el AIA a partir del indol-3-acetonitrilo.

Varios géneros bacterianos han sido reportados como productores de AIA, entre los cuales se pueden citar *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pantoea* y *Pseudomonas*

(Ahmad *et al.*, 2006; Fuentes-Ramírez & Caballero-Mellado, 2005; Lugtenberg *et al.*, 2002). También bacterias de los géneros *Beijerinckia*, *Derxia*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter* (Obando *et al.*, 2010).

### **2.3 Microorganismos con potencial biofertilizante en chile habanero**

Un biofertilizante se define como una sustancia que contiene uno o varios microorganismos que cuando se aplican a semillas, superficies de plantas o suelo, colonizan la rizósfera o el interior de la planta y promueven el crecimiento aumentando el suministro o la disponibilidad de los nutrientes primarios para la planta huésped (Vessey, 2003). Los biofertilizantes o inoculantes aplicados al suelo pueden participar en el ciclo de nutrientes y ayudar en la producción de cultivos en una agricultura sustentable. Los biofertilizantes microbianos poseen ventajas sobre sus homólogos químicos y entre ellas destacan que son fuentes ecológicas de nutrientes renovables para mantener la salud biológica del suelo (Sundara *et al.*, 2002). Además, demuestran actividad antagónica contra varios patógenos agrícolas (Timmusk *et al.*, 2015) y combaten el estrés abiótico (Ilangumaran & Smith, 2017). Existen varios taxones con potencial biofertilizante, sin embargo, en chile habanero, hasta el momento no existen ningún biofertilizante. Actualmente, se han reportado algunos trabajos de identificación de microorganismos con potencial biofertilizante en *Capsicum chinense* (Tabla 3).

El potencial biofertilizante de los microorganismos en chile habanero (Tabla 3) reportado para las bacterias *Azospirillum brasilensis*, *Pseudomonas* spp. *Pseudomonas putida*, incluye incrementar según el caso, la germinación, altura, diámetro del tallo, crecimiento vegetativo, área foliar, biomasa seca aérea y de raíz, número de raíces secundarias y terciarias, rendimiento de los frutos, a nivel plántula y en algunos casos de planta. Además que el hongo *Purpureocillium lilacinum* y la fertilización pueden incrementar el diámetro de las plantas, el rendimiento, así como la clorofila [Canto *et al.*, (2004). Reyes-Ramírez *et al.* (2014) Castillo-Aguilar *et al.*, (2017), Chiquito-Contreras *et al.* (2017) y Moreno-Salazar *et al.* (2020)]. Estos antecedentes nos indican que los microorganismos pueden presentar un gran potencial para ser utilizados como biofertilizantes en el cultivo de chile habanero en el futuro. Por lo tanto, es importante buscar cepas con gran potencial de biofertilización para la Península de Yucatán.

**Tabla 3. Microorganismos con potencial biofertilizante en cultivo de chile habanero.**

Microorganismo	Género/especie	Efecto biofertilizante	Referencia
Bacteria	<i>Azospirillum brasilensis</i>	incrementó en un 8% la germinación de las semillas e incrementó el número de raíces secundarias (7.58%) y terciarias (8.97%), además del peso aéreo (0.342 g) y radical (0.066 g) con respecto al testigo	Martin <i>et al.</i> , 2004
Bacteria	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Incrementó la altura (110.20 cm), diámetro de tallo (13.21 mm), biomasa seca (235.2 g planta <sup>-1</sup> ), mayor rendimiento (899.8 g planta <sup>-1</sup> ) y peso del fruto (8.1 g) con respecto al testigo	Reyes-Ramírez <i>et al.</i> , 2014
Bacteria	<i>Pseudomonas sp.</i>	Aumentó la altura de la plántula (29.8 cm), diámetro de tallo (2.55 mm) área foliar (90.12 cm <sup>2</sup> ) el peso seco de hojas tallos (0.43 g) y raíz (0.05g) con respecto al testigo	Castillo-Aguilar <i>et al.</i> , 2017
Bacteria	<i>Pseudomonas putida</i> FCA-60	Incrementó el rendimiento (152.22 g planta <sup>-1</sup> )	Chiquito-Contreras <i>et al.</i> , 2017
Bacteria	<i>Bacillus sp.</i> CBCC57	Produjo AIA (7.05 µg mL <sup>-1</sup> ) y aumentó la altura de las plantas (3.56 cm), el área foliar (5.72 cm <sup>2</sup> ), biomasa seca (56.14 mg).	Sosa-Pech <i>et al.</i> , 2019
Bacteria y hongos micorrízicos	Bonasol® (mezcla de <i>Azotobacter sp.</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , y <i>Rhizophagus intraradice</i> )	Incrementó la altura (107.9 cm), peso de la raíz (74.6 g planta <sup>-1</sup> ) y rendimiento (32.6 t ha <sup>-1</sup> )	Valdovinos-Nava <i>et al.</i> , 2020
Hongo	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Aumentó el diámetro del tallo (11.04 mm), altura de la planta (70 cm), contenido de clorofila (583.5), peso seco de tallo (159.50 g) y rendimiento (31.6 t ha <sup>-1</sup> )	Moreno-Salazar <i>et al.</i> , 2020

### 3 JUSTIFICACIÓN

El chile habanero es uno de los principales cultivos de la península de Yucatán. Actualmente, se ha incrementado la superficie de siembra de este cultivo lo que ha conllevado a un incremento del uso de insumos agrícolas, principalmente fertilizantes químicos, los cuales tienen un alto impacto económico y su uso indiscriminado tiene efectos negativos en el ambiente. Por esta razón, es importante buscar nuevas alternativas de manejo sustentable en el cultivo de chile habanero.

Una estrategia es el uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV), las cuales pueden ser utilizadas como biofertilizantes en este cultivo. Las rizobacterias pueden sustituir parcialmente a los fertilizantes químicos, además, se ha documentado que las rizobacterias pueden aumentar los rendimientos en chile habanero en combinación con fertilizantes inorgánicos. Por todo lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de la inoculación de rizobacterias nativas y la aplicación de un fertilizante inorgánico sobre el crecimiento y rendimiento de *Capsicum chinense* en invernadero.

## **4 OBJETIVOS E HIPOTESIS**

### **4.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de la inoculación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) y la aplicación de un fertilizante inorgánico sobre el crecimiento y rendimiento de *Capsicum chinense* en invernadero.

### **4.2 Objetivos particulares**

1. Aislar, caracterizar y seleccionar las mejores cepas de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal a partir de dos sitios de producción de chile habanero.
2. Evaluar el efecto de las mejores RPCV seleccionadas sobre el crecimiento y desarrollo de plántulas de *Capsicum chinense* Jacq., en invernadero.
3. Determinar el efecto de la RPCV y un fertilizante inorgánico en el crecimiento y rendimiento del cultivo de chile habanero en invernadero.

### **4.3 Hipótesis general**

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal del estado de Campeche, presentan potencial biofertilizante y su inoculación a las plantas, más aplicación de un fertilizante inorgánico, aumenta la productividad del cultivo de chile habanero a nivel invernadero.

## 5 MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Aislamiento y caracterización de cepas nativas de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV)

#### 5.1.1 Colecta de suelo rizosférico

El suelo rizosférico de chile habanero se colectó en abril del 2019 en dos sitios de producción en el estado de Campeche, uno en la localidad de Xcampeu, Campeche (latitud 19° 47' 45.84" N longitud 90° 23'44.91" O) (sitio A) y otro en la localidad de Crucero de Oxá, Hopelchén (latitud 19° 40' 58.38" N longitud 90° 5' 10.77" O) (sitio B). Para la colecta de suelo se seleccionaron al azar en forma de zig-zag diez plantas con características vigorosas. El suelo rizosférico de cada planta se colectó de forma manual con una pala a una profundidad de entre 20-30 cm, colectando entre 900 a 1000 g de suelo por cada planta, constituyendo una sub-muestra. El suelo rizosférico de cada sub-muestra se colocó en una bolsa de polietileno y se transportó en una nevera de hielo seco hasta el laboratorio. El suelo se secó por 48 h a temperatura ambiente a la sombra y posteriormente, las sub-muestras se mezclaron y homogenizaron para conformar una muestra compuesta, que se tamizó con una malla #14 y se pulverizaron las partículas de suelo. Por último, las muestras de cada sitio se resguardaron en refrigeración hasta su análisis microbiológico.

#### 5.1.2 Aislamiento y caracterización de microorganismos

El aislamiento se realizó por la técnica de dilución seriada con base en 10 como describe Velázquez-Gurrola *et al.* (2015). Para ello se diluyeron 10 g de suelo rizosférico en 90 ml de agua estéril. A partir de esta solución se prepararon diluciones decimales ( $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ ) y se realizaron los ensayos por triplicado inoculando 100  $\mu$ L de cada dilución en cajas Petri con medio Pikovskaya (0.5g de  $\text{NH}_4\text{2SO}_4$ , 0.2g de KCl, 0.1g de  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.004g de  $\text{MnSO}_4\text{H}_2\text{O}$ , 0.2g de NaCl, 10 g de Glucosa, 0.002 g de  $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.5 g extracto de levadura y 1L agua), para aislar bacterias solubilizadoras de fósforo y el medio Burk's (20g de sacarosa, 3g de extracto de levadura, 0.16g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.05g de  $\text{CaSO}_4$ , 0.2g de NaCl, 0.2g de  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y; 0.2 g de  $\text{NaMoO}_4$ ), para aislar bacterias fijadoras

de nitrógeno (BFN). Los cultivos se incubaron a  $28 \pm 2$  °C aproximadamente por 72 h. Las placas se observaron diariamente y posteriormente se realizó el aislamiento y purificación por sub-cultivos por el método de estría por agotamiento hasta obtener cultivos axénicos para determinar la morfología bacteriana y actividad gram. Las cepas aisladas se caracterizaron macroscópicamente mediante taxonomía polifásica y microscópicamente por la tinción de Gram (Vincent & Humphrey, 1970).

### 5.1.3 Selección in vitro de las RPCV

#### 5.1.3.1 Pruebas de solubilización de fosfatos

La capacidad de solubilización de fosfatos ( $\text{HPO}_4^{2-}$  o  $\text{H}_2\text{PO}_4$ ) de los aislados se determinó en el medio agar Pikoskaya como describe Reyes-Ramírez *et al.* (2014) con la adición de púrpura de bromocresol. Se consideró positivo a la solubilización de fosfato cuando el indicador púrpura de bromocresol viró a amarillo, evidenciando la formación del halo de solubilización. La siembra en el medio se realizó con 20  $\mu\text{L}$  de cada una de las bacterias colocando cuatro cepas por caja Petri. En total se realizaron tres réplicas por cada cepa. Una caja con el medio sin inoculación con la bacteria se utilizó como control negativo. El índice de solubilización de fosfatos se calculó con la siguiente fórmula a las 48 h (Corrales *et al.*, 2014):

Índice solubilización de fosfatos= (Diámetro de la colonia+zona halo) / diámetro de la colonia

#### 5.1.3.2 Pruebas de solubilización de potasio

Para esta actividad cada una de las cepas de bacterias fue crecida en el medio Pikovskaya (0.5g de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.2g de KCl, 0.1g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.004g de  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0.2g de NaCl, 10g de Glucosa, 0.002g de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  y 0.5g extracto de levadura) con algunas modificaciones como describe Velázquez-Gurrola *et al.* (2015). La siembra se realizó en el medio con 20  $\mu\text{L}$  de cada una de las bacterias colocando cuatro cepas por caja Petri. En total se realizaron tres réplicas por cada cepa. El halo sin coloración alrededor de la colonia indicó positivo a la solubilización de potasio. Una caja con el medio sin inoculación se utilizó como control negativo. La medición se realizó a las 48 h, y el

cálculo del índice de solubilización de potasio se realizó mediante la siguiente fórmula (Corrales *et al.*, 2014):

Índice de solubilización de potasio= (Diámetro de la colonia +zona halo) / diámetro de la colonia

#### 5.1.3.3 Pruebas de ácidos orgánicos

Esta actividad se determinó mediante la siembra con 20 µl de cada una de las bacterias en el medio Pikovskaya modificado con azul de bromotimol como indicador de pH y se incubó a 25°C durante 24 h. Este procedimiento se realizó por triplicado. El medio estéril sin inocular se utilizó como control negativo. Se consideró como positivo a la producción de ácidos orgánicos al cambio de coloración del medio a amarillo (ácido) alrededor de la colonia. Los aislados que no presentaron el cambio de coloración indicaron la ausencia de producción de ácidos orgánicos (Ogale *et al.*, 2018).

