



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CAMPECHE

POSTGRADO DE BIOPROSPECCIÓN Y SUSTENTABILIDAD  
AGRÍCOLA EN EL TRÓPICO

## EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS HALÓFILAS SOBRE EL CRECIMIENTO VEGETAL DE *Zea mays* BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS POR SALINIDAD

GERARDO ALFONSO AYIL CHAN

T E S I S  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

SIHOCHAC, CHAMPOTÓN, CAMPECHE, MÉXICO

2023



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Efecto de la inoculación de bacterias halófilas sobre el crecimiento vegetal de *Zea mays* bajo condiciones de estrés por salinidad** realizada por el (la) estudiante: **Gerardo Alfonso Ayil Chan** 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

CONSEJERO (A)

DRA. ARELY ANAYANSI VARGAS DÍAZ

ASESOR (A)

DR. EUGENIO CARRILLO ÁVILA

ASESOR (A)

M.C. NATALIA YSABEL LABRÍN SOTOMAYOR

Sihochac, Champotón, Campeche, México, enero de 2023

# EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS HALÓFILAS SOBRE EL CRECIMIENTO VEGETAL DE *ZEAMAYS* BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS POR SALINIDAD

Gerardo Alfonso Ayil Chan, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2023

## RESUMEN

El estrés salino es un factor abiótico que afecta al cultivo de maíz a nivel mundial, ya que interrumpe la absorción de nutrientes, dificulta el crecimiento de las plantas, afecta las propiedades fisicoquímicas del suelo y disminuye la producción agrícola. Una estrategia para aliviar este factor abiótico es el uso de bacterias halófilas promotoras del crecimiento vegetal (BPCV). Por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la inoculación de bacterias halófilas sobre el crecimiento en *Zea mays* bajo condiciones de estrés por salinidad. Para ello, se realizó la evaluación *in vitro* de las propiedades promotoras de crecimiento vegetal de un total de 39 cepas halófilas. Los resultados indicaron que 15 cepas fueron capaces de producir ácido indol-3-acético (AIA), posteriormente, se evaluó su capacidad de fijar nitrógeno y solubilización de fosfatos. Los resultados permitieron seleccionar tres cepas con la mayor actividad y estas correspondieron a *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278, *Bacillus* sp. CPO 4.277 y *Neobacillus drentensis* CPO 4.261. Estas cepas y otros dos tratamientos (fertilización química y control) se les determinó su efecto en el crecimiento de las plantas de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo) bajo tres niveles de salinidad (0, 100 y 200 mM NaCl). En las variedades morfométricas las plántulas inoculadas con *N. drentensis* CPO 4.261 y *Bacillus* sp. CPO 4.277, presentaron una mayor altura del tallo, diámetro del tallo, longitud de la raíz, biomasa aérea y de raíz. En las variables fisiológicas, también mostraron mayor contenido de antocianina, clorofila y azúcares totales, y una disminución en contenido de prolina en hojas y raíz. Además de que permitieron la sobrevivencia de las plantas. Los resultados muestran que las cepas bacterianas evaluadas podrían ser utilizadas a futuro como biofertilizante en el cultivo de maíz bajo condiciones de estrés por salinidad.

**Palabras clave:** biofertilizantes, reguladores de crecimiento vegetal, Estrés salino.

# EFFECT OF THE INOCULATION OF HALOPHILIC BACTERIA ON ZEA MAYS PLANT GROWTH UNDER SALINITY STRESS CONDITIONS

Gerardo Alfonso Ayil Chan, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2023

## ABSTRACT

Saline stress is an abiotic factor that affects maize cultivation worldwide, since it interrupts the absorption of nutrients, hinders plant growth, affects the physicochemical properties of the soil, and decreases agricultural production. One strategy to alleviate this abiotic factor is the use of plant growth promoting halophilic bacteria (BPCV). Therefore, the objective of this work was to determine the effect of the inoculation of halophilic bacteria on the growth of *Zea mays* under salinity stress conditions. For this, the in vitro evaluation of the plant growth promoting properties of a total of 39 halophilic strains was carried out. The results indicated that 15 strains were capable of producing indole-3-acetic acid (IAA), subsequently, their ability to fix nitrogen and phosphate solubilization was evaluated. The results allowed selecting three strains with the highest activity and these corresponded to *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278, *Bacillus* sp. CPO 4.277 and *Neobacillus drentensis* CPO 4.261. These strains and two other treatments (chemical fertilization and control) will limit their effect on the yellow growth of maize plants (CML Line 451, ZR-76 hybrid and San Pablano criollo) under three salinity levels (0, 100 and 200mM NaCl). In the morphometric varieties, the seedlings inoculated with *N. drentensis* CPO 4.261 and *Bacillus* sp. CPO 4.277, presented a higher stem height, stem diameter, root length, aerial and root biomass. In the physiological variables, it also showed a higher content of anthocyanin, chlorophyll and total sugars, and a decrease in proline content in leaves and roots. The results show that the strains evaluated could be used in the future as a biofertilizer in maize crops under salinity stress conditions.

**Key words:** biofertilizers, plant growth regulators, saline stress

## AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por la beca otorgada para el financiamiento de mis estudios y la realización de este trabajo de investigación.

Al **Colegio de Postgraduados, Campus Campeche** por brindarme la oportunidad de desarrollarme profesional y académicamente. Al **Laboratorio de Bioprocesos** por las instalaciones prestadas para el desarrollo de este proyecto de investigación.

A la maestría en ciencias en **Bioprospección y sustentabilidad agrícola en el trópico**, por las facilidades otorgadas durante mi formación académica.

Al **Colegio de la frontera sur (ECOSUR)** por permitirme hacer uso de su laboratorio de Flora y Ecosistemas Asociados.

Al **CIMMYT** por facilitarnos las semillas para realizar este trabajo

A la **Dra. Arely Anayansi Vargas Díaz**, por aceptarme en su equipo de trabajo en el Laboratorio de Bioprocesos, Campus Campeche, desde la licenciatura. Por confiar en mí para llevar a cabo este trabajo de investigación, por ser mi consejera, por el tiempo dedicado y financiamiento a este proyecto, y por formar un buen equipo de trabajo de laboratorio.

A la **M.C Natalia Y. Labrín Sotomayor**, por haberme permitido realizar parte del trabajo en su laboratorio a cargo, por brindarme todas las facilidades para desarrollar los experimentos de esta investigación. Agradezco su tiempo, su apoyo, sus observaciones para mejorar personal y profesionalmente, su paciencia y sobre todo por confiar en mí.

Al **Dr. Eugenio Carrillo Ávila**, por formar parte de mi consejo, por sus asesorías, recomendaciones y el tiempo dedicado en la parte estadística para enriquecer y mejorar este trabajo de investigación.

Al **Dr. Yuri J. Peña Ramírez**, por sus consejos, por permitirme integrarme a su familia de trabajo y por confiar en mí.

Al **Dr. Jesús Arreola** y al **Laboratorio de Análisis de Suelos, Agua y Fisiología Vegetal**, por apoyarme con los análisis correspondientes de este trabajo.

Al **Dr. Juan Manuel Pat**, por facilitarnos las semillas de maíz y poder desarrollar este trabajo.

Al **Sr. Enrique Cahuich y Sra. María Rosita Chan**, por donarnos las semillas para realizar este proyecto.

A la **M.C Mari** por siempre estar pendiente de nosotros y por su sincera amistad. A la **M.C Julia**, por escuchar mis problemas y darme consejos, por apoyarme con las pruebas del suelo.

Al equipo de trabajo de ECOSUR, **M.C Norka Fortuny, M.C Ale Becerra, Ing. Cynthia Ramírez**, por aceptarme y hacerme sentir en familia en su equipo de trabajo.

En especial a todos mis compañeros y amigos del Colegio de Postgraduados, Campus Campeche, **Ing. Miguel Guerra, Ing. Bonny Rivera, Ing. Delmi Chable**, a la **M.C María Magaña**, a la **Ing. Dulce Piste, Ing. María May**, a la **Ing. Yaritza Quintal, Ing. Thelma Marin, Biol. Johni Cohuo, Biol. Loren Vazquez, Biol. Clari Chable** y en especial a la **Biol. Lorena Rodriguez** y a la **M.C Geydi**.

A la familia **Que Narváez** por confiar en mí y apoyarme cuando más lo necesite.

## DEDICATORIA

A dios por guiarme por el camino correcto, porque nunca me ha abandonado, gracias por haberme dado una excelente familia, por permitirme conocer excelentes profesores y amigos y porque has llenado mi corazón con la luz de tu espíritu dejando que cumpla esta meta.

A mi familia, mi madre María Rosita Chan Tun, a mi hermanito José Wilian Ayil, a mi papa adoptivo Jorge Chi, al Sr. Enrique Cahuich, a mis abuelos. A mi compañero de vida Jesús Que Narváez, a mis sobrinos, José David, Galilea, Yanin, Valentina, Yaneth, Isaac y Rafa. A mi segunda familia, Alma Narváez, José Luis Que, Sol, María y Luis.

A mi Morgana, por alegrarnos la vida y acompañarme de inicio al fin de esta etapa. Gracias por hacer que no me rinda.

En especial a mi Abuelita Paula Tun †, que desde el cielo ilumina mi camino, y sé que me echa porras para seguir adelante. Gracias a ti Me encuentro cumpliendo mis metas. Un abrazo hasta el cielo.

## CONTENIDO

RESUMEN .....	iii
ABSTRACT .....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA .....	vii
LISTAS DE CUADROS .....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1 Salinización .....	4
3.1.1 Suelos salinos.....	4
3.1.2 Relación fertilización-salinización.....	7
3.1.3. Efecto de la salinización en las plantas.....	9
3.2 Importancia del maíz y su diversidad.....	11
3.2.1 Principales variedades de maíz utilizadas en América Latina y la Península de Yucatán.....	12
3.2.2 Problemas abióticos que afectan al maíz .....	12
3.3 Bacteria promotoras de crecimiento vegetal .....	15
3.4 Microorganismos en ambientes extremos.....	16
3.4.1 Bacterias halófilas .....	17
3.4.2 Clasificación de las bacterias halófilas de acuerdo a su haloterancia a NaCl.....	18
3.5 Bacterias halófilas como posible herramienta de alivio al estrés abiótico por salinidad.....	19
3.5.1 Mecanismos para reducir el efecto inhibitorio causado por la salinidad .....	22
IV. MATERIALES Y MÉTODOS .....	26
4.1 Selección <i>in vitro</i> de las bacterias halófilas con mayor efecto promotor de crecimiento vegetal. ....	26



4.1.1	Reactivación de las bacterias halófilas y clasificación según su tolerancia en medios de cultivos.....	26
4.1.2	Determinación de la producción de Ácido Indol-3-Acético (AIA) .....	26
4.1.3.	Cuantificación del nitrógeno fijado .....	26
4.1.4	Cuantificación de la solubilización de fosfato .....	27
4.2	Efecto promotor del crecimiento vegetal de las bacterias halófilas sobre el crecimiento del maíz bajo condiciones de salinidad.....	27
4.2.1	Obtención del inóculo .....	27
4.2.2	Semillas de maíz evaluadas en el experimento.....	28
4.2.3	Determinación fisicoquímica de la fertilidad del suelo utilizado en el experimento .....	29
4.2.4	Establecimiento del experimento en invernadero .....	29
4.2.5	Estimación de las variables morfológicas.....	30
4.3.4	Medición de la salinidad del suelo después del experimento .....	31
4.3	Estimación de los efectos fisiológicos en plantas de maíz, con inoculación de BPCV halófilas en respuesta a la salinidad .....	31
4.3.1	Estimación de azúcares solubles totales .....	31
4.3.2	Análisis de prolina .....	31
4.4.3	Análisis cuantitativo de contenidos de Clorofila total (CT) y Antocianina (AT).....	32
4.4	Análisis de los datos .....	32
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	33
5.1	Cuantificación de la promoción del crecimiento vegetal de las cepas halófilas .....	33
5.1.1	Clasificación por su tolerancia a NaCl.....	33
5.1.2	Producción de Ácido Indol-3-Acético (AIA).....	34
5.1.3	Solubilización de fosfatos.....	43
5.1.4	Fijación de nitrógeno.....	44
5.2.	Efecto de las bacterias halófilas y la fertilización química sobre el crecimiento en plantas de maíz bajo condiciones de salinidad .....	46

5.2.1 Efecto de las diferentes concentraciones de salinidad sobre la germinación y desarrollo del híbrido comercial ZR-76 .....	46
5.3 Efectos morfológicos en los diferentes tipos de maíz como respuesta a la salinidad, a la inoculación de bacterias halófilas y a la fertilización química. ....	48
5.3.1 Altura de la planta.....	48
5.3.2 Diámetro del tallo.....	53
5.3.3 Longitud de la raíz .....	56
5.3.4 Porcentaje de materia seca aérea .....	58
5.3.5 Porcentaje de materia seca radical .....	59
5.3.6 Determinación de la conductividad eléctrica del suelo utilizado después del experimento.....	65
5.4 Efecto de las bacterias halófilas y la fertilización química sobre las variables fisiológicas en diferentes tipos de maíz bajo condiciones de salinidad. ....	68
5.4.1 Contenido de antocianina .....	68
5.4.2 Contenido de clorofila.....	70
5.4.3 Contenido de prolina.....	72
5.4.4 Contenido de azúcares totales solubles.....	75
VI. CONCLUSIÓN.....	78
VII. PERSPECTIVAS.....	80
VIII. LITERATURA CITADA.....	81

## LISTAS DE CUADROS

Cuadro 1. Características principales utilizadas para diferenciar suelos salinos y sódicos (según el servicio de conservación de recursos naturales), criterio considerado en la taxonomía del suelo. ....	5
Cuadro 2. Datos de los suelos de México con mayor y menor superficie en la disminución de la fertilidad y la salinización y alcalinización en miles de hectáreas y porcentaje (SEMARNAT, 2012).....	6
Cuadro 3. Ejemplos de clasificación de extremófilos .....	17
Cuadro 4 Bacterias halófilas promotoras del crecimiento vegetal en maíz bajo condiciones de estrés por salinidad .....	21
Cuadro 5. Factores y niveles de los tratamientos utilizados.....	30
Cuadro 6 Actividades promotoras del crecimiento vegetal de las bacterias halófilas estudiadas .....	36

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa Agrícola de afectación por salinidad en México (SADER, 2021).....	7
Figura 2. Estrés abiótico y biótico en las plantas. (Ahmad et al., 2017). .....	13
Figura 3. Ciclo del maíz y su afectación por la salinidad. (de Rosa et al., 2020) .....	14
Figura 4. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal relacionadas con la tolerancia a la sal y su papel en la tolerancia (Miller y Nielsen 2021) .....	16
Figura 5. Clasificación de microorganismos según su requerimiento de salinidad (Gaffney et al., 2021; Oren, 2008).....	19
Figura 6. Mecanismos utilizados por las BPCV halófilas para disminuir el efecto inhibitorio del crecimiento vegetal por la salinidad (Arora et al., 2012; Yildirim et al., 2008).....	23
Figura 7. Crecimiento in vitro de las bacterias halófilas estudiadas, para su clasificación de acuerdo a la concentración de salinidad evaluada, NaCl: a) 0.5M, b) 2M y c) 3M. ....	34
Figura 8. Evaluación de la germinación con tolerancia a la salinidad (NaCl) en híbrido de maíz comercial ZR-76. Con diferentes concentraciones de NaCl (Tukey, $p \leq 0.05$ ) .....	46
Figura 9. Desarrollo de coleóptilos de las semillas de maíz germinadas bajo diferentes concentraciones de NaCl.....	47
Figura 10. Altura de las plantas de maíz en condiciones de estrés por salinidad (0 mM, 50 mM, 100 mM y 200 mM de NaCl) a los 32 días.....	47
Figura 11 Plantas evaluadas durante 32 días para determinar la susceptibilidad a la salinidad en diferentes concentraciones de NaCl.....	48
Figura 12 Efectos de las bacterias halófilas ( <i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277, <i>B. stratosphericus</i> CPO 4.278 y <i>N. drentensis</i> CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz línea CML 451, evaluando la altura de la planta, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). .....	49

- Figura 13 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz híbrido ZR-76, evaluando la altura de la planta, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barraras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). ..... 50
- Figura 14. Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz criollo San Pableño amarillo, evaluando la altura de la planta, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barraras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). ..... 51
- Figura 15 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz línea CML 451, evaluando el diámetro del tallo, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barraras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). ..... 53
- Figura 16 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz híbrido ZR-76, evaluando el diámetro del tallo, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barraras por los días después de la inoculación en cada

	concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). .....	54
Figura 17.	Efectos de las bacterias halófilas ( <i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277, <i>B. stratosphericus</i> CPO 4.278 y <i>N. drentensis</i> CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz criollo San Pableño amarillo, evaluando el diámetro del tallo, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barraras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). .....	55
Figura 18	Efectos de las bacterias halófilas ( <i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277, <i>B. stratosphericus</i> CPO 4.278 y <i>N. drentensis</i> CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo), evaluando la longitud de la raíz a los 40 días, con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barraras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). .....	57
Figura 19	Efectos de las bacterias halófilas ( <i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277, <i>B. stratosphericus</i> CPO 4.278 y <i>N. drentensis</i> CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo), evaluando el porcentaje de materia seca aérea a los 40 días, con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barraras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). .....	59
Figura 20	Efectos de las bacterias halófilas ( <i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277, <i>B. stratosphericus</i> CPO 4.278 y <i>N. drentensis</i> CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo), evaluando el porcentaje de materia seca radicular a los 40 días, con riegos de diferentes concentraciones de	

- NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barraras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). ..... 61
- Figura 21 Efecto del estrés salino en plantas de maíz, con cinco tratamientos, Control, Fertilizante (18-46-00), *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278, *Bacillus* sp. CPO 4.277 y *Neobacillus drentensis* CPO 4.261) (horizontal) y tres niveles de salinidad NaCl, 0 mM, 100 mM y 200 mM de NaCl (Vertical) en la línea tolerante a la salinidad CML451 ..... 63
- Figura 22 Efecto del estrés salino en plantas de maíz, con cinco tratamientos, Control, Fertilizante (18-46-00), *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278, *Bacillus* sp. CPO 4.277 y *Neobacillus drentensis* CPO 4.261) (horizontal) y tres niveles de salinidad NaCl, 0 mM, 100 mM y 200 mM de NaCl (Vertical) en híbrido comercial ZR-76. .... 64
- Figura 23 Efecto del estrés salino en plantas de maíz, con cinco tratamientos, Control, Fertilizante (18-46-00), *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278, *Bacillus* sp. CPO 4.277 y *Neobacillus drentensis* CPO 4.261) (horizontal) y tres niveles de salinidad NaCl, 0 mM, 100 mM y 200 mM de NaCl (Vertical) en criollo San Pablito amarillo..... 65
- Figura 24 Evaluación de la Conductividad eléctrica de suelos que fueron medidos después del estrés salino con diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) y cinco tratamientos (Control, Fertilizante (18-46-00), *Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) en tres tipos de maíz (línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo). Letras diferentes encima del diagrama de barraras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). .... 66
- Figura 25 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo), con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Evaluando la producción

	de Antocianina después de los 40 días. Letras diferentes encima del diagrama de barraras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (Tukey, $p \leq 0.05$ ).....	69
Figura 26.	Efectos de las bacterias halófilas ( <i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277, <i>B. stratosphericus</i> CPO 4.278 y <i>N. drentensis</i> CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo), con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Evaluando Clorofila Total después de los 40 días. Letras diferentes encima del diagrama de barraras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (Tukey, $p \leq 0.05$ ). ....	71
Figura 27.	Efectos de las bacterias halófilas ( <i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277, <i>B. stratosphericus</i> CPO 4.278 y <i>N. drentensis</i> CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo), con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Evaluando la producción Prolina en hojas después de los 40 días. Letras diferentes encima del diagrama de barraras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). ....	73
Figura 28	Efectos de las bacterias halófilas ( <i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277, <i>B. stratosphericus</i> CPO 4.278 y <i>N. drentensis</i> CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo), con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Evaluando la producción Prolina en raíz con respecto a las variables fisiológicas después de los 40 días. Letras diferentes encima del diagrama de barraras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (Tukey, $p \leq 0.05$ ). ....	74
Figura 29	Efectos de las bacterias halófilas ( <i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277, <i>B. stratosphericus</i> CPO 4.278 y <i>N. drentensis</i> CPO 4.261) y fertilizante,	



sobre el crecimiento de tres cultivos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo), con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Evaluando la acumulación de Azúcares solubles después de los 40 días. Letras diferentes encima del diagrama de barras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). ..... 76

## I. INTRODUCCIÓN

La salinidad en el suelo es un estrés abiótico a los que se enfrenta la agricultura de todo el mundo, ya que afecta a casi todas las funciones de la planta; al provocar cambios fisiológicos y bioquímicos en el metabolismo de las plantas, que determinan su subsistencia y productividad (Lamz-Piedra y González-Cepero, 2013). Los suelos salinos se concentran en áreas de riego en zonas áridas, las cuales ocupan el 60% de la superficie del país. Este proceso se acelera con el uso de aguas ricas en sales y un manejo inadecuado de los suelos, lo que desencadena un deterioro progresivo, y por lo tanto, disminución en la producción y calidad de las cosechas por deficiencia de nutrientes (Bayuelo-Jiménez *et al.*, 2002) (Zamudio-González *et al.*, 2004; Lakhdar *et al.*, 2009). En México la afectación por salinidad de la superficie agrícola es de 2.43 millones de ha (25.1 %) (SADER, 2021), en tanto que, el estado de Campeche es de 0.0963 millones de ha (0.1 %) (SEMARNAT, 2003).

El maíz es uno de los cultivos más sensibles a la salinidad, ya que es afectado a nivel osmótico, por la toxicidad de iones específicos y trastornos nutricionales que causan afectaciones en su morfología, metabolismo y crecimiento (Velázquez-Ventura *et al* 2020). Por lo tanto, es importante buscar alternativas de producción en este cultivo debido al creciente incremento de suelos salinos a nivel nacional. En este sentido, las bacterias halófilas son microorganismos amantes de la sal que crecen en ambientes salinos (hipersalinos). Estos microorganismos han desarrollado múltiples mecanismos que le permiten promover el crecimiento vegetal de las plantas a pesar de la salinidad como son el ajuste osmótico por la homeostasis iónica y la acumulación de osmolitos, la protección contra estrés oxidativo mediante la eliminación de radicales libres por la producción de enzimas antioxidantes, reducir los niveles de producción de etileno, la síntesis de fitohormonas, aumento de la disponibilidad de nutrientes mediante la solubilización de minerales (P, K y Zn) y la producción de ácidos orgánicos (Ali *et al* 2014; Goswami *et al* 2014; Mishra *et al.*, 2021; Saghafi *et al.*, 2019). Por lo tanto, estas bacterias pueden ser utilizadas como inoculantes microbianos, ya que tienen la capacidad de colonizar la rizósfera y endorrizósfera de plantas en suelos con condiciones de alta salinidad y beneficiarla directa e indirectamente (Glick 2004; Shrivastava y Kumar, 2014; Goswami

*et al* 2014). En este sentido, Ullah y Bano (2015) reportaron que la coinoculación de *Bacillus* sp. y *Arthrobacter pascens* en maíz bajo condiciones de estrés por salinidad aumento la longitud de brotes y raíces y biomasa aérea y radicular y contenido de azúcares, en tanto que, se observó una disminución en la acumulación de osmolitos y prolina, También, reportaron el aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, la peroxidasa, la catalasa y la ascorbato peroxidasa. En estudios recientes se evaluó el efecto promotor de crecimiento de la cepa *Metabacillus dongyingensis* sp. nov. BY2G20, sobre *Zea mays* bajo condiciones de salinidad, encontrando que la cepa es capaz de producir ácido indol-3-acético (AIA) *in vitro*, y además, promueve significativamente la altura de la planta, el diámetro del tallo, la biomasa seca y la biomasa fresca, en comparación con el control sin inoculación (Yin et al., 2022). En ese contexto, previamente se aislaron un total de 39 bacterias halófilas a partir de suelos salinos de la Reserva de la Biosfera de los Petenes, las cuales presentaron importantes actividades biofertilizantes *in vitro* para solubilizar fosfatos, fijar nitrógeno y producir ácidos orgánicos mediante pruebas cualitativas (Magaña, 2021), sin embargo, no se ha determinado de manera cuantitativa y mucho menos se evaluado su efecto en plantas de maíz. Por lo que el objetivo de este trabajo es determinar el efecto de la inoculación de bacterias halófilas sobre el crecimiento vegetal de *Zea mays* bajo condiciones de estrés abiótico por salinidad

## II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### 2.1 Objetivo general

Determinar el efecto de la inoculación de bacterias halófilas sobre el crecimiento vegetal de *Zea mays* bajo condiciones de estrés abiótico por salinidad

### 2.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar y seleccionar *in vitro* a las mejores bacterias halófilas promotoras del crecimiento vegetal.
2. Determinar el efecto promotor del crecimiento vegetal de las bacterias halófilas sobre el crecimiento del maíz.
3. Determinar los efectos fisiológicos y bioquímicos de la inoculación de las bacterias halófilas en respuesta a la salinidad.

### 2.3 Hipótesis

La inoculación con bacterias halófilas promoverá el crecimiento vegetal del maíz y disminuirá los efectos negativos provocados por el estrés salino.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 Salinización

La salinización del suelo es un problema mundial que afecta a 831 millones de hectáreas de tierra cultivable y provoca pérdidas anuales de cultivos por valor de aproximadamente 27,300 millones de USD (Butcher *et al.*, 2018). Las predicciones futuras proyectan que la salinización afectará el 50% de todas las tierras de cultivo para 2050 (Wangxia-Wang *et al.*, 2003). El grado cada vez mayor de salinización del suelo tendrá efectos marcados tanto en la producción mundial de alimentos como en las ganancias agrícolas. Como tal, es importante comprender los impactos de la salinidad del suelo en los cultivos de campo para mantener la productividad y reducir las pérdidas económicas atribuidas a la salinización. (Butcher *et al.*, 2018)

La salinización del suelo es la acumulación de sales en el suelo hasta el punto de limitar el crecimiento de las plantas (Rengasamy 2006), por su efecto tóxico y la disminución del potencial osmótico del suelo (Leidi y Pardo, 2002). La salinidad del suelo es atribuible a la presencia de solutos inorgánicos, principalmente metales alcalinos y alcalinotérreos como sodio y calcio, y aniones asociados: cloruro, sulfato y carbonato (Litalien y Zeeb, 2020). Uno de los efectos que más se tienen evidencias del estrés salino es la reducción en la capacidad de absorción de agua, que se manifiesta como los efectos del estrés hídrico: pérdida de turgencia y reducción de expansión foliar. Una célula vegetal expuesta a un medio salino equilibra su potencial hídrico perdiendo agua, lo que produce la disminución del potencial osmótico y de turgencia (Hasegawa *et al.*, 2000). En un suelo salino, la elevada concentración de iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  (o  $\text{SO}_4^{2-}$ ), produce una interferencia en la absorción de nutrientes ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) e impide la captación de los mismos, al tiempo que pueden alcanzar niveles citosólicos tóxicos para el metabolismo celular (Almeida-Machado y Serralheiro 2017).

##### 3.1.1 Suelos salinos

Los suelos salinos, son aquellos que contienen una elevada concentración de sales solubles que reducen el crecimiento de los cultivos, y poseen una conductividad eléctrica (CE) y un extracto saturado igual o mayor a 4  $\text{d}^{\text{S}}/\text{m}$  (equivalente a 40 mM NaCl) y un

porcentaje de sodio intercambiable de menos del 15% (Delgado-González *et al.*, 2022). La solubilidad de las sales es una propiedad muy importante, a mayor concentración de sales disueltas, el efecto será más nocivo para los cultivos ya que dan lugar altas soluciones salinas, en cambio, las sales menos solubles precipitan antes de alcanzar los niveles perjudiciales (Proaño *et al.* 2004). Se identifican como sales solubles a todo compuesto químico e inorgánicos más solubles que el sulfato de calcio, cuya solubilidad es de 0.241 gramos en 100 mililitros de agua a 0 °C. Tal es el caso del cloruro de sodio (NaCl), que es 150 veces más soluble que el sulfato de calcio (López-Falcón, 2002), por lo que esta sal, es la causa más frecuente de salinidad, aunque los suelos salinos suelen presentar distintas combinaciones de sales, como los cloruros y los sulfatos de Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> Mg<sup>2+</sup> (Lamz-Piedra y González-Cepero 2013). En suelos salinos los más importantes son el sulfato magnésico, sulfato sódico y cloruro sódico. Posteriormente, se encuentran por su importancia: carbonato sódico y cloruro magnésico (Proaño *et al.*, 2004). Las sales son utilizadas por las plantas como nutrientes, de forma selectiva y preferente, sin embargo, los problemas surgen cuando rebasan ciertos límites de concentración que pueden ocasionar daños en el desarrollo de las plantas (porcentaje de sodio de intercambio del suelo PSI>40%, cloruro 40 meq/l) (Lamz-Piedra y González-Cepero, 2013), en la calidad del cultivo o el rendimiento (González *et al.*, 2000). En los ecosistemas terrestres existen tres tipos más comunes de salinidad del suelo (Cuadro 1). Entre los principales factores se encuentra, la conductividad eléctrica (EC e), su reacción de pH y el índice de porcentaje de sodio intercambiable (ESP). (Horney *et al.*, 2005).

Cuadro 1. Características principales utilizadas para diferenciar suelos salinos y sódicos (según el servicio de conservación de recursos naturales), criterio considerado en la taxonomía del suelo.

Suelos	EC e	pH	ESP
<b>Suelos salinos</b>	>4 mS/cm	<8.5	<15
<b>Salino-alcálico o salino-sódico</b>	>4 mS/cm	<8.5	>15
<b>Suelos alcalinos o sódicos</b>	>4 mS/cm	>8.5	>15

Actualmente, no existe evaluaciones generales actualizadas de las áreas con suelos afectados por la salinidad en México, las estimaciones aproximadas indican que entre el 10% y el 20% (0.6-1.2 millones de ha) del área total irrigada están afectados por algún grado de salinidad o sodicidad. En algunos sistemas de riego del norte de México, con clima más árido y agua de riego más salina, el área afectada puede aumentar a 30-40% de la superficie de la tierra. Además, alrededor de 1 millón de hectáreas de tierras naturales son afectadas por la salinidad, principalmente en cuencas cerradas, zonas áridas y áreas costeras (Pla-Sentís, 2021). SEMARNAT 2012 reporto un 17.8 % de suelos salinos (0.6%) y la disminución de la fertilidad (16.6 %) a nivel nacional y estatal tal como muestra el Cuadro 2

Cuadro 2. Datos de los suelos de México con mayor y menor superficie en la disminución de la fertilidad y la salinización y alcalinización en miles de hectáreas y porcentaje (SEMARNAT, 2012).

<b>Estado</b>	<b>Disminución de la fertilidad</b>		<b>Salinización – Alcalinización</b>	
	Superficie (miles de hectáreas)	%	Superficie (miles de hectáreas)	%
<b>Tamaulipas</b>	1201.11	16.1	145.56	1.9
<b>Baja California</b>	111.72	1.6	98.15	1.4
<b>Chiapas</b>	2,330.24	25.5	25.22	0.4
<b>Nayarit</b>	507.71	18.7	14.97	0.5
<b>Guanajuato</b>	658.20	22.2	97.39	3.3
<b>Sonora</b>	564.53	3.2	307.25	1.7
<b>Sinaloa</b>	1,410.84	26.5	193.98	3.6
<b>Veracruz</b>	2,120.17	31	10.9	0.2
<b>Campeche</b>	1,401.18	25.5	4.31	0.1
<b>Total</b>	31,604.37	16.6	34,042.55	17.8

Muestreos recientes en suelos salinos de México con diferentes medidas de profundidad, indicó que la sodicidad se encontró ampliamente debido a los sistemas de riego a una profundidad de 0-30 cm. Se ha reportado 3.43 millones de ha afectadas levemente por

sodio, representando una tercera parte (34.9%) de la agricultura de riego. En un suelo con salinidad fue de 2.43 millones de ha, representando el 25.1% de la superficie del riego agrícola. A una la profundidad de 30-100 cm, se encontró un aumento de la presencia de sales. Así mismo se reportó que en la agricultura de temporal sólo 1.75 millones de ha presentaron sodicidad leve y una superficie de 3.47 millones de ha presentó salinidad leve, lo que resulta a casi una quinta parte (19.7%) de la agricultura en México. (Figura 1) (SADER, 2021).

