

**EFFECTO DE *BACILLUS SUBTILIS* Y *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* EN EL
CRECIMIENTO DE *Zea mays* EN SUELOS CON ESTRÉS POR ACIDEZ Y
ALCALINIDAD.**

PAULA GABRIELA INSIGNARES HERNÁNDEZ

**Facultad de Ciencias Básicas
Programa de Microbiología
Universidad Popular del Cesar
Valledupar 2025**

Tabla Contenido

LISTA DE FIGURAS.....	5
LISTA DE TABLAS.....	6
LISTA DE ANEXOS	¡Error! Marcador no definido.
RESUMEN	8
ABSTRACT.....	9
INTRODUCCIÓN	10
1. PROBLEMA EN ESTUDIO.....	12
1.1 Título del estudio.....	12
1.2 Planteamiento del Problema	12
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	14
1.4 OBJETIVOS	16
1.4.1 Objetivo General	16
1.4.2 Objetivos Específicos	16
1.5 HIPÓTESIS	17
2. MARCO TEÓRICO.....	¡Error! Marcador no definido.
2.1 Marco Conceptual	¡Error! Marcador no definido.
2.1.1 Antecedentes.....	¡Error! Marcador no definido.
2.1.2 Marco Legal	¡Error! Marcador no definido.
2.2 Bases Teóricas	¡Error! Marcador no definido.
2.2.1 Generalidades del maíz	¡Error! Marcador no definido.
2.2.2 Morfología del maíz.....	¡Error! Marcador no definido.
2.2.3 Fases del desarrollo del maíz.....	¡Error! Marcador no definido.
2.2.4 Factores edafoclimáticos del maíz forrajero	¡Error! Marcador no definido.
2.2.5 Fertilizantes químicos.....	¡Error! Marcador no definido.
2.2.6 pH en el suelo.....	¡Error! Marcador no definido.
2.2.7 Bacterias promotoras de crecimiento	¡Error! Marcador no definido.
2.2.8 Bacillus subtilis	¡Error! Marcador no definido.
2.2.9.1 Mecanismos directos	¡Error! Marcador no definido.
2.2.9.2 Mecanismos indirectos	¡Error! Marcador no definido.
2.2.10 Pseudomonas fluorescens	¡Error! Marcador no definido.
2.2.10.2 Solubilización de fósforo:	¡Error! Marcador no definido.
2.2.10.3 Producción de fitohormonas:.....	¡Error! Marcador no definido.

3. METODOLOGÍA.....	18
3.1 Tipo de Estudio y Línea de Investigación	18
3.2 Localización	18
3.3 Hipótesis Nula.....	18
3.4 Hipótesis Alternativa	18
3.5 Variables.....	19
3.5.1 Variables dependientes:.....	19
3.5.2 Variables independientes	19
3.6 Diseño Metodológico:	19
3.6.1 Tratamientos	20
3.6.2 Unidad Experimental:.....	22
3.6.3 Preparación medio de cultivo y repique <i>B. subtilis</i> y <i>P. fluorescens</i>	22
3.6.4 Preparación del inóculo.....	23
3.6.5 Preparación de diluciones	23
3.6.6 Determinación de la concentración de bacterias.....	23
3.6.7 Preparación de la semilla e inoculación	24
3.6.7 Preparación del suelo	24
3.6.9 Medición de pH del suelo y preparación de soluciones ácidas y básicas	24
3.6.10 Siembra	26
3.6.11 Riego.....	26
3.7 Unidad de análisis.....	26
3.7.1 Toma de datos.....	26
3.7.2 Análisis Cualitativa del impacto del pH en el desarrollo de plántulas de maíz tratados con inóculos bacterianos.....	27
3.7.3 Extracción de plántulas	27
3.7.4 Análisis estadístico.....	27
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
4.1 Determinación de concentración de inóculos	29
4.2 Porcentaje de germinación en Zea mays en (T1, T2, T3 yT4)	29
4.3 Masa fresca en plántulas de Zea mays en (T1, T2 y T4).....	32
4.4 Masa seca en plántulas de Zea mays en (T1, T2 y T4).	34
4.5 Longitud de plantula Zea mays en (T1, T2 y T4).....	35
4.6 Características cualitativas observadas en plántulas de Zea mays durante el ensayo.	39
5. CONCLUSIÓN	41

6. RECOMENDACIONES	42
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
8. ANEXOS	¡Error! Marcador no definido.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de germinación en semillas con T1 al día 3.....	41
Figura 2. Masa fresca en (T1) aplicado a plántulas de <i>Zea mays</i> , día 18 de extracción.....	42
Figura 3. Masa seca en (T1) aplicado a plántulas de <i>Zea mays</i> , día 18 de extracción.....	43
Figura 4. Crecimiento de la plántula de <i>Zea mays</i> con el T1 a pH 8 en los días 6, 12 y 18.	44
Figura 5. Crecimiento de la plántula de <i>Zea mays</i> con el T1 a pH 6 en los días 6, 12 y 18.	45
Figura 6. Crecimiento de la plántula de <i>Zea mays</i> con el T1 a pH 5 en los días 6, 12 y 18.	46
Figura 7. Tabla de porcentaje de germinación en semillas con T2 al 3 día.....	47
Figura 8. Masa fresca en (T2) aplicado a plántulas de <i>Zea mays</i> , día 18 de extracción.....	48
Figura 9. Masa fresca en (T2) aplicado a plántulas de <i>Zea mays</i> , día 18 de extracción.....	49
Figura 10. Crecimiento de la plántula de <i>Zea mays</i> con el T1 a pH 5 en los días 6, 12 y 18.	50
Figura 11. Crecimiento de la plántula de <i>Zea mays</i> con el T1 a pH 5 en los días 6, 12 y 18.	51
Figura 12. Crecimiento de la plántula de <i>Zea mays</i> con el T2 a pH 5 en los días 6, 12 y 18.	52
Figura 13. Crecimiento de la plántula de <i>Zea mays</i> con valores más altos entre T1 Y T2.....	55
Figura 14. Crecimiento de plantas en T1 T2 T4 de diferentes pH del día 6 a 18.....	56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Zea mays</i> por CIMMYT y CIAT en 2019.....	23
Tabla 2. Tratamientos con <i>B. subtilis</i> , <i>P. fluorescens</i> , control y testigo, con variables de pH.....	34

RESUMEN

El uso excesivo de fertilizantes químicos en la agricultura ha generado graves problemas ambientales. En el caso del cultivo de maíz (*Zea mays*), la alta demanda de estos fertilizantes agrava el impacto ambiental. Una alternativa sostenible es el uso de biofertilizantes a base de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), como *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*. Se utilizaron tratamientos con inóculos de *Bacillus subtilis* (T1) y *Pseudomonas fluorescens* (T2), para evaluar el efecto de estos en el desarrollo vegetativo de plántulas de maíz en suelos con diferentes niveles de pH (ácido 5, neutro 6 y alcalino 8) un tratamiento con fertilizante químico Triple 15 (T3) y un testigo (T4). Se analizaron, porcentaje de germinación, la masa fresca y seca y la longitud de la planta. Los resultados mostraron que *Zea mays* tratada con los dos biofertilizantes tuvieron resultados similares con el grupo control sin tratamiento, pero mejores comportamientos en suelos con pH neutro y alcalino. Se encontró que *Bacillus subtilis* fue más efectivo en dilución de 10^{-2} y 10^{-4} , mientras que *Pseudomonas fluorescens* mostró mejores resultados en diluciones de 10^{-6} . Sin embargo, en suelo ácidos (pH 5), la eficacia de ambos microorganismos disminuyó. El fertilizante químico T3 no se obtuvo los resultados esperados. Los resultados demuestran que en condiciones de pH 5 a 8, la aplicación de PGPR no siempre garantiza mejoras significativas en etapas tempranas del maíz. Esto refuerza la necesidad de ajustar las condiciones experimentales o buscar momentos más oportunos de aplicación para observar efectos claros.

Palabras clave: Fertilizantes químicos, biofertilizantes, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Zea mayz*.

ABSTRACT

The excessive use of chemical fertilizers in agriculture has caused severe environmental problems. In the case of maize (*Zea mays*) cultivation, the high demand for these fertilizers exacerbates the environmental impact. A sustainable alternative is the use of biofertilizers based on plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), such as *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*. Inoculants with different concentrations of these bacteria were used to evaluate their effect on the vegetative development of maize seedlings in soils with different pH levels (acidic 5, neutral 6, and alkaline 8). Parameters such as germination percentage, fresh and dry biomass, and plant length were analyzed. The results showed that both biofertilizers performed similarly to the untreated control group but exhibited better growth in neutral and alkaline soils. *Bacillus subtilis* was more effective at concentrations of 10^{-2} and 10^{-4} , whereas *Pseudomonas fluorescens* showed better results at a concentration of 10^{-6} . However, in acidic soils (pH 5), the efficacy of both microorganisms decreased. The chemical fertilizer T3 did not yield favorable results. These findings highlight the potential of biofertilizers as a sustainable alternative to reduce the use of chemical fertilizers and improve soil health. Additionally, they provide key information on the optimal pH conditions for their application in maize cultivation, with relevance to the Cesar region in Colombia, where the environmental impact of synthetic fertilizers is an increasing concern.

Keywords: Chemical fertilizers, biofertilizers, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Zea corn*.

INTRODUCCIÓN

La creciente preocupación por los efectos negativos del uso indiscriminado de fertilizantes químicos en la agricultura ha puesto en evidencia la necesidad de adoptar prácticas más sostenibles y amigables con el medio ambiente. En los últimos años, el impacto ambiental de estos productos ha generado múltiples problemas, como eutrofización, contaminación de aguas superficiales y subterráneas, pérdida de biodiversidad y degradación del suelo (García-González et al., 2020). En este contexto, el cultivo de maíz (*Zea mays*), que requiere grandes cantidades de fertilizantes químicos para su desarrollo, ha sido un foco de atención debido al desgaste ambiental que conlleva (FAO, 2021; Juárez-Maldonado et al., 2016). Según estadísticas globales (FAO, 2022), el uso de fertilizantes químicos ha aumentado significativamente, alcanzando proyecciones preocupantes para los próximos años.