Índice de producción de ácidos orgánicos= (Diámetro de la colonia +zona halo) / diámetro de la colonia

#### 5.1.4 Caracterización molecular de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV)

La identificación molecular se realizó con base en la secuenciación parcial del gen 16 S rRNA. Las bacterias se crecieron en los medios donde se aislaron por aproximadamente 24 a 72 h dependiendo de la velocidad de crecimiento de cada aislado. El DNA se extrajo con el método de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) al 2% de acuerdo a lo propuesto por Doyle & Doyle, (1990). La concentración de DNA se determinó por espectrofotometría mediante las lecturas de absorbancia (A260/280 y A260/230) utilizando un Nanodrop 2000C (Thermo Scientific, USA) y su integridad se determinó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% suplementado con GelRed (Biotium, USA). Las bandas se visualizaron en un transiluminador UV 1000/26MXXpress (Vilber Lourmat, Germany) con el software Biodoc analyze. La amplificación y secuenciación del gen 16S se llevó a cabo con los iniciadores universales 8 F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 1492 R (5'-GTTACCTTGTTACGACTT-3') (Eden *et*

*al.*, 1991); y fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y rD1 (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3') (Weisburg *et al.*, 1991). Las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador C1000 (BIO-RAD, USA). La mezcla de reacción se preparó en un volumen final de 15 µL conteniendo 0.18 µL de 5U Taq DNA polimerasa (Promega, Lyon, Francia), 3 µL de 5X Green GoTaq® reacción Buffer (Promega, USA), 0.6 µL de 2.5 mM dNTPs, 0.18 µL de 10 mM por cada oligonucleótido, 7.86 µL de H<sub>2</sub>O HPLC y 3.0 µL de 20 ng DNA. El programa de amplificación consistió en un ciclo de 95 °C por 2 min, seguido de 35 ciclos a 95 °C por 2 min, 59°C por 1 min, 72 °C por 1.5 min y finalmente una extensión por 5 min a 72 °C.

Los productos de PCR de aproximadamente 1500 pb, se limpiaron con EXO-SAP-IT (Affymetrix, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los fragmentos se secuenciaron con los iniciadores 518F (5'-CCAGCAGCCGCGGTAATACG-3') y 800R (5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3') en la compañía Macrogen mediante secuenciación capilar. Para obtener las secuencias consenso para cada cepa, las secuencias de ambas hebras se ensamblaron y editaron usando el programa BioEdit versión v7.2.5 (Hall, 1999). Estas secuencias se analizaron con el algoritmo Blastn de BLAST/NCBI software (Altschul *et al.*, 1997) y en Ribosomal Database Project release 11 (<http://rdp.cme.msu.edu/>). Las secuencias obtenidas se compilaron en formato FASTA junto con las secuencias pertenecientes a la cepa de referencia. El alineamiento de las secuencias se realizó mediante el programa MAFFT v.7 de alineación múltiple de secuencias (<http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) (Kato *et al.*, 2002). Para la identificación molecular, se recortaron los extremos para analizar fragmentos con la misma longitud. La reconstrucción filogenética de todas las secuencias se realizó con el método de inferencia Bayesiana usando el programa Mr. Bayes v3.2 (Ronquist *et al.*, 2012) utilizando el modelo de sustitución nucleotídica: GTR + I + G con 3,000,000 de generaciones que fueron muestreadas cada 1,000 generaciones. El 25% de los árboles resultantes se descartó como fase de “quemado”.

### **5.1.5 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos en la solubilización de fosfatos y potasio y producción de ácidos orgánicos producidos por las cepas bacterianas, fueron analizados con el software

Infostat, con un nivel de significancia de 0.05. A las medias se les realizó una prueba de comparación múltiple de medias Tukey ( $p= 0.05$ ) para determinar si existe significancia entre las cepas.

## **5.2 Efecto de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal seleccionadas sobre el crecimiento y desarrollo de plántulas de chile habanero**

### **5.2.1 Preparación del inóculo bacteriano**

Los resultados en las pruebas *in vitro* permitieron la selección de las RPCV MHPO8, MHPO2 y MHBX10. Estas cepas se reactivaron en el medio agar nutritivo (AN) y se incubaron a 28 °C por 72 h. Posteriormente, a partir de estos cultivos se tomaron seis asadas de cada una de las cepas, se inocularon cada una en caldo nutritivo (200 ml) y se incubaron en un agitador orbital a 28° C, durante 144 hr a 180 rpm. Posteriormente, el inóculo bacteriano de cada una de las cepas se centrifugó a 4000 rpm por 15 min. Por último, el sobrenadante se eliminó y el sedimento celular se suspendió en solución salina (0.85%) para ser utilizado como inoculante (Vargas-Díaz *et al.*, 2021). Posteriormente, la concentración del inoculante de cada una de las cepas se ajustó a  $1.6 \times 10^7$  UFC ml<sup>-1</sup>. Previamente, para determinar la UFC ml<sup>-1</sup> en el inoculante inicial de cada cepa, se tomó un ml de la suspensión y se depositó en tubo de ensayo con 9 ml de solución salina y siguió la técnica de dilución seriada con base en 10 y de cada dilución se tomaron 100 µL y se sembraron por triplicado en cajas Petri con agar nutritivo como describe Velázquez-Gurrola *et al.* (2015). Transcurrido el tiempo de incubación de 48 h se contó el número de colonias crecidas en las placas y se eligió aquella dilución en la que el número de colonias por placa estuviera entre 30-300. Se aplicó la fórmula  $UFC = (\# \text{ colonias en placa}) \times (\text{factor de la dilución}) / (\text{cantidad por ml de muestra sembrada})$  (Sánchez *et al.*, 2017).

### **5.2.2 Selección de las RPCV en plántulas en invernadero**

El experimento se estableció en un invernadero de producción de plántulas de hortalizas en Hopelchén, Campeche (latitud 19° 44' 55" N longitud 89° 50'16" O) con un productor cooperante cooperante y se utilizaron plántulas de chile habanero establecidas en

charolas de plástico, del híbrido denominado Chichén itzá . Las plántulas de chile habanero se inocularon con las cepas bacterianas MHPO8, MHPO2 y MHBX10 en el cuello de la plántula (2 ml) después de emerger con un cm de longitud. Asimismo, se realizaron co-inoculaciones con las cepas bacterianas en una relación 1:1 o 1:1:1. Posteriormente a la inoculación, las plántulas se dejaron por dos días en el invernadero para facilitar la colonización bacteriana. Las charolas con las plántulas fueron regadas diariamente durante una hora en la mañana y una hora en la tarde por medio de un sistema de riego por goteo con un gasto de 900 ml h<sup>-1</sup> de agua.

Para la evaluación se consideraron los factores fertilización mineral y cepas, con dos y ocho niveles, respectivamente. Los niveles del factor fertilización fueron: sin fertilización y con fertilización mineral, y los niveles del factor cepas estuvieron constituidos por la combinación de las mismas, incluyendo un testigo sin inoculación. Los tratamientos evaluados se muestran en la Tabla 4, con diez repeticiones por tratamiento.

En los tratamientos con fertilización se aplicó el producto comercial Bayfolan® (11.47 N, 8 P, 6 K) diluido en agua a una dosis de 0.35 gr l<sup>-1</sup> asperjado en las hojas de las plántulas, aplicando 125 ml por planta, así como la aplicación del fertilizante triple 18 (18 N, 18 P, 18 K) diluido en agua (0.45 gr L<sup>-1</sup>) a una dosis de 0.225 gr de fertilizante por plántula (0.5 l por plántula). En total se realizaron 10 fertilizaciones de este tipo durante el trabajo en invernadero, según lo recomendado por Noh-Medina et al., (2010).

**Tabla 4. Tratamientos evaluados a nivel plántula en chile habanero**

<b>Tratamientos no fertilizados (NF)</b>	<b>Tratamientos Fertilizados (F)</b>
T1= RPCV MHBX10	T9= RPCV MHBX10
T2= RPCV MHPO2	T10= RPCV MHPO2
T3= RPCV MHPO8	T11= RPCV MHPO8
T4= RPCV MHBX10 + MHPO2	T12= RPCV MHBX10 + MHPO2
T5= RPCV MHBX10 + MHPO8	T13= RPCV MHBX10 + MHPO8
T6= RPCV MHPO8 + MHPO2	T14= RPCV MHPO8 + MHPO2
T7= RPCV MHBX10 + MHPO8 + MHPO2	T15=RPCVMHBX10+ MHPO8 + MHPO2
T8= Testigo	T16= Testigo

### **5.2.3 Variables agronómicas**

La información experimental fue medida en la plantulas a los 30 días después del trasplante (DT). Las variables determinadas fueron, altura de la planta (AP), número de hojas (NH), longitud de la raíz (LR), volumen radical (VR), peso radical seco (PRS) y peso aéreo seco (PAS). La altura de la planta y el diámetro del tallo se midieron utilizando un flexómetro y calibradores Vernier digitales, respectivamente. La medición del volumen de raíces se realizó con una probeta de vidrio de 50 ml. Los pesos frescos del sistema aéreo y radical se determinaron en una balanza analítica, y el peso seco del sistema aéreo y radical se obtuvo con una balanza analítica después de su secado en una estufa de aire forzado a 70 °C.

### **5.2.4 Diseño experimental y análisis estadístico**

Para el análisis de las variables agronómicas evaluadas se utilizó un arreglo factorial alojado en un diseño experimental completamente al azar, con los tratamientos que aparecen en la Tabla 4. El análisis estadístico se realizó con el programa Infostat, utilizando un nivel de significancia de 0.05. En las variables en las que se encontraron efectos significativos de los factores y/o tratamientos se realizó la prueba de comparación múltiple de medias propuesta por Tukey, también con un nivel de significancia de 0.05.

## **5.3 Determinación del efecto la rizobacteria promotora de crecimiento vegetal *Bacillus* sp. MHPO2 sobre el crecimiento y producción en chile habanero en invernadero**

### **5.3.1 Ubicación y características del sitio experimental**

El experimento se realizó en el invernadero del Colegio de Postgraduado en el Campus Campeche en las coordenadas geográficas latitud 19° 50'13.89" N y longitud 90° 58' 61.11" O a 20 msnm. El clima del área de estudio, es cálido subhúmedo con lluvias en verano, con una precipitación total anual de 1100 a 1500 mm y una temperatura promedio anual de 26 a 28 °C.

### 5.3.2 Material biológico

Plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* jacq) del híbrido denominado Red HP de 35 días de crecimiento se utilizaron para evaluar el efecto de la RPCV seleccionada previamente. La RPCV *Bacillus* sp. MHPO2 se reactivó del cepario del laboratorio de bioprocesos en el medio agar nutritivo, y se dejó en incubación por 48h. El inoculante bacteriano se obtuvo como se describe arriba en el punto 5.2.1, y se ajustó a una concentración de  $1.6 \times 10^7$  UFC ml<sup>-1</sup>. Previo, al trasplante cada plántula fue inoculada en la base del tallo de la planta con 2 mL de la suspensión bacteriana de la cepa MHPO2 y se dejaron en incubación por 48 horas.

### 5.3.3 Establecimiento en invernadero

El sustrato utilizado fue suelo rojo (Chac Lu'um, en maya) previamente desinfectado con el producto comercial CB-Oxywater 902BIO (5ml L<sup>-1</sup>) (Ikai *et al.*, 2010). Posteriormente, a la inoculación las plántulas de 35 días fueron trasplantadas en bolsas de polietileno negras (35x45x20 cm) con 10 kg de sustrato húmedo a capacidad de campo.

