



IPICYT

**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**“Respuestas ecofisiológicas de *Echinocactus
platyacanthus* en interacción con un consorcio
microbiano ante estrés hídrico”**

Tesis que presenta

Delia Paloma Martínez Bernal

Para obtener el grado de

Maestra en Ciencias Ambientales

Codirectores de la Tesis:

Dra. Nguyen Esmeralda López Lozano

Dr. Joel David Flores Rivas

San Luis Potosí, S.L.P., 27 septiembre de 2024



Constancia de aprobación de la tesis

La tesis “**Respuestas ecofisiológicas de *Echinocactus platyacanthus* en interacción con un consorcio microbiano ante estrés hídrico**” presentada para obtener el Grado de Maestro(a) en Ciencias Ambientales fue elaborada por **Delia Paloma Martínez Bernal** y aprobada **día de XXX de dos mil veinticuatro** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dra. Nguyen Esmeralda López Lozano
Codirectora de la tesis

Dr. Joel David Flores Rivas
Codirector de la tesis

Dra. Laura Yáñez Espinosa
Miembro del Comité Tutorial

Dra. Frédérique Reverchon
Miembro del Comité Tutorial



Créditos Institucionales

Esta tesis fue elaborada en los laboratorios de ecología microbiana, ecología experimental, ecología de suelos e invernaderos de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la codirección de la Dra. Nguyen Esmeralda López Lozano y el Dr. Joel David Flores Rivas.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (No. 1082611) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.

Los resultados de esta investigación son parte del proyecto de Ciencia Básica SEP-CONACyT 254406 cuya responsable técnico fue la Dra. Nguyen Esmeralda López Lozano.

Acta de examen

Página en Blanco que se va a utilizar para colocar la copia del acta de examen.

Dedicatorias

A mis titos

Los gatos son incomprendidos porque no se dignan a explicarse: son enigmáticos únicamente para quien ignora la potencia expresiva del mutismo.

(Paul Morand)

Agradecimientos

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a todas las personas e instituciones que contribuyeron de manera significativa en la realización de esta tesis:

A CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) por el apoyo brindado a través de su beca (No. 1082611), la cual me brindó tiempo y recursos para llevar a cabo esta investigación. Su respaldo fue fundamental para el desarrollo exitoso de este proyecto.

Agradecimientos a IPICYT (Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica) por brindarme el espacio y los recursos necesarios para llevar a cabo este trabajo de investigación. Su apoyo fue fundamental para el desarrollo de mi trabajo de investigación.

Agradezco sinceramente a la Dra. Esmeralda por su orientación y apoyo durante todo el proceso de elaboración de esta tesis. Sus conocimientos y consejos fueron invaluable para lograr los resultados alcanzados.

Quiero extender mi gratitud al Dr. Joel, cuya guía y asesoramiento enriquecieron este trabajo. Su experiencia y dedicación fueron fundamentales para el éxito de este proyecto.

Un agradecimiento especial a la Dra. Laura y Dra. Frederique por su valiosa colaboración y aportes en la investigación. Su visión y conocimientos complementan de manera significativa los resultados obtenidos.

Reconozco la colaboración indispensable de los técnicos Carmen Rocha, Juan Pablo Rodas y Alicia Becerra. Su incansable labor y habilidades técnicas fueron fundamentales para el desarrollo de los experimentos y análisis.

A mis compañeros y amigos Herón, Guillermo, Paco, Ángel, Lupita y en especial a Arturo, les agradezco su compañía, apoyo y motivación a lo largo de este camino académico. Su amistad hizo que los momentos difíciles fueran más llevaderos y los logros más significativos.

A mi familia: Mami Toti, Mami Riqui y Tía Mari, les debo un profundo agradecimiento por su inquebrantable apoyo, aliento y amor incondicional. Gracias por ser mi fuente de inspiración y por creer en mí en todo momento.

Agradezco de manera especial a mis Juanas, Ale y Magui, por ser mi sostén emocional durante esta etapa de mi vida. Su presencia y aliento fueron cruciales para mantenerme enfocada y perseverante en la culminación de este proyecto.

A Daniel, agradezco sinceramente su apoyo durante este tiempo. Su contribución fue valiosa para mi crecimiento académico y personal.

A todas estas instituciones y personas, mi más sincero agradecimiento por ser parte fundamental de este logro académico. Sin su valiosa contribución, esta tesis no hubiera sido posible.

¡Gracias a todos!

Contenido

Constancia de aprobación de la tesis.....	ii
Créditos Institucionales	iii
Acta de examen	iv
Dedicatorias	v
Agradecimientos.....	vi
Contenido.....	viii
Lista de tablas	x
Lista de figuras	xi
Resumen	xv
Abstract	xvii
1. Introducción	1
1.1. Hipótesis	10
1.2. Objetivo general	10
1.3. Objetivos específicos.....	10
2. Materiales y métodos.....	11
2.1. Caracterización de cepas bacterianas.....	11
2.2 Capítulo 1: Producción de exopolisacáridos por las cepas que conforman el consorcio bacteriano en condiciones de estrés hídrico.....	12
2.3 Capítulo 2: Promoción de la germinación de semillas bajo condiciones de estrés hídrico inducido por PEG 8000.....	16
2.4 Capítulo 3: Crecimiento de plántulas de <i>E. platyacanthus</i> inoculadas sometidas a suspensión de riego	19
3. Análisis estadísticos.....	27
4. Resultados.....	28
4.1 Capacidad de producción de EPS por las cepas bacterianas del consorcio en condiciones de estrés hídrico.	28
4.2 Efectos de la inoculación del consorcio de PGPR sobre la germinabilidad y el tiempo medio de germinación de semillas de <i>E. platyacanthus</i> bajo diferentes tratamientos de estrés hídrico inducido.	31
4.2.1 Germinabilidad (%)	32
4.2.2 Tiempo medio de germinación (TMG).....	34
4.3 Efectos de la inoculación del consorcio de PGPR, sobre los parámetros fisiológicos de plántulas de <i>E. platyacanthus</i> ante la suspensión del riego.....	40
4.3.1 Crecimiento de plántulas.....	42
4.3.1.1 Tallo.....	42
4.3.1.2 Raíz	47
4.3.2 Contenido de agua.....	47

4.3.2.1 Suculencia.....	47
4.3.2.1 Contenido relativo de agua	48
4.3.3 Fotosíntesis	49
4.3.3.1 Acumulación de acidez nocturna	49
4.3.3.2 Fluorescencia de la clorofila	50
4.3.3.3 Contenido de pigmentos	51
4.3.3.3.1 Clorofila <i>a</i>	51
4.3.3.3.2 Clorofila <i>b</i>	53
4.3.3.3.3 Clorofila <i>a/b</i>	55
4.3.3.3.4 Clorofila total	56
4.3.3.3.5 Carotenoides	57
5. Discusión.....	59
5.1 Capacidad de producción de EPS por las cepas bacterianas del consorcio en condiciones de estrés hídrico.	59
5.2 Efectos de la inoculación del consorcio de PGPR, sobre la velocidad y porcentaje de germinación de semillas de <i>E. platyacanthus</i> bajo diferentes tratamientos de estrés hídrico inducido.	60
5.3 Efectos de la inoculación del consorcio de PGPR, sobre los parámetros fisiológicos de plántulas de <i>E. platyacanthus</i> ante la suspensión del riego.....	64
6. Conclusiones.....	67
7. Bibliografía	68

Lista de tablas

Tabla 1. Cepas del consorcio y sus rasgos promotores del crecimiento vegetal ..12	12
Tabla 2. Concentraciones de las curvas patrón de los carbohidratos de referencia 15	15
Tabla 3. Tratamientos para el ensayo de germinación.....17	17
Tabla 4. Variables de respuesta evaluadas en semillas de <i>E. platyacanthus</i>18	18
Tabla 5. Tratamientos en plántulas de <i>E. platyacanthus</i>21	21
Tabla 6. Variables de respuesta evaluadas en plántulas de <i>E. platyacanthus</i>25	25
Tabla 7. Valores promedio y desviación estándar (n = 3) de la producción de exopolisacáridos por las cepas bacterianas bajo los diferentes tratamientos de estrés hídrico, las letras indican diferencias significativas.....30	30
Tabla 8. Resultados del ANOVA de dos vías en la producción de exopolisacáridos por las cepas bacterianas (**P<0.001, * P<0.01, * P<0.05).....31	31
Tabla 8. Variables ecofisiológicas evaluadas en plántulas de <i>E. platyacanthus</i> y utilizadas en el análisis canónico discriminante y su contribución parcial a las funciones expresadas por los coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes. El asterisco en el coeficiente estandarizado indica el poder de discriminación de la variable.31	31
Tabla 9. Resumen de los resultados del análisis discriminante canónico de las variables ecofisiológicas de plántulas de <i>E. platyacanthus</i>40	40
Tabla 10. Variables ecofisiológicas evaluadas en plántulas de <i>E. platyacanthus</i> y utilizadas en el análisis canónico discriminante y su contribución parcial a las funciones expresadas por los coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes. El asterisco en el coeficiente estandarizado indica el poder de discriminación de la variable.....40	40
Tabla 11. Longitud de raíz de plántulas de <i>E. platyacanthus</i> 75 días posteriores a la aplicación de los tratamientos de inoculación y con riego en suelo estéril y no estéril. Se muestra la media y desviación estándar (n = 15).47	47
Tabla 12. Resultados del ANOVA de tres vías para la longitud de raíz de plántulas de <i>E. platyacanthus</i> al final del experimento (**P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05).....47	47
Tabla 13. Concentraciones de clorofila <i>a/b</i> de plántulas de <i>E. platyacanthus</i> 75 días posteriores a la aplicación de los tratamientos de inoculación y riego en suelo estéril y no estéril. Se muestra la media y desviación (n = 15).....55	55
Tabla 14. Resultados del ANOVA de tres vías para la concentración de clorofila <i>a/b</i> de plántulas de <i>E. platyacanthus</i> al final del experimento (**P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05).....56	56

Lista de figuras

- Figura 1. Esquema que ejemplifica cada uno de los objetivos específicos, los cuales están enfocados en conocer si: 1) Las cepas bacterianas seleccionadas pueden producir EPS, 2) La inoculación mejora la germinación y 3) La inoculación mejora el desarrollo y supervivencia de plántulas de *E. platyacanthus*.11
- Figura 2. Esquema general de la metodología del experimento 1. Este experimento se divide en dos partes, la extracción de los EPS producidos por las cepas bacterianas desarrolladas bajo condiciones de estrés hídrico inducido con PEG 8000 a -0.2 MPa y -0.73 MPa y su cuantificación mediante colorimetría a 315 nm.13
- Figura 3. Esquema general de la metodología del experimento 2. En primer lugar, se llevó a cabo la preparación del inóculo, posteriormente se inocularon las semillas de *E. platyacanthus* y se colocaron sobre un sustrato de algodón humedecido con PEG 8000 que simularía los potenciales seleccionados, después se pusieron a germinar en una cámara de germinación y se revisaron diariamente para registrar la germinación.18
- Figura 4. Esquema general de la metodología del experimento 3. Para este experimento fue necesario germinar y crecer plántulas de *E. platyacanthus* durante 120 días, las cuales fueron sometidas a los diferentes tratamientos de inoculación y riego. Para conocer el efecto de la inoculación se evaluaron algunos parámetros morfológicos y ecofisiológicos en las plántulas al inicio y al final del experimento.18
- Figura 5. Capacidad de producción de glucosa de las cepas bacterianas bajo los diferentes tratamientos de estrés hídrico inducido (concentraciones de PEG). Se muestran valores promedio \pm error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$) en la prueba post-hoc de Tukey.28
- Figura 6. Capacidad de producción de sacarosa de las cepas bacterianas bajo diferentes tratamientos de estrés hídrico (concentraciones de PEG). Se muestran valores promedio \pm error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$) en la prueba post-hoc de Tukey.29
- Figura 7. Capacidad de producción de almidón de las cepas bacterianas bajo diferentes tratamientos de estrés hídrico (concentraciones de PEG). Se muestran valores promedio \pm error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$) en la prueba post-hoc de Tukey.30
- Figura 8. Embriones de semillas de *E. platyacanthus*. a) Embrión viable teñido de rojo; b) Embrión no viable.32
- Figura 9. Germinabilidad en semillas de *E. platyacanthus* con los diferentes tratamientos de sanitización, inoculación y potencial hídrico. Se muestran valores promedio \pm error estándar.33
- Figura 10. Germinabilidad en semillas de *E. platyacanthus* con los diferentes tratamientos de sanitización y potenciales hídricos. Se muestran valores promedio \pm error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos (P

