

EVALUACIÓN DE CEPAS DE RIZOBACTERIAS EN LA PRODUCCION DE PLÁNTULAS DE CHILE HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq.)

EVALUATION OF RHIZOBACTERIA STRAINS IN THE PRODUCTION OF HABANERO CHILI (*Capsicum chinense* Jacq.) SEEDLINGS

Castillo-Aguilar, C.C.^{1*}; Dolz-Ramos, R.¹; Arreola-Enríquez, J.¹, Carbajal-León, J.E.², Carrillo-Castañeda, G.³; Coh-Méndez, D.¹, Carrillo-Ávila, E.¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Campeche. Carretera Federal Haltunchén-Edzná km 17.5. Champotón, Campeche C.P. 24450. ²Instituto Tecnológico de Chiná, Campeche cementerio 11, Chiná, Campeche. C.P. 24520. ³Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Carretera Federal México Texcoco, km 36.5 Montecillo, Texcoco, Estado de México.

*Autor responsable: ccca@colpos.mx

RESUMEN

Con el objetivo de ver el efecto de cuatro diferentes cepas experimentales de rizobacterias sobre el crecimiento de plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en condiciones de vivero, se evaluó la inoculación de rizobacteriana sobre el crecimiento de plántulas de chile habanero. Las cepas estudiadas fueron: *Pseudomonas fluorescens* A9m, Avm y C2, y *Azospirillum brasilense* (UAP40). El diseño experimental utilizado fue de bloques completos al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. El crecimiento de las plantas fue significativamente mayor por efecto de la inoculación con rizobacterias. Un mayor crecimiento se obtuvo con la cepa Avm, que aumentó la altura de la plántula en 36.74 %, el diámetro del tallo en 46.27 %, área foliar en 45.73 %; el peso seco de hojas y tallos en 30.23% y el peso seco de raíz en 40 % en comparación al testigo ($p \leq 0.05$). Los resultados mostraron que el uso de las rizobacterias evaluadas mejora significativamente el crecimiento de las plantas de chile habanero en condiciones de vivero.

Palabras clave: Picantes, hortalizas, microorganismos, *Pseudomonas*, *Azospirillum*.

ABSTRACT

With the objective of observing the effect of four different experimental strains of rhizobacteria on the growth of seedling growth of habanero chili (*Capsicum chinense* Jacq.), under greenhouse conditions, the inoculation of rhizobacteria on the growth of habanero chili seedlings was evaluated. The strains studied were: *Pseudomonas fluorescens* A9m, Avm and C2, and *Azospirillum brasilense* (UAP40). The experimental design used was complete random blocks with five treatments and four repetitions. The growth of the plants was significantly higher because of the effect of inoculation with rhizobacteria. A greater growth was obtained with the strain Avm, which increased the height of the seedling in 36.74 %, the stalk diameter in 46.27 %, foliar area in 45.73 %, the dry weight of leaves and stems in 30.23%, and the dry weight of the root in 40 % compared with the control ($p \leq 0.05$). The results showed that the use of the rhizobacteria evaluated improves significantly the growth of the habanero chili plants under greenhouse conditions.

Keywords: spicy, vegetables, microorganisms, *Pseudomonas*, *Azospirillum*.

Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 12, diciembre, 2017, pp: 128-133.

Recibido: enero, 2017. **Aceptado:** septiembre, 2017.