### 5.3.4 Riego

Las plantas fueron irrigadas por 1 a 1.30 h cada tercer día dependiendo del estado fenológico tal como se indica en la Tabla 5.

**Tabla 5. Necesidad de riego por etapa fenológica del cultivo de chile habanero por hectárea (Noh-Medina *et al.*, 2010).**

No	Etapa del cultivo	ddt	Volumen de riego m <sup>3</sup> ha <sup>-1</sup> .
I	Desarrollo	50	315
II	Floración y frutificación	75	240
III	Maduración de fruto	100	360
IV	Cosecha	120	256

\* ddt= días después del trasplante

### 5.3.5 Tratamientos evaluados

Los tratamientos evaluados correspondieron a: T1: 100% de fertilización mineral, T2: fertilización mineral al 50%, T3: fertilización mineral al 50% + inoculación de la RPCV MHPO<sub>2</sub>, T4: inoculación de la RPCV MHPO<sub>2</sub> sin fertilización mineral y T5: Testigo sin fertilización mineral.

### 5.3.6 Fertilización

La convencional fertilización consistió en una fertilización base con la aplicación del fertilizante comercial DAP (18-46-00) a una dosis de 10 g planta<sup>-1</sup> en tratamientos con 100% de fertilización mineral y 5 g planta<sup>-1</sup> en los tratamientos con 50% de fertilizante, cuatro días antes del trasplante. Posteriormente, se realizó la aplicación de la fertilización de macronutrientes basado en la fórmula 147N-77P-262K con algunas modificaciones a la reportada Ramírez-Vargas et al. (2019). El nitrógeno, fósforo y potasio fue suplementado con Urea (46-00-00), Ultrasol®MKP (0-52-34), Ultrasol NKS-46 (12-0-46), respectivamente. La aplicación fue por dilución en agua en la base del tallo de cada planta cada tres días durante las diferentes etapas fenológicas. En la Tabla 6, se presenta la manera en la que se fraccionó la aplicación del fertilizante mineral durante cada etapa fenológica con una fertilización al 100% y al 50%. Para el cálculo de la cantidad de fertilizantes por planta se consideró una densidad de siembra de 25000 plantas por hectárea, que corresponde a la utilizada por los productores de Chile en Campeche.

**Tabla 6. Cantidad de fertilizante aplicado por etapa fenológica del cultivo de Chile habanero por hectárea.**

Etapa fenológicas del cultivo	ddt	No de aplicaciones	Fertilización 100%			Fertilización 50%		
			N	P	K	N	P	K
I Desarrollo	50	14	74.7	20.0	20.0	37.4	10.0	10.0
II Floración y fructificación	75	5	26.7	7.1	35.0	13.4	3.5	17.5
III Maduración de fruto	100	20	33.2	29.9	147.0	16.6	15.0	73.5
IV Cosecha	120	14	12.2	20.0	60.0	6.1	10.0	30.0
	<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>147</b>	<b>77</b>	<b>262</b>	<b>73.5</b>	<b>38.59</b>	<b>131</b>

ddt \*días después del trasplante

### 5.3.7 Control de plagas y enfermedades

El control de plagas y enfermedades se realizó con productos químicos comerciales y labores culturales. Para determinar la necesidad de control, se llevó a cabo un monitoreo de las plagas y enfermedades diariamente en cada planta. Las principales plagas para este cultivo fueron hongos, ácaros, araña roja, cochinilla, pulgón y minador. A continuación se presenta la siguiente tabla con los productos comerciales y dosificaciones.

**Tabla 7. Aplicación de productos químicos para el control de plagas y enfermedades.**

Producto comercial	Dosis	Aplicación	Plaga/enfermedad
Previcur + Derosal	0.25 mL L <sup>-1</sup>	una sola aplicación	Damping off
Confidor	0.25 mL L <sup>-1</sup>	una aplicación semanal	Mosquita blanca
Manzate 200	0.25 mL L <sup>-1</sup>	una sola aplicación	Control fúngico
Mitac	0.25 mL L <sup>-1</sup>	una sola aplicación	Ácaro blanco/araña

### 5.3.8 Variables agronómicas evaluadas

Las variables de crecimiento como altura (AP) y diámetro del tallo (DT) de la planta se determinaron a los 113 días después del trasplante (DDT). El peso radical seco (PRS) y peso aéreo seco (PAS) se determinó a los 180 días después del trasplante. La tasa fotosintética se determinó en las hojas tiernas de las plantas en la etapa de floración con un analizador de fotosíntesis IRGA, LI-COR6400 XT (mmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) (LI-COR, 2019) a los 122 días después del trasplante. En cuanto a las variables de producción se registraron el número de frutos por planta (NFP), peso de frutos por planta (PFP), diámetro polar de los frutos (DPF), diámetro ecuatorial de los frutos (DEF) y rendimiento por ha (RH).

El rendimiento de frutos (FY) se calculó utilizando la fórmula reportado por Moreno-Salazar *et al.* (2020), considerando una densidad de siembra de 16666 plantas por hectárea:

$FY = FP \times FW \times BH$ , donde:

FY: rendimiento de frutos ( $t \text{ ha}^{-1}$ )

FP: número de frutos cosechados por planta

FW: peso de frutos cosechados por planta

BH: bolsas  $\text{ha}^{-1}$

### **5.3.9 Diseño experimental y análisis estadístico**

Se utilizó un un diseño experimental completamente al azar con los cinco tratamientos señalados en el apartado 5.3.5 y 12 repeticiones. Se utilizó un diseño completamente al azar y el análisis estadístico se realizó con el software Infostat, con un nivel de significancia de 0.05. En las variables en las que se encontraron efectos significativos se realizó la prueba de comparación múltiple de medias propuesta por Tukey, también con un nivel de significancia de 0.05.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Aislamiento y selección *in vitro* de la rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV)

#### 6.1.1 Aislamiento y caracterización morfológica de las bacterias

En total a partir de las dos muestras de suelo obtenidas de los dos sitios de muestreo se obtuvieron 17 cepas bacterianas, 10 en Crucero Oxá, municipio de Hopelchén y siete en Xcampeu, municipio de Campeche. Entre sus características morfológicas coloniales mostraron ser variadas, las formas coloniales más abundantes fueron las circulares (11 cepas, 59%), con una mayoría de cepas con colonias de elevación convexa (9 cepas, 53%) y superficie rugosa (9 cepas, 53%), con colores variados desde blanquesinas, beige, grisáceas hasta amarillentas (Tabla 8). Se observaron texturas variables, entre la más abundante se encontró a la cremosa (11 cepas, 65%), con tamaños variables desde medianas (9 cepas, 53%), grandes y pequeñas. La mayoría de las cepas demostró ser Gram positivas (11 cepas, 65%) y positivo a catalasa (12 cepas, 71%) resultando ser aerobias (tabla 8).

**Tabla 8. Caracterización morfología de las bacterias aisladas en dos sitios de cultivo de chile habanero en Campeche.**

Sitio de colecta	Cepa	Forma	Elevación	Superficie	Color	Textura	Tamaño	Tinción Gram	Prueba Catalasa
Xcampeu, Campeche	MHBX1	circular	convexa	lisa	grisácea	cremosa	grande	+	+
	MHBX2	fusiforme	elevada	lisa	grisácea	cremosa	grande	-	+
	MHBX3	Irregular	convexa	lisa	traslucido	seca	grande	+	+
	MHBX6	circular	ondulada	plana	gris claro	Cremosa	Pequeño	-	++
	MHBX7	irregular	plana	lisa	gris claro	Acuosa	Grande	+	+
	MHBX9	fusiforme	convexa	rugosa	gris obscuro	Cremosa	Mediano	-	-
	MHBX10	irregular	convexa	lisa	gris obscuro	Cremosa	Mediano	-	-
Crucero Oxa, Hopelchén	MHPO1	circular	convexa	lisa	blancas	Cremosa	convexa	-	+
	MHPO2	circular	convexa	lisa	blancas	Cremosa	Mediano	-	+
	MHPO3	circular	convexa	rugosa	beige	seca y dura	Mediano	+	+
	MHPO4	circular	convexa	rugosa	beige	seca y dura	Mediano	+	+
	MHPO5	circular	convexa	rugosa	beige	crema	Grande	+	+
	MHPO6	circular	elevada	rugosa	beige	crema	Grande	+	++
	MHPO7	circular	elevada	rugosa	amarilla	seca/pastosa	Mediano	+	-
	MHPO8	circular	elevada	rugosa	Beige	muy seca	Pequeño	+	++
	MHPO9	amiboidea	elevada	rugosa	amarilla	Cremosa	Mediano	+	-
	MHPO10	amiboidea	elevada	rugosa	blanco	Cremosa	Mediano	+	-

### 6.1.2 Selección *in vitro* de las RPCV

Del total de cepas aisladas, todas demostraron fijar nitrógeno *in vitro* con los medios selectivos (17 cepas, 100%), y un gran número de ellas mostró capacidad para solubilizar fosfatos (13 cepas, 76%). Asimismo, un menor número de cepas mostraron capacidad de solubilizar potasio (11 cepas, 54%) y producir ácidos orgánicos (11 cepas, 54%) (Tabla 9).

El análisis de varianza del índice de solubilización de fosfatos (ISP) indicó diferencias estadísticas significativas entre las cepas. La cepa MHPO2 mostró el mayor ISP, observando diferencia significativa con respecto a todas las demás cepas, con excepción de MHPO3. De igual forma, la cepa MHPO2 presentó el mayor índice de producción de ácidos orgánicos (IPAO) observando diferencia significativa con respecto a las otras cepas. En cuanto al índice de solubilización de potasio (ISK) no se observaron diferencias estadísticas significativas entre las cepas (Tabla 9).

Con base en estos resultados se seleccionó a la cepa MHPO2 para ser evaluada en los experimentos posteriores. Además, de la cepa MHPO2, las cepas MHPO8 y MHBX10 mostraron buenos índices de solubilización de potasio y producción de ácidos orgánicos, por lo que se decidió utilizar las tres cepas para hacer co-inoculaciones y potenciar sus efectos en las plántulas de chile habanero.

**Tabla 9. Características promotoras de crecimiento vegetal de las cepas aisladas**

Lugar de colecta	Clave cepa	FN	P	ISP	K	ISK	AO	IPAO
Xcampéu, Campeche	MHBX1	+	-					
	MHBX2	+	+	0.07±0.00 b				
	MHBX3	+	+	0.05±0.01 b				
	MHBX6	+	+	0.10 ±0.01 b				
	MHBX7	+	+	0.06±0.03 b				
	MHBX9	+	+	0.04±0.02 b				
	MHBX10	+	+	0.06±0.01 b	+	0.19±0.04 a	+	0.19±0.02 b
Crucero de Oxa, Hopelchén	MHPO1	+	+	0.05±0.06 b	+	0.05±0.07 a		0.11±0.16 b
	MHPO2	+	+	0.43±0.03 a	+	0.10±0.13 a		0.57±0.05 a
	MHPO3	+	+	0.21±0.05 ab	+	0.17±0.01 a		0.06±0.08 b
	MHPO4	+	+	0.18±0.05 b	+	0.19±0.04 a		0.10±0.14 b
	MHPO5	+	+	0.19±0.01 b	+	0.19±0.6 a		0.17±0.01b
	MHPO6	+	-		-			
	MHPO7	+	-		-			
	MHPO8	+	+	0.13±0.18 b	+	0.19±0.01 a		0.18±0.00b
	MHPO9	+			-			
	MHPO10	+	+	0.12±0.02 b	+	0.14±0.01 a		0.17±0.00b
	F			6.56		2.79		10.85
	p			0.0010		0.0695		0.0001

FN: Fijación de nitrógeno, P: Fosfatos, ISP: Índice de solubilización de fosfatos, K: Potasio, ISK: Índice de solubilización de potasio, AO: Ácido orgánico, IPAO: Índice de producción de ácidos orgánicos, F: valor de F calculado en el análisis de varianza; p: Nivel observado de significancia en el análisis de varianza. Medias con las mismas letras entre columnas no son significativamente diferentes (Tukey  $\alpha = 0.05$ ).

