

Efectividad de *Bacillus subtilis* como promotora de crecimiento en cultivos de *Oryza sativa*

**JAIMES SIERRA BRAILYS
PAREJA DIAZ PIERANYELA**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
VALLEDUPAR- CESAR
2023**

Efectividad de *Bacillus subtilis* como promotoras de crecimiento en cultivos de *Oryza sativa*

**JAIMES SIERRA BRAILYS
PAREJA DIAZ PIERANYELA**
Trabajo para optar por el título de Microbiólogo.

DIRECTOR
Aslenis Emidia Melo Ríos.
Microbióloga, Magíster en gestión y auditoría ambiental.

CODIRECTOR
Jeisa Paola Farelo Fernández
Microbióloga, especialista en salud ocupacional.

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
VALLEDUPAR- CESAR
2023**

Nota de aceptación

Presidente del jurado

Jurado

Jurado

Dedicatoria Pieranyela

Así que no temas, porque yo estoy contigo; no te angusties, porque yo soy tu Dios. Te fortaleceré y te ayudaré; te sostendré con mi diestra victoriosa. (Isaías 41:10)

Dedico este título y doy gracias primero a Dios dueño de la vida por la fortaleza, templanza, inteligencia y amor que me brinda cada día porque hubo momentos en los que creí que no lo iba a lograr, pero la perseverancia y la Fe permitieron que esto llegara a un buen final. Gracias por darme la fuerza para pasar los obstáculos, y por jamás abandonarme en mi proceso de formación.

A mi familia: A mis padres y hermanos porque a pesar de no comprender para dónde iba este sueño, lo apoyaron y facilitaron todo para que se diera. A mi mamá y mi papa por tantos años de esfuerzos y de oraciones para que todo saliera bien por su apoyo incondicional y confianza en mí, por todos sus esfuerzos y sacrificios para brindarme una buena educación y mucho amor, por sus ganas de sacarme adelante como persona y como profesional, hoy se ve reflejado un poco de todo lo que han hecho por mí, que sin su ayuda y sin acompañamiento incondicional jamás mis sueños se podrían hacer realidad

A mis hijas: Shalana Valeria Contreras Pareja y Shaira Sofía Contreras Pareja, mi mayor satisfacción gracias a ellas que fueron, son y son mi motor, tuve la suficiente valentía y fortaleza para sacar mi carrera adelante.

A mi pareja: Tomas contreras a quien amo mucho, por ser esa luz que nunca se apaga por apoyarme y estar ahí siendo una motivación importante en mi vida, por haberse preocupado por mí en cada momento y por haberme acompañado de principio a fin con este propósito, por haber sido una ayuda incondicional y estar conmigo siempre y que a pesar que podía sola, siempre tendría su hombro para recárgame. Gracias por su inmenso amor, apoyo y comprensión en este proceso.

A mis profesoras: Aslenis Melo, Jeisa Farelo, por guiarme significativamente en gran parte de mi formación académica. Dedico este logro a ustedes, quienes siempre me recordaron mis capacidades y aptitudes, y resaltan el orgullo y admiración que sentían por mí, lo cual fue un impulso invaluable.

Dedicatoria Brailys

En primer lugar, le quiero dar las gracias a Dios porque me brindó a personas que fueron mi polo a tierra, mi guía y fortaleza durante todo el camino; nunca me dejó sola.

Mi madre, Rosa Sierra, ha sido y siempre será mi motivó a seguir, por ella estoy aquí, me ha brindado su apoyo incondicional para poder cumplir todos mis objetivos personales y académicos. Te doy las gracias por sostenerme, cuidarme y no dejarme caer nunca; la vida es dura, pero tus “buenos días, mi amor” me alegran todos los días, te amo.

A mis hermanos quiero darles las gracias porque por ustedes he crecido, madurado y desear ser mejor persona; quiero darte las gracias, Breiner Jaimes, porque eres esa figura masculina a quien admirar, de la que me puedo guiar y saber que siempre estará ahí para mí; me regalaste un par de sobrinos hermosos que me enseñaron que el amor llega incluso desde lo más pequeño. Camila, despertaste en mí ese instinto protector que siempre estará para ti.

A lo largo del camino, he contado con personas que aportaron un granito en todo esto, por ello, le doy gracias a mis tutores principalmente, por su dedicación y paciencia, a mis docentes por transmitirme todo su conocimiento...gracias por su guía y consejos.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a nuestra **Universidad Popular del Cesar** por haber sido nuestra casa educativa, por brindarnos el espacio, los recursos y las comodidades para ejecutar este proyecto.

Al Programa **de Microbiología y docentes** que lo conforman, por habernos brindado una formación académica impecable e incondicional, por brindarnos su valioso conocimiento y disposición; permitieron que cada día le tomáramos más amor a esta preciosa ciencia: **Microbiología**

A las docentes **Aslenis Melo** y **Jeisa Farelo**, por el tiempo, la dedicación, disciplina, esfuerzo, por esa disposición y energía para llevar a cabo la metodología de este proyecto y, sobre todo, por la confianza de principio a fin puesta en nosotras; al grupo de investigación **Parasitología y Agroecología Milenio**.

Sin más... ¡Mil gracias a todas las personas que contribuyeron a que esto fuera posible!

Con mucho amor y cariño: Pieranyela y Brailys

TABLA DE CONTENIDO	7
RESUMEN.....	10
PALABRAS CLAVES.....	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUCCIÓN	12
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
2. JUSTIFICACIÓN.....	14
3. OBJETIVOS.....	16
3.1. Objetivo general	16
3.2. Objetivos específicos	16
4. MARCO TEÓRICO	16
4.1. Antecedentes.....	16
4.2. Bases teóricas.....	21 20
4.2.1.1 Origen	21 20
4.2.1.2 Requerimientos para el desarrollo del arroz:.....	21
4.2.1.4. Siembra y cosecha del arroz.....	22
4.2.1.5. Preparación del terreno	22
4.2.1.6. Selección de la semilla.....	22
4.2.1.7. Etapa de inundación.....	23
4.2.2. Siembra	23
4.2.2.1 Enfermedades y plagas que afectan el cultivo de arroz.....	23
4.2.2.2. Fertilización	24
4.2.3. Producto final (cosecha).....	25
4.2.3.1. Bioinsumos	25
4.2.3.2. Promotor de crecimiento	26

4.3. <i>Bacillus subtilis</i>	26
5. Marco legal.....	28 27
5.1 Bases legales.....	28 27
6. METODOLOGÍA.....	29 28
6.1 Tipo de estudio y línea de investigación.	29 28
6.2 Población y muestra:.....	29
6.3 PROCEDIMIENTO.....	30 29
6.3.1. Fase 1. Prueba In vitro	30 29
6.3.1.1 Recuperación e Identificación de Microorganismos	30 29
6.3.1.2 Preparación del inóculo.....	30
6.3.1.3. Cálculo de concentración del inóculo	31 30
6.4. Fase 2. Prueba en invernadero.....	31
6.4.1. Siembra de las plantas de arroz.....	31
6.5. Diseño experimental puro	32
6.5.1. Variables de rendimiento evaluadas.....	32
6.5.2. Técnica de análisis de resultados	33
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
7.2. Preparación del inóculo para aplicación a las plantas de <i>Oryza sativa</i>	34
7.3 Efecto de la aplicación de <i>B. subtilis</i> sobre el largo total en las plantas de <i>Oryza sativa</i>	35
8. CONCLUSIONES.....	42
9. RECOMENDACIONES.....	43
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
11. ANEXOS	52

LISTA DE FIGURAS

Figure 1 Planta de <i>Oryza Sativa</i>	21
Figure 2 Fertilizante crecer 500	24
Figure 3 Mapa de localización de Fonseca La guajira.....	28
Figure 4 Diluciones seriadas.....	30
Figure 7 Diseño experimental a los 9 tratamientos aplicados	32
Figure 8 Colonias de <i>Bacillus subtilis</i> sembrado en Agar Plate Count.....	34
Figure 9 <i>B. subtilis</i> ; concentración 1×10^{-5}	35
Figure 10 Preparación del inóculo	35
Figure 11 Largo total de las plantas entre tratamientos a una concentración 1×10^{-5} (UFC/mL) y planta testigo	37
Figure 12 Peso total de las plantas entre tratamientos a una concentración 1×10^{-5} (UFC/mL) y planta testigo.	38
Figure 13 Peso de raíz de las plantas entre tratamientos a una concentración 1×10^{-5} (UFC/mL) y planta testigo.	40
Figura 14 Efecto global de las Variables aplicadas a los tratamientos y la planta testigo.....	41

ANEXOS

Anexo A: siembra de <i>Oryza sativa</i> y aplicación de cepa <i>Bacillus subtilis</i> a los tratamientos.....	52
Anexo B: aplicación del microorganismo a los tratamientos evaluados.....	52
Anexo C: obtención de datos de las variables estudiadas a cada tratamiento	53
Anexo D: Análisis estadístico en el software IBM SPSS STATISTICS a los datos obtenidos.....	54
Anexo E: tablas de datos estadísticos de las diferentes variables evaluadas.	55
Anexo F: diferencia que obtuvieron las raíces entre tratamientos.....	56

RESUMEN

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal se han descrito como una alternativa para mitigar los problemas asociados al uso de fertilizantes y pesticidas químicos en la agricultura, por favorecer la nutrición y salud de las plantas. Sin embargo, previo a su inoculación a los cultivos es necesario determinar la concentración bacteriana eficiente.

Por todo lo anteriormente mencionado el objetivo principal del estudio fue determinar la efectividad de *Bacillus subtilis* como promotor de rendimiento en el cultivo en vivero de *Oryza sativa*, para ello se llevó a cabo la siembra de semillas de arroz en 12 macetas con suelo estéril, divididas en tres tratamiento más el control (agua), en relación a la aplicación del inoculó *Bacillus subtilis* a cada tratamiento en tiempos diferentes T1 cada 5 días, al T2 cada 10 días, y al T3 cada 15 días, en tiempo total de 45 días para evaluar biomasa, longitud total, longitud radicular, UFC de mohos y presencia o ausencia de fitopatógenos.

Los resultados evidencian la eficacia que hubo al comparar la promoción del crecimiento de las plantas con el control negativo, esto debido a su efectividad en el incremento de la altura, cuyo tratamiento con mayor efectividad fue el T2 con 42,00 % en relación con el control negativo que fue 39,30%, en el peso total el tratamiento que obtuvo mejor eficiencia fue el T1 con un 33,8 % , mientras que el control negativo obtuvo 24,13% de efectividad, en el peso raíz de evidencia que el tratamiento más eficaz fue el T3 con un porcentaje de efectividad de 28,10% a diferencia del control negativo que lo obtuvo de 6,90%. Por lo tanto, se concluye que *Bacillus subtilis* tiene el potencial para estimular, de manera sustentable, el crecimiento y producción de biomasa de arroz en la zona de estudio, repercutiendo directamente en el rendimiento.

PALABRAS CLAVES

Bacillus subtilis, PGPB, arroz, Crecimiento.

ABSTRACT

Plant growth-promoting bacteria have been described as an alternative to mitigate the problems associated with the use of chemical fertilizers and pesticides in agriculture, by favoring plant nutrition and health. However, prior to inoculating the cultures, it is necessary to determine the efficient bacterial concentration. For all the aforementioned, the main objective of the study was to determine the effectiveness of *Bacillus subtilis* as a yield promoter in the nursery cultivation of *Oryza sativa*, for which rice seeds were sown in 12 pots with sterile soil, divided in three treatments plus the control (water), in relation to the application of the inoculated *Bacillus subtilis* to each treatment at different times T1 every 5 days, T2 every 10 days, and T3 every 15 days, in a total time of 45 days to evaluate biomass, total length, root length, CFU of molds and presence or absence of phytopathogens. The results show the efficacy that existed when comparing the promotion of the growth of the plants with the negative control, this due to its effectiveness in the increase of the height, whose treatment with greater effectiveness was the T2 with 42.00% in relation to the negative control that was 39.30%, in the total weight the treatment that obtained the best efficiency was T1 with 33.8%, while the negative control obtained 24.13% effectiveness, in the root weight of evidence that the The most effective treatment was T3 with an effectiveness percentage of 28.10%, unlike the negative control, which obtained 6.90%. Therefore, it is concluded that the potential of *Bacillus subtilis* is a rhizobacteria capable of sustainably stimulating growth and biomass production, directly affecting yield.

