

## RESPUESTA EN VARIEDADES DE CAÑA DE *Bacillus safensis*, EN CONDICIONES DE INVERNADERO.

### RESPONSE CANE VARIETIES *Bacillus safensis*, UNDER GREENHOUSE CONDITIONS

José Reyes Hernández,<sup>1</sup> Jesús Gerardo García Olivares<sup>2</sup>, Alejandro Sánchez Varela,<sup>2</sup> Jesús Dicarlo Quiroz Velásquez

Miguel Ángel García Delgado<sup>1</sup>, Francisco Javier González Ledesma<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Tamaulipas-Unidad Académica Multidisciplinaria Mante

<sup>2</sup>Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional Campus Reynosa, Tam.

[jrhernandez@uat.edu.mx](mailto:jrhernandez@uat.edu.mx)

#### Resumen.

El estudio se realizó en las instalaciones de la Unidad Académica Multidisciplinaria Mante (UAMM) de Ciudad Mante Tamaulipas, se utilizaron cinco variedades de caña 1.- Cp 722086, 2.- atemex9640, 3.- XMex91917, 4.- InMEX9525, y 5.- SP 724928. Las cuales fueron inoculadas con la bacteria aislada a partir de rizosfera de caña de azúcar de lotes cultivados de la región del Mante Tamaulipas. La cepa BIOEXPM2-03 fue proporcionada por el CEBIOGEM-IPN, la cual fue aislada a partir de rizosfera de caña de la región del Mante Tamaulipas la cual fue caracterizada molecularmente empleando el 16S del RNAr y secuenciación, además se emplearon los genes *nifH*, los cuales están asociados a la fijación de nitrógeno. Se evaluaron parámetros fisiológicos, (clorofila y grados Brix (30, 60,90, y 120 días)) y parámetros productivos, (altura de planta, peso de biomasa y diámetro de tallo), las variedades fueron evaluadas con y sin tratamiento (bacteriano) en las plántulas. Se realizó un análisis estadístico ANOVA, mediante un diseño de bloques completamente al azar con 10 repeticiones y comparación de medias, prueba de Tukey P=0.5. Se encontró respuesta en parámetros fisiológicos y productivos mostrando estos resultados con potencial de utilizar esta bacteria como biofertilizante para el cultivo de caña.

Palabras Claves.

Rizosfera, *Bacillus safensis*, biofertilizante fisiológicos, caña

#### Summary.

The study was conducted at the premises of the Multidisciplinary Academic Unit Mante (UAMM) of Ciudad Mante Tamaulipas, five varieties of 1. Cp 722,086 cane atemex9640 2., 3. XMex91917, 4. InMEX9525 were used, and 5 .- SP 724928. which they were inoculated with bacteria isolated from rhizosphere of sugar cane grown in the region lots of Mante Tamaulipas. The BIOEXPM2-03 strain was provided by the CEBIOGEM-IPN, which was isolated from rhizosphere shank region Mante Tamaulipas which was characterized molecularly using the 16S rRNA and sequencing also the *nifH* genes were used, the which they are associated with nitrogen fixation. physiological parameters were evaluated (chlorophyll and Brix (30, 60,90, and 120 days)) and production parameters (plant height, weight of biomass and stem diameter) varieties were evaluated with and without treatment (bacterial ) in seedlings. ANOVA statistical analysis was performed using a complete block design at random with 10 repetitions and comparison of means, Tukey P = 0.5. response was found in physiological and production parameters with these results showing potential to use these bacteria as biofertilizer for sugarcane.

Keywords.