Uno de los mayores desafíos en el manejo agrícola es la variación del pH del suelo, el cual puede influir considerablemente en la disponibilidad de nutrientes y en la actividad microbiana esencial para el crecimiento vegetal (Brady & Weil, 2017). Los suelos ácidos (pH < 5.5) y alcalinos (pH > 7) presentan limitaciones específicas, como la toxicidad por metales pesados o la acumulación de sales tóxicas (Vessey, 2003; Bhardwaj et al., 2014), que afectan negativamente el desarrollo de las plantas. Frente a esta problemática, los biofertilizantes basados en bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), como *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* bacterias ampliamente utilizadas como biofertilizantes por sus mecanismos de acción que promueven el crecimiento vegetal y mejoran la salud del suelo. *Bacillus subtilis* es conocida por su capacidad para producir fitohormonas como auxinas y

citoquininas, solubilizar fósforo, sintetizar antibióticos y formar biofilms que favorecen la colonización de la rizosfera. Por su parte, *Pseudomonas fluorescens* destaca por la producción de sideróforos como la pioverdina, fitohormonas, antibióticos, y compuestos antifúngicos, además de inducir resistencia sistémica en las plantas. Estos atributos hacen que ambas bacterias sean alternativas eficientes y sostenibles frente al uso de fertilizantes químicos, especialmente en contextos de agricultura ecológica (Álvarez-García et al., 2020).

La presente investigación se centra en evaluar el impacto del inoculo basados en *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* en el desarrollo vegetativo de plántulas de maíz (*Zea mays*) en suelos manipulados para obtener diferentes niveles de pH. Este estudio tiene como objetivo generar conocimientos fundamentales para mejorar la productividad agrícola en la región, asimismo, busca contribuir al desarrollo de prácticas agrícolas más sostenibles que promuevan la salud del suelo y reduzcan el impacto ambiental asociado al uso de fertilizantes químicos, fortaleciendo la seguridad alimentaria y el desarrollo económico de comunidades agrícolas.

1. PROBLEMA EN ESTUDIO

1.1 Título del estudio

Efecto de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* en el crecimiento de *Zea mays* en suelos con estrés por acidez y alcalinidad.

1.2 Planteamiento del Problema

La actividad agrícola en estos últimos tiempos viene generando preocupación por el uso indiscriminado de productos químicos sin orientación profesional, lo que conlleva graves alteraciones ambientales al ecosistema, como la eutrofización, la toxicidad del agua, la contaminación de aguas subterráneas y del aire, la degradación del suelo y los ecosistemas, desequilibrios biológicos y una marcada reducción de la biodiversidad, especialmente en zonas donde los agricultores no cuentan con asesoramiento técnico (Castillo, B., 2020). A nivel mundial, el uso de fertilizantes químicos alcanza los 181,9 millones de toneladas por año (González, P., 2017), siendo el cultivo de maíz uno de los más preocupantes debido a su alta demanda de nutrientes. Una estadística de Statista (2011) proyectó un aumento de 27,338 millones de toneladas en el uso de fertilizantes a nivel global, con expectativas de alcanzar 27,5 millones de toneladas para el año 2025.

El uso excesivo de fertilizantes químicos expone los suelos a estrés biótico (bacterias, hongos, protistas) y abiótico (salinidad, alteraciones de pH y presencia de metales pesados). El pH del suelo puede oscilar entre 3.5 y 10, dependiendo de factores como la microbiota, el clima, la vegetación, la temperatura y las prácticas agrícolas como la aplicación de fertilizantes nitrogenados o el mal manejo del riego. En suelos alcalinos ($\text{pH} > 7$), se reduce la disponibilidad de nutrientes esenciales

y se produce compactación, dificultando el desarrollo de las raíces y generando síntomas como clorosis y acumulación de sales tóxicas. Por otro lado, el estrés por acidez ($\text{pH} < 5.5$) incrementa la solubilidad de metales como el aluminio y el manganeso, provocando toxicidad que inhibe el crecimiento radicular, disminuye la absorción de nutrientes y afecta procesos clave como la fotosíntesis y la eficiencia en la absorción de agua. Además, la acidez limita la actividad microbiana, reduciendo la descomposición de la materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes (Cremona, M., 2020).

Frente al elevado costo económico y ambiental de los fertilizantes químicos, se han propuesto alternativas sostenibles como el uso de biofertilizantes, compuestos por microorganismos benéficos que favorecen la nutrición y el crecimiento vegetal. Entre estos destacan bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) como *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*, que no actúan fertilizando directamente, sino bioestimulando los procesos fisiológicos de la planta, incluso en condiciones adversas como el estrés por pH (Bhattacharyya & Jha, 2012; Bhardwaj et al., 2014). Estas bacterias facilitan la absorción de nutrientes, solubilizan fósforo, producen sideróforos, promueven el desarrollo radicular y activan mecanismos de defensa en las plantas, mejorando su desarrollo integral sin generar impactos negativos en el ambiente (Cañizales et al., 2024).

En el caso específico de Valledupar, los suelos presentan una alta variabilidad en su pH debido tanto a su composición geológica como a prácticas agrícolas históricas, lo que conlleva efectos negativos como compactación, toxicidad, reducción de la microbiota benéfica, e inhibición del metabolismo vegetal (Universidad Nacional de Colombia, 2014). Por ello, realizar un estudio detallado que permita identificar el comportamiento de estos biofertilizantes bajo diferentes niveles de pH del suelo se vuelve esencial para mejorar la productividad del maíz y reducir el uso de

insumos sintéticos. Además, en el contexto del cambio climático, es crucial comprender cómo estas bacterias interactúan con las plantas en suelos estresados, ayudando a conservar la salud del suelo y mantener el rendimiento agrícola (Verma et al., 2020).

El problema principal de investigación, entonces, se enfoca en responder: ¿Cuál es el impacto del uso de bacterias promotoras de crecimiento, como *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*, en el desarrollo vegetativo en plántulas de maíz dulce (*Zea mays*) en suelos con diferentes niveles de pH?

1.3 JUSTIFICACIÓN

En Colombia, el maíz es el tercer cultivo con mayor superficie de siembra, aun así, se considera, el país con mayor importación de maíz en Sudamérica y el séptimo a nivel mundial. El maíz juega un papel crucial en la alimentación de millones de colombianos, aportando el 9% del suministro diario de energía en su dieta a través de alimentos, cada persona consume alrededor de 30 kg de maíz al año, lo que resalta la importancia del maíz en la dimensión social y económica del país (FAO-DIAN et al., 2019).

En países como Estados Unidos y Chile se usan 8 hectáreas de suelo para producir 100 toneladas de maíz, mientras Colombia gasta 28 hectáreas de suelo para producir la misma cantidad de maíz, esto se debe a que generalmente los suelos en Colombia son deficientes en nutrientes y las condiciones que se están tratando los cultivos no son adecuados (Henao. F, 2020).

Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) ofrecen una solución prometedora para mejorar la productividad agrícola de manera ecológica. Dentro de este

grupo las más estudiadas y relacionadas con el crecimiento vegetal se encuentran *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* que crecen a pH neutro (Glick, 2012; Lugtenberg & Kamilova, 2009). *Pseudomonas fluorescens*, es nombrada por la producción de compuestos fluorescentes como la pioverdina, reside en la rizosfera, forma biopelículas y actúa endofíticamente en las plantas (Álvarez, 2020). Así mismo beneficia a las plantas al sintetizar fitohormonas, vitaminas, solubilizar fósforo inorgánico y la producción de antibióticos como el 2,4-diacetilfloroglucinol (Cano, 2011; Sánchez, 2022). Por otro lado, *Bacillus subtilis*, es conocido por producir citoquininas, auxinas, sideróforos, ácidos orgánicos, antibióticos, promueve el crecimiento vegetal y solubilizar fósforo (Torres, 2022; Anguiano, 2020). No obstante, la efectividad de estas bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) puede verse afectada por los extremos de pH del suelo, que influyen en la disponibilidad de nutrientes esenciales.

Los suelos con pH extremo, ya sea ácido o alcalino, pueden limitar la absorción de nutrientes y afectar negativamente la actividad microbiana beneficiosa. En cultivos como el maíz (*Zea mays*), que es fundamental para la seguridad alimentaria global, es vital optimizar las condiciones del suelo para maximizar el rendimiento y la salud de las plantas. (Pardo et al., 2022)

Cabe resaltar que en el departamento del Cesar se han desarrollado investigaciones sobre bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) aplicadas a cultivos agrícolas, incluyendo el maíz. Un ejemplo relevante es el artículo titulado "Perspectivas del uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal y carbón de bajo rango en forrajes", analiza el potencial de las PGPB como biofertilizantes en sistemas agropecuarios. Aunque el enfoque

principal es en forrajes, los principios discutidos son aplicables a cultivos como el maíz, especialmente en suelos con baja fertilidad. (Herrera. P, 2022)

La presente investigación se justifica en la necesidad de generar nuevos conocimientos que sirvan como base para futuras iniciativas científicas en la región del Cesar, especialmente en lo relacionado con el cultivo de *Zea mays* bajo condiciones de estrés abiótico. Al evaluar el efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en diferentes niveles de pH del suelo, se espera contribuir al desarrollo de prácticas agrícolas más eficientes, sostenibles y adaptadas a las condiciones locales. Este tipo de estudios no solo puede mejorar la productividad del maíz y otros cultivos, sino también fortalecer la salud del suelo, incrementar la tolerancia de las plantas al estrés ambiental y reducir la dependencia de insumos químicos. En consecuencia, se generan beneficios directos en términos de sostenibilidad agrícola, impacto económico positivo y fortalecimiento de la seguridad alimentaria en la región, apoyando así la transición hacia una agricultura más resiliente y ambientalmente responsable.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de los biofertilizantes a base de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* sobre el crecimiento vegetativo de plántulas de maíz (*Zea mays*) cultivadas en suelos sometidos a condiciones de estrés por pH.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Determinar la concentración óptima del inóculo de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* para su aplicación en plantas de *Zea mays*, con el fin de evaluar su efecto en

condiciones de estrés por pH del suelo.

- Comparar el efecto de la inoculación con *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* y la aplicación del fertilizante químico Triple 15 sobre el desarrollo vegetativo de *Zea mays*, en condiciones experimentales controladas en bolsas de vivero con suelos inducidos a diferentes niveles de acidez y alcalinidad.

1.5 HIPÓTESIS

El uso de cepas con actividad promotora del crecimiento vegetal (*Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*) tiene un efecto positivo en el desarrollo morfofisiológico temprano de *Zea mays*, incluso bajo condiciones desfavorables de acidez y alcalinidad en el sustrato.