KEYWORDS

Bacillus subtilis, PGPB, rice, Growth.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, los cereales forman parte de los alimentos básicos en la dieta nutricional de la población mundial; el arroz (*Oryza sativa L.*) es uno de ellos. Colombia, de hecho, contempla este alimento como uno de los alimentos básicos de la canasta familiar, ya que para la mayoría de las personas el almuerzo no está completo sin una porción de arroz. Este producto no solo alimenta a los colombianos, sino que también genera muchos empleos, cerca de 5.000 familias viven de la siembra de arroz (Penagos, 2022).

Por lo anteriormente mencionado, se busca entonces obtener mayor rendimiento en menor expansión en áreas cultivadas, llevando así a utilizar fertilizantes y pesticidas químicos en los sistemas agrícolas, generando consigo un impacto medioambiental a largo plazo, alterando de igual manera la fauna local. Es entonces, cuando por medio de los avances científicos y tecnológicos se busca cumplir con este objetivo, evolucionando hacia una actividad económica que ha aprovechado el uso de microorganismos como biocontroladoras y promotores de crecimiento, intentando de igual manera, asegurar la protección de las plantas (Martínez 2018). Las bacterias de vida libre o asociativa que habitan la rizosfera, pueden estimular el crecimiento de las plantas a través de mecanismos, como: síntesis de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes, producción de sideróforos y control de fitopatógenos del suelo. Los microorganismos más estudiados pertenecen a los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas* y *Bacillus*; algunos de los cuales sobreviven en condiciones de estrés (Loredo *et al.* 2016).

Bacillus subtilis es una bacteria Gram positiva habitante natural del suelo, la cual coloniza las raíces, compitiendo con los patógenos por espacio y sitios de infección. Las mayores poblaciones de *Bacillus* en suelos, se localizan entre los 2,5 y 5 cm de profundidad. Se ha documentado que produce antibióticos naturales que debilitan la pared celular e inhiben el crecimiento de patógenos mediante la producción de sustancias como

Bafilomycin, Fungimycin y Micoceryn, las cuales son consideradas como antibióticos contra hongos (Saino 2020).

La falta de conocimiento sobre el uso de biofertilizantes y biofungicidas de la población agricultora trae consigo el empleo de químicos, provocando afectaciones en las zonas agrícolas y con ello consecuencias a corto, mediano y largo plazo; por lo que esta investigación ha tomado como objetivo evaluar el efecto de diferentes dosis de *Bacillus subtilis* como promotoras de crecimiento en cultivos de *Oryza sativa* (arroz).

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cultivo de arroz (*Oryza sativa L*) a nivel mundial, es uno de los más importantes, siendo este el segundo cereal mayor consumido por la población (FAO, 2009), siendo así un producto básico en la canasta familiar, garantizando consigo la seguridad alimentaria (MADR, 2021). El cultivo de este cereal ocupa el segundo lugar con más superficie cosechada, proporcionando la mayor cantidad de calorías/hectáreas (el 23 % de las calorías (Pila, 2016).) en comparación a los otros tipos de cereales (FAO, 2017).

Según datos tomados de la Federación Nacional de Arroceros, Fedearroz, Colombia tiene 460.000 hectáreas con cultivos de arroz. De ellas, 2.017.000 están en los Llanos Orientales, 55.000 en el Caribe seco, 58.000 en el Caribe húmedo y 140.000 hectáreas en la zona centro (DANE, 2020). En el segundo semestre de 2019 el área total nacional sembrada en arroz mecanizado fue 186.703 hectáreas con indicando una variación positiva de 11,7% respecto al 2018. Los principales departamentos arroceros que presentaron un aumento de áreas cosechadas en el segundo semestre de 2019 fueron Meta, con una variación positiva de 16,1%, Casanare 7,6% y Resto de los departamentos 11,9%. (DANE, 2020).

La diferencia entre el aumento de la producción y el rápido crecimiento de la población en los países consumidores de arroz es notable, lo que trae consigo la misión consagrada de investigadores para obtener mayores rendimientos de este grano; considerándose su producción en más de 113 países (Cárdenas et al, 2010).

Por otro lado, La Guajira cuenta con actividades claves para la economía interna a través de la minería, en donde se explotan cerca de 350 millones de pies cúbicos diarios de gas, y se exportan no menos de 32 millones de toneladas de carbón al año; trayendo consigo además un deterioro en los suelos potencialmente cultivables; no obstante, la producción minera (carbón) ha mermado últimamente, por lo que se estima un cese de actividades para el 2030, representando consigo un riesgo para la economía del departamento, aumentando la tasa de desempleo a nivel general (Rodríguez, 2020).

Sin embargo, el cese de actividades de la explotación minera en territorio Guajiro trae no solo la necesidad de suplir la problemática económica, sino una hambruna que se genera con el incremento constante de la población, por lo que los agricultores han tomado como hábito el uso de fertilizantes químicos con el objetivo de obtener mayor rendimiento en sus cultivos.

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación reportó en la página oficial del banco mundial que para el año 2020, Colombia usaba en promedio fertilizantes de 256,6 Kg/ha de tierra cultivable al año. Esta práctica se ha realizado de forma extensiva; generando consigo impactos desfavorables a los ecosistemas, alterando el ciclo biogeoquímico del agua, eutrofización, bioacumulación, erosión, compactación, pérdida de materia orgánica y actividad biológica así como pérdida de la biodiversidad y por último, pero no menos importante, se ven afectados algunos servicios ecosistémicos que son difícil de valorar, tales como la pérdida de regulación climática y del agua, el almacenamiento dióxido de carbono, la polinización, entre otros (Cuéllar, 2014).

Por todo lo anteriormente mencionado se requieren estudios con el objetivo de determinar la efectividad productos que sean más sostenibles a nivel económico y ambiental como los bioinsumos a base de promotores de crecimiento de origen en el cultivo de arroz.

2. JUSTIFICACIÓN

El arroz es el cultivo de mayor importancia a nivel nacional y local, por su alto nivel de consumo en la mayoría de las familias.

El suelo agrícola colombiano no supe las necesidades nutricionales para una producción agrícola económica, lo que trae consigo que los agricultores hagan uso de fertilizantes químicos con la finalidad de asegurar una buena producción; sin embargo, esta dependencia de los agricultores nacionales hacia los agroquímicos afecta la economía, el ambiente y la salud, y deja dudas sobre qué tanto se conocen las características y requerimientos nutricionales de los suelos colombianos (Pérez, 2014).

A pesar de que el uso de fertilizantes químicos provee una cantidad significativa a los cultivos, su mal uso, en vez de ser beneficioso puede ocasionar problemas medioambientales. Por lo que es necesario buscar alternativas más amigables con el medio ambiente, que no provoquen contaminación, que ayuden a incrementar la producción y que además sea un pesticida biológico de este cultivo.

Ahora bien, el departamento de la Guajira ha demostrado poseer suelos aptos para la agricultura, que, basado en su historia destaca el cultivo de arroz, por lo que es necesario impulsar esta actividad como potencia económica; el municipio de Fonseca es productor de arroz (Rodríguez, 2020).

Con base a lo anterior, se hace necesario el uso de microorganismos promotores de crecimiento vegetal con la finalidad de aminorar el impacto medio ambiental que ha venido sufriendo el territorio de La Guajira debido a su ardua explotación minera, cantera y grupos armados de la zona.

Es por ello que las investigaciones hacia el desarrollo de nuevas biotecnologías han aumentado el interés en los microorganismos benéficos del suelo (Tarazona, 2022). Es aquí donde el *Bacillus subtilis*, un microorganismo natural del suelo sale a relucir como agente promotor de crecimiento vegetal y biocontrolador, con la finalidad de generar un impacto positivo en la producción agrícola y sin afectar el ambiente (Peña, et al, 2017).

Una de las características más importantes del género *Bacillus* es su capacidad de producir una gran variedad de antibióticos con capacidad de inhibir el crecimiento de agentes fitopatógenos, entre éstos, los lipopéptidos cíclicos no ribosomales han sido los más estudiados. Los lipopéptidos (LPs), estructuralmente consisten en un péptido cíclico unido a una cadena de ácido

graso β -hidroxi o β - amino. (Ongena & Jaques, 2008; Falardeau et al.2013).

16

El empleo de microorganismos con potencialidades para la promoción del crecimiento vegetal es una alternativa para aumentar la producción agrícola, debido a que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) son un grupo de microorganismos que probablemente pueda reducir los costos de producción en la agricultura moderna, ya que poseen varias estrategias para potenciar el crecimiento de la planta como la solubilización y reciclaje de nutrientes, la producción de hormonas estimuladoras del crecimiento, la fijación de nitrógeno, la inducción de defensa de las plantas, la producción de antibióticos y otras sustancias antimicrobianas, y la desintoxicación del suelo, entre otras (Rojas et al. 2020).

La presente investigación, se justifica con la finalidad de indagar la efectividad de *Bacillus subtilis* como bacteria promotora de crecimiento en cultivos de arroz.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- ✓ Determinar la efectividad de *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento en el cultivo de *Oryza sativa L.* en condiciones de vivero en el municipio de Fonseca.

3.2. Objetivos específicos

- ✓ Preparar inóculo de *Bacillus subtilis* para aplicación en cultivo de arroz
- ✓ Evaluar el incremento de biomasa de las plantas de arroz con diferentes dosis del promotor de crecimiento en vivero.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Antecedentes

En la investigación llevada a cabo por Loredo (México, 2016) enfatiza

que; las bacterias de vida libre o asociativa que habitan la rizosfera pueden estimular el crecimiento de las gramíneas a través de mecanismos, como: síntesis de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes, producción de sideróforos y control de fitopatógenos del suelo. Los microorganismos más estudiados pertenecen a los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas* y *Bacillus*; algunos de los cuales sobreviven en condiciones de estrés. La mayoría de los estudios sobre la interacción de estas bacterias con las plantas se ha realizado en condiciones de laboratorio e invernadero.

Anguiano Cabello, J. (México, 2019) en su estudio obtuvieron resultados que muestran que las cepas evaluadas podrían ser mezcladas en bioformulados para promover diferentes parámetros agronómicos a los que se promueven de forma individual. Se ha demostrado que las interacciones de las rizobacterias del hospedero interaccionan favorablemente con *Bacillus spp* para la promoción de crecimiento.

Rodríguez-Hernández *et al.* (México, 2020) en su estudio tuvieron como objetivo aislar, caracterizar y evaluar en campo cepas del género *Bacillus spp.*, en el rendimiento de maíz forrajero con la finalidad de reducir el uso de fertilizantes químicos, se demostró que estas cepas fueron capaces de fijar nitrógeno *in vitro* y estimular el crecimiento de las plantas en campo de los híbridos de maíz utilizados. Desde un punto de vista sustentable, con los aislados recuperados se redujo la dosis de fertilización química a la mitad de la dosis recomendada, se alcanzaron rendimientos similares al tratamiento químico.

Por otro lado, Rojas *et al.* (Cuba, 2020) en su investigación lograron evidenciar que, en cultivos de tomate, zanahoria y maíz, las cepas de *Bacillus* mostraron un efecto estimulador de la germinación de las semillas de maíz, las cuales presentaron mayor porcentaje e índice de germinación y vigor de plántula que los testigos sin inocular.

Lugmania, M (Ecuador, 2020) en su investigación buscó evaluar el efecto de la aplicación de *Bacillus subtilis* a tres dosis y tres frecuencias en la productividad de la remolacha; obteniendo resultados favorables en cuanto a *B.*

subtilis como promotor de crecimiento, ya que este demostró que podría Aumentar el diámetro polar como ecuatorial de la raíz y por ende el peso de la misma, dando un rendimiento de 22378.20 kg ha⁻¹.

Peralta (Ecuador, 2021) en su investigación concluyó que estudios realizados señalan que la aplicación del fungicida biológico *B. subtilis* redujo la incidencia de agentes causales, presentando bajo porcentaje de plantas enfermas. La severidad de enfermedad aumentó progresivamente en cada evaluación en el testigo, iniciando el 19 % a los 30 días y alcanzando al 74 % de severidad a los 70 días evaluados. El uso de *B. subtilis* no solamente reduce daños por agentes patógenos, sino que aumenta el rendimiento de los cultivos, proporcionándoles propiedades para el desarrollo de frutos.

Macías (Ecuador, 2021) en su investigación concluye que *B. subtilis* no solo estimula el crecimiento vegetal, sino que evita y reduce el efecto de patógenos del suelo, y tiene efecto contra patógenos foliares de importancia; además de esto se estima que tiene la habilidad de producir antibióticos naturales que debilitan la pared celular e inhiben el crecimiento de patógenos. Posee una habilidad especial para colonizar raíces, no permitiendo el espacio a otros hongos que intentan infectar a la raíz.