INTRODUCCIÓN

Los diferentes mecanismos que utilizan las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés) hacen de estos microorganismos una herramienta interesante que se puede integrar a la producción agrícola, tal como la nutrición vegetal y control de plagas (incluye enfermedades). Su empleo en los sistemas de producción agropecuarios permite mejor aprovechamiento de la fertilidad natural de los suelos, reduciendo la aplicación de fertilizantes minerales y pesticidas que contaminan el ambiente. Diversos estudios han demostrado que la inoculación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal ha logrado mejorar el crecimiento de plántulas de tomate, trigo, soya, maíz y otras especies (Singh *et al.*, 2010). En algunos casos, las rizobacterias estimulan directamente el crecimiento mediante la producción de reguladores, como el ácido indol-3-acético (AIA), la isopentenyladenosina (IPA) y el ácido giberélico (Parvin *et al.*, 2011). Otro mecanismo que favorece el crecimiento vegetal es la solubilización de fosfatos orgánicos e inorgánicos en el suelo por medio de la producción de fosfatasas y de ácidos orgánicos, los cuales aumentan la disponibilidad del fósforo para las plantas (Wahyudi *et al.*, 2011). En condiciones de escasa disponibilidad de Fe^{+3} , las bacterias benéficas que producen sideróforos compiten ventajosamente con los microorganismos fitopatógenos por este elemento, reduciendo de este modo la disponibilidad de Fe^{+3} para los microorganismos patógenos y en consecuencia la incidencia de enfermedades (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2006). Las rizobacterias estimulan también el crecimiento de las plantas al activar la actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC) desaminasa, que hidroliza el inmediato precursor del etileno, lo que reduce la concentración de esta fitohormona y su efecto inhibitorio del crecimiento vegetal (Wang *et al.*, 2012). Noh Medina *et al.* (2014) encontraron que los aislados bacterianos KCH3 y TSACH2, inoculados a las semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.), solubilizaron fosfato *in vitro*, e incrementaron significativamente la biomasa de la parte aérea de las plántulas (42% y 32% respectivamente), permitiendo obtener plántulas más vigorosas que las no inoculadas. Constantino *et al.* (2008), trabajando con chile habanero, encontraron que el crecimiento vegetativo y el rendimiento de los frutos fueron mayores en plantas inoculadas con *A. brasilense* y *Azotobacter chroococum*, que en plantas sin inocular. En el mismo cultivo, Reyes-Ramírez *et al.* (2014) regis-

traron que plantas tratadas con *Pseudomonas* spp. tuvieron significativamente mayor altura, diámetro de tallo y biomasa seca total que las plantas testigo, a 120 días después del trasplante. Asimismo el rendimiento fue mayor (899.84 g por planta) y los frutos tuvieron longitud, diámetro y peso más grandes estadísticamente. Dichos autores concluyen que la inoculación de *Pseudomonas* spp en chile habanero durante el trasplante aumenta el crecimiento y el rendimiento del cultivo. Con base en lo anterior, se evaluó el efecto de cuatro diferentes cepas experimentales de rizobacterias sobre el crecimiento de plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en condiciones de vivero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental fue realizado a inicios de 2006 en el Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 169, ubicado el km. 4 de la Carretera Hecelchakán-Balanchén, en la ex-hacienda Tanchi, Hecelchakán, Campeche, México (20° 10' 30" N, y 90° 05' 03" O). El clima predominante es cálido subhúmedo, Aw1 de acuerdo con la clasificación climática de Köppen modificada por García (1973). La temperatura y precipitación promedio anuales son de 26.6 °C y 1100 mm, respectivamente. La variedad empleada fue chile habanero naranja (*Capsicum chinense* Jacq.) producida por la empresa Seminis®. Se evaluaron cuatro cepas experimentales de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR), *Pseudomonas fluorescens*, (cepas A9m, Avm C2) y *Azospirillum brasilense* cepa UAP40. El diseño experimental fue bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos en estudio fueron cinco, cuatro cepas de rizobacterias y un tratamiento testigo sin inocular. La inoculación se realizó poniendo en contacto el inóculo líquido con las semillas de chile habanero en una caja de petri por 10 minutos a una concentración de 107 unidades de colonias formadoras de bacterias por mililitro de preparación (107 CFU ml⁻¹). Posteriormente, las semillas fueron puestas a secar para luego ser sembradas manualmente en charolas de poliestireno de 200 cavidades, previamente desinfectadas con cloro mezclado con agua limpia (1 mL L⁻¹ de agua). La siembra se realizó el 27 de febrero de 2006; el sustrato utilizado fue Peatmoss® Canadiense, constituido a base de vermiculita y musgo (esterilizado). Las charolas se llenaron con el sustrato húmedo, depositando una semilla por cavidad, cubriéndolas con una capa del mismo sustrato. Las charolas ya sembradas fueron envueltas con

plástico negro por espacio de ocho días, hasta el inicio de la emergencia de las plántulas (Figura 1).