### 6.1.3 Caracterización molecular de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal

La identificación mediante la secuenciación del gen 16S rRNA de las tres cepas con mayor actividad *in vitro*, permitió identificar la presencia de 2 géneros diferentes pertenecientes a *Bacillus* y *Staphylococcus*. La cepa MHPO2 resultó ser una especie de *Bacillus* aún no descrita a nivel especie. Las otras dos cepas resultaron ser especies ya descritas. El resultado del análisis de secuenciación y los aislados bacterianos filogenéticos más cercanos se presentan en la Tabla 10.

**Tabla 10. Identificación molecular de las cepas de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal aisladas de suelos rizosféricos de chile habanero.**

Clave del aislado	Microorganismos identificados	Ribosomal/ Database Project/NCBI	Total de bases comparadas	Cobertura	Máxima identidad
MHPO2	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.284 16S MW429750	1466	100	100
MHPO8	<i>Staphylococcus caprae</i> .	<i>Staphylococcus caprae</i> 191OICU165 MT225637	1440	100	100
MHBX10	<i>Bacillus stratosphericus</i>	<i>Bacillus stratosphericus</i> B89 LN890265	1674	99	100

## 6.2 Efecto de las RPCV seleccionadas sobre el crecimiento *in vivo* en plántulas de chile habanero

Al inocular cada una de las tres rizobacterias seleccionadas de forma individual o en sus combinación con fertilización o sin esta, se observó que, la co-inoculación de las RPCV *Bacillus* sp. (MHPO2) más *Staphylococcus caprae* (MHPO8) sin fertilización (T6, Tabla 4), y la inoculación individual con fertilización de las cepas *Bacillus* sp. MHPO2 (T10, Tabla 4) y *Staphylococcus caprae* (MHPO8) (T11, Tabla 4), mostraron la mayor altura de la planta, observándose diferencia significativa (Tukey,  $\alpha \leq 0.05$ ) con respecto a los demás tratamientos (Tabla 11).

La mayor longitud de la raíz se obtuvo con la inoculación de la cepa *Bacillus* sp. (MHPO2) con fertilización (T10); aunque todos los tratamientos inoculados con o sin fertilización mostraron mayor efecto significativo (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) que el control con fertilización (T16) (Tabla 8).

La inoculación de la cepa *Bacillus stratosphericus* (MHBX10) sin fertilización (T1) mostró el mayor volumen de la raíz, sin embargo, no se observó diferencia estadística con respecto a los tratamientos inoculados con *Bacillus* sp. (MHPO2) sin fertilización (T2), con la co-inoculación de *Staphylococcus caprae* (MHPO8) más *Bacillus stratosphericus* (MHBX10) y *Bacillus* sp. (MHPO2) sin fertilización (T7), ni con la inoculación con

*Staphylococcus caprae* (MHPO8) con fertilización (T11). El resto de los tratamientos no mostraron diferencia significativa entre sí (Tabla 11).

El mayor peso radical seco se observó en las plátulas con el tratamiento co-inoculado con las cepas *Bacillus stratosphericus* (MHBX10) más *Staphylococcus caprae* (MHPO8) y *Bacillus* sp. (MHPO2) con fertilización (T15), observando diferencia significativa con respecto a los tratamientos *Bacillus stratosphericus* (MHBX10) sin fertilización (T1) y *Bacillus stratosphericus* (MHBX10) más *Bacillus* sp. (MHPO2) sin fertilización (T4). El resto de los tratamientos no presentaron diferencias significativas con respecto al tratamiento T15 (Tabla 11).

Las plantas inoculadas con *Staphylococcus caprae* (MHPO8) con fertilización (T11), *Bacillus* sp. (MHPO2) con fertilización (T10), y la co-inoculación de *Bacillus stratosphericus* (MHBX10) más *Staphylococcus caprae* (MHP8) y *Bacillus* sp. (MHPO2) con fertilización (T15) mostraron el mayor peso aéreo seco, sin embargo, no presentaron diferencias estadísticas con respecto a los valores que se obtuvieron en las plántulas co-inoculadas *Bacillus stratosphericus* (MHBX10) más *Staphylococcus caprae* (MHPO8) con fertilización (T13) y *Bacillus stratosphericus* (MHBX10) con fertilización (T9). En el resto de los tratamientos se observaron valores significativamente menores (Tukey,  $\alpha=0.05$ ) con respecto a T11, T10 y T15 (Tabla 11).

Los resultados obtenidos nos indican que la inoculación únicamente con la cepa *Bacillus* sp. MHPO2 puede favorecer el crecimiento de las plantas de chile habanero a nivel plántula. Además, esta cepa mostró ser fácil de cultivar y en menor tiempo, por lo que se decidió evaluar individualmente esta cepa en el trabajo posterior, para determinar su efecto en el crecimiento y rendimiento en plantas establecidas en macetas bajo condiciones de invernadero.

**Tabla 11. Variables morfométricas del efecto de las cepas de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal sobre el crecimiento de plántulas de chile habanero a los 30 días después de la inoculación.**

	Tratamientos	Altura de la planta (cm)	Longitud de la raíz (cm)	Volumen radical (cm <sup>3</sup> )	Peso radical seco (g planta <sup>-1</sup> )	Peso aéreo seco (g planta <sup>-1</sup> )
NF	T1 (MHBX10)	4.36±0.38g	16.33±1.04abc	1.0±0.0a	0.054±0.01b	0.064±0.01gh
	T2 (MHPO2)	4.9±0.17defg	16.66±1.76abc	0.67±0.29ab	0.061±0.01ab	0.079±0.01fgh
	T3 (MHPO8)	4.73±0.12fg	18.67±1.61ab	0.50±0.00b	0.066±0.00ab	0.118±0.01bcde
	T4 (MHBX10/MHPO2)	5.43±0.12cdef	16.16±0.38abc	0.50±0.00b	0.053±0.00b	0.104±0.01def
	T5 (MHBX10/MHPO8)	4.93±0.12defg	15.10±1.28bc	0.50±0.00b	0.059±0.01ab	0.109±0.01cdef
	T6 (MHPO8/MHPO2)	6.67±0.29a	17.07±1.01abc	0.50±0.00b	0.065±0.00ab	0.107±0.01def
	T7 (MHBX10/MHPO8/MHPO2)	5.30±0.46cdef	18.00±0.87ab	0.64±0.06ab	0.060±0.01ab	0.094±0.00efg
	T8 (TESTIGO)	4.50±0.00g	15.17±1.15bc	0.46±0.06b	0.061±0.01ab	0.057±0.01bc
F	T9 (MHBX10)	5.50±0.00cdef	17.00±0.50abc	0.44±0.12b	0.056±0.00ab	0.135±0.00abcd
	T10 (MHPO2)	6.50±0.50ab	19.67±2.75a	0.44±0.21b	0.057±0.01ab	0.146±0.02ab
	T11 (MHPO8)	6.50±0.30ab	17.40±0.85abc	0.83±0.21ab	0.058±0.00ab	0.151±0.01a
	T12 (MHBX10/MHPO2)	5.53±0.06cde	18.60±0.17ab	0.42±0.06b	0.059±0.00ab	0.117±0.01bcde
	T13 (MHBX10/MHPO8)	5.07±0.12cdefg	18.67±0.76ab	0.42±0.06b	0.072±0.00ab	0.129±0.02abcd
	T14 (MHPO8/MHPO2)	5.66±0.23cd	15.40±2.01bc	0.47±0.15b	0.067±0.00ab	0.094±0.01efg
	T15 (MHBX10/MHPO8/MHPO2)	5.73±0.40bc	16.97±0.68abc	0.50±0.00b	0.073±0.00a	0.147±0.00ab
	T16 (TESTIGO)	4.86±0.12efg	13.67±1.44c	0.53±0.25b	0.057±0.00ab	0.140±0.02h
	F	21.74	4.46	4.34	2.68	22.01
	p	0.0001	0.0002	0.0002	0.0093	0.0001

F: fertilizados, NF: No fertilizados. Medias con las mismas letras en columnas no son significativamente diferentes (Tukey,  $\alpha=0.05$ ); MHPO2: *Bacillus* sp. MHPO8: *Staphylococcus caprae* y MHBX10: *Bacillus stratosphericus*.

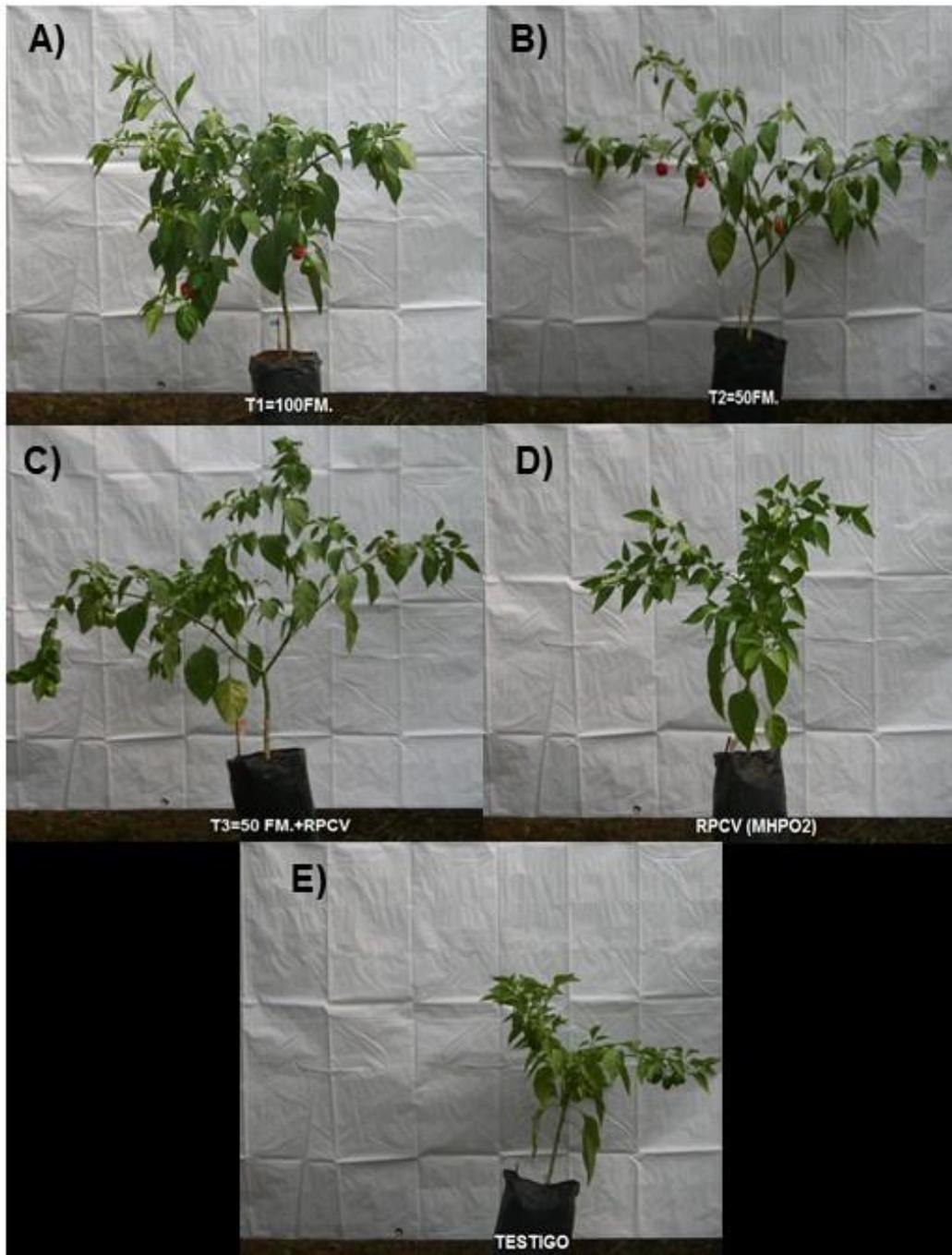
### **6.3 Efecto de *Bacillus* sp. MHPO2 y la fertilización convencional sobre el crecimiento y rendimiento en plantas de chile habanero en invernadero.**

#### **6.3.1 Efecto de la inoculación de *Bacillus* sp. MHPO2 y la fertilización convencional en el crecimiento de las plantas.**

Los resultados obtenidos en las variables de crecimiento de las plantas de chile habanero nos indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Las plantas tratadas con 100% de fertilización convencional (FC) (T1) mostraron la mayor altura, observando diferencia estadística significativa con respecto los demás tratamientos. Asimismo, las plantas tratadas con 50% de FC más la rizobacteria *Bacillus* sp. MHPO2 (T3) mostraron una altura significativamente mayor con respecto al testigo (sin inocular) (T5). Los demás tratamientos no presentaron diferencia estadística con respecto al testigo (T5) (Tabla 12).