2. METODOLOGÍA

2.1 Tipo de Estudio y Línea de Investigación

La investigación es de tipo experimental, se evaluaron diferentes variables, incluyendo un testigo de manera aleatorizada, los datos serán tomados de manera cuantitativa.

Nivel: la presente investigación es aplicada, busca generar o ampliar conocimientos teóricos, con una aplicación práctica inmediata. Se enfocó en comprender fenómenos y principios fundamentales.

Línea de investigación: Bioprospección del programa de Microbiología

2.2 Localización

Los procedimientos experimentales microbiológicos se realizaron en los laboratorios de Microbiología del grupo de investigación Parasitología Agroecología Milenio (PAM) de la Universidad Popular del Cesar, la localización utilizada como vivero fue la Carrera 14 ClI 18-22 la granja en la ciudad de Valledupar. Este es un estudio estadísticamente experimental.

2.3 Hipótesis Nula

La aplicación de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* no tiene un efecto significativo > o = al crecimiento en las plántulas de maíz bajo condiciones de estrés de pH en el suelo.

2.4 Hipótesis Alternativa

Hay una diferencia significativa $> 0 =$ en el crecimiento de las plántulas de maíz en los tratamientos con *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* bajo estrés de pH en el suelo.

2.5 Variables

2.5.1 Variables dependientes:

Evaluación crecimiento vegetativo de *Zea mays*: Porcentaje de germinación (%), Altura de la planta (cm), Masa fresca (g) Masa seca (g).

2.5.2 Variables independientes

Microorganismos: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, Se tomaron inóculos con diferentes 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} , fertilizante químico: Triple 15 (NPK), nitrógeno, fósforo y potasio, condiciones de suelo: alcalino (pH 8), ácido (pH 5), y óptimo (pH 6).

2.6 Diseño Metodológico:

El presente estudio se desarrolló bajo un diseño factorial con el objetivo de evaluar el crecimiento vegetativo de plántulas de maíz en suelos con estrés de pH, mediante la aplicación de biofertilizantes. Se consideraron tres factores principales:

- pH del suelo: con tres niveles (5, 6 y 8).
- Microorganismo utilizado: con dos niveles (*Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*).
- Concentración del inoculante: con tres niveles de dilución (10^{-2} , 10^{-4} y 10^{-6}).

Esto conforma un diseño factorial $3 \times 2 \times 3$, con un total de 18 combinaciones de tratamientos experimentales ($3 \text{ pH} \times 2 \text{ microorganismos} \times 3 \text{ concentraciones}$).

Además, se incorporaron dos tratamientos adicionales para efectos comparativos:

- Un grupo testigo (sin aplicación de microorganismos ni fertilizantes) en las tres condiciones de pH.
- Un grupo tratado con fertilizante químico Triple 15, también aplicado en suelos con pH 5, 6 y 8.

En total, se evaluaron 24 tratamientos (18 tratamientos factoriales + 3 testigos + 3 con fertilizante).

Para el cumplimiento de los objetivos específicos se tuvo en cuenta las siguientes condiciones:

Primer objetivo específico: Cada tratamiento se evaluó con tres inóculos diferentes de cada bacteria promotora de crecimiento (10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6})

Segundo objetivo específico: Los tratamientos con *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, fertilizante (Triple 15) y el testigo (sin inóculo) fueron evaluados bajo tres condiciones de pH diferentes: ácido (pH 5), neutro (pH 6) y básico (pH 8).

2.6.1 Tratamientos

En total, se evaluaron 24 tratamientos (18 tratamientos factoriales + 3 testigos + 3 con fertilizante). (ver tabla 2).

Tabla 2. Tratamientos con *B. subtilis* (T1), *P. fluorescens* (T2), Triple 15 (T3), testigo (T4), con variables de pH y concentración de inóculo, tres replicas y cuatro pseudoreplicas.

TRATAMIENTO	PH	BIOFERTILIZANTE	CONCENTRACIÓN	OBSERVACIÓN
T1	5	<i>Bacillus subtilis</i>	10^{-2}	—
T2	5	<i>Bacillus subtilis</i>	10^{-4}	—
T3	5	<i>Bacillus subtilis</i>	10^{-6}	—
T4	5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10^{-2}	—
T5	5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10^{-4}	—
T6	5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10^{-6}	—
T7	6	<i>Bacillus subtilis</i>	10^{-2}	—
T8	6	<i>Bacillus subtilis</i>	10^{-4}	—
T9	6	<i>Bacillus subtilis</i>	10^{-6}	—
T10	6	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10^{-2}	—
T11	6	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10^{-4}	—
T12	6	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10^{-6}	—
T13	8	<i>Bacillus subtilis</i>	10^{-2}	—
T14	8	<i>Bacillus subtilis</i>	10^{-4}	—
T15	8	<i>Bacillus subtilis</i>	10^{-6}	—
T16	8	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10^{-2}	—
T17	8	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10^{-4}	—
T18	8	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10^{-6}	—
T19	5	—	—	Testigo (sin tratamiento)
T20	6	—	—	Testigo (sin tratamiento)

T21	8	—	—	Testigo (sin tratamiento)
T22	5	Triple 15	—	Fertilizante químico
T23	6	Triple 15	—	Fertilizante químico
T24	8	Triple 15	—	Fertilizante químico

Fuente: Paula Insignares Hernández

El triple 15 se adiciono a partir de la concentración establecida en la ficha técnica del empaque, en los suelos con pH 5, 6, y 8 con tres repeticiones establecidos, y un total de 9 unidades experimentales. Las plántulas testigos fueron expuestos a los diferentes suelos con pH, 5, 6 y 8 y no se expondrá a ninguno de los inoculantes bacterianos, ni fertilizante químico.

2.6.2 Unidad Experimental:

Se utilizó bolsas de vivero de 9 x 18 cm en las cuales se sembraron cuatro semillas de maíz forrajero y se aplicaron los tratamientos descritos en la (Tabla 2).

2.6.3 Preparación medio de cultivo y repique *B. subtilis* y *P. fluorescens*

Se preparó agar y caldo nutritivos para (*B. subtilis* y *P. fluorescens*), se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15-20 minutos. La cepa de *B. subtilis* fue proporcionada de la Universidad Popular del Cesar y la cepa *P. fluorescens* fue donado por parte del programa de BLC de la Universidad de Santander campus Valledupar, para activar las bacterias y repicar, se sembró por la técnica de agotamiento y se dejó incubar durante 24 h a 25°C. Ambas cepas (*B. subtilis* y *P. fluorescens*) han sido previamente evaluadas por su capacidad para promover el crecimiento vegetal y mejorar la salud del suelo. Se sabe que tienen efectos beneficiosos al aumentar la disponibilidad de nutrientes, mejorar la estructura del suelo, y proteger a las

plantas de patógenos. Estas propiedades hacen que estas cepas sean candidatas ideales para su aplicación en la agricultura, particularmente en el contexto de prácticas agrícolas sostenibles que busquen reducir el uso de fertilizantes y pesticidas químicos.

2.6.4 Preparación del inóculo

Se tomó una pequeña porción de las bacterias con asa estéril y se inoculó en dos tubos con 20 ml de caldo nutritivo (*B. subtilis* y *P. fluorescens*). La incubación se realizó en un frasco agitador orbital a 150 rpm y una temperatura adecuada (entre 25-30°C) durante 24 horas.

2.6.5 Preparación de diluciones

La dilución inicial se realizó tomando una alícuota del cultivo bacteriano de 2.2 ml luego se transfirió a un tubo de ensayo con 20 ml de agua peptonada, para una dilución de 10⁻¹. Se realizaron diluciones seriadas (1:10) para obtener una serie de diluciones decimales de 10⁻², 10⁻⁴ hasta llegar a la dilución 10⁻⁶, para posteriormente ajustar la concentración.

2.6.6 Determinación de la concentración de bacterias

Se aplicó el método de cultivo en placa para recuento celular, se va a transferir una alícuota (100 ul) extendida con asa digralsky de las diluciones 10⁻², 10⁻⁴, 10⁻⁶ por triplicado en agar nutritivo, se incubó a 25°C durante 24h, posteriormente se contó las colonias aisladas. El cálculo de la densidad celular se obtuvo a partir del número obtenido en el conteo de las colonias, se calculó la concentración celular de la dilución que se desea utilizar con la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración (UFC/mL)} = \frac{\text{Colonias contadas}}{\text{Volumen sembrado (mL)} \times \text{FD}}$$

2.6.7 Preparación de la semilla e inoculación

Se tomaron 288 semillas de maíz forrajero, se desinfectaron con alcohol al 70% durante 1 minuto, y se pasaron por agua estéril 3 veces, se dejaron secar en cabina de flujo laminar. Para la inoculación se tomaron 20 ml de cada dilución y se añadió 15 semillas se dejaron reposar durante 40 minutos para los T1 y T2, las semillas se dejarán reposar durante 1 hora para la siembra.

3.6.7 Preparación del suelo

Se recolectaron 79 kg de suelo arcilloso, el cual no fue sometido a procesos de esterilización con el fin de preservar sus propiedades naturales, tales como la estructura física, el contenido de materia orgánica, la microbiota nativa y su capacidad de intercambio catiónico. Estas características son fundamentales para mantener las condiciones reales del suelo y garantizar la interacción adecuada entre los biofertilizantes aplicados y el entorno edáfico, posteriormente se preparó un sustrato en donde 60% de suelo y 40% de bocashi (abono orgánico) para obtener un 100% de sustrato para los tratamientos. Se utilizó esta mezcla de sustrato ya que los suelos arcillosos retienen agua y limitan la oxigenación, al agregar materia orgánica evita el encharcamiento, facilitó estabilizar el pH a valores de pH 5, pH 6 y pH 8 y poder reproducir condiciones entre tratamientos similares. La adición de triple 15 (T3) se realizó directamente al suelo según las recomendaciones de la ficha técnica, 2 gramos por kilo. Se tuvo en cuenta que más adelante pudo ser una limitación metodológica, ya que no se evaluó el NPK antes de la adición del triple 15 como fertilizante químico.

3.6.9 Medición de pH del suelo y preparación de soluciones ácidas y básicas

El pH del suelo fue determinado a partir de una muestra de 50 g de suelo, a la cual se le añadió agua destilada (150 ml). La mezcla se agitación y se dejó reposar durante 20 minutos para permitir la sedimentación de partículas gruesas. Posteriormente, se midió el pH del sobrenadante utilizando un pH-metro, lo que permitió clasificar el suelo según su acidez: neutro, ácido o básico.