< 0.05) en la prueba post hoc de Tukey.	34
Figura 11. Tiempo medio de germinación (TGM) en semillas de <i>E. platyacanthus</i> con los diferentes tratamientos de sanitización, inoculación y potenciales hídricos. Se muestran valores promedio \pm error estándar. Las interacciones entre tratamientos no fueron significativas.	35
Figura 12. Semillas no sanitizadas germinadas al día 30 del experimento en los diferentes potenciales hídricos. Se puede observar que conforme disminuyen los potenciales hídricos, disminuye la germinación de las semillas. Además, se puede notar que las semillas fueron invadidas por hongos.....	36
Figura 13. Semillas no sanitizadas + inóculo germinadas al día 30 del experimento en los diferentes potenciales hídricos. Se puede observar que conforme disminuyen los potenciales hídricos, disminuye la germinación de las semillas. Además, se puede notar que las semillas fueron invadidas por hongos.....	37
Figura 14. Semillas sanitizadas germinadas al día 30 del experimento en los diferentes potenciales hídricos. Se puede observar que conforme disminuyen los potenciales hídricos, disminuye la germinación de las semillas. A diferencia de las semillas no sanitizadas, las sanitizadas no fueron invadidas por hongos y se observó mayor germinación.	38
Figura 15. Semillas sanitizadas + inóculo germinadas al día 30 del experimento en los diferentes potenciales hídricos. Se puede observar que conforme disminuyen los potenciales hídricos, disminuye la germinación de las semillas. Además, se puede notar que a diferencia de las semillas no sanitizadas, las sanitizadas no fueron invadidas por hongos y se observó mayor germinación.....	39
Figura 16. Disposición de los ocho tratamientos utilizando los centroides, las dos funciones discriminantes canónicas (a) y vectores de tendencia lineal de las variables ecofisiológicas consideradas (b).	42
Figura 17. Diferencias en la longitud del tallo en plántulas de <i>E. platyacanthus</i> como variable ecofisiológica evaluada al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm y desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).	43
Figura 18. Plántulas de <i>E. platyacanthus</i> bajo los diferentes tratamientos de esterilidad, inoculación y riego al final del experimento. En la parte superior se encuentran las plántulas que se regaron a lo largo del experimento (a, b, c y d) y en la parte inferior las que no fueron regadas (e, f, g y h). Los círculos amarillos muestran las plántulas que fueron inoculadas.	44
Figura 19. Plántulas de <i>E. platyacanthus</i> de los tratamientos de suelo estéril con riego sin inóculo (b) y con inóculo (d). Se pueden observar las plántulas al inicio (a y c) y al final del experimento (b y d).....	45
Figura 20. Plántulas de <i>E. platyacanthus</i> de los tratamientos de suelo estéril sin riego, sin inóculo (b) y con inóculo (d). Se pueden observar las plántulas al inicio (a y c) y al final del experimento (b y d).....	45
Figura 21. Plántulas de <i>E. platyacanthus</i> de los tratamientos de suelo no estéril	

con riego, sin inóculo (b) y con inóculo (d). Se pueden observar las plántulas al inicio (a y c) y al final del experimento (b y d).....	46
Figura 22. Plántulas de <i>E. platyacanthus</i> de los tratamientos de suelo no estéril sin riego, sin inóculo (b) y con inóculo (d). Se pueden observar las plántulas al inicio (a y c) y al final del experimento (b y d).....	46
Figura 23. Diferencias en la succulencia en plántulas de <i>E. platyacanthus</i> al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos.....	48
Figura 24. Diferencias en el contenido relativo de agua en plántulas de <i>E. platyacanthus</i> al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm y desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.01$).....	49
Figura 25. Diferencias en la actividad CAM en plántulas de <i>E. platyacanthus</i> al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm y desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.001$).....	50
Figura 26. Diferencias en la eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) en plántulas de <i>E. platyacanthus</i> al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm y desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.001$).	51
Figura 27. Diferencias en la concentración de clorofila <i>a</i> en plántulas de <i>E. platyacanthus</i> al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.01$).....	52
Figura 28. Diferencias en la concentración de clorofila <i>a</i> en plántulas de <i>E. platyacanthus</i> al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días, en tratamientos de esterilidad en el sustrato. Se muestran los valores promedio \pm y desviación estándar. La interacción esterilidad x riego x inoculación no fue significativa ($P > 0.05$)	53
Figura 29. Diferencias en la concentración de clorofila <i>b</i> en plántulas de <i>E. platyacanthus</i> como variable ecofisiológica evaluada al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.001$).....	54
Figura 30. Diferencias en la concentración de clorofila <i>b</i> en plántulas de <i>E.</i>	

platyacanthus como variable ecofisiológica evaluada al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días, en tratamientos de esterilidad en el sustrato. Se muestran los valores promedio \pm y la desviación estándar. La interacción esterilidad x riego x inoculación no fue significativa.54

Figura 31. Diferencias en las concentraciones de clorofilas totales en plántulas de *E. platyacanthus* evaluadas al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días, en tratamientos de esterilidad en el sustrato. Se muestran los valores promedio \pm y desviación estándar. No se muestran letras indicando diferencias porque la interacción esterilidad x riego x inoculación no fue significativa ($P > 0.05$).55

Figura 32. Diferencias en la concentración de carotenoides ($\mu\text{g/g}$ de peso fresco (FW)) en plántulas de *E. platyacanthus* al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm y la desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.01$).57

Resumen

“Respuestas ecofisiológicas de *Echinocactus platyacanthus* en interacción con un consorcio microbiano ante estrés hídrico”

Echinocactus platyacanthus es una cactácea en riesgo debido a su lento crecimiento, a la extracción ilegal y a la degradación de su hábitat. La sequía es una amenaza significativa para las etapas tempranas de los individuos de esta especie y es un fenómeno cada vez más acentuado debido al cambio climático. Existen bacterias benéficas que en interacción con la planta pueden generar interacciones benéficas como la mejora en la absorción de nutrientes, producción de fitohormonas, mejora de la tolerancia al estrés hídrico, protección contra patógenos, entre otras., por lo tanto, se busca determinar si la inoculación con cepas bacterianas previamente aisladas de la raíz y de las semillas de esta especie puede aumentar la capacidad de germinación de las semillas y supervivencia de las plántulas en condiciones de déficit hídrico. El objetivo general del estudio fue evaluar cómo la interacción entre un consorcio de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés) y *E. platyacanthus* puede conferir mayor tolerancia a la escasez de agua en las primeras etapas del desarrollo. En este proyecto se ensambló un consorcio con cepas bacterianas con rasgos promotores del crecimiento vegetal capaces de producir exopolisacáridos (EPS), los cuales pueden contribuir a retener la humedad en el suelo, beneficiando a las plantas durante los periodos de escasez de agua y permitiéndoles sobrevivir en condiciones adversas. Se determinó la capacidad de producción de EPS por parte de las cepas bacterianas bajo escasez de agua, se probó el efecto de la inoculación específica del consorcio en la germinación de semillas bajo niveles diferentes de estrés hídrico y se analizaron los efectos de la inoculación en diversos parámetros fisiológicos de las plántulas sometidas a supresión de riego. Sin embargo; los resultados de la inoculación con el consorcio de PGPR no mostraron un efecto benéfico significativo durante la germinación de las semillas, por lo cual se resalta la importancia de considerar qué otros factores influyen durante esta etapa y la necesidad de investigaciones adicionales para comprender esta dinámica. Por otra parte, se observaron efectos positivos durante el crecimiento temprano de las plántulas de *E. platyacanthus* inoculadas con el consorcio de PGPR bajo condiciones de estrés hídrico, demostrados por mejoras en parámetros ecofisiológicos como el contenido relativo de agua, succulencia, longitud del tallo y el contenido de carotenoides. Estos resultados sugieren que las PGPR pueden contribuir al aumento de la tolerancia a la escasez de agua, así como promover el crecimiento y la supervivencia de las plántulas en condiciones adversas. Aunque se reconoce la necesidad de una comprensión más profunda de los mecanismos subyacentes, estos hallazgos

abren perspectivas prometedoras para el uso de PGPR en la mejora de la tolerancia a la escasez de agua en especies de plantas silvestres en alguna categoría de riesgo, lo que podría llevar a aplicaciones prácticas más efectivas en la conservación de la flora en ambientes áridos.

Palabras clave: Cactaceae, carotenoides, consorcio, contenido relativo de agua, exopolisacáridos (EPS), inoculación, longitud de tallo, plántulas, semillas, succulencia.

Abstract

"Eco-physiological responses of *Echinocactus platyacanthus* in interaction with a microbial consortium under water stress"

Echinocactus platyacanthus is an at-risk cactus species due to its slow growth, illegal harvesting, and habitat degradation. Drought is a significant threat to the early stages of individuals of this species and is an increasingly pronounced phenomenon due to climate change. There are beneficial bacteria that, in interaction with the plant, can generate positive effects such as improved nutrient absorption, production of phytohormones, enhanced drought tolerance, and protection against pathogens, among others. Therefore, this study aims to determine whether inoculation with bacterial strains previously isolated from the roots and seeds of this species can increase seed germination capacity and seedling survival under water deficit conditions. The general objective of the study was to evaluate how the interaction between a consortium of plant growth-promoting bacteria (PGPR) and *E. platyacanthus* could confer greater tolerance to water scarcity during the early developmental stages. In this project, a consortium was assembled with bacterial strains exhibiting plant growth-promoting traits capable of producing exopolysaccharides (EPS), which can help retain moisture in the soil, benefiting plants during water shortages and enabling them to survive under adverse conditions. The ability of the bacterial strains to produce EPS under water scarcity was determined, the effect of specific consortium inoculation on seed germination under varying levels of water stress was tested, and the effects of inoculation on various physiological parameters of seedlings subjected to water suppression were analyzed. It was demonstrated that the bacterial strains forming the consortium are capable of producing EPS under water scarcity. However, the results of the inoculation with the PGPR consortium under the experimental conditions did not show a significant beneficial effect during seed germination, highlighting the importance of considering other factors influencing this stage and the need for further research to understand this dynamic. On the other hand, positive effects were observed during the early growth of *E. platyacanthus* seedlings inoculated with the PGPR consortium under water stress conditions, as evidenced by improvements in eco-physiological parameters such as relative water content, succulence, stem length, and carotenoid content. These results suggest that PGPR can contribute to increased drought tolerance, as well as promote growth and survival of seedlings under adverse conditions. Although a deeper understanding of the underlying mechanisms is needed, these findings open promising perspectives for the use of PGPR in improving drought tolerance in wild plant species at risk, which could lead to more effective practical applications in the conservation of flora in arid environments.

Keywords: Cactaceae, carotenoids, relative water content, consortium, exopolysaccharides (EPS), inoculation, stem length, seedlings, seeds, succulence.

1. Introducción

La sequía es un período prolongado de disminución del contenido de humedad en el suelo como consecuencia de un período largo de precipitación escasa, la cual puede presentarse de forma natural y estacional en las zonas áridas (Goswami & Deka, 2020). Este fenómeno se ve potenciado como efecto del cambio climático y se ha pronosticado que la severidad, recurrencia y duración de la sequía en ecosistemas áridos y semiáridos vaya en aumento (IPCC, 2021).

Cabe mencionar que la mayor parte del territorio mexicano está constituido por zonas áridas y semiáridas, donde la precipitación es escasa y en ocasiones las sequías se pueden prolongar (Chávez-Ambriz *et al.*, 2016). Por lo tanto, en estos ecosistemas las condiciones de humedad juegan un papel fundamental en las primeras etapas del desarrollo de las plantas; la escasez de agua representa una fuerte amenaza para éstas, afectando su crecimiento general y produciendo un impacto negativo en sus primeras etapas del desarrollo (Lai *et al.*, 2016).

El potencial hídrico es la principal fuerza impulsora para transportar agua desde las raíces hasta las hojas. El agua se mueve en respuesta al gradiente de potencial hídrico desde mayor potencial hacia menor potencial. El potencial hídrico está en orden decreciente para el suelo, raíces, tallo, hojas y atmósfera, respectivamente. En respuesta a este orden decreciente de potencial hídrico, el agua fluye a través de la corriente de transpiración desde las raíces hasta las hojas y luego se pierde en la atmósfera (Parkash & Singh, 2020). El potencial hídrico es la energía potencial de una masa de agua, de modo que es útil para describir la cantidad de agua disponible para las plantas y evaluar el movimiento del agua en el suelo. Este se expresa en unidades de presión (MPa) y se consideran potenciales más cercanos a 0 en suelos húmedos y más negativos en lugares secos (Munns, 2011). Por consiguiente, la limitación de agua y la sequía reducen el potencial hídrico del suelo y la capacidad de las plantas para absorber agua, causando estrés hídrico y, por lo tanto, pérdida en la salud amenazando su supervivencia (Kasim *et al.*, 2013), ocasionando alteraciones en las respuestas fisiológicas, bioquímicas y moleculares de las plantas. Algunas de estas

respuestas son: disminución de la tasa de fotosíntesis, aumento del daño a los lípidos, fotorrespiración, producción de etileno, desequilibrio de las fitohormonas, alteración de la homeostasis de las células e inducción de altos niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Fahad *et al.*, 2015; Tiwari *et al.*, 2016; Talaat & Shawky, 2017). La falta de agua reduce el crecimiento de las plantas y provoca daño oxidativo en los tilacoides por la producción de ROS, impactando el contenido de clorofila y carotenoides de las plantas, causando degradación de los complejos centrales de los fotosistemas I y II, inhibiendo el proceso fotoquímico esencial (Chandra *et al.*, 2021).

Sin embargo, las plantas presentes en los desiertos, al crecer en uno de los ecosistemas más secos de la tierra, donde se combinan las precipitaciones escasas y las temperaturas extremas, han desarrollado diversos mecanismos que les permiten hacer frente a estas condiciones ambientales (Hashem & Mohamed, 2020). Las estrategias de las plantas que crecen en zonas áridas incluyen adaptaciones fisiológicas, morfológicas, anatómicas y moleculares que les permiten tolerar la sequía. Estas estrategias incluyen mantener su metabolismo relativamente normal en presencia de baja concentración de agua, cerrar los estomas para evitar la pérdida de agua por transpiración, ajustar osmóticamente, mejorar la capacidad antioxidante, acumular osmoprotectores (como prolina, betaína y glicina), modificar los pigmentos para preservar las funciones celulares, realizar ajustes metabólicos, y cambiar la arquitectura de la raíz mediante una mayor producción de fitohormonas (auxinas, citoquininas, ácido giberélico y ácido abscísico) que favorecen la eficiencia en el uso del agua y su extracción del suelo (Timmusk *et al.*, 2014; Fahad *et al.*, 2015; Ngumbi & Kloepper, 2016; Hashem & Mohamed, 2020).