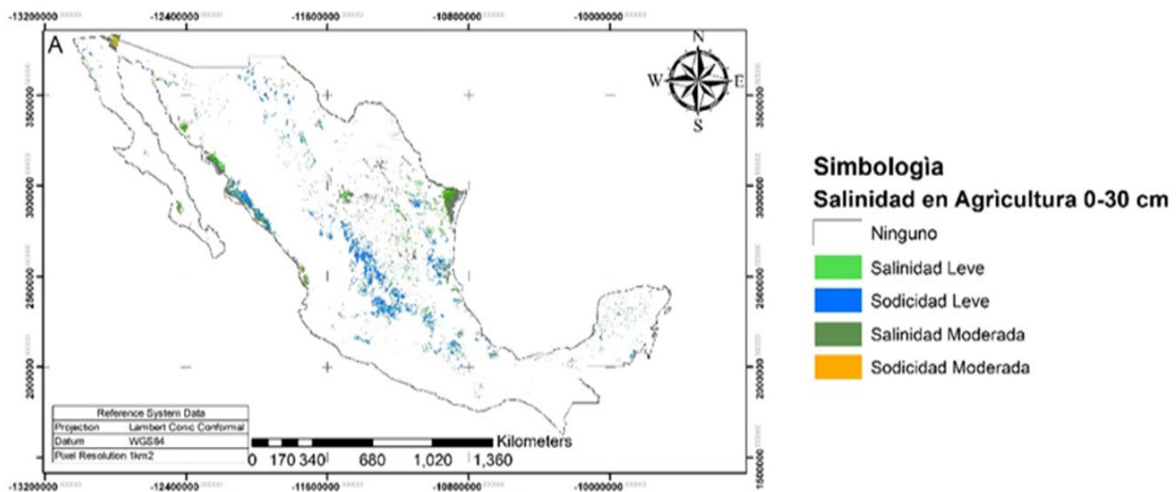


Figura 1. Mapa Agrícola de afectación por salinidad en México (SADER, 2021)

### 3.1.2 Relación fertilización-salinización

Es fundamental para la producción agrícola sustentable el uso correcto en la nutrición óptima de los cultivos. En la mayoría de los suelos, particularmente en los calcáreos, los nutrientes están poco disponibles debido a la fijación y al alto pH del suelo. Además, la tasa de agotamiento de los nutrientes de los suelos a menudo supera la de los insumos de fertilizantes. En condiciones de salinidad, la fertilización es un desafío y puede conducir a una mejora o deterioro de la tolerancia a la sal de las plantas (Hatam *et al.*, 2019). La información sobre la relación fertilidad-salinidad hasta el momento son contradictorios. Se han registrado efectos positivos y negativos de la fertilización sobre la tolerancia a la salinidad (Kütük *et al.*, 2004). Por ejemplo, se han informado interacciones similares entre la salinidad y la nutrición mineral en los rendimientos y la



absorción de nutrientes para diferentes cultivos en riego salino, donde la aparente tolerancia a la sal de los cultivos agrícolas varía con el nivel de fertilidad del suelo.

Irshad et al., (2002) realizaron un estudio donde se observó un aumento aparente en la tolerancia a la sal cuando se suministró fertilizante nitrogenado en condiciones salinas y se ha sugerido que el aumento de la fertilización puede superar algunos de los efectos inhibidores de la salinidad. En donde el crecimiento del maíz fue mejor con fertilizante de urea que con estiércol compostado. La absorción de nutrientes también se vio afectada por la salinidad y la forma de fertilizante aplicada. La absorción de calcio, magnesio y sodio por parte de los brotes aumentó con el aumento del nivel de salinidad, independientemente del nivel de fertilizante. Sin embargo, los factores involucrados en las interacciones salinidad-fertilidad no se comprenden bien. En contraparte Papadopulos y Rendig (1983) realizó un estudio en el cual demostró que a los niveles de salinidad inicial más altos de 5 y 9 dS/m, el aumento de N fue ineficaz para contrarrestar los efectos adversos sobre el crecimiento y el rendimiento causados por la presencia de concentraciones mejoradas de sal en la solución nutritiva. La absorción total de N se correlacionó linealmente con la absorción total de agua y fue severamente suprimida por el deterioro del crecimiento asociado con los dos niveles iniciales más altos de salinidad, independientemente de los niveles de N.

También, se ha reportado que, con niveles de salinidad bajos a moderados, resulta una mejora en el rendimiento con fertilización y agua en el suelo. Sin embargo, la fertilización es ineficaz para mejorar el rendimiento de los cultivos con altos niveles de concentración de salinidad en el suelo (Devkota *et al.*, 2022). Previos reportes indican una reducción del rendimiento debido a la alta presión osmótica en la zona de la raíz de los cultivos (Rengasamy 2010; Steppuhn *et al.*, 2005; Dong *et al.*, 2010). También se han registrado efectos específicos inducidos por la salinidad como: trastornos nutricionales y diversos síntomas de daño en el tejido vegetal (Muchate *et al.* 2019). La concentración deseada de elementos nutrientes en el suelo suele estar muy por debajo del nivel necesario para causar un efecto de salinidad. Sin embargo, la aplicación excesiva de fertilizantes, particularmente de N y K, debido a su alta solubilidad, puede resultar en una acumulación de salinidad en el suelo. Esto suele reflejarse en una disminución del rendimiento cuando

los niveles de fertilizante exceden los valores óptimos. La presencia simultánea de sales y elementos nutrientes en la zona de la raíz puede influir en la absorción de iones por las plantas y afectar su composición química. Los efectos sinérgicos y antagónicos pueden aumentar o disminuir la intensidad de estos procesos (Almeida-Silva *et al.*, 2019), como es el efecto de iones específicos, los trastornos nutricionales, como la deficiencia de Ca, pueden crearse o corregirse, según las condiciones específicas. El equilibrio catión-anión también puede verse afectado. El nivel de fertilidad del suelo puede afectar la tolerancia a la salinidad a través de su efecto sobre el crecimiento y la actividad de las raíces. Finalmente, dado que tanto la salinidad como la baja fertilidad son factores limitantes importantes del crecimiento, la moderación o eliminación de un factor puede afectar la respuesta del cultivo (Feigin 1985).

### **3.1.3. Efecto de la salinización en las plantas**

Los cultivos responden de diferente manera a la salinidad, unos producen rendimientos aceptables a niveles altos y otros son sensibles a niveles relativamente bajos. La diferencia se debe a la mejor capacidad de adaptación osmótica que tienen algunos cultivos, lo que les permite absorber, bajo condiciones de salinidad, una mayor cantidad de agua (Proaño *et al.*, 2004). El daño por el exceso de sales en las plantas, varía según el estado fenológico, la composición iónica del suelo y el estado de salud general de las plantas (Khan *et al.*, 2009). Normalmente es más perjudicial en las plantas jóvenes y puede retrasar varios días la germinación o inhibirla completamente (López-Falcón, 2002). La salinidad puede inhibir el crecimiento de la planta y reducir la productividad (Dell'Amico y Parra, 2005), principalmente por tres factores: estrés hídrico, toxicidad ion específica, y desbalance nutricional. Como consecuencia de la combinación de estos tres, se manifiesta un cuarto factor que es el incremento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Lamz y González, 2013; Carranza *et al.*, 2009).

El estrés hídrico debido a la presencia en exceso de solutos en la solución del suelo produce una disminución del potencial osmótico (Lamz y González, 2013). La alta concentración de sales aumenta la fuerza que mantienen el agua en el suelo y hace más difícil la extracción por las raíces de las plantas, al existir un aumento de sales en el suelo, alcanzan niveles tan altos que pueden llegar a deshidratarse y morir (López-

Falcón, 2002). Algunas plantas presentan toxicidad a iones específicos, los más comunes son el Cloro (Cl), Sodio (Na) y boro (B), los efectos tóxicos pueden ser causados por un ion individualmente o en combinación con otros (López-Falcón, 2002). Generalmente, las plantas absorben los iones y los acumulan en los tejidos foliares; cuando esta acumulación excede ciertos niveles se presenta daño, el cual a su vez va a depender del tiempo de la concentración, por la sensibilidad del cultivo y por el uso de agua (García, 2012).

El desbalance nutricional debido al desequilibrio iónico por la acumulación excesiva de iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}$  se reduce la captación de otros nutrientes minerales tales como  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , y  $\text{Mn}^{2+}$ , lo cual produce una inactivación de enzimas y efectos nocivos en los procesos metabólicos de los cultivos (Lamz y González, 2013). Altas concentración de sodio inhiben la absorción de nutrientes directamente por interferencia con transportadores en la membrana plasmática de la raíz, tales como los canales selectivos de  $\text{K}^+$  (Goykovic-Cortés y Saavedra del Real, 2007). La toxicidad iónica, estrés hídrico y deficiencias nutricionales ocasionan como resultado desequilibrios metabólicos y como consecuencia un estrés oxidativo. La presencia de ROS, tales como  $\text{H}_2\text{O}_2$  (peróxido de hidrógeno),  $\text{O}_2^-$  (superóxido) y  $\text{OH}$  (radicales hidroxilos), pueden causar en las plantas reacciones fitotóxicas como la peroxidación de lípidos, degradación de proteínas y mutaciones en el ADN (Lamz y González, 2013). El efecto general de la salinidad es la reducción de la tasa de crecimiento, afectando el tamaño y número de hojas, así como la altura.

Otra respuesta fisiológica es la disminución de la conductancia estomática; de esta forma se reduce la transpiración evitando la sequía fisiológica para mantener la turgencia de las células. La reducción implica el cierre de estomas lo que reduce el ingreso de  $\text{CO}_2$  inhibiendo la fotosíntesis, lo que ocasiona la disminución de la producción de biomasa en semillas, hojas tallos y raíces, relacionados con la longitud de las plantas y el área foliar (Carranza *et al.*, 2009). Lesmes *et al* 2007 menciona que un aumento y acumulación de sales en las hojas induce la pérdida de pigmentos y provoca una senescencia. Por otra parte, el estrés causado por el exceso de sales, produce un desbalance en la cantidad de etileno contenido en los tejidos vegetales, el incremento de esta fitohormona puede inhibir el crecimiento de la raíz, el tallo y en general el crecimiento vegetal

(Siddiquee *et al.*, 2011). Por lo tanto, la salinidad afecta significativamente el crecimiento de las plantas.

### **3.2 Importancia del maíz y su diversidad**

El maíz (*Zea mays* L.) es el cereal de mayor producción a nivel mundial, por encima del trigo (*Triticum aestivum* L.) y el arroz (*Oryza sativa* L.). México es considerado el centro de origen del maíz (Aragón-Cuevas *et al.*, 2005), ya que este cereal constituye la base de la dieta humana. Por su gran aporte de energías y proteínas (Domínguez-mercado *et al.*, 2014) se utiliza en la industria alimentaria, combustibles y como materia prima para diversos productos a nivel industrial. También, tiene una profunda relevancia étnica y cultural entre las poblaciones indígenas de las regiones de América latina (Gálvez-Ranilla, 2020). A pesar de la importancia del maíz, México no es el principal productor de maíz del mundo, el 57.35% de la producción mundial se concentra en dos países, Estados Unidos de Norte América (31%) y China (22%). A diferencia de México, EE. UU. basa su productividad en el uso de variedades de maíz transgénico, que brindan mayores rendimientos en campo que las variedades convencionales, lo que permite a EE. UU tener rendimientos superiores a las 10 t/ha, mientras que en México se obtiene en promedio 3.33 t/ha (Santillán-Fernández *et al.*, 2021).

En México en los últimos años se cultivaron cerca de 8 millones de hectáreas, lo que cubre al 100% del maíz requerido para la demanda interna del grano blanco utilizado para la alimentación de la población. Sin embargo, en lo que respecta al maíz amarillo, existe un gran déficit en la producción, ya que anualmente, se cultiva alrededor de 1 millón de hectáreas con una producción de 10 millones de toneladas, mientras que la demanda de este grano es de 20 millones de toneladas anuales utilizados para la producción de alimentos para animales (SAGARPA, 2018). En el estado de Campeche se cultiva maíz en una superficie cercana a las 150,000 ha, cerca del 90% de grano blanco y solo el 10% de grano amarillo con un total de 34,872 agricultores registrados, para quienes este cultivo es una importante fuente de ingresos. Los datos estadísticos indican que el maíz ocupa el primer lugar en la producción agrícola estatal, con un valor del 53 % de producción (Medina-Méndez *et al.*, 2019).

### **3.2.1 Principales variedades de maíz utilizadas en América Latina y la Península de Yucatán**

En América Latina se han descrito cerca de 220 razas de maíz de las cuales 64 (29%) se han identificado como mexicanas. En México se reportan 59 razas que se pueden considerar nativas y cinco que fueron descritas inicialmente en otras regiones de Cuba y Guatemala (Biodiversidad Mexicana, 2012; Serratos-Hernández, 2009).

Por lo tanto, en la Península de Yucatán, existen poblaciones nativas de maíz que están constituidas de variaciones morfológicas que van desde las formas precoces de la raza Nal-Tel a las tardías de las razas Tuxpeño y Dzit-Bacal (Burgos et al 2004). En previas exploraciones etnobotánicas se encontró que las muestras de las razas Tuxpeño representan el 50.8% de las poblaciones colectadas; las de Dzit-Bacal el 24.4%, X-mejen-nal el 13.4% y el Nal-Tel el 5.5%. También, se encontraron poblaciones derivadas de maíces mejorados (5.75%) adaptados a los agroecosistemas de cultivo tradicional (Dzib-Aguilar *et al.*, 2016), por ejemplo, las razas Llera y Lera II y Lera III, de la raza Tuxpeño, Leca probablemente de la raza Celaya y Cafime de la raza Bolita (todas ellas del IIA). También, el Centro de Investigación Regional (CIR) Golfo Centro, produjo las variedades de polinización libre (V, también abreviadas en este escrito como VPL): V-520 y V-520C (Capitain), ambas de la raza Tuxpeño, de la OEE (Márquez-Sánchez, 2008).

### **3.2.2 Problemas abióticos que afectan al maíz**

Cuando existen diferentes factores ambientales o antropogénicos interfieren con la expresión del genotipo de las plantas, la condición se denomina estrés. Los estreses se clasifican ampliamente en estrés abiótico y biótico. Los estreses abióticos son causados por factores físicos/químicos a tal nivel que pueden afectar el crecimiento y la productividad de las plantas. Algunos de los parámetros fisicoquímicos importantes son la temperatura, la salinidad, la sodicidad, las radiaciones, la sequía, las inundaciones, la concentración de CO<sub>2</sub>, etc. Las plantas son muy propensas a diversas condiciones de estrés y si continúan durante un período prolongado, pueden afectar en gran medida el crecimiento de la planta y la productividad. (Figura 2) (Ahmad *et al.*, 2017).

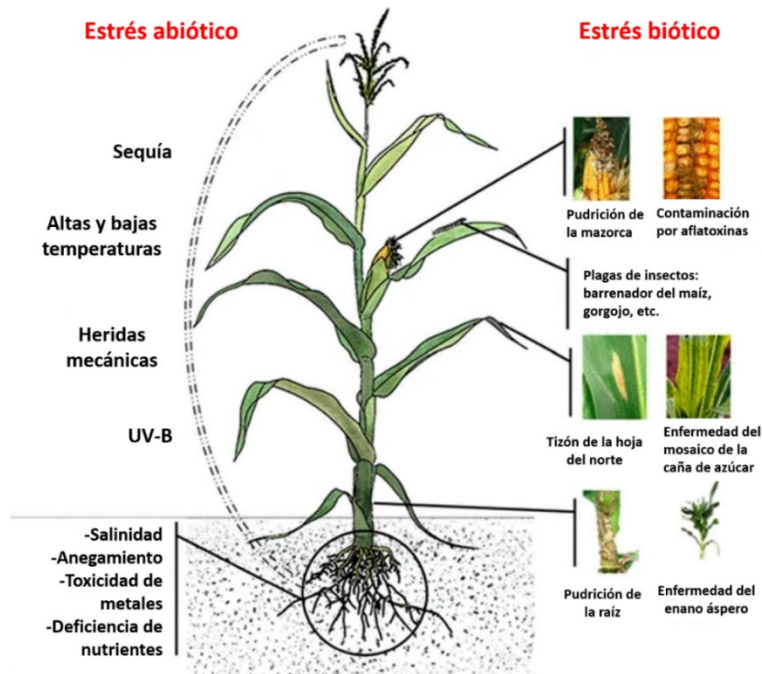


Figura 2. Estrés abiótico y biótico en las plantas. (Ahmad et al., 2017).

Los principales efectos de la salinización y/o sodificación en plantas de maíz son un alto estrés osmótico debido al bajo potencial hídrico externo, toxicidad iónica por sodio y/o cloruro, o nutrición desequilibrada debido a la interferencia con la absorción y transporte de nutrientes esenciales (Farooq *et al.*, 2009). Las altas concentraciones de sales en los suelos como sodio y cloruro interfieren en la disponibilidad de otros elementos esenciales como el calcio y el potasio (Munns *et al.*, 2006). Los niveles tóxicos de sodio y sales en los tejidos de las plantas dañan las membranas y los orgánulos subcelulares, lo que provoca un desarrollo anormal y la mortalidad de las plantas. Por lo tanto, afecta todas las etapas de crecimiento y desarrollo del maíz, perjudicando la germinación y el crecimiento de las plántulas al crear un ambiente inadecuado, afectando la expansión de hojas y raíces, reduciendo drásticamente la fotosíntesis, el llenado de granos y el rendimiento de granos (Figura 3) (de Rosa *et al.*, 2020). Se sugieren algunos mecanismos para aumentar la tolerancia del maíz a la salinidad. En primer lugar, está la tolerancia osmótica, que está regulada por señalización a larga distancia y reduce el crecimiento de los brotes ante la acumulación de  $\text{Na}^+$ . El segundo mecanismo es la exclusión de iones, donde el sistema de raíces limita el transporte de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , lo que reduce la acumulación de concentraciones tóxicas de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en el vapor y las hojas.

El último de ellos es la tolerancia tisular, con el secuestro de moléculas de sal y su almacenamiento en las vacuolas (Roy *et al.*, 2014).

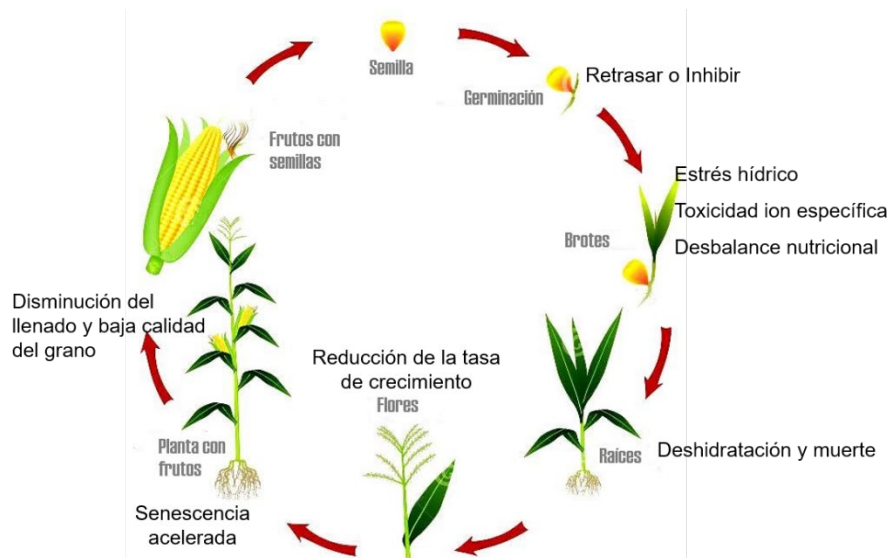


Figura 3. Ciclo del maíz y su afectación por la salinidad. (de Rosa *et al.*, 2020)

La salinidad influye principalmente en la biomasa vegetal y, en última instancia, reduce la producción y la calidad de los cultivos (Yaycili y Alikamanoglu, 2012). Consecuencias de la salinidad en múltiples tipos de cambios bioquímicos y fisiológicos en las plantas. Por lo tanto, las plantas también tienen que avanzar en una amplia variedad de modificaciones fisiológicas, bioquímicas y morfológicas que les permitan evadir o soportar el estrés y resistir. La salinidad comúnmente afecta la pared celular inicialmente, y la pared celular está compuesta por un complejo de celulosa, polisacáridos, proteínas, grasas y compuestos fenólicos también en diferentes etapas de desarrollo.

Uno de los problemas abióticos que enfrenta el cultivo de maíz es la salinización. El maíz ha sido clasificado como uno de los cultivos más sensibles a la salinidad del suelo, con una pérdida de más del 10% de rendimiento en suelos con una conductividad eléctrica superior a 2.5 ms/cm, ya que se estima que el umbral para la reducción del crecimiento se encuentra en 1.7 ms/cm. Se ha reportado que después de estos umbrales, los rendimientos del maíz disminuyen en un 12.0% por aumento de dS/m (Mindari, 2019; Butcher *et al.*, 2018).

Las evaluaciones de genotipos tolerantes se basan en características de germinación y desarrollo de plántulas (Murillo-Amador *et al.*, 2002), sin embargo, también se realizan ensayos de campo y evaluaciones del ciclo completo de la planta, así como la ocurrencia de genotipos de maíz tolerantes a la salinidad (Akram *et al.*, 2010; Corazza da Rosa *et al.*, 2020; Hoque *et al.*, 2015) Se ha visto la necesidad de introducir variedades procedentes del CIMMYT y el uso de híbridos cubanos que ha posibilitado el incremento de la producción, aunque no se cuenta con un germoplasma resistente a la salinidad, por lo cual se ha estado buscando alternativas dado a esto se encuentra entre las demandas del Programa Nacional de Maíz para la obtención de genotipos tolerantes a estreses abióticos (Capote *et al.*, 2008).

### **3.3 Bacteria promotoras de crecimiento vegetal**

En el suelo existen múltiples microorganismos benéficos como son bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios. Las interacciones entre las plantas y los microorganismos benéficos ocurren principalmente en la porción del suelo en estrecho contacto con la raíz conocida como rizósfera (Ramesh *et al.*, 2019). Las bacterias que habitan en la rizósfera y colonizan las raíces de las plantas y que además poseen la capacidad de estimular el crecimiento de las plantas son conocidas comúnmente como Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV), Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (BPCV) o bien PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, por sus siglas en inglés) (Chien, 2009).

El término bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) fue introducido por primera vez en la década de los 70 por Kloepper y colaboradores (Kloepper y Schroth, 1981). Por lo tanto, las BPCV son todas aquellas bacterias de vida libre o simbióticas habitantes en las raíces de las plantas que de cierta manera inciden sobre el crecimiento de éstas de forma directa o indirectamente por medio de mecanismos (Hamdali, 2008). Estos mecanismos incluyen la fijación biológica de nitrógeno (FBN), síntesis de fitohormonas (Fitoestimulación), aumento de la disponibilidad de nutrientes para la planta, por ejemplo, a través de la fijación de nitrógeno, solubilización de P, K y Zn, producción de sideróforos, fitohormonas, enzimas y producción de enzimas y vitaminas (Biofertilización) y la producción de metabolitos antibióticos y antifúngicos (actividad



biocontroladora) (Mushtaq *et al.*, 2021) (Figura 4) (Miller y Nielsen, 2021).. Estas actividades de promoción de crecimiento se reflejan en diversas variables agronómicas, como el incremento de la germinación, emergencia, establecimiento o vigor de las plántulas, proliferación del sistema radical, o incremento en la biomasa de las plantas o en el aumento en el rendimiento de los cultivos (Chien, 2009)

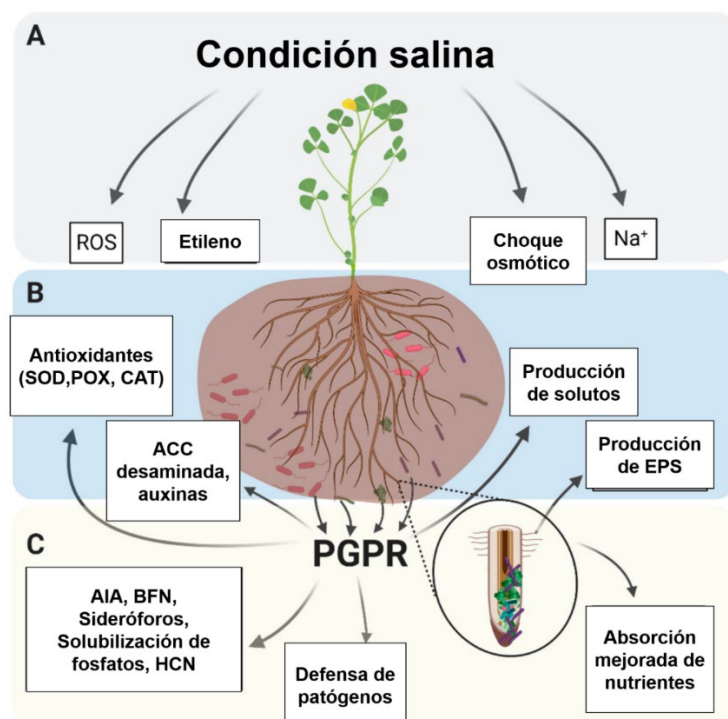


Figura 4. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal relacionadas con la tolerancia a la sal y su papel en la tolerancia (Miller y Nielsen 2021)

### 3.4 Microorganismos en ambientes extremos

Los microorganismos son omnipresentes en la tierra y pueden sobrevivir a diferentes condiciones ambientales, incluidas la escasez geoquímica, física, nutricional y de agua (Singh *et al.*, 2018). Los halófilos emplean la estrategia de la salinidad que mantiene equilibradas las concentraciones de potasio y cloruro en coordinación con el entorno externo de la célula (Capece *et al.*, 2013). Otra de sus propiedades es que secretan una gran variedad de compuestos bioactivos, metabolitos secundarios, vitaminas y son valiosos en la industria y procesamiento de alimentos (Raddadi *et al.*, 2015). También, poseen habilidades únicas para aumentar el rendimiento de los cultivos ya que son

importantes en el ciclo de nutrientes, la producción de biocombustibles y biotensoactivos. Con base en el extremo de los parámetros ambientales, los microorganismos han sido categorizados según el tipo de temperatura, Salinidad, pH, y químicos extremos (Pérez y Sommaruga, 2006; Thakur *et al.*, 2022; Rothschild y Mancinelli, 2001) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Ejemplos de clasificación de extremófilos

<b>Parámetros ambientales</b>	<b>Tipos</b>	<b>Definición de la condición de crecimiento</b>	<b>Ejemplos</b>
<b>Temperatura</b>	Hipertermófilos	>80 °C	<i>Pyrolobus fumarii</i>
	Termófilos	60-80 °C	<i>Synechococcus lividis</i>
	Mesófilos	15-60 °C	<i>Homo sapiens</i>
	Psicrófilo	<15 °C	<i>Psychrobacter</i> , algunos insectos
<b>Salinidad</b>	Halófilos	Prefieren crecer en sal (2-5 M NaCl)	<i>Halobacteriaceae</i> , <i>Dunaliella salina</i>
<b>pH</b>	Alcalófilo	pH>9	<i>Natronobacterium</i> , <i>Bacillus firmus</i> OF4, <i>Espirulina</i> spp. (todo pH 10.5)
	Acidófilo	Prefieren crecer en pH bajo	<i>Cyanidium caldarium</i> , <i>Ferroplasma</i> sp. (ambos pH 0)
<b>Químicos extremos</b>	Metales	Pueden tolerar altas concentraciones de metal (metatolerante)	<i>Ferroplasma acidarmanus</i> (Cu, As, Cd, Zn); <i>Ralstonia</i> sp. CH <sub>3</sub> -4 (Zn, Co, Cd, Hg, Pb)

### 3.4.1 Bacterias halófilas

A pesar de que el cloruro de sodio es conocido como un inhibidor de microorganismos, existen muchos de ellos que al pertenecer a la familia de los extremófilos son capaces de sobrevivir en ambientes con altas concentraciones de sal, los cuales son conocidos como halófilos (Ramírez *et al.*, 2006). Las bacterias halofílicas son un grupo diverso de

microorganismos que habitan en ambientes salinos los cuales pueden ser naturales o artificiales y en donde la concentración de sal es alta (hasta 5 molar o 25 por ciento de NaCl) (Irshad *et al.*, 2014). Constituyen un grupo heterogéneo de microorganismos que incluyen especies pertenecientes a varios géneros, como *Halomonas* y *Salinivibrio*, que han sido estudiados con respecto a su ecología, fisiología, bioquímica y genética (Rohban *et al.*, 2009).

El término halófilo extremo se utiliza para indicar que estos organismos no solamente son halófilos, sino que su requerimiento de sal es muy alto, en algunos casos cercanos a la saturación. Un ejemplo de hábitat extremadamente salino son las salinas marinas: pequeños depósitos llenos con agua de mar que se dejan evaporar, produciendo NaCl y otras sales de valor comercial (Corral *et al.*, 2019). En este sentido, las bacterias halófilas promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) han ganado interés por muchos investigadores en todo el mundo para promover el crecimiento y rendimiento de plantas en suelos salinos (Lubna *et al.*, 2013). Por ejemplo, Zhu *et al.* (2011) aislaron de un entorno salino a la bacteria halófila *Kushneria* sp. CWA18 con alta capacidad de solubilizar fosfatos. Además, Noori *et al.* (2018) aislaron los géneros bacterianos *Klebsiella* sp., *Kosakonia cowanii* y *Rhizobium meliloti* con características de BPCV como solubilización de fosfatos, fijación de nitrógeno, producción de ácido indol-3-acético (IAA), síntesis de sideróforos, producción de HCN y producción de enzimas 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa (ACC). Veinte cepas de *Halomonas*, obtenidas de la rizósfera de la halófita *Salicornia*, fueron capaces de realizar diferentes actividades en la Promoción del crecimiento vegetal (PCV), por ejemplo las cepas *Oceanobacillus picturae* y *Halomonas halophila* en la producción de IAA, las cepas *Halomonas taehungii* y *Halomonas xinjiangensis* en la producción de ACC desaminasa y la solubilización de fosfatos minerales y fijación de nitrógeno in vitro por las cepas *Halomonas elongata*, *H. eurihalina*, *H. indalina*, *Kushneria marisflavi*, *Chromohalobacter canadensis* y *Salicornia brachiata* (Mapelli *et al.*, 2013).

### **3.4.2 Clasificación de las bacterias halófilas de acuerdo a su haloterancia a NaCl**

Kushner 1985 clasificó los microorganismos según su requerimiento de sal. Los verdaderos organismos halófilos requieren obligatoriamente NaCl > 3 M para su

crecimiento, mientras que los organismos halotolerantes no dependen de la sal para su crecimiento, pero son capaces de tolerar concentración de sal ( $\text{NaCl} < 1 \text{ M}$ ). De acuerdo con Gaffney *et al.*, (2021) y Oren, (2008) realizaron una clasificación de los microorganismos que se pueden encontrar en la escala de Kushner 1985 basada en sus requisitos de concentración de sal y resume en la Figura 5.

			<b>HALÓFILOS EXTREMOS</b>
		<b>HALÓFILOS MODERADOS</b>	<i>Halobacterium salinarium</i> <i>Halorhodospira halophila</i>
	<b>HALÓFILOS DEBILES</b>	<i>Salinivibrio costicula</i>	
<b>NO HALÓFILOS</b>	<i>Tenuibacillus multivorans</i>		
<i>Escherichia. coli</i>			
<0.2 M	0.2 – 0.5 M	0.5 – 2.5 M	2.5 – 5.2 M

Figura 5. Clasificación de microorganismos según su requerimiento de salinidad (Gaffney *et al.*, 2021; Oren, 2008).

Los microorganismos halófilos y halotolerantes se adaptan bien a concentraciones de sal más altas; tienen la capacidad de secretar enzimas estabilizadoras para mantener su supervivencia en la salinidad. Aunque la composición intracelular (en virtud de soluto compatible) no se adapta a tolerar el alto contenido de sal; pero fuera de la célula, debería secretar la enzima extracelular adaptada a altas cantidades de salinidad (Mokashe *et al.*, 2018).

### 3.5 Bacterias halófilas como posible herramienta de alivio al estrés abiótico por salinidad

Las BPCV halófilas facilitan el crecimiento de las plantas indirectamente al reducir los patógenos de las plantas, o directamente al facilitar la absorción de nutrientes (Nitrógeno, Fosfatos, Potasio, Zinc, etc.) a través de la producción de fitohormonas (p. Ej., Auxina, citoquinina y giberelinas), mediante la reducción enzimática de los niveles de etileno de las plantas y/o mediante la producción de sideróforos (Kohler *et al.*, 2008), la activación

de la Resistencia Sistémica Inducida por las plantas (ISR) o la Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) y la inhibición de los patógenos vegetales del suelo (Bloemberg y Lugtenberg 2001; Richardson *et al.*, 2009).

De la misma manera, las BPCV halófilas puede inducir una respuesta a factores de estrés abiótico, como sequía, sal y temperaturas extremas, se ha descrito como una forma de tolerancia sistémica inducida (Ngumbi y Kloepper, 2016). Esta tolerancia de las plantas inducida por BPCV halófilas contra el estrés abiótico es de vital importancia para mitigar el impacto negativo del cambio climático en la producción de cultivos (Carlson *et al.*, 2020). Además, la inoculación de las BPCV halófilas en cultivos puede ayudar a mejorar el crecimiento y el rendimiento, particularmente en regiones propensas al estrés salino (Yasmin *et al.*, 2019; Niu *et al.*, 2018).