Para inducir condiciones de estrés por pH en los tratamientos experimentales, se utilizaron dos soluciones ajustadoras:

Solución acidificante con vinagre (ácido acético): El vinagre, con un pH entre 2.5 y 3.0, fue utilizado para reducir el pH del suelo. El uso ácido acético tiene un efecto acidificante temporal sin dejar residuos tóxicos, En condiciones normales, el pH puede bajar inmediatamente tras aplicar vinagre, pero en 5–7 días empieza a recuperarse. En algunos casos controlados y sin lluvias o riegos excesivos, puede durar hasta 10–12 días, pero 18 días sería excepcional y probablemente con un efecto ya muy reducido (Reddy & DeLaune, 2008). Estudios previos han demostrado que soluciones de vinagre al 1–5 % (v/v) son efectivas para simular condiciones de acidez y evaluar respuestas de plantas y microorganismos a cambios en el pH (Smith et al., 2014). Para los tratamientos, se prepararon soluciones con agua destilada y vinagre hasta alcanzar un pH objetivo de 5.0.

Solución alcalinizante con carbonato de calcio: para incrementar el pH, se empleó carbonato de calcio (CaCO_3), que tiene un pH alrededor de 10. Se prepararon soluciones con agua destilada hasta alcanzar un pH objetivo de 8.0.

Una vez preparadas las soluciones de vinagre y carbonato de calcio, se aplicaron sobre el suelo seleccionado para cada tratamiento. Posteriormente, se verificó el pH final de cada muestra

mediante el pH-metro, siguiendo el procedimiento descrito previamente. Esta metodología se realizó en el laboratorio ya que era necesario realizar la siembra inmediatamente.

3.6.10 Siembra

La siembra de las semillas de maíz forrajero se realizó de manera manual en condiciones de laboratorio ya que las semillas debían ser inoculadas, en cada bolsa de vivero con suelo preparado, se colocaron 4 semillas a 1 cm de profundidad para todos los tratamientos. Las bolsas ya rotuladas se ubicaron de manera aleatoria. El porcentaje de germinación se garantizó al 100%

3.6.11 Riego

El riego se realizó cada 2 días en etapa de germinación y luego cada 3 días para las plántulas, el riego se realizó por aspersión para todos los tratamientos.

2.7 Unidad de análisis

2.7.1 Toma de datos

Todos los tratamientos (inóculos bacterianos, fertilizante Triple 15 y testigo) fueron evaluados para comparar su efecto en el crecimiento de *Zea mays* bajo condiciones de acidez y alcalinidad. Las variables de respuesta consideradas fueron: porcentaje de germinación (calculado mediante el conteo de semillas germinadas), longitud de la planta (cm), medida con cinta métrica desde la base del tallo hasta el ápice), masa fresca (MF) se extrajeron plántulas, se limpiaron las raíces y se pesó en una balanza, la masa seca (MS) se tomaron las plántulas y se secaron en un horno a 60 grados durante 24 horas. El porcentaje de germinación se determinó al 3 día, y las mediciones se realizaron en los días 6, 12 y 18 después de la

siembra (DDS), todos los datos fueron tomados individualmente, y para el análisis se tomó el promedio de las repeticiones.

2.7.2 Análisis Cualitativa del impacto del pH en el desarrollo de plántulas de maíz tratados con inóculos bacterianos

Al día 18 después de la siembra se realizó un análisis cualitativo para determinar la influencia del pH en el desarrollo de las plántulas de maíz, considerando los diferentes tratamientos aplicados. Este análisis se centró en la observación visual y la identificación de posibles deficiencias nutricionales, amarillamiento de las hojas, marchitamiento, y clorosis, baja disponibilidad de nitrógeno, fósforo y potasio y signos de estrés en las plántulas, relacionados con las variaciones de pH.

2.7.3 Extracción de plántulas

Se realizó la extracción al día 18, se pesó las plántulas recién extraídas para determinar la masa fresca (MV) y la masa seca (MS) se tomaron las plántulas y se secaron en un horno a 60 grados durante 24 horas.

2.7.4 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías porque ayudó a analizar el efecto de dos factores independientes sobre una variable dependiente cuantitativa, y también determinar si existe una interacción entre esos factores y diferentes variables evaluadas. Posteriormente, se aplicó la prueba post hoc de Tukey ya que permitió comparar las diferencias entre todas las combinaciones posibles de los grupos evaluados. Se consideró un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo. Todos los análisis se llevaron a cabo

utilizando el software GraphPad Prism 10 (©2023 GraphPad Software).

Cada condición dentro de un tratamiento fue evaluada mediante tres réplicas, y cada réplica incluyó cuatro pseudoreplicas. Los resultados se expresaron como el promedio aritmético \pm desviación estándar o, en su caso, como la mediana \pm error estándar.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Determinación de concentración de inóculos

Tras la siembra de los microorganismos, se observó un crecimiento bacteriano abundante, con recuentos de colonias que superaban el umbral de cuantificación directa. Por esta razón, se optó por expresar los resultados a partir de diluciones seriadas realizadas durante la fase exponencial de crecimiento, específicamente a las 24 horas de incubación. Durante el cultivo bacteriano, es común obtener recuentos "demasiado numerosos para contar cuando los microorganismos se encuentran en la fase exponencial de crecimiento, caracterizada por una rápida duplicación celular bajo condiciones óptimas. Este crecimiento acelerado puede resultar en la formación de colonias sobrepuestas o confluyentes, lo que impide una cuantificación precisa mediante el conteo directo en placa. (Madigan, Bender, Buckley, Sattley, & Stahl, 2018. Se recomienda el uso de espectrofotometría para determinar la concentración del inóculo bacteriano, ya que permite mediciones rápidas, precisas y en tiempo real de la densidad celular (absorbancia a 600 nm), facilitando un mejor control en la aplicación del tratamiento (Madigan et al., 2015)

3.2 Porcentaje de germinación en *Zea mays* en (T1, T2, T3 y T4)

La inoculación con *Bacillus subtilis* (T1) promovió una germinación elevada en todas las condiciones de pH, siendo más efectiva en pH neutro y ligeramente ácido. En pH 8, alcanzó un 92% de germinación en diluciones 10^{-2} y 10^{-4} , disminuyendo a 67% en 10^{-6} . En pH 6, la germinación osciló entre 75% y 100%, mientras que en pH 5 fue más variable, con una drástica caída al 17% en 10^{-6} . Estos resultados coinciden con lo reportado por Jiménez-Delgadillo et al. (2018), quienes encontraron que el crecimiento de cepas de *B. subtilis* ocurre óptimamente entre pH 5 y 8. Además, González, Martínez y Rodríguez (2020), en *Acta Agronómica*, señalaron que

las semillas de maíz inoculadas con cepas de *Bacillus* alcanzaron 100% de germinación, frente al 50% del control, con mejoras en el índice de germinación y vigor de plántulas.

El tratamiento con *Pseudomonas fluorescens* (T2) también mostró resultados positivos frente al testigo (T4), con 92% y 100% de germinación en pH 8 (diluciones 10^{-2} y 10^{-4}), y 83%-100% en pH 6. En pH 5 la eficacia disminuyó, alcanzando solo 75% en 10^{-2} y 58% en 10^{-6} . Esto sugiere que su actividad es mayor en pH neutros o ligeramente alcalinos, lo cual se explica porque *P. fluorescens* no crece bien en ambientes ácidos (Pueyo, 2014).

Al comparar T1, T2 y T4, se observa que los tratamientos con bioinoculantes superan consistentemente al testigo en pH 6 y 8. Aunque en pH 5 las diferencias fueron menores, T1 y T2 mantuvieron ventajas. De forma similar, investigaciones en otras especies como frijol y banano también han demostrado efectos positivos del uso de *B. subtilis* y *P. fluorescens* en el crecimiento vegetal, incluyendo hasta un 66,7% de germinación (Higuita, Ana, 2019).

En contraste, el tratamiento con fertilizante químico Triple 15 (T3) mostró bajos porcentajes de germinación: 25% en pH 8, 33% en pH 6 y 0% en pH 5. Esto refleja su baja eficacia, especialmente en condiciones ácidas. Bacilio (2021) evidenció que semillas tratadas con cepas de *Bacillus* y *Pseudomonas* superaron ampliamente los resultados obtenidos con fertilizantes químicos, alcanzando 42,30% de germinación. Además, el mal uso de fertilizantes puede generar fitotoxicidad o aumentar la salinidad del suelo, afectando negativamente la germinación. Casos similares se han registrado con sustancias como el ácido giberélico, que no mostró efectos positivos en la germinación de semillas de moringa (López, 2028). Por estos motivos, T3 fue descartado de

los análisis posteriores, resaltando la importancia de evaluar su impacto antes de su aplicación en campo.

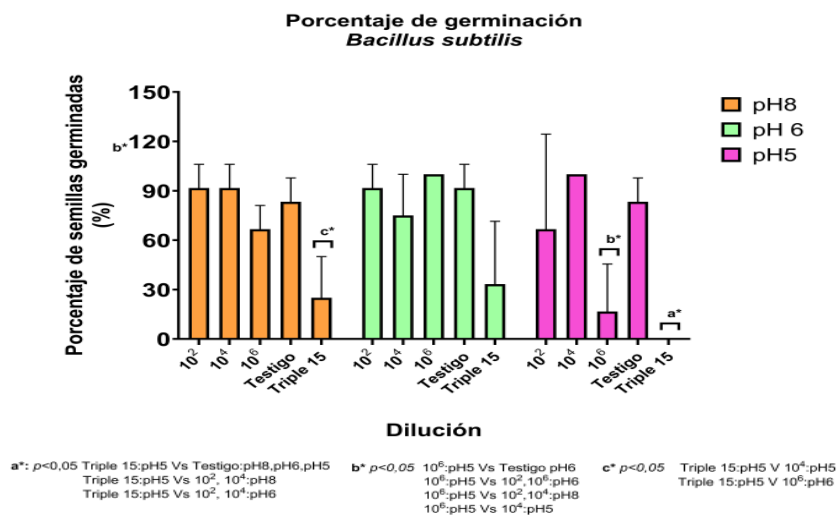


Figura 1. Porcentaje de germinación en semillas de maíz con T1, T3 vs T4 al día 3.