Particularmente las plantas que pertenecen a la familia Cactaceae poseen adaptaciones a la escasez de agua que limitan su daño o muerte por estrés, como cutícula gruesa, baja densidad estomática, metabolismo fotosintético ácido de las crasuláceas, espinas en lugar de hojas para evitar pérdida por evapotranspiración, succulencia y tallos fotosintéticos (los cuales poseen clorofilas) que les permiten

sobrevivir en ambientes áridos (Ogburn & Edwards, 2012). Sin embargo; la fisiología y morfología de las plantas puede ser afectada por el estrés abiótico (Ma *et al.*, 2020). A continuación se detallarán variables ecofisiológicas de interés que nos ayudan a conocer su respuesta ante estrés ambiental (De la Rosa-Manzano *et al.*, 2016; Estrada-González *et al.*, 2023).

Las plantas utilizan clorofilas y carotenoides para capturar la luz necesaria para la fotosíntesis, los carotenoides están involucrados en la fotoprotección y fotoreparación además la tasa fotosintética está relacionada con el contenido de clorofila, siendo unos de los indicadores de la capacidad fotosintética de las plantas (De la Rosa-Manzano *et al.*, 2016). No obstante, en ambientes áridos, las plantas tienen un bajo contenido de clorofila como mecanismo de adaptación para limitar la absorción de la radiación solar, presentando mayor estabilidad de la clorofila en condiciones de estrés (Hashem & Mohamed, 2020). Así mismo, el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM), aumenta la eficiencia del uso del agua, pues los estomas se abren de noche, el CO₂ se fija cuando las temperaturas son más bajas y la humedad relativa es alta, esto permite reducir la pérdida de agua, adaptarse y sobrevivir mejor a los climas más secos (Hernández-González & Villarreal, 2007; Hashem & Mohamed, 2020). Así, para evaluar los patrones relacionados con la fotosíntesis CAM de acumulación nocturna de acidez, se examina la acidez titulable (De la Rosa-Manzano *et al.*, 2016). Además, la succulencia permite a las plantas llevar a cabo las funciones fisiológicas cuando no existe una fuente externa de agua, pues el agua almacenada en sus tejidos es aprovechada garantizando el suministro de agua para apoyar las funciones fisiológicas de la planta (Ogburn & Edwards, 2012). También las mediciones de las variables relacionadas con la fluorescencia de la clorofila como la eficiencia fotoquímica del PSII (Φ_{PSII}), la eficiencia cuántica máxima del PSII (F_v/F_m) y la tasa de transporte de electrones (ETR, por sus siglas en inglés), aportan información acerca del desempeño fotosintético de las plantas (De la Rosa-Manzano *et al.*, 2016). A pesar de los mecanismos adaptativos utilizados por las plantas de la familia Cactaceae para soportar el estrés hídrico, estas pueden llegar a morir si la

escasez de agua se prolonga, siendo más vulnerables en las primeras etapas del desarrollo (de la Torre-Hernández *et al.*, 2020; Chandra *et al.*, 2021).

Echinocactus platyacanthus es una cactácea en forma de barril que puede llegar a medir hasta 2 metros de alto y 1 metro de diámetro. Esta característica depende del lugar en el que se desarrolla la planta, además, se le conoce como “biznaga burra” o “biznaga dulce”. Prospera en el matorral xerófilo, tanto en laderas como en terrenos planos estacionalmente inundables, en una altitud entre los 1100 y 2400 metros sobre el nivel del mar (Aragón Gastélum, 2011) y se localiza en el desierto chihuahuense en Coahuila, Guanajuato, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas, así como en el sur del Valle de Tehuacán, en Puebla y Oaxaca, así como en la Barranca de Metztitlán en Hidalgo y en regiones semiáridas de Querétaro, correspondientes al Desierto Queretano-Hidalguense (Castañeda Romero *et al.*, 2016).

Se han reconocido tres formas de *Echinocactus platyacanthus*, las cuales están separadas por el Eje Volcánico en dos zonas geográficas: la primera está presente en el Valle de Tehuacán, Puebla, donde crece *Echinocactus platyacanthus* forma *grandis*; la segunda está distribuida en el desierto Queretano-Hidalguense, en donde crece la forma *platyacanthus* en los valles intermontanos y barrancas profundas de los estados de Hidalgo y Querétaro y por último la forma *biznaga*, esta se distribuye en el altiplano en los estados de Guanajuato, San Luis Potosí, Zacatecas, Nuevo León y Tamaulipas, en el Desierto Chihuahuense (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1991).

A pesar de tener una amplia distribución esta especie es de lento crecimiento, sus plántulas rara vez se ven en la naturaleza, tiene una baja tasa de reproducción y su mortalidad media anual en poblaciones naturales es más alta para las plántulas que para adultos (de la Torre-Hernández *et al.*, 2020; Rosas *et al.*, 2021). La suma de la destrucción de su hábitat, sobreexplotación, consumo humano para la elaboración de dulce de acitrón y su uso ornamental ha puesto en grave peligro a las poblaciones naturales de esta especie, por lo cual se encuentra protegida por la NOM-059-SEMARNAT-2010 en la categoría “sujeta a protección especial” (Pr),

así como en el Apéndice II de la Convención sobre Comercio de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestre (CITES), y en la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), en la categoría “casi amenazada (NT)” (SEMARNAT, 2010; Aragón-Gastélum *et al.*, 2014; de la Torre Hernández *et al.*, 2020; UICN, 2021).

En estudios previos se ha reportado la importancia de la interacción de las plantas con microorganismos benéficos en la mejora de la tolerancia al estrés de especies de zonas áridas (Ma *et al.*, 2020), pues algunos microorganismos del suelo asociados a las plantas pueden ayudar a superar parcialmente los efectos mortales de la escasez de agua al ofrecer protección contra la desecación, al mantener un ambiente húmedo y propicio para su crecimiento y desarrollo (Kavamura *et al.*, 2013). Por ejemplo, las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés), las cuales son un grupo diverso de bacterias que promueven el crecimiento de las plantas mediante diferentes mecanismos, muestran una excelente capacidad de colonizar raíces, esto les permite interactuar con la planta y por lo tanto, son capaces de promover su crecimiento (Fahad *et al.*, 2015; Goswami & Deka, 2020). Es preciso mencionar que para que las PGPR puedan beneficiar a las plantas con las que interactúan, es necesario que se establezcan exitosamente en el ambiente y en el caso particular de los desiertos que tengan la capacidad de soportar las condiciones extremas y que al igual que las plantas, las bacterias presenten mecanismos que les permitan sobrevivir en este ambiente hostil (Saleem *et al.*, 2018).

Las PGPR presentan diversos mecanismos que inducen en conjunto el crecimiento de las plantas al promover la adquisición de nutrientes, como nitrógeno, fósforo y hierro; de igual modo previenen y disminuyen el daño a las plantas por organismos patógenos (principalmente hongos y bacterias); también estimulan directamente el crecimiento de las plantas al producir fitohormonas, como ácido abscísico (ABA), citoquininas, giberelinas, reduciendo los niveles de etileno de las plantas mediante la acción de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa, propiciando cambios morfológicos en las raíces de

las plantas (Compant *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2012; Surówka *et al.*, 2020; Bonatelli *et al.*, 2021). Asimismo, en condiciones de estrés hídrico prolongado secretan osmolitos (prolina, betaína, glicina), exopolisacáridos (EPS) y antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), peroxidasa (POX), que les permiten a las plantas mejorar su tolerancia al estrés (Kim *et al.*, 2012; Chiappero *et al.*, 2019; de Vries *et al.*, 2020; Goswami & Deka, 2020; Surówka *et al.*, 2020).

Por su parte, los EPS producidos por las PGPR en condiciones de estrés hídrico tienen un papel fundamental en el aumento de la tolerancia a la sequía de las plantas (Eke *et al.*, 2019). Los EPS protegen a los microorganismos y a la planta de la desecación, ya que mejoran la retención de agua y regulan la difusión de fuentes de carbono; asimismo, ayudan a la adhesión y colonización de bacterias, aumentando la agregación del suelo, dando como resultado una mejor absorción de nutrientes y de agua del suelo de la rizosfera (Sandhya *et al.*, 2010; Niu *et al.*, 2018;). Por lo tanto, las plantas tratadas con bacterias productoras de EPS muestran un mejor crecimiento y mayor resistencia al estrés hídrico (Kavamura *et al.*, 2013; Sandhya *et al.*, 2009; Niu *et al.*, 2018).

Algunas de las cepas de ambientes áridos caracterizadas por tener rasgos promotores del crecimiento vegetal como producción de ácido indolacético (AIA), giberelinas, citoquininas, sideróforos, solubilización de fósforo, fijación de nitrógeno, producción de compuestos antifúngicos son: *Bacillus thuringiensis* (Azizoglu, 2019; De Almeida *et al.*, 2021), *Bacillus subtilis* (Blake *et al.*, 2021; A. Hashem *et al.*, 2019), *Bacillus toyonensis* (Contreras-Pérez *et al.*, 2019; Essalimi *et al.*, 2022) y *Achromobacter* (Abdel-Rahman *et al.*, 2017; Rashad *et al.*, 2022; Wass *et al.*, 2019).

Stenotrophomonas es un género de bacterias que incluye varias especies, algunas de las cuales han sido reconocidas por sus características de promoción del crecimiento de las plantas como: fijación de nitrógeno, solubilización de fósforo, producción de AIA, sideróforos, exopolisacáridos, actividad antagónica contra patógenos, tolerancia sistémica inducida, resistencia al estrés biótico y

abiótico (Aeron *et al.*, 2020; Ali & Osman, 2022; R. P. Singh & Jha, 2017; Ulrich *et al.*, 2021).

La inoculación con PGPR se ha utilizado ampliamente en el área agrícola con el fin de mitigar los efectos del estrés hídrico y mejorar el rendimiento de los cultivos (Martins *et al.*, 2018; Saleem *et al.*, 2018); sin embargo, esta estrategia también tiene potencial para ser empleada en el área de la restauración ambiental y conservación de especies vegetales de zonas áridas, al inocular plantas que se encuentren en alguna categoría de riesgo, para promover su supervivencia y crecimiento (Kavamura *et al.*, 2013; Bashan *et al.*, 2014; Chávez-Ambriz *et al.*, 2016). Generalmente las cepas individuales o que conforman consorcios bacterianos con fines de inoculación han sido aisladas de la rizosfera de las plantas en las que se pretenden inocular, así como de plantas de ambientes áridos con alta tolerancia a la escasez de agua (Kavamura *et al.*, 2013; Chávez-Ambriz *et al.*, 2016) y se ha probado su potencial como promotoras del crecimiento vegetal en condiciones de estrés hídrico (Eke *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2019).

Entre los estudios iniciales con PGPR como inóculos de plantas silvestres, se encuentra un estudio realizado por Puente & Bashan (1993) en el que se inocularon semillas de *Pachycereus pringlei* (cardón) con *Azospirillum brasilense*, lo cual mejoró la germinación y los parámetros de crecimiento de las plántulas (altura, diámetro, volumen y establecimiento). De igual forma Carrillo-García *et al.* (2000) y Bacilio *et al.* (2006) inocularon semillas de *Pachycereus pringlei* con *Azospirillum brasilense*. Carrillo-García *et al.* (2000) encontraron un crecimiento mejorado de raíces y brotes de plántulas de cardón inoculadas que crecían en suelos pobres, mientras que Bacilio *et al.* (2006) probaron diferentes sustratos, demostrando que efectivamente la inoculación con *Azospirillum brasilense* tiene un efecto positivo en el desarrollo del cactus, sin embargo la adición de compost tuvo un efecto más importante. También Puente *et al.* (2009) trabajaron con *Pachycereus pringlei* donde se argumentó que cuando las semillas de cardón se inocularon con bacterias endofíticas, las plántulas lograron crecer en roca pulverizada durante al menos un año sin fertilización y sin mostrar efectos

adversos en su salud, además que la asociación bacteria-planta liberó cantidades significativas de nutrientes.

Por otro lado Kavamura *et al.* (2013), identificaron y caracterizaron rizobacterias de tres cactus brasileños *Cereus jamacaru*, *Melocactus sp* y *Pilosocereus gounellei*, las cuales fueron capaces de crecer en condiciones de bajo contenido de agua y exhibieron rasgos de promoción del crecimiento de las plantas como solubilización de fósforo y producción de AIA. También en un estudio realizado por Chávez-Ambriz *et al.* (2016) se aislaron cepas bacterianas del género *Bacillus* de la rizosfera de *Mammillaria magnimamma* y *Coryphantha radians*, las cuales exhibieron rasgos promotores del crecimiento *in vitro* como solubilización de fósforo, producción de AIA y actividad ACC desaminasa. Posteriormente fueron inoculadas en semillas de *Mammillaria magnimamma* y plantas de *Mammillaria zeilmanniana*, donde se encontró que las PGPR aisladas incrementaron la germinación de *Mammillaria magnimamma* desde un 17% hasta un 34.3% respecto a las semillas testigo sin inocular, mientras que en plantas de *Mammillaria zeilmanniana* se observó un efecto positivo sobre la floración, pues se detectó un incremento en el número de plantas en floración con respecto a las plantas testigo, de hasta el 31%.