Se ha documentado que las cepas nativas de BPCV tienen un mejor potencial para mejorar el estrés salino en cultivos regionales con rendimientos sostenibles, debido a que estas cepas nativas están bien aclimatadas a las condiciones autóctonas, claro ejemplo es la de Chu *et al* (2019) donde aislaron bacterias nativas en cultivo de maíz en una solución salina para aislar bacterias halófilas, encontrando que la *Pseudomonas* PS01 es una BPCV y al inocular en cultivo de maíz estas sobrevivieron en condiciones de estrés salino hasta 225 mM de NaCl. Por su parte, Abdel-Latef *et al.* (2020) evaluaron el efecto de la bacteria *Azospirillum lipoferum* y *Azotobacter chroococcum*, la cual promovió el crecimiento vegetal, y además incremento el contenido de pigmentos, proteínas y redujo la salinización en la planta de maíz. Aslam y Ali (2018) aislaron cepas en suelos de *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. que crecen en hábitats salinos, para la producción de auxina, 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC)-desaminasa y formación de biopelículas, las cepas que resultaron con mayor actividad fueron *Staphylococcus jettensis* F-11, *Zhihengliuella flava* F-9 y *Bacillus megaterium* F-58, de igual manera estas cepas fueron evaluadas en macetas de plántulas de *Z. mays*, las cepas bacterianas mitigaron significativamente el estrés por salinidad de las plántulas en un estrés de 200 y 400 mM. Algunos ejemplos se visualizan en el cuadro 4.

Cuadro 4 Bacterias halófilas promotoras del crecimiento vegetal en maíz bajo condiciones de estrés por salinidad

<b>Bacterias</b>	<b>Descripción</b>	<b>Referencia</b>
<b><i>Pseudomonas syringae</i></b> <b><i>Pseudomonas fluorescens</i></b> <b><i>Enterobacter aerogenes</i></b>	Actividad de ACC desaminasa	Nadeem <i>et al.</i> , (2007)
<b><i>Rhizobium</i></b> <b><i>Pseudomonas</i></b>	Disminución de la fuga de electrolitos y aumento de la producción de prolina, mantenimiento del contenido relativo de agua de las hojas y absorción selectiva de iones de K	Bano y Fatima, (2009)
<b><i>Azotobacter chroococcum</i></b>	Producción de exopolisacáridos Aumento del peso seco de raíces y brotes, contenido de clorofila a, b y carotenoides, restricción de la absorción de Na y Cl y aumento de la acumulación de N, P y K en los brotes.	Nemat <i>et al.</i> , (2012)
<b><i>Burkholderia phytofirmans PsJN</i></b> <b><i>Enterobacter sp. FD 17</i></b>	Mezcla de rasgos de PGP Disminución de la concentración de Na en el xilema/mantenimiento del equilibrio de nutrientes dentro de la planta	Akhtar <i>et al.</i> , (2015)
<b><i>Bacillus sp.</i></b> <b><i>Arthrobacter pascens</i></b>	Promueve el crecimiento de las plantas mediante la solubilización de fosfatos y la producción de sideróforos bajo estrés salino	Ullah y Bano, (2015)
<b><i>Staphylococcus scuri</i></b>	Enzimas antioxidantes	Akram <i>et al.</i> , 2016
<b><i>Bacillus aquimaris</i></b> <b>DY-3</b>	Contenido de clorofila, regulación osmótica y enzimas antioxidantes	Li y Jiang, 2017
<b><i>Azospirillum brasilense Ab-V5 y Ab-V6, Rhizobium tropici CIAT 899</i></b>	Enzimas antioxidantes y contenido de prolina	Fukami <i>et al.</i> , 2018
<b><i>Gracilibacillus Staphylococcus</i></b>	Producción de IAA, ACC desaminasa, solubilización de	Aslam y Ali, 2018

<b>Bacterias</b>	<b>Descripción</b>	<b>Referencia</b>
<b><i>Virgibacillus</i></b> <b><i>Salinicoccus Bacillus</i></b> <b><i>Zhihengliuella</i></b> <b><i>Brevibacterium</i></b> <b><i>Oceanobacillus</i></b> <b><i>Exiguobacterium</i></b> <b><i>Pseudomonas</i></b> <b><i>Arthrobacter</i></b> <b><i>Halomonans spp</i></b>	fosfato y formación de biopelículas	
<b><i>Serratia liquenifaciens</i></b> <b>KM4</b>	Intercambio de gases facilitado, osmorregulación, enzimas antioxidantes, absorción de nutrientes y regulación a la baja de la biosíntesis de ABA	El-Esawi <i>et al.</i> , 2018b

Las BPCV no halófilas dependen sus capacidades promotoras de crecimiento vegetal de factores como el clima, las características del suelo (como el pH y la salinidad) y la interacción con el microbiota endémica del suelo (Etesami y Beattie, 2018). Upadhyay *et al.*, (2009) y Karimzadeh *et al.*, (2020) argumentaron que las BPCV pierden sus características de promoción del crecimiento de las plantas con el aumento de la salinidad. Por lo tanto, la selección y utilización de BPCV halófilas son de gran importancia para impulsar el crecimiento de cultivos afectados por la salinidad. Para obtener bacterias con alta capacidad promotora de crecimiento vegetal, es propicio utilizar muestras a partir de hábitats salinos (Etesami y Maheshwari, 2018; Kumar *et al.*, 2020.).

### **3.5.1 Mecanismos para reducir el efecto inhibitorio causado por la salinidad**

Las bacterias halófilas a pesar de encontrarse en un ambiente salino, esta condición no afectara negativamente su actividad biológica. Las BPCV halófilas que colonizan las raíces pueden sobrevivir a estas condiciones adversas del medio ambiente y pueden ayudar a promover el crecimiento de las plantas mediante varios mecanismos (Arora *et al.*, 2012; Yildirim *et al.*, 2008). (Figura 6)

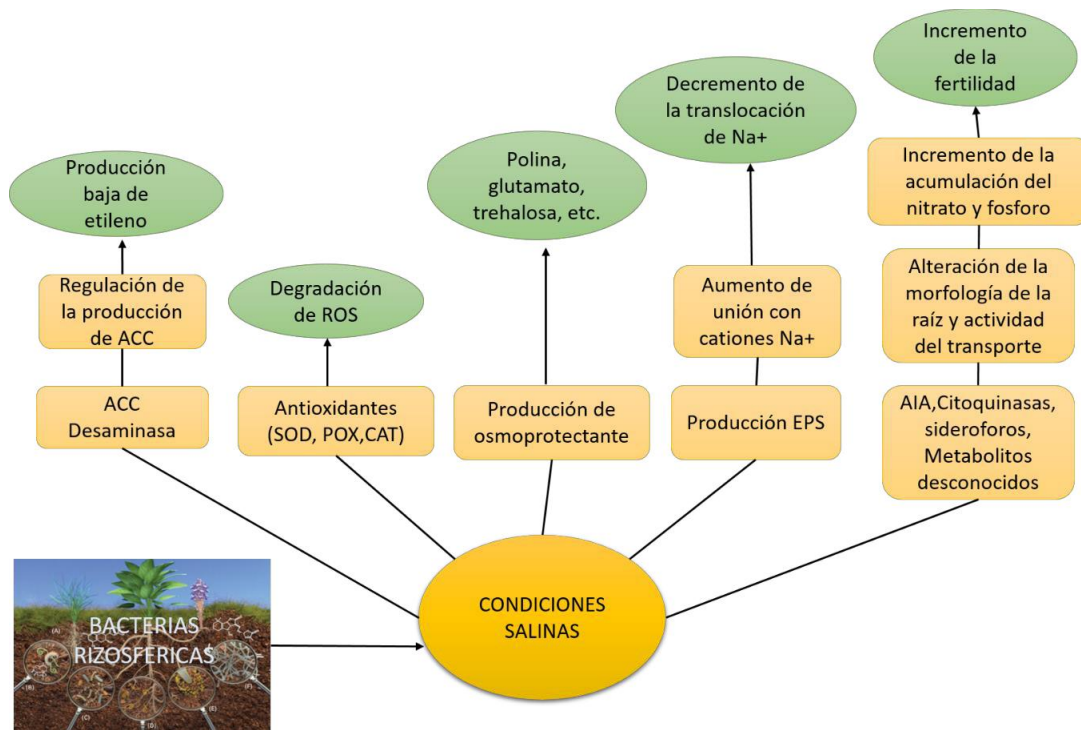


Figura 6. Mecanismos utilizados por las BPCV halófilas para disminuir el efecto inhibitorio del crecimiento vegetal por la salinidad (Arora *et al.*, 2012; Yildirim *et al.*, 2008).

Entre los mecanismos que utilizan las BPCV halófilas para promover el crecimiento de plantas es mediante la producción de la enzima ACC desaminasa, la cual puede disminuir las concentraciones de etileno deletéreo en las plantas al desaminar el ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC o ACC Desaminasa), que es el precursor del etileno, e incrementar la disponibilidad de amonio en la rizósfera (Esquivel *et al.*, 2013., Kang *et al.*, 2010). La enzima ACC desaminasa comúnmente está presente en las bacterias a bajos niveles, la inducción de la actividad enzimática ocurre a través de un proceso lento y complejo que requiere de la presencia del ACC. Después, de la inducción de las enzimas biosintéticas del etileno (ACC sintasa y ACC oxidasa), una mayor cantidad de ACC es producida, lo cual favorece la síntesis de la enzima ACC desaminasa y ésta a su vez disminuye la concentración del precursor (ACC) y la síntesis de etileno. Existen reportes que demuestran que las plantas tratadas con BPCV halófilas presentan la enzima ACC desaminasa, que reducen los niveles de estrés y confieren tolerancia a salinidad en cultivos (Gontia *et al.*, 2014; Saharan y Nehra, 2011). Por ejemplo, la bacteria halófila *Pseudomonas fluorescens* proporciona resistencia al estrés salino en plantas de cacahuete (Saravanakumar y Samiyappa, 2007). Las bacterias halotolerantes



como *Arthrobacter nicotianae*, *Bacillus stratosphericus*, *Corynebacterium variabile*, *Exiguobacterium acetylicum*, *Halomonas neptunia*, *Oceanimonas smirnovii*, *Planococcus rificiensis* y *Zhihengliuella alba* incrementaron el crecimiento y la resistencia a la salinidad en plantas (Siddikee *et al.*, 2011).

Algunas bacterias también pueden desarrollar como mecanismo el incremento de la fertilidad, como la producción de ácido indolacético (AIA), el cual al ser asimilado por las plantas favorece de manera directa la elongación y proliferación de las células vegetales. Sin embargo, puede promover la síntesis de la ACC sintasa lo que incrementa la cantidad de etileno, que en cantidades muy elevadas inhibe el crecimiento vegetal (Arora *et al.*, 2012; Glick, 2012). En la actualidad diferentes géneros de bacterias promueven el crecimiento vegetal bajo condiciones salinas, tal es el caso de *Acinetobacterium*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Halobacillus*, *Halomonas*, *Klebsiella*, *Oceanobacillus*, *Planococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Sporosarcina*, *Streptomyces*, *Thiobacillus*, *Thalassobacillus*, *Terribacillus* y *Virgibacillus* (Lubna *et al.*, 2013) (Sangoquiza-Caiza *et al.*, 2018).

La salinidad suprime la toma de fósforo por las raíces de las plantas y reduce el fósforo disponible por procesos de adsorción y baja solubilidad de fosfatos de calcio. (Soni *et al.*, 2013). Muchas bacterias del suelo tienen la capacidad de convertir las formas insolubles del fósforo en formas asimilables para las plantas; la acción de solubilización puede generarse a través de procesos como producción de ácidos orgánicos, quelación e intercambio de reacciones (Lara *et al.*, 2011). La aplicación exógena de reguladores de crecimiento como las auxinas producen beneficios en el alivio de los efectos adversos del estrés salino y también mejoran la germinación, el crecimiento, la maduración de frutos y rendimiento (Egamberdieva, 2009).

Las bacterias halófilas también desarrollan otros mecanismos específicos como la osmotolerancia que les permiten sobrevivir al estrés osmótico. Las células necesitan adaptarse mediante la acumulación de solutos específicos bajo condiciones hiperosmóticas y liberarlos bajo condiciones hiposmóticas. Estos solutos incluyen K<sup>+</sup>, aminoácidos (prolina, glutamato), aminoácidos derivativos (péptidos y N-acetilado

aminoácidos), aminas cuaternarias (glicina, betaína y carnitina), azúcares (sacarosa y trehalosa) y tetrahidropirimidinas (ectoínas) (Roberts, 2005). Estos solutos pueden ser acumulados en altas concentraciones y ser transportadas sin interferir con los procesos vitales de la célula y proveen estabilización de las enzimas (Arora *et al.*, 2012). Las BPCV halófilas pueden producir exopolisacáridos que unen los cationes incluyendo el Na<sup>+</sup> y disminuir el contenido disponible para las plantas (Siddiquee *et al.*, 2011). Durante las condiciones salinas las plantas generan ROS que pueden causar daño oxidativo en diferentes biomoléculas. Las BPCV pueden producir enzimas antioxidantes tales como superóxido dismutasa, peroxidasa y catalasa y antioxidantes no enzimáticos como ascorbato, glutatión y tocoferol que pueden degradar ROS ayudando de esta forma al crecimiento vegetal (Rezayian *et al.*, 2019). En un estudio realizado por Chakraborty *et al.* (2011), mostraron que *Bacillus cereus* promueve respuestas antioxidantes en condiciones de estrés por salinidad en plantas de maíz, incrementando las enzimas superóxido dismutasa, peroxidasa, ascorbato peroxidasa y catalasa.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Selección *in vitro* de las bacterias halófilas con mayor efecto promotor de crecimiento vegetal.

#### 4.1.1 Reactivación de las bacterias halófilas y clasificación según su tolerancia en medios de cultivos

Se reactivaron 39 bacterias halófilas (Cuadro 6) del cepario del Laboratorio de Bioprocesos, obtenidos de muestras de suelos salinos de la Reserva de la Biosfera de los Petenes, que presentaron en un estudio previo actividad biofertilizante (Solubilización de fosfatos, potasio, fijación de nitrógeno y producción de ácidos orgánicos) mediante pruebas *in vitro* cualitativas (Magaña-Tzuc, 2021). Para clasificar las bacterias según su tolerancia a sales (NaCl) y determinar la concentración óptima para su crecimiento, se utilizó medio selectivo Tripticasa Soya Agar (TSA), con modificaciones de 0.5 M, 1 M y 3 M de NaCl (Magaña-Tzuc, 2021).

#### 4.1.2 Determinación de la producción de Ácido Indol-3-Acético (AIA)

La estimación del AIA se determinó según la metodología establecida por (Sarker & Al-Rashid, 2013). Las 39 bacterias se cultivaron en tubos eppendorf en medio líquido Trypticasa de Soya (TS) adicionado con 0.5 M NaCl y suplementados con triptófano (0.1%). Posteriormente, se incubaron por ocho días a 28 °C. El cultivo microbiano se centrifugó y el sobrenadante se utilizó para la cuantificación de AIA. La determinación de AIA se realizó adicionando el sobrenadante y el reactivo de Salkowsky en placas de 96 pozos. La absorbancia de las muestras se leyó a 540 nm en el espectrofotómetro Multiskan GO con un software SkanIt 6.0 Thermo Scientific. La concentración de AIA se estimó mediante la ecuación de regresión lineal de la curva de calibración construida con concentraciones de AIA.

#### 4.1.3. Cuantificación del nitrógeno fijado

La cuantificación de amonio producto de la fijación de nitrógeno *in vitro* por las bacterias se realizó con el método colorimétrico de Berthelot o fenol hipoclorito reportado por León-Mendoza, (2014). Las bacterias con mayor actividad AIA (un total de 15) se inocularon en

tubos con cultivo de caldo extracto de suelo adicionado con 0.5 M de NaCl y se incubaron a 30° por 8 días. Al final se agregó KCl (2M) y se agitaron a 150 rpm. Se centrifugo a 3000 rpm, el sobrenadante se transfirió a tubos de 1.5 ml. finalmente se añadió una solución alcohólica de fenol, nitroprusiato de sodio y solución oxidante como indica León-Mendoza, (2014). Se utilizó medios de cultivo sin inocular como blancos. La lectura se realizó en un espectrofotómetro Multiskan GO con un software SkanIt 6.0 Thermo Scientific a 632 nm. La concentración de amonio se calculó con la ecuación de la curva de calibración, obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de cloruro de amonio.

#### **4.1.4 Cuantificación de la solubilización de fosfato**

La estimación de la solubilización de fosfato se realizó según lo establecido por (Chaiarn & Lumyong, 2011). 15 cepas se inocularon en medio Pikovskaya con 0.5 M de NaCl en tubos de 1.5 mL y se incubaron a 30°C. Los cultivos se recolectaron por centrifugación a 6,000 rpm. El medio estéril sin inocular sirvió como control. Del sobrenadante obtenido se estimó el fosfato utilizando el método de Fiske y Subbarow, 1925, en donde el sobrenadante del cultivo se mezcló con ácido tricloroacético - reactivo de color, molibdato de amonio y agua destilada (v/v), se incubó a temperatura ambiente ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante 15 min. La lectura se realizó en un espectrofotómetro Multiskan GO con un software SkanIt 6.0 Thermo Scientific a 820 nm. La cantidad de fósforo soluble se detectó a partir de la curva estándar de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

## **4.2 Efecto promotor del crecimiento vegetal de las bacterias halófilas sobre el crecimiento del maíz bajo condiciones de salinidad.**

### **4.2.1 Obtención del inóculo**

En total se evaluaron tres cepas bacterianas: *Bacillus* sp. CPO 4.277, *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278 y *Neobacillus drentensis* CPO 4.261, las cuales fueron seleccionadas por presentar la mayor actividad promotora de crecimiento vegetal (Biofertilizante) en las pruebas *in vitro*. Con estas cepas se prepararon inoculantes para evaluar su efecto en plantas de maíz. El inoculante de cada cepa se realizó tomando cinco azadas del crecimiento bacteriano y se depositaron en 200 ml de medio TSA

adicionado con 50 mM de NaCl, y se incubaron en agitación (Thermo Scientific MAXQ 4450) a 150 rpm a 28 °C por 5 días. Pasado el tiempo, el crecimiento bacteriano se centrifugó a 4000 rpm por 30 minutos para eliminar el medio de cultivo (se realizaron lavados tres veces con 15 mL de agua estéril) y el precipitado de células bacterianas se resuspendió en solución salina al 0.5 M de NaCl para ajustarla a una turbidez de  $1 \times 10^8$  UFC/mL y obtener el inoculante bacteriano (Vargas Díaz *et al.*, 2021).

#### **4.2.2 Semillas de maíz evaluadas en el experimento**

Los materiales evaluados fueron la línea CML 451, considerada como resistente a la salinidad, donada por el Centro International de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), el criollo San Pableño amarillo proporcionado por El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), también se utilizó un híbrido comercial ZARCO ZR-76 donado por el Rancho Hermanos Cauich. Las semillas se desinfectaron con cloro comercial (Cloralex®) al 2% y etanol al 96% por 5 min en la campana de flujo laminar, para asegurar la desinfección de las semillas (Li y Jiang, 2017; Vargas Díaz *et al.*, 2021).

La tolerancia a NaCl se determinó en el híbrido comercial ZR-76. Para ello, 25 semillas se colocaron en una caja Petri con diferentes concentraciones de NaCl (T1: 0 M, T2: 50 mM T3: 100 mM, T4: 200 mM) con tres repeticiones. Las cajas se humedecieron cada 2 días con agua estéril y sellaron con papel estraza para mantenerlos en oscuridad por un periodo de 8 días (Li y Jiang, 2017; Vargas Díaz, *et al.*, 2021). Para determinar el porcentaje de germinación se aplicó la siguiente fórmula:

$$\%E = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas}}{N^{\circ} \text{ de semillas sembradas}} * 100$$

Posterior a la germinación, se realizó una evaluación del desarrollo de las plantas de maíz por 32 días, se colocaron cinco plantas en cada maceta con diferentes concentraciones de salinidad (T1: 0 M, T2: 50 mM, T3: 100 mM, T4: 200 mM) para evaluar su respuesta al estrés por salinidad.

#### **4.2.3 Determinación fisicoquímica de la fertilidad del suelo utilizado en el experimento**

Al suelo utilizado como sustrato en el experimento se le determinaron las características fisicoquímicas para estimar la dosis de fertilización en las macetas. El análisis consistió en medir el Nitrógeno Total (%), Fósforo (mg/Kg), por el procedimiento de Olsen y colaboradores y Potasio Cmol (+) Kg<sup>-1</sup> por determinación de potasio soluble (Los análisis se realizaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de los suelos) en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Aguas y Fisiología Vegetal (LASAFV), del Campus Campeche a cargo del Dr. Jesús Arreola Enríquez.

#### **4.2.4 Establecimiento del experimento en invernadero**

Como sustrato para el experimento se utilizó una mezcla de: tierra (52.5 kg), perlita (35 kg) y Peat moss (52.5 kg), el cual se esterilizó a 120 °C por 1h, tres veces (Boonnoi *et al.*, 2020). Se utilizaron bolsas negras de 1kg, a los cuales se les depositó 400 g de sustrato y se le determinó su capacidad de campo con 100 mL de agua estéril.

Las semillas utilizadas para el experimento fueron: línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo (SPa). Los tratamientos utilizados correspondieron: inoculación con las cepas *Bacillus* sp. CPO 4.277, *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278 y *Neobacillus drentensis* CPO 4.261, control positivo (fertilizante 18-46-00) y control (sin inoculo). También, las plantas fueron tratadas por irrigación con diferentes concentraciones de NaCl (T1; 0 Mm, T2; 100 Mm, T3; 200 mM) para inducir el estrés salino.

Después de ocho días de germinación, se trasplantó una planta en cada bolsa, se utilizaron cinco replicas por cada tratamiento. Después de tres días del trasplante se inocularon con 1mL de cada cepa bacteriana (1x10<sup>8</sup> tratamiento depositando en el sistema radical pegado al tallo (Rojas-Tapias *et al.*, 2012). Los tratamientos con fertilización se realizaron disolviendo 33.33g de NPK 18-46-0 en 225 ml de agua destilada (Remache *et al.*, 2017) y aplicando 1 mL cerca del tallo después de tres días del transplante. Los riegos fueron realizados como describe Mukhtar (2019), intercalando el riego con y sin salinidad. El primer riego se aplicó para aclimatar las plantas de maíz

y se realizó sin salinidad. El segundo riego al tercer día después del trasplante fue con salinidad, siguiendo este patrón de riego durante todo el experimento. El experimento se estableció en una casa sombra con una temperatura promedio de 28.35 °C y entre 60-80 % de humedad. El experimento fue establecido con un diseño experimental completamente aleatorizado con 3 factores y sus respectivos niveles (3 variedades de maíz x 5 cepas bacterianas y 3 niveles de salinidad= 45 tratamientos con 5 repeticiones cada tratamiento) (Cuadro 5)

Cuadro 5. Factores y niveles de los tratamientos utilizados

Maíz	Tratamiento	Concentración de NaCl		
		0 mM	100 mM	200 mM
CML451	<i>Neobacillus drentensis</i> CPO 4.261	5 R	5 R	5 R
	<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277	5 R	5 R	5 R
	<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.278	5 R	5 R	5 R
	Fertilizante (18-46-00)	5 R	5 R	5 R
	Control	5 R	5 R	5 R
ZR-76	<i>Neobacillus drentensis</i> CPO 4.261	5 R	5 R	5 R
	<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277	5 R	5 R	5 R
	<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.278	5 R	5 R	5 R
	Fertilizante (18-46-00)	5 R	5 R	5 R
	Control	5 R	5 R	5 R
SPa	<i>Neobacillus drentensis</i> CPO 4.261	5 R	5 R	5 R
	<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277	5 R	5 R	5 R
	<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.278	5 R	5 R	5 R
	Fertilizante (18-46-00)	5 R	5 R	5 R
	Control	5 R	5 R	5 R

R=Repeticiones, SPa=San Pabléño amarillo

#### 4.2.5 Estimación de las variables morfológicas

La primera medición de las variables se realizó antes del trasplante y posteriormente, estas se efectuaron semanalmente. Las variables medidas fueron altura del tallo (AT), diámetro del tallo (DT) y longitud de la raíz (LR). La medición inicial de la LR se realizó antes del trasplante y ocho días después de la inoculación se midió AT y DT durante 40 días. Al finalizar el experimento también se determinó LR. También, al finalizar el experimento a los 40 días se midió el peso fresco aérea (PFA), peso fresco radicular (PFR), peso seco aéreo (PSA) y peso seco radicular (PSR) para calcular el porcentaje de materia seca según Bänziger et al. (1997) con la siguiente fórmula:

$$\%MS = [100 * \text{peso seco} / \text{peso fresco}]$$

#### **4.3.4 Medición de la salinidad del suelo después del experimento**

Al finalizar el experimento se determinó la salinidad del suelo con un Potenciómetro ION 700. Se recolectaron los suelos de las macetas y se homogenizó cada muestra tomando 10g del suelo, se depositó en un tubo falcón de 50 ml, se agregó 20 ml agua desionizada y se agitó por 5 min manualmente, seguidamente se realizó la lectura de la salinidad, (NOM-021-RECNAT-2000).

### **4.3 Estimación de los efectos fisiológicos en plantas de maíz, con inoculación de BPCV halófilas en respuesta a la salinidad**

Entre las variables determinadas se encuentra: Estimación de azúcares solubles totales, contenido de prolina, clorofila y antocianinas.

#### **4.3.1 Estimación de azúcares solubles totales**

La estimación de azúcares solubles totales se determinó mediante el método descrito por Najafi Zilaie et al. (2022). Para ello, se pesó 0.02 g de muestra de hojas secas y se le añadieron 2 ml de etanol al 70% y se almacenaron en el frigorífico durante una semana. Se estimó la concentración de azúcares solubles totales utilizando una curva de glucosa estándar de 300 µg/mL por dilución seriada y reportó como contenido de azúcar soluble en mg Kg<sup>-1</sup> de peso seco.

#### **4.3.2 Análisis de prolina**

El contenido de prolina se estimó mediante el procedimiento descrito por Beates *et al.*, 1973). Para ello, se pesó 0.1 g de tejido de hoja y se homogenizó con 1 ml de ácido sulfosalicílico al 3%. La concentración de prolina se estimó mediante una curva estándar de diferentes concentraciones sucesivas (150, 100, 75, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19 µg/mL) y se expresó como mg/g PF (Peso Fresco) (Ghadakchiasl *et al.*, 2017).



#### 4.4.3 Análisis cuantitativo de contenidos de Clorofila total (CT) y Antocianina (AT)

El contenido de CT se determinó de acuerdo al método descrito por (Arnon, 1949) con ligeras modificaciones realizadas por Chunthaburee *et al.*, 2016. Para ello, se pesaron tejidos de hojas (0.01 g) y se le adicionó 1 mL de solución de acetona al 80%, se dejó durante 3 días en la oscuridad, posteriormente se filtró a través de papel de filtro Whatman No.1 y el sobrenadante se utilizó para realizar la lectura en un espectrofotómetro a 645 y 663 nm. El contenido de CT se calculó utilizando la siguiente ecuación:  $TC (mg\ g^{-1}) = [20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663})] \times (V/100 W)$

donde A 645 y A 663 representan la absorbancia del extracto CT a 645 y 663 nm respectivamente, V es el volumen total del extracto y W es el peso fresco de la hoja.

El contenido de AT se realizó mediante el procedimiento modificado de Abdel Aal y Hucl (1999). Para ello, se pesó tejidos de hojas en fresco (0.01 g) y se le depositó 1 mL de etanol acidificado (etanol: HCl 1 N, 85:15 v / v) por 72 h. La suspensión se filtró a través de papel de filtro Whatman No.1 y se midió la absorbancia a 530 Y 657 nm. (Chen *et al.*, 2021). El contenido de AT se determinó con la siguiente fórmula:  $AT = (Abs\ 530 - 0,25 \times Abs\ 657) / g\ de\ peso\ fresco$

#### 4.4 Análisis de los datos

Los diseños experimentales se establecieron según las variables a evaluar, para AIA, N, P, Azúcares solubles totales, Prolina, Clorofila y antocianina fue un diseño completamente al azar con un ANOVA de un factor. Se estableció un diseño experimental completamente aleatorizado por tres factores y 5 niveles, en mediciones morfológicas de las plantas obtenidas después de 40 días, dichas variables fueron: AP=altura de la planta, D= Diámetro del tallo, LR=Largo de la Raíz), BIOMASA (PFPA=Peso Fresco Parte Aérea, PFR=Peso Fresco de la Raíz, PSPA= Peso Seco Parte Aérea, PSR= Peso Seco de la Raíz, %BPA=Porcentaje Biomasa Parte Aérea, %BS=Porcentaje Biomasa Raíz); además de C.E, pH. Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA y todas las medias se separaron según  $p \leq 0.05$  mediante la prueba de Tukey. Todos los cálculos y análisis de datos se realizaron con el paquete de software InfoStat versión 2020 para Windows.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Cuantificación de la promoción del crecimiento vegetal de las cepas halófilas

#### 5.1.1 Clasificación por su tolerancia a NaCl

Se reactivaron 39 cepas bacterias halófilas del cepario del Laboratorio de Bioprocesos, obtenidas de muestras de suelo de los blanquizales de la Reserva de la Biosfera de los Petenes, las cuales presentaron la mayor actividad biofertilizante en ensayos cualitativos (Magaña-Tzuc, 2021). La clasificación en relación a su tolerancia a la salinidad (crecimiento en NaCl) según Singh et al. (2018), permitió observar que, del total de las cepas reactivadas, 11 cepas fueron clasificadas como halófilas débiles (NaCl a 0.5M) (*Bacillus licheniformis* CPO 4.281, *Bacillus* sp. CPO4.277, CPO 4.294, *Bacillus stratosphericus* CPO 4.259, CPO 2.278, *Bacillus sinesaloumensis* CPO. 4.265, *Bacillus safensis* CPO 4.258, CPO 4.262, *Paneibacillus lillinoisensis* CPO 4.304, *Streptomyces caeruleatus* CPO 4.273 y *Neobacillus drentensis* CPO 4.246). 22 bacterias se clasificaron como halófilas moderadas (NaCl a 2M) (*Bacillus* sp. CPO 4.281, CPO 4.282, CPO 4.295, *Bacillus stratosphericus* CPO 4.245, CPO 4.306, CPO 4.275, CPO 4.247, CPO 4.255, CPO 4.248, *Bacillus licheniformis* CPO 4.302, CPO 4.284, *Bacillus subtilis* CPO 4.292, CPO 4.285, CPO 4.268, *Gracilibacillus phocaeensis* CPO 4.269, *Gracibacillus* sp. CPO 4.267, , *Neobacillus drentensis* CPO 4.261, *Inquilinus* sp. CPO 4.252, *Priestia* sp. CPO 4.250, *Metabacillus* sp. CPO 4.301, *Paenibacillus illinoisensis* CPO 4.307, CPO 4.253,). Solamente seis como halófilos extremos (NaCl a 3M) (*Bacillus* sp. CPO 4.257, CPO 4.296, CPO 4.279, *Metabacillus* sp. CPO 4.266, *Neobacillus drentensis* CPO 4.283 y *Virgibacillus* sp. CPO 4.272) (Figura 7 y Cuadro 6). Estos resultados muestran que las cepas aún mantienen su tolerancia a la salinidad según lo reportado Magaña-Tzuc, (2021). Similarmente, Reang et al. (2022) reportaron el aislamiento de 15 cepas bacterias, que fueron clasificadas como halófilas moderados (2.15-1.7M de NaCl). Además, varios autores reportan el aislamiento de bacterias con una tolerancia a NaCl en un rango de 0.4-2M, con lo que pueden ser consideradas halófilas débiles o halófilas moderadas, respectivamente (Kapadía et al., 2022, Gómez-Acata et al., 2021, Mohanta et al., 2020, Corral et al., 2018, Remonsellez et al., 2018, Azeem et al., 2022, Kubi et al.,

2021). Por lo tanto, la tolerancia a NaCl de las cepas de este trabajo es similar a las reportada a las bacterias aisladas en suelos salinos.

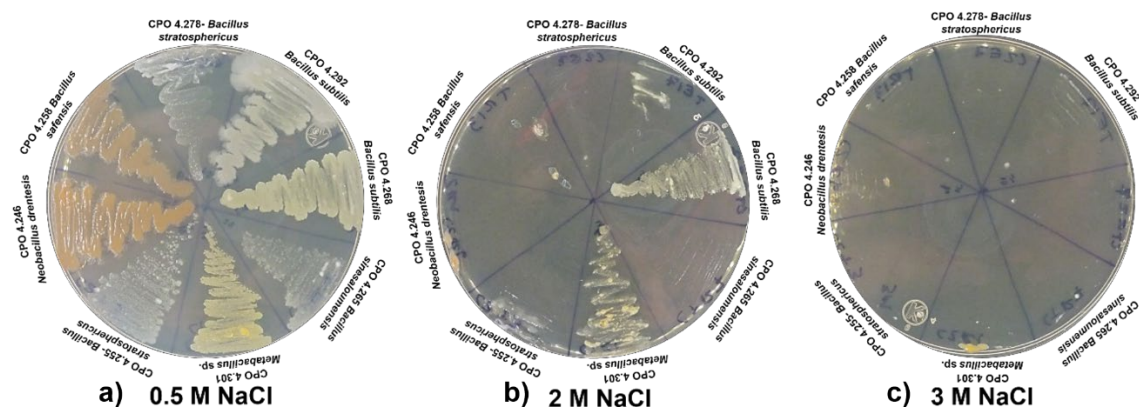


Figura 7. Crecimiento *in vitro* de las bacterias halófilas estudiadas, para su clasificación de acuerdo a la concentración de salinidad evaluada, NaCl: a) 0.5M, b) 2M y c) 3M.