Posteriormente, las charolas ya con las plántulas emergiendo del sustrato se colocaron sobre unos bancales de madera, dentro de una estructura tipo invernadero cubierta con una malla antiáfido. Los riegos iniciales fueron aplicados con bomba aspersora cuidando de no dejar excesos de agua en las charolas. A partir de los 20 días después de la emergencia de las plantas, se dieron riegos diarios mediante inmersión en recipientes de plástico individuales para cada charola. La fertilización se inició a partir de que las plantas presentaron dos hojas verdaderas, tres veces por semana, mediante aplicaciones al sustrato de la fórmula 19-19-19 (Nitrógeno, Fósforo-Potasio) Poly-feed® (2 g L⁻¹ de agua). El control de enfermedades fue enfocado hacia la prevención de *Damping off*, usando fungicidas como Previcur® y Derosal®, en dosis de 1 mL L⁻¹ de agua de riego. Para el control mosquita blanca se aplicó Confidor® cuatro días antes del trasplante, en dosis de 1 mL L⁻¹ de agua. Las variables de estudio fueron: altura de planta, diámetro de la base del tallo, área foliar y peso seco de la planta (raíz y parte vegetativa). La altura de la planta fue considerada de la base de la planta hasta el punto de crecimiento de la misma, midiendo 20 plantas elegidas al azar por tratamiento y por repetición. La cuantificación del diámetro del tallo, el área foliar y peso seco de la planta fue llevada a cabo mediante la cosecha de 20 plantas tomadas aleatoriamente por tratamiento y por repetición. El diámetro del tallo fue medido un centímetro arriba de la división, tallo-raíz con un vernier digital. Las plantas se cosecharon a los 40 días después de la siembra para los análisis de área foliar y peso seco. La determinación del área foliar se realizó con empleo de un determinador de área foliar Licuor, integrando el área de las hojas de las plantas muestreadas. Las plantas se colocaron

en sobres etiquetados de papel manila, para luego proceder a su secado en estufa a 60 °C por 72 horas hasta peso constante. Se realizó un análisis de varianza de toda la información experimental, con un nivel de significancia del 5% ($\alpha=0.05$), utilizando el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System). En los casos en los que se encontraron efectos significativos de los tratamientos se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La inoculación con rizobacterias indujo efectos significativos en altura y diámetro de planta, (Cuadro 1). Las rizobacterias *Pseudomonas fluorescens* cepas Avma y A9m, y *Azospirillum brasilense* cepa UAP40, comparadas con las plantas sin inocular.

Estos resultados concuerdan con obtenidos por Guillen et al. (2006), quienes encontraron una altura 20% mayor en plantas inoculadas con rizobacterias del género *Bacillus* spp., en *Capsicum annuum*, coincidiendo a su vez con lo hallado por Terry-Alfoso y Leyva-Galán (2006), al inocular plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill) con *Azospirillum brasilense*, obteniendo 24% de incremento en altura. Misma tendencia en los resultados fue obtenida por Sing et al. (2010) y Noh Medina et al. (2014) en la misma especie.



Figura 1. Semilla de *Capsicum chinense* Jacq, colocada en las cavidades de la charola de siembra (izquierda). Charolas estibadas por tratamiento y cubiertas con plástico negro para su germinación.

El efecto de la inoculación rizobacteriana en el crecimiento de las plántulas de chile habanero, no sólo pudo verse como un incremento en su altura, sino también con la obtención de plantas más vigorosas, sanas, con una coloración verde más atractiva, lo cual les confiere ventajas adaptativas al momento del establecimiento en campo. Esta respuesta de las plantas, es atribuido al hecho que las rizobacterias pueden promover la síntesis de ácido indolacético y ácido giberélico promoviendo un mayor y rápido crecimiento

Cuadro 1. Efecto de la inoculación con rizobacterias en la altura y el diámetro del tallo de plántulas de *Capsicum chinense* Jacq. en condiciones de vivero.

Tratamiento	Altura de planta	Diámetro del tallo
<i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa Avma	29.80 a	2.55 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa A9m	28.02 ab	2.11 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> cepa UAP40	25.72 ab	2.15 ab
<i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa C2	22.87 bc	1.72 bc
Testigo (plantas sin inocular)	18.85 c	1.37 c
DMS	6.07	0.50

Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$): DMS: diferencia mínima significativa.

vegetativo (Figura 2), además de reducir la presencia de damping off a nivel de 5%, que en conjunto redujo el tiempo de las plantas de chile habanero en vivero en cinco días, lo cual representa menos costos de producción para los viveristas. Respecto al diámetro del tallo, las diferencias estadísticas encontradas entre los tratamientos, señalan como las mejores cepas a *Pseudomonas fluorescens* Avm, *Pseudomonas fliorescens* A9m y *Azospirillum brasilense* cepa UAP40, que promovieron un diámetro del tallo estadísticamente superior al observado en el tratamiento testigo (Cuadro 1), resultados similares a los hallados por Ramírez-Reyes et al., (2014). De esta forma los resultados encontrados en el presente trabajo muestran que el empleo de rizobacterias promueve la formación de tallos con mayor diámetro.