Rhizosphere, *Bacillus safensis*, physiological biofertilizer, cane

## INTRODUCCION

Los altos costos de los fertilizantes químicos nitrogenados en el cultivo de la caña de azúcar, así como la explotación irracional durante más de 80 años al cultivo ininterrumpidos de los suelos en el Sur de Tamaulipas, han provocado la pérdida de la rentabilidad del cultivo y el desánimo de los productores cañeros para continuar con esta actividad agrícola. Dentro de las estrategias que nos permitan lograr una mayor rentabilidad así como darle la sustentabilidad, se encuentra la fertilización biológica (García-Olivares *et al.*, 2012), práctica que se ha estado promoviendo como alternativas para la disminución de aplicación de fertilizantes químicos a través de la inoculación de bacterias rizosféricas promotoras de crecimiento vegetal, como una opción tangible para disminuir el efecto de la fertilización química e incrementar el rendimiento y disminuir costos en la producción del cultivo (Abbas *et al.*, 2012). La factibilidad de emplear en México microorganismos promotores de crecimiento como una opción tecnológica viable para reducir costos de producción asociados a la fertilización química manteniendo, o aun incrementando, la productividad de los cultivos ha resurgido nuevamente en virtud del interés de los agricultores para adoptar tecnologías compatibles con la conservación de los recursos naturales y la producción de alimentos libres de contaminantes (Aguado-Santacruz, G. A. *et al.*, 2012). Las bacterias fijadoras de nitrógeno fijan  $N_2$  atmosférico por una serie de mecanismos biológicos encargados de que se incorpore a la materia orgánica, lo cual genera gran interés en la agricultura moderna (Massena Reis y Dos Santos Teixeira, 2015). Las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal, que pueden mejorar el crecimiento de plantas por una amplia variedad de mecanismos (García *et al.*, 2010), como son: la solubilización de fosfato, la producción de sideróforos, fijación biológica de nitrógeno, la producción de fitohormonas, actividad antifúngica, la producción de compuestos orgánicos volátiles, la inducción de la resistencia sistémica y la interferencia de producción de toxinas patógenas, todo esto resultado de una beneficiosa relación simbiote planta-microorganismo (Ahemad y Kibret, 2014), de tal manera que las bacterias rizosféricas juegan un papel muy importante en el suelo, además son una alternativa muy propia para asociarse en cualquier cultivo, cabe destacar que existen diferentes respuestas entre cada una de ellas, de acuerdo a la asociación con el tipo de organismo, ya que existen efectos de agentes quelatantes significantes, degradantes y otras que participan en mineralizar la materia orgánica (Viteri *et al.*, 2008). Las bacterias fijadoras de nitrógenos también son conocidas como diazotróficas, están generalmente asociados con la rizósfera de muchas plantas, algunas otras establecen una asociación más específica, viviendo dentro de las raíces, hojas y otros tejidos vegetales como endófitos (Carvalho *et al.*, 2014).

## OBJETIVO

El objetivo del presente estudio es valorar el efecto productivo de la capacidad fijadora de nitrógeno atmosférico del endófito *Bacillus safensis*, aislado de suelos cultivados de canna de azúcar, sobre cinco variedades de caña de azúcar, (*Saccharum officinarum* L.) mexicanas y extranjeras, comerciales y en proceso de desarrollo bajo condiciones de invernadero, y su efecto en el desarrollo poblacional, biomasa y madurez fisiológica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

## Ubicación del área de estudio

El presente trabajo se realizó en la Unidad Académica Multidisciplinaria Mante de la Universidad Autónoma de Tamaulipas, se localiza en la Región Centro del Estado de Tamaulipas, se ubica en la Colonia Jardín sobre la calle Juárez 1201 Pte. Ciudad Mante, geográficamente se encuentra entre las coordenadas 22°44'46.09'' de latitud norte, 98°59'00.03'' de longitud oeste, a una altura de 80 msnm.

## Material biológico

Se utilizaron 100 plántulas de caña de azúcar de cinco variedades, las cuales fueron producidas en la Unidad Académica Multidisciplinaria Mante utilizando esquejes cortados aproximadamente de cinco cm, los cuales fueron plantados utilizando 5 kg de composta a base de la cachaza de caña en bolsas de plástico. Las variedades de caña empleadas en este estudio fueron: CP 72-2086, ATEMEX 96-40, XMEX 91-917, IMMEX 95-25 y SP 72-4928.

El caldo bacteriano utilizado a base de *Bacillus safensis* fue utilizando aislamientos de la Región cañera de Tamaulipas, purificados y caracterizados morfológica y molecularmente en el Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional, Campus Reynosa, Tamaulipas y reproducidos para su aplicación en el Laboratorio Microbiología de la Unidad Académica Multidisciplinaria Mante. Se utilizaron 10 plántulas de cada variedad de caña, aplicando caldo bacteriano a base de *B. safensis* a una concentración de  $1 \times 10^8$  y se dejaron 10 plántulas de cada variedades como testigos sin aplicar, estableciéndose 10 tratamientos en total.

