

Crecimiento de *Triticum aestivum* con *Azotobacter vinelandii* y *Bacillus subtilis* endófitas de *Zea mays var mexicana* (teocintle) a dosis restringida de fertilizante nitrogenado
Growth of *Triticum aestivum* with *Azotobacter vinelandii* and *Bacillus subtilis* endophytic of *Zea mays var mexicana* (teosinte) at a restricted dose nitrogen fertilizer

Barajas-Vargas Agustín Yunuen¹ , Ignacio-De la Cruz Juan Luis¹ , Márquez-Benavides Liliana¹ ,
Hernández-Mendoza José Luis² , Sánchez-Yáñez Juan Manuel^{1*} 



Datos del Artículo

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Laboratorio de Microbiología Ambiental.
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.
Av. Francisco J Mujica S/N.
Col Felicitas del Río, CP 58.000 Morelia.
Michoacán, México.

²Centro de Biotecnología Genómica.
Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán.
Calle 16 y Lago de chapala.
Col. Aztlán Cd. Reynosa.
Tamaulipas CP.88740, México.

*Dirección de contacto:
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Microbiología Ambiental.
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.
Av. Francisco J Mujica S/N.
Col Felicitas del Río, CP 58.000 Morelia.
Michoacán, México.
Tel: +0052, 443322 Ext 4240.

Juan Manuel Sánchez-Yáñez
E-mail address :syanez@umich.mx

Palabras clave:

Triticum aestivum,
suelo,
gramínea ancestral,
bacterias endófitas,
absorción nitrogenada,
fitohormonas,
productividad.

J. Selva Andina Res. Soc.
2021; 12(2):87-95.

ID del artículo: [149/JSARS/2021](https://doi.org/10.21825/jsars.2021.12.2.87-95)

Historial del artículo.

Recibido marzo 2021.
Devuelto junio 2021.
Aceptado julio 2021.
Disponible en línea, agosto 2021.

Editado por:
**Selva Andina
Research Society**

Keywords:

Triticum aestivum,
Soil,
ancestral grass,
endophytic bacteria,
nitrogen uptake,
phytohormones,
productivity.

Resumen

El crecimiento saludable de *Triticum aestivum* (trigo) requiere de fertilizante nitrogenado (FN), que puede ser optimizado a pesar de restringir la concentración recomendada de acuerdo con la variedad de *T. aestivum* y tipo de suelo. Una posible estrategia es inocular la semilla de *T. aestivum* con *Azotobacter vinelandii* y *Bacillus subtilis*, géneros y especies de bacterias endófitas promotoras del crecimiento vegetal (BEPVCV) aisladas de *Zea mays var mexicana* (teocintle). El objetivo de esta investigación fue analizar el crecimiento de *T. aestivum* con *A. vinelandii* y *B. subtilis* de teocintle con el FN al 50 %. El experimento se realizó en condiciones de invernadero en semillas de *T. aestivum* tratadas con *A. vinelandii* plus *B. subtilis* y el FN al 50 %, bajo un diseño experimental de bloques al azar, con las variables-respuestas: porcentaje de germinación, la biomasa a plántula y floración, los datos experimentales se analizaron por ANOVA/Tukey HSD $P < 0.05$ %. Los resultados mostraron una rápida y mayor germinación de *T. aestivum* con *A. vinelandii* y *B. subtilis* con el FN al 50 %, mientras que a plántula y floración medido por la biomasa, mostro un crecimiento de *T. aestivum* a *A. vinelandii* y *B. subtilis* registró 1.64 g de peso seco aéreo (PSA) y 0.39 g de peso seco radical (PSR), valores numéricos estadísticamente diferentes comparados con los 0.61 g de PSA y los 0.22 g de PSR de *T. aestivum* sin *A. vinelandii* y *B. subtilis* con el FN al 100 % o control relativo (CR). Esto apoya, el potencial de *A. vinelandii* y *B. subtilis* endófitos de teocintle para la eficaz optimización del FN al 50 %, sin riesgo de afectar el sano crecimiento de *T. aestivum*.