Bacillus subtilis ha demostrado tener efectividad como promotor de crecimiento en diversas investigaciones independientemente del cultivo, como lo fue en el estudio de Delgado, N y colaboradores (Perú, 2022) en el que lo evaluaron frente al cultivo de café, obteniendo como resultados que: las plantas de café con la aplicación de *B. subtilis* como promotor de crecimiento registraron un mayor número de hojas y altura comparado con el cultivo control.

Tutiven (Ecuador, 2022) realizó una investigación sobre la eficacia de biofungicidas para el manejo de enfermedades en el cultivo de arroz (*Oryza sativa L.*) en el que concluyó que el tratamiento con mayor rendimiento fue *Bacillus subtilis* (Serenade), de igual manera el de menor costo variable y con mayor rentabilidad.

Sánchez (Cundinamarca- Colombia, 2012) en su investigación afirma que algunos microorganismos mejoran la disponibilidad de fósforo (P) para las plantas por mineralización de P orgánico en el suelo y la solubilización de

fosfatos; entre ellos podemos encontrar los géneros *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Erwinia*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter* y *Flavobacterium* entre otros. En su investigación evidenció que efectivamente aceleran el crecimiento vegetal, solubilizando mejor el fosfato.

Velasco-Belalcázar *et al.* (Cali-Colombia, 2019) afirman en su estudio que la especie *B. subtilis* presenta interés en el biocontrol de hongos y bacterias fitopatógenos, produciendo metabolitos secundarios lipopéptidos cíclicos entre los que se encuentran la turina, fengicina y surfactina, que han demostrado un gran potencial de aplicación; se comprobó además la acción inhibitoria de cepas silvestres de *B. subtilis*, aisladas de granos de trigo, sobre el crecimiento de diferentes cepas patógenas de *Fusarium graminearum* productoras de la fusariosis de la espiga. La acción antagónica de *B. subtilis* sobre *F. graminearum* fue significativa, al igual que la reducción de la fusariosis.

En una investigación realizada por la Universidad EAFIT y la Asociación de Bananeros de Colombia (Augura), que inició desde el año 2008 con una patente estadounidense considera a *B. subtilis* muy promisorio debido a su alta producción de metabolitos secundarios y la formación de esporas resistentes, entre otros aspectos. Estas esporas son empleadas como principio activo de la mayoría de los productos biotecnológicos, ya que posibilitan una larga vida de anaquel, es decir, en condiciones de almacenamiento sin deteriorarse para su comercialización.

Granados, N (Tolima-Colombia, 2021) realizó su estudio con el asentimiento de que encontrar bacterias eficientes en la promoción de crecimiento de arroz podría mejorar los sistemas agrícolas convencionales para reducir el uso de agroquímicos y ser más sostenible con el medio ambiente obteniendo de esta manera resultados que corroboran esto; siendo entre los géneros evaluados el *Bacillus spp*, las cuales fueron reconocidas por su capacidad para producir endospora y generar incremento significativo en las hojas de las plántulas de maíz.

Gutiérrez, C y Gutiérrez (Valledupar-Colombia, 2020) efectuaron su estudio con el objetivo de identificar investigaciones experimentales

desarrolladas en los últimos diez años, que comprobaron la efectividad de la cepa *Bacillus subtilis*, como biocontrol en el campo de la agricultura; comprobando efectividad en una serie de cultivos en el que entra el cultivo de arroz; concluyendo que esta cepa posee un efecto biocontrol, inhibidor, protector y promotor del crecimiento saludable para las plantas y cultivos frente a patógenos considerándose una posible alternativa frente a los fungicidas químicos, además, demostró tener buena efectividad, no contaminante para el suelo, generando beneficios alternos a los cultivos y a los consumidores de los mismos.

Solano, (Fonseca- La guajira 2015) tuvo como objetivo en su proyecto titulado “Plaguicidas organoclorados presentes en la zona arrocera del hatico, municipio de Fonseca – La Guajira y su potencial impacto en la salud pública” evaluar la presencia de residuos de plaguicidas organoclorados, generados durante el cultivo de arroz; debido a los efectos adversos que estos pueden generar al medio ambiente; se tomaron muestras de suelo, material vegetal, agua superficiales y leche bovina, evidenciando en su totalidad, presencia de residuos de plaguicidas (OC); gracias a este estudio se pudo evidenciar que la región arrocera del municipio de Fonseca requiere de biocontroladores amigables con el medio ambiente.

Mendoza y Bonilla (2014) (La guajira; Cesar- Colombia; 2014) efectuaron su investigación titulada “Infectividad y efectividad de rizobios aislados de suelos de la Costa Caribe colombiana en *Vigna unguiculata*” debido a la problemática que existe en los departamentos de la guajira y el cesar con el uso indiscriminado de fertilizantes químicos; estos demostraron que microorganismos promotores de crecimiento, más específicamente fijadores de nitrógeno se encuentran en esta región del caribe, pudiendo ser un punto de partida para la elaboración de un biofertilizante.

4.2.1 *Oryza sativa* L

4.2.1.1 Origen

El arroz tiene inicios hace diez mil años, en Asia tropical y subtropical. En la India, fue el país que cultivó por primera vez este grano, a causa de la variedad silvestre que abundaba en la zona. El cultivo fue desarrollándose hasta que tuvo territorio en China, desde las zonas bajas hasta las altas. Después de eso, aparecieron otras rutas que introducían este cereal a distintos países (Arias, 2017).

El cultivo de arroz desde entonces ha beneficiado a numerosas familias, de distintos estatus económicos, forjando respaldos a otras personas que de una u otra forma intervienen en los procesos como piladores, transportistas y comerciantes mayoristas y minoristas (Minda, 2017).

4.2.1.2 Requerimientos para el desarrollo del arroz:

Para que el cultivo de arroz sea óptimo, es necesario, como en cualquier otro tipo de cultivo, tener unas características de temperatura, clima, suelo y pH. De esta manera a continuación se mostrarán dichos requerimientos.

4.2.1.3. Taxonomía

Reino: Plantae

División: Angiosperma

Clase: Monocotiledónea

Orden: Glumiflorae

Tribu: Oryzaceae

N. Científico: *Oryza sativa*

Familia: Poaceae

Género: *Oryzias*

Subgénero: *Oryza*

Figura 1: planta de *Oryza sativa*



Dispone de tallos redondos y huecos con nudos y entrenudos, sus hojas son de láminas planas, sus cabezuelas son una panícula y cuenta con raíces seminales y adventicias como se aprecia en la figura 1. Fuente: (DANE 2017).

Especie: sativa

N. Común: Arroz

Fuente: (Basurto, 2014).

4.2.1.4. Siembra y cosecha del arroz

Para sembrar la semilla se tienen dos métodos, “voleo” o con una máquina especializada, al “voleo” es manualmente donde se tira la semilla en el terreno y se tapa inmediatamente con una capa de tierra, esto es para evitar que las semillas sean comidas por los pájaros. El segundo método es con la maquila, la cual coloca una cantidad específica de semillas y las entierra a una profundidad aproximada de 4 cm con una separación de 20 cm, esta forma es mucho más rápida y más exacta, pero es un poco costosa. La densidad de semilla necesaria es de 120 a 150 kg de semillas, por cada hectárea sembrada (INIFAP 2019).

4.2.1.5. Preparación del terreno

Esta fase inicia con un estudio de suelo, que brinda información precisa de cuáles nutrientes se encuentran en el mismo, esto con el fin de balancear y escoger los tipos de abono necesarios para el lote seleccionado, así como el tipo de fertilización (Mariasg 2018).

La preparación del terreno es importante para poder iniciar con el proceso del cultivo de arroz, este se compone de 4 fases las cuales son todas necesarias para un óptimo resultado.

Se inicia con el fangueo, este consiste en inundar el terreno a bajo nivel. Después de este paso viene la meteorización, la cual consiste primero en dejar secar el suelo, Posteriormente, empieza la fase de nivelación, está con el fin de que los terrones queden más pequeños; el último paso de la preparación del terreno es el abonado, donde se le dan los nutrientes necesarios para que la planta de arroz crezca de una buena manera. Cabe recalcar que posterior a este paso llega la inundación y la siembra (Mariasg 2018).

4.2.1.6. Selección de la semilla

La selección de la semilla es primordial para tener un gran porcentaje de

germinación, crecimiento uniforme y con pocas malezas que dañen el cultivo. Por este motivo se deben escoger dichas semillas teniendo en cuenta el tipo de terreno, temperaturas, el tipo de herbicidas que resisten y el tipo de siembra que se va a realizar. También es muy importante tener en cuenta las recomendaciones que ofrecen el vendedor y el agrónomo (FEDEARROZ 2018).

4.2.1.7. Etapa de inundación

La inundación es importante para la germinación de la semilla, además porque la planta de arroz es una planta semiacuática, y esto se debe a su adaptación a las tierras inundadas. Al tener la semilla ya sembrada se debe inundar los terrenos con agua, esto se puede hacer tanto por lluvia o ingresando agua a los lotes, la inundación por lluvia es mucho mejor ya que abarca todo el lote de manera homogéneo, mientras que por el segundo puede generar zonas que queden secas. Hacer un riego con una alta concentración genera que la semilla germine mucho más rápido y en una buena forma, a continuación, se deben hacer diferentes riegos para mantener el terreno húmedo (FEDEARROZ 2018).

4.2.1. Siembra

En la siembra de la semilla se tienen dos métodos: voleo: manualmente se tira la semilla en el terreno y se tapa inmediatamente con una capa de tierra, esto es para evitar que las semillas sean comidas por los pájaros. El segundo método es con la máquina, la cual coloca una cantidad específica de semillas y las entierra a una profundidad aproximada de 4 cm con una separación de 20 cm, esta forma es mucho más rápida y más exacta. La semilla debe tener una densidad de 20 a 150 kg de semillas, por cada hectárea sembrada (INIFAP 2019).

4.2.2.1 Enfermedades y plagas que afectan el cultivo de arroz

Desafortunadamente el cultivo de arroz es propenso a sufrir daños significativos a causa de insectos y enfermedades, por lo que generalmente hace uso de insecticidas para combatir las plagas y enfermedades que estos acarrear.

Las enfermedades se pueden prevenir de manera adecuada con bastante

preparación, esto se logra teniendo un régimen apropiado, escogiendo semillas certificadas, y siembras en épocas apropiadas con buen clima, para que la planta crezca de manera regular, Piricularia, Helmintosporiosis, Escaldado de la hoja (Penonomé 2019).

Por otra parte, en el cultivo de arroz se pueden encontrar dos tipos de plagas que afectan la integridad de esta, una de ellas daña el follaje del cultivo, mientras que la otra afecta el suelo, por ejemplo, las plagas, insecto Gallina Ciega, Gusano Alambre, Novias del arroz, entre otros (Penonomé 2019).

4.2.2.2. Fertilización

El balance entre nutrientes al momento de la fertilización incrementa los rendimientos de una a dos toneladas por hectárea. La fertilización de los cultivos de arroz no se limita a la adición de N, P o K, sino que es necesarios otros nutrientes como el Magnesio (Mg), Azufre (S) y micronutrientes como el Zinc (Zn) y sus relaciones catiónicas. La respuesta a la aplicación del N y P podría ser baja si existe deficiencia de K; por lo que una fertilización balanceada requiere que todas las deficiencias nutricionales sean eliminadas por medio de un adecuado manejo de nutrientes (Castilla & Tirado, 2019).

Figura 2
Fertilizante crecer 500



Fertilizante de se caracteriza por su formulación completa ayuda a recuperar plantas en condiciones de estrés (figura 2) ocasionando por toxicidad (plaguicidas).

Una maleza, es denominada toda aquella mala hierba o planta no deseable puede ser cualquier especie de planta que crece de forma predominante. El manejo integrado de las malezas es el uso de diferentes métodos para minimizar su impacto negativo, lograr mejor producción del arroz, disminuir costos y preservar el ambiente. La aplicación de un herbicida por sí sola no es suficiente para lograr disminuir las malezas.

Las malezas pueden resistir la acción de un herbicida químico cuando no se alternan los métodos de control y producen semillas que originan plantas resistentes, debido al uso frecuente del mismo modo de acción del herbicida. Para el manejo de las malezas se debe diagnosticar la situación del lote, planificar las estrategias por seguir, ejecutarlas a tiempo y evaluar sus resultados (FEDEARROZ 2018).

4.2.2. Producto final (cosecha)

Toma un color amarillento, así se logra identificar que ya está listo para el corte. La humedad óptima es dada por el agrónomo gracias a unas pruebas especiales, por lo tanto, es momento de realizar la cosecha de este grano, la mayoría de las cosechas de arroz se hacen con una combinada, una máquina especial que corta las espigas del suelo, para luego dentro de la maquinaria, separar la misma (espiga) del grano de arroz, así almacenarla en una tolda, cuando esta tolda de la combinada se llena, pasa un tractor con otro recipiente de almacenamiento para hacer en traspaso, luego de esto se deja el arroz una cierta cantidad de tiempo para terminar el secado del grano y que la separación en el molino, donde quedará listo para la venta (Tvagro, 2016).