### 5.1.2 Producción de Ácido Indol-3-Acético (AIA)

De las 39 cepas evaluadas, todas presentaron capacidad para producir AIA, con cantidades entre 1.161 y 3.308  $\mu\text{g/mL}$ . El análisis estadístico indicó que existen diferencias estadísticas entre las cepas en la producción de AIA (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). La cepa con mayor actividad correspondió a *Bacillus* sp. CPO 4.282, creciendo en medio con 2M de NaC (3.308  $\mu\text{g/mL}$ ), sin embargo, no se observó diferencias significativas con respecto a *Bacillus stratosphericus* CPO 4.306 (3.049  $\mu\text{g/mL}$ ), *Bacillus* sp. CPO 4.277 (2.944  $\mu\text{g/ml}$ ), *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278 (2.618  $\mu\text{g/mL}$ ), *Bacillus sinesaloumensis* CPO 4.265 (2.565  $\mu\text{g/mL}$ ), *Neobacillus drentensis* CPO 4.261 (2.482  $\mu\text{g/mL}$ ), *Bacillus subtilis* CPO 4.286 (2.414  $\mu\text{g/mL}$ ), *Paenibacillus illinoisensis* CPO 4.304 (2.266  $\mu\text{g/mL}$ ) y *Bacillus licheniformis* CPO 4.302 (2.264  $\mu\text{g/mL}$ ). Sin embargo, estas últimas cepas no presentaron diferencias estadísticas con respecto a *Bacillus subtilis* CPO 4.292 (2.168  $\mu\text{g/ml}$ ), *Priestia* sp. CPO 4.250 (2.163  $\mu\text{g/ml}$ ), *Bacillus safensis* CPO 4.262 (2.086  $\mu\text{g/ml}$ ), *Metabacillus* sp. CPO 4.301 (2.074  $\mu\text{g/ml}$ ) y *Bacillus* sp. CPO 4.296 (2.014  $\mu\text{g/ml}$ ) (Cuadro 6). Por lo tanto, el análisis estadístico permitió seleccionar un total de 15 cepas por presentar los mayores valores de AIA. Similarmente Mukhtar et al. (2020) reportaron que la cepa de *Bacillus licheniformis* es capaz de producir hasta 2.11  $\mu\text{g/mL}$  de AIA, encontraron que la bacteria *Bacillus subtilis* fue capaz de producir hasta

2.414 µg/mL. Contrario a los resultados, Yousef (2018) reportaron valores superiores de AIA con 25.5 µg/mL por una cepa *Bacillus subtilis*. De igual manera, Sharma et al. (2021) reportaron valores de AIA de 8.91 µg/mL por *Bacillus pumilus* y 15.89 µg/mL por la cepa *Bacillus paramycoides*. Recientemente, Saleem et al. (2021) evaluaron la capacidad de producción de AIA de 10 cepas bacterianas halófilas (*Brevilbacillus* sp., *Bacillus* sp., *B. sonorensis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. safensis*, *B. paramycoides*, *Bacillus* sp., y *B. tequilensis*) bajo diferentes concentraciones de NaCl (0 mM, 500 mM y 850 mM); en comparación con las tres concentraciones se observó que existe un mayor incremento de AIA en concentraciones sin salinidad (Control) y conforme aumentaba la salinidad disminuía la producción de AIA, por ejemplo, en 0 Mm, *Bacillus cereus* resultó con mayor producción de AIA con una cuantificación de 59.38 µg/ml, y *Bacillus* sp. con una producción de 30.09 µg/ml resultó ser la menor. En concentración de salinidad de 500 mM de NaCl *Bacillus* sp. resultó ser el mayor con una producción de 82.39 µg/ml AIA y el menor *Bacillus paramycoides* con 50 µg/ml. La concentración más alta de 850 mM, *Bacillus* sp. resultó mayor con 62.11 µg/ml de AIA y la menor concentración con 45.15 µg/ml de AIA de *Bacillus paramycoides*. En el presente trabajo la producción de AIA en las cepas se determinó a una concentración de 0.5M de NaCl considerada según Saleem et al. (2021) como alta, a pesar de ello, las cepas no fueron capaces de producir altos valores de AIA. Lo que nos indica que la producción de AIA está más asociada a la cepa que a factores de inducción (Cuadro 6).

Cuadro 6 Actividades promotoras del crecimiento vegetal de las bacterias halófilas estudiadas

CEPA	Tolerancia a NaCl	AIA ( $\mu\text{g/mL}$ )	FN ( $\mu\text{g/mL}$ )	P ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.282	2M	3.308 $\pm$ 0.486 A	11.166 $\pm$ 0.393 BCDE	1.948 $\pm$ 0.338 E
<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.306	2M	3.049 $\pm$ 0.434 AB	8.189 $\pm$ 1.082 E	2.045 $\pm$ 0.274 DE
<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.277	0.5M	2.944 $\pm$ 0.677 ABC	15.18 $\pm$ 4.57 AB	4.246 $\pm$ 1.056 BC
<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.278	0.5M	2.618 $\pm$ 0.636 ABCD	15.72 $\pm$ 3.74 A	9.252 $\pm$ 1.368 I A
<i>Bacillus sinesaloumensis</i> CPO 4.265	0.5M	2.565 $\pm$ 0.137 ABCDE	10.17 $\pm$ 3.03 CDE	2.007 $\pm$ 0.397 E
<i>Neobacillus drementensis</i> CPO 4.261	2M	2.482 $\pm$ 0.346 ABCDEF	12.85 $\pm$ 4.7 ABCD	4.0349 $\pm$ 0.136 BC
<i>Bacillus subtilis</i> CPO 4.286	2M	2.414 $\pm$ 0.825 ABCDEFG	14.16 $\pm$ 3.5 ABC	2.872 $\pm$ 0.354 BCDE
<i>Paenibacillus illinoisensis</i> CPO 4.304	0.5M	2.266 $\pm$ 0.146 ABCDEFGH	9.65 $\pm$ 2.8 DE	3.9526 $\pm$ 0.0823 BCD
<i>Bacillus licheniformis</i> CPO 4.302	2M	2.264 $\pm$ 0.754 ABCDEFGH	13.02 $\pm$ 2.94 ABCD	3.151 $\pm$ 0.516 BCDE
<i>Bacillus subtilis</i> CPO 4.292	2M	2.168 $\pm$ 0.176 BCDEFGHI	ND	-
<i>Priestia</i> sp. CPO 4.250	2M	2.163 $\pm$ 0.23 BCDEFGHI	11.221 $\pm$ 1.139 BCDE	3.191 $\pm$ 0.174 I BCDE
<i>Bacillus safensis</i> CPO 4.262	0.5M	2.086 $\pm$ 0.223 BCDEFGHI	10.497 $\pm$ 1.014 CDE	2.519 $\pm$ 0.237 CDE
<i>Metabacillus</i> sp. CPO 4.301	2M	2.074 $\pm$ 0.45 BCDEFGHI	7.71 $\pm$ 0.825 E	2.356 $\pm$ 0.373 CDE
<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.296	3M	2.014 $\pm$ 0.014 BCDEFGHI	9.533 $\pm$ 1.608 DE	3.237 $\pm$ 1.231 BCDE
<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.245	2M	1.971 $\pm$ 0.326 CDEFGHI		
<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.281	2M	1.959 $\pm$ 0.445 CDEFGHI		
<i>Bacillus safensis</i> CPO 4.258	0.5M	1.899 $\pm$ 0.0857 CDEFGHI		
<i>Bacillus licheniformis</i> CPO 4.274	0.5M	1.856 $\pm$ 0.1306 DEFGHI		
<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.284	2M	1.842 $\pm$ 0.257 DEFGHI	9.58 $\pm$ 1.97 DE	4.467 $\pm$ 0.535 B
<i>Bacillus subtilis</i> CPO 4.268	2M	1.719 $\pm$ 0.146 DEFGHI		
<i>Paenibacillus illinoisensis</i> CPO 4.307	2M	1.693 $\pm$ 0.163 DEFGHI		
<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.275	2M	1.652 $\pm$ 0.138 DEFGHI		
<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.257	3M	1.521 $\pm$ 0.061 EFGHI		

CEPA	Tolerancia a NaCl	AIA (µg/mL)	FN (µg/mL)	P (µg/mL)
<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.259	0.5M	1.511 ± 0.195 EFGHI		
<i>Metabacillus</i> sp. CPO 4.266	3M	1.502 ± 0.196 FGHI		
<i>Neobacillus drentensis</i> CPO 4.246	0.5M	1.449 ± 0.016 FGHI		
<i>Inquilinus</i> sp. CPO 4.252	2M	1.437 ± 0.153 FGHI		
<i>Gracilibacillus phocaeensis</i> CPO 4.269	2M	1.435 ± 0.223 FGHI		
<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.295	2M	1.416 ± 0.2 GHI		
<i>Gracilibacillus</i> sp. CPO 4.267	2M	1.398 ± 0.121 GHI		
<i>Neobacillus drentensis</i> CPO 4.283	3M	1.382 ± 0.062 GHI		
<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.247	2M	1.356 ± 0.239 I HI		
<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.294	0.5M	1.317 ± 0.142 HI		
<i>Paenibacillus illinoisensis</i> CPO 4.253	2M	1.315 ± 0.014 HI		
<i>Virgibacillus</i> sp. CPO 4.272	3M	1.300 ± 0.031 HI		
<i>Streptomyces caeruleatus</i> CPO 4.273	0.5M	1.288 ± 0.115 HI	15.478 ± 1.288 AB	3.385 ± 0.677 BCDE
<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.255	2M	1.238 ± 0.436 HI		
<i>Bacillus stratosphericus</i> CPO 4.248	2M	1.207 ± 0.095 I		
<i>Bacillus</i> sp. CPO 4.279	3M	1.161 ± 0.089 I		

M: Molar, FN: Fijación de nitrógeno, P: Solubilización de fosfatos, AIA: Ácido Indol Acético. Medias con las mismas letras entre columnas no son significativamente diferentes (Tukey  $\alpha = 0.05$ ).

### 5.1.3 Solubilización de fosfatos

Un total de 15 bacterias se seleccionaron por producir mayor cantidad de AIA y estas fueron evaluadas para determinar su capacidad de solubilización de fosfatos. El análisis estadístico indicó que existen diferencias estadísticas entre las cepas en la solubilización de fosfatos (Tukey,  $p \leq 0.05$ ), con un rango de solubilización de fosfatos de 1.948 a 9.252  $\mu\text{g/mL}$ . La cepa con mayor solubilización de fosfatos correspondió a *B. stratosphericus* CPO. 4.278. Los resultados encontrados concuerdan con lo reportado por Magaña-Tzuc, (2021) en pruebas cualitativas, ya que las cepas con mayor actividad en las pruebas cuantitativas, fueron las mismas con actividad en las pruebas cualitativas, con excepción de la cepa *Bacillus* sp. CPO. 4.284, la cual según los resultados encontrados en el presente trabajo no fue significativamente diferente al resto de las cepas con menor actividad. Estas diferencias pueden deberse al pH utilizado por Magaña-Tzuc, (2021) en sus medios de cultivos (pH de 7.6), ya que en el presente trabajo se utilizó un pH de 7.2 como previamente se ha reportado por Heredia-Acuña et al. (2019), Son et al. (2006) y Lindang et al. (2021). Se ha documentado que la disponibilidad del fósforo (P) en el suelo depende en gran medida del pH. En suelos ácidos ( $\text{pH} < 6.5$ ) el fósforo se fija principalmente por el aluminio y el hierro mientras que en suelos alcalinos ( $\text{pH} > 7.2$ ) el fósforo se fija principalmente por el calcio y el magnesio (Tandon et al., 2020; Chen y Liu, 2019). De igual manera Maldonado, (2012) y Otero et al. (2007) destacan que cuando el Ca está ausente y predomina el ión  $\text{Na}^+$ , el cual en presencia de agua se hidroliza liberando el ión  $\text{Na}^+$  en la solución ( $\text{CO}_3\text{Na}_2$ ), en este caso el pH se eleva. Li et al. (2019) con referencia a la variación del pH, evaluaron un cambio de pH de 3.1 a 7, encontrando el mismo resultado que (Tandon et al., 2020) (Chen y Liu, 2019), donde con un pH de 3.1 la solubilización de P fue de 102.77  $\mu\text{g/ml}$ , en un pH de 3.5 la solubilización de P fue de 55.27  $\mu\text{g/ml}$  y un pH de 6.7 con una solubilización de 3.04  $\mu\text{g/ml}$ .

Por otro lado, los valores de solubilización de fosfatos encontrados en el presente fueron similares a los reportados por Srinivasan et al. (2012) quienes encontraron que las bacterias *Pseudomonas* sp. PSBW2RH-1 y *Aerococcus* sp. PSBCRG1-1 fueron capaces de solubilizar fosfatos con valores de 4.58  $\mu\text{g/ml}$ .58 a 12.65  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. También, se ha reportado que varias especies del género *Bacillus* fueron capaces de

solubilizar fosfatos con valores de 1.3 a 2.8  $\mu\text{g/mL}$ , siendo la cepa *Bacillus cereus* (MZLRPB5) con la mayor actividad (Chawngthu *et al.*, 2020). En un trabajo actual, Kapadía *et al.* (2022) demostró que la concentración de sal tiene un efecto negativo sobre la eficiencia de solubilización, ya que al evaluar las cepas *Bacillus sonorensis* AD9 (86  $\mu\text{g/mL}$ ), *Enterobacter* sp. AD38 (78  $\mu\text{g/mL}$ ), *Bacillus* sp. AD28 (70.33  $\mu\text{g/mL}$ ) y *Delftia* sp. AD31 (70  $\mu\text{g/mL}$ ) bajo dos diferentes concentraciones de NaCl (15% y 20%), su capacidad de solubilización de fosfatos en las misma cepas vario, logrando una mayor solubilización de fosfatos en la concentración más baja de NaCl. Esto nos indica que la solubilización de fosfatos puede verse afectada negativamente por una mayor concentración de NaCl. En presente trabajo a pesar de que no se evaluaron en concentraciones altas de NaCl (0.5M), la solubilización fue menor a la encontrada Kapadía *et al.* (2022), sin embargo, presentaron una mayor solubilización a la reportada por Chawngthu *et al.* (2020), Srinivasan *et al.* (2012) y Li *et al.* (2019).

#### 5.1.4 Fijación de nitrógeno

En cuanto a la capacidad de fijar nitrógeno de las cepas se detectaron valores en un rango de 7.71 a 15.72  $\mu\text{g/mL}$  y el análisis estadístico indico que existen diferencias estadísticas entre las cepas ( $p$  Tukey,  $p \leq 0.05$ ). La cepa con mayor fijación de nitrógeno fue *B. stratosphericus* CPO 4.278 (15.72  $\mu\text{g/mL}$ ), la cual estadísticamente diferente al resto de las cepas. Seguidamente se encontraron las cepas *Streptomyces caeruleatus* CPO 4.273 (15.478  $\mu\text{g/mL}$ ), *Bacillus* sp. CPO 4.277 (15.18  $\mu\text{g/mL}$ ), *B. subtilis* CPO 4.286 (14.16  $\mu\text{g/mL}$ ), *B. licheniformis* CPO 4.302 (13.02  $\mu\text{g/mL}$ ) y *Neobacillus drentensis* CPO 4.261 (12.85  $\mu\text{g/mL}$ ), sin embargo, no presentaron diferencias significativas con respecto a *Priestia* sp. CPO 4.250 (11.221  $\mu\text{g/ml}$ ) y *Bacillus* sp. CPO 4.282 (11.166  $\mu\text{g/ml}$ ). La cepa con menor fijación de nitrógeno correspondió a *Metabacillus* sp. CPO 4.301 (7.71  $\mu\text{g/ml}$ ). Los resultados obtenidos indican que el género *Bacillus* tienen una alta actividad en comparación con lo reportado por Hoang *et al.* (2020), con rango de 0.3 a 2.5  $\text{mg/L}$ . León-Mendoza *et al.* (2014) reportó a *Klebsiella* sp. con 1.16  $\mu\text{g/ml}$  y *Pantoea* sp. con 31.67  $\mu\text{g/ml}$ . Otros autores han registrado un rango de 2.40 a 29.09  $\mu\text{g/mL}$  en la fijación de nitrógeno, *Enterobacter cloacae* en *Saccharum* spp., (García *et al.*, 2010; Ji *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2020). Por su parte, existen reportes con una mayor fijación de



nitrógeno con rangos de entre 70.24-253  $\mu\text{g/ml}$  en géneros halotolerantes como *Bacillus*, *Staphylococcus* y *Enterobacter* (Biswas *et al.*, 2018; Jhuma *et al.*, 2021).

Algunas investigaciones mostraron que el nitrógeno ayuda a la tasa de fertilización aumentando la producción de semillas, el número de hojas e inflorescencias por plantas y biomasa seca en cultivos (Sosa-Baldivar y Ruiz-Ibarra, 2018, Souza *et al.*, 2017). Una de las desventajas de suelos salinos es que la salinización afecta las transformaciones normales de N en el suelo al retardar o inhibir varios procesos biológicos/microbianos como la nitrificación, provocando una acumulación de nitritos o aumentando las tasas de volatilización de  $\text{NH}_4$  (Akhtar *et al.*, 2012). En este sentido, consideramos que la fijación de nitrógeno es una propiedad importante para clasificar y seleccionar las mejores cepas y los resultados encontrados nos indican el gran potencial de las cepas evaluadas en este trabajo.

Los resultados en general nos indican que las cepas capaces de fijar nitrógeno, también fueron capaces de producir AIA y solubilizar fosfatos, con excepción de las cepas *S. caeruleatus* CPO. 4.273 y *P. illinoisensis* CPO. 4.304. Estas dos cepas solamente presentaron actividad solubilizadora de fosfatos, *S. caeruleatus* CPO 4.273 y *P. illinoisensis* CPO 4.304 fijadora de Nitrógeno. Por su parte, los resultados obtenidos en estas tres pruebas permitieron seleccionar tres cepas de bacterias con capacidad biofertilizante y estas correspondieron a *B. stratosphericus* CPO 4.278 (AIA = 2.618  $\mu\text{g/mL}$ , N = 15.72  $\mu\text{g/mL}$ , P = 9.252  $\mu\text{/ml}$ ), *N. drentensis* CPO 4.261 (AIA = 2.482  $\mu\text{g/ml}$ , N = 12.85  $\mu\text{g/ml}$ , P = 4.0349  $\mu\text{/ml}$ ) y *Bacillus* sp. CPO 4.277 (AIA = 2.994  $\mu\text{g/ml}$ , N = 15.18  $\mu\text{g/ml}$ , P = 4.264  $\mu\text{/ml}$ ). En la literatura se menciona que una cepa demuestra potencial biofertilizante cuando es capaz de poseer múltiples características promotoras del crecimiento vegetal, como la producción de diferentes fitohormonas, solubilización de fosfatos inorgánicos insolubles, producción de sideróforos, la fijación de nitrógeno y la actividad de la enzima desaminasa del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) (Etesami y Glick, 2020). En este contexto las tres cepas evaluadas presentaron los mayores valores en producción de AIA, fijación de nitrógeno y solubilización de fosfato.

## 5.2. Efecto de las bacterias halófilas y la fertilización química sobre el crecimiento en plantas de maíz bajo condiciones de salinidad

### 5.2.1 Efecto de las diferentes concentraciones de salinidad sobre la germinación y desarrollo del híbrido comercial ZR-76

Los resultados indican que al aumentar la concentración de NaCl, el porcentaje de germinación disminuye en el híbrido ZR-76. A pesar de estos resultados, esta híbrido mostró una alta resistencia a la salinidad, ya que a las concentraciones de 50 y 100 mM de NaCl, resultaron ser significativas iguales al control sin NaCl (Tukey,  $p \leq 0.05$ ), sin embargo, a una concentración de 200 mM de NaCl el porcentaje de germinación disminuyó un 23%, encontrando diferencias significativas con respecto al control (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) (Figura 8).

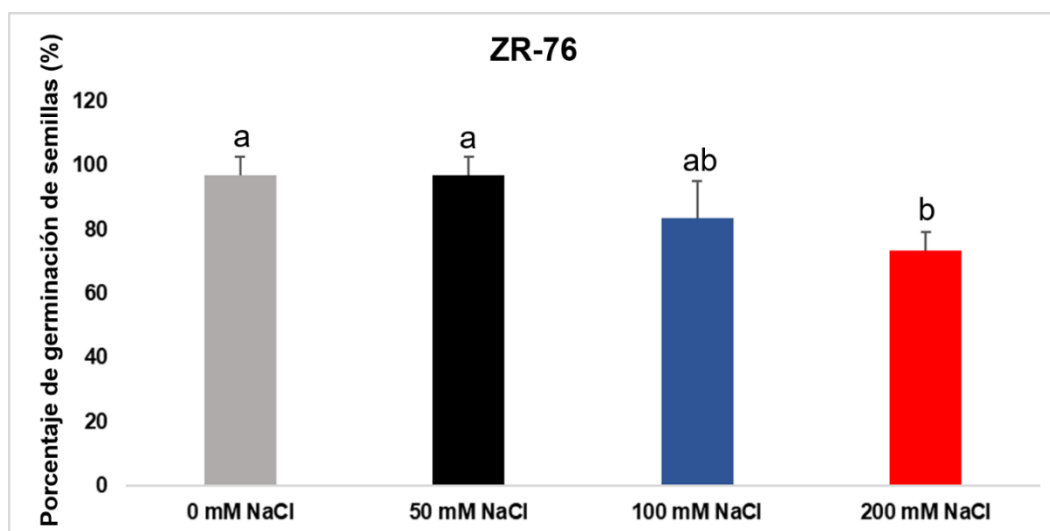


Figura 8. Evaluación de la germinación con tolerancia a la salinidad (NaCl) en híbrido de maíz comercial ZR-76. Con diferentes concentraciones de NaCl (Tukey,  $p \leq 0.05$ )

Los resultados encontrados son similares a los reportados por Carpýcý et al. (2009) y Yaghoubian et al. (2022), ya que al aumentar la concentración de NaCl el porcentaje de germinación disminuye. Por su parte, Blanco et al. (2007) menciona que uno de los efectos principales del estrés salino es que retrasa la germinación y la emergencia; la mayoría de los cultivos son tolerantes durante la germinación, pero las plántulas jóvenes en desarrollo son susceptibles a sufrir daños durante la emergencia del suelo y durante el desarrollo temprano. Esto se pudo corroborar en este experimento ya que la longitud

de coleóptilo fue menor al aumentar la concentración de salinidad, se puede observar a simple vista en la Figura 9.

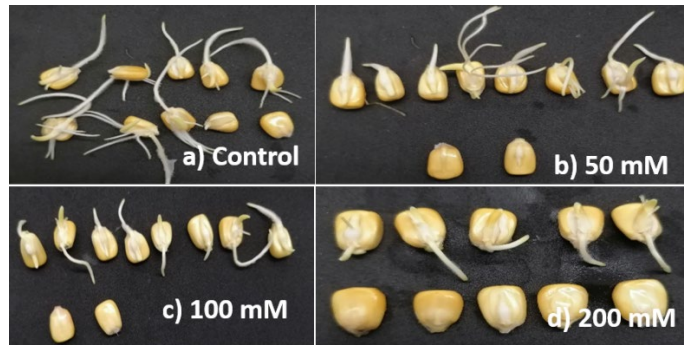


Figura 9. Desarrollo de coleóptilos de las semillas de maíz germinadas bajo diferentes concentraciones de NaCl.

En cuanto al desarrollo de las plantas a pesar de la salinidad se observaron diferencias significativas en la altura de las plantas a los 32 días (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). Las plantas tratadas con 0 mM de NaCl presentaron la mayor altura (8.03 cm), sin embargo, no se observó diferencias con respecto a las concentraciones de 50 mM (6.9 cm) y 100 mM de NaCl (6.5 cm). Estas dos últimas concentraciones resultaron ser estadísticamente diferentes a 200 mM de NaCl (4.5 cm) (Figura 10 y 11).

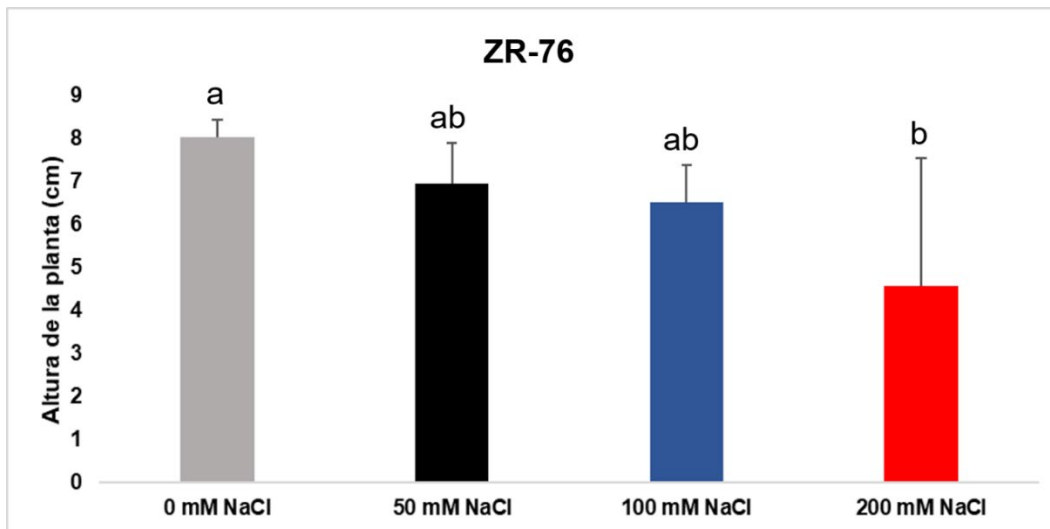


Figura 10. Altura de las plantas de maíz en condiciones de estrés por salinidad (0 mM, 50 mM, 100 mM y 200 mM de NaCl) a los 32 días.

Los resultados de la germinación y el desarrollo de las plantas permitieron definir que las plantas tratadas con NaCl a las concentraciones de 100 mM y 200 mM son afectadas a nivel morfológico (Altura, diámetro y longitud de la raíz) (Figura 11), por lo tanto, estas concentraciones fueron utilizadas para determinar el efecto de las bacterias en las plantas tratadas con NaCl, y determinar los cambios a nivel morfológico y fisiológico.



Figura 11 Plantas evaluadas durante 32 días para determinar la susceptibilidad a la salinidad en diferentes concentraciones de NaCl.

### **5.3 Efectos morfológicos en los diferentes tipos de maíz como respuesta a la salinidad, a la inoculación de bacterias halófilas y a la fertilización química.**

#### **5.3.1 Altura de la planta**

La línea CML 451 resultó ser más resistente a la salinidad por NaCl. En ausencia de NaCl no se observó un efecto promotor sobre la altura de la planta con los tratamientos, ya que el control presentó una mayor altura a través del tiempo (8-40 días). En la concentración de 100 mM de NaCl a los 8,16, 32 días se observó una promoción de crecimiento en la altura de las plantas por efecto de la inoculación de las cepas *N. drentensis* CPO 4.261 y *B. stratosphericus* CPO 4.278 (Tukey  $p \leq 0.05$ ). Sin embargo, a los 24 y 40 días no se observó crecimiento en las plantas por efecto de los tratamientos, resultando ser igual que el control. En la concentración más alta de NaCl (200 mM), sólo a los 8 días no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al control. Sin embargo, a los 16, 24 y 32 días se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey,  $p \leq 0.05$ ), la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 promovió la mayor altura de la planta. El tratamiento con fertilizante (18-46-00) y la inoculación de las bacterias *B. stratosphericus* fueron estadísticamente iguales al control. A los 40 días la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 aumentó significativamente la

altura de planta en comparación con el control. A pesar de estos resultados, la altura de la planta fue menor a la concentración de 200 mM de NaCl en comparación con otras concentraciones lo que indica que el estrés salino afecta la altura y la sobrevivencia de la planta. (figura 12)

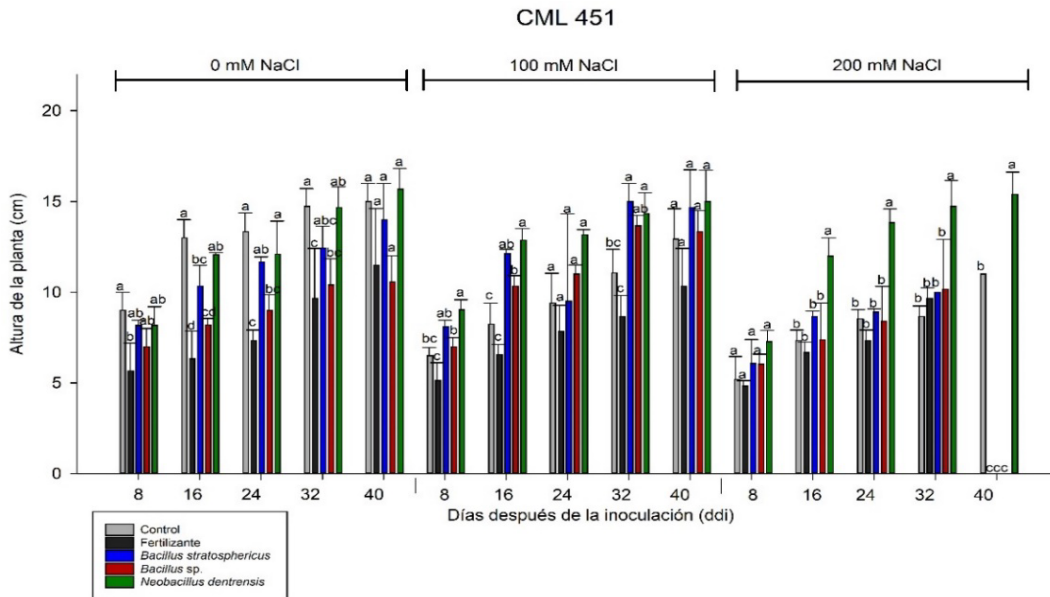


Figura 12 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus sp.* CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz línea CML 451, evaluando la altura de la planta, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

El híbrido Zarco ZR-76 (Figura 13) resultó ser susceptible a la salinidad por NaCl con respecto al tiempo. En ausencia de NaCl (0 mM) no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos a 8, 32 y 40 días, sin embargo, a los 16 y 24 días las plantas tratadas con el fertilizante redujeron el crecimiento de las plantas mostrando ser estadísticamente diferente al resto de los tratamientos. A una concentración de 100 mM de NaCl, se observó que a los 8 y 16 días no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey,  $p=0.05$ ), sin embargo, a partir de los 24 días el fertilizante causó la muerte de las plantas. A los 40 días, las plantas inoculadas con *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus sp.* CPO 4.277 resultaron con un aumento significativo en la altura y el resto de los tratamientos causó la muerte de las plantas. En la concentración más alta de NaCl (200 mM), a los 8 y 16 días no se observaron diferencias significativas entre

los tratamientos, sin embargo, a los 24 y 32 días el fertilizante causo la muerte de las plantas y el resto de los tratamientos mostraron ser significativamente iguales. A los 40 días la inoculación de la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 aumentó significativamente la altura de las plantas, el resto de los tratamientos causaron la muerte de las plantas. La altura de la planta fue menor a la concentración de 200 mM de NaCl en comparación con otras concentraciones, lo que indica que el estrés salino afecta este parámetro. También, el resto de los tratamientos presentaron un efecto negativo sobre las plantas causando su muerte a una concentración de 100 y 200 mM de NaCl a partir del día 24.