2021. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

The health growth of *Triticum aestivum* (wheat) requires the application of nitrogen fertilizer (NF). One way to optimize the dose of NF in *T. aestivum* is to inoculate its seed with *Azotobacter vinelandii* and *Bacillus subtilis*, genus and species of endophytic plant growth promoting bacteria (EPGPB) isolated from *Zea mays var mexicana* (teocintle). The objective of this research was to analyze the growth of *T. aestivum* with *A. vinelandii* and *B. subtilis* endophytes from teocintle at of NF at 50%. The experiment was conducted under greenhouse conditions with *T. aestivum* seeds were inoculated with *A. vinelandii* and *B. subtilis* and 50 % of NF, under a randomized block experimental design, by the response variables: germination percentage, seedling biomass and flowering; experimental data were analyzed by ANOVA/Tukey HSD $P < 0.05$ %. The results showed a positive responded of *T. aestivum* with *A. vinelandii* and *B. subtilis* and NF at 50 % on the percent of seed germination and time of emerging while the growth in terms of biomass at seedling and flowering stages, *T. aestivum* with *A. vinelandii* y *B. subtilis* registered 1.64 g aerial dry weight (ADW) and 0.39 g root dry weight (RDW), numerical values were statistically different compared to 0.61 g ADW and 0.22 g RDW of *T. aestivum* without *A. vinelandii* y *B. subtilis* with NF at 100 % or relative control (RC). This supports the potential of *A. vinelandii* and *B. subtilis* endophytes from teocintle were effective for NF optimization at 50%, without risk of affecting the healthy growth of *T. aestivum*.

2021. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

Actualmente el sano crecimiento de *Triticum aestivum*, es importante por el consumo en México y el mundo^{1,2}, para lo cual se utilizan elevadas dosis de fertilizante nitrogenado (FN) comúnmente en forma de NH_4NO_3 (nitrato de amonio), el que en el suelo provoca una rápida mineralización de la materia orgánica (MO), con subsecuentemente disminución de las principales propiedades asociadas a la productividad agrícola³. Una alternativa de solución para racionalizar y optimizar el FN en *T. aestivum*, es inocular las semillas con géneros y especies de bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) que aceleran la germinación^{4,5}, colonizan el interior de las raíces e inducen la formación de un sistema radical denso que optimiza el FN, mediante una rápida y eficaz absorción, que permite el crecimiento saludable, a través de la conversión de los compuestos orgánicos de *T. aestivum* (generados por la semilla al germinar) por *Azotobacter vinelandii* y *Bacillus subtilis*, en sustancias promotoras de crecimiento vegetal (SPCV) o fitohormonas las responsables que en las raíces aumenten la capacidad de absorción del FN y optimizarlo, cuando la dosis se restringe en relación a la dosis recomendada^{6,7}.

En la literatura se reportan un amplio grupo de géneros y especies de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) que colonizan en rizoplanorizosfera de las gramíneas domesticas como *T. aestivum*^{8,9}, relacionadas con *A. vinelandii* y *B. subtilis* del tipo: *Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense*¹⁰, *Klebsiella* sp.⁸, *Paenibacillus*¹¹, *Clostridium*¹², así como *Pseudomonas*¹³, que en semillas de *T. aestivum* pueden ser benéficas mediante diferentes estrategias: i) la fijación biológica del nitrógeno atmosférico (N_2) en suelo pobre en N orgánico o mineral^{14,15}, ii) por la síntesis de fitohormonas a partir de compuestos orgánicos como azúcares sencillos, ácidos orgánicos,

aminoácidos del metabolismo vegetal de la semilla y de las raíces por estos géneros y especies bacterianas inducen una raíz densa¹⁶ con mayor capacidad de absorción del FN al 50 %, iii) mediante la síntesis de fosfatasas para la solubilización de PO_4^{3-} (fosfatos) ambos nutrientes N como PO_4^{3-} son limitantes del sano crecimiento de *T. aestivum*. Mientras que otro problema común es, que tales géneros de BPCV son específicas y benéficas solo para ciertas variedades de *T. aestivum*, lo que se podría solucionar con la selección y aplicación de géneros y especies con un amplio patrón de interacción vegetal con gramíneas domesticas tal el caso de: *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* que aisladas del interior de *Zea mays* var. *mexicana* o teocintle (uno de los principales ancestros de *Zea mays* doméstico), es capaz de crecer en suelo pobre en MO, en minerales esenciales para las plantas como el nitrógeno (N), el P (fósforo) y K (potasio). No obstante, teocintle crece sanamente a pesar del estrés nutricional y/o por sequía, además el teocintle es tolerantes a agentes fitopatógenos aéreos como radicales^{17,18}. En general en el ambiente como el suelo, las condiciones físicas, químicas y biológicas son las que permiten al teocintle para establecer asociaciones con microorganismos endófitos, por lo que en ese sentido, *A. vinelandii* y *B. subtilis* recuperadas del interior del teocintle, tienen potencial en invadir las raíces de *T. aestivum* en optimizar al máximo el FN reducido hasta un 50 %, en comparación con los géneros y especies de BPCV aislados y probados en gramíneas domesticas como a *T. aestivum*, con base en lo anterior se supone que *A. vinelandii* y *B. subtilis* podrían transformar los compuestos orgánicos de la semilla y raíz de *T. aestivum* para crecimiento saludable, a pesar de restringir la dosis del FN recomendado¹⁹. El objetivo de esta investigación fue analizar