4.2.3.1. Bioinsumos

Los Bioinsumos, son productos de origen biológico formulados con microorganismos, como bacterias, hongos o virus, que son utilizados para mejorar la productividad y la salud de las plantas o las características biológicas del suelo (Muñoz 2015). Por otra parte, la aplicación de Bioinsumos agrícolas como las Bacterias promotoras de crecimiento vegetal, se han convertido en una solución segura y sostenible para la estimulación del crecimiento de la planta, así mismo, convirtiéndose en una de las alternativas para la producción cultivos con

un menor impacto. Algunos de estos Bioinsumos tienen el potencial de reducir el uso de agroquímicos, ayudando a una agricultura con mayor sostenibilidad (Higuita y Restrepo, 2019).

4.2.3.2. Promotor de crecimiento

Los microorganismos promotores de crecimiento vegetal (BPCV), son un grupo de diferentes especies que pueden incrementar el crecimiento y productividad en las plantas, pese a numerosos estudios con este grupo de microorganismos, aún no está totalmente establecido el mecanismo por el cual, los microorganismos PCV promueven el crecimiento de las plantas, pero se puede inferir que pueden inducir el crecimiento vegetal directa e indirectamente (Angulo *et al.*, 2014).

El uso de microorganismos PCV permite mejorar o reducir las diversas formas de fertilización química al suelo, e incluso en pesticidas químicos, generando de esta forma prácticas más amigables con la salud del suelo y el ambiente, mientras que al mismo tiempo se beneficia la planta y la economía del agricultor (Cano, 2011).

4.3. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis es una bacteria ampliamente distribuida en la naturaleza, que se aísla de una gran variedad de ambientes; posee una forma bacilar con un diámetro de 850 nm, es Gram positiva; generalmente, móvil con flagelos peritricos, aerobia y anaerobia facultativa, además de catalasa positiva que degrada el almidón (González *et al.*, 2023).

Su clasificación taxonómica es la siguiente;

Phylum: *Firmicutes*

Clase: *Bacilli*

Orden: *Bacillales*

Familia: *Bacillaceae*

Género: *Bacillus*

Especie: *B. subtilis*

Este microorganismo coloniza las raíces, compitiendo con los patógenos por espacio y sitios de infección. Las mayores poblaciones de *Bacillus* en suelos, se localizan entre los 2,5 y 5 cm de profundidad (Saino, 2020); crece en un amplio intervalo de pH de entre 4.9 a 9.3, a temperaturas de 10 a 48 °C y un óptimo de 28 a 35 °C, con la capacidad de formar endosporas; es conocida por la producción de una gran variedad de compuestos con acción antimicrobiana; además de ser considerada una fábrica celular con aplicación en la industria (González et al., 2023).

4.3.1. *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento

González et al. (2023) menciona que *B. subtilis* es considerada una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal por tener mecanismos directos e indirectos que benefician a los cultivos; siendo capaz de estimular el crecimiento de la raíz e incrementar la cantidad de pelos radiculares, gracias a su facultad de sintetizar fitohormonas como las citoquinas, giberelinas, ácido abscísico e indolacético; cabe mencionar además, que ayuda a la adaptación fisiológica del suelo, cubriéndolo en forma de película apoyando la vitalidad y germinación de las semillas (Castillo, 2022).

B. subtilis se encuentra asociada por lo general en los tejidos internos y en la rizosfera de las plantas, ha demostrado ser un potencial microorganismo promotor de crecimiento vegetal, debido a sus distintos mecanismos: producción de sideróforos y de reguladores de crecimiento vegetal, además de inhibir o reprimir el crecimiento de microorganismos perjudiciales; presenta una gran capacidad de solubilizar el fósforo destacando especies como *B. subtilis* y *B. megaterium*, ya que ácidos orgánicos son excretados al medio, como mecanismo principal solubilizador y que permite la mejora en la disponibilidad de los nutrientes en microambientes (López, 2022).

5. Marco legal

5.1 Bases legales

De acuerdo con J., Pérez (2014) una nación con cimientos sólidos debe garantizar el bienestar y avance del mismo, dentro de los cuales se encuentran la educación, la salud, el trabajo y la producción de alimentos.

Con base a lo anterior, Colombia, publica en el Artículo 65 de su Constitución: “La producción de alimentos gozará de la especial protección del estado. Para tal efecto, se otorgará prioridad al desarrollo integral de las actividades agrícolas, pecuarias, forestales y agroindustriales, así como también la construcción de obras de infraestructura física y adecuación de tierras. De igual manera, el Estado promoverá la investigación y la transferencia de tecnología para la producción de alimentos y materias primas de origen agropecuario, con el propósito de incentivar la productividad” (Constitución Política de Colombia, 1991. Artículo 65).

Por otro lado, encontramos el decreto 1843 de 1991; artículo 1: “*El control y la vigilancia epidemiológica en el uso y manejo de plaguicidas, deberá efectuarse con el objeto de evitar que afecten la salud de la comunidad, la sanidad animal y vegetal o causen deterioro del ambiente*” siendo los plaguicidas el foco y/u objeto en cuestión.

Así mismo, encontramos Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF, 2010):

“ **Marco para el análisis de riesgo de plagas** ” NIMF Número 02. (2007): “ Esta normativa describe el proceso para el análisis de riesgo de plagas, abarcando la evaluación del riesgo y el manejo de la enfermedad.

“ **Glosario de términos fitosanitarios** ” NIMF, Número: 05 (2010). “ La norma NIMF, describe un vocabulario con definiciones y términos orientado a todos los sistemas fitosanitarios. “

Protocolos de diagnóstico para las plagas reglamentadas. “ NIMF Número: 27 (2006), “ Esta norma describe los requisitos principales que se deben tener en cuenta para un diagnóstico confiable. ” (NIMF, 2010).

Normas que rigen el cultivo de *Oryza sativa* en Colombia

Decreto 3081 de 2005. Establece las buenas prácticas agrícolas, para el arroz en el territorio nacional.

6. METODOLOGÍA

6.1 Tipo de estudio y línea de investigación.

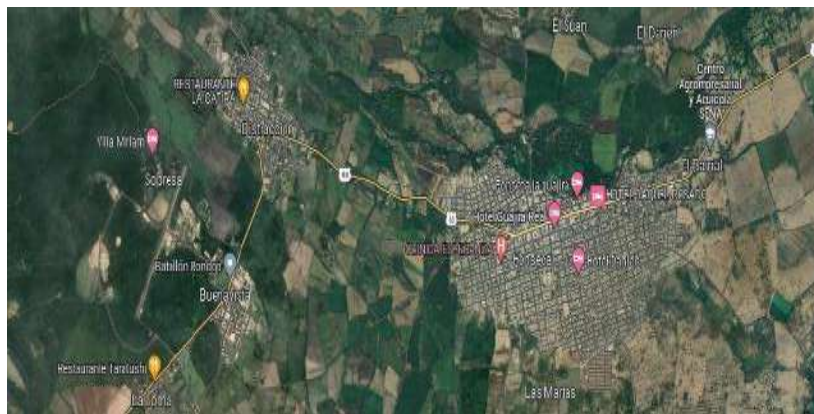
Esta investigación es experimental de corte transversal, debido a que se evalúan distintos tratamientos, enmarcada en la línea de investigación Bioprospección del programa de Microbiología de la Universidad Popular del Cesar.

6.2 Población y muestra:

El estudio se realizó en la región del Caribe colombiano, en el municipio de Fonseca (Figura 3), departamento de La Guajira, ubicado al sur del departamento, en las coordenadas 10°53'9" N, 72°50'53" a 181 m metros de altura sobre el nivel del mar, con una temperatura promedio de 28 °C (Google Maps, 2021), como se demuestra en la Figura 3.

Figura 3

Mapa de localización de Fonseca La guajira



Fuente: google Maps (2021).

La parte in situ de este estudio se llevó a cabo en el sector urbano, barrio las delicias del municipio de Fonseca – La Guajira.

Las semillas certificadas de *Oryza sativa* L fueron adquiridas en

FEDEARROZ en Valledupar- Cesar. Se utilizaron 40 semillas por siembra, lo que equivale a 480 semillas (400 gr) para el total de 12 macetas; 4 tratamientos y 3 repeticiones para cada uno.

6.3 PROCEDIMIENTO

6.3.1. Fase 1. Prueba In vitro

6.3.1.1 Recuperación e Identificación de Microorganismos

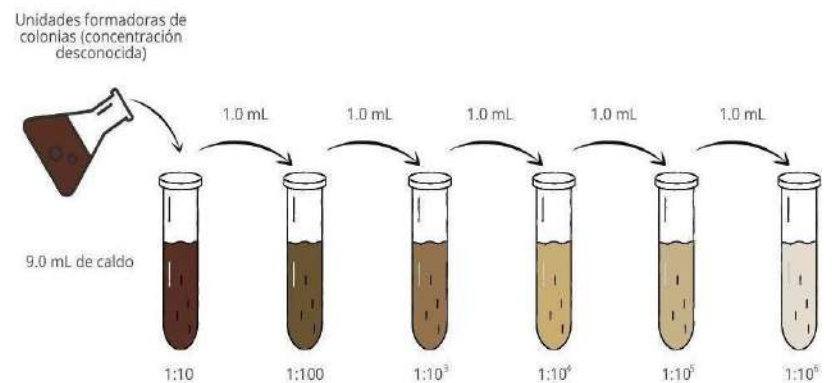
La cepa del microorganismo *Bacillus subtilis* ATCC, fue suministrada por el Cepario del laboratorio de Microbiología de la Universidad Popular del Cesar; se procedió a sembrar la cepa en el medio Agar Plate Count, para esto se inoculó (sembró) por estrías en superficie y se incubó a una temperatura de 37°C durante 24 horas.

Pasadas las 24 horas de incubación, se les realizó la identificación microscópica mediante la técnica de tinción de Gram, donde se observó la característica coloración violeta de Gram +; junto con esporas esféricas y centrales.

6.3.1.2 Preparación del inóculo

La preparación del inóculo se realizó en una solución de unidades formadoras de colonias (UFC) por adición de *Bacillus subtilis* (cultivado en medio Plate Count) en 90ml de agua estéril, a partir de ahí, se realizaron una serie de diluciones en 5 tubos (t); partiendo de 1 ml de solución madre en 9 ml de agua estéril (Figura 4) desde 1×10^{-1} a 1×10^{-5} (Flores y Roque, 2017).

Figure 4
Diluciones seriadas



Fuente: (Cognita Conecta, 2022).

6.3.1.3. Cálculo de concentración del inóculo

Posterior a la siembra por agotamiento de *Bacillus subtilis* en Agar Plate Count (Oviedo et al. 2017), y ser diluida hasta las concentraciones (1×10^{-4} y 1×10^{-5}); se calculó la concentración (UFC/mL) a partir de la fórmula siguiente (Arana et al., 2023).

$$UFC = \text{colonias numerada (media)} \div \text{ml sembrados} \times \text{factor de dilución}$$

6.4. Fase 2. Prueba en invernadero

6.4.1. Siembra de las plantas de arroz

La siembra se llevó a cabo en macetas, donde se les suministró la misma cantidad de suelo y abono con el objetivo de que las plantas tuvieran las mismas condiciones de crecimiento, luego, se procedió a humedecer el suelo y así adicionarle las 40 semillas, las cuales fueron puestas a 1cm de profundidad, este proceso se aplicó en cada una de las repeticiones.

6.4.2. Aplicación en los tratamientos

Una vez, sembradas las plantas de arroz, se realizaron los tratamientos. Cada tratamiento se estipuló con la adición de una solución con igual concentración de *Bacillus subtilis* a tiempos diferentes: para el Tratamiento 1 (T1) se le adiciona el microorganismos cada 5 días, para el Tratamiento 2 (T2) cada 10 días, y para el Tratamiento 3 (T3) cada 15 días. Un tratamiento control (C), no recibió adición del microorganismo. Todos los cultivos se dejaron durante 45 días. Cabe resaltar que pasado el tiempo de cada tratamiento de le hacía adición del microorganismo en la parte del suelo.

Para la aplicación de los tratamientos, se tomó el inóculo de *Bacillus subtilis* ya diluido a una concentración de 10^{-5} con agua estéril, una vez de ver sembrado las semillas se esparció con una jeringa de 10 ml previamente esterilizada en los 3 grupos de plantas que fueron tratados. Al momento de ver germinado la planta el microorganismo fue adicionado en el suelo.