En cuanto al diámetro del tallo, peso seco radical y aéreo y volumen de la raíz, las plantas tratadas con el 100% FC (T1), 50% de FC (T2) y 50% de FC mas *Bacillus* sp. MHPO2 (T3), presentaron los mayores valores en estas variables, no observando diferencias significativas entre estos tratamientos, pero si con respecto a los tratamientos solo con la cepa *Bacillus* sp. MHPO2 (T4) y el testigo (T5). En estos dos últimos tratamientos no se observaron diferencias significativas en las variables diámetro de tallo, peso radical y aéreo seco, pero si en la variable volumen de la raíz (Tabla 12).

Por otra parte, en las variables tasa fotosintética y longitud de la raíz todos los tratamientos presentaron valores estadísticamente similares (Tabla 12).



**Figura 1. Comparación del crecimiento de la planta entre los tratamientos evaluados**

Efecto cualitativo de los tratamientos evaluados en el crecimiento de plantas de chile habanero: A) planta tratada con 100% de la fertilización convencional; B) planta tratada con el 50% de la fertilización convencional; C) con el 50% de la fertilización convencional

más la rizobacteria *Bacillus* sp. MHPO2; D) planta sin fertilización inoculada con la rizobacteria MHPO2 y E) planta testigo sin inocular ni fertilizar.

### **6.3.2 Efecto de la inoculación de *Bacillus* sp. MHPO2 y la fertilización mineral en el rendimiento de las plantas de chile habanero**

Las plantas tratadas con 100% de la fertilización convencional (FC) (T1) y la reducción a un 50% la FC más la inoculación de la rizobacteria *Bacillus* sp. MHPO2 (T3) produjeron el mayor número de frutos por planta, con valores estadísticamente iguales, observándose un número de frutos significativamente menor en los demás tratamientos. Además, las plantas tratadas por separado con el 50% de la fertilización convencional (T2) o con la rizobacteria *Bacillus* sp. MHPO2 (T4) favorecieron el número de frutos al ser significativamente mayores a los encontrados en el tratamiento testigo (T5) (Tabla 13), en el que se observaron los valores estadísticamente más bajos.

Asimismo, el mayor peso de frutos por planta y por consiguiente el mayor rendimiento por ha se observó nuevamente en las plantas tratadas con 100% de la fertilización convencional (T1) y 50% de fertilización convencional más la inoculación de la rizobacteria *Bacillus* sp. MHPO2 (T3), no observando diferencia estadística entre ambos, pero sí con respecto a los demás tratamientos. Seguidamente se encontró al tratamiento T2, el cual mostró diferencias significativas con respecto a los tratamientos T4 y T5. El testigo (T5) mostró estadísticamente los menores valores en ambas variables (tabla 13).

Por otro lado, en las variables promedio de peso de fruto, diámetro polar del fruto y diámetro ecuatorial del fruto no se observó diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos (tabla 13).

**Tabla 12. Efecto de la fertilización y inoculación de la cepa *Bacillus* sp. MHPO2 sobre el crecimiento de *Capsicum chinense* en invernadero.**

Tratamientos	Altura de la planta (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Tasa fotosintética (mmol CO <sub>2</sub> m <sup>2</sup> S <sup>-1</sup> )	Peso radical seco (g planta <sup>-1</sup> )	Peso aéreo seco (g planta <sup>-1</sup> )	Longitud de la raíz (cm)	Volumen de la raíz (cm <sup>3</sup> )
<b>T1 (100% FC)</b>	33.92 ± 2.02a	13.24± 1.43a	12.67± 2.96a	34.63 ± 12.75a	91.89 ± 24.39a	72.58 ± 14.56a	45.17 ± 11.61a
<b>T2 (50% FC)</b>	29.75 ± 3.07bc	13.12± 1.16a	14.43± 1.36a	32.22 ± 8.13a	76.33 ± 14.39a	81.18 ± 9.49a	40.00± 5.48a
<b>T3 (50% FC+ MHPO2)</b>	31.00± 1.20b	13.45± 1.55a	13.15± 1.23a	32.94 ± 4.75a	91.83 ± 7.05a	80.33 ± 17.64a	46.67 ± 9.85a
<b>T4 (MHPO2)</b>	28.83 ± 2.42bc	9.80± 1.69b	13.36± 1.42a	18.95 ± 9.69b	41.15 ± 24.90b	80.08 ± 18.80a	27.50 ± 12.88b
<b>T5 (Testigo)</b>	27.92 ± 2.64c	9.42± 1.01b	11.28± 1.83a	12.19 ± 2.81b	23.30 ± 7.75b	70.58 ± 11.05a	14.33 ± 5.45c
<b>F</b>	10.18	25.42	2.26	17.05	37.98	1.32	24.14
<b>p</b>	0.0001	0.0001	0.0907	0.0001	0.0001	0.2728	0.0001

Medias con diferente letra en columna son estadísticamente diferentes (Tukey; p=0.05). FM: fertilización convencional. MHPO2: *Bacillus* sp. F: Valor de F en el análisis de varianza. p: Nivel observado de significancia en el análisis de varianza.

**Tabla 13. Efecto de la fertilización y la inoculación de la cepa *Bacillus* sp. MHPO2 sobre el rendimiento de *Capsicum chinense* en invernadero.**

Tratamientos	Número de fruto planta <sup>-1</sup>	Peso de frutos planta <sup>-1</sup> (g)	Rendimiento (t ha <sup>-1</sup> )	Peso de fruto (g <sup>-1</sup> )	Diámetro polar del fruto (mm)	Diámetro ecuatorial del fruto (mm)
<b>T1 (100% FC)</b>	80.80 ± 11.04a	672.64 ± 89.64a	29.97 ± 3.99a	8.69 ± 0.36a	39.66 ± 0.13a	30.16 ± 0.10a
<b>T2 (50% FC)</b>	56.60 ± 6.91b	528.55 ± 54.39b	23.55 ± 2.42b	8.94 ± 0.46a	39.69 ± 0.13a	30.20 ± 0.20a
<b>T3 (50% FC+ MHPO2)</b>	78.06 ± 10.77a	653.75 ± 87.48a	29.13 ± 3.90a	8.66± 0.47a	39.72 ± 0.00a	30.25 ± 0.00a
<b>T4 (MHPO2)</b>	22.26 ± 7.25c	173.04 ± 57.17c	7.71 ± 2.55c	8.79± 1.47a	39.63 ± 0.35a	30.19 ± 0.22a
<b>T5 (Testigo)</b>	12.20 ± 5.25d	107.22 ± 50.45c	4.78 ± 2.25c	8.87 ± 0.35a	39.73 ± 0.30a	30.34 ± 0.58a
<b>F</b>	203.78	221.37	221.37	0.76	0.52	0.92
<b>P</b>	0.0001	0.0001	0.0001	0.5594	0.7177	0.4599

Medias con diferente letra en columna son estadísticamente diferentes (Tukey, p=0.05). FM: fertilización convencional. MHPO2: *Bacillus* sp. F: Valor de F en el análisis de varianza. p: Nivel observado de significancia en el análisis de varianza.

## 7 DISCUSIÓN

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) se han utilizado en varios cultivos agrícolas debido a que favorecen su crecimiento y rendimiento, ya que participan en el uso eficiente de nutrientes del suelo mediante la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos y potasio insolubles y en la quelación de micronutrientes (Chiquito-Contreras et al., 2017; Chaudhary, et al., 2020; Di Salvo et al., 2018). Sin embargo, la inoculación del suelo con RPCV exógenas puede tener un impacto negativo en los microorganismos nativos, provocando la disminución de actividades benéficas en el suelo (Chaudhary et al., 2020). Por tal razón, en este trabajo se realizó el aislamiento de RPCV nativas de Campeche en *Capsicum chinense*, con la finalidad de no afectar la estructura microbiana del suelo en los sistemas de producción de este cultivo. Actualmente, en la Península de Yucatán (Campeche, Yucatán y Quintana Roo) no existen reportes del aislamiento de cepas de rizobacterias de la rizósfera de este cultivo, sin embargo, si se ha encontrado en otros países como Nigeria (Chinakwe et al., 2019).

La colecta de muestras del suelo rizosférico de dos sitios de producción de *Capsicum chinense* en Campeche México, permitió aislar un total de 17 cepas bacterianas, en su mayoría Gram positivos y catalasa positivos. Estos resultados coinciden con lo previamente reportado en suelos rizosféricos de *Capsicum chinense* en Nigeria con un gran predominancia de bacterias Gram Positivas (Chinakwe et al., 2019). En las pruebas *in vitro*, del total de cepas aisladas (17) en los dos sitios en Campeche, el 47% presentó todas las características promotoras de crecimiento vegetal evaluadas. La fijación de nitrógeno y solubilización de fosfatos fueron las actividades con el mayor número de cepas (100 y 76 %, respectivamente). De igual forma, Chinakwe et al. (2019) encontraron un mayor número de cepas (80 %), con estas dos actividades en la rizósfera de *C. chinense*

Entre las cepas evaluadas, MHPO2 presentó la mayor solubilización de fósforo y producción de ácidos orgánicos, sin embargo, las cepas MHPO8 y MHBX10 también mostraron importantes actividades *in vitro*. Por tal razón, fueron caracterizadas molecularmente mediante la secuenciación del gen 16S rRNA y éstas se identificaron como *Bacillus* sp. MHPO2, *Staphylococcus caprae* MHPO8 y *Bacillus stratosphericus*

MHBX10. Estos géneros también se han reportado previamente en la rizósfera de chile habanero (Chinakwe *et al.* 2019).

Los resultados obtenidos a nivel plántula (30 días después de la inoculación) mostraron que la inoculación individual *Bacillus* sp. MHPO2 y *Staphylococcus caprae* MHPO8 produjo valores más altos en las variables altura de planta y peso aéreo seco. Los valores obtenidos en el peso radical seco (0.05-0.07 g planta<sup>-1</sup>) con la inoculación de estas dos cepas fueron superiores en comparación con lo reportado a nivel plántula por la inoculación de *Azospirillum* sp. (0.031 g planta<sup>-1</sup>) en chile habanero (Martin *et al.*, 2004). Este resultado muestra el gran potencial promotor de crecimiento vegetal de *Bacillus* sp. MHPO2 y *Staphylococcus* sp. MHPO8. Sin embargo, debido a que el género *Staphylococcus*, posee especies causantes de infecciones en humanos (Hatlen & Miller, 2021), se decidió no utilizar esa cepa en las siguientes pruebas. Los resultados a nivel plántula también permitieron observar que la co-inoculación de las tres cepas no potenció el efecto en las variables evaluadas, lo que nos indica que no hubo efecto sinérgico entre las cepas. Al respecto, existen evidencias que indican que la inoculación de más de una cepa no siempre induce un efecto sinérgico en la planta huésped (Trabelsi y Mhamdi, 2013). Por su parte, Chiquito-Contreras *et al.* (2017) no encontraron diferencias significativas en las variables evaluadas al co-inocular tres cepas de *Pseudomonas putida* contra la inoculación individual en chile habanero. Asimismo, estos mismos autores no encontraron diferencias significativas cuando las plantas inoculadas fueron fertilizadas. Estos resultados coinciden con lo encontrado en el presente trabajo, ya que la fertilización no favoreció significativamente en las variables evaluadas en comparación con la inoculación individual de las cepas. Se ha reportado que el tratamiento de plantas con rizobacterias y fertilizantes puede afectar negativamente el efecto de las rizobacterias, por ejemplo, en el caso de poblaciones bacterianas fijadoras de nitrógeno, porque la acción de estas bacterias es específicamente cuando este elemento nutricional es escaso en la rizósfera de las plantas (Figueiredo *et al.*, 2010). Esto pudiera explicar los resultados obtenidos en nuestro estudio a nivel plántula ya que las tres cepas evaluadas mostraron actividad fijadora de nitrógeno en las pruebas *in vitro*. Además, se ha documentado que durante esta etapa fenológica (plántula) las raíces secundarias y terciarias muchas veces aún se encuentran en desarrollo, por lo que la baja cantidad de exudados radicales al

inicio puede conducir a una baja población de la bacteria inoculada, y por lo tanto, a una baja actividad promotora de crecimiento vegetal (Canto *et al.*, 2004).