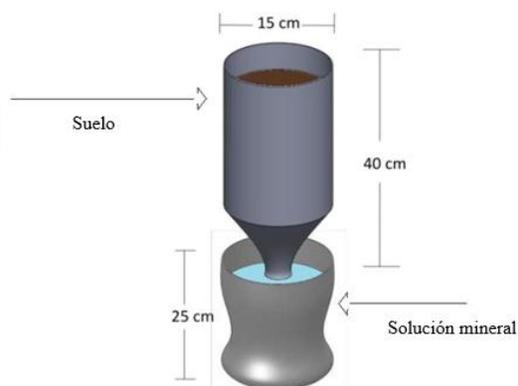
el crecimiento de *T. aestivum* inoculado con *A. vinelandii* y *B. subtilis* con el FN al 50 %.

Materiales y métodos

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, las condiciones micro climáticas promedio fueron: temperatura de 23.2 °C, luminosidad de 450 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, humedad relativa de 67 %.

Origen de los géneros y especies endófitas de bacterias promotoras de crecimiento vegetal. *A. vinelandii* y *B. subtilis* se aislaron del interior de raíces de *Zea mays* var. *mexicana* (teocintle), colectada de suelo franco-arcillosos pobre en MO, en minerales de N, en PO_4^{3-} solubles, con pH 6.8, de los municipios Santa Ana Maya y Álvaro Obregón ubicados en el noreste del estado de Michoacán en el 35 km al noreste de Morelia, Mich, México.

Figura 1 Diagrama de jarra de Leonard²⁰



Inoculación de T. aestivum con A. vinelandii y B. subtilis endófitas de teocintle con el fertilizante nitrogenado al 50 %, en invernadero. La semilla de *T. aestivum* var. Pavón fueron donadas por la secretaria de Agricultura del gobierno de México, las que se desinfectaron primero con NaClO al 0.2 %/5 min, se

lavarón 6 veces con agua potable estéril, después con alcohol al 70 % (v/v) /5 min, se lavarón 6 veces con agua potable estéril, posteriormente *A. vinelandii* se reprodujo en caldo Burk, (g/L): glucosa 5.0 g, KH_2PO_4 0.16 g, K_2PO_4 0.64 g, NaCl 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, FeSO_4 0.003 g, agua destilada 1000 mL, pH 6.8, mientras que *B. subtilis* en caldo nutritivo (g/L): extracto de carne 8.0 g, peptona 5.0 g, pH 7.0, agua destilada 1000 mL, ambos géneros bacterianos se incubaron por 28 °C/35 h entonces, 5 g de semillas de *T. aestivum* se inocularon con 1×10^6 UFC/mL/semilla: calculado por cuenta viable en placa en agar nutritivo y/o agar Burk), ya sea individual o en mezcla en cuyo caso se realizó con base a la relación 1:1 1×10^6 UFC/mL/semilla con la misma densidad de *A. vinelandii* y *B. subtilis*, luego las semillas se sembraron en 1.0 kg de suelo en la parte superior del sistema hidropónico de Jarras de Leonard (Figura 1)²⁰, mientras que en la inferior se colocó la solución mineral con la siguiente composición química (g/L): NH_4NO_3 12.0, KH_2PO_4 3.0, K_2HPO_4 3.5, MgSO_4 1.5, CaCl_2 0.1, FeSO_4 0.5 mL/L, y 1.0 ml/L de la solución de oligoelementos: (g/L), H_3BO_3 2.86, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22, $\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.81, K_2MnO_4 0.09, el pH se ajustó a 7.0, en agua destilada, mientras que el NH_4NO_3 se redujo al 50 % equivalente a 6 g/L²¹.