Finalmente, se ubicaron las macetas en un lugar donde se le proporcionó una gran cantidad de luz solar, con el propósito de ayudarlas con su germinación.

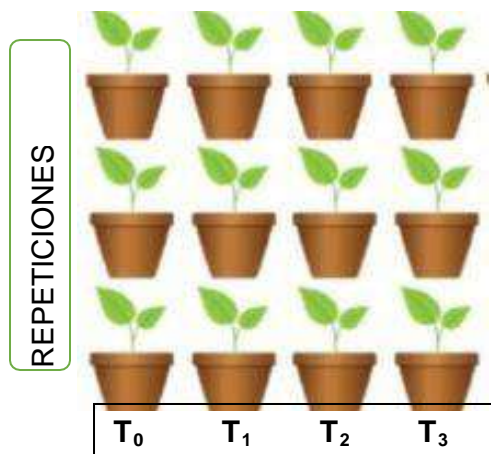
Pasados 3 días, se identificaron aquellas semillas que habían germinado en cada uno de los diferentes tratamientos, mediante la técnica de inspección visual; además de buscar mantener la hidratación adecuada del suelo donde se encuentran sembradas y/o germinadas estas semillas.

6.5. Diseño experimental puro

Se hizo la aplicación de 3 tratamientos con 3 réplicas de plantas (T_1 , T_2 , T_3); más un control negativo (T_0) con 3 réplicas, igual.

Figure 7

*Diseño experimental a los 9
tratamientos aplicados*



6.5.1. Variables de rendimiento evaluadas

- Altura de la planta.** La altura se midió pasados 45 días a la siembra, se tomaron todas las plántulas de cada maceta, y con ayuda de agua que le retiró todo el suelo, para así proceder a medir la altura en milímetros (mm) con la ayuda de una cinta métrica, desde la base de la plántula hasta su punto más alto.
- Peso total de la planta.** El peso de las plantas se realizó al finalizar el tiempo estipulado de su crecimiento, se tomaron todas las plantas sembradas, con ayuda de agua se le retiró todo el suelo que contenía la raíz y se procedió a pesar cada una en gramos (g) con ayuda de una balanza analítica.

- c) **Peso de la raíz.** Se cortaron las raíces de todas las plantas retiradas que las macetas, se retiró el suelo de la raíz con ayuda de agua, y con la ayuda con una balanza analítica se obtuvo su peso en gramos (g).

6.5.2. Técnica de análisis de resultados

Los resultados se organizaron mediante tablas y gráficas y fueron analizados por la prueba de comparación de medias: ANOVA (analysis of variance) seguido de una prueba (Duncan 0.05). Mediante software Estadístico SPSS vs 25.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Reactivación de la cepa de *Bacillus subtilis*

Se identificaron macroscópicamente las colonias que crecieron en el medio de cultivo Plate Count Agar, se seleccionaron como cepas candidatas de *B. subtilis* a aquellas que presentaron color blanco o crema, tamaño aproximado de 2 a 4 mm de diámetro, aspecto liso y mucoso, bordes ondulados o extendidos en el medio (figura 8); estas características de la bacteria *B. subtilis* concuerdan con la descripción por Ñacato y Valencia (2016).

Para la identificación microscópica de *B. subtilis* se utilizó el método de tinción de Gram, utilizando el cultivo microbiano con morfología macroscópica característico, con 24 horas de crecimiento.

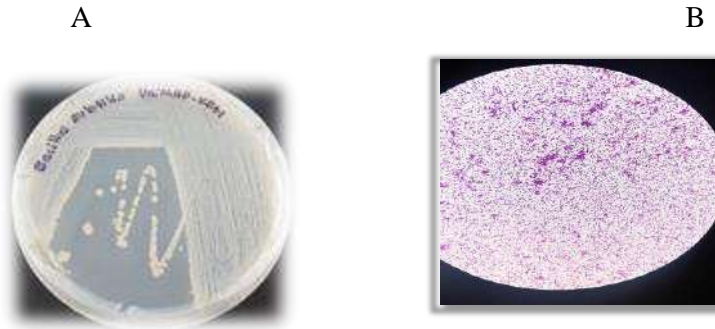
La cepa sembrada presentó la morfología microscópica característica a bacterias del género *Bacillus*, la cual consiste en Bacilos Gram positivos de aproximadamente 0,8 mm de diámetro por 2 a 3 mm de largo, menores o iguales a 1µm de espesor, con bordes redondeados. Presentan esporas esféricas y centrales o paracentrales que no deforman el soma bacteriano (ver Figura 8), así como describen Luna y Orellana (2019) en su investigación.

Según Valdez, A (2008), afirma que la capacidad antagónica y promotora de crecimiento de una bacteria, comienza al momento de iniciar su proceso de esporulación, la cual se da principalmente por la limitación de algún nutriente esencial (carbono, nitrógeno); el microorganismo modifica su metabolismo,

induciendo motilidad y quimiotaxis, así como la producción de hidrolasas (proteasas y carbohidrasas) y antibióticos.

Figure 8

Figura A. Colonias de *Bacillus subtilis* sembrado en Agar Plate Count. B. morfología microscópica de *Bacillus subtilis*.



Nota: la siembra de *Bacillus subtilis* se hizo en Agar Plate Count y se incubó a 37°C durante 24 horas, pasadas las 24 horas se observó abundante crecimiento. Foto tomada por los autores.

7.2. Preparación del inóculo para aplicación a las plantas de *Oryza sativa*.

Después de identificar las colonias de *B. subtilis* y obtener la primera suspensión, se procedió a realizar diluciones de menor concentración, usando la técnica de diluciones seriadas, esta permitió conocer la concentración o los recuentos de células, ya que las placas incubadas con esta técnica generan un número de colonias fácilmente contable, por lo que se pudo enumerar fácilmente el número de células viables presentes en los inóculos.

El Agar Plate Count (PCA) presenta un crecimiento bueno y excelente para bacterias como *B. subtilis*, brindándole Triptona y extracto de levadura como fuentes de nitrógeno y de vitaminas, es un medio selectivo para para la enumeración de bacterias aeróbicas; permitiendo crecimiento en 24h. Blanco, Y (2017) evaluó el medio PCA por medio de la prueba ecométrica, utilizando dos microorganismos de referencia (*E. coli* y *S. aureus*), al cabo de 24h pasadas a la siembra, se evidencio que este medio tiene un índice de crecimiento absoluto (ICA) altamente productivo.

Figure 9
Bacillus subtilis; concentración 1×10^{-5}



Nota: Desarrollo de *Bacillus subtilis* en Plate Count (figura 9); Foto tomada por los autores.

Se logró determinar la concentración final de las suspensiones bacterianas inoculadas con la técnica de recuento en placa de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL; Luna, F., & Orellana, M. (2019) destaca la técnica para determinar concentraciones de las suspensiones madres de *B. subtilis* como posible biocontrolador in vitro.

Se obtuvo un conteo sobre las concentraciones finales usadas, es decir, los últimos dos tubos cuya concentración eran de 1×10^{-4} y 1×10^{-5} para inocular en las plantas de arroz (*Oryza sativa L.*). Arrojando los siguientes resultados: concentración tubo 1: 51×10^5 Cel/mL concentración tubo 2: 19×10^6 Cel. /mL.

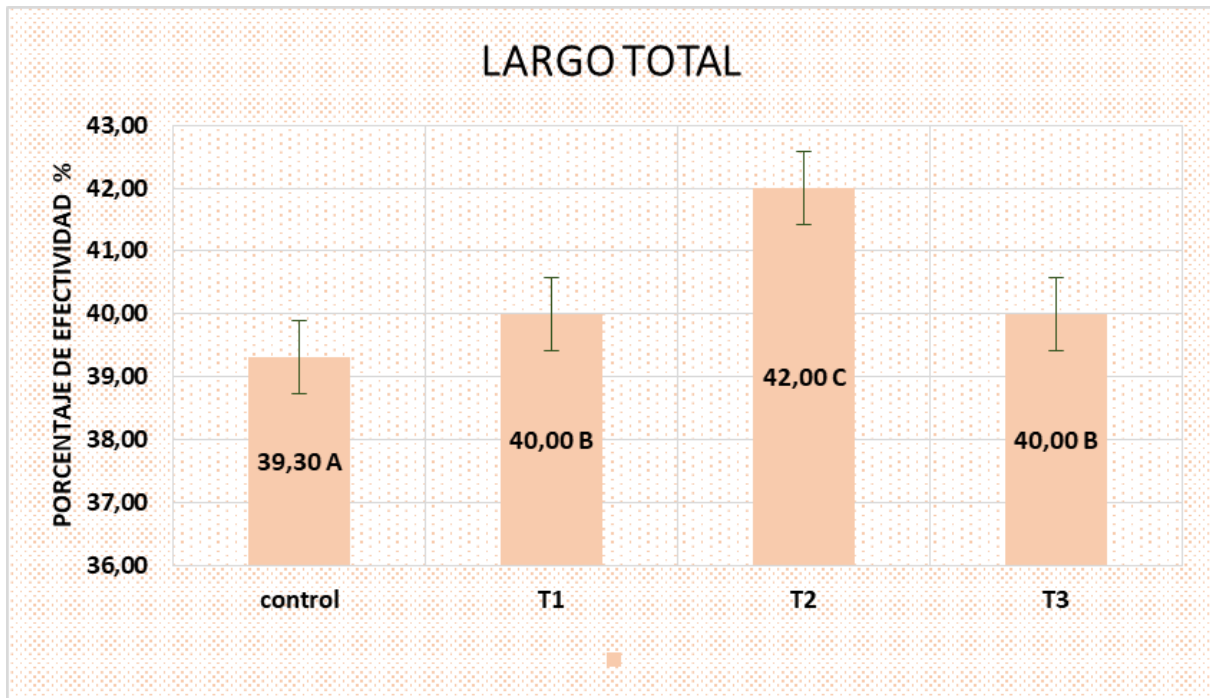
7.3 Efecto de la aplicación de *B. subtilis* sobre el largo total en las plantas de *Oryza sativa*.

El análisis de la altura de las plantas a nivel porcentual presentó diferencias significativas entre ellas, exceptuando al T1 y T3 que no tienen diferencia significativa en comparación; el T2 evidencia mayor rendimiento a comparación de sus dos contrincantes, obteniendo un porcentaje de efectividad del 42,0% por lo que se demuestra que manejar el tiempo de inoculación con intervalos de 10 días es más eficiente que cada 5 y 15 días (Figura 11). Así mismo

se demuestra que la sola adición de *B. subtilis* genera diferencias significativas en comparación al control negativo, que obtuvo 39,3% de efectividad.

Figura 11

Largo total de las plantas entre tratamientos a una concentración 1×10^{-5} y planta testigo.



Esta bacteria actúa de forma positiva no solo en las plantas de arroz, sino en otros cultivos como demostró Macay y Llerena (2022) que en su afán por conseguir el dato de una dosis específica para generar buen rendimiento en el crecimiento de las plantas de cacao a nivel de vivero, evaluaron la dosificación de *B. subtilis* en diferentes concentraciones en la que una de sus variables (coincidiendo con estos resultados) fue la altura de las plantas, demostrando que en todos los tratamientos se evidenció diferencia significativa en el crecimiento de las plantas del cacao con la adición de *B. subtilis* en comparación al control negativo que no tuvo adición de este microorganismo.