En otro estudio realizado por Sarria Carabalí *et al.* (2019) se analizó el efecto de la contaminación del suelo por zinc sobre la biodiversidad de la microbiota asociada a *E. platyacanthus* para explicar su alta tolerancia al estrés ambiental. Encontraron que las altas concentraciones de Zn pueden tener efectos negativos sobre la comunidad rizosférica de esta planta al manifestar pérdidas de grupos bacterianos que tienen funciones esenciales. Asimismo, Sarria Carabalí *et al.* (2020) observaron que la contaminación con cadmio en grandes cantidades cambia significativamente la estructura de la comunidad bacteriana rizosférica de *E. platyacanthus* y que puede tener efectos negativos en su funcionamiento, especialmente en la movilización de nitrógeno, a pesar de que *E. platyacanthus* no mostró signos de estrés fisiológico reflejado en el rendimiento fotosintético. También de la Torre-Hernández *et al.* (2020) analizaron por primera vez las

comunidades bacterianas rizosféricas asociadas a *E. platyacanthus* que crecen en condiciones silvestres y cultivadas. Las cepas obtenidas se analizaron para conocer sus rasgos promotores del crecimiento (producción de AIA, solubilización de fosfato, producción de sideróforos, control biológico del crecimiento de hongos), demostrando que las cepas obtenidas de plantas silvestres tienen mejores rasgos promotores del crecimiento vegetal, enfatizando que las plantas silvestres son una fuente de PGPR con diversas actividades metabólicas, que pueden ser esenciales en la adaptación de los cactus en sus entornos naturales. Por otro lado, Mascot-Gómez *et al.* (2021), examinaron las comunidades bacterianas presentes en las semillas de *E. platyacanthus*, las cuales cuentan con rasgos promotores del crecimiento vegetal, adicionalmente demostraron que el género *Stenotrophomonas* es dominante tanto en las comunidades bacterianas episeminales como endoseminales. Además, realizaron un experimento en el que eliminaron las comunidades microbianas episeminales mediante lavados, lo cual afectó negativamente su tiempo medio de germinación y el porcentaje de germinación, en consecuencia, precisaron la importancia del microbioma episeminal en la germinación y protección de semillas de esta especie. Asimismo, Estrada-González *et al.* (2023) dieron a conocer que *E. platyacanthus* muestra cambios fisiológicos entre las estaciones de lluvia y de secas. Durante la estación seca, para responder a la escasez de agua y nutrientes en el suelo, realiza ajustes fisiológicos como el aumento de clorofila *a* y carotenoides, dando como resultados la modificación de los aminoácidos exudados por la raíz y por lo tanto de la comunidad bacteriana rizosférica, proponiendo que la tolerancia a la sequía podría deberse a la interacción entre los mecanismos reguladores fisiológicos y las relaciones simbióticas con las bacterias del suelo mediadas por los compuestos exudados por sus raíces.

En este trabajo se plantean las siguientes preguntas ¿Tienen las cepas bacterianas seleccionadas la capacidad de producir EPS en condiciones de estrés hídrico? ¿La inoculación con un consorcio bacteriano con rasgos promotores del crecimiento vegetal puede mejorar el tiempo medio de germinación y la germinabilidad de semillas de *E. platyacanthus* bajo estrés hídrico inducido, así

como la supervivencia y los parámetros ecofisiológicos de las plántulas ante la eliminación del riego?, por lo cual se plantean las siguientes hipótesis.

1.1. Hipótesis

- Las cepas bacterianas que componen el consorcio microbiano contribuirán a la retención de humedad en condiciones de estrés hídrico mediante la producción de EPS, como un mecanismo de tolerancia adaptativo.
- La inoculación con el consorcio de PGPR mejorará significativamente la germinación de las semillas y el desarrollo de las plántulas de *Echinocactus platyacanthus* bajo condiciones de estrés hídrico, reflejándose en mejoras en los parámetros ecofisiológicos de las plántulas.

1.2. Objetivo general

Evaluar la capacidad de un consorcio de bacterias promotoras del crecimiento vegetal para conferir mayor tolerancia al estrés hídrico a *Echinocactus platyacanthus* en etapas tempranas de desarrollo.

1.3. Objetivos específicos

1. Determinar la capacidad de producción de EPS por las cepas bacterianas del consorcio en condiciones de estrés hídrico.
2. Probar los efectos de la inoculación del consorcio de PGPR, sobre el tiempo medio de germinación y germinabilidad de semillas de *Echinocactus platyacanthus* bajo diferentes tratamientos de estrés hídrico inducido.
3. Determinar los efectos de la inoculación del consorcio de PGPR, sobre los parámetros fisiológicos de plántulas de *Echinocactus platyacanthus* ante la supresión del riego.

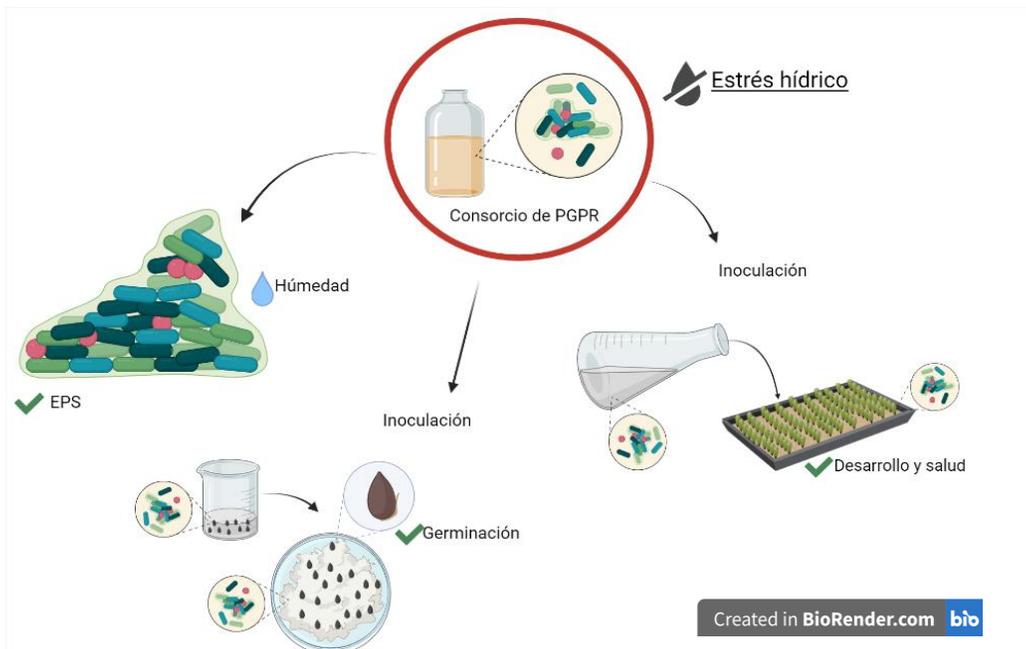


Figura 1. Esquema que ejemplifica cada uno de los objetivos específicos, los cuales están enfocados en conocer si: 1) Las cepas bacterianas seleccionadas pueden producir EPS, 2) La inoculación mejora la germinación y 3) La inoculación mejora el desarrollo y supervivencia de plántulas de *E. platyacanthus*.

Por cada objetivo se realizó un experimento diferente y más adelante serán presentados como capítulos.

2. Materiales y métodos

2.1. Caracterización de cepas bacterianas

Las cepas bacterianas que se caracterizaron por su capacidad para producir EPS y posteriormente se utilizaron para conformar el consorcio con el que se inocularon las semillas y las plántulas de *E. platyacanthus*, fueron aisladas de las semillas y de la rizosfera de esta misma especie (Estrada González, 2017; Mascot-Gómez *et al.*, 2021), así como de la rizosfera de especies de *Opuntia* (Estrada González, 2017).

Las cepas que conforman el consorcio bacteriano se muestran en la Tabla 1. Estas cepas fueron previamente caracterizadas en el grupo de trabajo como promotoras del crecimiento, tomando en cuenta su capacidad para solubilizar

fósforo, fijar nitrógeno, producir AIA, producir sideróforos, además de ser compatibles en la prueba de inhibición del crecimiento; es decir, que las cepas entre sí no inhiben su crecimiento. Por lo tanto, se continuó su caracterización, tomando en cuenta su capacidad para producir EPS.

Tabla 1. Cepas del consorcio y sus rasgos promotores del crecimiento vegetal

Cepas	Solubilización de fósforo	Fijación de nitrógeno	Producción AIA	Producción de Sideróforos
<i>Bacillus thuringiensis</i> (Aislada de <i>Opuntia</i>)	Sí	Sí	Sí	No
<i>Bacillus toyonensis</i> (Aislada de <i>Opuntia</i>)	Sí	Sí	Sí	No
<i>Bacillus subtilis</i> (Aislada de <i>Opuntia</i>)	Sí	Sí	Sí	No
<i>Achromobacter</i> sp. (Aislada de la rizósfera de <i>E. platyacanthus</i>)	Sí	Sí	No	Sí
<i>Stenotrophomonas</i> sp. 1 (Aislada de semillas de <i>E. platyacanthus</i>)	Sí	Sí	Sí	Sí
<i>Stenotrophomonas</i> sp.2 (Aislada de semillas de <i>E. platyacanthus</i>)	Sí	Sí	Sí	Sí

2.2 Capítulo 1: Producción de exopolisacáridos por las cepas que conforman el consorcio bacteriano en condiciones de estrés hídrico

La evaluación de la capacidad de producción de EPS por las cepas bacterianas del consorcio, se realizó de acuerdo con el procedimiento de Ghosh *et al.* (2019), con algunas modificaciones.

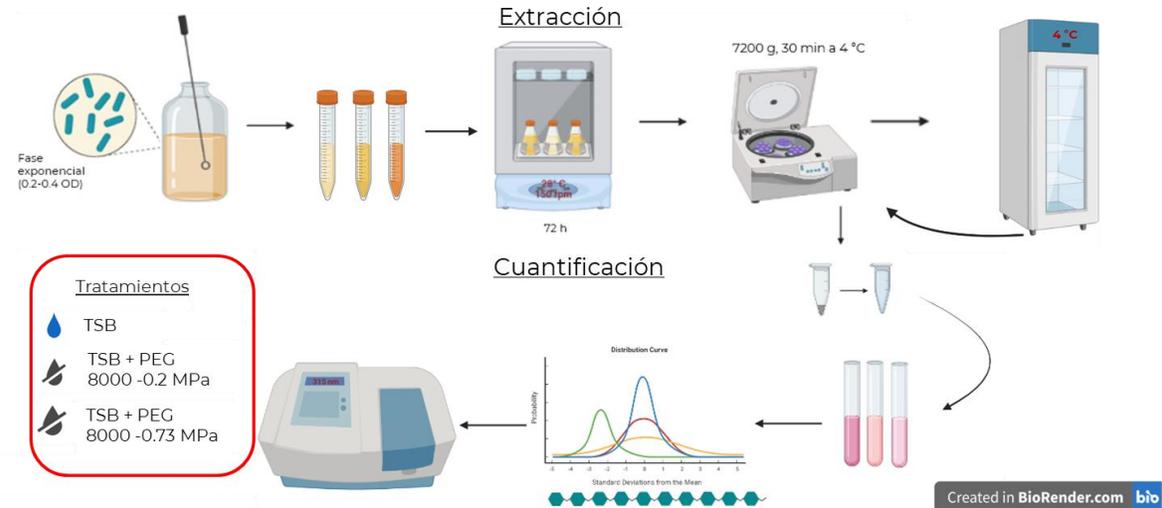


Figura 2. Esquema general de la metodología del experimento 1. Este experimento se divide en dos partes, la extracción de los EPS producidos por las cepas bacterianas desarrolladas bajo condiciones de estrés hídrico inducido con PEG 8000 a -0.2 MPa y -0.73 MPa y su cuantificación mediante colorimetría a 315 nm.

Cultivo de cepas

Las cepas bacterianas seleccionadas se encontraban aisladas de experimentos previos en el grupo de trabajo almacenadas en glicerol a -70 °C. Se cultivaron en 5 ml de caldo de soya tríptico estéril (TSB) a 28°C, con agitación moderada de 150 rpm por 24 horas para *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus toyonensis*, *Bacillus subtilis* y *Achromobacter* sp. y 48 horas para *Stenotrophomonas* sp.1 y *Stenotrophomonas* sp.2 y así obtener una suspensión bacteriana en fase exponencial ($OD_{600} = 0.2$) (Eke *et al.*, 2019).

- Caldo de soya tríptico (TSB)
 - 17 g de Bacto Tryptona (digerido pancreático de caseína)
 - 3 g de Soytona (digerido péptico de harina de soya)
 - 2.5 g de Glucosa (dextrosa)
 - 5 g de Cloruro de sodio
 - 2.5 g de Fosfato dipotásico de hidrógeno

Con el uso de Polietilenglicol 8000 (PEG 8000), se simulaban condiciones de estrés hídrico, el medio TSB se modificó con PEG 8000 para obtener potenciales

hídricos de -0.2 MPa y -0.73 MPa. Para la preparación de la solución de PEG 8000 a los dos potenciales hídricos se empleó la siguiente ecuación (Michel, 1983):

Fórmula 1:

$$[PEG] = \frac{[4 - (5.16\varphi T - 560\varphi + 16)^{0.5}]}{2.58T - 280}$$

Donde:

[PEG]: kilogramos de PEG por litro de agua destilada.

φ : Potencial osmótico requerido en bares (1 bar = 0.1 MPa).

T: Temperatura de preparación de la solución (°C).

En 10 ml de medio TSB con y sin PEG se inocularon 100 μ l de suspensión bacteriana ($DO_{600} = 0.2$) en fase exponencial y se dejaron crecer durante 72 horas a 28°C y 150 rpm utilizando 5 repeticiones (Sandhya *et al.*, 2010).

Extracción de EPS

Después de 72 h de desarrollo, se tomaron 2 ml de cultivo bacteriano y se centrifugaron a una velocidad de 7200 g durante 30 min a 4°C. Posteriormente se recogió el sobrenadante y se filtraron 600 μ l a través de una membrana de nitrocelulosa de 0.45 μ m. El filtrado se mezcló con 3 volúmenes (1200 μ l) de alcohol absoluto enfriado con hielo y se dejó durante una noche a 4°C en el refrigerador (Albalasmeh *et al.*, 2013). Los EPS precipitados se recolectaron mediante una centrifugación a 7200 g durante 30 min a 4° C. El precipitado se resuspendió en 1 ml de agua estéril (agua inyectable) y para la cuantificación de carbohidratos presentes en los EPS precipitados se empleó el método ácido sulfúrico-UV propuesto por Albalasmeh *et al.* (2013).