El ensayo se realizó de acuerdo con la Tabla 1, donde se muestra el diseño experimental de bloques al azar con 3 tratamientos, 2 controles y 6 repeticiones: *T. aestivum* irrigado con agua o control absoluto (CA), el crecimiento de *T. aestivum* con alimentado con la dosis de FN al 100 % o control relativo (CR), crecimiento de *T. aestivum* con *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* con el FN al 50 %. Para analizar el crecimiento *T. aestivum* con *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* a nivel de plántula y floración con el FN al 50 %, mediante las variables respuestas: porcentaje de germinación y biomasa: peso fresco aéreo y radical (PFA/PFR), peso

seco aéreo y radical (PSA/PSR) a plántula y floración²².

Tabla 1 Diseño experimental para analizar el crecimiento de *Triticum aestivum* con *Azotobacter vinelandii* y *Bacillus subtilis* con el fertilizante nitrogenado al 50 %

<i>Triticum aestivum</i> *	Agua	Solución mineral (NH ₄ NO ₃)	<i>Azotobacter vinelandii</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Control absoluto (CA)	+	-	-	-
Control relativo (CR)	-	100 %**	-	-
Tratamiento 1	-	50 %	+	-
Tratamiento 2	-	50 %	-	+
Tratamiento 3	-	50 %	+	+

*Número de repeticiones (n) = 6, (+) = se agregó, (-) = no se agregó, **CR o 100 % = 12 g/L, 50 % = 6 g/L.

Para demostrar que *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* fueron responsable del efecto positivo en *T. aestivum* ambos se recuperaron en agar Burk y AN, a partir de la desinfección de externa de las raíces de *T. aestivum*, a floración se usó el perfil de sensibilidad de antibióticos de cada una²⁰. Los datos experimentales se validaron con ANOVA/Tukey HSD P<0.05 % con el programa estadístico Statgraphics Centurion²³.

Resultados

Tabla 2 Porcentaje de germinación de semillas de *Triticum aestivum* con *Azotobacter vinelandii* y *Bacillus subtilis* endófitas de teocintle con el fertilizante nitrogenado* al 50%

<i>Triticum aestivum</i> *	% de germinación
Irrigado con agua (CA)	87.5 ^{d**}
Alimentado con el FN al 100 % (CR)	79.1 ^d
<i>A. vinelandii</i> y el FN al 50 %	95.8 ^b
<i>Bacillus subtilis</i> y el FN al 50 %	91.6 ^c
<i>A. vinelandii</i> y <i>B. subtilis</i> con el FN al 50 %	100 ^a

En la Tabla 2, se muestra la respuesta positiva de las semillas de *T. aestivum* con *A. vinelandii* y *B. subtilis* con el FN al 50 %, donde se registró el 100 % de germinación, valor numérico con diferencia estadística comparado con el 95.8 % de *T. aestivum* con *A. vinelandii* y el FN al 50 %, así como con el 79.1 % de *T. aestivum* sin *A. vinelandii* y *B. subtilis* alimentado con el FN al 100 % o CR.

En la Tabla 3, se muestra a plántula el crecimiento de *T. aestivum* con *A. vinelandii* y *B. subtilis* con el FN al 50 %, donde se registró 0.27 g de PFA y 0.13 g de PFR, ambos valores numéricos tuvieron diferencia estadística comparado con los 0.14 g de PFA y los 0.08 g de PFA de *T. aestivum* con *B. subtilis* y el FN al 50 %, en comparación con los 0.24 g de PFA y los 0.11 g de PFA de *T. aestivum* sin *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* alimentado con el FN al 100 % o CR. En tanto que, en el peso seco, el crecimiento de *T. aestivum* con *A. vinelandii* plus *B. subtilis* y el FN 50 %, registró 0.17 g de PSA un valor numérico estadísticamente diferente a los 0.15 g de PSR de *T. aestivum* usado como CR.