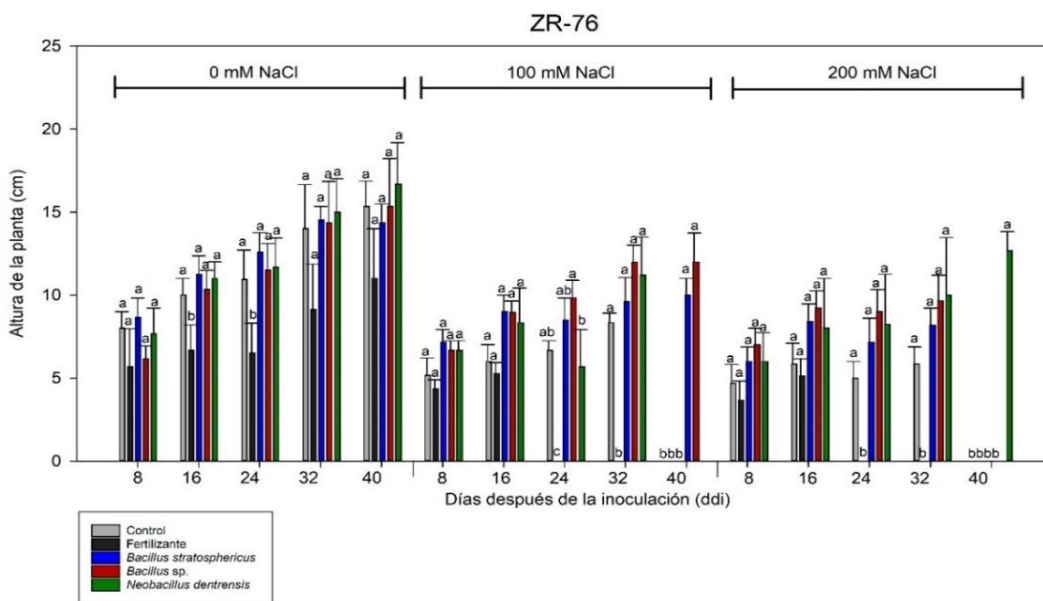


Figura 13 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus sp.* CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz híbrido ZR-76, evaluando la altura de la planta, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Por último, el criollo San Pablito amarillo (Figura 14) mostró ser susceptible a la salinidad por NaCl conforme al tiempo de exposición. En ausencia de NaCl no se observó un efecto promotor de las bacterias halófilas sobre el crecimiento de las plantas, ya que los tratamientos resultaron ser significativamente iguales al control. En la concentración de 100 mM de NaCl a los 8, 16, 24 y 32 días no se observó diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al control, con excepción del tratamiento fertilizante las cuales causaron la muerte de la planta a partir de los 24 días. A los 40 las plantas

inoculadas con las cepas *N. drentensis* CPO 4.261 y *B. stratosphericus* CPO 4.278 promovieron la altura de la planta y fueron los únicos tratamientos que permitieron la sobrevivencia de las plantas. En la concentración de 200 mM NaCl a los 8 y 16 días el tratamiento fertilizante causó una reducción significativa en la altura de la planta en comparación con los otros tratamientos, posterior a los 24 días el fertilizante causó la muerte de las plantas. A los 24 y 32 días la inoculación de las bacterias *B. stratosphericus* CPO 4.278, *Bacillus* sp. CPO 4.277 o *N. drentensis* CPO 4.261 aumentó significativamente la altura de las plantas en comparación con el control (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). A los 40 días, las plantas inoculadas con las cepas *N. drentensis* CPO 4.261 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 permitieron el crecimiento de las plantas a pesar del estrés salino, siendo los únicos tratamientos que permitieron la sobrevivencia de las plantas.

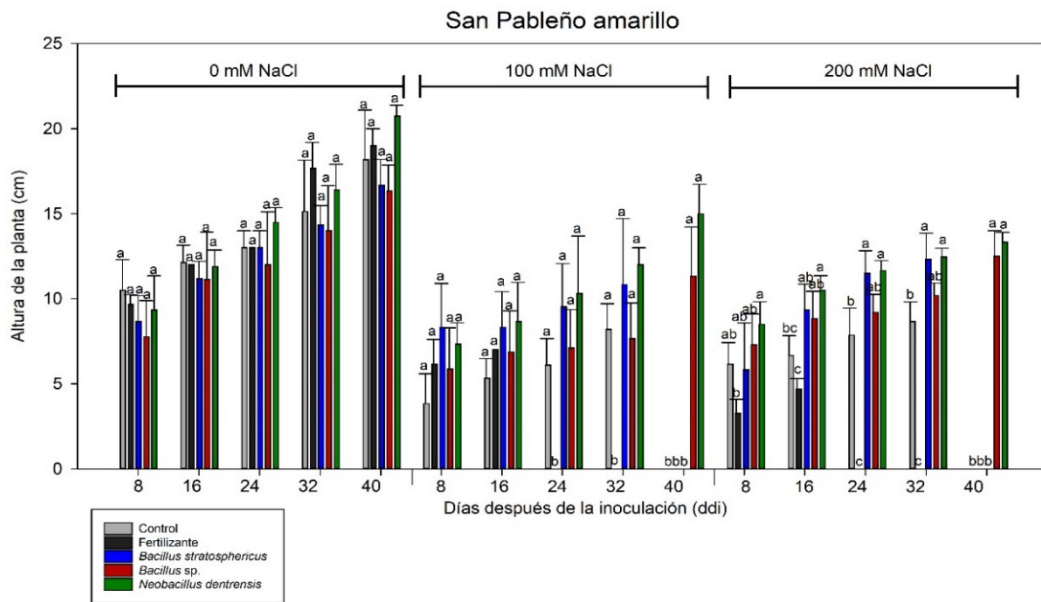


Figura 14. Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz criollo San Pablão amarillo, evaluando la altura de la planta, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

La CML451 al ser una línea resistente a la salinidad (Soares *et al.*, 2018). En 0 Mm de NaCl mostró una menor altura en comparación con el híbrido Zarco ZR-76 y criollo San Pablão amarillo, sin embargo, al inducir a las plantas a un estrés salino con NaCl, la línea CML451 presentó una mayor altura en comparación con el híbrido y el criollo.

Khodarahmpour et al. (2012) menciona que la reducción de la altura de las plántulas es un fenómeno común de muchas plantas cultivadas en condiciones salinas. El híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo a partir de la concentración de 100 mM de NaCl a los 40 días resultaron con efectos adversos que causaron la muerte de las plantas en el control sin tratamiento. También, se observó que la fertilización afectó negativamente a las plantas causando su muerte a los 24 días. Se ha reportado que las plantas poseen un umbral para tolerar la salinidad, la exposición fuera de los límites produce toxicidad iónica, lo que provoca desequilibrios iónicos a través de un intenso flujo de entrada de Na<sup>+</sup>. Este desequilibrio reduce la absorción de agua y nutrientes por parte de las raíces y, en consecuencia, afecta el crecimiento de las plantas e inclusive causar la muerte de las plantas (Checchio *et al.*, 2021; Munns y Tester, 2008).

En general, los resultados indican que en el híbrido comercial ZR-76 y línea mejorada CML451 la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 permitió promover la altura de las plantas a pesar de la salinidad. En tanto que el criollo San Pableño amarillo la inoculación tanto de *N. drentensis* CPO 4.261 o *B. stratosphericus* CPO 4.278 permitió promover la altura de las plantas a pesar de la salinidad. Por lo tanto, en la línea CML451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo, la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 promovió el crecimiento vegetal en las plantas de maíz. De acuerdo a la prueba de tolerancia a NaCl (Magaña-Tzuc, 2021) los resultados de la inoculación en las concentraciones de NaCl obtenidos, se debe a que *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 son considerados halófilo débil, mientras que *Neobacillus drentensis* CPO 4.261 es considerado halófilo moderado (Figura 5), esto hace que *Neobacillus drentensis* CPO 4.261 se adapte a altas concentraciones de salinidad. Como podemos observar en la figura (12, 13 y 14). Kim et al. (2020) mencionaron que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal halotolerantes, juegan un papel vital en varias plantas bajo estrés por salinidad al mejorar la tolerancia y el crecimiento de las plantas. De igual manera, Adhikari et al. (2020) describieron que el género *Bacillus* son bacterias promotoras del crecimiento vegetal halotolerantes, que permitieron disminuir las concentraciones de NaCl y aumentaron el crecimiento de las plantas de soya.



### 5.3.2 Diámetro del tallo

En la línea CML451 con ausencia de NaCl (0 mM), se observó que a los 8, 16 y 24 días el control presentó el mayor diámetro de tallo, observando diferencia significativa (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) con respecto a los otros tratamientos. Sin embargo, a los 32 y 40 días no se observó diferencias en el diámetro de tallo entre los tratamientos y el control. A 100 mM de NaCl no se observó diferencias significativas entre los tratamientos a través del tiempo (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). Sin embargo, a 200 mM de NaCl la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 aumentó el diámetro de tallo observando diferencias significativas con respecto al control durante todas las mediciones (Figura 15).

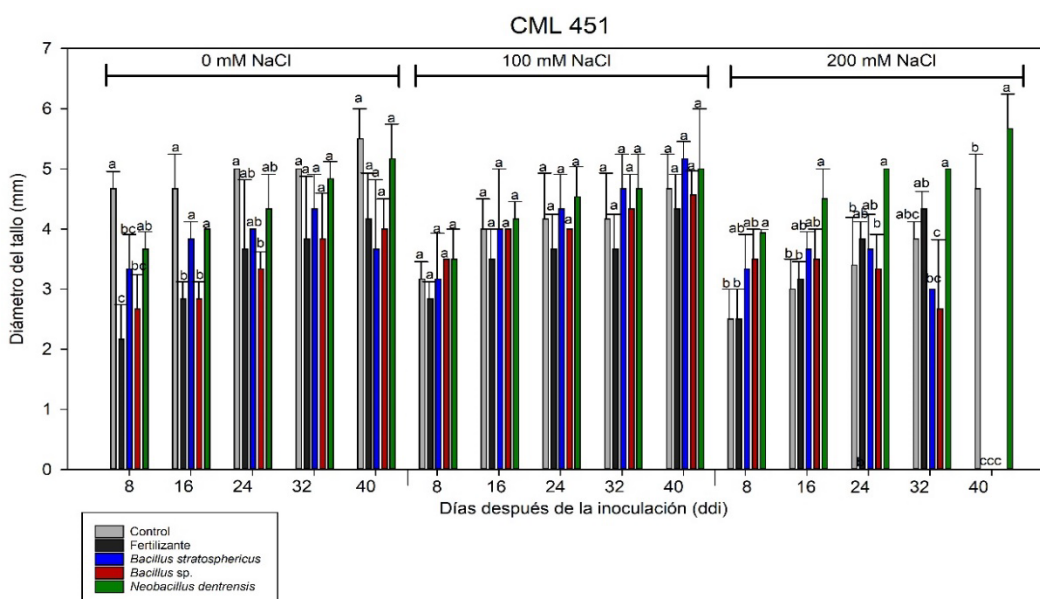


Figura 15 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus sp.* CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz línea CML 451, evaluando el diámetro del tallo, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

En el híbrido Zarco ZR-76 en ausencia de NaCl, a los 8, 32 y 40 días no se observaron diferencias significativas (Tukey,  $p = 0.05$ ) entre los tratamientos, sin embargo, a los 16 y 24 días el fertilizante disminuyó significativamente el diámetro del tallo resultado ser igual que el control. A 100 mM de NaCl, a los días 8 y 16 días de la inoculación, no se observaron diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ), sin embargo, a los 24, 32 y 40 días

inoculación de *Bacillus* sp. CPO 4.277 aumentó el diámetro de tallo observando diferencias significativas con respecto al control durante todas las mediciones. A la concentración de 200 mM de NaCl a los 8, 16, 24 y 32 días, no se observaron diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) entre los tratamientos, con excepción del tratamiento con fertilizante que a partir de los 24 días causó la muerte de las plantas. A los 40 días la inoculación con *N. drentensis* CPO 4.261 resultó en un aumento en el diámetro y fue el único tratamiento que permitió la sobrevivencia de las plantas (figura 16).

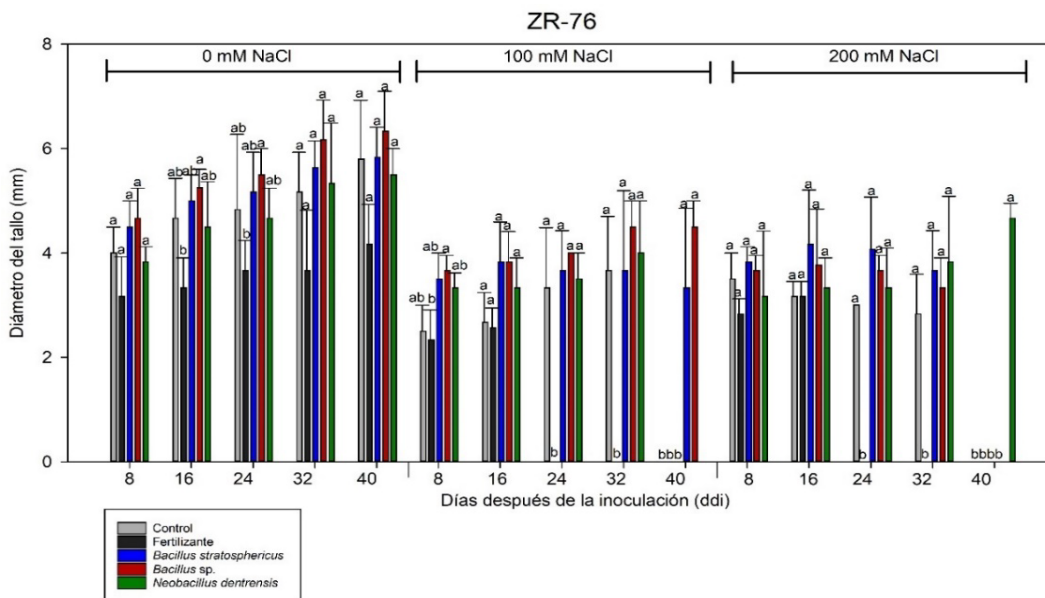


Figura 16 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz híbrido ZR-76, evaluando el diámetro del tallo, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

En el criollo San Pableño amarillo con ausencia de NaCl, no se observó un efecto promotor sobre el diámetro del tallo de la planta, ya que todos los tratamientos fueron estadísticamente iguales (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). A una concentración de 100 mM de NaCl, a los 8 días, las plantas inoculadas con *B. stratosphericus* CPO 4.278 mostraron un aumento del diámetro en comparación del fertilizante, sin embargo, a los 16, 24, 32 y 40 la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 promovió el crecimiento aumentando el diámetro del tallo en comparación al inoculo con fertilizante (Tukey,  $p = 0.05$ ). Debido al efecto del

estrés salino que se generó, los tratamientos presentaron un efecto negativo sobre las plantas causando su muerte.

En el tratamiento con 200 mM de NaCl, a los 8 días no se observó diferencia significativa, sin embargo, a los 16 días la fertilización redujo significativamente el diámetro del tallo en comparación con *B. stratosphericus* CPO 4.278. A los 24 días la inoculación de *B. stratosphericus* CPO 4.278 aumentó el diámetro del tallo en comparación con el control. El fertilizante causó la muerte de las plantas a partir de los 24 días. A los 40 días las plantas inoculadas con *Bacillus* sp. CPO 4.277 o *N. drentensis* CPO 4.261 fueron los únicos tratamientos que permitió la sobrevivencia de las plantas y promovieron el crecimiento del diámetro de las plantas (Figura 17).

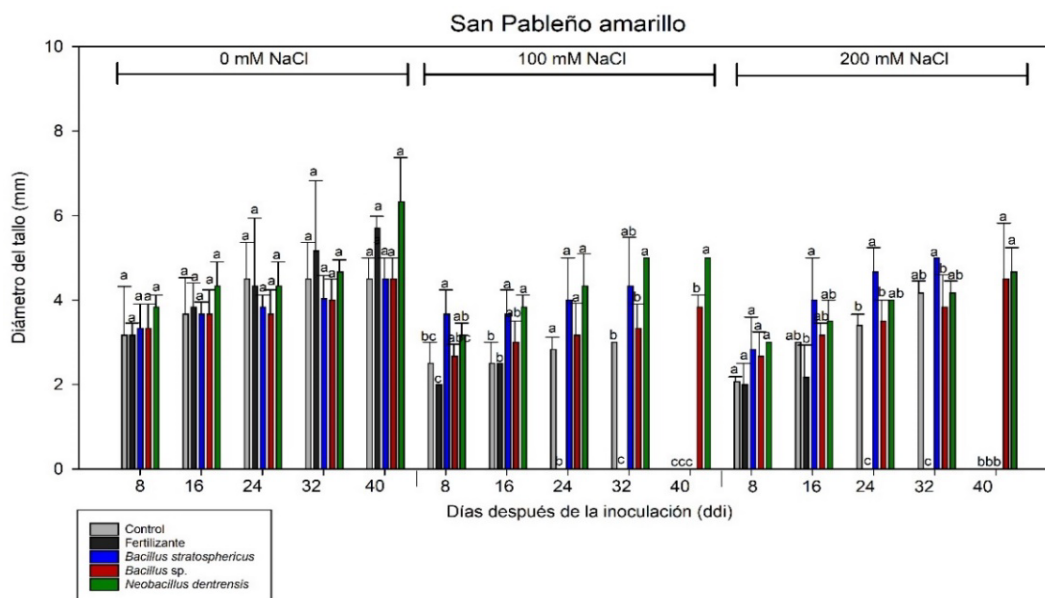


Figura 17. Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento del maíz criollo San Pablito amarillo, evaluando el diámetro del tallo, cultivadas durante 40 días con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barras por los días después de la inoculación en cada concentración de NaCl, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Sangoquiza-Caiza et al. (2021), menciona que uno de los efectos más evidentes del estrés salino es la reducción en la capacidad de absorción de agua, que se puede manifestar en una reducción de expansión foliar y pérdida de turgencia en tallo por lo consiguiente en la reducción del diámetro de tallo y hojas de las plantas. Los resultados

obtenidos en el presente trabajo evidencian lo anterior, ya que se observó una reducción en el diámetro del tallo en el híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo, en comparación cuando las plantas no fueron tratadas con NaCl. Sin embargo, en la línea mejorada (CML 451) no se observó una disminución en diámetro de tallo cuando las plantas fueron tratadas con NaCl. Por lo tanto, la línea CML451 evitó la acumulación de iones en sus brotes y mostró un mayor diámetro de tallo en las plantas.

En general, la línea CML 451 y el híbrido ZR-76 la inoculación de *B. stratosphericus* CPO 4.278 aumentó el diámetro del tallo. Sin embargo, en el criollo San Pablito amarillo con la inoculación de *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 aumento el diámetro del tallo. Por lo tanto, en la línea CML451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo, la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 disminuyó el estrés salino hasta 200 mM de NaCl permitiendo un aumento en el diámetro de tallo. Lesmes et al. (2007) menciona que, a altas concentraciones de salinidad, se deterioran la selectividad de las membranas y esto favorece la acumulación de iones en raíces y tallos, ya que la elevada concentración de sales en el suelo, inhiben el crecimiento de las plantas incluyendo el diámetro del tallo, causando la disminución del contenido de agua en la planta, acumulación de iones en cantidades tóxicas y reducción de la disponibilidad de nutrientes. Por lo tanto, los resultados indican que la inoculación de las bacterias puede aliviar el estrés salino.

### **5.3.3 Longitud de la raíz**

En la línea CML 451 en ausencia de NaCl la inoculación de la cepa *N. drentensis* CPO 4.261, la fertilización y el control presentaron la mayor longitud de la raíz, no observando diferencia significativa. La inoculación de *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus* sp CPO 4.277 redujeron la longitud de la raíz. A la concentración de 100 mM de NaCl no se observó diferencias significativas sobre los tratamientos. Finalmente, a la concentración más alta (200 mM NaCl) la inoculación de la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 aumento significativamente (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) la longitud de raíz, sin embargo, al igual que la cepa, el control toleró el estrés a la salinidad, por ser una variedad con resistencia a la salinidad, permitió la sobrevivencia de las plantas bajo condiciones de salinidad.

En el híbrido ZR-76 en ausencia de NaCl, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. En la concentración de 100 mM de NaCl, la inoculación de *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 aumento la longitud de la raíz mostrando diferencia significativa con respecto al resto de los tratamientos. A la concentración de 200 mM el único tratamiento que promovió la longitud de la raíz correspondió a la inoculación con *N. drentensis* CPO 4.261y además fue el único tratamiento que permitió la sobrevivencia de las plantas bajo condiciones de salinidad.

En el criollo San Pabléño amarillo a 0 mM de NaCl, no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos. En la concentración de 100 mM la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 aumento significativamente (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) la longitud de la raíz en comparación con los otros tratamientos. La inoculación de la cepa *Bacillus* sp. CPO 4.277 también presento un efecto promotor. A 200 mM la inoculación de la cepa de *Bacillus* sp. CPO 4.277 aumento significativamente (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) la longitud de la raíz en comparación con los otros tratamientos, seguidamente se encontró las plantas inoculadas con *N. drentensis* CPO 4.261 (Figura 18).

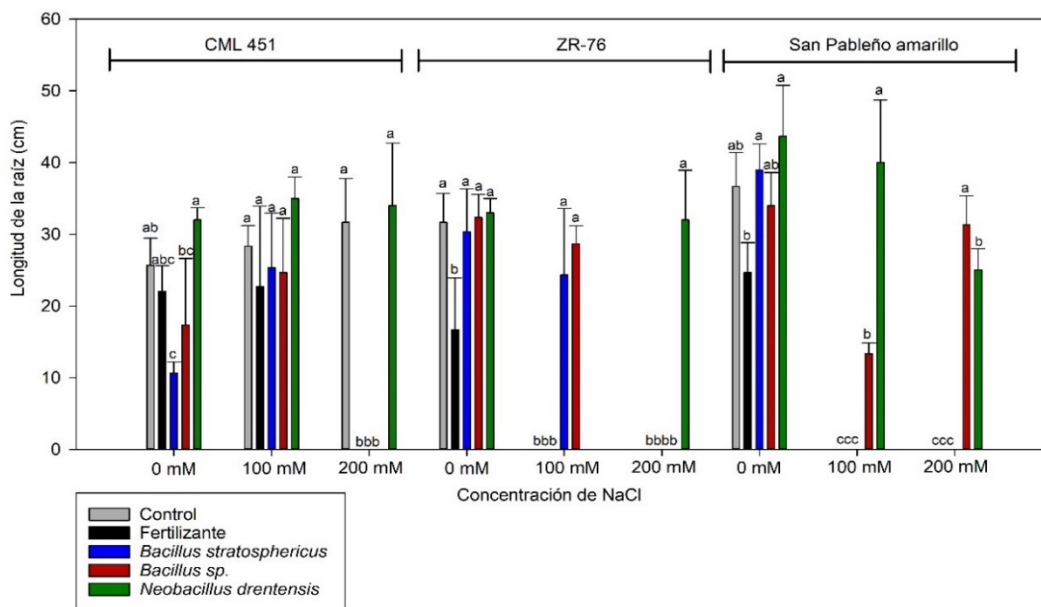


Figura 18 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pabléño amarillo), evaluando la longitud de la raíz a los 40 días, con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes

encima del diagrama de barras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

En general en la línea CML451 y el híbrido ZR-76 la inoculación de la cepa *B. stratosphericus* CPO 4.278 permitió aumentar la longitud de la raíz, y por consiguiente resistir al estrés salino. En San Pablito amarillo la cepa *Bacillus* sp. CPO 4.277 y *N. drentensis* permitieron resistir al estrés salino y participaron como BPCV. Khodarahmpour (2012) menciona que la longitud de la radícula es uno de los rasgos más importantes afectados por el estrés salino, ya que las raíces están en contacto directo con el suelo. Por lo tanto, la longitud de la raíz es una variable que permite definir la respuesta de las plantas al estrés salino. La salinidad es una de las limitantes más importantes que obstaculizan la productividad agrícola en todo el mundo, debido a la falta de absorción de nutrientes por inhibición del crecimiento de las raíces (Zafar-ul-Hye et al., 2014). Por lo tanto, los datos encontrados indican que la concentración de salinidad evaluada afecta la longitud de la raíz en los tratamientos evaluados, sin embargo, la inoculación de las bacterias reduce significativamente el estrés salino en las plantas.

#### **5.3.4 Porcentaje de materia seca aérea**

En la línea CML451 en ausencia de NaCl la inoculación con la cepa *Bacillus* sp. CPO 4.277 resultó en un aumento significativo en el porcentaje de materia seca aérea en comparación en el resto de los tratamientos (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). A una concentración de 100 mM de NaCl la inoculación de las cepas *N. drentensis* CPO 4.261 o *B. stratosphericus* CPO 4.278 resultaron en un aumento significativo en el porcentaje de materia seca aérea con respecto a los otros tratamientos quienes presentaron un efecto negativo sobre la sobrevivencia de las plantas. En la concentración más alta de NaCl (200 mM), el control y la inoculación con *N. drentensis* CPO 4.261 presentaron el mayor porcentaje de materia seca aérea, los otros tratamientos presentaron un efecto negativo sobre las plantas causando su muerte.

En el híbrido ZR-76 en ausencia de NaCl se observó diferencias significativas (Tukey,  $p = 0.05$ ), el fertilizante (18-46-00) presente al porcentaje de materia seca aérea en comparación al control. A una concentración de 100 mM de NaCl la cepa *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 resultaron con mayor porcentaje de

materia seca aérea observándose diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) con respecto a los demás tratamientos, los cuales presentaron un efecto negativo sobre las plantas causando su muerte. En la concentración más alta de NaCl (200 mM) solamente la inoculación de la cepa *N. drentensis* tuvo efectos positivos sobre porcentaje de materia seca aérea, el resto de los tratamientos presentaron un efecto negativo sobre las plantas causando su muerte.

Por último, el criollo San Pableño amarillo en ausencia de NaCl no se observó diferencias significativas, sin embargo, a una concentración de 100 mM y 200 mM de NaCl la inoculación de la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 resultó con mayor porcentaje de materia seca aérea, observándose diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) con respecto a los demás tratamientos (Figura 19)

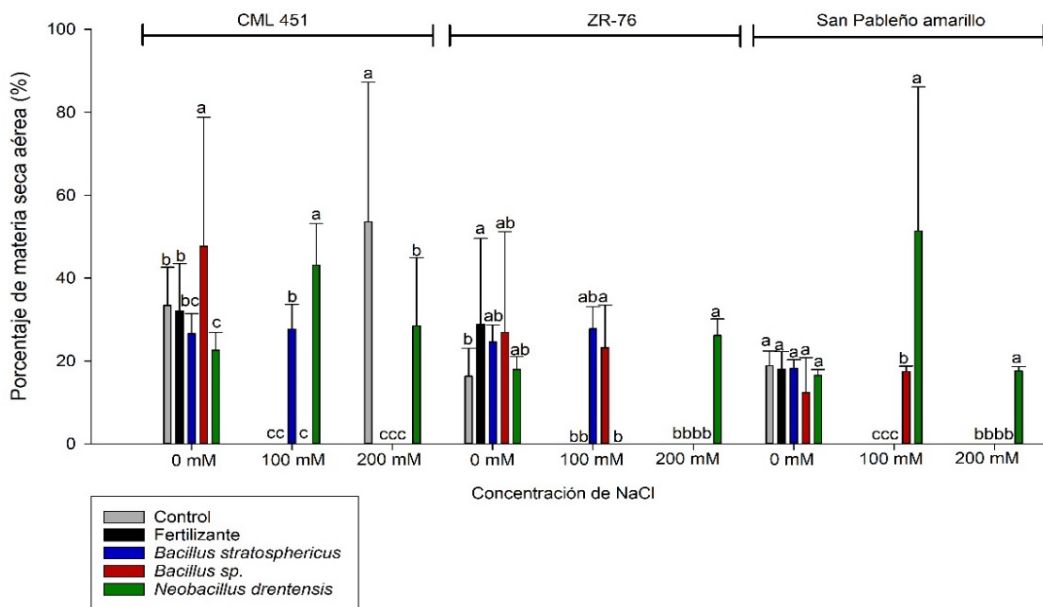


Figura 19 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus sp.* CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo), evaluando el porcentaje de materia seca aérea a los 40 días, con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

### 5.3.5 Porcentaje de materia seca radical

En la línea CML451 en ausencia de NaCl a los 40 días, la inoculación con la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 resultó con mayor porcentaje de materia seca radical, observando

diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) con respecto a los tratamientos con la inoculación de *Bacillus* sp. CPO 4.277 y el fertilizante. A una concentración de 100 mM de NaCl la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 y *B. stratosphericus* CPO 4.278 resultaron con mayor porcentaje de materia seca radicular en comparación con el resto de los tratamientos que causaron la muerte de las plantas. En la concentración más alta de NaCl (200 mM), se observó que la inoculación de la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 y el control resultaron con un porcentaje de materia seca radical, el resto de los tratamientos presentaron un efecto negativo sobre las plantas causando su muerte.

En el híbrido ZR-76 en ausencia de NaCl se observó diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) resultando el control con mayor porcentaje de materia seca radical en comparación con el resto de los tratamientos. A una concentración de 100 mM de NaCl las cepas *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 resultaron en un aumento significativo en el porcentaje de materia seca radical (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) en comparación con el resto de los tratamientos que causaron la muerte de las plantas. En la concentración más alta de NaCl (200 mM) solamente la inoculación de la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 permitió el aumento significativo del porcentaje de materia seca radicular (Tukey,  $p \leq 0.05$ ), el resto de los tratamientos presentaron un efecto negativo sobre las plantas causando su muerte.

Por último, el criollo San Pablito amarillo en ausencia de NaCl no se observó diferencias significativas, sin embargo, a una concentración de 100 mM y 200 mM de NaCl la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 resultó con mayor porcentaje de materia seca radical, observándose diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) con respecto a los demás tratamientos. El resto de los tratamientos presentaron un efecto negativo sobre las plantas causando su muerte, con excepción de la inoculación de *Bacillus* sp. CPO 4.277 a una concentración de 100 mM (Figura 20).



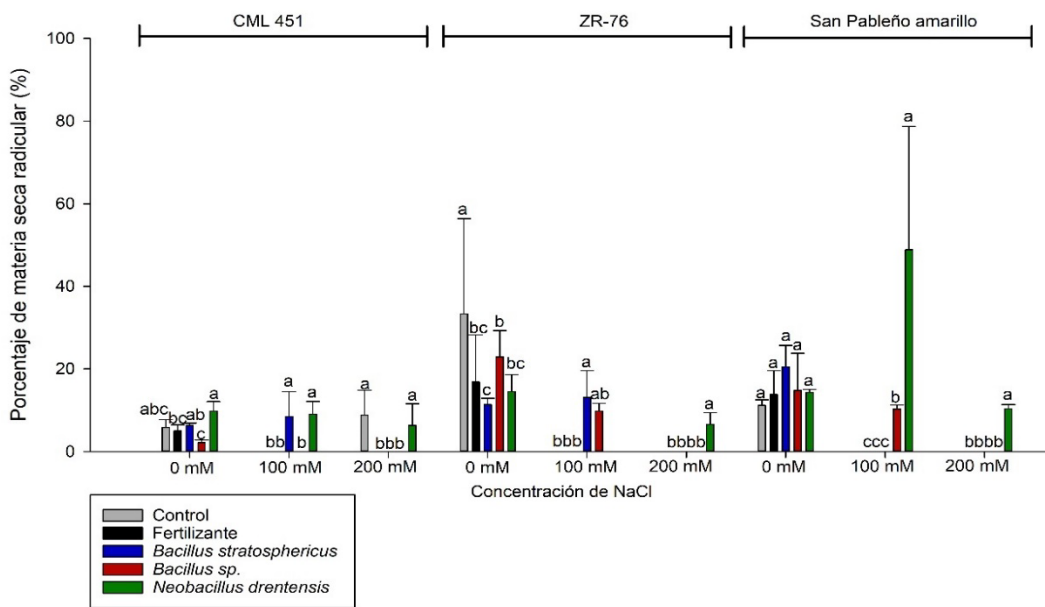


Figura 20 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus sp.* CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo), evaluando el porcentaje de materia seca radicular a los 40 días, con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Letras diferentes encima del diagrama de barras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

En general la inoculación de la bacteria *N. drentensis* CPO 4.261 aumento significativamente todas las variables morfométricas y fisiológicas evaluadas en las plantas de maíz en condiciones de estrés salino. Actualmente, no existe reportes de la especie *N. drentensis*, como promotora de crecimiento vegetal en maíz. Sin embargo, Kubi et al., (2021) encontraron que al inocular plantas de maíz (híbrido coreano, con la bacteria halófila *Pseudomonas psychrotolerans* CS5 se logró aumentar la altura de la planta, longitud de la raíz y diámetro del tallo a una concentración de 200 mM de NaCl. Azeem et al., (2022) determinaron que la bacteria halófila *Bacillus safensis* PM22 posee efectos promotores del crecimiento vegetal al aumentar la altura, longitud de la raíz a una concentración de 180 mM de NaCl, sin embargo, a concentraciones más altas (240 mM-300 mM de NaCl) esta actividad reduce sustancialmente. Esto depende de la tolerancia a la salinidad de la bacteria evaluada y de la variedad de maíz estudiada. Este trabajo es el primer reporte, de nuestro conocimiento en el que se evalúa la tolerancia a la salinidad del híbrido Zarco ZR-76 y criollo San Pablito amarillo (Figura 21, 22 y 23).