## Inoculación de las bacterias

La inoculación se llevó a cabo 15 días posteriores a la siembra, aplicando 2 mL a cada una directo a la raíz mediante la utilización de una jeringa estéril y en horas tempranas para evitar los efectos de los rayos del sol. Posteriormente todas las plántulas fueron irrigadas para la incorporación de las rizobacterias al sistema radicular en formación.

## Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño estadístico completamente aleatorio con 10 plántulas aplicadas por cada variedad de caña donde cada una de las plántulas son las repeticiones y los tratamientos son cada una de las variedades tanto aplicadas como las no aplicadas, todas sembradas sobre el mismo sustrato que es composta a base de cachaza seca. Los tratamientos utilizados fueron: Tratamiento 1. Variedad CP 72-2086 más *B. safensis*, tratamiento 2. Variedad CP 72-2086 sin *B. safensis*, Tratamiento 3. ATEMEX 96-40 más *B. safensis*, 4. ATEMEX 96-40 sin *B. safensis* 5. Tratamiento XMEX 91-917 más *B. safensis* 6. Tratamiento XMEX 91-917 sin *B. safensis*, Tratamiento 7. IMMEX 95-25 más *B. safensis*, Tratamiento 8 IMMEX 95-25 sin *B. safensis*., Tratamiento 9. SP 72-4928 más *B. safensis*. y Tratamiento 10 SP 72-4928 sin *B. safensis*.

## Muestreo

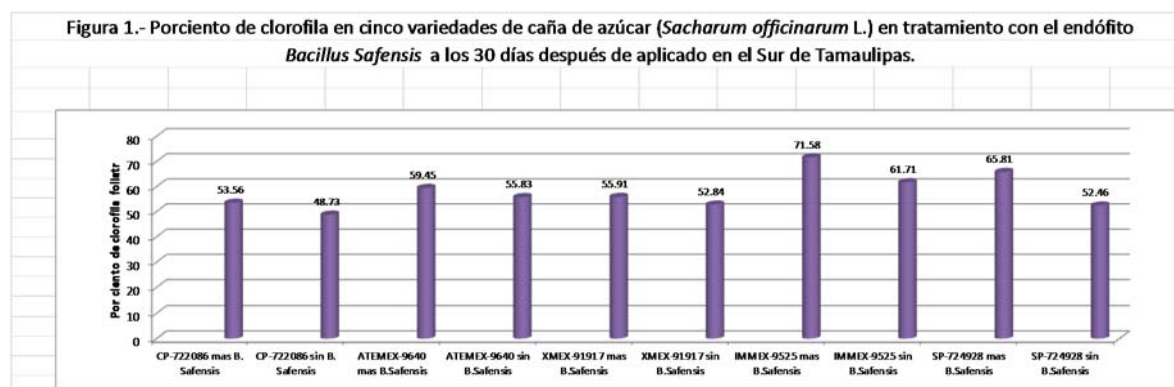
Se realizaron muestreos sistemáticos a los 30, 60, 90 y 120 días después de inoculadas las bacterias, tomando en cuenta las siguientes variables: desarrollo vegetativo, nitrógeno foliar, actividad fotosintética, altura, amacollamiento (hijuelos), grosor, biomasa y grados brix.

### Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos de cada una de las variables evaluadas para cada una de las variedades aplicadas y no aplicadas, fueron sometidos al programa SAS, haciendo análisis de Varianza y en donde hubo diferencias significativas se aplicó la comparación de medias mediante el modelo de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

De acuerdo con los resultados de la figura 1, se observan diferentes respuestas en cada una de variedades de caña de azúcar con y sin el endófito *Bacillus safensis* con relación al por ciento de clorofila durante los primeros 30 días; destacando con mejor respuesta la variedad IMMEX 95-25 y la SP 72-4928, en tanto que la variedad con menos respuesta fue la XMEX 91-917. La variedad comercial CP 72-2086 mostró diferencias intermedias con respecto al resto de las variedades, datos similares se observaron con esta última variedad al ser tratada con varias especies del Género *Bacillus* bajo condiciones de invernadero por Segura (2015) en el Sur de Tamaulipas. Estos resultados fueron corroborados por medio del ANVA, el cual mostro efectos altamente significativos para producción de clorofila, altura de plántula y diámetro de tallo Cuadro I y II.



En relación a los resultados de figura 2, se observan diferentes respuestas en cada una de variedades de caña de azúcar con y sin el endófito *Bacillus safensis* con respecto al grosor del tallo durante los primeros 60 días; destacando con mejor respuesta las variedades SP 72-4928 y CP 72-2086 en tanto que la variedad con menos respuesta fue la XMEX 91-917.