En la Tabla 4 se muestra a nivel de floración la respuesta positiva de *T. aestivum* a *A. vinelandii* plus *B. subtilis* con el FN 50 %, ahí hubo un registró de 6.58 g de PFA y 0.65 g de PFR, ambos valores numéricos estadísticamente diferentes en comparación con los 0.97 g de PFA y los 0.57 g de PFA del crecimiento de *T. aestivum* con *B. subtilis* y el FN al 50 %, así como con los 1.80 g de PFA y los 0.32 g de PFA del crecimiento de *T. aestivum* sin *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* alimentado con el FN al 100 % o CR, en cuyo caso el crecimiento de *T. aestivum* indica que la absorción del FN al 100% por las raíces, fue inferior a lo registrado en los valores de la biomasa de *T. aestivum* tratado con *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* con el

FN al 50% que registró 1.64 g de PSA y 0.39 g de PSR, ambos valores numéricos tuvieron diferencia estadística comparado con los 0.61 g de PSA y los

0.22 g de PSR de *T. aestivum* sin *A. vinelandii* y *B. subtilis* y el FN al 100% usado como CR.

Tabla 3 Crecimiento de *Triticum aestivum* con *Azotobacter vinelandii* y *Bacillus subtilis* endófitos de teocintle y el fertilizante nitrogenado* al 50% a plántula

<i>Triticum aestivum</i> *	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
	Aéreo	Radical	Aéreo	Radical
Irrigado solo agua o control absoluto	0.19 ^{c**}	0.12 ^b	0.02 ^b	0.15 ^b
Alimentado con FN al 100 % o control relativo	0.24 ^b	0.11 ^c	0.03 ^a	0.15 ^b
<i>A. vinelandii</i> y el FN al 50 %	0.04 ^e	0.07 ^e	0.01 ^d	0.09 ^d
<i>Bacillus subtilis</i> y el FN al 50 %	0.14 ^d	0.08 ^d	0.01 ^c	0.10 ^c
<i>A. vinelandii</i> y <i>B. subtilis</i> y FN al 50 %	0.27 ^a	0.13 ^a	0.03 ^a	0.17 ^a

*n=6. **Letras diferentes indica diferencias significativas según ANOVA/Tukey con significancia (0.05). * NH₄NO₃.

Tabla 4 Crecimiento de *Triticum aestivum* con *Azotobacter vinelandii* y *Bacillus subtilis* endófitas de teocintle con el fertilizante nitrogenado al 50% a nivel de floración

<i>Triticum aestivum</i> *	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
	Aéreo	Radical	Aéreo	Radical
Irrigado con agua (CA)	4.54 ^{d**}	0.48 ^d	1.28 ^d	0.28 ^d
Alimentado con el FN al 100 % (CR)	1.80 ^e	0.32 ^c	0.61 ^e	0.22 ^e
<i>A. vinelandii</i> y el FN al 50 %	5.15 ^c	0.52 ^c	1.37 ^c	0.30 ^c
<i>Bacillus subtilis</i> y el FN al 50 %	0.97 ^b	0.57 ^b	1.53 ^b	0.33 ^b
<i>A. vinelandii</i> y <i>B. subtilis</i> con el FN al 50 %	6.58 ^a	0.65 ^a	1.64 ^a	0.39 ^a

*n=6. **Letras diferentes indica diferencias significativas según ANOVA/Tukey con significancia (0.05).

Discusión

En la Tabla 2, el efecto positivo de *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* endófitas de teocinte en la germinación de las semillas de *T. aestivum* con el FN al 50 %, indica que las semillas al embeber agua, indujeron la máxima actividad de la α -amilasa para la rápida hidrólisis del almidón^{24,25}, en consecuencia se liberaron algunos azúcares sencillos, ácidos orgánicos, aminoácidos, etc., productos de la degradación del endospermo de la semilla que tanto *A. vinelandii* y/o *B. subtilis*, transformaron en fitohormonas del tipo: gibberelinas que aceleraron la emergencia de un mayor cantidad de semillas de *T. aestivum*^{20,26,27}, con valores en el porcentaje de germinación que fueron estadísticamente diferentes a los registrados en el por-

ciento de germinación de *T. aestivum* sin *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* con el FN al 100 % usado como CR.