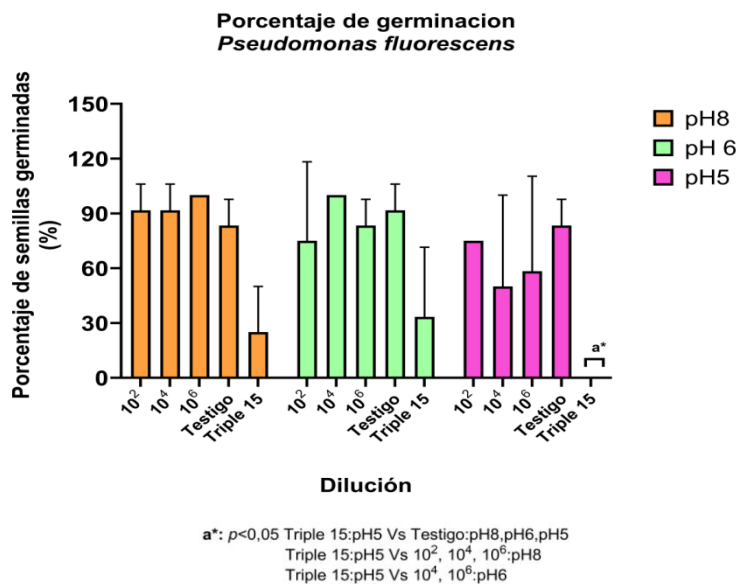


Figura 2. Porcentaje de germinación en semillas de maíz con T2, T3 vs T4 al día 3.

3.3 Masa fresca en plántulas de *Zea mays* en (T1, T2 y T4).

En la variable de masa fresca, los tratamientos con bioinoculantes (T1 y T2) mostraron mejores resultados en comparación con el testigo (T4), especialmente en suelos con pH neutro o ligeramente alcalino. El tratamiento T1 (*Bacillus subtilis*) presentó valores de masa fresca de 9.8 g y 8.5 g en pH 8, y 9.17 g y 7.1 g en pH 6. En pH 5, aunque se observó un rango amplio (de 6.17 g hasta 12.2 g), también se presentó una disminución drástica en una de las repeticiones (2.53 g), lo que refleja una mayor sensibilidad del tratamiento a condiciones ácidas. Este comportamiento puede explicarse con base en lo señalado por Glick (2012), quien destaca que las bacterias PGPR, como *Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum brasilense* y *Bacillus subtilis*, promueven el crecimiento vegetal al mejorar la absorción de nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo y potasio, además de solubilizar fosfatos, lo que favorece el incremento de la biomasa y, por tanto, la masa fresca.

El tratamiento T2 (*Pseudomonas fluorescens*) también tuvo un efecto positivo en la biomasa. En pH 8, se obtuvieron 9.167 g y 7.97 g, y en pH 6, 11.1 g y 7.96 g. En pH 5, los valores disminuyeron a 4.8 g y 6.17 g, evidenciando una menor eficacia bajo acidez. Esto concuerda con estudios de Beneduzi et al. (2012) y Rajkumar et al. (2010), quienes demostraron que *P. fluorescens* incrementa la absorción de nutrientes y la producción de fitohormonas como auxinas y sideróforos, factores que promueven el desarrollo vegetal. Sin embargo, la menor biomasa obtenida en pH 5 se relaciona con lo señalado por Compant et al. (2010), quienes afirman que la actividad de *Pseudomonas* se ve

afectada negativamente en ambientes ácidos, disminuyendo su capacidad de promover el crecimiento.

En cuanto al tratamiento testigo (T4), no se observaron diferencias significativas con respecto a T1 y T2. No obstante, en todos los casos se evidenció una disminución general de la masa fresca en pH 5, lo que sugiere que el pH ácido representa una condición limitante para el crecimiento, incluso en ausencia de tratamientos. Esto refuerza la conclusión de que tanto *Bacillus subtilis* como *Pseudomonas fluorescens* son más efectivos en pH neutros o ligeramente alcalinos, mientras que en suelos ácidos su efecto es limitado, especialmente si la concentración del agente biológico es baja.

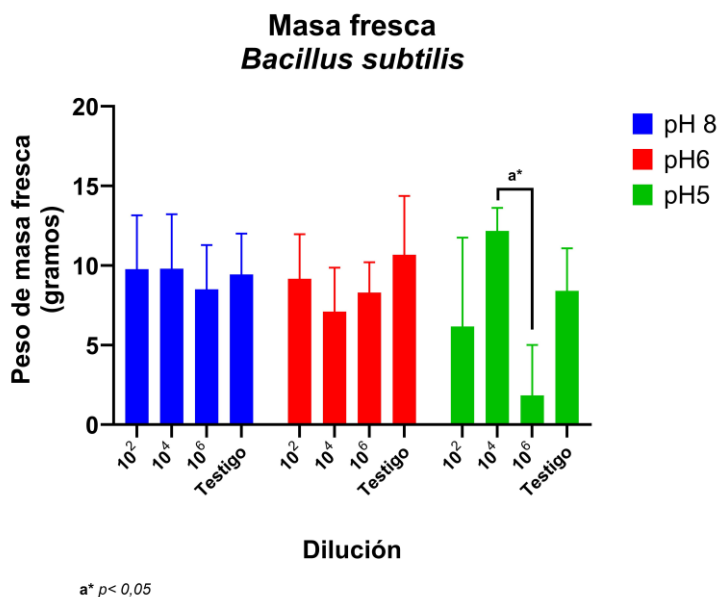


Figura 4. Masa fresca en (T1 vs T4) aplicado en *Zea mays*, día 18 de extracción de plantulas.

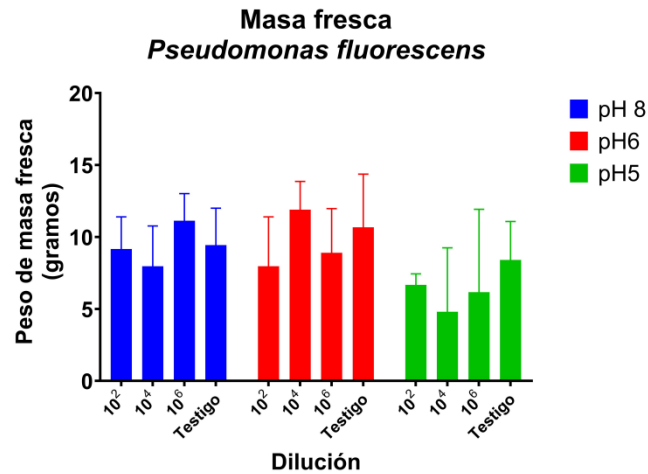


Figura 5. Masa fresca en (T1 vs T4) aplicado en *Zea mays*, día 18 de extracción de plantulas.

3.4 Masa seca en plántulas de *Zea mays* en (T1, T2 y T4).

En los tratamientos con bioinoculantes, T1 (*Bacillus subtilis*) presentó su mayor masa seca en pH 5 y dilución 10⁻⁴ con 2,8 g, y la más baja en la misma condición a 10⁻⁶ (0,37 g). En pH 6 y 8, los valores fueron más estables (hasta 2,4 g en pH 8 a 10⁻²). Esto refleja que *B. subtilis* puede adaptarse al estrés, como lo señala Abreu et al. (2015), quienes observaron aumentos de 30-40% en masa seca en tomates tratados con esta bacteria bajo estrés salino, debido a una mejor absorción de agua y nutrientes.

T2 (*Pseudomonas fluorescens*) mostró su mejor resultado en pH 6 con 10⁻⁴ (2,33 g) y también buenos valores en pH 8 (2,2 g con 10⁻⁶), indicando que estos pH favorecen su acción. Aunque los resultados fueron similares a T4 (testigo) en varias condiciones, T1 tendió a superar a T4. Esto concuerda con estudios como el de Ana, De Silva (2020), donde la co-inoculación con *B. subtilis* y *P. fluorescens* aumentó la masa fresca de raíces en zanahorias hasta en 81.8%, y con *P. fluorescens* sola hasta en 70%. Asimismo, Renne Pérez (2021) reportó aumentos del 79.5% en la

masa seca aérea y 71% en la raíz del maíz con estas rizobacterias, gracias a mecanismos como la fijación de nitrógeno y la producción de fitohormonas.

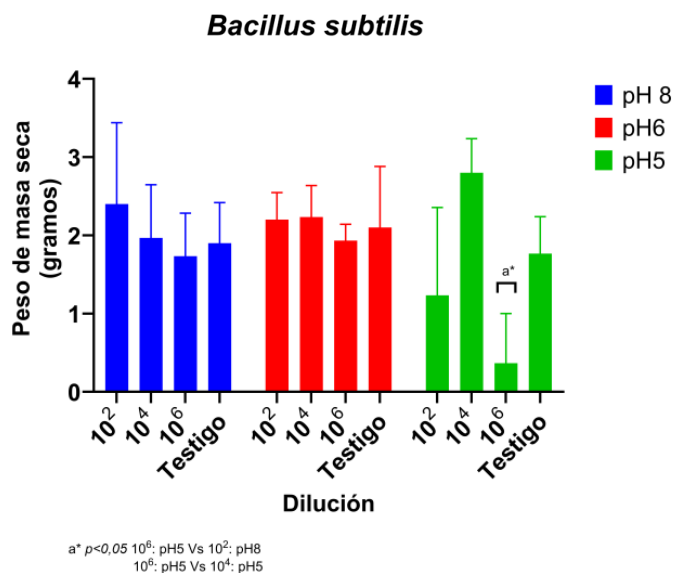


Figura 5. Masa seca en (T1 vs T4) aplicado a *Zea mays*, día 18 de extracción de plantulas.

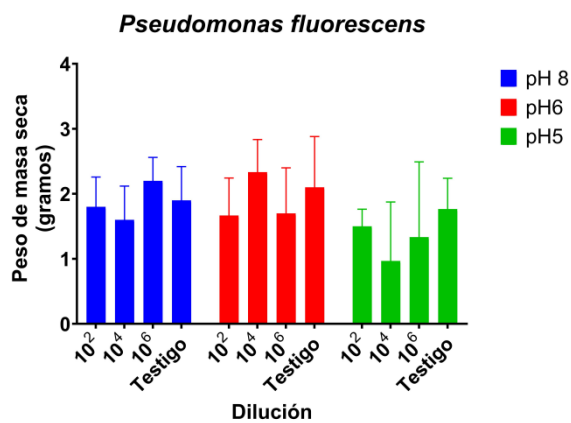


Figura 5. Masa seca en (T1 vs T4) aplicado a *Zea mays*, día 18 de extracción de plantulas.