Con respecto a los resultados obtenidos a nivel crecimiento y producción, la inoculación de la cepa *Bacillus* sp. MHPO2 o la aplicación de un fertilizante inorgánico influyeron positivamente en las variables de crecimiento y rendimiento de plantas de chile habanero (113-180 días) establecidas en bolsas de plástico. La inoculación de *Bacillus* sp. MHPO2 y el nivel de fertilización convencional (50%) (T3) no influyeron significativamente en las variables de crecimiento (diámetro de tallo, volumen de la raíz, peso radical y aéreo seco) en comparación con el tratamiento con solo fertilización (50%) (T2). Estos resultados coinciden con lo reportado por Chiquito-Contreras *et al.* (2017) ya que la inoculación de la bacteria *Pseudomonas putida* y la fertilización inorgánica al 75% no presentó un efecto significativo en comparación con solo la fertilización al 75%. Por otro lado, la inoculación de *Bacillus* sp. MHPO2 y el nivel de fertilización convencional (50%) (T3) incrementaron la altura de la planta, el diámetro del tallo, el volumen de la raíz y la biomasa en comparación con el testigo. En la tasa fotosintética no se observó un incremento por la inoculación o la fertilización, sin embargo, no se encontró una disminución de la fotosíntesis como reportan por Marulanda-Aguirre *et al.* (2008) al inocular *Bacillus megaterium* en plantas de lechuga. La eficiencia fotosintética varía dependiendo del hábitat y edad de la planta, así como de factores ambientales como la temperatura, radiación lumínica y humedad al momento de la medición, así como de la posición y edad de la hoja donde se toma la lectura (Enciso & Gómez, 2004). Por lo tanto, estos factores pudieron afectar durante la medición ocasionando ausencia de diferencias en la tasa fotosintética, ya que la inoculación de las cepas o la fertilización si aumentó la producción de biomasa (170- 294%) en comparación con el testigo.

Por otro lado, en las variables de rendimiento (número de frutos por planta, peso de frutos por planta, rendimiento  $t\ ha^{-1}$ ), la inoculación de *Bacillus* sp. MHPO2 más la fertilización convencional (50%) ocasionaron un aumento significativo en las plantas en estas variables en comparación con solo la fertilización (50%) o la inoculación sola de *Bacillus* sp. MHPO2. Estos resultados son similares a los encontrados en otros estudios al inocular *Pseudomonas putida* FCA-60 y la fertilización inorgánica (75%) (Chiquito-

Contreras *et al.*, 2017). En contraste, Moreno-Salazar *et al.*, (2020) en chile habanero no encontraron diferencias significativas en las variables de rendimiento al inocular al hongo *Purpureocillium lilacinum* con un nivel de fertilización del 75% en comparación con solo la fertilización mineral (75%). Por lo tanto, esta respuesta sugiere que *Bacillus* sp. MHPO2 requiere cierto nivel de nutrientes en el suelo para activar el metabolismo vegetal y aumentar el rendimiento en chile habanero.

*Bacillus* es un género predominante en los suelos, ya que está adaptado a diferentes condiciones ambientales. Además, ha mostrado numerosas propiedades promotoras de crecimiento vegetal ya sea por mecanismos directos e indirectos como son la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos y mineralización de otros nutrientes, producción de fitohormonas, sideróforos, compuestos antimicrobianos y enzimas hidrolíticas, además de producir la resistencia sistémica inducida y tolerancia a estreses abióticos (Goswami *et al.*, 2016; Saxena *et al.*, 2020). Este género ha sido reportado con efecto promotor de crecimiento vegetal en *Capsicum chinense* (Samaniego-Gómez *et al.*, 2016; Valdovinos-Nava *et al.*, 2020). Sin embargo, existen un mayor número de reportes en *Capsicum annum* (Cisternas-Jamet *et al.*, 2020; Datta *et al.*, 2011; Kanchana *et al.*, 2014; Kazerooni, *et al.*, 2021; Thilagar *et al.*, 2018; Patel *et al.*, 2017).

En *Capsicum chinense* se han evaluado otros microorganismos con resultados positivos a nivel invernadero (Chiquito-Contreras *et al.*, 2017; Reyes-Ramírez *et al.*, 2014; Moreno-Salazar *et al.*, 2020; Valdovinos-Nava *et al.*, 2020). En el presente estudio, se mostró que la inoculación de *Bacillus* sp. MHPO2 puede reducir hasta un 50% la dosis de fertilización utilizada convencionalmente por los productores y obtener valores similares en el rendimiento (29.13 t ha<sup>-1</sup>) que al inocular otros microorganismos o productos comerciales (29.4- 32.6 t ha<sup>-1</sup>) (Moreno-Salazar *et al.*, 2020; Valdovinos-Nava *et al.*, 2020). Por lo tanto, estos resultados nos indican el gran potencial de esta cepa para ser utilizada a futuro como biofertilizante en el cultivo *C. chinense*, cuyo empleo que permitirá reducir la contaminación ambiental y los costos de producción.

## 6. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se lograron aislar un total de 17 cepas de rizobacterias. Tres de ellas presentaron importantes efectos promotores de crecimiento vegetal *in vitro* (MHBX10, MHPO8 Y MHPO2) al fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos, potasio y producir ácidos orgánicos. La caracterización molecular de las cepas mediante la secuenciación del gen 16S rRNA indicó que pertenecen a los generos *Bacillus* sp. MHPO2, *Staphylococcus caprae* MHPO8 y *Bacillus stratosphericus* MHBX10.

La evaluación del efecto de la inoculación de las rizobacterias en plántulas de chile habanero (30 días después de la inoculación) permitió observar que la inoculación de *Bacillus* sp. MHPO2 ocasionó un aumento de manera significativa en la altura de la planta, longitud de raíz y peso aéreo seco, en comparación con el testigo. Por lo tanto, se decidió seleccionar esta cepa para determinar su efecto en el crecimiento y producción de plantas de chile habanero establecidas en bolsas de plástico.

La inoculación de *Bacillus* sp. MHPO2 y el fertilizante convencional al 50% incrementaron el crecimiento y rendimiento en plantas de *Capsicum chinense*, resultando ser igual de efectivos que la fertilización convencional al 100%. Estos resultados nos indican el gran potencial de esta cepa para ser utilizada a futuro como biofertilizante en el cultivo *Capsicum chinense* y disminuir la contaminación de suelo, agua y aire al 50% debido al consumo de fertilizantes inorgánicos.

## 7. PERSPECTIVAS

- Se recomienda evaluar la cepa rizobacteria *Bacillus* sp. MHPO2 a nivel campo para determinar su efecto en las plantas de chile habanero bajo condiciones no controladas, con la finalidad de determinar su potencial como biofertilizante en el cultivo.
- Asimismo, validar las propiedades biofertilizantes de *Bacillus* sp. MHPO2 comparándola con cepas de referencia o comerciales en condiciones de invernadero y campo.
- Identificar a nivel especie la cepa *Bacillus* sp. MHPO2 mediante biología molecular por medio de la amplificación de otros genes.
- Finalmente, determinar el potencial antagónico de la cepa *Bacillus* sp. MHPO2 para controlar hongos fitopatógenos que atacan al chile habanero como *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp. y *Rhizoctonia* sp.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adesemoye, A. O., Torbert, H. A., & Kloepper, J. W. (2009). Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial ecology*, 58(4), 921-929.
- Agricultural Research Service (USDA). Base de datos <https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=288415> Consulta Mayo 2011.
- Aguirre-Medina, J. F., & Espinosa Moreno, J. A. (2016). Crecimiento y rendimiento de *Capsicum annuum* L. inoculado con endomicorriza y rizobacterias. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(7), 1539-1550.
- Aguirre-Medina, J. F., Irizar-Garza, M.B., Durán-Prado, A., Grajera-Cabrera, O.A., Peña-Del Río, M.A. y Loredo-Osti, C, Gutiérrez-Baeza, A. (2009). Los Biofertilizantes microbianos: alternativa para una agricultura en México, instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias. Campo experimental Rosario Izapa, Tuxtla chico, Chiapas, México. 86.
- Ahemad, M., & Khan, M. S. (2012). Alleviation of fungicide-induced phytotoxicity in greengram [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] using fungicide-tolerant and plant growth promoting *Pseudomonas* strain. *Saudi journal of biological sciences*, 19(4): 451-459.
- 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.
- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological research*, 163(2), 173-181.
- Ahn, I. P., Lee, S. W., & Suh, S. C. (2007). Rhizobacteria-induced priming in *Arabidopsis* is dependent on ethylene, jasmonic acid, and NPR1. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(7), 759-768.

- Alori, E. T., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in microbiology*, 8, 971.
- Altschul, F., Madden, T., SchÄffer, A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25(17), 3389–3402.
- Anzuay, M. S., Ciancio, M. G. R., Ludueña, L. M., Angelini, J. G., Barros, G., Pastor, N., & Taurian, T. (2017). Growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants by single and mixed cultures of efficient phosphate solubilizing bacteria that are tolerant to abiotic stress and pesticides. *Microbiological research*, 199, 98-109.
- Arellano-Gil, M., & Gutiérrez-Coronado, M. A. (2006). Rendimiento y calidad poscosecha de tomate bajo diferentes esquemas de fertilización al suelo. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(1), 113-118.
- Asaf, S., Khan, M. A., Khan, A. L., Waqas, M., Shahzad, R., Kim, A. Y., ... & Lee, I. J. (2017). Bacterial endophytes from arid land plants regulate endogenous hormone content and promote growth in crop plants: an example of *Sphingomonas* sp. and *Serratia marcescens*. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 31-38.
- Astegiano, A. E., & Villar, P. J. (2004). Evaluación de criterios de protección de enfermedades foliares con fungicidas en cultivos de trigo para la región central de Santa Fe. *Información técnica de trigo, campaña*, 54-58.
- Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2021). Reclamation of arid and semi-arid soils: The role of plant growth-promoting archaea and bacteria. *Current Plant Biology*, 25, 100173.
- Baca, B. E., & Elmerich, C. (2007). Microbial production of plant hormones. In *Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations*. Springer, Dordrecht, 113-143.
- Bashan, Y., & De-Bashan, L. E. (2010). How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment. *Advances in agronomy*, 108, 77-136.

- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., & El Enshasy, H. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, *13*(3), 1140.
- Becerra, J. M., Quintero, D., Martínez, M., & Matiz, A. (2011). Caracterización de microorganismos solubilizadores de fosfato aislados de suelos destinados al cultivo de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, *5*(2), 186-194.
- Beltrán Pineda, M. E., Rocha Gil, Z. E., Bernal Figueroa, A. A., & Pita Morales, L. A. (2017). Functional microorganisms in soil with and without revegetation in the municipality of Villa de Leyva-Boyaca. *Colombia Forestal*, *20*(2), 158-170.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, *35*(4), 1044-1051.
- Borges-Gómez, L., Cervantes Cárdenas, L., Ruiz Novelo, J., Soria Fregoso, M., Reyes Oregel, V., & Villanueva Couoh, E. (2010). Capsaicinoids in habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) under various humidity and nutritional conditions. *Terra Latinoamericana*, *28*(1), 35-41.
- Camelo-Ordaz, C., Garcia-Cruz, J., Sousa-Ginel, E., & Valle-Cabrera, R. (2011). The influence of human resource management on knowledge sharing and innovation in Spain: the mediating role of affective commitment. *The international journal of human resource management*, *22*(07), 1442-1463.
- Castagno, L. N., Estrella, M. J., Sannazzaro, A. I., Grassano, A. E., & Ruiz, O. A. (2011). Phosphate-solubilization mechanism and in vitro plant growth promotion activity mediated by *Pantoea eucalypti* isolated from *Lotus tenuis* rhizosphere in the Salado River Basin (Argentina). *Journal of applied microbiology*, *110*(5), 1151-1165.
- Castañón-Nájera, G., Latournerie-Moreno, L., Lesher-Gordillo, J. M., De la Cruz-Lázaro, E., & Mendoza-Elos, M. (2010). Identificación de variables para caracterizar morfológicamente colectas de chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. *Universidad y ciencia*, *26*(3), 225-234.