Los datos expuestos en la Tabla 3, señalan que a nivel de plántula se observó un crecimiento sano de *T. aestivum* con *A. vinelandii* y *B. subtilis* endófitos de teocintle con el FN al 50 %, lo que indica que después de la germinación, *A. vinelandii* y *B. subtilis* invadieron el primordio de raíz, para una máxima absorción del FN a pesar de reducirlo al 50 % al evitar la competencia externa con otros géneros y especies de BPCV autóctonas del suelo donde se sembró el *T. aestivum*. Mientras que los valores numéricos en función de la biomasa del crecimiento de *T. aestivum* cuando se inoculó con *A. vinelandii* y *B. subtilis* apoyan que ambos endófitos colonizaron el interior del sistema radical del *T. aestivum*, sitio donde *A. vine-*

landii y *B. subtilis* transforman de algunos compuestos de carbono de la fotosíntesis en fitohormonas del tipo auxinas^{28,29}, que inducen el crecimiento abundante del tejido radical, con aumento de la capacidad del área de exploración de esas raíces, lo que facilitó la máxima absorción del FN y la optimización de la dosis reducida al 50 % sin riesgo de comprometer el sano crecimiento de *T. aestivum*³⁰⁻³².

En la Tabla 4, a nivel de floración los datos numéricos registrados de la biomasa: peso fresco y seco de la parte aérea y radical del crecimiento e de *T. aestivum* con *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* indican que *A. vinelandii* como *B. subtilis* endófitas de teocintle, primero tuvieron la capacidad de invadir el primordio de raíz para llegar al xilema, en donde se sugiere que mediante la conversión de algunos compuestos orgánicos derivados de la fotosíntesis en fitohormonas: auxinas y citocininas, se observó un sistema radical denso y abundante que favoreció la optimización del FN al 50 %^{28,33}. En la literatura se reporta que los géneros y especies de bacterias endófitas como *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* al invadir el interior del tejido radical, evitaron la competencia⁷ externa con los microorganismos del suelo, que tienen capacidad de colonizar del rizoplaneo y/o la rizosfera, pero que no necesariamente son benéficos para el sano crecimiento de *T. aestivum* en especial cuando se restringe la dosis del FN^{34,35}. Con base a lo anterior se concluye que *A. vinelandii* y *B. subtilis* endófitas del teocintle tuvieron potencial de colonizar el interior de las raíces de *T. aestivum*, puesto que individualmente o en mezcla *A. vinelandii* como *B. subtilis* de acuerdo con los datos de la fenología y biomasa mostraron que tienen la capacidad de convertir fitohormonas que aumentaron la absorción radical para la optimización del FN al 50 % sin comprometer el saludable crecimiento de *T. aestivum*. Mientras que *A. vinelandii* y/o *B. subtilis* se recuperaron en agar Burk y AN del interior de las raíces de *T. aestivum*, a floración, pero no ninguna se

detectó en las raíces de *T. aestivum* usado como CR. Con lo cual se aporta información de otra opción para la producción sustentable de *T. aestivum*.

Fuente de financiamiento

Proyecto 2.7 (2021) de la CIC-UMSNH, Morelia, Mich, México. BIONUTRA, S. A. de CV, Maravatío, Michoacán, México.

Conflictos de intereses

Los participantes en esta investigación aseguramos que no existe ningún problema de intereses relacionados con la planeación, ejecución y reporte de esta investigación que comprometa el valor de los resultados obtenidos o sus consecuencias en términos científicos, técnicos, o de cualquier otro tipo.

Agradecimientos

A la Coordinación de la Investigación Científica (CIC) de la UMSNH, Morelia, Michoacán, México.

Consideraciones éticas

La aprobación de la investigación por el Comité de Ética, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo - México, siguió las pautas establecidas para este comité.

Aporte de los autores en el artículo

Agustín Yunuen Barajas-Vargas, ejecución de la fase experimental, colecta de datos estadísticos. Juan Luis Ignacio-De la Cruz, revisión de literatura para material, métodos y resultados. Liliana Márquez-Benavides, revisión de resultados y análisis estadísticos. José Luis Hernández-Mendoza, revisión de literatura

para resultados y discusión. Juan Manuel Sánchez-Yáñez, dirección y planeación de experimentos de este trabajo, análisis estadísticos de resultados y discusión, administrador de los recursos para desarrollo de la investigación, revisión final del artículo generado.