Cuadro I Análisis de varianza a los 30 DDA el endófito *Bacillus safensis* en parámetros fisiológicos y productivos de plántulas de caña de azúcar en la región de Mante Tamaulipas 2016l.

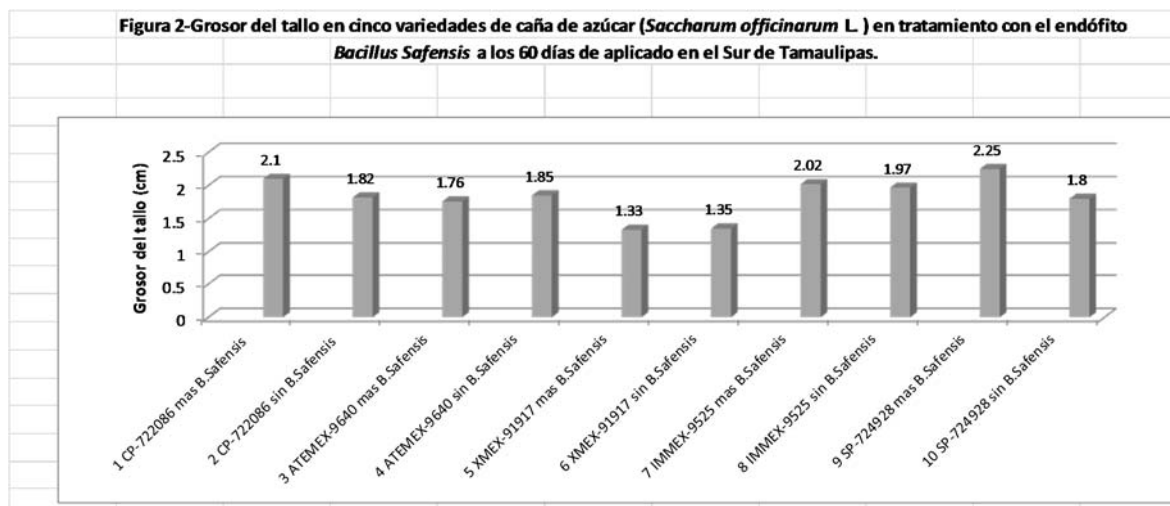
CUADRADOS MEDIOS				
FV	GL	Clorofila	Altura	Diámetro
Tratamientos	9	931.68 **	419.84**	0.879**
Repeticiones	9	318.96**	28.73**	0.077**
Error	81	185.28	1761.3	12.61
Cv		24	9	21

DDA Días Después de Aplicado

Cuadro II Análisis de varianza a los 60 DDA el endófito *Bacillus safensis* en parámetros fisiológicos y productivos de plántulas de caña de azúcar en la región de Mante Tamaulipas 2016.

DDA Días Después de Aplicado

CUADRADOS MEDIOS				
FV	GL	Clorofila	Altura	Diámetro
Tratamientos	9	480.3 **	407.7**	0.52**
Repeticiones	9	116.8**	4.69**	0.01**
Error	81	193.7	7.16	0.02
Cv		24	19	20



Cuadro 3 Comparación de medias de variedades de caña inoculadas con bacterias endófitas nativas, Mante Tamaulipas 2016.

### COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTOS	CLOROFILA		ALTURA PLANTULA		DIAMETRO TALLO	
	30 DDA	60 DDA	30 DDA	60 DDA	30 DDA	60 DDA
	T1. CP-722086 (con B.s)	53.5B	53.6C	14.0C	42.4C	.73C
T2. CP-722086 (tes. sin)	48.7B	49.7C	11.6D	44.0C	.72C	1.8B
T3.ATEMEX-9640 (con B.s)	59.4B	57.6C	6.4E	47.6C	.44D	1.76B
T4.ATEMEX-9640 (tes. sin)	55.8B	59.4C	12.4C	53.1B	.69C	1.85B
T5. XMEX-91917(con B.s)	55.9B	55.6C	12.5C	41.0C	.44D	1.33B
T6. XMEX91917(tes. sin)	52.8B	53.2C	10.2E	43.7C	.53C	1.35B
T7. IMMEX-9525(con B.s)	71.5 <sup>a</sup>	70.6 A	14.5C	47.1C	.89B	2.0A
T8. IMMEX-9525(tes. sin)	61.7B	69.1B	15.6B	51.0B	.86B	1.9A
T9. SP-724928(con B.s)	65.9B	41.9C	22.0A	61.1A	.94A	2.2A
T10.SP-724928(tes. sin)	52.4B	42.4C	19.7A	53.6B	.82B	1.8B