No obstante que el diámetro del tallo es una variable poco evaluada en cuestiones de hortalizas, es considerada importante por viveristas y productores, como elemento para un adecuado establecimiento de las plantas en campo, que las hace más resistentes al manejo.

Área foliar y peso seco: resultados consistentes con los observados en las variables precedentes fueron encontrados para el área foliar y peso seco de plantas. En ambas variables, sobresalió el efecto de la cepas *Pseudomonas florescens* Avm, en las que los valores observados fueron significativamente superiores a los del tratamiento testigo en todos los casos (90.12 cm² para el área foliar y 0.43

y 0.05 g para el peso seco de la parte área de las plántulas y peso seco de raíz, respectivamente). El segundo mejor tratamiento fue *Pseudomonas fluorescens* cepa A9m con valores de 82.20 cm², 0.35 y 0.04 g para el área foliar, peso seco de la parte área de la planta y peso seco de raíz, en forma respectiva (Cuadro 2).

Lo obtenido puede ser explicado por un mayor número de hojas, así como tamaño mayor de éstas ($p \leq 0.05$), que combinadas con la altura de planta y diámetro del tallo produjo plantas de chile habanero

**Figura 2.** Efecto de la inoculación micorrizica en la altura de las plantas de *Capsicum chinense* Jacq.

más grandes a la cosecha, con mayor vigor, en comparación con las plantas no inoculadas (Figura 3).

El vigor de las plantas inoculadas con rizobacteriana con *Pseudomonas fluorescens* cepa Avm, al trasplante, es una alternativa que le puede dar al productor y viverista plantas en menor tiempo y a menor costo, ya que fueron producidas con al menos una semana de anticipación con relación a las que se producen en los principales viveros de la región. El mayor peso seco de la parte aérea de las plántulas está asociado con el vigor de las mismas, necesario para

Cuadro 2. Efecto de la inoculación con rizobacterias en el área foliar y peso seco de plántulas de *Capsicum chinense* Jacq., 45 días después de la siembra.

Tratamiento	Área foliar (cm ²)	Peso seco de hojas y tallo (g)	Peso seco de raíz (g)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa Avm	90.12 a	0.43 a	0.05 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa A9m	82.20 ab	0.35 b	0.04 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> cepa UAP40	75.40 bc	0.31 bc	0.04 ab
<i>Pseudomonas fluorescens</i> cepa C2	66.13 c	0.31 c	0.03 b
Testigo (plantas sin inocular)	48.90 d	0.30 c	0.03 b
DMS	9.29	0.038	0.01

Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$): DMS=diferencia mínima significativa.



Figura 3. Plántulas de *Capsicum chinense* Jacq. De izquierda a derecha y de arriba a abajo: *Pseudomonas fluorescens* cepa Avm; *Pseudomonas fluorescens* cepa A9m; *Azospirillum brasilense* cepa UAP40; *Pseudomonas fluorescens* cepa C2; Testigo (plantas sin inocular).

su supervivencia en el trasplante, así como para el posterior crecimiento y rendimiento. Adicionalmente, las plántulas inoculadas presentaron una coloración verde intenso y brillante y un aspecto más sano. Este efecto benéfico de las rizobacterias puede ser atribuido a diferentes mecanismos, tales como la producción de fitohormonas como auxinas, citocininas y giberelinas, que contribuyen al desarrollo de las plantas al influir sobre el metabolismo de éstas promoviendo su crecimiento y desarrollo; además las rizobacterias también provocan un aumento en la absorción de agua y nutrientes por diferentes mecanismos (Caballero-Mellado, 2006).