Por otro lado, la bacteria con mayor actividad en este estudio *N. drentensis* es una bacteria clasificada como halófila moderada, que en condiciones salinas esta pudiera estar desarrollando un mecanismo para tolerar la salinidad y promover el crecimiento vegetal en plantas de maíz, como por ejemplo, el ajuste osmótico por la homeostasis iónica y la acumulación de osmolitos, la protección contra los radicales libres por la formación de enzimas que eliminan los radicales libres, las respuestas al estrés oxidativo y el mantenimiento de los parámetros de crecimiento por la síntesis de fitohormonas y otros metabolitos (Mishra *et al.*, 2021). Estos resultados, son similares a los reportado por Magaña, (2021), ya que la bacteria *N. drentensis* CPO 4.261 presento efecto promotor del crecimiento vegetal *in vitro* al fijar N, solubilizar fosfatos y potasio y producir ácidos orgánicos. A la especie *N. drentensis* se le ha reportado su actividad solubilizadora de óxido Mn (Farda *et al.*, 2022). También, Hernández-Pacheco *et al.* (2021) encontró que una cepa *N. drentensis* CH23 tiene efecto promotor de crecimiento vegetal al aumentar la longitud de la raíz, el número y longitud de las raíces laterales, el peso fresco de la raíz y el tallo, y el peso total de la planta en tomate. Por su parte, Mukhtar *et al.* (2020) reportaron que la cepa *Bacillus pumilus* HL3RS14 posee capacidad promotora de crecimiento vegetal sobre el cultivo de maíz, ya que su inoculación aumentó la altura de la planta, porcentaje de materia seca aérea y porcentaje de materia seca radical. De igual manera, Kapadía *et al.* (2022) reportaron los efectos positivos de la inoculación de la cepa *Bacillus* sp. AD32 en maíz bajo condiciones de estrés salino, con el aumento de la altura de la planta y longitud de la raíz.

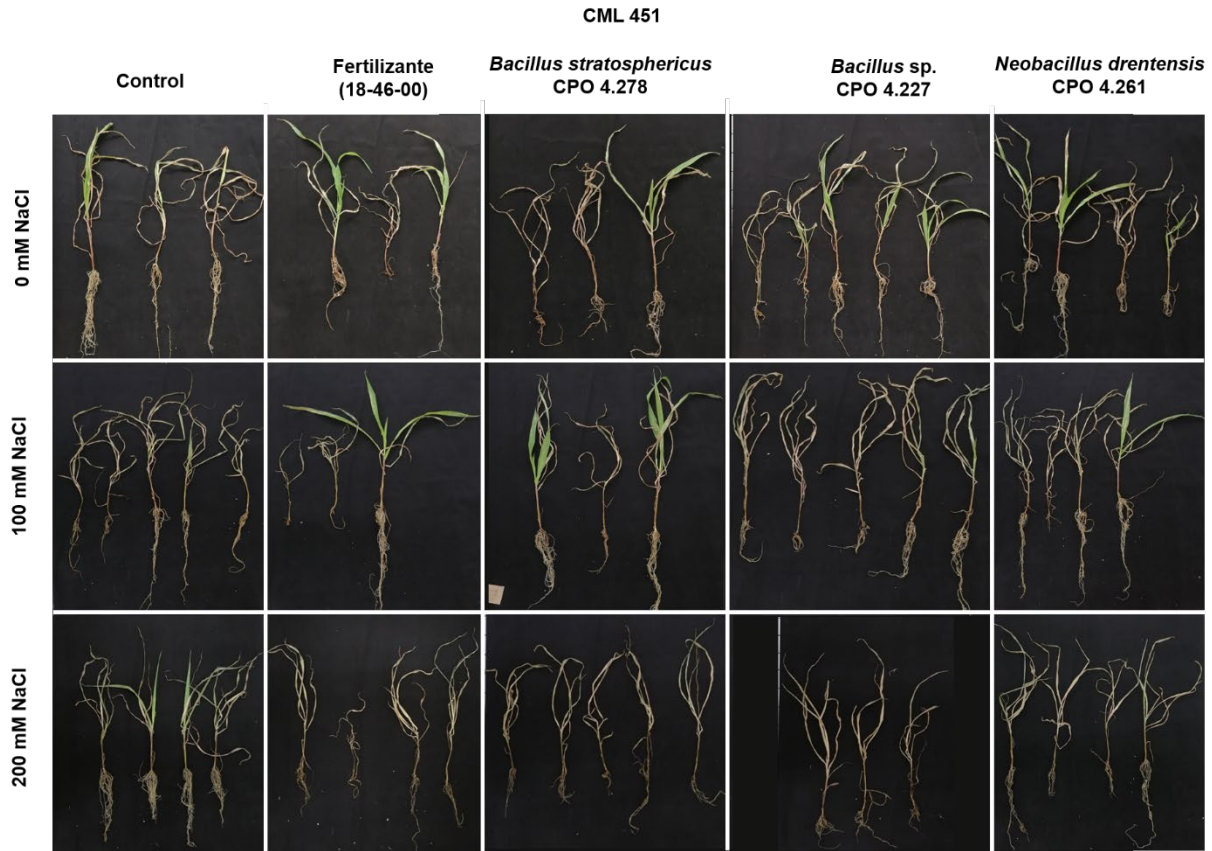


Figura 21 Efecto del estrés salino en plantas de maíz, con cinco tratamientos, Control, Fertilizante (18-46-00), *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278, *Bacillus sp.* CPO 4.277 y *Neobacillus drentensis* CPO 4.261) (horizontal) y tres niveles de salinidad NaCl, 0 mM, 100 mM y 200 mM de NaCl (Vertical) en la línea tolerante a la salinidad CML451

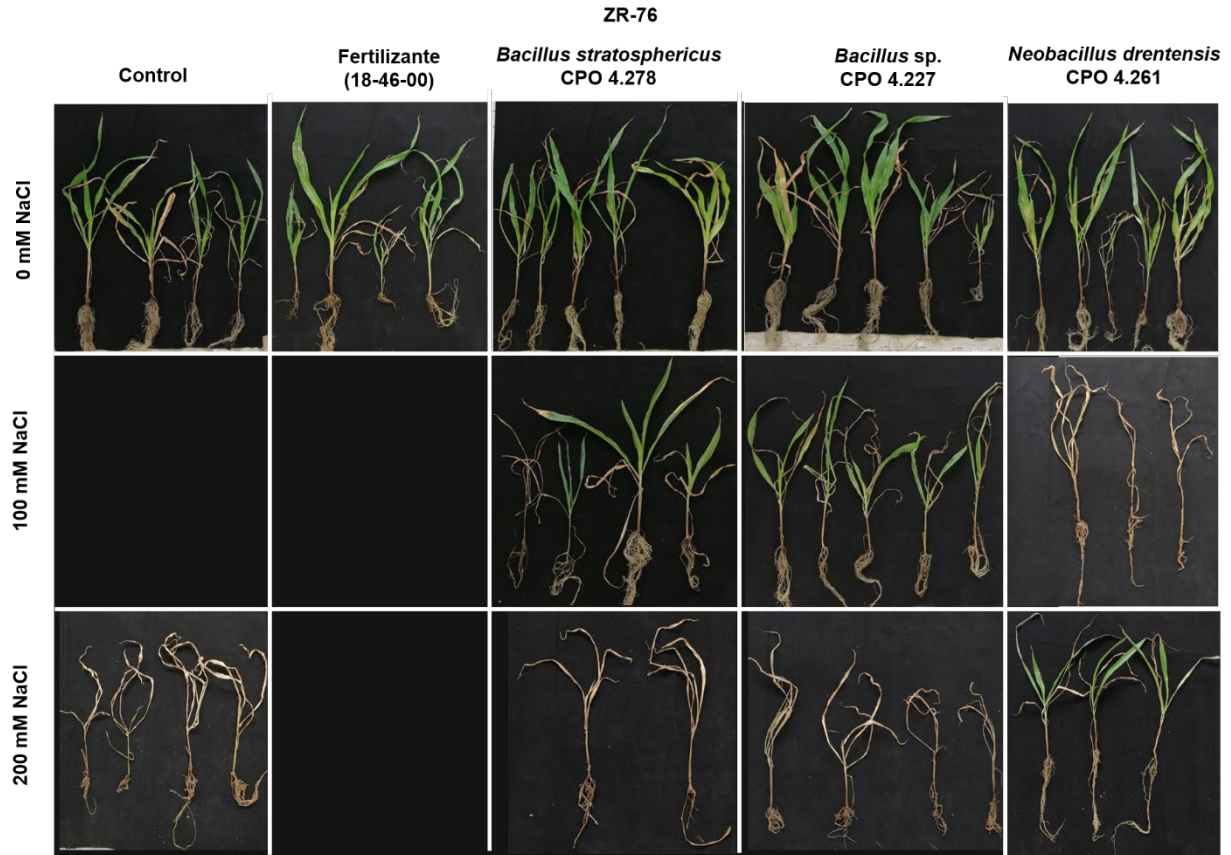


Figura 22 Efecto del estrés salino en plantas de maíz, con cinco tratamientos, Control, Fertilizante (18-46-00), *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278, *Bacillus sp.* CPO 4.277 y *Neobacillus drentensis* CPO 4.261 (horizontal) y tres niveles de salinidad NaCl, 0 mM, 100 mM y 200 mM de NaCl (Vertical) en híbrido comercial ZR-76.

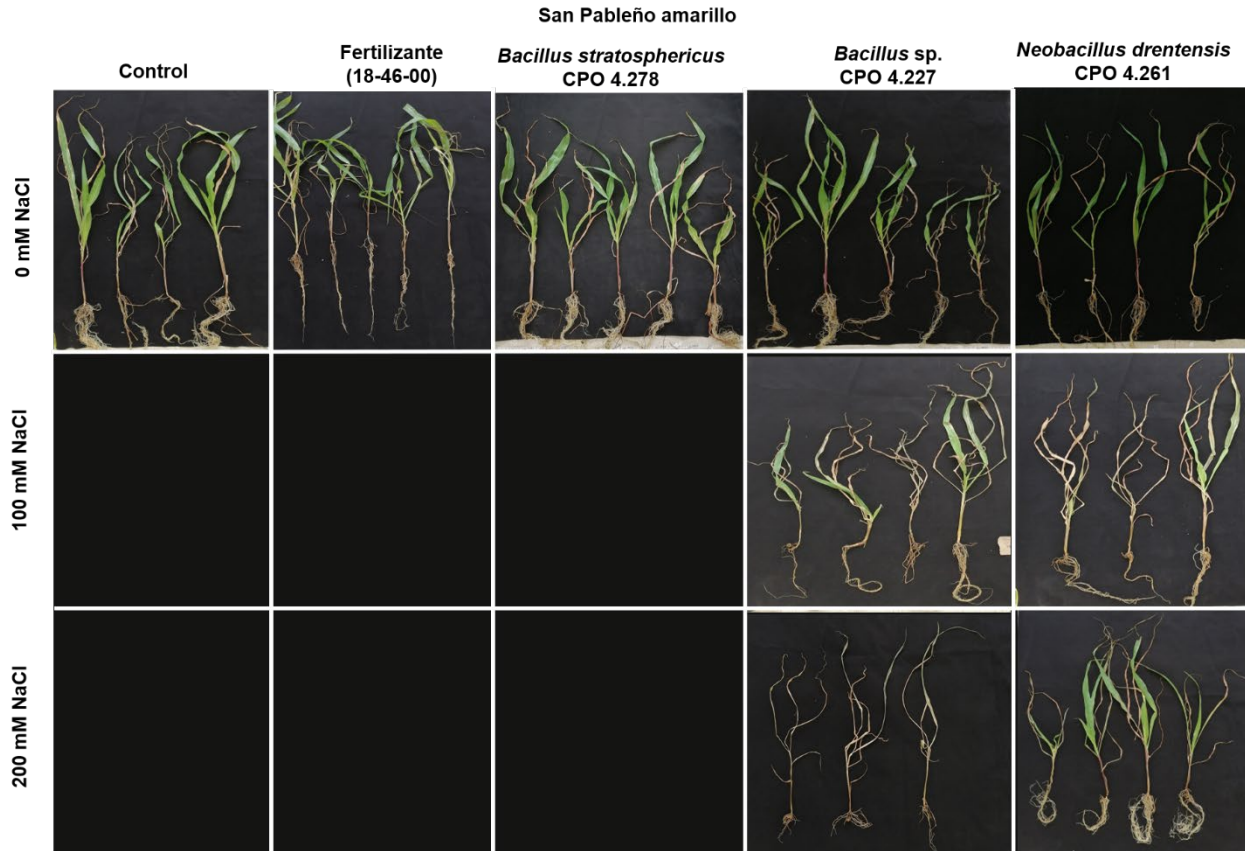


Figura 23 Efecto del estrés salino en plantas de maíz, con cinco tratamientos, Control, Fertilizante (18-46-00), *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278, *Bacillus sp.* CPO 4.277 y *Neobacillus drentensis* CPO 4.261 (horizontal) y tres niveles de salinidad NaCl, 0 mM, 100 mM y 200 mM de NaCl (Vertical) en criollo San Pablão amarillo.

### 5.3.6 Determinación de la conductividad eléctrica del suelo utilizado después del experimento.

Los valores de conductividad eléctrica (CE) del suelo fueron analizados después del experimento (Figura 24). En la línea CML 451, a una concentración de 0 mM de NaCl los valores de conductividad eléctrica no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, a la concentración de 100 mM de NaCl el control, la inoculación de *Bacillus sp.* CPO 4.277 y *N. drentensis* CPO 4.261 presentaron los menores valores de CE en comparación con el resto de los tratamientos. A la dosis de 200 mM, los valores más bajos de CE fueron encontrados en los tratamientos con la inoculación de *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus sp.* CPO 4.277 mostrando ser significativamente diferentes al resto de los tratamientos.

En el híbrido ZR-76, a 0 mM de NaCl los tratamientos con fertilizante y el inoculado con *Bacillus* sp. CPO 4.277 presentaron significativamente los menores valores de CE, observando diferencia significativa con el resto de los tratamientos (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). A 100 mM de NaCl la CE aumento en esta variedad, el tratamiento con fertilización presentó la menor CE observando diferencia significativa con el resto de los tratamientos. En 200 mM de NaCl la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 presentó la menor CE, observando diferencia significativa con respecto al control (Figura 24).

En el criollo San Pablito amarillo a 0 mM de NaCl los tratamientos con la inoculación de *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261 presentaron menor CE en comparación con el control y fertilizante, observando diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). A 100 mM de NaCl la inoculación con las cepas *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 presentaron la menor CE encontrándose diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) con respecto a los demás tratamientos. En la concentración con mayor contenido de NaCl (200 mM) el tratamiento por la inoculación de *Bacillus* sp. CPO 4.277 presentó la menor CE en comparación con los demás tratamientos, seguida por los tratamientos con la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 y *B. stratosphericus* CPO 4.278 (Figura 24).

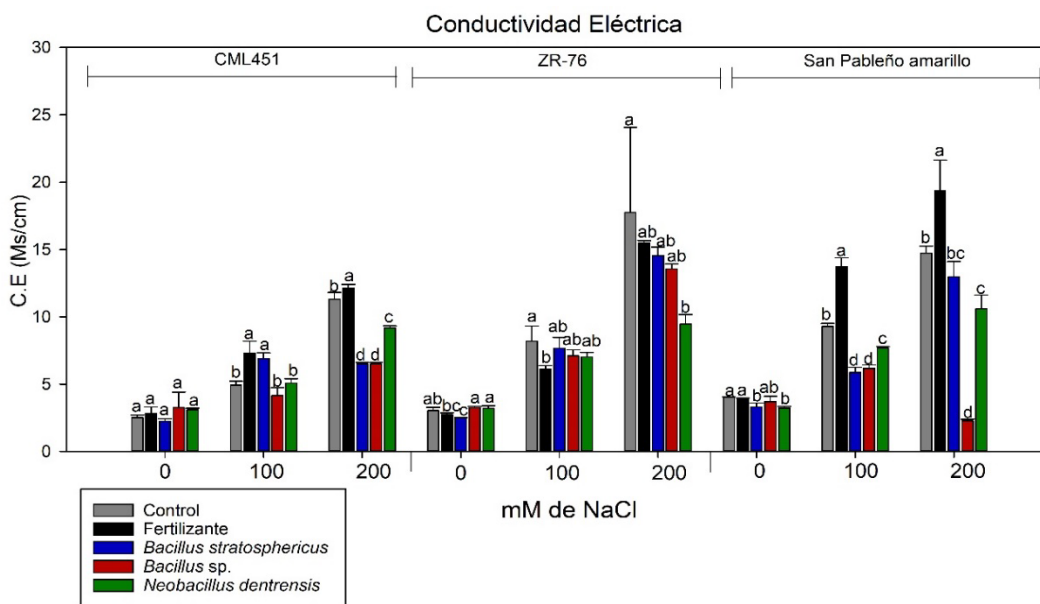


Figura 24 Evaluación de la Conductividad eléctrica de suelos que fueron medidos después del estrés salino con diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM) y cinco tratamientos

(Control, Fertilizante (18-46-00), *Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) en tres tipos de maíz (línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo). Letras diferentes encima del diagrama de barras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

La salinidad del suelo (y también del agua) se mide por la conductividad eléctrica (CE), expresada en deciSiemens por metro (dS/m) (Talat, 2020). Por lo tanto, la CE se puede utilizar como un indicador directo del contenido de salinidad de un suelo, por lo que una disminución en los valores de CE indica una disminución en el contenido de NaCl. El aumento de la CE tiene efectos adversos sobre la estabilidad estructural, la densidad aparente y la permeabilidad del suelo (Tejada y González, 2006). Mathur et al. (1993) observaron que altas concentraciones iónicas en el suelo están asociadas con valores elevados de CE. Considerándose salino cuando rebasa la cantidad de 4 dS/m (equivalente a 40 mM NaCl) (Delgado-González et al., 2022). La mayoría de los cultivos con CE de 4 dS/m en el suelo muestran una reducción en el rendimiento (Munns, 2005; Jamil et al., 2011).

Las bacterias halófilas poseen un mecanismo de adaptación a condiciones salinas (Rodríguez-Aristizabal et al., 2019), emplean la estrategia de solutos compatibles, la cual permite un alto grado de adaptabilidad de las células y cambios en la concentración de sal de su entorno (Faraj-Edbeib et al., 2016), se conoce que su crecimiento depende del sodio ( $\text{Na}^+$ ) ya que lo utilizan para diversas reacciones bioenergéticas, por lo cual se moviliza constantemente por la célula para mantener un gradiente de iones de sodio a través de sus membranas citoplasmáticas mediante sistemas de transporte primario y secundario (Faraj et al., 2016). En relación a lo anterior Rodríguez-Aristizabal et al., (2019) evaluó bacterias halófilas nativas con potencial para la captura y movilización de sodio en suelos salinizados, encontrando que, las plantas cultivadas en suelos salinos o con aguas salinas, sufren alteraciones en todo su metabolismo y lo reflejan morfológicamente cuando se comparan con plantas cultivadas sin estrés salino, claro ejemplo se demostró en el actual trabajo (Figura 21,22 y 23) donde *N. drentensis* CPO 4.261 permitió la supervivencia de las plantas bajo condiciones de salinidad en comparación con el control, sin embargo. la cepa *Bacillus* sp. CPO 4.277 capturo y movilizó el sodio en el suelo por debajo de los 3 ds/m, similar a lo reportado por Casierra-Posada et al., (2013). Esto se debe a que la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 es

considerada como una bacteria halófila moderado y la cepa *Bacillus* sp. CPO 4.277 como una bacteria halófila débil (Magaña, 2021), por lo tanto, Mongodin et al. (2005) menciona que las bacterias que no se encuentran adaptadas a altas o bajas concentraciones de salinidad se verá afectado su estructura celular, así como su función. Oren, (2018) plantea que las bacterias que se encuentran colonizando la rizosfera y cumplan con su ciclo de vida, mueran en el suelo liberando el sodio al medio externo luego de que han sido movilizado y usado para los procesos intracelulares. Demostrando así que el aumento de la salinidad en los suelos inoculados con *N. drentensis* CPO 4.261 se debió a que la cepa cumplió su función de promover el crecimiento y al no tener un suelo altamente salino cumplió su ciclo de vida y murió liberando el sodio, caso contrario a la cepa *Bacillus* sp. CPO 4.277 que al estar en un ambiente adecuado siguió con su ciclo de vida. Por lo tanto, se demostró que las bacterias disminuyeron el contenido de salinidad en suelo. Estos resultados pueden explicar el crecimiento de las plantas en comparación con control en todas a las variables morfológicas medidas.

#### **5.4 Efecto de las bacterias halófilas y la fertilización química sobre las variables fisiológicas en diferentes tipos de maíz bajo condiciones de salinidad.**

##### **5.4.1 Contenido de antocianina**

En la línea CML 451 al ser una línea resistente a la salinidad en las concentraciones de 0 y 100 mM de NaCl, en el contenido de antocianina no se encontró diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) entre los tratamientos. En la concentración de 200 mM los únicos tratamientos que permitieron la sobrevivencia de las plantas fue la inoculación de la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 y el control, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en el contenido de antocianina entre ambos tratamientos.

Para el híbrido ZR-76 con ausencia de NaCl (0 mM) no se encontraron diferencias significativas en el contenido de antocianinas entre los tratamientos. A la concentración de 100 mM de NaCl la inoculación de las cepas *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 fueron los únicos tratamientos que permitieron la sobrevivencia de las plantas, sin embargo, no se encontró diferencias significativas en el contenido de antocianinas. A una concentración de 200 mM de NaCl la inoculación de la cepa *N.*



*drentensis* CPO 4.261 fue el único tratamiento que permitió la sobrevivencia de las plantas y por consiguiente el aumento de la concentración de antocianina.

En el criollo San Pablón amarillo en ausencia de NaCl (0 mM), no se encontraron diferencias significativas en el contenido de antocianinas entre los tratamientos. A las concentraciones de 100 y 200 mM de NaCl la inoculación de las cepas *N. drentensis* CPO 4.261 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 fueron los únicos tratamientos que permitieron la sobrevivencia de las plantas y por consiguiente el aumento de la concentración de antocianina.

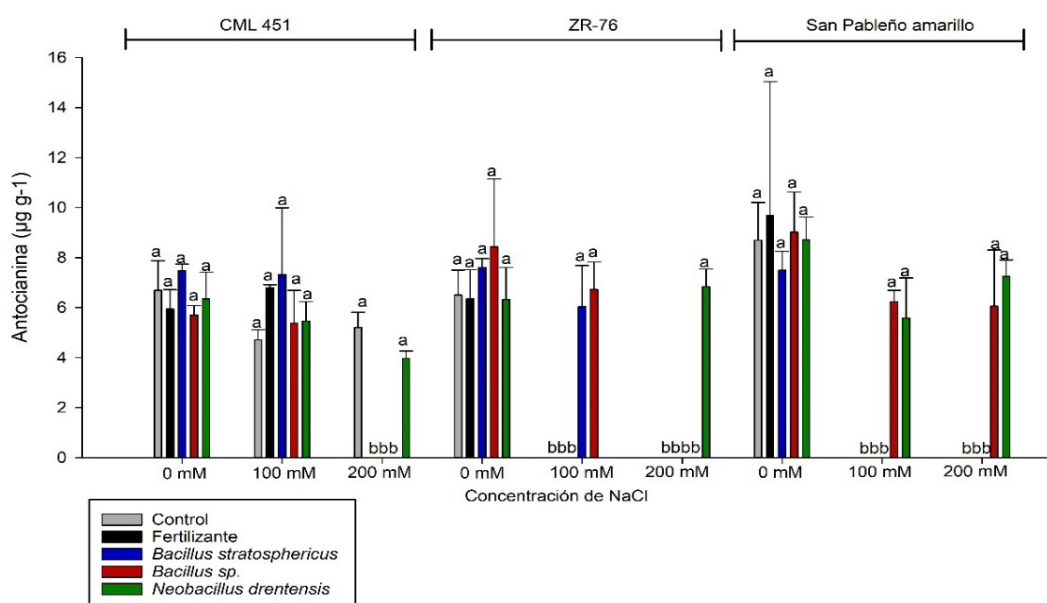


Figura 25 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablón amarillo), con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Evaluando la producción de Antocianina después de los 40 días. Letras diferentes encima del diagrama de barras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

El aumento de la concentración de NaCl redujo el desarrollo adecuado de las plantas de maíz e incluso los tratamientos presentaron un efecto negativo sobre las plantas causando su muerte (Figura 21, 22 y 23). La antocianina es importante en la protección de las plantas contra diversos estreses abióticos, debido a sus propiedades antioxidantes (Ahmed et al. 2014), se ha demostrado que la que la acumulación de antocianinas ocurre en plantas bajo estrés salino (Saber-Riseh et al., 2021), y que la aplicación de los

inóculos mejora el impacto negativo inducido por la salinidad. Se ha reportado que la inoculación con bacterias halófilas protege a la planta del daño causado por la salinidad al aumentar los niveles de antocianina y que los efectos son visibles a mayor nivel de salinidad (Sneha *et al.*, 2021), cabe resaltar que aún no se encuentran publicaciones referentes a la evaluación sobre la acumulación de antocianinas en cultivos de maíz inoculadas con bacterias halófilas. Sin embargo, Chunthaburee *et al.*, (2016) determino los altos contenidos de Antocianina en cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) obteniendo una acumulación de (3.22 - 3.95  $\mu\text{g}$  de antocianina  $\text{g}^{-1}$ ) el cual demuestra una baja acumulación de antocianina. Estudios recientes Haque *et al.*, (2022) reportaron que, al inducir la planta de tomate a un estrés salino, estas plantas acumularon 13.53  $\mu\text{g}$  de antocianina  $\text{g}^{-1}$ , en comparación con las plantas inoculadas con bacterias halófilas, redujeron (dos veces) el contenido de antocianinas. Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran una baja acumulación de Antocianina en la CML 451 (3.95  $\mu\text{g}$  de antocianina  $\text{g}^{-1}$ ) y ZR-76 (6.83  $\mu\text{g}$  de antocianina  $\text{g}^{-1}$ ) con el inóculo *N. drentensis* CPO 4.261, a pesar del estrés salino (200 mM de NaCl), estos resultados coinciden con lo reportados por Haque *et al.*, (2022). De igual manera, Zilaie *et al.*, (2022) han realizado la evaluación de bacterias halófilas (*Bacillus pumilus* HR y *Zhihengliuella halotolerans* SB) para conocer el efecto al alivio del estrés, midiendo la acumulación de antocianina en plantas de *Nitraria schoberi*, demostrando que, al inocular con las cepas, la planta aumenta la concentración de antocianina y a pesar del estrés las bacterias mejoraron el crecimiento de las plantas. La cepa *N. drentensis* CPO 4.261 demostró aliviar el estrés salino acumulando una baja concentración de antocianina y promoviendo el crecimiento vegetal.

#### **5.4.2 Contenido de clorofila**

Para la línea CML 451, los resultados mostraron que con 0 y 100 mM de NaCl no se observaron diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ), sin embargo, a 200 mM de NaCl el control y la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 permitieron la sobrevivencia de las plantas y mostraron la mayor concentración de clorofila en comparación a los tratamientos.

En el híbrido ZR-76 en ausencia de NaCl el tratamiento con fertilizante redujo su contenido, observando diferencias significativas con respecto al control, el cual resulto con mayor concentración de clorofila. A una concentración de 100 mM de NaCl las plantas inoculadas con las cepas *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 resistieron al estrés por salinidad y permitieron el mayor contenido de clorofila, sin embargo, a una concentración más alta de 200 mM de NaCl la inoculación de cepa *N. drentensis* CPO 4.261 resulto con mayor concentración de clorofila y la única que permitió la sobrevivencia de las plantas.

Por último, en el criollo San Pableño amarillo en ausencia de NaCl las plantas tratadas con el fertilizante resulto con mayor contenido de clorofila total, observando diferencia significativa con respecto a los otros tratamientos excepto con las plantas tratadas con *Bacillus* sp. CPO 4.277. A las concentraciones de 100 y 200 Mm de NaCl la inoculación de las plantas con las cepas *Bacillus* sp. CPO 4.277 o *N. drentensis* CPO 4.261 permitieron obtener un aumento significativo en el contenido de clorofila en comparación con el resto de los tratamientos, que presentaron un efecto negativo sobre las plantas causando su muerte.

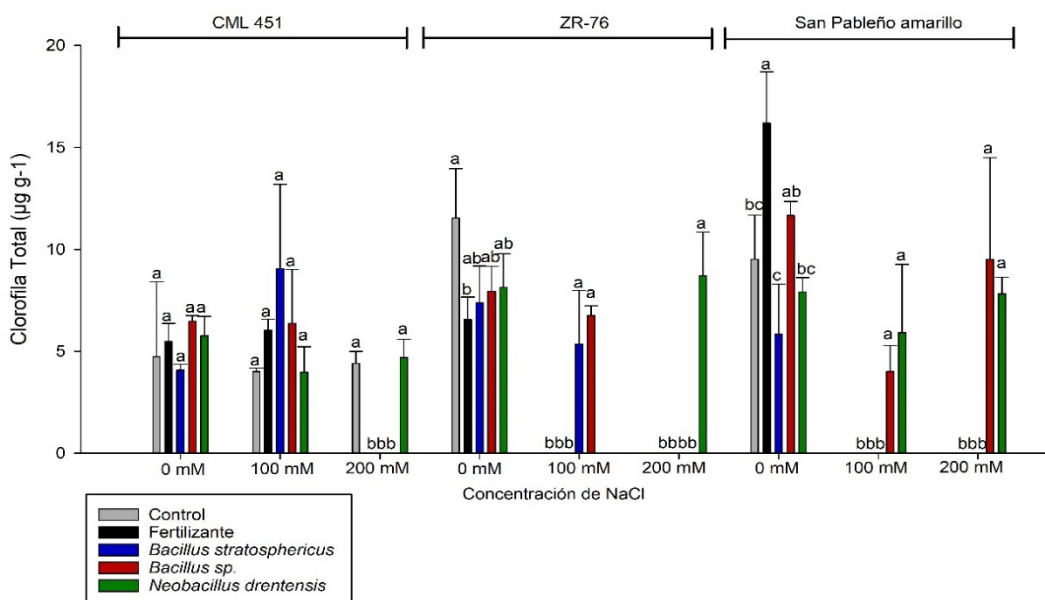


Figura 26. Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo), con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Evaluando Clorofila Total después de los 40 días. Letras diferentes

encima del diagrama de barras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

En general, los resultados nos indican que dependiendo de la variedad de maíz los efectos de la salinidad va a variar en el contenido de clorofila. En la línea resistente (CML 451) el control sobrevivió a la concentración más alta de NaCl evaluada, sin embargo, no encontrando diferencias con respecto a las plantas tratadas con la cepa *N. drentensis* CPO 4.261. Contrarios a estos resultados, Ullah et al (2015) reportaron un aumento en el contenido de clorofila en plantas de maíz por la inoculación de las cepas *Bacillus* sp. y *Bacillus pumilus* en comparación con el tratamiento control bajo condiciones de salinidad a 100 mM de NaCl. De igual manera, Misra y Chauhan (2020) reportaron un aumento del contenido de clorofila total por la inoculación de la cepa *Bacillus safensis* NBRI12M.

#### **5.4.3 Contenido de prolina**

En cuanto al contenido de prolina en las hojas se observaron diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) en las plantas tratadas dependiendo del grado de estrés, a mayor contenido de prolina mayor estrés causado por la salinidad. En la línea CML 451 en ausencia de NaCl el control, la inoculación de *Bacillus* sp. CPO 4.277 o *N. drentensis* CPO 4.261 redujeron significativamente el contenido de prolina en hoja en comparación con el resto de los tratamientos, sin embargo, al aumentar la concentración de NaCl (100 Mm), la inoculación de la cepa *B. stratosphericus* CPO 4.278 disminuyo significativamente el contenido de prolina en hojas, en comparación con la inoculación de la cepa *Bacillus* sp. CPO 4.277. A una concentración de 200 mM de NaCl el control y la inoculación de la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 permitieron la sobrevivencia de las plantas y no se encontraron diferencias significativas en el contenido de prolina en las hojas entre ambos tratamientos (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). En el híbrido ZR-76 en ausencia de NaCl los tratamientos no mostraron diferencia significativa, sin embargo, en comparación con la línea CML 451 (resistente) la concentración de prolina fue menor. A 100 mM de NaCl la inoculación con *B. stratosphericus* CPO 4.278 o *Bacillus* sp. CPO 4.277 permitieron aumentar la tolerancia a la salinidad ya que fueron los únicos tratamientos que permitieron la sobrevivencia de las plantas, en tanto que, a 200 mM de NaCl, la

inoculación con la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 resulto ser el único tratamiento que permitió la sobrevivencia de las plantas. Para el criollo San Pableño amarillo, en ausencia a NaCl no se observaron diferencias significativas, sin embargo, en las concentraciones de 100 y 200 mM de NaCl la inoculación de las cepas *Bacillus* sp. CPO 4.277 y *N. drentensis* CPO 4.261 fueron los únicos tratamientos que permitieron la sobrevivencia de las plantas (Figura 27).