Cuantificación del contenido de carbohidratos

Como referencia se utilizaron los carbohidratos glucosa ($C_6H_{12}O_6$), sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) y almidón ($(C_6H_{10}O_5)_n$). Se preparó una solución concentrada de cada carbohidrato disolviendo 0.1 g de carbohidrato seco en 1 L de agua inyectable

(0.01 g carbohidrato/100 ml agua inyectable) y se hicieron varias diluciones a partir de las soluciones concentradas de los carbohidratos. Las concentraciones que se utilizaron se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Concentraciones de las curvas patrón de los carbohidratos de referencia

<i>Concentración mg/L</i>	<i>Volumen de solución concentrada</i>	<i>Volumen de agua inyectable</i>
0	0 µl	1000 µl
20	200 µl	800 µl
40	400 µl	600 µl
60	600 µl	400 µl
80	800 µl	200 µl
100	1000 µl	0 µl

Se tomó una alícuota de 1 ml de solución de carbohidratos (EPS resuspendidos), y se mezcló rápidamente con 3 ml de H₂SO₄ concentrado en un tubo de ensayo, el cual se agitó en vortex durante 30 s. Las soluciones de referencia (blanco) se prepararon siguiendo el procedimiento anterior, excepto que la alícuota de carbohidratos se reemplazó con agua inyectable.

La solución se enfrió en hielo durante 5 min para llevarla a temperatura ambiente, debido a que la temperatura de la mezcla aumenta después de la adición de H₂SO₄. Finalmente, se leyó la absorción de luz UV a 315 nm usando un espectrofotómetro UV visible. Los resultados se presentan como mg EPS producido/g peso húmedo celular, en el que el peso húmedo se obtendrá al pesar el tubo eppendorf con y sin el EPS precipitado.

Las condiciones de estrés inducido por el PEG 8000 se utilizaron para simular estrés hídrico nulo (control), medio y alto, en el que -0.73 MPa fue el potencial hídrico más alto (Sandhya *et al.*, 2010). También se utilizaron tres carbohidratos, los cuales han sido utilizados ampliamente en la investigación para determinar EPS. Cabe mencionar que el almidón se utilizó debido a que es un polímero de alto peso molecular y se conoce que los EPS bacterianos son una mezcla natural de polímeros de alto peso molecular liberados por bacterias a su entorno (Morcillo & Manzanera, 2021), así como la glucosa, ya que esta fue utilizada como fuente de carbono.

2.3 Capítulo 2: Promoción de la germinación de semillas bajo condiciones de estrés hídrico inducido por PEG 8000

Sanitización de semillas

Para el ensayo de la promoción de la germinación fue necesario realizar la limpieza y sanitización de semillas de *E. platyacanthus*, colectadas de una población encontrada en el municipio de Galeana, Nuevo León, las cuales fueron sanitizadas con 500 ml de hipoclorito de sodio al 5% por 15 minutos, que posteriormente se lavaron 5 veces con 100 ml de agua destilada estéril y se dejaron secar. También se utilizaron semillas no sanitizadas, para conocer si la microbiota episeminal de las semillas de *E. platyacanthus* en conjunto con el inóculo pueden mejorar los índices de germinación.

Prueba de viabilidad de semillas

Posteriormente en semillas sanitizadas y no sanitizadas se realizó una prueba para determinar la viabilidad de las semillas por medio del método bioquímico del tetrazolio (Grabe, 1970). Se colocaron 100 semillas en grupos de 10, en agua destilada durante 24 horas y posteriormente para facilitar la entrada de la solución en la semilla, se realizó una incisión con bisturí, paralela al eje del hipocótilo. A continuación las semillas se colocaron en una solución de tetrazolio por 48 h, en condiciones de oscuridad a 25°C (Baskin & Baskin, 1998). Las semillas se cortaron transversalmente con un bisturí y los embriones se observaron bajo un microscopio. Las semillas que mostraron embriones rojos enteros sin daño aparente se consideraron viables (Baskin & Baskin, 1998).

Preparación del inóculo bacteriano

Las seis cepas se cultivaron de forma individual en 10 ml de medio TSA a 28°C, con agitación constante de 150 rpm por 48 h para obtener una suspensión bacteriana en fase exponencial ($OD_{600} = 0.4 \approx 1 \times 10^8$ UFC).

Para realizar el cálculo de la relación de UFC con la OD se ajustó la densidad óptica de los medios líquidos desarrollados en TSA por 48 h a $OD_{600} = 0.4$.

Posteriormente se inocularon placas de medio TSA con cada una de las cepas y se desarrollaron por 24 h, después de este tiempo se realizó el conteo en placa de las UFC.

Los cultivos se centrifugaron a 4220 rpm por 15 min y la pastilla celular resultante se lavó con 3 ml de agua destilada estéril, posteriormente se resuspendió y centrifugó a 4220 rpm por 5 min. La pastilla celular fue resuspendida en 3 ml de agua destilada estéril (Chávez-Ambriz *et al.*, 2016). Por último, se realizó una mezcla de las pastillas celulares resuspendidas de las seis cepas para conformar el consorcio en un volumen final de 18 ml.

Inoculación de semillas

Tres gramos de semillas de *E. platyacanthus* (sanitizadas y no sanitizadas) se inocularon por inmersión en 9 ml de suspensión bacteriana (10^8 células/ml) durante 24 horas. Para el tratamiento sin inóculo se siguió el mismo procedimiento utilizando agua destilada estéril (Chávez-Ambriz *et al.*, 2016).

Ensayo de germinación

Para la preparación de PEG 8000 a los diferentes potenciales hídricos se utilizó la fórmula 1 y se simularon los siguientes potenciales hídricos: 0, -0.2,-0.4,-0.6, -0.8, -1.0 MPa (Flores *et al.*, 2017).

Para el ensayo de promoción de la germinación se consideraron cinco repeticiones por tratamiento en unidades experimentales representadas por una caja Petri con 20 semillas de *E. platyacanthus*.

Tabla 3. Tratamientos para el ensayo de germinación.

Potenciales: 0, -0.2,-0.4,-0.6, -0.8, -1 MPa

-
1. *Semillas no sanitizadas sin inóculo (control)*
 2. *Semillas no sanitizadas + inóculo*
 3. *Semillas sanitizadas sin inóculo*
 4. *Semillas sanitizadas + inóculo*

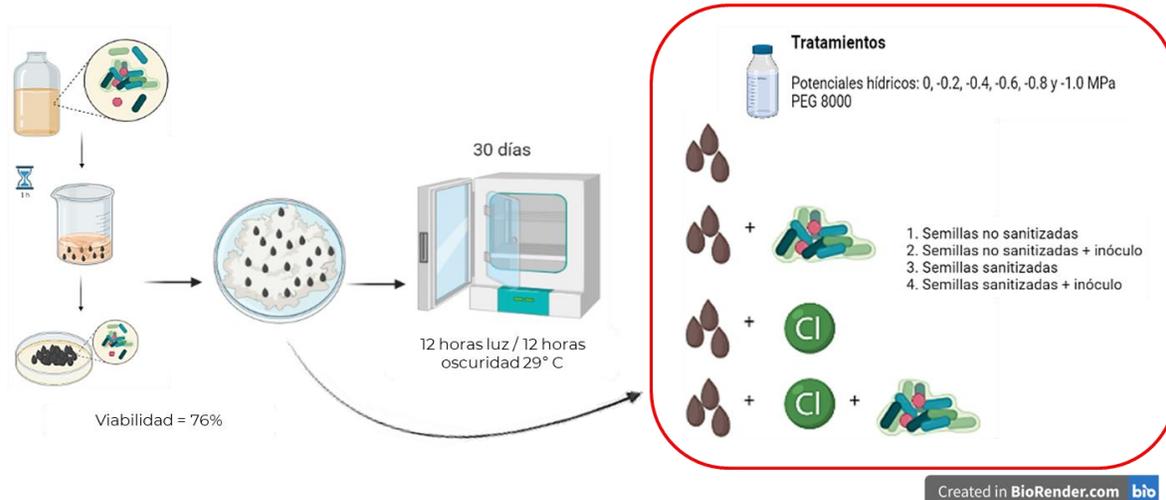


Figura 3. Esquema general de la metodología del experimento 2. En primer lugar, se llevó a cabo la preparación del inóculo, posteriormente se inocularon las semillas de *E. platyacanthus* y se colocaron sobre un sustrato de algodón humedecido con PEG 8000 que simularía los potenciales seleccionados, después se pusieron a germinar en una cámara de germinación y se revisaron diariamente para registrar la germinación.

Las semillas sanitizadas y no sanitizadas (Tabla 3) se pusieron a germinar en cajas Petri sobre un sustrato de algodón al cual se le agregaron 8 ml de PEG 8000 para simular las variaciones en la disponibilidad de humedad en el suelo utilizando los potenciales antes mencionados (Flores *et al.*, 2017).

Todas las cajas fueron selladas con papel adherente para evitar la evaporación y se incubaron en un ambiente de 12 h de oscuridad / 12 h de luz, a 29°C, en una cámara de germinación (Flores *et al.*, 2017). La germinación fue registrada diariamente durante 30 días, considerando germinadas las semillas cuando presentaron emergencia de la radícula. Al terminar el experimento se consideraron la germinabilidad (GRP) y el tiempo medio de germinación (TMG) para el análisis de los datos (Tabla 4; Lozano-Isla *et al.*, 2019).

Tabla 4. Variables de respuesta evaluadas en semillas de *E. platyacanthus*

Experimento 2

<i>Parámetro</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Semillas</i>
	<i>Germinación de semillas</i>	
Supervivencia	Diario	20 semillas por unidad experimental
Germinabilidad	Diario	20 semillas por unidad experimental
Tiempo medio de germinación	Diario	20 semillas por unidad experimental

2.4 Capítulo 3: Crecimiento de plántulas de *E. platyacanthus* inoculadas sometidas a suspensión de riego

Muestreo de semillas y suelo

Se utilizaron semillas de *E. platyacanthus*, colectadas de una población encontrada en el municipio de Galeana, Nuevo León, así como suelo proveniente de los interespacios de una población de *E. platyacanthus* encontrada en la comunidad “Charco Blanco”, municipio de Guadalcázar, San Luis Potosí.

Tratamiento de esterilización de suelo

El suelo se secó y tamizó por una malla de 3.35 mm y se esterilizó (Lopez *et al.*, 2012) mediante 5 ciclos en autoclave a 120 °C durante 2 horas, entre cada ciclo el suelo permaneció en una estufa a 60 °C durante toda la noche (Galeano *et al.*, 2021).

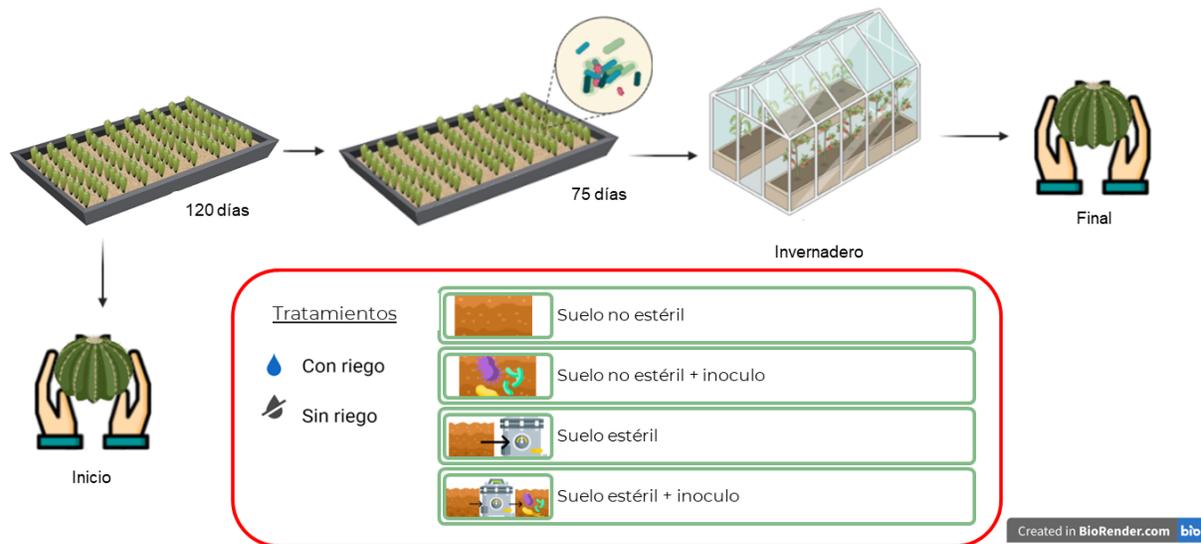


Figura 4. Esquema general de la metodología del experimento 3. Para este experimento fue necesario germinar y crecer plántulas de *E. platyacanthus* durante 120 días, las cuales fueron sometidas a los diferentes tratamientos de inoculación y riego. Para conocer el efecto de la inoculación se evaluaron algunos parámetros morfológicos y ecofisiológicos en las plántulas al inicio y al final del experimento.

Preparación del inóculo y la evaluación de la viabilidad de las semillas

Se emplearon los procedimientos mencionados en el capítulo 2.

Condiciones del experimento y unidad experimental

Las semillas se pusieron a germinar en charolas de plástico con tapa, las cuales contenían 500 g de suelo regado con 25 ml de agua destilada estéril, de acuerdo a su capacidad de campo (Lee & Pielke, 1992), dentro de cámaras de germinación a 29°C, con un fotoperíodo 12 h oscuridad /12 h luz y riego a capacidad de campo cada dos semanas una vez que emergieron las plántulas (Aragón-Gastélum *et al.*, 2014; Flores *et al.*, 2017; Mascot-Gómez *et al.*, 2020; Rosas *et al.*, 2021).

Treinta días posteriores a la germinación las charolas se movieron al invernadero. Como unidad experimental se contempló una charola con 100 semillas y 5 repeticiones con su respectivo tratamiento.