- Castillo-Aguilar, C. C., Dolz-Ramos, R., Arreola-Enríquez, J., Carbajal-León, J. E., Carrillo-Castañeda, G., Coh-Méndez, D., & Carrillo-Ávila, E. (2017). Evaluation of rhizobacteria strains in the production of habanero chili (*Capsicum chinense* Jacq.) seedlings. *Agroproductividad*, 10(12), 128-133.
- Cerrato, R. F., & Alarcón, A. (2001). La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *CIENCIA ergo-sum, Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 8(2).
- Chaudhary, D. R., Rathore, A. P., & Sharma, S. (2020). Effect of halotolerant plant growth promoting rhizobacteria inoculation on soil microbial community structure and nutrients. *Applied Soil Ecology*, 150, 103461.
- Chinakwe, E. C., Nwogwugwu, N. U., Ibekwe, V. I., Chinakwe, P. O., Egbadon, E. O., & Adeleye, S. A. (2019). Isolation and Evaluation of Bacteria Exhibiting Multiple Plant Growth Traits in the Rhizosphere of Yellow Bell Pepper (*Capsicum chinense*). *Journal of Advances in Microbiology*, 1-6.
- Chiquito-Contreras, R. G., Murillo-Amador, B., Chiquito-Contreras, C. J., Márquez-Martínez, J. C., Córdoba-Matson, M. V., & Hernández-Montiel, L. G. (2017). Effect of *Pseudomonas putida* and inorganic fertilizer on growth and productivity of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) in greenhouse. *Journal of Plant Nutrition*, 40(18), 2595-2601.
- Cisternas-Jamet, J., Salvatierra-Martínez, R., Vega-Gálvez, A., Stoll, A., Uribe, E., & Goñi, M. G. (2020). Biochemical composition as a function of fruit maturity stage of bell pepper (*Capsicum annum*) inoculated with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Scientia Horticulturae*, 263, 109107.
- Constantino, M., Gomez-Alvarez, R., Álvarez-Solís, J. D., Geissen, V., Huerta, E., & Barba, E. (2008). Effect of inoculation with rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of *Capsicum chinense* Jacquín. *Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics (JARTS)*, 109(2), 169-180.

- Cordero-Ramírez, J. D., Lopez-Rivera, R., Calderón-Vázquez, C. L., Figueroa-López, A. M., Martínez-Álvarez, J. C., Leyva-Madrigal, K. Y., ... & Maldonado-Mendoza, I. E. (2012). Rhizosphere microorganisms associated to tomato in an agroecosystem from Guasave Valley, Sinaloa, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83(3), 712-730.
- Corrales Ramírez, L. C., Sánchez Leal, L. C., Arévalo Galvez, Z. Y., & Moreno Burbano, V. E. (2014). *Bacillus*: a genus of bacteria that exhibits important phosphate solubilizing abilities. *Nova*, 12(22), 165-178.
- Datta, M., Palit, R., Sengupta, C., Pandit, M. K., & Banerjee, S. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria enhance growth and yield of chilli ('*Capsicum annuum*L.) under field conditions. *Australian Journal of Crop Science*, 5(5), 531.
- De Vleeschauwer, D., & Höfte, M. (2003). Using *Serratia plymuthica* to control fungal pathogens of plants. *CAB Reviews*, 2(046).
- Delfine, S., Loreto, F., & Alvino, A. (2001). Drought-stress effects on physiology, growth and biomass production of rainfed and irrigated bell pepper plants in the Mediterranean region. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(3), 297-304.
- Di Salvo, L.P., Cellucci, G.C., Carlino, M.E., de Salamone, I.E.G., 2018. Plant growthpromoting rhizobacteria inoculation and nitrogen fertilization increase maize (*Zea mays* L.) grain yield and modified rhizosphere microbial communities. *Appl. Soil Ecol.* 126, 113–120.
- Díaz, A. A. V., Quintal-Vargas, Y. Y., Chale-Dzul, J. B., Santillán-Fernández, A., Ferrera-Cerrato, R., & López-Hernández, M. (2021). Isolation and selection of rhizospheric bacteria with biofertilizing potential for corn cultivation. *Agro Productividad*, 14(1).
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Chloroplast DNA phylogenetic affinities of newly described species in *Glycine* (*Leguminosae: Phaseoleae*). *Systematic Biology*, 15(3), 466–471.
- Eden, D., & Kinnar, J. (1991). Modeling Galatea: Boosting self-efficacy to increase volunteering. *Journal of Applied psychology*, 76(6), 770.

- Elmaati, Y., Msanda, F., Eljiati, A., Ouchaou, H., Boubaker, H., & Ait Hamza, M. (2020). Characterization of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Isolated from an Arid Area Soil of Date Palm in Saudi Arabia. *Journal of Applied Sciences*, 20(6), 196-207.
- Enciso, B. E., & Gómez, C. (2004). Comparación de las respuestas de cuatro cultivares de mora (*Rubus*. Sp) a las variaciones del factor luz. *Agronomía Colombiana*, 22(1), 46-52.
- FAOSTAT, 2020. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize>.
- Figueiredo, M. D. V. B., Seldin, L., de Araujo, F. F., & Mariano, R. D. L. R. (2010). Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications. In *Plant growth and health promoting bacteria*, ed. D.K. Maheshwari, 21-43. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Flores, G. C., González, P. J., Arzola, J., & Morgan, O. (2010). Efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares nativos y una especie seleccionada en los pastos *Brachiaria decumbens* vc. *Basilisk* y *Panicum maximun* vc. Mombaza. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 44(3), 307-313.
- Fuentes-Ramirez, L. E., & Caballero-Mellado, J. (2005). Bacterial biofertilizers. *PGPR: Biocontrol and biofertilization*, 143-172.
- Glick, B. R., Penrose, D. M., & Li, J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of theoretical biology*, 190(1), 63-68.
- Glick, B. R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., & McConkey, B. (2007). Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 26(5-6), 227-242.
- González Mancilla, A., Almaraz Suárez, J. J., Ferrera Cerrato, R., Rodríguez Guzmán, M. D. P., Taboada Gaytán, O. R., Trinidad Santos, A., ... & Arteaga Garibay, R. I. (2017). Caracterización y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de chile poblano (*Capsicum annuum* L.). *Revista internacional de contaminación ambiental*, 33(3), 463-474.

- Goswami, D., Thakker, J. N., & Dhandhukia, P. C. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1).
- Gutiérrez Castorena, E. V., Gutiérrez Castorena, M. D. C., & Ortiz Solorio, C. A. (2015). Integrated nutrient management in intensive agricultural systems: a review. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(1), 201-215.
- Gutiérrez-Gómez, C., Carrillo-Avila, E., Landeros-Sánchez, C., Coh-Méndez, D., Monsalvo-Espinosa, A., Arreola-Enríquez, J., & Pimentel-López, J. (2018). Soil moisture tension as an alternative for improving sustainable use of irrigation water for habanero chilies (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agricultural Water Management*, 204, 28-37.
- Gutiérrez-Luna, F. M., López-Bucio, J., Altamirano-Hernández, J., Valencia-Cantero, E., de la Cruz, H. R., & Macías-Rodríguez, L. (2010). Plant growth-promoting rhizobacteria modulate root-system architecture in *Arabidopsis thaliana* through volatile organic compound emission. *Symbiosis*, 51(1), 75-83.
- Hall, T. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41, 95-98.
- Hatlen, T. J., & Miller, L. G. (2021). Staphylococcal skin and soft tissue Infections. *Infectious Disease Clinics*, 35(1), 81-105.
- Ikai, H., Nakamura, K., Shirato, M., Kanno, T., Iwasawa, A., Sasaki, K., & Kohno, M. (2010). Photolysis of hydrogen peroxide, an effective disinfection system via hydroxyl radical formation. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(12), 5086-5091.
- Ilangumaran, G., & Smith, D. L. (2017). Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: a systems biology perspective. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1768.
- Incrocci, L., Massa, D., & Pardossi, A. (2017). New trends in the fertigation management of irrigated vegetable crops. *Horticulturae*, 3(2), 37.

- Kanchana, D., M. Jayanthi, G. Usharani, P. Saranraj, and D. Sujitha. 2014. Interaction effect of combined inoculation of PGPR on growth and yield parameters of Chilli Var K1 (*Capsicum annuum* L.) International Journal of Microbiology Research 5:144-151.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. I., & Miyata, T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic acids research*, 30(14), 3059-3066.
- Kazerooni, E. A., Maharachchikumbura, S. S., Adhikari, A., Al-Sadi, A. M., Kang, S. M., Kim, L. R., & Lee, I. J. (2021). Rhizospheric *Bacillus amyloliquefaciens* protects *Capsicum annuum* cv. Geumsugangsan from multiple abiotic stresses via multifarious plant growth-promoting attributes. *Frontiers in plant science*, 12, 821.
- Kennedy, I. R., Choudhury, A. T. M. A., & Kecskés, M. L. (2004). Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited?. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(8), 1229-1244.
- Khoshru, B., Mitra, D., Khoshmanzar, E., Myo, E. M., Uniyal, N., Mahakur, B.,... & Rani, A. (2020). Current scenario and future prospects of plant growth-promoting rhizobacteria: an economic valuable resource for the agriculture revival under stressful conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 43(20), 3062-3092.
- Landa, B. B., Mavrodi, O. V., Raaijmakers, J. M., McSpadden Gardener, B. B., Thomashow, L. S., & Weller, D. M. (2002). Differential ability of genotypes of 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* strains to colonize the roots of pea plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(7), 3226-3237.
- LI-COR. 2019. LI-COR® Instrumentation for biological sciences. <https://www.licor.com/env/products/photosynthesis/LI-6400XT/>.
- Locascio, S. J. (2005). Management of irrigation for vegetables: Past, present, and future. *HortTechnology*, 15(3), 482-485.

- López-Gómez, J. D., Villegas-Torres, O. G., Sotelo Nava, H., Andrade Rodríguez, M., Juárez López, P., & Martínez Fernández, E. (2017). Yield and quality of habanero chili (*Capsicum chinense* Jacq.) by effect of nutritional régime. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(8), 1747-1758.
- López-López, R., Inzunza-Ibarra, M. A., Fierro-Álvarez, A., & Palma-López, D. J. (2018). Fechas de trasplante y productividad del chile habanero con riego por goteo. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(1), 51-64.
- López-Puc, G., Rodríguez-Rodríguez, J.D., Ramírez-Sucre, M.O., Rodríguez-Buenfil, I.M. (2020). Manejo agronómico y los factores que influyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas del cultivo de chile habanero. Puc, G. L., SUCRE, M. O. R., & Buenfil, I. M. R. *Metabolómica y cultivo del chile habanero (Capsicum chinense jacq) de la península de Yucatán*. Primera edición. 4-23. *En METABOLÓ*.
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual review of microbiology*, 63, 541-556.
- Luna Martinez, L., Martinez Peniche, R. A., Hernandez Iturriaga, M., Arvizu Medrano, S. M., & Pacheco Aguilar, J. R. (2013). Characterization of rhizobacteria isolated from tomato and their effect on tomato and bell pepper growth. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(1), 63-69.
- Mäder, P., Fliessbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., & Niggli, U. (2002). Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*, 296(5573), 1694-1697.
- Martín, J. C., Peralta, S. M., & Avelino, D. M. (2004). Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin). *Tropical and subtropical Agroecosystems*, 4(1), 21-27.
- Marulanda-Aguirre, A., R. Azcón, J.M. Ruiz-Lozano, and R. Aroca. 2008. Differential effects of a *Bacillus megaterium* strain on *Lactuca sativa* plant growth depending on the origin of the arbuscular mycorrhizal fungus coinoculated: physiologic and biochemical traits. *Journal of Plant Growth Regulation* 27:10-18.