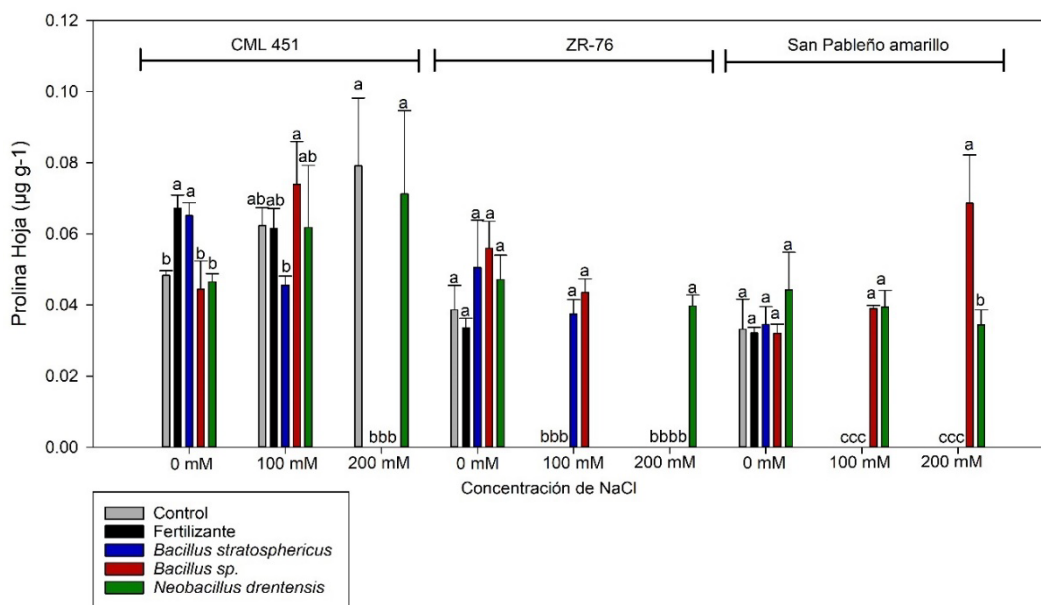


Figura 27. Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo), con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Evaluando la producción Prolina en hojas después de los 40 días. Letras diferentes encima del diagrama de barraras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

En el contenido de prolina en raíz, en ausencia de NaCl en la línea CML451 la inoculación con *N. drentensis* CPO 4.261 redujo significativamente el contenido de prolina en comparación con el resto de los tratamientos, sin embargo, a 100 mM de NaCl la aplicación de los tratamientos redujo el contenido de prolina en comparación con el control. A 200 mM la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 y el control fueron los únicos tratamientos que permitieron las sobrevivencias de las plantas. En el híbrido ZR-76 en ausencia de NaCl, la inoculación con *Bacillus* sp. CPO 4.277 resulto en un aumento significativo en el contenido de prolina en raíz en comparación con el resto de los tratamientos, sin embargo, a 100 mM de NaCl fue uno de los tratamientos que

permitieron la sobrevivencia de las plantas. A 200 mM de NaCl la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 fue el único tratamiento que permitió la sobrevivencia de las plantas. Por último, en el criollo San Pableño amarillo en ausencia de NaCl no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo, a una concentración de 100 y 200 mM de NaCl la inoculación de las cepas *N. drentensis* CPO 4.261 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 permitieron la sobrevivencia de las plantas a pesar de la salinidad por NaCl (Figura 28).

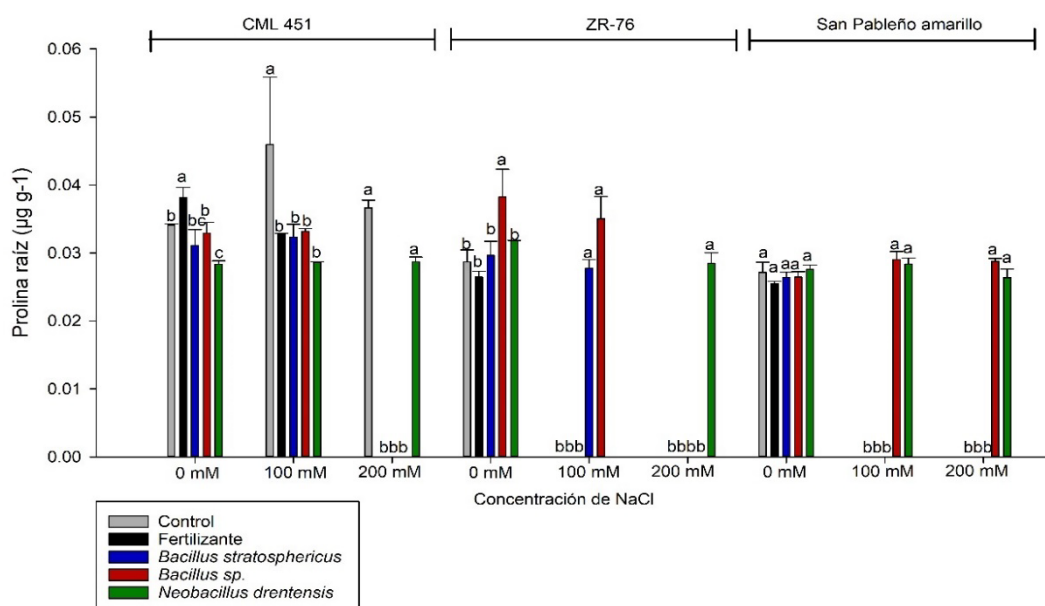


Figura 28 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus* sp. CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres tipos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pableño amarillo), con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Evaluando la producción Prolina en raíz con respecto a las variables fisiológicas después de los 40 días. Letras diferentes encima del diagrama de barraras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

En general, la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 permitió la sobrevivencia de las plantas cuando se indujo a estrés por salinidad (100 y 200 mM de NaCl), sin embargo, comparado con el control en ausencia de NaCl (0 de NaCl) no se observó una disminución en el contenido de prolina en ambos órganos vegetales tanto de raíz como en hoja no se redujo sustancialmente por efecto de la inoculación. Similarmente, Ullah et al (2015) encontraron un mayor contenido de prolina al inocular las plantas con *Bacillus* sp. y *Bacillus pumilus* con respecto al control. De igual manera

Misra y Chauhan (2020) reportó una concentración de 30 µg/ml para el control y *Bacillus safensis* NBRI12M con 7 µg/ml, observando una disminución en la concentración de prolina en las plantas de maíz. Por otro lado, la inoculación de bacterias halotolerantes en cultivos *Z. mays* influyó en la producción de enzimas antioxidantes. Por ejemplo, las plantas que crecieron bajo estrés por salinidad exhibieron la acumulación de prolina como un soluto compatible para retener el agua que, de lo contrario, podría perderse debido al entorno hipertónico circundante. (Forni et al 2017; Raheem et al., 2018).

#### **5.4.4 Contenido de azúcares totales solubles**

En cuanto al contenido de azúcares totales solubles en la línea CML 451 se observó diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) entre los tratamientos en ausencia de NaCl. La inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 permitió aumentar significativamente el contenido de azúcares totales solubles en comparación con los otros tratamientos. En 100 mM de NaCl no se observó diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo, a 200 mM la inoculación de *N. drentensis* CPO 4.261 y el control fueron los únicos tratamientos que permitieron la sobrevivencia de las plantas por efecto de la salinidad.

En el híbrido ZR-76 en ausencia de NaCl no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey,  $p \leq 0.05$ ), sin embargo, a 100 mM de NaCl la inoculación de las cepas *Bacillus* sp. CPO 4.277 y *B. stratosphericus* CPO 4.278 presentaron el mayor contenido de azúcares solubles ya que fueron los únicos tratamientos que permitieron la sobrevivencia de las plantas. A 200 mM de NaCl el único tratamiento que permitió la sobrevivencia de las plantas al estrés salino fue por la inoculación con *N. drentensis* CPO 4.261.

En el criollo San Pablito amarillo en ausencia de NaCl no se observaron diferencias significativas, sin embargo, en las concentraciones de 100 y 200 mM de NaCl la inoculación de las cepas *Bacillus* sp. CPO 4.277 o *N. drentensis* CPO 4.261 permitieron la supervivencia de las plantas a pesar del estrés salino por lo que presentaron el mayor contenido de azúcares totales solubles (figura 29).

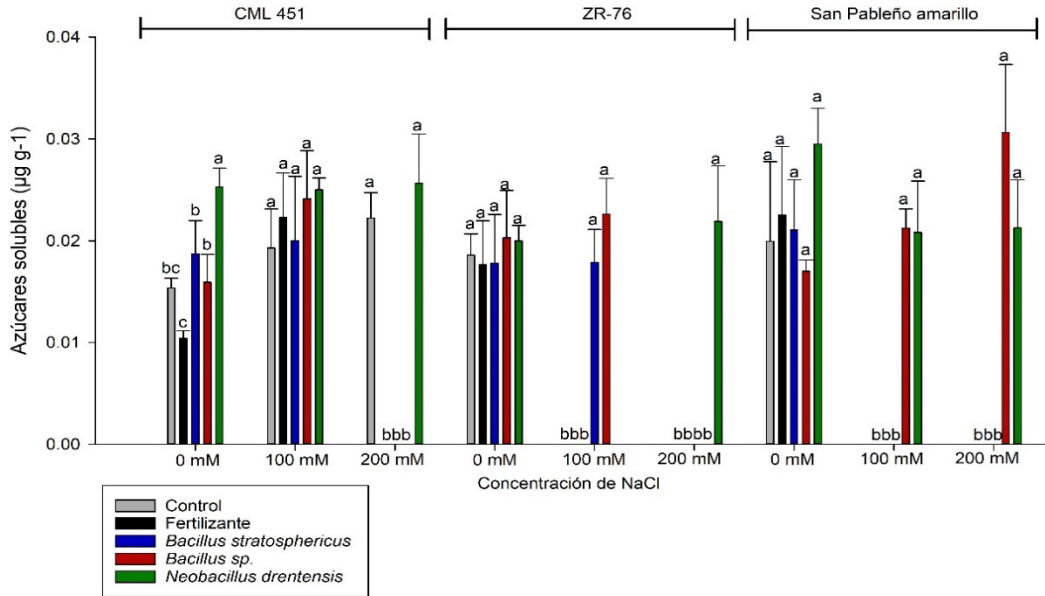


Figura 29 Efectos de las bacterias halófilas (*Bacillus sp.* CPO 4.277, *B. stratosphericus* CPO 4.278 y *N. drentensis* CPO 4.261) y fertilizante, sobre el crecimiento de tres cultivos de maíz (Línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo), con riegos de diferentes concentraciones de NaCl (0, 100 y 200 mM). Evaluando la acumulación de Azúcares solubles después de los 40 días. Letras diferentes encima del diagrama de barras por concentración de salinidad en cada variedad, son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

En general, los resultados encontrados en las variables fisiológicas indican que las plantas tratadas con la cepa *N. drentensis* CPO 4.261, resulto con mayor contenido de antocianina, clorofila total y azúcares solubles; la misma cepa resulto con menor acumulación de prolina (hoja y raíz) en la línea CML 451, híbrido ZR-76 y Criollo San Pablito amarillo) y concentraciones de NaCl (100 y 200 mM) en comparación con el control, sin embargo, *Bacillus sp.* CPO 4.277 resulto con mayor concentración de azúcares solubles en el criollo San Pablito amarillo a una concentración de 200 mM de NaCl. Se ha documentado que la salinidad afecta la fotosíntesis principalmente a través de una reducción en el área foliar, el contenido de clorofila, la conductancia estomática y, en menor medida, una disminución en la eficiencia del fotosistema II (Saddiq *et al.*, 2021). Sin embargo, Kusale *et al.* (2021) encontraron que la inoculación de la cepa *Klebsiella variicola* al cultivo de maíz, mejoró los niveles de osmolitos incluyendo una disminución de la prolina, y un aumento de azúcares y aminoácidos en comparación con el control no inoculado. Estos autores indican que estos resultados podrían deberse a la producción de exopolisacáridos (EPS) por las bacterias, ya que estos polisacáridos



pueden no solo secuestrar los iones tóxicos, sino también promover la formación de biopelículas en las superficies de las raíces de las plantas, restringiendo así el exceso de  $\text{Na}^+$  en las raíces y evitando que las condiciones salinas afecten a las plantas (Dodd y Perez-Alfocea 2012; Choudhary et al. 2016; Habib et al. 2016). Este mecanismo podría estar ocurriendo durante la inoculación de las bacterias *Bacillus* sp. CPO 4.277 o *N. drentensis* CPO 4.261, las cuales significativamente mejoran el crecimiento de las plantas y las variables morfo-fisiológicas evaluadas, además redujeron los niveles de prolina en raíz y hoja y CE en el suelo. Por lo tanto, podrían ser utilizadas a futuro como biofertilizantes en cultivos de maíz sometidos con estrés por salinidad.

## VI. CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se realizó una evaluación *in vitro* de 39 cepas bacterianas halófilas, para determinar su actividad promotora de crecimiento vegetal. En la selección inicial, 15 cepas bacterianas fueron capaces de producir ácido indol acético (AIA). De las cuales, solo las cepas *Neobacillus drentensis* CPO 4.261, *Bacillus stratosphericus* CPO 4.278 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 presentaron efectos promotores de crecimiento vegetal *in vitro* al fijar nitrógeno y solubilizar fosfatos.

Estas tres cepas se evaluaron *in vivo* en tres cultivos de maíz (línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo) bajo diferentes concentraciones de salinidad. La línea CML 451 mostró resistencia a la salinidad a una concentración de 200 mM de NaCl en comparación con el híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo. La inoculación de las cepas *N. drentensis* CPO 4.261 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 en la línea CML 451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo, presentaron un efecto positivo en el crecimiento de las plantas, aumentando la altura de las plantas, el diámetro del tallo, la longitud de la raíz, en biomasa aérea y biomasa radical, en comparación con los tratamientos con fertilizante y control. De igual manera, en las variables fisiológicas (contenido de prolina, azúcares, clorofila total y antocianina) estas cepas presentaron un efecto positivo bajo condiciones de salinidad. En la línea CML451, híbrido ZR-76 y criollo San pablito, a la concentración más alta de NaCl (200 mM), la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 disminuyó el estrés salino al presentar el menor contenido de prolina y el mayor contenido de azúcares, antocianinas y clorofila total en comparación con el control. Esto se debe a que esta es una bacteria clasificada como halófilo moderado (1000 mM de NaCl)

También, los datos indican que las cepas evaluadas no solamente promueven el crecimiento vegetal, sino también disminuyen la conductividad eléctrica, lo que se traduce como una disminución en el contenido de salinidad en el suelo. En la línea CML 451 y criollo San Pablito amarillo, la cepa *Bacillus* sp. CPO 4.277 redujo los valores de CE, en tanto que, el híbrido ZR-76 la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 presentó este efecto.

Por lo tanto, la inoculación de las cepas *N. drentensis* CPO 4.261 y *Bacillus* sp. CPO 4.277 pueden promover el crecimiento de las plantas y reducir el estrés salino en la línea

CML451, híbrido ZR-76 y criollo San Pablito amarillo. Esto puede deberse a que son capaces de disminuir la CE en el suelo y, por lo tanto, reducir la concentración de salinidad en el suelo. Estos resultados muestran el gran potencial de estas cepas para ser utilizadas como biofertilizante a futuro en suelos bajo condiciones de salinidad en el cultivo de maíz.

## VII. PERSPECTIVAS

- Evaluar en las bacterias seleccionadas su capacidad enzimática para producir ACC Desaminasa, para corroborar que estas bacterias tienen la capacidad de promover el crecimiento en plantas influenciadas por algún estrés abiótico
- Determinar otras variables fisiológicas como la producción enzimática de Catalasa, Peroxidasa y Super oxido dismutasa, enzimas importantes de respuesta al estrés salino.
- Realizar pruebas de resistencia a antibióticos de las cepas seleccionadas, esto permitirá conocer el nivel de resistencia de los antibióticos ante las cepas a inocular y así evitar el ingreso a la cadena alimentaria.
- Evaluar la cepa *N. drentensis* CPO 4.261 en campo con condiciones de salinidad de suelo para determinar su efecto en el crecimiento y producción del cultivo de maíz.

## VIII. LITERATURA CITADA

- Abbas, S., Latif, H. H., y Elsherbiny, E. A. (2013). Effect of 24-epibrassinolide on the physiological and genetic changes on two varieties of pepper under salt stress conditions. *Pak. J. Bot*, 45(4), 1273-1284.
- Abdel Latef, A. A. H., Abu Alhmad, M. F., Kordrostami, M., Abo-Baker, A. B. A. E., y Zakir, A. (2020). Inoculation with *Azospirillum lipoferum* or *Azotobacter chroococcum* reinforces maize growth by improving physiological activities under saline conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39(3), 1293-1306.
- Abdel-Aal, E. S., y Hucl, P. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal chemistry*, 76(3), 350-354.
- Abrol, I.P., Yadav, J.S.P., Massoud, F.I., 1988. Salt-Affected Soils and Their Management. FAO Soils Bulletin 39. *Food and Agriculture Organisation of the United Nations*, Rome. Available from: <http://www.fao.org/docrep/x5871e/x5871e00.htm>.
- Adhikari, A., Khan, M. A., Lee, K. E., Kang, S. M., Dhungana, S. K., Bhusal, N., y Lee, I. J. (2020). The halotolerant rhizobacterium—*Pseudomonas koreensis* MU2 enhances inorganic silicon and phosphorus use efficiency and augments salt stress tolerance in soybean (*Glycine max* L.). *Microorganisms*, 8(9), 1256.
- Ahmed, N. U., Park, J. I., Jung, H. J., Yang, T. J., Hur, Y., Nou, I. S. (2014). Characterization of dihydroflavonol 4-reductase (DFR) genes and their association with cold and freezing stress in *Brassica rapa*. *Gene* 550, 46–55. doi: 10.1016/j.gene.2014.08.013
- Akhtar, M., Hussain, F., Ashraf, M. Y., Qureshi, T. M., Akhter, J., y Awan, A. R. (2012). Influence of salinity on nitrogen transformations in soil. *Communications in soil science and plant analysis*, 43(12), 1674-1683.
- Akram, M. S., Shahid, M., Tariq, M., Azeem, M., Javed, M. T., Saleem, S., y Riaz, S. (2016). Deciphering *Staphylococcus sciuri* SAT-17 mediated anti-oxidative defense mechanisms and growth modulations in salt stressed maize (*Zea mays* L.). *Frontiers in Microbiology*, 7, 867.
- Akram, M., Ashraf, M. Y., Ahmad, R., Waraich, E. A. Iqbal, J., y Mohsan, M. (2010). Screening for salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) hybrids at an early seedling stage. *Pakistan Journal of Botany*, 42(1), 141–154. <https://doi.org/10.5897/ajar11.1475>
- Alam, S.M., Naqvi, S.S.M., Ansari, R.A., 1999. Impact of soil pH on nutrient uptake by crop plants. *Handbook of plant and crop stress* 2, 51–60. (Science Life Sciences Botany). [www.books.google.com](http://www.books.google.com)

- Ali, S., Charles, T. C., y Glick, B. R. (2014). Amelioration of high salinity stress damage by plant growth-promoting bacterial endophytes that contain ACC deaminase. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 160-167.
- Al-Maliki, Salwan.; Breesam, Hamza. (2020). Changes in soil carbon mineralization, soil microbes, roots density and soil structure following the application of the arbuscular mycorrhizal fungi and green algae in the arid saline soil. *Rhizosphere*, 14, 100203-doi:10.1016/j.rhisph.2020.100203.
- Almeida-Machado, R. M., y Serralheiro, R. P. (2017). Soil salinity: effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae*, 3(2), 30.
- Almeida-Silva, J. L. D., Duarte, S. N., Silva, D. D. D., y De úrutico-Miranda, N. (2019). Reclamation of salinized soils due to excess of fertilizers: evaluation of leaching systems and equations. *Dyna*, 86(210), 115-124.
- Aragón-Cuevas, F., Taba, S., Castro-García, F. H., Hernández-Casillas, J. M., Cabrera-Toledo, J. M., Alcalá, L. O. et al. (2005). In situ conservation and use of local maize races in Oaxaca, Mexico: a participatory and decentralized approach. Proceedings of a workshop held at CIMMYT, April 7-10, 2003. In Latin American maize germplasm conservation: regeneration, in situ conservation, core subsets, and prebreeding. Proceedings of a workshop held at Texcoco, Estado de México: CIMMYT.
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1), 1.
- Arora, N. K., Tewari, S., Singh, S., Lal, N., y Maheshwari, D. K. (2012). PGPR for protection of plant health under saline conditions. *Bacteria in agrobiology: stress management*, 239-258.
- Aslam, F., and Ali, B. (2018). Halotolerant bacterial diversity associated with *Suaeda fruticosa* (L.) forssk. Improved growth of maize under salinity stress. *Agronomy* 8:131.
- Azeem, M. A., Shah, F. H., Ullah, A., Ali, K., Jones, D. A., Khan, M. E. H., y Ashraf, A. (2022). Biochemical Characterization of Halotolerant *Bacillus safensis* PM22 and Its Potential to Enhance Growth of Maize under Salinity Stress. *Plants*, 11(13), 1721.
- Bänziger, M., Edmeades, G. O., y Bolaños, J. (1997). Relación entre el peso fresco y el peso seco del rastrojo de maíz en diferentes estados fenológicos del cultivo. *Agronomy Mesoamerican*, 20-25.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., y Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39(1), 205-207.

- Bayuelo-Jiménez, J. S., Debouck, D. G., y Lynch, J. P. (2002). Salinity tolerance in *Phaseolus* species during early vegetative growth. *Crop Science*, 42(6), 2184-2192.
- Biodiversidad Mexicana. (2012). Razas de maíz en México. Recuperado el día 29 de marzo de 2022 de <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/maices/razas-de-maiz>
- Blanco, F. F., Folegatti, M. V., Gheyi, H. R., y Fernandes, P. D. (2007). Emergence and growth of corn and soybean under saline stress. *Scientia Agricola*, 64, 451-459.
- Bloemberg GV, Lugtenberg BJ. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr Opin Plant Biol* 4(4):343–350
- Boonnoi, N., Nuntagij, I., y Koohakan, P. (2020). Growth and yield of sweet corn cultivated in soil using third reused nutrient solution. *International Journal of Agricultural Technology*, 16(3), 589-596.
- Burgos, L.; J. Chávez y J Ortiz. (2004). Variabilidad morfológica de maíces criollos de la península de Yucatán. In: Manejo de la diversidad de los cultivos en los agroecosistemas tradicionales. (eds). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos. Colombia. pp, 58-66.
- Butcher, K., Wick, A. F., DeSutter, T., Chatterjee, A., y Harmon, J. (2018). Corn and soybean yield response to salinity influenced by soil texture. *Agronomy Journal*, 110(4), 1243-1253.
- Caiza, C. A. S., Tamayo, Y. V., Guzmán, C. F. Y., y Mendoza, J. L. Z. (2021). Effect of saline stress on the growth of "Tayuyo" maize seedlings under in vitro conditions. *Centro Agrícola*.
- Canfora, L., Bacci, G., Pinzari, F., Lo Papa, G., Dazzi, C., y Benedetti, A. (2014). Salinity and bacterial diversity: to what extent does the concentration of salt affect the bacterial community in a saline soil?. *PLoS One*, 9(9), e106662.
- Capece, M. C., Clark, E., Saleh, J. K., Halford, D., Heinl, N., Hoskins, S., y Rothschild, L. J. (2013). Polyextremophiles and the constraints for terrestrial habitability. In *Polyextremophiles* (pp. 3-59). *Springer, Dordrecht*.
- Capote, A., Fernández, L., Cabrera, M., Penichet, H., Socorro, A., Pérez, O., ... y Acuña, G. (2008). Efecto de la salinidad sobre la germinación in vitro de embriones inmaduros de maíz (*Zea mays* L.). Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT), Cuba.
- Carlson, R., Tugizimana, F., Steenkamp, P. A., Dubery, I. A., Hassen, A. I., y Labuschagne, N. (2020). Rhizobacteria-induced systemic tolerance against

- drought stress in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Microbiological research*, 232, 126388.
- Carpýcý, E. B., Celýk, N., y Bayram, G. (2009). Effects of salt stress on germination of some maize (*Zea mays* L.) cultivars. *African Journal of Biotechnology*, 8(19).
- Carranza, C., Lancho, O., Miranda, D., y Chaves, B. (2009). Análisis del crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.) Batavia cultivada en un suelo salino de la Sabana de Bogotá. *Agronomía colombiana*, 27(1), 41-48.
- Casierra Posada, F., Arias Aguirre, J. A., y Pachón, A. C. (2013). Efecto de la salinidad por NaCl en híbridos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). *Orinoquia*, 17(1), 23-29.
- Chaiharn, M., y Lumyong, S. (2011). Screening and optimization of indole-3-acetic acid production and phosphate solubilization from rhizobacteria aimed at improving plant growth. *Current microbiology*, 62(1), 173-181.
- Chakraborty, U., Roy, S., Chakraborty, A., Dey, P. y Chakraborty, B. (2011). Plant Growth Promotion and Amelioration of Salinity Stress in Crop Plants by a Salt Tolerant Bacterium. *Recent Research in Science and Technology*, 3(11), 61-70
- Chawngthu, L., Hnamte, R., y Lalfakzuala, R. (2020). Isolation and characterization of rhizospheric phosphate solubilizing bacteria from wetland paddy field of Mizoram, India. *Geomicrobiology Journal*, 37(4), 366-375.
- Checchio, M. V., de Cássia Alves, R., de Oliveira, K. R., Moro, G. V., Santos, D. M. M. D., y Gratão, P. L. (2021). Enhancement of salt tolerance in corn using *Azospirillum brasilense*: an approach on antioxidant systems. *Journal of plant research*, 134(6), 1279-1289.
- Chen, Q., y Liu, S. (2019). Identification and characterization of the phosphate-solubilizing bacterium *Pantoea* sp. S32 in reclamation soil in Shanxi, China. *Frontiers in microbiology*, 10, 2171.
- Chen, Y., Dubois, M., Vermeersch, M., Inzé, D., y Vanhaeren, H. (2021). Distinct cellular strategies determine sensitivity to mild drought of *Arabidopsis* natural accessions. *Plant Physiology*, 186(2), 1171-1185.
- Chien, S. Y., Young, C. C., y Wang, C. L. (2007). Current Status of Bio-Fertilizers Development, Farmers' Acceptance and Utilization, and Future Perspective in Taiwan. *ASPAC Food and Fertilizer Technology Center*.
- Choudhary DK, Kasotia A, Jain S, Vaishnav A, Kumari S, Sharma KP, Varma A (2016) Bacterial-mediated tolerance and resistance to plants under abiotic and biotic stresses. *J Plant Growth Regul* 35:276–300
- Chu, T. N., Tran, B. T. H., Van Bui, L., y Hoang, M. T. T. (2019). Plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* PS01 induces salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *BMC research notes*, 12(1), 1-7.



- Chunthaburee, S., Dongsansuk, A., Sanitchon, J., Pattanagul, W., y Theerakulpisut, P. (2016). Physiological and biochemical parameters for evaluation and clustering of rice cultivars differing in salt tolerance at seedling stage. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(4), 467-477.
- Corazza da Rosa, T. C., Carvalho, I. R., Hutra, D. J., Bradebon, L. C., da Rosa Sarturi, M. V., da Rosa, J. A. G., y Szareski, V. J. (2020). Maize breeding for abiotic stress tolerance: An alternative to face climate changes. *Agronomy Science and Biotechnology*, 6, 1-13.
- Corral, J. C. C., de los Santos Villalobos, S., Barrgàn, L. A. P., Figueroa, J. J. B., Vásquez-Murrieta, M. S., Alvarado, M. I. E., y Chávez, L. A. C. (2018). Isolation of moderately halophilic bacteria in saline environments of Sonora State searching for proteolytic hydrolases. *Open Agriculture*, 3(1), 207-213.
- Corral, P., Amoozegar, M. A., y Ventosa, A. (2019). Halophiles and their biomolecules: Recent advances and future applications in biomedicine. *Marine drugs*, 18(1), 33.
- da Rosa, T. C., Carvalho, I. R., Hutra, D. J., Bradebon, L. C., da Rosa Sarturi, M. V., da Rosa, J. A. G., y Szareski, V. J. (2020). Maize breeding for abiotic stress tolerance: An alternative to face climate changes. *Agronomy Science and Biotechnology*, 6, 1-13.
- Delgado-González, C. R., Rodríguez-Laguna, R., Capulín-Grande, J., Madariaga-Navarrete, A., y Islas-Pelcastre, M. (2022). Caracterización fisicoquímica de suelos salinos agrícolas, en la localidad de Chicavasco, estado de Hidalgo, México: Physicochemical characterization of saline agricultural soils in the town of Chicavasco, Hidalgo State, Mexico. *South Florida Journal of Development*, 3(1), 335-344.
- Dell'Amico, J. M., y Parra, M. (2005). Efecto del estrés por NaCl en el contenido de cloruros, el potencial osmótico real y el crecimiento de dos cultivares de tomate cubanos. *Cultivos Tropicales*, 26(2), 39-44.
- Devkota, K. P., Devkota, M., Rezaei, M., y Oosterbaan, R. (2022). Managing salinity for sustainable agricultural production in salt-affected soils of irrigated drylands. *Agricultural Systems*, 198, 103390.
- Dodd IC, Perez-Alfocea F (2012) Microbial amelioration of crop salinity stress. *J Exp Bot* 63:3415–3428
- Domínguez-Mercado, C.A.; de Jesús Brambila Paz, J.; Carballo Carballo, A.; Quero Carrillo, A.R. Red de valor para maíz con alta calidad de proteína. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 2014, 5, 391–403
- Dong, H., Kong, X., Luo, Z., Li, W., y Xin, C. (2010). Unequal salt distribution in the root zone increases growth and yield of cotton. *European Journal of Agronomy*, 33(4), 285-292.

- Dzib-Aguilar, L. A., Ortega-Paczka, R., y Segura-Correa, J. C. (2016). Conservación in situ y mejoramiento participativo de maíces criollos en la península de Yucatán. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 19(1), 51-59.
- Egamberdiyeva D (2009) Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal aisladas de un Calcisol en una región semiárida de Uzbekistán: caracterización bioquímica y eficacia. *J Plant Nutr Soil Sci* 168 (suplemento 1): 94–99
- Esquivel, C., Gavilanes, R., Cruz, O. y Huante, P. (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(3), 251-258
- Etesami, H., y Beattie, G. A. (2018). Mining halophytes for plant growth-promoting halotolerant bacteria to enhance the salinity tolerance of non-halophytic crops. *Frontiers in microbiology*, 9, 148.
- Etesami, H., y Maheshwari, D. K. (2018). Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and environmental safety*, 156, 225-246.
- Faraj Edbeib, M., Abdul Wahab, R. y Huyop, F. (2016). Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 32(135), 1-24.
- Farda, B., Djebaili, R., Del Gallo, M., Ercole, C., Bellatreccia, F., y Pellegrini, M. (2022). The “Infernaccio” Gorges: Microbial diversity of black deposits and isolation of manganese-solubilizing bacteria. *Biology*, 11(8), 1204.
- Farooq, M., Hussain, M., Wakeel, A., y Siddique, K. H. (2015). Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms, and management. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 461-481.
- Feigin, A. (1985). Fertilization management of crops irrigated with saline water. In *Biosalinity in Action: Bioproduction with Saline Water* (pp. 285-299). Springer, Dordrecht.
- Fiske, C. H. and Subbarow, Y. J. (1925) The colorimetric determination of phosphorus. *Biol. Chem.*, 66, 375-400.
- Forni, C.; Duca, D.; Glick, B.R. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. *Plant Soil* 2017, 410, 335–356
- Gaffney, E. M., Simoska, O., y Minter, S. D. (2021). The use of electroactive halophilic bacteria for improvements and advancements in environmental high saline biosensing. *Biosensors*, 11(2), 48.
- Gálvez Ranilla, L. (2020). The application of metabolomics for the study of cereal corn (*Zea mays* L.). *Metabolites*, 10(8), 300

- García, Á. (2012). Criterios modernos para evaluación de la calidad del agua para riego (Segunda parte). *International Union of Soil Sciences*, 7 Setiembr, 26-34.
- García, F., Muñoz, H., Carreño, C., y Mendoza, G. (2010). Characterization of native strains of *Azospirillum* spp. and its effect on growth of *Oryza sativa* L. "rice" in Lambayeque. *Scientia agropecuaria*, 1(2), 107-116.
- Ghadakchiasl, A., Mozafari, A. A., y Ghaderi, N. (2017). Mitigation by sodium nitroprusside of the effects of salinity on the morpho-physiological and biochemical characteristics of *Rubus idaeus* under in vitro conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(1), 73-83.
- Glick, B. R. (2004). Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. *Advances in applied microbiology*, 56, 291-312.
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012.
- Gómez-Acata, E. S., Ayala-Gámez, L. M., García-Covarrubias, R., Torres-Núñez, M. Y., Vargas-López, L., Hernández-Camargo, S., ... y Dendooven, L. (2021). Bioprospecting of haloalkaliphilic microorganisms isolated from a dried-out maar in the volcano "Hoya Rincón de Parangueo". *Nova scientia*, 13(26).
- Gontia, M., Sasidharan, S. y Tiwari, S. (2014). Recent developments in use of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase for conferring tolerance to biotic and abiotic stress. *Biotechnology Letters*, 36(5), 889–98.
- González, L. M., Zamora, A., y Céspedes, N. (2000). Análisis de la tolerancia a la salinidad en variedades de *Vigna unguiculata* (L) sobre la base de caracteres agronómicos, la acumulación de iones y el contenido de proteína. *Cultivos Tropicales*, 21(1), 47-52.
- Goswami, D., Dhandhukia, P., Patel, P., y Thakker, J. N. (2014). Screening of PGPR from saline desert of Kutch: growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiological Research*, 169(1), 66-75.
- Goykovic-Cortés, V., y Saavedra del Real, G. (2007). Algunos efectos de la salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo. *Idesia* (arica), 25(3), 47-58.
- Habib SH, Kausar H, Saud HM (2016) Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes. *Biomed Res Int* 2016:6284547
- Hamdali, H., Hafidi, M., Virolle, M. J., y Ouhdouch, Y. (2008). Rock phosphate-solubilizing Actinomycetes: screening for plant growth-promoting activities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(11), 2565-2575.
- Haque, M. M., Biswas, M. S., Mosharaf, M. K., Haque, M. A., Islam, M. S., Nahar, K., ... y Islam, M. M. (2022). Halotolerant biofilm-producing rhizobacteria mitigate

- seawater-induced salt stress and promote growth of tomato. *Scientific Reports*, 12(1), 5599.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., y Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.
- Hatam, Z., Sabet, M. S., Malakouti, M. J., y Homaei, M. (2019). A quantitative approach for fertilizer recommendation under saline conditions. *Archives of Agronomy and Soil Science*. doi:10.1080/03650340.2019.1624725
- Hernández-Pacheco, C. E., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Flores, A., Valencia-Cantero, E., y Santoyo, G. (2021). Tissue-specific diversity of bacterial endophytes in Mexican husk tomato plants (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.), and screening for their multiple plant growth-promoting activities. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100028.
- Hoang, M. T., Dang, T. N. T., y Cao, N. D. (2020). Functional and molecular characterization of plant growth promoting bacteria associated with sugarcane cultivated in Tay Ninh Province, Vietnam. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 11(2), 265-277.
- Hoque, M. M., Jun, Z., y Guoying, W. (2015). Evaluation of salinity tolerance in maize (*Zea mays* L.) genotypes at seedling stage. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 4(1), 39-49. Retrieved from <https://editorial.uniplovdiv.bg/index.php/JBB/issue/view/11>
- Horney, R. D., Taylor, B., Munk, D. S., Roberts, B. A., Lesch, S. M., y Plant, R. E. (2005). Development of practical site-specific management methods for reclaiming salt-affected soil. *Computers and electronics in agriculture*, 46(1-3), 379-397.
- Irigoyen, J. J., Einerich, D. W., y Sánchez-Díaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84(1), 55-60.
- Irshad, A., Ahmad, I., y Kim, S. B. (2014). Culturable diversity of halophilic bacteria in foreshore soils. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45, 563-572.
- Irshad, M., Yamamoto, S., Eneji, A. E., Endo, T., y Honna, T. (2002). Urea and manure effect on growth and mineral contents of maize under saline conditions. *Journal of Plant nutrition*, 25(1), 189-200.
- Jamil, A., Riaz, S., Ashraf, M., y Foolad, M. R. (2011). Gene expression profiling of plants under salt stress. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 30(5), 435-458.
- Jhuma, T. A., Rafeya, J., Sultana, S., Rahman, M. T., y Karim, M. M. (2021). Isolation of endophytic salt-tolerant plant growth-promoting Rhizobacteria from *Oryza sativa* and evaluation of their plant growth-promoting traits under salinity stress condition. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 687531.