Lo anterior mencionado coincide con los resultados obtenidos por Castillo B (2022), en su investigación *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento en cultivos de *Theobroma cacao L.* "cacao" Moyobamba, San Martín donde resalta el incremento significativo del 13,43% de la planta al aplicar *B. subtilis*; por lo que, a pesar de que este estudio no arrojó un porcentaje de efectividad por encima del estudio en la planta del

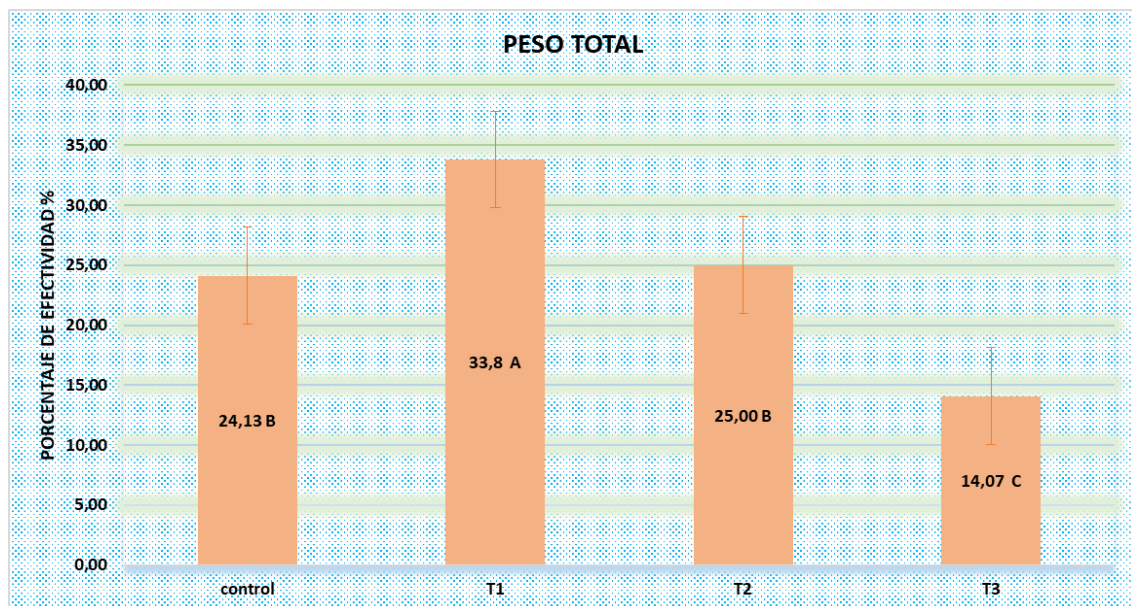
cacao, evidenció que aun en la planta de arroz puede generar diferencia significativa, convirtiendo a *B. subtilis* como un microorganismo prometedor en la industria agropecuaria.

Por otra parte, Liu *et al.* (2021), En su estudio sobre efectos de la promoción del crecimiento de *Bacillus subtilis* en plántulas de *bletilla striata* sugieren desarrollar estudios sobre la acción fertilizante de *B. subtilis* en diferentes tipos de cultivos, como alternativa al uso agroquímicos siendo así más amigables con el medio ambiente; de igual manera, Sagar *et al.*, (2022) por su parte, refieren que los agentes biológicos son una alternativa de solución respetuosa con el ambiente.

7.4 Efecto de la aplicación de *B. subtilis* sobre el largo total en las plantas de *Oryza sativa*

Figura 12

Peso total de las plantas entre tratamientos a una concentración 1×10^{-5} y planta testigo.



El peso total permite observar y/o distinguir la efectividad de los organismos sometidos a diferentes tratamientos en cuanto a biomasa se trata; en este estudio fue posible detallar cómo la inoculación de *B. subtilis* a diferentes intervalos de días tuvieron un efecto en el crecimiento de las plantas de arroz (*Oryza sativa*).

Como se muestra en la gráfica (Figura 12) el T1 muestra diferencia significativa en comparación a T2, T3, sin embargo, el control negativo evidenció mejor resultado frente al T3; esto sugiere que entre más seguido sea la adición de *B. subtilis* a la planta (5

días) habría mayor biomasa microbiana, permitiéndole a la planta obtener de forma más rápida y eficaz la energía y nutrientes necesarios para aumentar su velocidad de crecimiento y desarrollo.

Gutiérrez et al., (2022), estiman que *B. subtilis* aplica diversos factores con los cuales estimula la planta; uno de los que más destaca es la activación de resistencia sistémica, esta inicia al momento en que el microorganismo se encuentra limitado frente a algún nutriente esencial, comienza su proceso de esporulación y segrega metabolitos secundarios, como hidrolasas (proteasas y carbohidrasas) y antibióticos (Valdez, A 2008).

Esta bacteria es capaz de segregar compuestos volátiles que activan la expresión de genes relacionados con la producción de auxinas y ácido abscísico, Moreno et al. (2018) en su artículo mencionan que *B. subtilis* produce estas moléculas como forma de inhibir el crecimiento de patógenos, protegiendo de esta manera a la planta, en su revisión planta de tomate; continuando con Gutiérrez et al., (2022), dicen que al hacer esta función de “inhibidor” incrementa la disponibilidad de potasio, nitrógeno y minerales en el suelo, y que produce la enzima 1-aminociclopropano, 1-carboxilato (ACC) desaminasa, que hidroliza la ACC en amonio y alfa-keto butirato evitando su conversión en etileno. Además de que afirma que *“el papel de la 1-Aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) es importante debido a que este es un precursor inmediato del etileno en plantas superiores, y, por lo tanto, al suprimir su producción mediante la enzima ACC desaminasa, se evita la generación de etileno y con ello los procesos de senescencia derivados del mismo. Por lo que la inhibición del etileno es en sí un estímulo para el crecimiento. Por tanto, el incremento general del peso de la planta es el resultado de este conjunto de estímulos”*

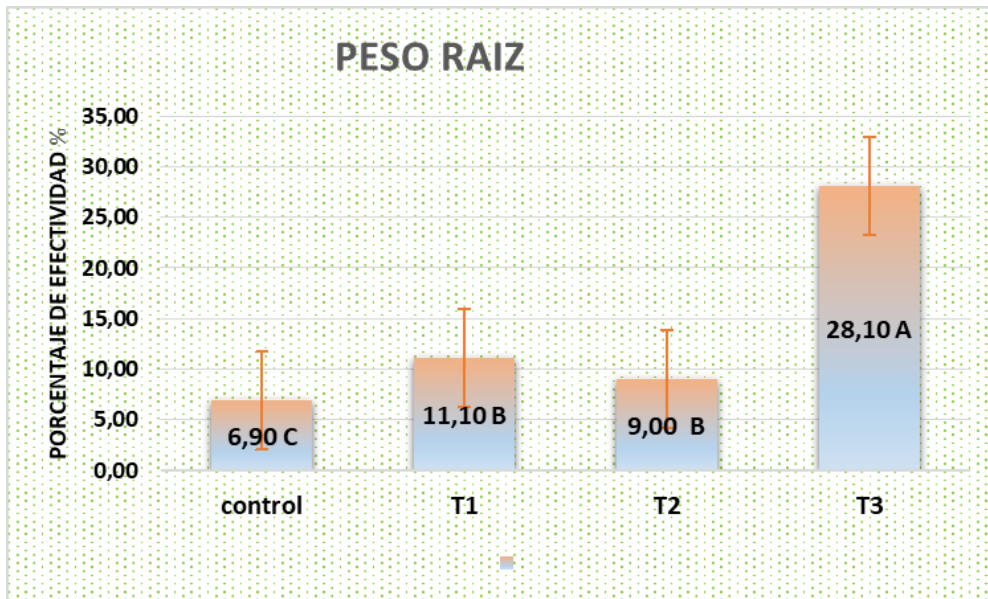
Con base a lo anterior se puede afirmar que *B. subtilis* actúa de forma directa e indirecta en la estimulación del crecimiento de las plantas, aportándole nutrientes de fácil absorción e inhibiendo el crecimiento y/o colonización de posibles microorganismos patógenos.

Castillo, B (2022), también menciona el papel de *Bacillus subtilis* frente al incremento en el peso fresco de la planta, lo que con su estudio mostró diferencias significativas de (p- value<0.05) con respecto al control negativo.

7.5 Efecto de la aplicación de *B. subtilis* en el Peso de la Raíz en las plantas de *Oryza sativa*.

Figura 13

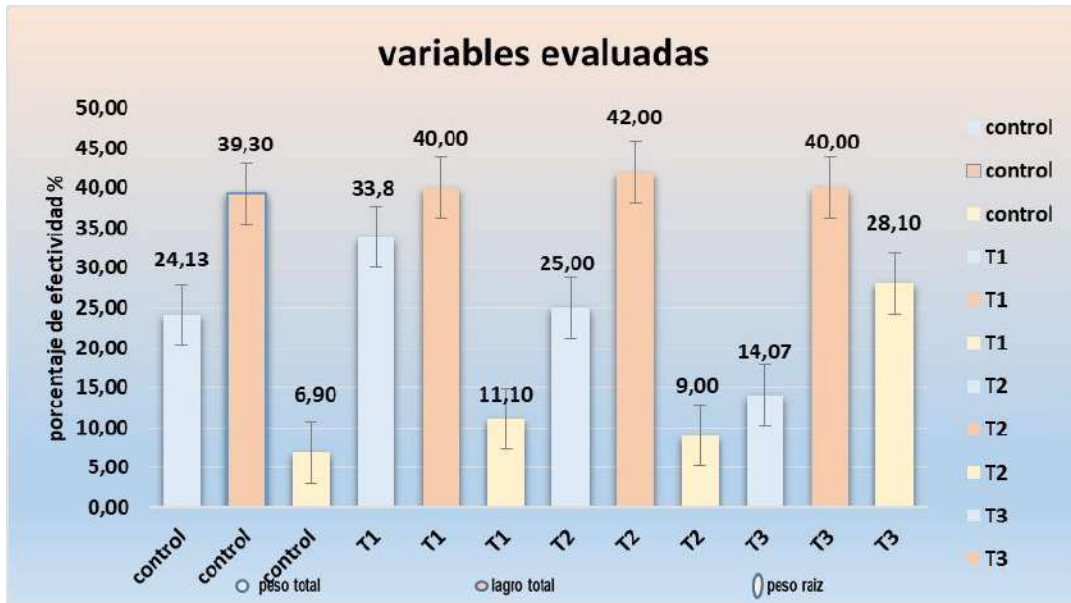
Peso de raíz de las plantas entre Tratamientos a una concentración 1×10^{-5} y planta testigo.



Esta variable fue la más representativa debido a la diferencia significativa que existe entre tratamientos; el T3 presentó mayor porcentaje de efectividad de 28,10%, que, en comparación al T1 y T2 evidencia eficacia en su intervalo de días (15 días); sin embargo, todas las plantas inoculadas mostraron diferencias significativas en contraste con el control negativo, puesto que este mostró solo el 6,90% de efectividad. No obstante, no se puede afirmar que entre más tiempo entre una dosis y la otra, habrá mayor eficacia, considerando que hubo mejores resultados en T1 con intervalos de 5 días que en el T2 con intervalos de 10 días (figura 14); por lo que se considera prudente evaluar a mayor profundidad.

Figura 14

Efecto global de las Variables aplicadas a los tratamientos y la planta testigo.



La raíz es la parte de la planta que crece al interior del suelo, se mantiene fija y tiene como función absorber agua y nutrientes disponibles en el suelo. Gonzáles et al. (2023) en su artículo menciona que *B. subtilis* puede establecerse en la rizosfera y localizar la raíz de la planta gracias a la quimiotaxis generada por los exudados y los polisacáridos de la planta. Esta bacteria es capaz de detectar estos exudados por sus quimiorreceptores y formar biopelículas; de esta manera *B. subtilis* comienza su interacción con la planta, aportándole nutrientes metabolizados y de fácil absorción para la misma, así como la protección frente a agentes patógenos en el momento en que esta bacteria compite por los nutrientes presentes en el suelo.

Es por ello que cuando Gutiérrez, A (2019), observó que la cepa *B. subtilis* presenta efectos sobre el crecimiento de las raíces en las plantas de maíz, relacionó que este incremento en el peso radicular con la producción de auxinas de esta bacteria.

Se puede respaldar entonces con la investigación de Antunes T, (2019) donde demuestra que los tratamientos con mejor prominencia fueron *B. subtilis* y Power© ya que hubo diferencia significativa con relación al demás tratamiento y al control negativo. Así mismo, resalta el papel de *Bacillus subtilis* por el poder de incrementar el crecimiento en la raíz y ser un promotor de aumento de la nodulación y fijación de nitrógeno en el suelo.

Es importante destacar que la adición de microorganismos en el suelo que se une a la raíces de la planta presentan un beneficio significativo en el crecimiento de estas, tal cual como se evidenció en este estudio; de esta manera Radhakrishan et al. (2017), manifiestan que la fisiología vegetal indica, que las raíces de las plantas se encuentran cubiertas por una delgada lámina de suelo, la que denomina como rizósfera; lugar donde se dan inicios a importantes actividades biológicas, químicas y fisiológicas. Por tanto, es ineludible mencionar que la aplicación de microorganismos benéficos a la rizósfera es un factor positivo para que la planta mejore la tolerancia al estrés abiótico.

7.6 Efectividad de *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento

Se determinó el potencial de crecimiento de la cepa evaluada mediante la inoculación en semillas de arroz y posterior la medición del peso total, largo total, y longitud de tallo y raíz de las plantas; el control negativo con agua y control positivo con *Bacillus subtilis*.