- Medina-Lara, F., Echevarría-Machado, I., Pacheco-Arjona, R., Ruiz-Lau, N., Guzmán-Antonio, A., & Martínez-Estevez, M. (2008). Influence of nitrogen and potassium fertilization on fruiting and capsaicin content in habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *HortScience*, 43(5), 1549-1554.
- Molina-Romero D., Bustillos-Cristales M. del R., Rodríguez-Andrade O., Morales-García Y.E., Yair Santiago-Saenz Y., Castañeda-Lucio M., Muñoz-Rojas J. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*, 17(2): 24–34.
- Moreno Reséndez, A., Carda Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., & Cano Ríos, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), 68-83.
- Moreno-Salazar, R., Sánchez-García, I., Chan-Cupul, W., Ruiz-Sánchez, E., Hernández-Ortega, H. A., Pineda-Lucatero, J., & Figueroa-Chávez, D. (2020). Plant growth, foliar nutritional content and fruit yield of *Capsicum chinense* biofertilized with *Purpureocillium lilacinum* under greenhouse conditions. *Scientia Horticulturae*, 261, 108950.
- Navarrete-Mapen, R. Z., Cristóbal-Alejo, J., Uc-Vázquez, A., Reyes-Ramírez, A., Tun-Suárez, J. M., & Alvarado-López, C. J. (2020). Graft response of *Capsicum chinense-Capsicum annuum* var. *glabriusculum* to *Begomovirus* in field. *Revista mexicana de fitopatología*, 38(2), 226-238.
- Navarro, S., & Navarro, G. (2003). Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida. *Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España*, 219-247.
- Nieves-González, F., Alejo-Santiago, G., Luna-Esquivel, G., Lemus-Flores, C., Juárez-López, P. y E. Salcedo-Pérez. (2015). Extracción y requerimiento de fósforo en chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) 'Big Brother'. *Interciencia*. 40(4), 282-286.

- Noh Medina, J., Yam Chimal, C., Borges Gómez, L., Zúñiga Aguilar, J. J., & Godoy Hernández, G. (2014). Bacterial isolates with biofertilizer potential for tomato plantlets. *Terra Latinoamericana*, 32(4), 273-281.
- Noh-Medina, J., Borges-Gómez, L., & Soria-Fregoso, M. (2010). Composición nutrimental de biomasa y tejidos conductores en chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12(2), 219-228.
- Nuncio-Orta, G., Mendoza-Villarreal, R., Robledo-Torres, V., Vazquez-Badillo, M., & Almaraz-Suárez, J. J. (2015). Influence of rhizobacteria on seed germination and vigor of seeds chili jalapeno (*Capsicum annum* L.'var. Grande'). *ITEA*, 111(1), 18-33.
- Obando Castellanos, D, Burgos Zabala, L, Rivera Botía, D, Rubiano Garrido, M, Bonilla Buitrago, R y Divan Baldani, V. (2010). *Caracterización de bacterias diazotróficas asimbióticas asociadas al eucalipto (eucalyptus sp.) en codazzi, cesar*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. 15 (3),107–120
- Oehl, F., Oberson, A., Tagmann, H. U., Besson, J. M., Dubois, D., Mäder, P., & Frossard, E. (2002). Phosphorus budget and phosphorus availability in soils under organic and conventional farming. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 62(1), 25-35.
- Ogale, S., Yadav, K. S., & Navale, S. (2018). Screening of endophytic bacteria from the pharmacologically important medicinal plant *Gloriosa superba* for their multiple plant growth promoting properties. *J. Pharm. Innov*, 7, 208-214.
- Oney-Montalvo, J., Uc-Varguez, A., Ramírez-Rivera, E., Ramírez-Sucre, M., & Rodríguez-Buenfil, I. (2020). Influence of Soil Composition on the Profile and Content of Polyphenols in Habanero Peppers (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agronomy*, 10(9), 1234.
- Palacios-Vargas, J. G. (2014). Biodiversidad de Collembola (*Hexapoda: Entognatha*) en México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 85, 220-231.

- Patel, S., Jinal, H. N., & Amaresan, N. (2017). Isolation and characterization of drought resistance bacteria for plant growth promoting properties and their effect on chilli (*Capsicum annum*) seedling under salt stress. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 12, 85-89.
- Pellegrini, M., Spera, D. M., Ercole, C., & Del Gallo, M. (2021). *Allium cepa* L. inoculation with a consortium of plant growth-promoting bacteria: Effects on plants, soil, and the autochthonous microbial community. *Microorganisms*, 9(3), 639.
- Preciado-Rangel, P., Baca-Castillo, G. A., Tirado-Torres, J. L., Kohashi-Shibata, J., Tijerina-Chávez, L., & Martínez-Garza, Á. (2004). Fertirrigación nitrogenada, fosfórica y programa de riego y sus efectos en melón y suelo. *Terra Latinoamericana*, 22(2), 175-186.
- Rashid, M. I., Mujawar, L. H., Shahzad, T., Almeelbi, T., Ismail, I. M., & Oves, M. (2016). Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. *Microbiological research*, 183, 26-41.
- Reyes-Castro, R., Arreola-Enríquez, J., Carrillo-Avila, E., & Obrador-Olán, J. J. (2020). Evaluation of the conventional and controlled release fertilization, on the quality of jagua plants (*Genipa americana* L.) in nursery/Evaluación de la fertilización convencional y de liberación controlada, sobre la calidad de plantas de jagua (*Genipa americana* L.) en vivero. *AGROProductividad*, 13(5), 43-50.
- Reyes-Ramírez, A., Lopez-Arcos, M., Ruiz-Sanchez, E., Latournerie-Moreno, L., Pérez-Gutiérrez, A., Lozano-Contreras, M. G., & Zavala-Leon, M. J. (2014). Effectiveness of microbial inoculants on growth and productivity of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agrociencia (Montecillo)*, 48(3), 285-294.
- Ríos, A. M., & Gamboa, J. A. A. (2014). Productividad del cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annum* L.) con manejo orgánico o convencional en Calakmul, Campeche, México. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 18(3), 35-40.
- Rodríguez, H. M., Villalobos, J. A. M., Valle, M. A. V., Talavera, M. D. C. P., & Castorena, M. M. V. (2013). Chile habanero: descripción de su cultivo en la península de Yucatán. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 12(2), 37-43.

- Rodríguez, H. M., Villalobos, J. A. M., Valle, M. A. V., Talavera, M. D. C. P., & Castorena, M. M. V. (2013). Chile habanero: descripción de su cultivo en la península de Yucatán. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 12(2), 37-43.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3), 539–542.
- Samaniego-Gámez, B. Y., Garruña, R., Tun-Suárez, J. M., Kantun-Can, J., Reyes-Ramírez, A., & Cervantes-Díaz, L. (2016). *Bacillus* spp. inoculation improves photosystem II efficiency and enhances photosynthesis in pepper plants. *Chilean journal of agricultural research*, 76(4), 409-416.
- Sánchez, E. P., Núñez, D., Cruz, R. O., Torres, M. A., & Herrera, E. V. (2017). Simulación y conteo de unidades formadoras de colonias. *ReCIBE. Revista electrónica de Computación, Informática, Biomédica y Electrónica*, 6(1), 97-111.
- Sanclemente, M.A., & Peña, E.J. (2008). Growth and Photosynthetic Efficiency of *Ludwigia decurrens* Walter (*Onagraceae*) Under Different Concentrations of Nitrogen. *Acta Biológica Colombiana*, 13(1), 175-186.
- Santillana-Villanueva N. (2006). biofertilizers production using *Pseudomonas* sp.. *Ecología Aplicada*, 5(1,2), 2006.
- Saxena, A. K., Kumar, M., Chakdar, H., Anuroopa, N., & Bagyaraj, D. J. (2020). *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *Journal of applied microbiology*, 128(6), 1583-1594.
- Schroth, M.N., and Hancock, J.G. (1982). Disease-suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science*. 216:1376-1381.
- SIAP-SAGARAPA. (2021). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca. [www.siap.gob.mx/](http://www.siap.gob.mx/).(consultado 3 febrero 2021).

- Sosa-Pech, M., Ruiz-Sánchez, E., Tun-Suárez, J. M., Pinzón-López, L. L., & Reyes-Ramírez, A. (2019). Germinación, crecimiento y producción de glucanasas en *Capsicum chinense* Jacq. inoculadas con *Bacillus* spp. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 6(16), 137-143.
- Suman, S. P., Mancini, R. A., Joseph, P., Ramanathan, R., Konda, M. K. R., Dady, G., & Yin, S. (2011). Chitosan inhibits premature browning in ground beef. *Meat science*, 88(3), 512-516.
- Sundara, B., Natarajan, V., & Hari, K. (2002). Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crops Research*, 77(1), 43-49.
- Tapia-Vargas, L. M., Rico-Ponce, H. R., Larios-Guzmán, A., Vidales-Fernández, I., & Pedraza-Santos, M. E. (2010). Manejo nutrimental en relación con la calidad de fruto y estado nutricional del melón cantaloupe. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 16(1), 49-55.
- Thilagar, G., Bagyaraj, D. J., Podile, A. R., & Vaikuntapu, P. R. (2018). *Bacillus sonorensis*, a novel plant growth promoting rhizobacterium in improving growth, nutrition and yield of chilly (*Capsicum annum* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 88(2), 813-818.
- Timmusk, S., Kim, S. B., Nevo, E., Abd El Daim, I., Ek, B., Bergquist, J., & Behers, L. (2015). Sfp-type PPTase inactivation promotes bacterial biofilm formation and ability to enhance wheat drought tolerance. *Frontiers in microbiology*, 6, 387.
- Trabelsi, D., & Mhamdi, R. (2013). Microbial inoculants and their impact on soil microbial communities: a review. *BioMed research international*, 2013,
- Tsavkelova, E. A., Klimova, S. Y., Cherdyntseva, T. A., & Netrusov, A. I. (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Applied biochemistry and microbiology*, 42(2), 117-126.

- Valdovinos-Nava, W., Chan-Cupul, W., Hernández-Ortega, H. A., & Ruíz-Sánchez, E. (2020). Effects of biological and mineral fertilization on the growth, nutrition, and yield of *Capsicum chinense* under greenhouse conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 43(15), 2286-2298.
- Vega-Celedón, P., Canchignia Martínez, H., González, M., & Seeger, M. (2016). Biosynthesis of indole-3-acetic acid and plant growth promoting by bacteria. *Cultivos tropicales*, 37, 33-39.
- Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O., Acevedo-Hernández, G., Aarland, R. C., & Rodríguez-Sahagún, A. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 333-345.
- Velázquez-Gurrola, A., & Ramos-Alegría, M. P. (2015). Beneficios de microorganismos solubilizadores de P y K en la recuperación y mantenimiento de suelos agrícolas. *LIMA, PERU, Perú ProHass*, 495-499.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, 255(2), 571-586.
- Vincent, J. M., & Humphrey, B. (1970). Taxonomically significant group antigens in *Rhizobium*. *Microbiology*, 63(3), 379-382.
- Vyas, P., & Gulati, A. (2009). Organic acid production in vitro and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing *fluorescent Pseudomonas*. *BMC microbiology*, 9(1), 1-15.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of bacteriology*, 173(2), 697-703.
- Weller, D. M., & Thomashow, L. S. (1994). Current challenges in introducing beneficial microorganisms into the rhizosphere. *Molecular ecology of rhizosphere microorganisms: Biotechnology and the release of GMOs*, 1-18.