Literatura citada

1. Contreras-López E, Jaimez-Ordaz J, Hernández-Madrigal T, Añorve-Morga J, Beltrán-Hernández R. Composición química de cebadas cultivadas bajo diferentes condiciones de labranza en tres localidades del estado de Hidalgo, México. *Bioagro* 2008;20(3):201-8.
2. Hernández Córdova N, Soto Carreño F, Plana Llerena R. Growth performance and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) on three planting dates. *Cult Trop* 2015;36(1):86-92.
3. Armenta-Bojórquez AD, García-Gutiérrez C, Camacho-Báez JR, Apodaca-Sánchez MÁ, Gerardo-Montoya L, Nava-Pérez E. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México *Ra Ximhai* 2010; 6(1):51-6.
4. Rodelas B, González-López J, Pozo C, Salmerón V, Martínez-Toledo MV. Response of faba bean (*Vicia faba* L.) to combined inoculation with *Azotobacter* and *Rhizobium leguminosarum* bv. viceae. *Appl Soil Ecol* 1999;12(1):51-9. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(98\)00157-7](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(98)00157-7)
5. Askary M, Mostajeran A, Amooaghaei R, Mostajeran M. Influence of the co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2,4-D on grain yield and N, P, K content of *Triticum aestivum* (Cv. Baccros and Mahdavi). *Am Eurasian J Agric Environ Sci* 2009;5(3):296-307.
6. Dobbelaere S, Croonenborghs A, Thys A, Ptacek D, Vanderleyden J, Dutto P, et al. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Aust J Plant Physiol* 2001;28(9): 871-9. DOI: <https://doi.org/10.1071/PP01074>
7. Rosas SB, Avanzini G, Carlier E, Pasluosta C, Pastor N, Rovera M. Root colonization and growth promotion of wheat and maize by *Pseudomonas aurantiaca* SR1. *Soil Biol Biochem* 2009;41(9):1802-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.10.009>
8. Loredó-Ostí C, López-Reyes L, Espinosa-Victoria D. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoam* 2004;22(2):225-39.
9. Bécquer CJ, Lazarovits G, Nielsen L, Quintana M, Adesina M, Quigley L, et al. Efecto de la inoculación con bacterias rizosféricas y *Trichoderma* en trigo (*Triticum aestivum* L.). *Pastos y Forrajes* 2015;38(1):29-37.
10. Bashan Y, Levanony H. Interaction between *Azospirillum brasilense* Cd and wheat root cells during early stages of root colonization. In: Klingmüller W, editor. *Azospirillum* IV. Berlin: Springer Heidelberg; 1988 p. 166-73. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-73072-6_21
11. Rybakova D, Cernava T, Köberl M, Liebming S, Etemadi M, Berg G. Endophytes-assisted biocontrol: novel insights in ecology and the mode of action of *Paenibacillus*. *Plant Soil* 2016;405(1):125-40. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2526-1>
12. Salantur A, Ozturk A, Akten S. Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to inoculation with rhizobacteria. *Plant Soil Environ* 2006;52(3):111-8. DOI: <https://doi.org/10.17221/3354-pse>
13. Bagwell CE, Piceno YM, Ashburne-Lucas A, Lovell CR. Physiological diversity of the rhizosphere diazotroph assemblages of selected salt marsh grasses. *Appl Environ Microbiol* 1998;64