La inoculación con *Pseudomonas fluorescens* cepa Avm, permitió obtener plántulas con sistemas radical más desarrollado y denso en el cepellón, con un peso seco significativamente mayor del sistema radicular ($p \leq 0.05$). Este aspecto representa una ventaja desde el punto de vista productivo, ya que este órgano es importante en el anclaje y absorción de agua y nutrientes de la planta. Sin embargo, los resultados obtenidos en la presente investigación, resultaron considerablemente inferiores a los obtenidos por Díaz-

Vargas et al. (2001), quienes encontraron, en lechuga, incrementos de 300% en comparación al de plantas no inoculadas, lo cual establece que el efecto de la inoculación rizobacteriana puede variar dependiendo de la especie vegetal inoculada. Los resultados encontrados en la presente investigación ponen de manifiesto la utilidad del género *Pseudomonas*, siendo importante señalar que es un género común en la rizósfera y abarca un gran número de grupos que se distinguen por múltiples diferencias. El interés basado en este género está apoyado en su influencia en la nutrición de las plantas (Hernández et al., 1995), así como en la producción de sustancias reguladoras del crecimiento, tales como ácido indolacético, giberelinas, y citoquininas (De Salomone et al., 2001), aspectos a los que puede atribuirse el mayor crecimiento de las plantas de chile habanero en condiciones de vivero.

CONCLUSIONES

La inoculación de *Pseudomonas* spp a plántulas de chile habanero en vivero, promovió significativamente el crecimiento, mayor área foliar y acumulación de materia seca área y radical. Las cepas rizobacterianas superiores fueron Avm y A9m. El empleo de la inoculación



Figura 4. Sistema de raíces en plantas sin inocular (izquierda) y con inoculación (derecha).

micorrízica puede ser una estrategia sustentable para la producción de plántula de chile habanero, al obtenerse plantas, sanas, vigorosas y en menos tiempo (40 días), mejorando en al menos una semana el tiempo al trasplante respecto de los sistemas de producción de plántulas de chile convencionales.

LITERATURA CITADA

- Caballero-Mellado J. 2006. Microbiología agrícola e interacciones microbianas con plantas. Revista latinoamericana de Microbiología 48(2): 154-161.
- Canto-Martín J.C., Medina-Peralta S., Morales A.D. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq). Tropical and Subtropical Agroecosystems 4: 21-27.
- Constantino M., Gómez-Álvarez R., Álvarez-Solís J.D., Geissen V., Huerta E., Barba E. 2008. Effect of inoculation with rhizobacteria and arbuscular micorrhizal fungi on growth and yield of *Capsicum chinense* Jacquin. J. Agric. Rural Develop. Trop. Subtrop. 109: 169-180.
- De Salomone I.E.G., Heynes R.K., Nelson L.M. 2001. Cytoquinin production by plant growth promoting rhizobacteria an select mutants. Canadian Journal 47(5): 404-411.
- Díaz-Vargas P., Ferrera-Cerrato R., Almaraz-Suárez J.J., Alcántar-González G. 2001. Inoculación de Bacterias Promotoras de Crecimiento en Lechuga. Terra 19 (4): 327-335.
- García E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Segunda edición corregida y aumentada. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Guillen C.R., Hernández C.F.D., Gallegos M.G., Rodríguez H.R., Aguilar G.C.N., Padrón C.E., Reyes V.M.H. (2006. *Bacillus* spp., como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* Spp., *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile. Revista Mexicana de Fitopatología 24(002):105-114.
- Hernández A.N., Hernández A., Heydrinch M. 1995. Selección de rizobacteras asociadas al cultivo del maíz. Cultivos tropicales 16(3): 5-8.
- Noh-Medina J., Yam-Chimal C., Borges-Gómez L., Zúñiga-Aguilar J.J., Godoy-Hernández G. 2014. Terra Latinoamericana 32: 273-281.
- Parvin, J., Vedit T., Ballabh B. 2011. Characterization of Rhizobacteria diversity isolated from *Oryza sativa* cultivated at different altitude in north Himalaya. Adv. Appl. Sci. Res. 2: 208-216.
- Reyes-Ramírez A., López-Arcos M., Ruíz-Sánchez E., Latournerie-Moreno L., Pérez-Gutiérrez A., Lozano-Contreras M.G., Závala León M.J. 2014. Efectividad de inoculantes microbianos en el crecimiento y productividad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq). Agrociencia 48(3): 285-294.
- Singh A.V., Shah S., Prasad B. 2010. Effect of phosphate solubilizing bacteria on plant growth promotion and nodulation in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). J. Hill Agric. 1: 35-39.
- Terry-Alfonso E., Leyva-Galán A. 2006. Evaluación agrobiológica de coinoculación micorrizas.rizobacterias en tomate. Agronomía Costarricense. 30(1):65-73.
- Wahyudi A.T., Astuti R.P., Widyawati A., Meryandini A., Nawangsih A.A. 2011. Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting rhizobacteria. J. Microbiol. Antimicrobials 3: 34-40.