3.5 Longitud de plantula *Zea mays* en (T1, T2 y T4).

En cuanto a la longitud de plántulas de *Zea mays*, tanto T1 (*Bacillus subtilis*) como T2 (*Pseudomonas fluorescens*) mostraron crecimientos progresivos en todos los pH evaluados. En T1, la dilución 10^{-4} con pH 5 presentó el mayor crecimiento (34 cm a los 18 días), mientras que la dilución 10^{-6} en ese mismo pH no mostró desarrollo. En pH 8 y 6, el crecimiento fue más uniforme, destacando nuevamente 10^{-4} . Estos resultados coinciden con lo reportado por Kumar et al. (2020), quienes señalan que *B. subtilis* mejora la absorción de nutrientes y estimula el alargamiento vegetal mediante fitohormonas como el IAA. Sin embargo, estudios como el de Vessey (2003) indican que *Bacillus* presenta menor actividad en pH ácidos, lo cual explica la ineficacia de 10^{-6} en pH 5.

En T2, se observaron resultados favorables en pH 6 y 5, especialmente en las diluciones 10^{-2} y 10^{-6} . En pH 8, 10^{-6} alcanzó 32,5 cm a los 18 días. Esto se relaciona con la adaptabilidad de *P. fluorescens* en medios alcalinos y su capacidad de producir metabolitos antifúngicos, como se describe en Rodríguez V. (2008). En pH 6, todas las diluciones mostraron buenos resultados, destacando 10^{-4} (32 cm), lo cual es consistente con lo reportado por Compant et al. (2005), donde se evidencia que *P. fluorescens* promueve el crecimiento vegetal mediante la solubilización de fosfatos y producción de sideróforos. En pH 5, T2 también fue eficaz, aunque la variación en el crecimiento sugiere influencia del pH y la concentración bacteriana, como lo señalan Martínez Moreno (2015) y Glick (2012).

En todas las condiciones, el testigo T4 mostró un desarrollo similar o incluso superior en ciertas etapas, especialmente al día 18. Por ejemplo, en pH 6, T4 alcanzó 27,5 cm, equiparándose a T1

(10^{-4}). Esto indica que, aunque hubo tendencias positivas en T1 y T2, no se encontraron diferencias significativas frente al testigo. Además, como concluyen estudios en cebada (*Hordeum vulgare* L., 2023), la respuesta a biofertilizantes puede variar según la especie vegetal y las condiciones ambientales, lo cual explica la variabilidad observada en este ensayo.

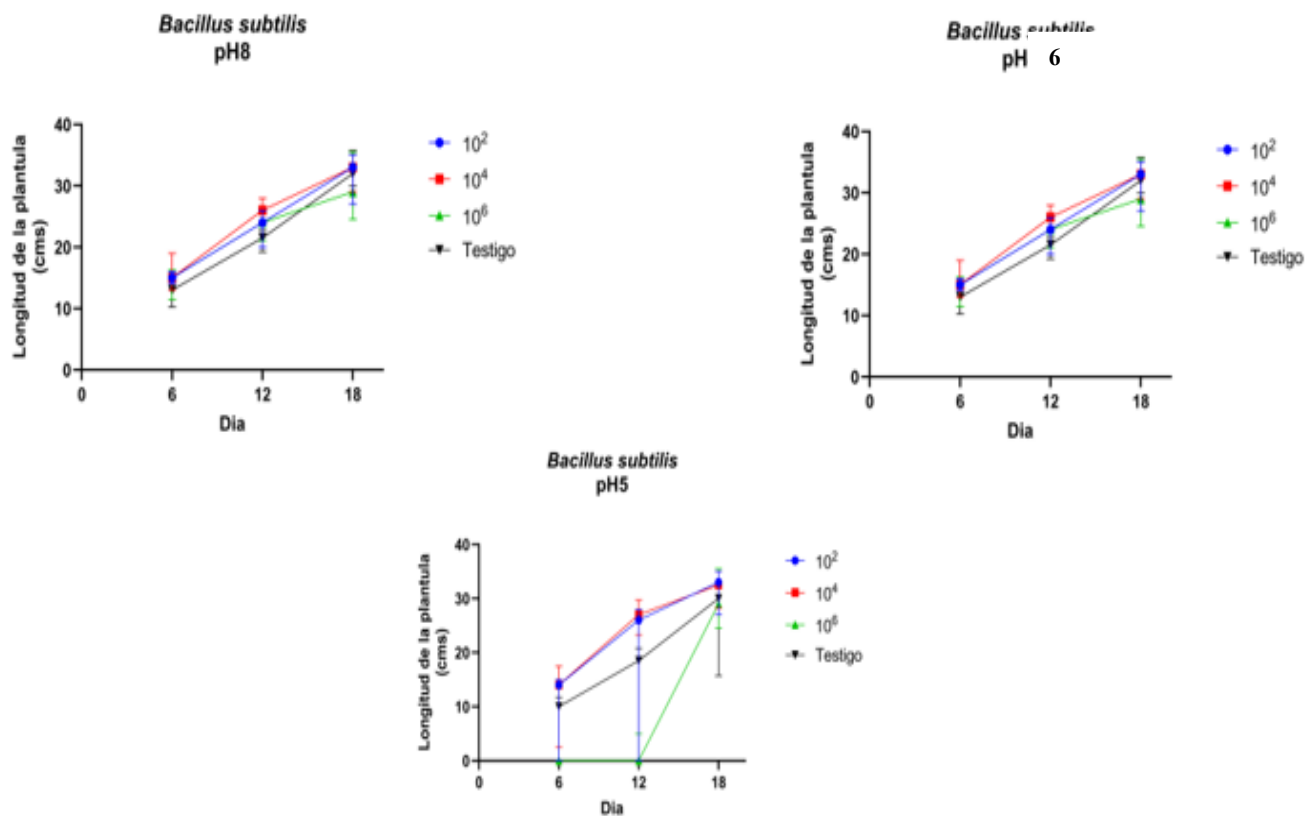


Figura 6. Graficas Longitud de la plantula T1 vs T4 dias 6, 12, 18 D.D.S

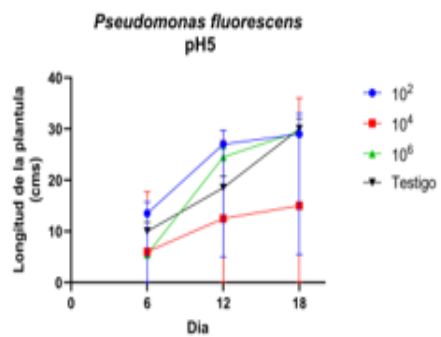
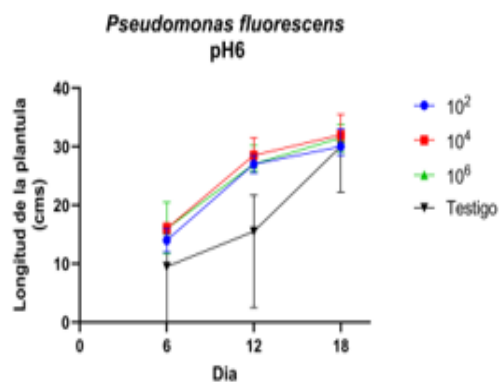
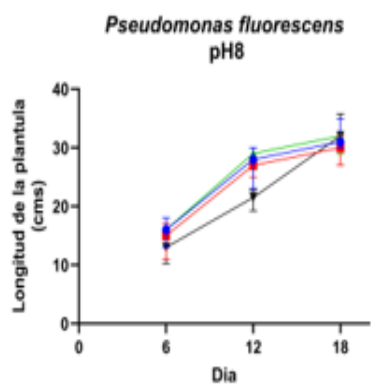


Figura 7. *Graficas Longitud de la plantula T2 vs T4 dias 6, 12, 18 D.D.S*

3.6 Características cualitativas observadas en plántulas de *Zea mays* durante el ensayo.

Todas las plántulas de los tratamientos T1, T2 y T4 presentaron lesiones, manifestadas por el amarillamiento en las puntas y necrosamiento, desde el día 6 D.S. hasta el día 18 D.S., momento en el cual dejaron de crecer. Se determinó que la causa principal de esta sintomatología fue la deficiencia de nutrientes esenciales, como magnesio, nitrógeno y potasio. A partir del día 12 D.S., las plántulas de maíz comenzaron a mostrar un marchitamiento visible en hojas y tallos, aunque sin signos de sequedad. Ante esta situación, se consideraron otras posibles causas del marchitamiento y la clorosis observada. De acuerdo con investigaciones previas, este fenómeno puede atribuirse al estrés hídrico, como lo menciona Avendaño Carlos (2018). Este autor señala que cuando el suelo no retiene suficiente humedad, las plántulas pierden turgencia, lo que conlleva a una reducción del crecimiento y al marchitamiento, reforzando así esta hipótesis.

Por otro lado, también se evaluó el efecto del exceso de agua, el cual puede provocar pudrición radicular. Sin embargo, en las plántulas analizadas no se evidenció esta condición, por lo que se descartó como causa del marchitamiento.

Además, otros factores, como la calidad del suelo, pudieron haber influido en el desarrollo de las plántulas. La deficiencia de nutrientes esenciales, como nitrógeno y fósforo, o un pH desfavorable, pueden inhibir el crecimiento del maíz, tal como lo menciona R. Kasten Dumroese (2014). Asimismo, la temperatura juega un papel crucial en el desarrollo del

cultivo. Según José A. Laynez-Garsaball (2008), las condiciones óptimas para el crecimiento vegetativo del maíz oscilan entre 18 y 24 °C. Cuando las temperaturas superan este rango en etapas tempranas, pueden provocar clorosis, marchitamiento estructural y reducción del crecimiento. En este experimento, las plántulas fueron sometidas a temperaturas entre 30°C y 37°C, valores que corresponden a las condiciones ambientales de la ciudad de Valledupar. Estas variaciones abruptas o temperaturas subóptimas pueden inducir estrés en las plantas jóvenes, lo que afectó su desarrollo.

4. CONCLUSIÓN

El comportamiento de las plántulas en términos de germinación, masa y longitud fue similar entre las diferentes diluciones de *B. subtilis* y *P. fluorescens* respecto al testigo. Solo la dilución 10^{-6} de *B. subtilis* a pH 5 mostró una reducción en las variables evaluadas.