B. subtilis ha mostrado efectividad para mejorar el crecimiento vegetal de distintos cultivos, como es el caso de zanahoria, tomate, arroz, cacao y maíz (Rojas et al., 2020); esto se debe principalmente a su capacidad de fijar en nitrógeno, este mecanismo permite mejorar el crecimiento vegetal y/o sanidad de las plantas; Delgado, N y colaboradores (2022), evaluaron la capacidad de *B.subtilis* como promotor de crecimiento en plantas de café; en donde registraron un mayor número de hojas y altura en los tratamientos inoculados con esta bacteria comparado con el tratamiento testigo, evidenciando por medio de un aumento de 3,52% a 3,78% en el análisis foliar, la acción solubilizadora de *Bacillus subtilis* que permite una mejora en la disponibilidad, absorción y transporte de N en la hoja.

Esta bacteria posee una habilidad especial para colonizar las raíces de las plantas, no dejando nicho ecológico a otros hongos patógenos que intenten infectar la raíz, actuando como bioestimulante del crecimiento radicular, pues promueve un desarrollo de raíces más fuertes y sanas debido a la secreción de fitohormonas, lo que permite, debido al incremento de masa radicular, una mejor asimilación de nutrientes y toma de humedad por la planta. Además, tiene excelentes características medioambientales, pues tiene toxicidad nula para animales superiores, es inocuo para el hombre, animales, artrópodos útiles, abejas, abejorros y no es posible la contaminación del agua (ecocampo, 2014).

B. subtilis es clasificado como agente de crecimiento de las plantas gracias a su

capacidad de suprimir daños de agentes patógenos, protegiendo la salud y estimulando el crecimiento de las plantas por medio de la rápida absorción de nutrientes; esto es principalmente por su mecanismo de fijar nitrógeno atmosférico, solubilizar fósforo y sintetizar sideróforos, Lugmania, M (2020), afirma que *B. subtilis* es capaz de sintetizar fitohormonas que actúan frente a una parte específica de la planta, estas fitohormonas incluyen auxinas como el ácido indol-3-acético (AIA), ácido abscísico (ABA), brasinoesteroides (BRS), citoquininas, giberelinas, etileno, ácido jasmónico (AJ) y ácido salicílico (AS). Además de esto, cuenta con unas enzimas denominadas fitasas que les permiten liberar fósforo insoluble disponible en el suelo, permitiendo que la planta lo absorba.

8. CONCLUSIONES

En este estudio se demostró la efectividad de la cepa *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento vegetal, al ser evaluado en plantas de arroz en etapa temprana. La aplicación de *B. subtilis* influye significativamente en la promoción del crecimiento de las plantas de *Oryza sativa* en las variables de medición de altura, peso fresco, y peso raíz, demostrando que con mayor concentración de la bacteria se obtienen mayores niveles de las variables evaluadas. Cabe resaltar que las raíces son la parte fundamental en un cultivo ya que el crecimiento de la parte aérea de la planta depende del transporte de nutrientes y el agua que le proporcionan las raíces.

Respecto a la aplicación de *Bacillus subtilis* en la planta de *Oryza sativa* “arroz” presentaron diferencias significativas a niveles de altura, peso fresco y peso raíz, resaltando que la mayor altura fue de 42,00 y la menor de 39,30 cm respectivamente, para el peso total el mayor fue 33,8 y el menor 14,07 g, y para el peso raíz el mayor fue 28,10 y el menor 6,9 g.

B. subtilis tiene la capacidad de promover el crecimiento vegetal in vitro mediante la producción de sideróforos, solubilización de fosfato y fijación de nitrógeno. Cuya especie pueden ser aplicadas en campo, con el fin de aumentar la producción y rendimiento de los cultivos, lo que las convierte en una herramienta biotecnología para sustituir la aplicación de agroquímicos, los cuales hasta la fecha están generando problemas medioambientales.

Esta bacteria, además de promover el crecimiento vegetal, como se corrobora con los resultados de la presente investigación, otros autores han demostrado que puede también controlar enfermedades y plagas debido a su capacidad de secretar metabolitos y proteínas, resaltando que, encontrar bacterias eficientes en la promoción de crecimiento de arroz en modelos de materia y suelo en de gran avance ya que se reduce el uso de agroquímico.

9. RECOMENDACIONES

Utilizar semillas certificadas de calidad garantizada para evaluar el rendimiento de la planta, principalmente para tener seguridad del control de crecimiento que genera *Bacillus subtilis* en la plata.

La bacteria *Bacillus subtilis* como promotora de crecimiento vegetal es una alternativa eficaz, benéfica y económica con el medio ambiente, favoreciendo así el aumento del rendimiento de los cultivos, lo que pone en evidencia que se pueden emplear controles biológicos ya que dichas alternativas muestran resultados positivos.

Para el desarrollo que implique la germinación de semillas, como es el caso de *Oryza sativa*, se recomienda germinarlas en suelo común abonado, fertilizado, y mantener una excelente disponibilidad de agua.

Es recomendable realizar un mayor número de aplicaciones de *Bacillus subtilis*, ya que pueden tener un mejor efecto, combatir y contrarrestar las enfermedades presentadas por la planta de arroz.

Concientizar a los agricultores de hacer uso de microorganismos, capaces de promover el crecimiento para así minimizar y controlar el empleo de fertilizantes químicos, adicionalmente realizar estudios haciendo uso de mayores concentraciones de *B. subtilis* en cantidades iguales o menores de solvente y en otros cultivos.

Cabe destacar que esta investigación solo es una base para futuros estudios, en el cual se evaluó si *B. subtilis* es un promotor de crecimiento frente a la planta de arroz; se les recomienda a los futuros investigadores profundizar en el mecanismo de acción de esta bacteria frente a la estimulación del

crecimiento vegetal en los cultivos de arroz, esto les servirá como base para generar un mayor porcentaje de efectividad, ya que este no se produce en condiciones de vivero, por lo que profundizar en el uso de este microorganismo se vuelve una alternativa para promover el crecimiento de las plantas de arroz.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anguiano Cabello, J. C., Flores Olivas, A., Olalde Portugal, V., Arredondo Valdés, R., Laredo Alcalá, E. I. (2019). Evaluation of *Bacillus subtilis* as promoters of plant growth. *Revista Bio Ciencias* 6, e418. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e418>
- Arana, I., Orruño, M., & Barcina, I. (s. f.). *Como abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología* (1.^a ed.) [Digital].
- Arias, O. (2017). Determinar los efectos de la aplicación de un fertilizante foliar y una hormona reguladora de crecimiento sobre el comportamiento en la variedad de arroz (*Oryza sativa* L.) INIAP 14. Tesis de grado, Universidad Católica Santiago de Guayaquil, Guayaquil. <http://181.198.35.98/Archivos/MARTINEZ%20SEGURA%20JOSE%20ALEXANDER.pdf>
- ARROZ *Indicadores y Acciones*. (2017, diciembre). <https://sioc.minagricultura.gov.co/>. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Arroz/Documentos/2017-1230%20Cifras%20Sectoriales.pdf>
- Basurto, M. (2014). Comportamiento del cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) a la aplicación de fertilizante de liberación controlada, en dos sistemas de siembra. Tesis de grado, Universidad de Guayaquil, Daule. Obtenido de repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/6508/1/BASURTOVelizMANUEL.pdf
- Blanco, Y. (2017). *VALIDACIÓN SECUNDARIA DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE COLIFORMES POR RECUENTO EN PLACA EN DOS MEDIOS DE CULTIVO COMERCIALES, EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE PASTEURIZADORA SANTO DOMINGO S.A.* [TRABAJO DE PRÁCTICA EMPRESARIAL]. UNIVERSIDAD DE PAMPLONA.
- Cárdenas, R., Mesa, S., Polón, S., Pérez, N., Cristo, E., Fabrè, L y Hernández, J. (2010). Relación entre la incidencia de la piriculariosis (*Pyricularia grisea* Sacc.) del arroz (*Oryza sativa* Lin.) y diferentes variables climáticas en el complejo agroindustrial arrocero Los Palacios. *Cult. Trop.* 31: 14-18.
- Castilla, L., Tirado, Y. (2019, noviembre). *FUNDAMENTOS TÉCNICOS PARA LA*

Nacional del Arroz.

https://fedearroz.s3.amazonaws.com/media/documents/cartilla_fundamentos_nutricion.pdf

Castillo Garcia, B. X. (2022). *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento en cultivos de *Theobroma cacao* L. "cacao" Moyobamba, San Martín.

Cerra, H., Fernández, M., Horak, C., Lagomarsino, M., Torno, G., & Zarankin, E. (2013). *MANUAL DE MICROBIOLOGÍA APLICADA A LAS INDUSTRIAS FARMACÉUTICA, COSMÉTICA Y DE PRODUCTOS MÉDICOS* (1.ª ed.) [Digital]. Subcomisión de Buenas Prácticas de la División de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos (DAMyC).

Constitución Política de Colombia (Asamblea Nacional Constituyente 1991. Artículo 65).

Consumo de fertilizantes (kilogramos por hectárea de tierras cultivables) | Data. (s. f). Recuperado 1 de noviembre de 2022, de <https://datos.bancomundial.org/indicador/AG.CON.FERT.ZS>

Conrad L Schoch, Stacy Ciufu, Mikhail Domrachev, Carol L Hotton, Sivakumar Kannan, Rogneda Khovanskaya, Detlef Leipe, Richard Mcveigh, Kathleen O'Neill, Barbara Robbertse, Shobha Sharma, Vladimir Sousoff, John P Sullivan, Lu Sun, Seán Turner, Ilene Karsch-Mizrachi, Taxonomía NCBI: una actualización integral sobre curación, recursos y herramientas, base de datos , volumen 2020, 2020, baaa062, <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>

Cuéllar, T. (2014). *EVALUACIÓN DE LA PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO DE Bacillus subtilis EA-CB0575 EN CULTIVOS DE BANANO, CRISANTEMO Y CAFÉ*. <https://core.ac.uk/>.

<https://core.ac.uk/download/pdf/47250418.pdf>

Decreto 1843/1991, de 22 de Julio, por el cual se reglamentan parcialmente los títulos iii, v,vi, vii y xi de la ley 09 de 1979, sobre uso y manejo de plaguicidas. *Boletín oficial del estado*. Colombia, pp. 1-60.

Delgado-Torres, N. A., Chumacero-Acosta, J. S., Rodriguez-Perez, L. E., Tuesta-Casique, A. & Alvarez-Arista, Y.(2022). *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento en el cultivo de café(*Coffea arabica*). *Revista Amazónica de Ciencias Ambientales y Ecológicas*, 1(2), e345 <https://doi.org/10.51252/reacae.v1i2.345>

Ecocampo. (2013). *Bacillus subtilis*, biofungicida y bioestimulador de crecimiento. Disponible en http://www.ecocampo.com.pe/pdf/ficha-bacillus_subtilis-ecocampo.pdf

ECURED. El arroz. Taxonomía y requerimientos [en línea] 2013 [revisado 24 octubre 2018].