Tratamientos y duración del experimento

Un mes después de la germinación, se seleccionaron plántulas de tamaño uniforme para la medición de las variables ecofisiológicas relacionadas con la fotosíntesis y contenido de agua y posteriormente se aplicaron los diferentes tratamientos (Tabla 5).

Tabla 5. Tratamientos en plántulas de *E. platyacanthus*

Con riego	Sin riego
Suelo estéril	Suelo estéril
Suelo estéril + inóculo de consorcio	Suelo estéril + inóculo de consorcio
Suelo sin esterilizar	Suelo sin esterilizar
Suelo sin esterilizar + inóculo de consorcio	Suelo sin esterilizar + inóculo de consorcio

Para las plántulas con inoculación, se utilizó un inóculo preparado de igual forma que en el experimento 2, utilizando 5 ml de cada cepa para la preparación del inóculo. Las plántulas se inocularon por inundación de suelo (10^8 UFC / g sustrato), con 30 ml de inóculo para 500 g de suelo (Gururani *et al.*, 2013). De igual forma, a las plántulas con tratamiento de riego se les añadió 30 ml de agua destilada estéril cada dos semanas y en los tratamientos sin riego este se suspendió por completo durante todo el experimento. Las plántulas en las charolas se acomodaron aleatoriamente en mesas dentro del invernadero. El experimento tuvo una duración de 75 días posteriores a la inoculación (Figura 4).

Estudios morfológicos y fisiológicos evaluados en plántulas de *E. platyacanthus*

Se evaluó el impacto de la inoculación en el alivio del estrés por suspensión de riego en plántulas de *E. platyacanthus* después de la aplicación de los diferentes tratamientos. Al inicio y al final del periodo del experimento se tomaron plántulas para medir parámetros morfológicos (longitud del tallo y longitud de la raíz) y ecofisiológicos (contenido relativo de agua, succulencia, acidez titulable, eficiencia cuántica máxima del PSII y contenido de pigmentos).

a. Crecimiento de plántulas

Para medir la longitud del tallo y de la raíz de las plántulas al inicio y el final del experimento se utilizó un vernier.

b. Suculencia

Se estimó por medio del contenido saturado de agua (SWC, por sus siglas en inglés) propuesto por Ogburn y Edwards (2012). Para su cálculo se consideró el contenido de agua a saturación y el peso seco de las plántulas.

Fórmula 2:

$$SWC = \frac{\text{Contenido de agua a saturación (g)} - \text{peso seco (g)}}{\text{peso seco (g)}}$$

Dónde el contenido de agua a saturación se obtuvo al dejar 3 plántulas en agua desionizada en el refrigerador por 4 horas y el peso seco al secarlas por 48 h en estufa a 70°C.

c. Contenido relativo de agua

Para calcular el contenido relativo de agua (RWC) de las plántulas se utilizó la siguiente ecuación propuesta por González y González-Vilar (2001):

Fórmula 3:

$$RWC = \frac{FW \text{ (peso fresco de tejido)} - DW \text{ (peso seco)}}{TRF \text{ (peso fresco totalmente turgente)} - DW \text{ (peso seco)}} \times 100$$

FW: peso de 3 plántulas recolectadas inmediatamente del invernadero.

DW: peso de 3 plántulas después de 48 h en estufa a 70°C.

TRF: peso de 3 plántulas sin exceso de agua después de 4 horas en agua desionizada bajo refrigeración.

d. Acidez titulable

Para conocer la concentración de acidez titulable nocturna se tomaron 5 plántulas de cada uno de los tratamientos a las 6 pm y a las 6 am. Estas plántulas se conservaron en congelación hasta su procesamiento, se trituraron completamente en un mortero y este material fue colocado en un tubo Falcón al que se le adicionaron 50 ml de agua destilada, para posteriormente centrifugar por 10 minutos a 1500 rpm. El sobrenadante fue titulado por triplicado utilizando una solución de NaOH 0.01 N para determinar el nivel de acidez (miliequivalentes de ácidos orgánicos) por tejido según Rodés García & Collazo Ortega (2006) utilizando como indicador fenolftaleína al 0.5% y la siguiente fórmula para su cálculo.

Fórmula 4:

$$\text{miliequivalentes del ácido g-1 tejido} = \frac{(V_c)(N)}{(PM)}$$

Donde:

Vc: Volumen en ml de NaOH consumidos por el control

Vm: Volumen en ml de NaOH consumidos por cada una de las muestras

N: Número de equivalentes L-1, Normalidad de la solución de NaOH

PM: Peso de la muestra en gramos

e. Fluorescencia de la clorofila

Se utilizó un fluorómetro de modulación de amplitud de pulso portátil (Mini-PAM; H. Walz, Efeltrich, Alemania), en los diferentes tratamientos al inicio, a la mitad y al final del experimento (75 días).

La medición de la eficiencia cuántica máxima del PSII se llevó a cabo en las plántulas adaptadas a la oscuridad, antes de recibir luz (entre 5:00 y 6:00 h). Esta variable es estimada como:

$$F_v / F_m = \frac{(F_m - F_0)}{F_m'}$$

Donde:

F_v : fluorescencia variable determinada en la oscuridad

F_m : es el nivel máximo de fluorescencia medido en la oscuridad

F_0 : es el nivel mínimo de fluorescencia medido en la oscuridad.

Los valores de esta relación se encuentran entre 0.80-0.83, estos valores disminuyen con el aumento del estrés ambiental (Maxwell & Johnson, 2000).

f. Contenido de pigmentos

Para evaluar el contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides) se tomaron 3 plántulas a las 6:00 am, las muestras fueron almacenadas a -20°C antes de analizar los pigmentos. Los pigmentos fueron extraídos empleando el método de Hendry & Price (1993).

Para esto fue necesario pesar las plántulas de cada tratamiento, para después procesarlas en un mortero frío al que se le añadió un poco de nitrógeno líquido para macerar completamente, posteriormente se le agregó 1 ml de solución extractora (acetona 80%). Una vez maceradas las muestras con ayuda de una pipeta se transfirió el líquido a un tubo Eppendorf de 2 ml el cual previamente fue pesado y etiquetado, se realizaron dos enjuagues al mortero empleando 1 ml de solución extractora. Los tubos se centrifugaron a 10000 rpm por tres minutos y se recuperó el sobrenadante, el cual se pasó a un vial de 6 ml. Cuando el precipitado tenía una coloración verde se volvió a centrifugar y resuspendió en 1.5 ml de solución extractora y ulteriormente se centrifugó.

El sobrenadante obtenido de las centrifugaciones fue aforado a 6 ml y se procedió a su lectura en un espectrofotómetro de UV-visible a las siguientes longitudes de onda 470, 646 y 663.6 nm, utilizando como blanco acetona al 80% para posteriormente obtener el contenido de pigmentos fotosintéticos expresado como $\mu\text{g/g}$ de FW (peso fresco) con los cálculos mostrados más abajo. Por último, los tubos con el precipitado se secaron por 12 horas a 60°C en una estufa de secado. Esto con el propósito de obtener el peso seco de la muestra.

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g/ml}) = 12.25 (A663.6) - 2.55 (A646.6)$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g/ml}) = 20.31 (A646.6) - 4.91 (A663.6)$$

$$\text{Clorofila total (ug/ml)} = 17.76 (A646.6) + 7.34 (A663.6)$$

$$\text{Carotenoides (ug/ml)} = (1000 * A470 - 1.82 * \text{Chl a} - 85.02 * \text{Chl b})/198$$

A470 = Es la lectura obtenida a la absorbancia de 470 nm

A646 = Es la lectura obtenida a la absorbancia de 646 nm

A663 = Es la lectura obtenida a la absorbancia de 663 nm

Chl a y Chl b = Son los resultados obtenidos de clorofila a y clorofila b

Los resultados expresados en ug/ml son por mililitro de la solución del extracto, por lo que para pasar los resultados en peso fresco o peso seco es necesario realizar los siguientes cálculos.

$$\text{Pigmento / peso fresco} = (\text{pigmento} * 6/1000) / \text{peso fresco}$$

$$\text{Pigmento / peso seco} = (\text{pigmento} * 6/1000) / \text{peso seco}$$

El procedimiento se realizó en oscuridad para evitar la degradación de los pigmentos y los tubos fueron protegidos con papel aluminio para evitar su fotodegradación.

En la Tabla 6 se muestran las variables evaluadas, la frecuencia con la que se midieron, así como las semillas o plántulas requeridas por medición.

Tabla 6. Variables de respuesta evaluadas en plántulas de *E. platyacanthus*

<i>Parámetro</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Plántulas requeridas por medición</i>
	<u><i>Contenido de agua</i></u>	
<i>Suculencia</i>	Inicio y final	9 plántulas (3 por medición con 3 repeticiones)
<i>Contenido relativo de agua</i>	Inicio y final	9 plántulas (3 por medición con 3 repeticiones)
	<u><i>Fotosíntesis</i></u>	
<i>Acidez titulable</i>	Inicio y final	15 plántulas (5 por medición con 3 repeticiones)
<i>Concentración de pigmentos (clorofilas y carotenoides)</i>	Inicio y final	9 plántulas (3 por medición con 3 repeticiones)
<i>Eficiencia cuántica máxima del PSII (F_v / F_m)</i>	Inicio, intermedio y final	10 plántulas (No destructivo)

Parámetros de crecimiento

Supervivencia

Diario

Longitud del tallo

Inicio y final

10 plántulas (No destructivo)

Longitud de la raíz

Al finalizar el experimento

3 plántulas

Biomasa (peso seco)

Al finalizar el experimento

3 plántulas

3. Análisis estadísticos

Los ensayos de inoculación de semillas y plántulas se realizaron con un diseño experimental completamente al azar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías (cepa y tratamiento) para comparar la producción de EPS por las diferentes cepas del consorcio en los diferentes potenciales hídricos. Por otro lado, para comparar el porcentaje de germinación de las semillas bajo los diferentes tratamientos de sanitización, inoculación y potenciales, se empleó un modelo lineal generalizado (GLM) con distribución de error Poisson debido a que los datos no eran normales. Por otra parte, los datos del tiempo medio de germinación se analizaron con un ANOVA de tres vías (potenciales hídricos, sanitización de semillas e inoculación). De igual forma se empleó un ANOVA de tres vías (Esterilidad del suelo, riego e inoculación) para analizar los datos finales de los parámetros ecofisiológicos. También se aplicó la prueba de Tukey como análisis *post hoc* para comprender diferencias específicas entre los tratamientos. Los valores de $P < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos. Se ejecutó un análisis canónico discriminante para comprender la relación entre tres tratamientos (esterilidad, inoculación y riego) en la contribución relativa de las variables ecofisiológicas analizadas (dentro de cada grupo) permitiendo identificar las diferencias entre los tratamientos. Los análisis estadísticos se realizaron con el software RStudio y XLSTAT.

4. Resultados

4.1 Capacidad de producción de EPS por las cepas bacterianas del consorcio en condiciones de estrés hídrico.

Para la glucosa, se encontró una diferencia significativa entre cepas ($F = 38.76$; $P < 0.001$) del tratamiento con diferentes concentraciones de PEG ($F < 24.92$; $P = 0.001$) y de la interacción tipo de cepa x tratamiento ($F < 3.06$, $P = 0.001$). En la Figura 5 se muestra la capacidad de las cepas bacterianas de producir exopolisacáridos derivados de glucosa ante estrés hídrico inducido, donde se destaca como mayor productora la cepa *Stenotrophomonas* sp. 2 en los diferentes niveles de estrés hídrico y como sobresaliente en el nivel más alto de estrés (-0.73 MPa).

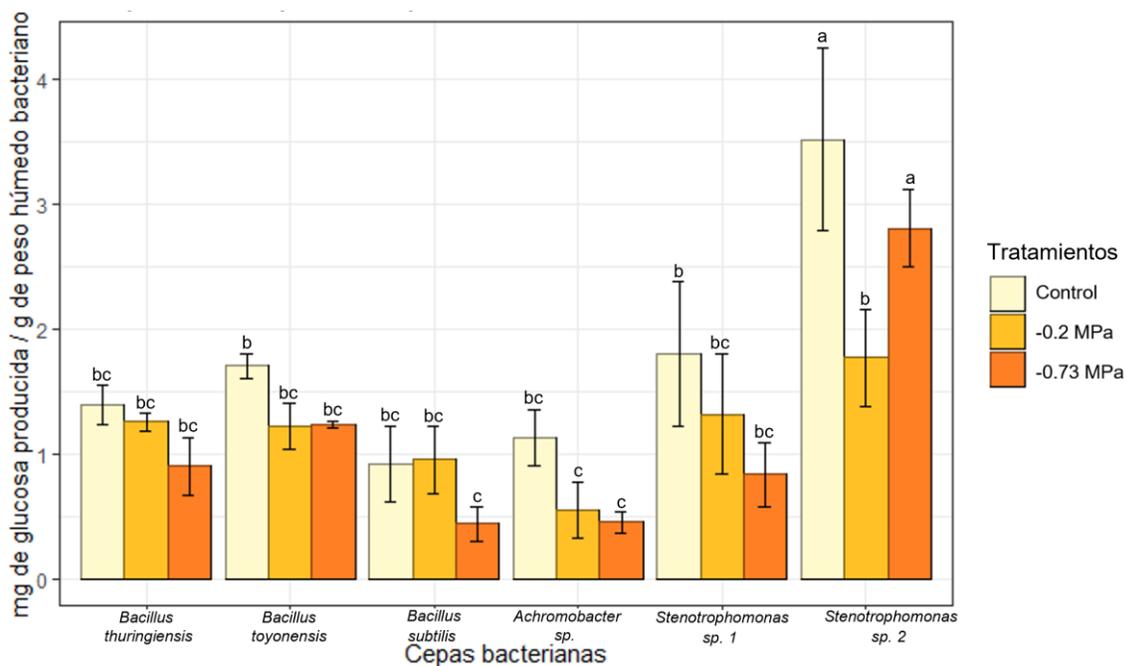


Figura 5. Capacidad de producción de glucosa de las cepas bacterianas bajo los diferentes tratamientos de estrés hídrico inducido (concentraciones de PEG). Se muestran valores promedio \pm error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$) en la prueba post-hoc de Tukey.