DDA Días Después de Aplicado

En cuanto al análisis estadístico de comparación de medias de las variedades de caña en la primer fecha, inoculadas con bacterias endófitas nativas los resultados mostraron que el mejor tratamiento para la producción de clorofila fue el tratamiento 7 perteneciente a la variedad IMMEX-9525 la cual fue inoculada con la bacteria *Bacillus safensis*, mostrando un promedio de 71.5, y siendo diferente a la misma variedad la cual no fue inoculada, los demás tratamientos de las variedades inoculadas y no inoculados mostraron que fueron iguales. Este mismo resultado se mostro en la segunda fecha donde la misma variedad fue la de más alta cantidad de clorofila. Para el parámetro altura de planta a los 30 y 60 DDA mostro que la variedad SP-724928 inoculada fue la de mayor altura, siendo diferente estadísticamente a las otras variedades. Para diámetro de tallo el tratamiento que mostro el mayor promedio a los 30 y 60 DDA fue la variedad SP-724928, de igual manera a los 60 DDA las variedades IMMEX-9525 y CP-722086 mostraron ser estadísticamente iguales a la variedad SP-724928 en diámetro de plántula.

## CONCLUSIONES

En nuestro estudio de cinco variedades de caña de azúcar inoculadas y sin inoculación los resultados mostraron que existe una marcada bioestimulación del caldo bacteriano a base del endófito *Bacillus safensis* sobre el contenido de clorofila, desarrollo vegetativo de las plántulas y grosor de tallo de caña de azúcar, además de que en nuestro trabajo las variedades mostraron variabilidad en la respuesta a la inoculación en parámetros productivos y fisiológicos. Por lo que se recomienda seguir evaluando la respuesta de bacterias endófitas nativas para evaluar su efecto en los cultivos de caña de azúcar.

## CITAS BIBLIOGRAFICAS

- Abbas, S. T., R. Nazli, B. Nawab y R. M. Tariq. 2012. Efficacy of Bio-k Fertilizer on the Growth and Sugar Content of Sugarcane Plants. *Pakistan Journal of Botany*, 44:131-134.
- Ahemad, M. y M. Kibret. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 24: 1-20.
- Aguado-Santacruz, G. A. 2012. Biofertilización de maíz: práctica redituable, factible y necesaria para la agricultura de nuestro país. *Claridades Agropecuarias* 214:42-47.
- Carvalho, T. L. G., E. Balsemão-Pires, R. M. Saraiva, P. C. G. Ferreira y A. S. Hemerly. 2014. Nitrogen signalling in plant interactions with associative and endophytic diazotrophic bacteria. *Journal of Experimental Botany*, 65: 5631–5642.
- García-Olivares J. G., V. R. Moreno-Medina, Rodríguez-Luna I. C., A. Mendoza-Herrera y Mayek-Pérez, N. 2006. Biofertilización con *azospirillum brasilense* en sorgo, en el norte de México. *Agricultura Técnica en México*, 135-141

- García, F., H. Muñoz, C. Carreño y G. Mendoza. 2010. Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. “arroz” en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria* 1:107-116.
- Massena Reis, V. y K. R. dos Santos Teixeira. 2015. Nitrogen fixing bacteria in the family Acetobacteraceae and their role in agricultura. *Journal of Basic Microbiology*, 55:931-949.
- Segura-Castillo A; J. Reyes-Hernández; García-Delgado M. A; N. P. Rodríguez-Durán y García-Olivares J. G. 2015. Actividad bioestimulante de bacterias nativas en caña de azúcar, como una alternativa de biofertilización en el Sur de Tamaulipas. *Memorias ATAM 2015*. Boca del Río Veracruz.
- Viteri, S. E., Granados, M., & González, A. R. (2008). Potencial de los caldos rizósfera y súper cuatro como biofertilizantes para la sostenibilidad del cultivo de cebolla de bulbo (*Allium cepa*). *Agronomía Colombiana*, 26(3), 517-524.