Disponible en: <https://www.ecured.cu/Arroz#Taxonom.C3.ADa>

- Exceso de fertilizantes en el país afecta economía, ambiente y salud.* (2021, 21 mayo). ELESPECTADOR.COM. <https://www.elespectador.com/colombia/mas-regiones/exceso-de-fertilizantes-en-el-pais-afecta-economia-ambiente-y-salud-article-470409/>
- FEDEARROZ. Semillas. [sitio web]. Bogotá D.C.CO. Sec. variedad. Septiembre, 2000, [Revisado 2, Noviembre 2018]. Disponible en: http://www.fedearroz.com.co/new/agroquimicos2.php?prod=Fedearroz_60
- Fernández Dean, Torassa, Matías & Pérez María. (2021). Avaliação da compatibilidade in vitro de microorganismos (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* e *Trichoderma atroviride*) com fungicidas comerciais, para a produção sustentável de amendoim, Revista South American Sciences. Recuperado del sitio web: <https://www.southamericansciences.com.br/index.php/sas/article/view/112>
- Flores, M., & Roque, E. (2017). *ASLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MICROBIANA (MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR) EN LA BÚSQUEDA DE Bacillus subtilis A PARTIR DE BIOINSUMOS COMERCIALES Y PRUEBAS DE ANTAGONISMO FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS* [Tesis de pregrado]. UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
- GONZÁLEZ, H.; FUENTES, N. 2017. Mecanismo de acción de cinco microorganismos promotores de crecimiento vegetal. Rev. Cienc. Agr. 34(1):17 - 31. doi: <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.173401.61>.
- González, Y., Ortega, J., Anducho, M., & Mercado, Y. (2023). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. Scielo, 25. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2022000100318
- Gutiérrez Coronado, C. Gutiérrez Ramírez R, R. (2020). *Bacillus subtilis* Cepa *Bacteriana* con Actividad de Biocontrol Aplicada en Agricultura Sostenible: Una Revisión Sistemática. repositorio.udes.edu.co. <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/f278c323-46ab-4c05-8fae-d4cc2a71b964/content>
- Gutiérrez, A., Gutiérrez, A. E., & López, M. A. (2022). EFECTOS DE *Bacillus subtilis* CEPAS GBO3 y IN937b EN EL CRECIMIENTO DE MAÍZ (*Zea mays*L.). *polibotanica*, 52. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.53.14>

- 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/>.
<https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/51322/23753.pdf?sequence=1>
- Higuíta R., A.M. Restrepo R., A.M. (2019). Desarrollo de un bioinsumo agrícola con base en un consorcio de *Bacillus subtilis* - *Pseudomonas sp.* Repositorio Institucional Universidad EAFIT, Medellín - Colombia. Tomado de: <http://hdl.handle.net/10784/15882>
- Liu, D., Chen, J., Yang, H., Yousaf, Z., Liu, C.-Y., & Huang, B.-S. (2021). Growth promotion effects of bacillus subtilis on *bletilla striata* seedlings. *World Journal of Traditional Chinese Medicine*, 0(0), 0. <https://www.wjtc.m.net/text.asp?2022/8/2/236/317484>
- Loredo-Osti, C., López-Reyes, L., Espinosa-Victoria, D. (2016). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*. 22(2):225-239.
- Lugmania, M. (2020). Determinación del efecto de la aplicación de *Bacillus subtilis* a tres dosis y tres frecuencias sobre la productividad de la remolacha. universidad central del ecuador. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/22002>
- Luna, F., & Orellana, M. (2019). Caracterización de *Bacillus subtilis* aislado a partir del café variedad pacamara como agente controlador de la roya del café producido por *hemileia vastatrix* [tesis de pregrado]. Universidad de el salvador.
- MARIASG. El arroz, características y preparación del suelo [sitio web]. Bogotá D.C.CO. Sec. Suelo 2013. [revisado 27 octubre 2018]. Disponible en: <https://www.agroterra.com/blog/descubrir/el-arroz-caracteristicas-y-preparacion-delsuelo/77166/>
- Marinho, Thais Antunes. Fertilizante/corrector de suelo asociado o no a *Bacillus subtilis* como promotor del crecimiento del caupí. 2019. 20 ss. Monografía (Graduación) - Curso de Agronomía, UFT, Gurupi, 2019.
- Macías, K. (2021). *Estudio de Bacillus subtilis como bacteria promotora de crecimiento vegetal en cultivos hortícolas en Los Ríos*. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO. <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/10339/E-UTB-FACIAG-ING%20AGROP-000175.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Macay, J., & Llerena, L. (2022). FERTILIZACIÓN BIOLÓGICA DE BACILLUS SUBTILIS EN CACAO FASE DE VIVERO [Tesis pregrado]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo UTEQ
- Martínez, C. (2018). La importancia de la Sanidad Vegetal en la agricultura. El control de los insectos vectores de los virus de los cultivos hortícolas. *Phytoma España: La revista*

profesional de sanidad vegetal. 198(2):56-58.

Mendoza, J., & Bonilla, R. (2014). Infectividad y efectividad de rizobios aislados de suelos de la Costa Caribe colombiana en *Vigna unguiculata* Infectivity and effectiveness of isolated rhizobia from col. *Colombia. Biotecnol.*, XVI(2), Scielo.

<http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v16n2/v16n2a10.pdf>

Miceli Méndez, C. L. (2022). Efectos de *Bacillus subtilis* cepas GBO3 y IN937b en el crecimiento

de maíz (*Zea mays* L.). *POLIBOTÁNICA*, 1(53). <https://doi.org/10.18387/polibotanica.53.14>

Moreno, A., Garcia, V., Reyes, J., Vasquez, J., & Cano, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. Colombia. *Biotecnol*, XX(!), 68-83.

M. P. y. C. Muñoz, «Agricultores red de especialistas en agricultura,» 25 06 2015. [En línea]. Disponible:https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/escuelagro/_archivos/000001_Biotecnologia%20innovaciones%20sustentables/000000_Bioinsumos%20Agropecuarios%20y%20Biomateriales/000000_Bioinsumos.pdf. [Último acceso: 19 08 2018]

Oviedo, J et al., (2017), ‘ Manual de Microbiología General ‘ Universidad Autónoma De San Luis

Potosi.<https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/bitstream/handle/i/4397/Manual%20Microbiolog%C3%ADa%20General.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Peralta, J. (2021). Efecto de fungicida biológico para el control de enfermedades fúngicas en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en el cantón Milagro, Recinto La Esperanza. Tesis de Grado Ingeniero Agrónomo, Universidad Agraria del Ecuador. Guayaquil, Ecuador. 68p.

Pérez, J. (2014). *Uso de los fertilizantes y su impacto en la producción agrícola*. Universidad Nacional de Colombia.

Pérez Vélez, J. (2014). *Uso de los fertilizantes y su impacto en la producción agrícola*. Universidad Nacional de Colombia.

<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/74970/71782231.2014.pdf?sequence=1 &isAllowed=y>

Peña, K., Rodríguez, J., Olivera, D., León, N. & Lugones, Y. (2017). Efecto de un promotor del crecimiento en el comportamiento productivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). 21(1): 35-45. ISSN: 0188789-0. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/318897662_Efecto_de_un_promotor_del_crec

[imiento en el comportamiento productivo del frijol Phaseolus vulgaris L](#)

- Pila, F. (2016). Importancia de los lipopéptidos de *Bacillus subtilis* en el control biológico de enfermedades en cultivos de gran valor económico. *Bionatura*, 1, 135-138.
- Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd_Allah, E. (2017). *Bacillus*: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. *Front Physiol.*, 8, 667.
- Rivas Alean, I. P. (2022). Producción y comercialización de arroz (*Oryza sativa*) tipo seco como aporte al desarrollo agrícola y asociativo con enfoque de género en el municipio de Turbo, Antioquia. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/ingenieria_agronomica/244
- Rodríguez-Hernández, M. G., Gallegos-Robles, M. N., Rodríguez-Sifuentes, L., Fortis-Hernández, M., Luna-Ortega, J. G. González-Salas, U. (2020). Cepas nativas de *Bacillus* spp. como una alternativa sostenible en el rendimiento de forraje de maíz. *REVISTA TERRA*
- RODRÍGUEZ, Y. (2020). *DISEÑO DE UNA PLANTA PROCESADORA DE ARROZ EN EL MUNICIPIO DE FONSECA LA GUAJIRA*. repositoriodspace.unipamplona.edu.co.
http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/bitstream/20.500.12744/4219/1/Rodr%C3%ADguez_2020_TG.pdf *LATINOAMERICANA*, 38(2), 313-321.
<https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.690>
- Rojas-Badía, M. M., Bello-González, M. A., Ríos-Rocafull, Y., Lugo-Moya, D., Sánchez, J. R. (2020). Utilización de cepas de *Bacillus* como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales. *Acta Agronómica*. 69(1):54-60. ISSN 0120-2812.
- Rojas Badía, M. M., Sánchez Castro, D., Rosales Perdomo, K., Lugo Moya, D. (2017). Antagonismo de *Bacillus* frente a hongos fitopatógenos de cultivos hortícolas. *Revista de Protección Vegetal*, 32(2):34-38. ISSN: 1010-2752
- Ruiz, G., Retamoso, R., & Benítez, M. (2021). *Bacillus subtilis* aislada de cutículas de hormigas que anidan en colmenas como antifúngico de hongos patógenos de abejas. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 37(3), 270-276.
<https://www.scielo.cl/pdf/chjaasc/v37n3/0719-3890-chjaasc-37-03-270.pdf>
- Sánchez López, D. B., Gómez-Vargas, R. M., Garrido Rubiano, M. F., Bonilla Buitrago, R. R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 3(7):1401-1415. ISSN 2007-0934

<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/14680/Disertaci%C3%B3n%20Final%20Alexander%20Silva%20segunda%20correcci%C3%B3n.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Saino, T. J. (2020). Evaluación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en tomate. Tesis de Grado Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina. 63p.

Seguimiento del Mercado del Arroz de la FAO. (2017). FAO, XX(4).

http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/107101/Documento_completo.pdf?sequence=1

SOLANO, H. (2015). *plaguicidas organoclorados presentes en la zona arroceras del hatico, municipio de fonseca – la guajira su potencial impacto en la salud pública.*

https://www.researchgate.net/profile/harold-solano-solano/publication/331651050_plaguicidas_organoclorados_presentes_en_la_zona_arroceras_del_hatico_municipio_de_fonseca_la_guajira_y_su_potencial_impacto_en_la_salud_publica/links/5c867393a6fdcc068186c7b8/plaguicidas-organoclorados-presentes-en-la-zona-arroceras-del-hatico-municipio-de-fonseca-la-guajira-y-su-potencial-impacto-en-la-salud-publica.pdf

Tarazona, A. (2022, 10 junio). LA IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LA AGRICULTURA. Antonio Tarazona.

<https://www.antoniotarazona.com/blog/agricultura/la-importancia-de-los-microorganismos-en-la-agricultura/>

TUTIVÉN, J. (2022). eficacia de biofungicidas para el manejo de enfermedades en el cultivo de arroz (*Oryza sativa L.*) EN EL CANTÓN DAULE. <http://repositorio.ug.edu.ec/>

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/63817/1/EFICACIA%20DE%20BIOFUNGICIDAS%20PARA%20EL%20MANEJO%20DE%20ENFERMEDADES%20EN%20EL%20CULTIVO%20DE%20ARROZ%20%28Oryza%20sativa%20%20L..pdf>

TVAGRO. ANGEL. Juan; Proceso de siembra, fertilización y cosecha de arroz [sitio web].

Bogotá D.C.CO. Sec. Arroz Agosto 2016 [revisado 20 enero 2019]. Disponible en: 51

<https://www.youtube.com/watch?v=JBOmT-Mnm60>

Velasco-Belalcázar, M. L., Hernández-Medina, C. A., Gómez-López, E. D. Torres-González, C. (2019). Bacterias endófitas de *Capsicum frutescens* antagonicas a *Fusarium* spp. *Agronomía Mesoamericana*, 30(2), 367-380. <https://doi.org/10.15517/am.v30i2.31760>

Vista de Patente estadounidense afianza a EAFIT en biotecnología. (s. f.). Recuperado 5 de noviembre de 2022, de <https://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/view/5722/44>

11. ANEXOS

Anexo A: siembra de *Oryza sativa* y aplicación de cepa *Bacillus subtilis* a los tratamientos.



Anexo B: aplicación del microorganismo a los tratamientos evaluados.



Anexo C: obtención de datos de las variables estudiadas a cada tratamiento.



Anexo D: Análisis estadístico mediante el software Estadístico SPSS vs 2.

Peso total					
	tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD Tukey ^a	3,00	3	14,0667		
	4,00	3	24,1333	24,1333	
	2,00	3	24,5000	24,5000	
	1,00	3		33,7667	
	Sig.			,088	,120
Duncan ^a	3,00	3	14,0667		
	4,00	3		24,1333	
	2,00	3		24,5000	
	1,00	3			33,7667
	Sig.			1,000	,924

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Largo total			
	tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
			1
HSD Tukey ^a	4,00	3	39,3333
	1,00	3	40,0000
	3,00	3	40,0000
	2,00	3	42,3333
	Sig.		
Duncan ^a	4,00	3	39,3333
	1,00	3	40,0000
	3,00	3	40,0000
	2,00	3	42,3333
	Sig.		

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Peso raíz					
	tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD Tukey ^a	4,00	3	6,8667		
	2,00	3		9,0000	
	3,00	3		9,3667	9,3667
	1,00	3			11,1333
	Sig.			1,000	,926
Duncan ^a	4,00	3	6,8667		
	2,00	3		9,0000	
	3,00	3		9,3667	
	1,00	3			11,1333
	Sig.			1,000	,559

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Anexo E: tablas de datos estadísticos de las diferentes variables evaluadas.

PESO RAIZ		
control	6,90	C
T1	11,10	B
T2	9,00	B
T3	28,10	A

Largo total		
control	39,30	A
T1	40,00	B
T2	42,00	C
T3	40,00	B

peso total		
control	24,13	B
T1	33,8	A
T2	25,00	B
T3	14,07	C

variable evaluadas		
control	24,13	B
control	39,30	A
control	6,90	C
T1	33,8	A
T1	40,00	B
T1	11,10	B
T2	25,00	B
T2	42,00	C
T2	9,00	B
T3	14,07	C
T3	40,00	B
T3	28,10	A