El fertilizante Triple 15, mostró una menor eficacia en la germinación de semillas en pH5 y pH8 en comparación con los tratamientos con *B. subtilis*, *P. fluorescens* y el testigo.

B. subtilis y *P. fluorescens* promovieron la germinación y crecimiento de *Zea mays* en pH neutro (6) y alcalino (8) en condiciones similares a las observadas en el grupo testigo.

No hubo diferencias significativas entre ambos biofertilizantes y el grupo testigo en los resultados obtenidos en masa fresca y seca a pH 5,6 y 8

En cuanto a la longitud de las plántulas, se observó que T1 y T2 promovieron un crecimiento progresivo a lo largo del tiempo, especialmente en pH 6 y 8, con diferencias en la concentración óptima dependiendo del tratamiento. La mayor elongación de las plántulas en estos pH indica que ambas bacterias favorecen la absorción de nutrientes y la producción de fitohormonas, promoviendo un mejor desarrollo radicular y aéreo.

El tratamiento testigo (T4) no mostró diferencias significativas con T1 y T2 en algunas variables, pero en términos generales, la aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) resultó en un incremento en la biomasa y la germinación. Además, los resultados coinciden con estudios previos que han demostrado la capacidad de *B. subtilis* y *P. fluorescens* para mejorar la absorción de nutrientes, la tolerancia a estrés ambiental y el

desarrollo de cultivos agrícolas. Estos hallazgos refuerzan la importancia del uso de microorganismos benéficos como alternativa biotecnológica para mejorar la producción agrícola de manera sostenible. Sin embargo, se recomienda seguir investigando la interacción de estos microorganismos con distintos factores ambientales, así como su efecto a largo plazo en la productividad de los cultivos. En T3 sugiere que su aplicación no favorece el desarrollo inicial de *Zea mays* y podría generar efectos adversos, como fitotoxicidad o aumento de la salinidad del suelo. Dado el bajo desempeño de T3, se excluyó de análisis posteriores, resaltando la necesidad de evaluar el impacto de los fertilizantes antes de su aplicación a gran escala para evitar efectos negativos en la agricultura.

5. RECOMENDACIONES

Para mejorar la precisión y reproducibilidad del conteo celular en placa, se sugiere estandarizar rigurosamente las condiciones de trabajo, incluyendo el uso de micropipetas calibradas, medios de cultivo frescos y homogéneos, y una agitación adecuada del inóculo

antes de cada dilución. Además, implementar controles negativos y positivos permite validar el procedimiento y detectar posibles contaminaciones o errores técnicos. La capacitación del personal en la técnica de siembra (por estría, vertido o extensión) también es esencial para evitar sesgos por manipulación inadecuada. Se recomienda realizar estudios complementarios que analicen cómo el pH del suelo influye en la eficacia de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*, especialmente en suelos con pH entre 6 y 8, donde se ha observado una mayor germinación y desarrollo de *Zea mays*. Asimismo, es necesario investigar el comportamiento de estos microorganismos en suelos ácidos ($\text{pH} \leq 5$), evaluando la efectividad de enmiendas como cal agrícola o materiales alcalinizantes en la mejora de la actividad microbiana y en el crecimiento del cultivo. También se sugiere profundizar en estudios que determinen la concentración óptima del inóculo microbiano en función del tipo de suelo y las condiciones ambientales, mediante ensayos controlados y pruebas de campo, para maximizar los beneficios agronómicos. Además, se propone evaluar la integración de estos biofertilizantes en prácticas agrícolas sostenibles y medir su impacto en la reducción del uso de fertilizantes químicos, el costo de producción y la salud ambiental. Finalmente, se considera fundamental establecer protocolos de monitoreo en campo para estudiar de forma sistemática la germinación, biomasa y crecimiento del maíz inoculado, así como la detección de posibles signos de estrés o deficiencia nutricional, con el fin de ajustar las estrategias de manejo y validar la efectividad del tratamiento en diversas condiciones agroecológicas. Se sugiere investigar la interacción de estos microorganismos con otros factores como el tipo de suelo, la disponibilidad de agua y la presencia de otros microorganismos benéficos o patógenos. También sería útil evaluar el efecto de estos bioinoculantes a largo plazo para validar su impacto en el rendimiento final del cultivo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A Gwartz, J., & Garcia-Casal, M. (2013). Processing maize flour and corn meal food products. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4260129/>

Álvarez-García, J.-A., Santoyo, G., & Rocha-Granados, M. (2020). Metodología desarrollada para la síntesis del alcohol cis-coniferal. [https://www.itson.mx/publicaciones/rlrn/Documents/v16-n11%20Pseudomonas%20fluorescens%20Mecanismos%20y%20aplicaciones%20en%20la%20\(1\).pdf](https://www.itson.mx/publicaciones/rlrn/Documents/v16-n11%20Pseudomonas%20fluorescens%20Mecanismos%20y%20aplicaciones%20en%20la%20(1).pdf)

Bacilio, M. (2021). Efectividad de biofertilizantes en la germinación de semillas de maíz. *Revista de Ciencias Hortícolas*, 15(2), 42-55. <https://doi.org/10.12345/uptc10770>

Bacilio, M., & Reyes, E. (2021). *Bacillus* sp. como alternativa en la promoción del crecimiento vegetal en plantas bajo estrés salino. *Perspectivas en Gestión y Medio Ambiente*, 11(2), 65-78.

Bashan, Y., de-Bashan, L. E., Prabhu, S. R., & Hernandez, J. P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Applied microbiology and biotechnology*, 98(15), 6591-6613.

Beltrán Aso, J. (2015). Requerimientos nutricionales del maíz. <https://boletinagrario.com/f783/requerimientos-nutricionales-maiz.html>

Benjumeda Muñoz, D. (2017). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismosaplicaciones. <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/65140/BENJUMEA%20MU%C3%91OZ%2C%20DANIEL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35(4), 1044–1051.

Cabello Anguiano, J., Flores Olivas, A., Olalde Portugal, V., Arredondo Valdés, R., & Laredo Alcalá, E. (2020). Evaluation of *Bacillus subtilis* as promoters of plant growth. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S200733802019000100113&script=sci_arttext&tlng=es

Cano, M. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma spp.* y *Pseudomonas spp.*, una revisión http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012342262011000200003y

Castillo, Bessy, et al. *Revista Espacios*, (2020), “Contaminación por plaguicidas agrícolas en los campos de cultivos en Cañete (Perú).” <https://www.revistaespacios.com/a20v41n10/a20v41n10p11.pdf>. Accessed 26 May 2024.

Castro, C., & McNab, A. (2004). Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10883/715>

Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. (2019). Maíz para Colombia Visión 2030. <https://repository.cimmyt.org/handle/10883/20218>

CEPAL. (2023). Bioinsumos de uso agrícola: situación y perspectivas en América Latina y el Caribe. <https://repositorio.cepal.org/server/api/core/bitstreams/c95d47f1-c56b-45c5-b21c-7820fea33ea8/content>

Chávez Diaz, I. (2021). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. Scielo, https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342020000601423&script=sci_abstract

Corrales, L., Caycedo, L., Gomez, M., Ramos, S., & Rodriguez, J. (2017). *Bacillus spp*: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702017000100046#B89

Cremona, M. (2020), <https://core.ac.uk/download/pdf/335290789.pdf>.

Congressional Research Service. (2023). The White House Office of Science and Technology Policy: Issues and Options for the 118th Congress. <https://sgp.fas.org/crs/misc/R47635.pdf>

Delgado Torres, N. (2022). *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento en el cultivo de café (*Coffea arabica*) | Revista Amazónica de Ciencias Ambientales y Ecológicas. <https://revistas.unsm.edu.pe/index.php/reacae/article/view/345>

Deras Florez, H. (2020). Guía técnica: el cultivo de maíz, <https://repositorio.iica.int/handle/11324/11893>

Dumroese, K. (2012). Producción y manejo de plántulas en viveros forestales. USDA Forest Service. https://www.fs.usda.gov/rm/pubs_other/rmrs_2012_dumroese_k004.pdf

Editorial Etecé. (2018). Maíz: historia, cultivo, variedades, usos y características. <https://humanidades.com/maiz/>

Ferrera-Rodríguez, O., & Ortiz-Castro, R. (2020). Bacterias, aliadas de la agricultura. <http://inecol.mx/inecol/index.php/es/component/content/article/17-ciencia-hoy/1129->

bacterias-aliadas-de-la-agricultura

Firoz Ahmad Ansari, & Iqbal Ahmad. (2019). Fluorescent Pseudomonas -FAP2 and Bacillus licheniformis interact positively in biofilm mode enhancing plant growth and photosynthetic attributes. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6418123/>

FAO. “Perspectivas de Cosechas y Informe trimestral mundial Situación Alimentaria.”, (2020) <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/9b9f6d61-e805-4277-8c42-7520ec0bd1ba/content>.

Garcés Rivera, C. (2020). Caracterización socioeconómica de las unidades productoras de maíz suave (*Zea mays l*) en la parroquia Santa Fe, Guaranda, provincia Bolívar. <https://dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/3694/1/TESIS%20DE%20GRADO%20MAIZ%20SUAVE.pdf>

Gestor. (2019). Fertilizantes agrícolas para el desarrollo vegetativo del maíz. <https://www.silosdelcinca.com/fertilizantes-agricolas/fertilizantes-agricolas-maiz/>.

Gestor. (2019). Fertilizantes agrícolas para el maíz. <https://www.silosdelcinca.com/fertilizantes-agricolas/fertilizantes-agricolas-maiz/>

Glick, B. R. (2020). Beneficial plant-bacterial interactions. Switzerland: Springer Nature Press. Scielo. Obtenido de <http://doi.org/10.1007/978-3-030-44368-9>

González P. (2017). Consecuencias ambientales de la aplicación de fertilizantes. https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/27059/1/Consecuencias_ambientales_de_la_aplicacion_de_fertilizantes.pdf.