- Ji, C., Liu, Z., Hao, L., Song, X., Wang, C., Liu, Y., ... y Liu, X. (2020). Effects of *Enterobacter cloacae* HG-1 on the nitrogen-fixing community structure of wheat rhizosphere soil and on salt tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1094.
- Kang, B., Kim, W., Yun, H. y Chang, S. (2010). Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. *Plant Biotechnology Reports*, 4, 179-183.
- Kapadía, C., Patel, N., Rana, A., Vaidya, H., Alfarraj, S., Ansari, M. J. y Sayyed, R. Z. (2022). Evaluation of plant growth-promoting and salinity ameliorating potential of halophilic bacteria isolated from saline soil. *Frontiers in plant science*, 13.
- Karimzadeh, J., Alikhani, H. A., Etesami, H., y Pourbabaei, A. A. (2021). Improved phosphorus uptake by wheat plant (*Triticum aestivum* L.) with rhizosphere fluorescent *Pseudomonads* strains under water-deficit stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(1), 162-178.
- Kasim W. A., Gaafar R. M., Abou-Ali R. M., Omar M. N., Hewait H. M. (2016). Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley. *Ann. Agric. Sci.* 61, 217–227. 10.1016/j.aosas.2016.07.003
- Khodarahmpour, Z. (2012). Evaluation of salinity effects on germination and early growth of maize (*Zea mays* L.) hybrids. *African Journal of Agricultural Research*, 7(12), 1926-1930.
- Khodarahmpour, Z., Ifar, M., y Motamedi, M. (2012). Effects of NaCl salinity on maize (*Zea mays* L.) at germination and early seedling stage. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 298-304.
- Kim, Y. N., Khan, M. A., Kang, S. M., Hamayun, M., y Lee, I. J. (2020). Enhancement of drought-stress tolerance of *Brassica oleracea* var. *italica* L. by newly isolated *Variovorax* sp. YNA59. (2020): 1500-1509.
- Kloepper, J. W., y Schroth, M. N. (1981). Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, 71(6), 642-644.
- Kohler, J., Hernández, J. A., Caravaca, F., y Roldán, A. (2008). Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. *Functional Plant Biology*, 35(2), 141-151.
- Kubi, H. A. A., Khan, M. A., Adhikari, A., Imran, M., Kang, S. M., Hamayun, M., y Lee, I. J. (2021). Silicon and plant growth-promoting Rhizobacteria *Pseudomonas psychrotolerans* CS51 mitigates salt stress in *Zea mays* L. *Agriculture*, 11(3), 272.

- Kumar A., Singh S., Gaurav A. K., Srivastava S., Verma J. P. (2020). Plant growth-promoting bacteria: biological tools for the mitigation of salinity stress in plants. *Front. Microbiol.* 11:1216
- Kushner DJ. 1978. Life in high salt and solute concentrations. In: Kushner D.J. (ed) *Microbial life in extreme environments*. Academic Press, London. pp 317-368.
- Kütük, C., Çaycı, G., y Heng, L. K. (2004). Effects of increasing salinity and 15N-labelled urea levels on growth, N uptake, and water use efficiency of young tomato plants. *Soil Research*, 42(3), 345-351.
- Lakhdar, A., Rabhi, M., Ghnaya, T., Montemurro, F., Jedidi, N., y Abdelly, C. (2009). Effectiveness of compost use in salt-affected soil. *Journal of hazardous materials*, 171(1-3), 29-37.
- Lamz Piedra, A., y González Cepero, M. C. (2013). La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos tropicales*, 34(4), 31-42.
- Lara, C., Esquivel, A. y Negrete, P. (2011). Bacterias nativas solubilizadores de fosfatos para incrementar los cultivos en el Departamento de Córdoba Colombia. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 9(2), 114- 120.
- Layne-Garsaball, J. A., Méndez-Natera, J. R., y Mayz-Figueroa, J. (2008). Efecto de la salinidad y del tamaño de la semilla sobre la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) bajo condiciones de laboratorio. TIP. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 11(1), 17-25.
- Leidi, E. O., y Pardo, J. M. (2002). Tolerancia de los cultivos al estrés salino: qué hay de nuevo. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias* p. 1-11. <http://hdl.handle.net/2133/648>
- León Mendoza, L. H. (2014). Determinación del potencial promotor del crecimiento vegetal de las enterobacterias aisladas de la rizósfera del cultivo de maíz (*Zea mays* L.). *Scientia Agropecuaria*, 5(4), 177-185.
- Lesmes, R., Molano, Á., Miranda, D., y Chaves, B. (2007). Evaluación de concentraciones de sal (NaCl) en el agua de riego sobre el crecimiento de lechuga 'Batavia' (*Lactuca sativa* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 1(2), 222-235.
- Li, H. Q., y Jiang, X. W. (2017). Inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) improves salt tolerance of maize seedling. *Russian Journal of Plant Physiology*, 64(2), 235-241.
- Li, Y., Zhang, J., Zhang, J., Xu, W., y Mou, Z. (2019). Characteristics of inorganic phosphate-solubilizing bacteria from the sediments of a eutrophic lake. *International journal of environmental research and public health*, 16(12), 2141.

- Lindang, H. U., SUBBIAH, V. K., Rodrigues, K. F., y Budiman, C. (2021). Isolation, identification, and characterization of phosphate solubilizing bacteria, *Paenibacillus* sp., from the soil of Danum Valley Tropical Rainforest, Sabah, Malaysia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(10).
- Litalien, A., y Zeeb, B. (2020). Curing the earth: A review of anthropogenic soil salinization and plant-based strategies for sustainable mitigation. *Science of the Total Environment*, 698, 134235.
- López-Falcón, R. (2002). Degradación del suelo: causas, procesos, evaluación e investigación. Serie Suelos y Clima SC-75. Centro Interamericano de Desarrollo e Investigación Ambiental y Territorial (CIDÍAT), Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Lubna, R., Asma, I., Fathia, M. y Fauzia, Y. (2013). Salt-tolerant PGPR strain *Planococcus rifietoensis* promotes the growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivated in saline soil. *Pakistan Journal of Botany*, 45(6), 1955-1962.
- Magaña Tzuc, M. C. (2021). Potencial biofertilizante de bacterias halófilas aisladas de suelos salinos obtenidos de la reserva de la biósfera de los petenes. Testis de maestria. Colegio de postgraduados Campus Campeche.
- Maldonado, J. M. 2012. Tolerancia a la Salinidad de Especies dominantes en suelos salinos de Maguey blanco, Hidalgo. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Autónoma de México. México
- Manpoong, C., De Mandal, S., Bangaruswamy, D.K., Perumal, R.C., Benny, J., Beena, P.S., Tripathi, S.K., 2020. Linking rhizosphere soil biochemical and microbial community characteristics across different land use systems in mountainous region in Northeast India. *Meta Gene* 23 (100625). <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2019.100625>.
- Mapelli, F., Marasco, R., Rolli, E., Barbato, M., Cherif, H., Guesmi, A., ... y Borin, S. (2013). Potential for plant growth promotion of rhizobacteria associated with *Salicornia* growing in Tunisian hypersaline soils. *BioMed research international*, vol. 2013.
- Márquez-Sánchez, F. (2008). De las variedades criollas de maíz (*Zea mays* L.) a los híbridos transgénicos. I: Recolección de germoplasma y variedades mejoradas. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 5(2), 151-166.
- Mathur, S.P., Owen, G., Dinel, H., Schnitzer, M., 1993. Determination of compost biomaturity. *Biol. Agric. Hort.* 10, 65–85
- Medina-Méndez, J., Soto-Rocha, J. M., Villalobos-González, A., Volke-Haller, V. H., y Gómez-Tejero, J. (2019). Productivity of White and Yellow Grain Corns in Campeche, México. *Agricultural Sciences*, 10(09), 1255.

- Miller, A. K., y Nielsen, B. L. (2021). Analysis of Gene Expression Changes in Plants Grown in Salty Soil in Response to Inoculation with Halophilic Bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3611.
- Mindari, W. (2019). Maize Tolerance to Salinity of Irrigation Water. *Journal of Tropical Soils*, 16(3), 211-218.
- Mishra, P., Mishra, J., y Arora, N. K. (2021). Plant growth promoting bacteria for combating salinity stress in plants—recent developments and prospects: a review. *Microbiological Research*, 252, 126861.
- Misra, S., y Chauhan, P. S. (2020). ACC deaminase-producing rhizosphere competent *Bacillus* spp. mitigate salt stress and promote *Zea mays* growth by modulating ethylene metabolism. *3 Biotech*, 10(3), 1-14.
- Mohanta, M. K., Nasrin, S., Haque, M. F., Hasi, A. S., y Saha, A. K. (2020). Isolation and Characterization of Halophilic Bacteria from Salinity Soil of Shatkhira, Bangladesh. *Journal of Advances in Microbiology*. 20(5): 67-76
- Mokashe, N., Chaudhari, B., y Patil, U. (2018). Operative utility of salt-stable proteases of halophilic and halotolerant bacteria in the biotechnology sector. *International journal of biological macromolecules*, 117, 493-522.
- Mongodin EF, Nelson KE, Daugherty S, Deboy RT, Wister J, Khouri H, Weidman J, Walsh DA, Papke RT, Sanchez Perez G, Sharma AK, Nesbø CL, MacLeod D, Baptiste E, Doolittle WF, Charlebois RL, Legault B, Rodriguez-Valera F (2005) The genome of *Salinibacter ruber*: convergence and gene exchange among hyperhalophilic bacteria and archaea. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:18147–18152.
- Muchate, N. S., Rajurkar, N. S., Suprasanna, P., y Nikam, T. D. (2019). NaCl induced salt adaptive changes and enhanced accumulation of 20-hydroxyecdysone in the in vitro shoot cultures of *Spinacia oleracea* (L.). *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
- Mukhtar, S., Mehnaz, S., and Kauser, A. (2019). Microbial diversity in the rhizosphere of plants growing under extreme environments and its impact on crop improvement. *Environ. Sustain* 2, 329–338. <https://doi.org/10.1007/s42398-019-00061-5>
- Mukhtar, S., Zareen, M., Khaliq, Z., Mehnaz, S., y Malik, K. A. (2020). Phylogenetic analysis of halophyte-associated rhizobacteria and effect of halotolerant and halophilic phosphate-solubilizing biofertilizers on maize growth under salinity stress conditions. *Journal of applied microbiology*, 128(2), 556-573.
- Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, 167(3), 645-663.



- Munns, R., y Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 651-681. Disponible en: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Munns, R., James, R. A., y Läuchli, A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57(5), 1025–1043. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj100>
- Murillo-Amador, B., López-Aguilar, R., Kaya, C., Larrinaga-Mayoral, J., y Flores-Hernández, A. (2002). Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on germination, emergence and seedling growth of cowpea. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188(4), 235–247. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037X.2002.00563.x>
- Mushtaq, Z., Faizan, S., y Hussain, A. (2021). Role of microorganisms as biofertilizers. In *Microbiota and Biofertilizers* (pp. 83-98). Springer, Cham.
- Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., y Ashraf, M. (2010). Microbial ACC-deaminase: prospects and applications for inducing salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29(6), 360-393.
- Najafi Zilaie, M., Mosleh Arani, A., Etesami, H., y Dinarvand, M. (2022). Improved salinity and dust stress tolerance in the desert halophyte *Haloxylon aphyllum* by halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria. *Frontiers in plant science*, 2625.
- Neina, D. (2019). The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation. *Applied and environmental soil science*, 2019, 1-9.
- Ngumbi, E., y Kloepper, J. (2016). Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. *Applied Soil Ecology*, 105, 109-125.
- Nicol, G.W., Leininger, S., Schleper, C., Prosser, J.I., 2008. The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria. *Environ. Microbiol.* 10 (11), 2966–2978. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01701.x>
- Niu, X., Song, L., Xiao, Y., y Ge, W. (2018). Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria associated with foxtail millet in a semi-arid agroecosystem and their potential in alleviating drought stress. *Frontiers in microbiology*, 8, 2580.
- Noori F., Etesami H., Zarini H. N., Khoshkholgh-Sima N. A., Salekdeh G. H., Alishahi F. (2018). Mining alfalfa (*Medicago sativa* L.) nodules for salinity tolerant non-rhizobial bacteria to improve growth of alfalfa under salinity stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 162 129–138. [10.1016/j.ecoenv.2018.06.092](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.092)
- Oren, A. (2008). Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity in saline systems. *Saline Systems*, 4(2), 1-13

- Oren, A. (2008). Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline systems*, 4(1), 1-13.
- Otero, L., Francisco, A., Gálvez, V., Morales, R., Sánchez, I., Labaut, M., Vento, M., Cintra, M. y Rivero, L. 2007. Caracterización y Evaluación de Salinidad. Instituto de Suelos, *Ministerio de Agricultura*. Boyeros, Cuba.
- Papadopoulos, I., y Rendig, V. V. (1983). Interactive effects of salinity and nitrogen on growth and yield of tomato plants. *Plant and Soil*, 73(1), 47-57.
- Pausas, J.G., Austin, M.P., 2001. Patterns of plant species richness in relation to different environments: an appraisal. *J. Veg. Sci.* 12 (2), 153–166. <https://doi.org/10.2307/3236601>.
- Pérez, M. T., y Sommaruga, R. (2006). Differential effect of algal-and soil-derived dissolved organic matter on alpine lake bacterial community composition and activity. *Limnology and Oceanography*, 51(6), 2527-2537.
- Pla-Sentís, I. (2021). Overview of salt-affected areas in latin america: Physical, social and economic perspectives. In *Saline and Alkaline Soils in Latin America* (pp. 3-36). *Springer, Cham*.
- Prado, F.E., Boero, C., Gallardo, M., Gonzalez, J.A. 2000. Effect of NaCl on germination, growth and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* seeds Willd. *Bot Bull Acad Sinica*, 41:27-34.
- Proaño, J., Del Cioppo, J., y Correa, M. 2004. Determinación de la calidad de las aguas para riego. Proyecto AG-CV-018. CEDEGE-INIAPCIDÍAT-EMBRAPA-VOLCANI CENTURUNIVERSIDAD DE VALENCIA. Universidad Agraria-PROMSA MAG. Guayaquil, Ecuador. Publicación Técnica RD-5. 31p
- Raddadi, N., Cherif, A., Daffonchio, D., Neifar, M., y Fava, F. (2015). Biotechnological applications of extremophiles, extremozymes and extremolytes. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(19), 7907-7913.
- Raheem, A.; Shaposhnikov, A.; Belimov, A.A.; Dodd, I.C.; Ali, B. Auxin production by rhizobacteria was associated with improved yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress. *Arch. Agron. Soil Sci.* 2018, 64, 574–587.
- Ramesh, T., Bolan, N. S., Kirkham, M. B., Wijesekara, H., Kanchikerimath, M., Rao, C. S., . y Freeman II, O. W. (2019). Soil organic carbon dynamics: Impact of land use changes and management practices: *A review. Advances in agronomy*, 156, 1-107.
- Ramírez, N., Sandoval, A. H., y Serrano, J. A. (2004). Las bacterias halófilas y sus aplicaciones biotecnológicas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 24(1-2), 12-23.
- Reang, L., Bhatt, S., Tomar, R. S., Joshi, K., Padhiyar, S., Vyas, U. M., y Kheni, J. K. (2022). Plant growth promoting characteristics of halophilic and halotolerant

- bacteria isolated from coastal regions of Saurashtra Gujarat. *Scientific reports*, 12(1), 1-16.
- Remache, M., Carrillo, M., Mora, R., Durango, W., y Morales, F. (2017). Macronutrient absorption and N uptake efficiency, in maize promising hybrid. Patricia Pilar, Ecuador. *Agronomía Costarricense*, 41(2), 103-115.
- Remonsellez, F., Castro-Severyn, J., Pardo-Esté, C., Aguilar, P., Fortt, J., Salinas, C., ... y Saavedra, C. P. (2018). Characterization and salt response in recurrent halotolerant *Exiguobacterium* sp. SH31 isolated from sediments of Salar de Huasco, Chilean Altiplano. *Frontiers in microbiology*, 9, 2228.
- Rengasamy, P. (2006). World salinization with emphasis on Australia. *Journal of experimental botany*, 57(5), 1017-1023.
- Rengasamy, P. (2010). Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. *Functional Plant Biology*, 37(7), 613-620.
- Rezayian, M., Niknam, V., y Ebrahimzadeh, H. (2019). Oxidative damage and antioxidative system in algae. *Toxicology reports*, 6, 1309-1313.
- Richardson AE, Barea J-M, McNeill AM, Prigent-Combaret C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321(1–2): 305–339.
- Roberts MF (2005) Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganism. *Saline Syst* (On-line Journal) 1:5
- Rodríguez Aristizabal, M. A., Higuera Mora, N. C., y Sanjuanelo Corredor, D. W. (2019). Bacterias halófilas con potencial para la recuperación de suelos salinizados en Sáchica-Boyacá, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 67(3), 621-632.
- Rohban, R., Amoozegar, M. A., y Ventosa, A. (2009). Screening and isolation of halophilic bacteria producing extracellular hydrolyses from Howz Soltan Lake, Iran. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(3), 333-340.
- Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D., y Bonilla, R. (2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Applied Soil Ecology*, 61, 264-272.
- Rorison, I.H., 1980. The effects of soil acidity on nutrient availability and plant response. In: Effects of Acid Precipitation on Terrestrial Ecosystems. *Springer, Boston*, MA, pp. 283–304. [https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3033-2\\_22](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3033-2_22).
- Rothschild, L. J., y Mancinelli, R. L. (2001). Life in extreme environments. *Nature*, 409(6823), 1092-1101.
- Roy, S. J., Negrão, S., y Tester, M. (2014). Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.004>

- Miller, A. K., y Nielsen, B. L. (2021). Analysis of Gene Expression Changes in Plants Grown in Salty Soil in Response to Inoculation with Halophilic Bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3611.
- Saberi Riseh, R., Ebrahimi-Zarandi, M., Tamanadar, E., Moradi Pour, M., y Thakur, V. K. (2021). Salinity stress: toward sustainable plant strategies and using plant growth-promoting rhizobacteria encapsulation for reducing it. *Sustainability*, 13(22), 12758.
- Saddiq M. S., Iqbal S., Hafeez M. B., Ibrahim A. M. H., Raza A., Fatima E. M. (2021). Effect of salinity stress on physiological changes in winter and spring wheat. *Agronomy* 11, 1193. 10.3390/agronomy11061193
- SADER. (2021). Mapa Agrícola de afectación por salinidad en México. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/mapa-agricola-de-afectacion-por-salinidad-en-mexico>
- Safdar H., Amin A., Shafiq Y., Ali A., Yasin R. (2019). Abbas Shoukat, Maqsood Ul Hussan, Muhammad Ishtiaq Sarwar. A review: impact of salinity on plant growth. *Nat. Sci.* 17, 34–40.
- SAGARPA (2018) Maíz blanco y amarillo mexicano. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México. Planeación agrícola 2017-2030. 22 p. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B\\_sico-a\\_z\\_Grano\\_Blanco\\_y\\_Amarillo.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B_sico-a_z_Grano_Blanco_y_Amarillo.pdf)
- Saghafi, D., Delangiz, N., Lajayer, B. A., y Ghorbanpour, M. (2019). An overview on improvement of crop productivity in saline soils by halotolerant and halophilic PGPRs. *3 Biotech*, 9(7), 1-14.
- Saharan, B. y Nehra, V. (2011). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sciences and Medicine Research*, 2011, 1-30.
- Saleem, S., Iqbal, A., Ahmed, F., y Ahmad, M. (2021). Phytobeneficial and salt stress mitigating efficacy of IAA producing salt tolerant strains in *Gossypium hirsutum*. *Saudi journal of biological sciences*, 28(9), 5317-5324.
- Sangoquiza Caiza, C. A., Viera Tamayo, Y., Yáñez Guzmán, C. F., y Zambrano Mendoza, J. L. (2021). Efecto del estrés salino sobre el crecimiento de plántulas de maíz variedad “Tayuyo” en condiciones in vitro. *Centro Agrícola*, 48(2), 14-23.
- Sangoquiza-Caiza, C. A. S., Viera-Tamayo, Y. V., y Yáñez-Guzmán, C. F. Y. (2018). Biological response of *Azospirillum* spp. to different types of stress. *Centro Agrícola*.
- Santillán-Fernández, A., Salinas-Moreno, Y., Valdez-Lazalde, J. R., Carmona-Arellano, M. A., Vera-López, J. E., y Pereira-Lorenzo, S. (2021). Relationship between

maize seed productivity in Mexico between 1983 and 2018 with the adoption of genetically modified maize and the resilience of local races. *Agriculture*, 11(8), 737.

- Saravanakumar, D. y Samiyappan, R. (2007) ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 1283-1292.
- Sarker, A., y Al-Rashid, J. (2013). Analytical protocol for determination of Indole 3 acetic acid (IAA) production by Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB). Technical report of Quantification of IAA by microbes. September: 3-5.
- Sauer, M., Robert, S., y Kleine-Vehn, J. (2013). Auxin: simply complicated. *Journal of experimental botany*, 64(9), 2565-2577.
- SEMARNAT (2012). Informe de la situación del medio ambiente en México. Compendio de estadísticas ambientales indicadores claves y de desempeño ambiental. Capítulo 3. Suelos. Edición 2012
- SEMARNAT. (2003). Evaluación de la degradación del suelo causada por el hombre en la República Mexicana, escala 1: 250,000. Memoria Nacional, SEMARNAT-Colegio de Posgraduados, México.
- Serratos-Hernández, J. A. S. (2009). El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. Obtenido de Greenpeace: <http://www.greenpeace.org/mexico/global/mexico/report/2009/3/el-origen-y-la-diversidad-del.pdf>.
- Servicio de conservación de Recursos Naturales (SCRN), S. D. C. (2014). Claves para la Taxonomía de Suelos. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Décima segunda edición.
- Sharma, A., Dev, K., Sourirajan, A., y Choudhary, M. (2021). Isolation and characterization of salt-tolerant bacteria with plant growth-promoting activities from saline agricultural fields of Haryana, India. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 1-10.
- Shilev, S. (2020). Plant-growth-promoting bacteria mitigating soil salinity stress in plants. *Applied Sciences*, 10(20), 7326.
- Shrivastava, P., y Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2), 123-131.
- Siddikee, M. A., Glick, B. R., Chauhan, P. S., jong Yim, W., y Sa, T. (2011). Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halotolerant bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(4), 427-434.

- Singh RK, Singh P, Li HB, Yang LT, Li YR. 2018 "Soil–Plant–Microbe Interactions" Use of nitrogen-fixing bacteria for plant growth and development in sugarcane. In: Singh DP, et al., editors. "Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives". Singapore Pte Ltd. Springer Nature; <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5813-4-3>.
- Singh, N. B., Singh, A., Khare, S., Yadav, V., Bano, C., y Yadav, R. K. (2020). Mitigating strategies of gibberellins in various environmental cues and their crosstalk with other hormonal pathways in plants: a review. *Plant Molecular Biology Reporter*, 39(1), 34-49.
- Sneha, Gr., Yadav, R. K., Chatrath, A., Gerard, M., Tripathi, K., Govindsamy, V., y Abraham, G. (2021). Perspectives on the potential application of cyanobacteria in the alleviation of drought and salinity stress in crop plants. *Journal of Applied Phycology*, 1-18.
- Soares, A. L., Geilfus, C. M., y Carpentier, S. C. (2018). Genotype-specific growth and proteomic responses of maize toward salt stress. *Frontiers in plant science*, 9, 661.
- Soni, A., Rokad, S. y Sharma, P. (2013). Screening of efficient halotolerant phosphate solubilizing bacteria and their effect on seed germination under saline conditions. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 2(5), 932-937.
- Sosa-Baldivia, A., y Ruiz-Ibarra, G. (2018). Inadequate nitrogen fertilization: main cause of the low seed yield on the chia crop (*Salvia hispanica* L.). *Papeles de Población*, 23(93), 20-230.
- Souza, R. S., y Chaves, L. H. G. (2017). Initial growth of chia ('*Salvia hispanica*'L.) submitted to nitrogen, phosphorus and potassium fertilization. *Australian Journal of Crop Science*, 11(5), 610-615.
- Srinivasan, R., Alagawadi, A. R., Yandigeri, M. S., Meena, K. K., y Saxena, A. K. (2012). Characterization of phosphate-solubilizing microorganisms from salt-affected soils of India and their effect on growth of sorghum plants [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Annals of microbiology*, 62(1), 93-105.
- Steppuhn, Harold., Van Genuchten, M. T., y Grieve, C. M. (2005). Root-zone salinity: I. Selecting a product–yield index and response function for crop tolerance. *Crop Science*, 45(1), 209-220.
- Su J., Qiu Y., Yang X., Li S., Hu Z. (2021). Dose–effect relationship of water salinity levels on osmotic regulators, nutrient uptake and growth of transplanting vetiver [*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash]. *Plants* 10, 1–12. 10.3390/plants10030562
- Talat, N. (2020). Alleviation of soil salinization and the management of saline soils, climate change, and soil interactions. In *Climate Change and Soil Interactions* (pp. 305-329). Elsevier.

- Tandon, A., Fatima, T., Shukla, D., Tripathi, P., Srivastava, S., y Singh, P. C. (2020). Phosphate solubilization by *Trichoderma koningiopsis* (NBRI-PR5) under abiotic stress conditions. *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 791-798.
- Tejada, M., y Gonzalez, J. L. (2006). The relationships between erodibility and erosion in a soil treated with two organic amendments. *Soil and Tillage Research*, 91(1-2), 186-198.
- Thakur, N., Singh, S. P., y Zhang, C. (2022). Microorganisms under extreme environments and their applications. *Current Research in Microbial Sciences*, 100141.
- Ullah, Sami; Bano, Asghari (2015). Isolation of plant-growth-promoting rhizobacteria from rhizospheric soil of halophytes and their impact on maize (*Zea mays* L.) under induced soil salinity. *Canadian Journal of Microbiology*, 61(4), 307–313. doi:10.1139/cjm-2014-0668
- Upadhyay, S. K., Singh, D. P., y Saikia, R. (2009). Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria isolated from rhizospheric soil of wheat under saline condition. *Current microbiology*, 59(5), 489-496.
- Vargas Díaz, A. A. ., Quintal-Vargas, Y. Y., Chale-Dzul, J. B., Santillán-Fernández, A., Ferrera-Cerrato, R., y López-Hernández, M. (2021). Isolation and selection of rhizospheric bacteria with biofertilizing potential for corn cultivation. *Agro Productividad*, 14(1).
- Velázquez-Ventura, J. C., Rincón-Sánchez, F., Ruiz-Torres, N. A., y Martínez-Reyna, J. M. (2020). Respuesta al estrés por salinidad de familias s1 de dos poblaciones de maíz. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 7(1).
- Wangxia Wang; Basia Vinocur; Arie Altman (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance, 218(1), 1–14. doi:10.1007/s00425-003-1105-5.
- Yaghoubian, I., Msimbira, L. A., y Smith, D. L. 2022 Cell-Free Supernatant of *Bacillus* Strains can Improve Seed Vigor Index of Corn (*Zea mays* L.) Under Salinity Stress. *Sec. Crop Biology and Sustainability*. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.857643>
- Yasmin, H., Nosheen, A., Naz, R., Keyani, R., y Anjum, S. (2019). Regulatory role of rhizobacteria to induce drought and salt stress tolerance in plants. In *Field crops: sustainable management by PGPR* (pp. 279-335). *Springer, Cham*.
- Yaycili, O.; Alikamanoğlu, S. Induction of salttolerant potato (*Solanum tuberosum* L.) mutants with gamma irradiation and characterization of genetic variations via RAPD-PCR analysis. *Producción de exopolisacáridos*

- Yildirim, E., Donmez, M. F., y Turan, M. (2008). Use of bioinoculants in ameliorative effects on radish plants under salinity stress. *Journal of plant nutrition*, 31(12), 2059-2074.
- Yin, Z., Wang, X., Hu, Y., Zhang, J., Li, H., Cui, Y., ... y Wang, C. (2022). *Metabacillus dongyingensis* sp. nov. is represented by the plant growth-promoting bacterium BY2G20 isolated from saline-alkaline soil and enhances the growth of *Zea mays* L. under salt stress. *Msystems*, 7(2), e01426-21.
- Yousef, N. M. (2018). Capability of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for producing indole acetic acid (IAA) under extreme conditions. *European Journal of Biological Research*, 8(4), 174-182.
- Zafar-ul-Hye, M., Muhammad, H., Zahir, F., Ahmad, Z., Hussain, M., y Hussain, A. (2014). Application of ACC-deaminase containing rhizobacteria with fertilizer improves maize production under drought and salinity stress. *International Journal of Agriculture and Biology*, 16(3).
- Zahir, Z. A., Nadeem, S. M., Khan, M. Y., Binyamin, R., y Waqas, M. R. (2019). Role of halotolerant microbes in plant growth promotion under salt stress conditions. Saline soil-based agriculture by halotolerant *microorganisms*, 209-253.
- Zamudio-González, B., López-Pérez, L., Alcántar-González, G., González-Eguiarte, D. R., Ruiz-Corral, J. A., y Castellanos, J. Z. (2004). Delimitación de áreas salinas en el Distrito de Riego de Caborca, Sonora, México. *Terra Latinoamericana*, 22(1), 91-97.
- Zhu, F., Qu, L., Hong, X., y Sun, X. (2011). Isolation and characterization of a phosphate-solubilizing halophilic bacterium *Kushneria* sp. YCWA18 from Daqiao Saltern on the coast of Yellow Sea of China. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
- Zilaie, M. N., Arani, A. M., Etesami, H., y Dinarvand, M. (2022). Halotolerant rhizobacteria enhance the tolerance of the desert halophyte *Nitraria schoberi* to salinity and dust pollution by improving its physiological and nutritional status. *Applied Soil Ecology*, 179, 104578.