- (11):4276-82. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.64.11.4276-4282.1998>
14. Reis VM, Santos PEL, Tenorio-Salgado S, Vogel J, Stoffels M, Guyon S, et al. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004;54(Pt 6):2155-62. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02879-0>
15. Rodríguez MN. Microorganismos libres de nitrógeno. In: Ferrera-Cerrato R, Pérez-Morreno J, editores. *Agromicrobiología, elemento útil en la agricultura sustentable*. Montecillo: Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas; 1995. p.105-26.
16. Arshad M, Frankenberger Jr, WT. Plant growth-regulating substances in the rhizosphere: microbial production and functions. *Adv Agron* 1997; 62:45-151. [https://doi.org/10.1016/S00652113\(08\)60567-2](https://doi.org/10.1016/S00652113(08)60567-2)
17. Chanway CP, Shishido M, Nairn J, Jungwirth S, Markham J, Xiao G, et al. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *Forest Ecol Manag* 2000;133(1-2):81-88. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(99\)00300-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00300-X)
18. Eubanks MW. The mysterious origin of maize. *Econ Bot* 2001;55:492-514. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02871713>
19. Gutiérrez- Mañero FJ, Ramos- Solano B, Probanza AN, Mehouchi JR, Tadeo FR, Talon M. The plant- growth- promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiol Plant* 2001;111(2):206-11. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1110211.x>
20. García-González MM, Farías-Rodríguez R, Peña-Cabrales JJ, Sánchez-Yáñez JM. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp y *Azotobacter beijerinckii*. *Terra Latinoam* 2005;23 (1): 65-72.
21. Juárez Hernández MJ, Baca Castillo GA, Lorenzo A, Navarro A, Sánchez García P, Tirado Torres JL. Propuesta para la formulación de soluciones nutritivas en estudios de nutrición vegetal. *INCI* 2006;31(4):246-53.
22. Sánchez-Yáñez JM. Breve Tratado de Microbiología Agrícola, Teoría y Práctica. Ed. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Cidem, Secretaria de Desarrollo Agropecuario del Gobierno del Estado de Michoacán. Consutenta, SA de CV Morelia, Mich. México; 2007. p. 130-3, 136-8, 153-5.
23. Walpole ER, Myers R, Myers LS. Probabilidad & Estadística para Ingeniería & Ciencias. Ed. Pearson. México. 2007.
24. Matilla AJ. Desarrollo y germinación de las semillas. En: Azcón-Bieto J, M. Talón, editores. *Fundamentos de fisiología vegetal* [Internet]. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de España, S.L.; 2013. p. 537-58. Recuperado a partir de: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/FundamentosdeFisiologiaVegetal2008Azcon.pdf>
25. Suárez D, Melgarejo LM. Biología y germinación de semillas. En: Melgarejo LM, editor. *Experimentos en fisiología vegetal* [Internet]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 2010 p. 13-24. Recuperado a partir de: <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2019/02/Melgarejo-2010.pdf>
26. Puente M, García J, Rubio E, Peticari A. Microorganismos promotores del crecimiento vegetal empleados como inoculantes en trigo [Internet]. Santa Fe: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; 2010 [citado 26 de octubre de 2020]. Publicación Miscelánea N° 116. Recuperado a partir

- de: http://rafaela.inta.gov.ar/info/miscelaneas/116/misc116_39.pdf
27. León LH, Rojas LM. Determinación del potencial promotor del crecimiento vegetal de *Azotobacter* spp. aislados de la rizósfera de malezas en cultivos de maíz (*Zea mays* L.). *Scientia Agropecuaria* 2015;6(4):247-57. DOI: <http://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.04.02>
28. Tejera-Hernández B, Rojas-Badía MM, Heydrich-Pérez M. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas* 2011;42(3):131-8.
29. Bécquer Granados CJ, Prévost D, Juge C, Gauvin C, Delaney S. Efecto de la inoculación con bacterias rizosféricas en dos variedades de trigo. Fase I: condiciones controladas. *Rev Mex Cienc Agríc* 2012;3(5):973-84. DOI: <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i5.1388>
30. Idris EE, Iglesias DJ, Talon M, Borriss R. Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Mol Plant Microbe Interact* 2007;20(6):619-26. DOI: <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-6-0619>
31. Kukreja K, Suneja S, Goyal S, Narula N. Phytohormone production by *Azotobacter*—a review. *Agric Rev* 2004;25(1):70-5.
32. Sivasakthi S, Usharani G, Saranraj P. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)—*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *Afr J Agric Res* 2014;9(16):1265-77. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7914>
33. Rai A, Nabti E. Plant growth-promoting bacteria: Importance in vegetable production. In: Zaidi A, Khan M, editors. *Microbial Strategies for Vegetable Production*. Switzerland: Springer Nature; 2017. p. 23-48. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-54401-4_2
34. Pérez A, Rojas J, Vale H. Biology and perspective of endophyte microorganisms associated with plants. *Rev Colombiana Cienc Anim Recia* 2009;1(2):286-301.
35. Ortuño N, Córdoba M, Claros M, Castillo JA. Evaluación de bacterias endófitas de papa nativa (*Solanum tuberosum* L.) y el desarrollo de un biofertilizante. *Rev Latinoam Papa* 2018;22(1):12-37. DOI: <https://doi.org/10.37066/rlap.v22i1.288>

Nota del Editor:

Journal of the Selva Andina Research Society (JSARS) se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales publicados en mapas y afiliaciones institucionales.