Para la sacarosa, se encontró una diferencia significativa entre las cepas ($F = 33.72$; $P < 0.001$), del tratamiento con diferentes concentraciones de PEG ($F = 26.23$; $P < 0.001$) y de la interacción tipo de cepa x tratamiento ($F = 2.78$; $P < 0.01$). En la Figura 6 se muestra la capacidad de producción de exopolisacáridos derivados de sacarosa de las cepas bacterianas ante los tratamientos de estrés hídrico inducido, en donde se destaca como mayor productora la cepa *Stenotrophomonas* sp. 2 en los diferentes niveles de estrés hídrico y como sobresaliente en el nivel más alto de estrés (-0.73 MPa).

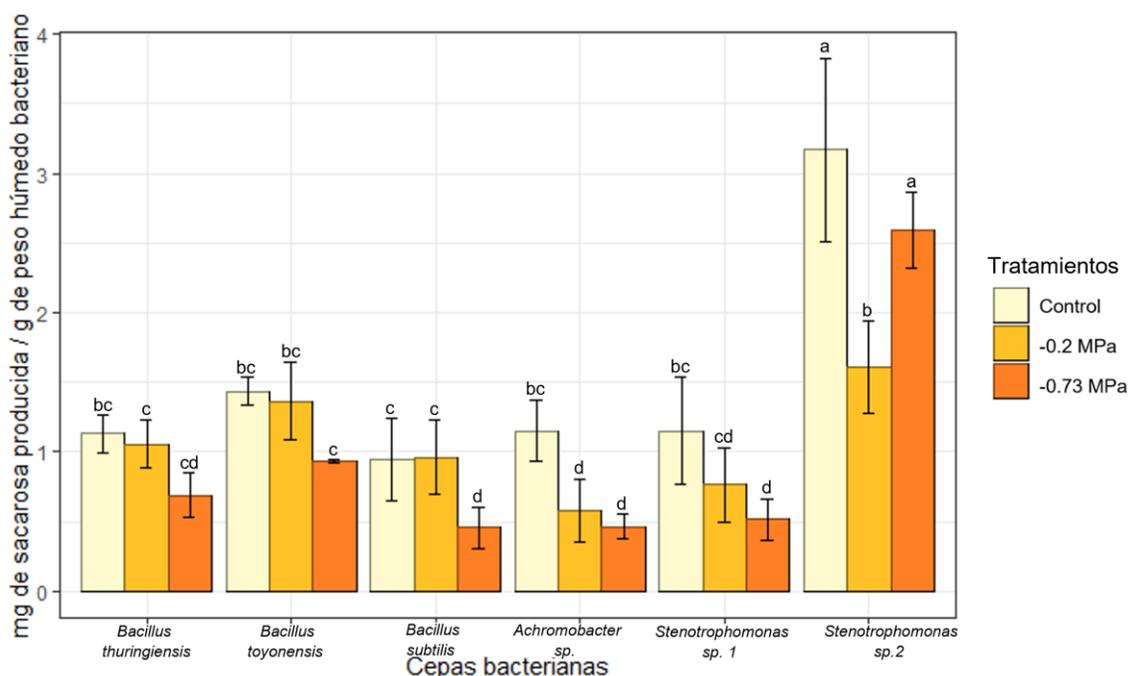


Figura 6. Capacidad de producción de sacarosa de las cepas bacterianas bajo diferentes tratamientos de estrés hídrico (concentraciones de PEG). Se muestran valores promedio \pm error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$) en la prueba post-hoc de Tukey.

Para el almidón, se encontró una diferencia significativa entre las cepas ($F = 28.12$; $P < 0.001$) y entre tratamientos de estrés hídrico ($F = 23.26$; $P < 0.001$), pero no de la interacción cepa x tratamiento ($F = 1.78$, $P > 0.05$; Tabla 7). En la Figura 7 se muestra la capacidad de producción de exopolisacáridos derivados de

almidón de las cepas bacterianas ante los tratamientos de estrés hídrico inducido, aunque no hubo diferencias significativas en tal interacción.

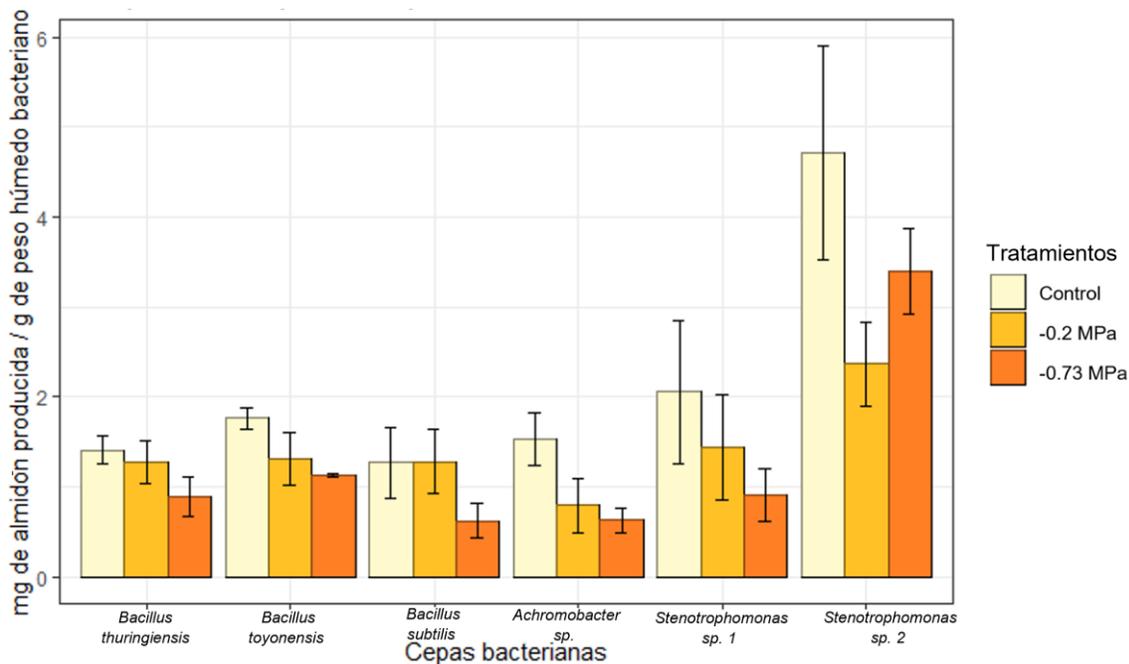


Figura 7. Capacidad de producción de almidón de las cepas bacterianas bajo diferentes tratamientos de estrés hídrico (concentraciones de PEG). Se muestran valores promedio \pm error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$) en la prueba post-hoc de Tukey.

Tabla 7. Valores promedio y desviación estándar ($n = 3$) de la producción de exopolisacáridos por las cepas bacterianas bajo los diferentes tratamientos de estrés hídrico, las letras indican diferencias significativas.

Cepas	Tratamientos	mg de sacáridos producido / g de peso húmedo bacteriano		
		Glucosa	Sacarosa	Almidón
<i>Bacillus thuringiensis</i>	TSB	1.39 \pm 0.09 bc	1.13 \pm 0.08 bc	1.40 \pm 0.09 cd
	TSB+PEG -0.2 MPa	1.26 \pm 0.04 bc	0.94 \pm 0.03 c	1.13 \pm 0.02 cd
	TSB+PEG -0.73 MPa	0.90 \pm 0.13 bc	0.69 \pm 0.09 cd	0.90 \pm 0.13 d
<i>Bacillus subtilis</i>	TSB	0.92 \pm 0.17 bc	0.95 \pm 0.17 c	1.27 \pm 0.23 cd
	TSB+PEG -0.2 MPa	0.95 \pm 0.16 bc	0.96 \pm 0.16 c	1.28 \pm 0.21 cd

	TSB+PEG -0.73 MPa	0.44 ± 0.08 c	0.46 ± 0.08 c	0.63 ± 0.12 e
<i>Achromobacter</i> sp.	TSB	1.13 ± 0.13 bc	1.15 ± 0.13 bc	1.53 ± 0.17 c
	TSB+PEG -0.2 MPa	0.55 ± 0.13 c	0.58 ± 0.13 d	0.79 ± 0.17 d
	TSB+PEG -0.73 MPa	0.45 ± 0.05 c	0.46 ± 0.05 d	0.63 ± 0.08 e
<i>Stenotrophomonas</i> sp. 1	TSB	1.80 ± 0.34 b	1.15 ± 0.22 bc	2.06 ± 0.47 bc
	TSB+PEG -0.2 MPa	1.32 ± 0.28 bc	0.76 ± 0.15 cd	1.44 ± 0.34 c
	TSB+PEG -0.73 MPa	0.83 ± 0.15 bc	0.52 ± 0.09 d	0.91 ± 0.16 d
<i>Bacillus toyonensis</i>	TSB	1.70 ± 0.06 b	1.44 ± 0.06 bc	1.76 ± 0.07 c
	TSB+PEG -0.2 MPa	1.22 ± 0.10 bc	1.36 ± 0.16 bc	1.32 ± 0.17 cd
	TSB+PEG -0.73 MPa	1.24 ± 0.01 bc	0.93 ± 0.01 c	1.13 ± 0.01 cd
<i>Stenotrophomonas</i> sp. 2	TSB	3.51 ± 0.42 a	3.17 ± 0.38 a	4.71 ± 0.68 a
	TSB+PEG -0.2 MPa	1.77 ± 0.22 b	1.61 ± 0.19 b	2.37 ± 0.27 bc
	TSB+PEG -0.73 MPa	2.80 ± 0.18 a	2.59 ± 0.16 a	3.40 ± 0.28 b

Tabla 8. Resultados del ANOVA de dos vías en la producción de exopolisacáridos por las cepas bacterianas (P<0.001, * P<0.01, * P<0.05).**

	Glucosa	Sacarosa	Almidón
		Valor de <i>F</i>	
Cepa	38.76***	33.72***	28.12***
Tratamiento	24.92***	26.23***	23.26***
Cepa * tratamiento	3.06**	2.78*	1.78

(***P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05)

4.2 Efectos de la inoculación del consorcio de PGPR, sobre la germinabilidad y el tiempo medio de germinación de semillas de *E. platyacanthus* bajo diferentes tratamientos de estrés hídrico inducido.

Las semillas utilizadas en el experimento presentaron una viabilidad de 76%, mostrando embriones coloreados de rojo cuando la semilla es viable (Figura 8).

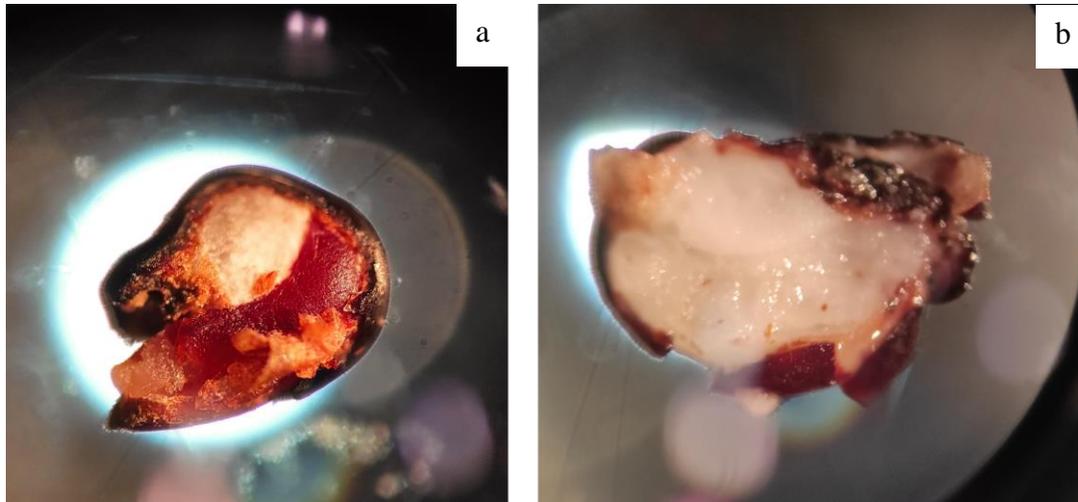


Figura 8. Embriones de semillas de *E. platyacanthus*. a) Embrión viable teñido de rojo; b) Embrión no viable.

4.2.1 Germinabilidad (%)

Se encontró un efecto significativo del potencial hídrico ($F = 289.78$; $P < 0.001$), de la sanitización ($F = 115.34$; $P < 0.001$) y de la interacción entre ambos factores ($F = 21.17$, $P < 0.001$), pero no hubo efecto de la inoculación *per se*, ni de la interacción de este factor con el potencial hídrico y la sanitización. Las semillas mostraron disminución de la germinación conforme los potenciales hídricos fueron más negativos. Además, las semillas sanitizadas mostraron mayor germinación que las no sanitizadas. Con mayor humedad (0 MPa) no hubo diferencias entre sanitizadas y no sanitizadas, pero en los demás tratamientos de potencial hídrico, las sanitizadas germinaron más que las no sanitizadas, disminuyendo la germinación a la par que disminuyó el potencial hídrico. Finalmente, hubo menor germinación a -0.8 y -0.1 MPa, siendo las no sanitizadas las de menor germinación (Figuras 9 y 10).