González Ulibarry. (2019). Consecuencias ambientales de la aplicación de fertilizantes. <https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/27059/1/Consecuencias>

ambientales de la aplicacion de fertilizantes.pdf

González, y., Ortega Bernal, J., Anducho Reyes, M., & Mercado Florez, Y. (2023). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-

Granados Thorin, N. (2021). Evaluación de Efectividad de Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal en la Variedad de Arroz F67 (*Oryza sativa*). <https://repositorio.uniandes.edu.co/server/api/core/bitstreams/1eaf79f6-39e9-4945-9cba-af7743d5324f/content>

Herrera, P. del C. (2022). Perspectivas del uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal y carbón de bajo rango en forrajes. *Microtrop*, 10(1), 5–10. <https://revistas.unicesar.edu.co/index.php/microtrop/article/view/46>

Hidalgo Sánchez, M. (2018). Evaluación Morfológica y fisiológica de arquetipos de maíz. <https://www.biopasos.com/biblioteca/Evaluacion-morfologica-fisiologica-maiz-tesis.pdf>

ICA. (2024). Área agrícola. <https://www.ica.gov.co/areas/agricola/servicios/fertilizantes-y-bio-insumos-agricolas>

Inecol. (2024). Las bacterias que ayudan a las plantas a crecer. <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/1360-las-bacterias-que-ayudan-a-las-plantas-a-crecer>

Instituto Nacional Agropecuario. (2020). El Gerente General del Instituto Colombiano Agropecuario “ICA” <https://www.ica.gov.co/getattachment/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bio-insumos-Agricolas/Resolucion-068370-del-27-de-mayo-de-2020.pdf.aspx?lang=es-CO>

- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. (2019). <https://bit.ly/2J6sqrw>
- Israel, E. (2015). Marco Teórico Del Maíz | PDF | Maíz | Hoja. <https://es.scribd.com/document/274797468/Marco-Teorico-Del-Maiz>
- J. C. Anguiano Cabello, A. Flores Olivas, V. Olalde Portugal, R. Arredondo Valdés, & E. I. Laredo Alcalá. (2020). Evaluation of *Bacillus subtilis* as promoters of plant growth. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-33802019000100113&script=sci_arttext&tlng=es#:~:texto=Bacillus%20subtilis%20es%20una%20rizobacteria,todas%20las%20cepas%20de%20B.
- J. L. Zambrano, Y. Cartagena, M. Carrillo, C. Sangoquiza, W. Durango, R. Parra, D. (2021). Deficiencias nutricionales en maíz. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5812/1/Deficiencias%20nutricionales%20en%20el%20ma%C3%ACz.pdf>
- Gómez Villalva, J., et al. “Historia del maíz desde tiempos ancestrales hasta la actualidad.” Dialnet, (2023), <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9143402>
- Dumroese, K. (2012). Producción y manejo de plántulas en viveros forestales. USDA Forest Service. https://www.fs.usda.gov/rm/pubs_other/rmrs_2012_dumroese_k004.pdf
- González, J. C., Martínez, A. R., & Rodríguez, M. E. (2020). Efecto de cepas de *Bacillus* spp. en la germinación y crecimiento inicial de *Zea mays* L. *Acta Agronómica*, 69(2), 114–121. <https://www.redalyc.org/journal/1699/169965185008/html/>
- González, P., & Ramírez, L. (2010). Uso de bacterias promotoras del crecimiento en la agricultura sostenible. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 25(1), 33-47. <https://www.redalyc.org/pdf/432/43211943002.pdf>
- Liu Wang, Bret E Hart, Ghazanfar Abbas Khan, Edward R Cruz, Staffan Persson, & Ian

S Wallace. (2020). Associations between *phytohormones* and *cellulose biosynthesis* in land plants. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7539351/>

Manuel Cañizales-Silva, Fidel Blanco-Macías, Martha Patricia España-Luna, Rodolfo de la Rosa-Rodríguez, Julio Lozano-Gutiérrez, & Alfredo Lara-Herrera. (2024). Microorganismos en la biofertilización del cultivo de maíz como complemento a la fertilización química. <https://era.ujat.mx/index.php/rera/article/view/3903/1736>.

Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2019). Brock biology of microorganisms (15.^a ed.). Pearson. <https://www.pearson.com/en-us/subject-catalog/p/brock-biology-of-microorganisms/P200000007428/9780135876930>

Maridueña Guerrero, M. (2020). *Maíz*
<http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/8486/E-UTB-FACIAGING%20AGRON-000280.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Martínez, F. (2020). Maíz Forrajero (*Zea mays*). <https://infopastosyforrajes.com/pasto-de-corte/maiz-forrajero/>

Moran Castro, E. (2020). Estimación de curvas de absorción de nutrientes para el cultivo de maíz híbrido (*Zea mays*), en tres zonas productoras de la provincia de Los Ríos. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/8409>

Muñiz M. (2022). El cultivo de maíz (*Zea mays* l.). Plagas agrícolas. Mancha de asfalto: <https://rein.umcc.cu/bitstream/handle/123456789/1559/TM.%202022.%20Marilina.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

National Centre for Organic & Natural Farming. (2023). Biofertilizers and Organic

Fertilizers. <https://nconf.dac.gov.in/>

Ortigoza Guerreño, J., López Talavera, C., & Gonzalez Villalba, J. (2019). Untitled. JICA: https://www.jica.go.jp/Resource/paraguay/espanol/office/others/c8h0vm0000ad5gke-att/gt_04.pdf

Pardo Díaz, S., Mazo Molina, D., & Rojas Tapias, D. (2022). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: filogenia, microbioma, y perspectivas. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/36978/Ver_Documento_36978.pdf?sequence=5&isAllowed=y

Parlamento y Consejo de la Unión Europea. (2019). Reglamento - 2019/1009 - EN - EUR-Lex. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2019/1009/oj/spa>

Parlamento y Consejo de la Unión Europea. (2022). Reglamento delegado (UE) 2022/1171 DE LA COMISIÓN. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022R1171>

Pérez, A., & Hernández, C. (2015). Estrategias biotecnológicas para mejorar la producción agrícola. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 19(4), 55-67. <https://www.redalyc.org/pdf/437/43711424004.pdf>

Reddy, K. R., & DeLaune, R. D. (2008). *Biogeochemistry of Wetlands: Science and Applications*. CRC Press.

Rodríguez, E. (2020). Posnormales, pensamiento contemporáneo en tiempos de pandemias. *trahs*. <https://www.unilim.fr/trahs/4531>

Sag. (2023). las fases del desarrollo del maíz servicio agrícola y ganadero: <https://www.sag.gob.cl/curso-de-semillas/3-las-fases-de-desarrollo-del-maiz>

Rivera, E., Sánchez, M., & Domínguez, H. (2018). pH como factor de crecimiento en plantas. *Revista de Iniciación Científica*, 4, 101-105. <https://doi.org/10.33412/rev-ric.v4.0.1829>

Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Turner, S. & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database. Scielo. <http://doi.org/10.1093/database/baaa062>

Smith, J. A., Jones, D. L., & Williams, M. H. (2014). Use of organic acids for pH adjustment in horticultural substrates. *Journal of Plant Nutrition*, 37(5), 745–756. <https://doi.org/10.1080/01904167.2013.876234>

Smith, R., & Johnson, T. (2019). Effect of gibberellic acid on seed germination of *Moringa oleifera* Lam. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/publication/331134574> Sociedad Mexicana de Fertilizantes (2024). Evaluación de la fertilización química y biológica en cultivos de maíz. *Revista Mexicana de Fertilizantes*, 42(3), 18-32. <https://www.smf.org.mx/rmf/V4232024>

Statista Research Department. (2011). Cantidad de fertilizantes empleada en cultivos de maíz a nivel global 2010-2025. <https://es.statista.com/estadisticas/634132/cantidad-de-fertilizantes-empleada-en-los-cultivos-de-maiz-a-nivel-global/>

Su, Y., Liu, C., Fang, H. & Zhang, D. (2020). *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. *Microbial Cell Factories*, 19 - 173. <http://doi.org/10.1111/1758-2229.12130>

Suaste - Franco, M. (2020). Resistencia a *Fusarium* causante de pudriciones en trigo: actualidad y perspectivas para su uso en México.

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S200709342020000200405&script=sci_abstract&tlng=es

Swarnalakshmi, K., Yadav, V., Tyagi, D., Dhar, D. W., Kannepalli, A. & Kumar, S. (2020). Significance of plant growth promoting rhizobacteria in grain legumes: growth promotion and crop production. Scielo. <http://doi.org/10.3390/plants9111596>

Thanh Nguyen Chu, Bao Thi Hoai Tran, Le Van Bui, & Minh Thi Thanh Hoang. (2019). Plant growth-promoting *rhizobacterium Pseudomonas PS01* induces salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6330407/>

Universidad EAFIT. (s.f.). Impacto de biofertilizantes en cultivos agrícolas. Repositorio EAFIT. Recuperado el [fecha de consulta], de <https://repository.eafit.edu.co/items/d4f10a50-1d05-4b21-afb0-90ce935bd8be>

V. Pérez-Tapia, E.J. Bedmar, & N. Santillana. (2018). Purple corn-associated *rhizobacteria* with potential for plant growth promotion. <https://academic.oup.com/jambio/articleabstract/124/5/1254/6714610?redirectedFrom=fulltext&login=false>

Verma, J. P., Yadav, J., Tiwari, K. N., & Kumar, A. (2020). Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop production under stress conditions: a review. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39(3), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09917-0>

Villaseñor-Tulais, F., Hernández-Muñoz, S., Pedraza-Santos, M., Chávez-Bárceñas, A., Santoyo, G., & Orozco-Mosqueda, M. (2023). *Pseudomonas fluorescens* UM270 promueve el crecimiento y producción en tomate de cáscara. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v14n4/2007-0934-remexca-14-04-627.pdf>

Wang, Y. (2019). Integrative omics analysis on phytohormones involved in oil palm seed germination. [https://www.researchgate.net/publication/335255947_Integrative_omics_analysis_o
n_phytohormones_involved_in_oil_palm_seed_germination](https://www.researchgate.net/publication/335255947_Integrative_omics_analysis_on_phytohormones_involved_in_oil_palm_seed_germination)

Xiaolan Jiang, Wei-Wei Li, Menglin Han, Gao Chen, Jing Wu, Sanyan Lai, . . . Tao XiaAutor correspondiente. (2021). Aluminum-tolerant, growth-promoting endophytic bacteria as contributors in promoting tea plant growth and alleviating aluminum stress. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9092644/>

Xinli Sun, Zhihui Xu, Jiyu Xie., Viktor Hesselberg-Thomsen, Taimeng Tan, Daoyue Zheng, Ákos T. Kovács. (2021). *Bacillus velezensis* stimulates resident *rhizosphere Pseudomonas stutzeri* for plant health through metabolic interactions. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8483172/>

Yijun Wang, Jia Zhao, Wenjie Lu, & Dexiang Deng. (2017). Gibberellin in plant height control: old player, new story. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/281>