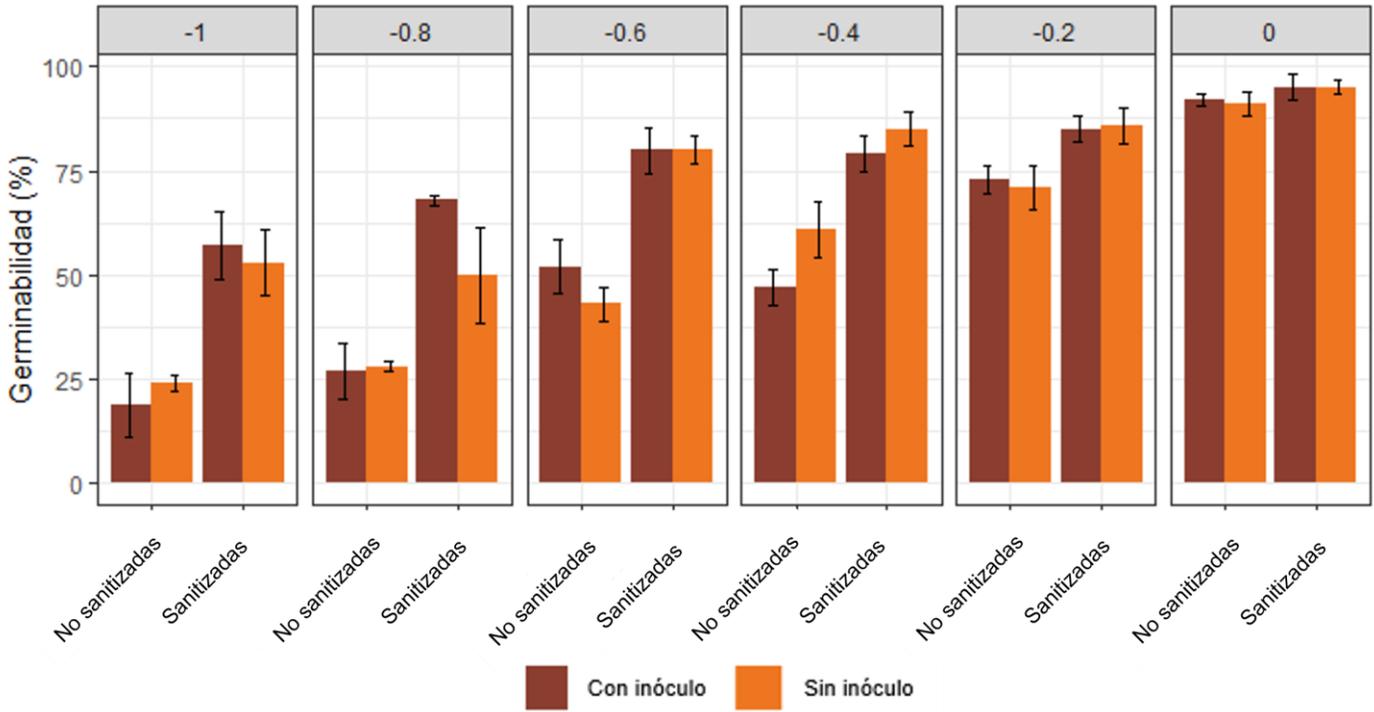


Figura 9. Germinabilidad en semillas de *E. platyacanthus* con los diferentes tratamientos de sanitización, inoculación y potencial hídrico. Se muestran valores promedio \pm error estándar.

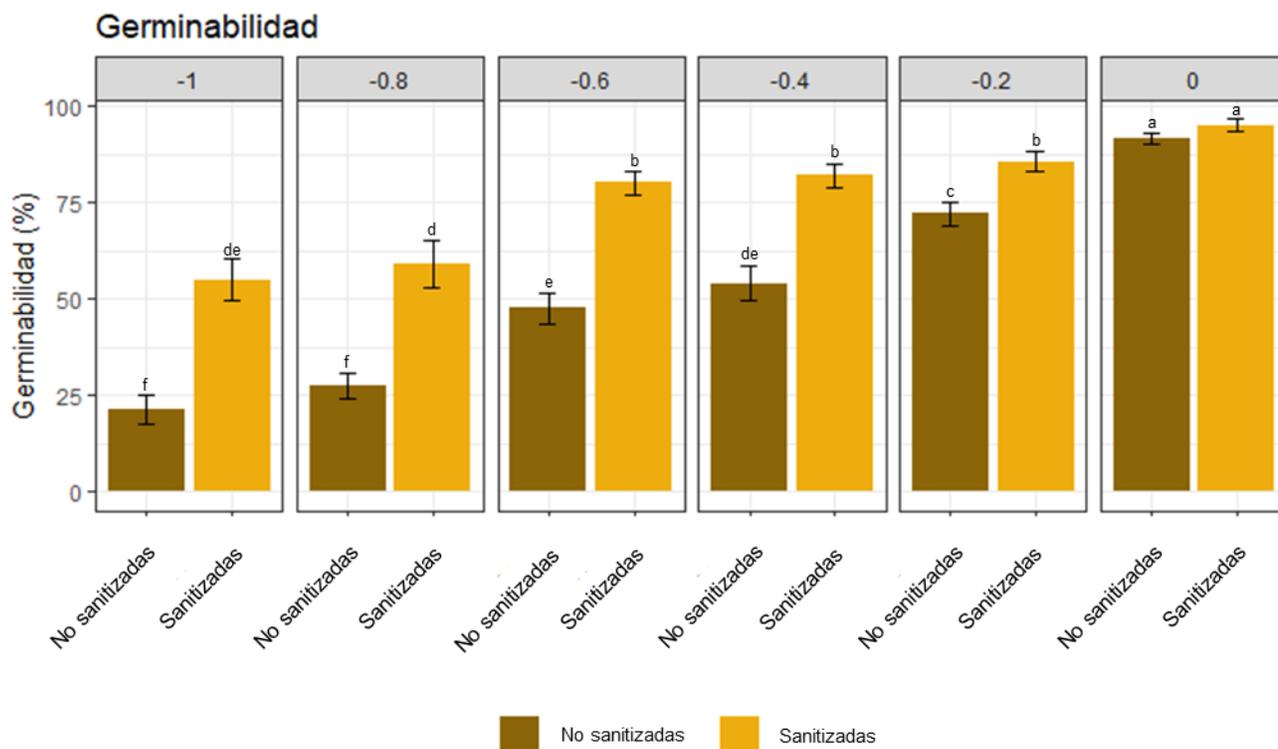


Figura 10. Germinabilidad en semillas de *E. platyacanthus* con los diferentes tratamientos de sanitización y potenciales hídricos. Se muestran valores promedio \pm y error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$) en la prueba *post hoc* de Tukey.

4.2.2 Tiempo medio de germinación (TMG)

Se encontró un efecto significativo del potencial hídrico ($F= 33.83$; $P < 0.001$) y de la sanitización ($F= 10.21$; $P < 0.001$); la inoculación y las interacciones no fueron significativas (Figura 11). El TMG se incrementó conforme fueron más negativos los tratamientos de potencial hídrico. Además, en promedio las semillas sin inocular tuvieron mayor TMG que las semillas inoculadas.

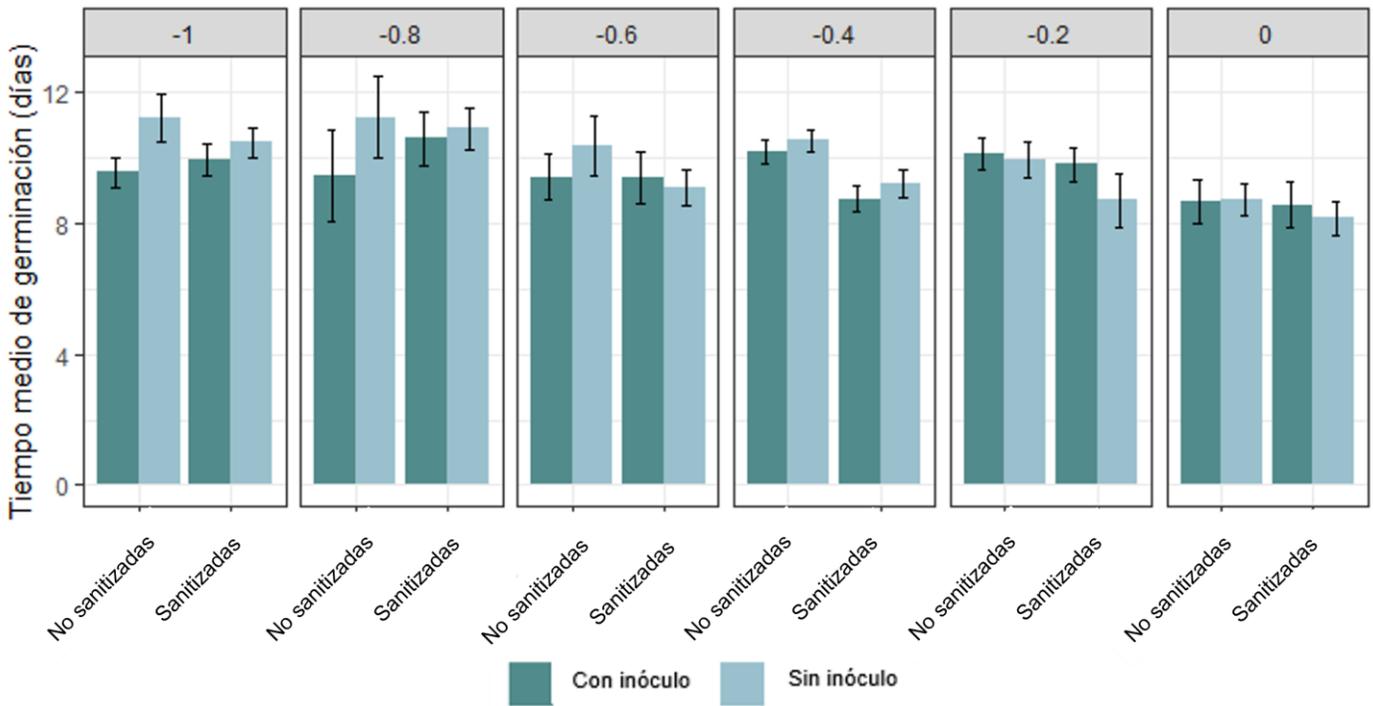


Figura 11. Tiempo medio de germinación (TGM) en semillas de *E. platycanthus* con los diferentes tratamientos de sanitización, inoculación y potenciales hídricos. Se muestran valores promedio \pm error estándar. Las interacciones entre tratamientos no fueron significativas.

En las Figuras 12, 13, 14 y 15 se muestran los resultados finales de germinación de semillas de *E. platycanthus* al día 30 del experimento bajos los tratamientos de estrés inducido mediante PEG 8000 a diferentes concentraciones, así como en los diferentes tratamientos de sanitización e inoculación. Se puede notar que las semillas no sanitizadas fueron colonizadas por hongos, a diferencia de las sanitizadas.

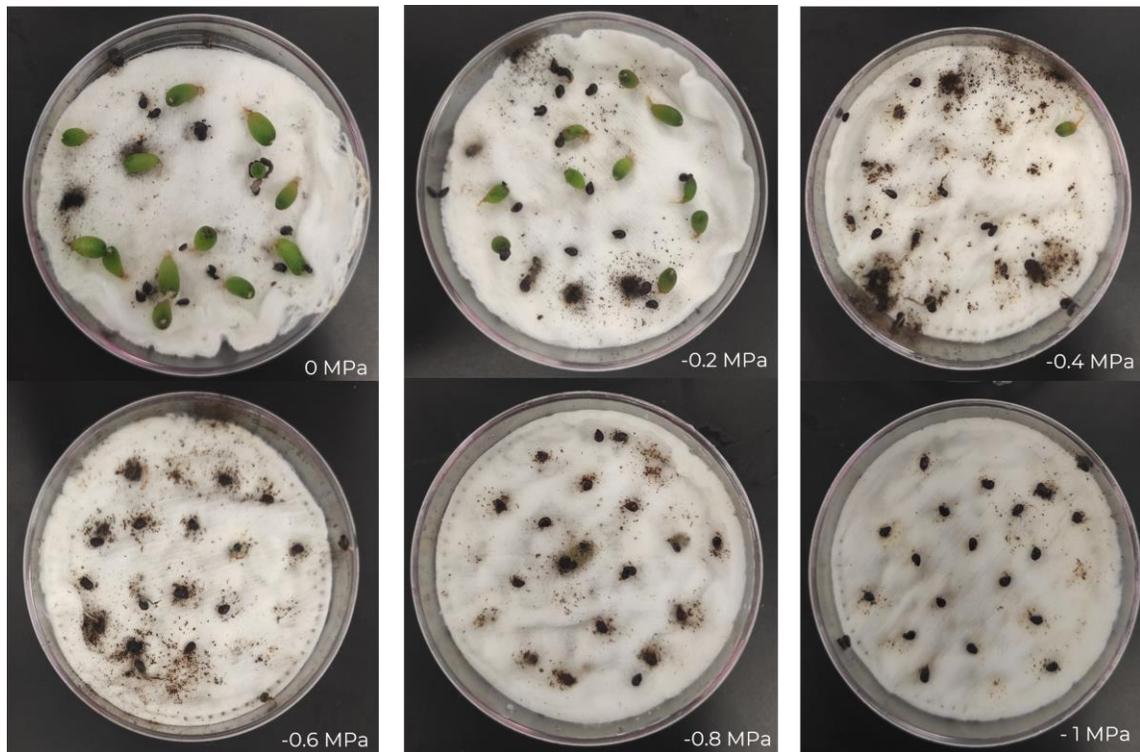


Figura 12. Semillas no sanitizadas germinadas al día 30 del experimento en los diferentes potenciales hídricos. Se puede observar que conforme disminuyen los potenciales hídricos, disminuye la germinación de las semillas. Además, se puede notar que las semillas fueron invadidas por hongos.

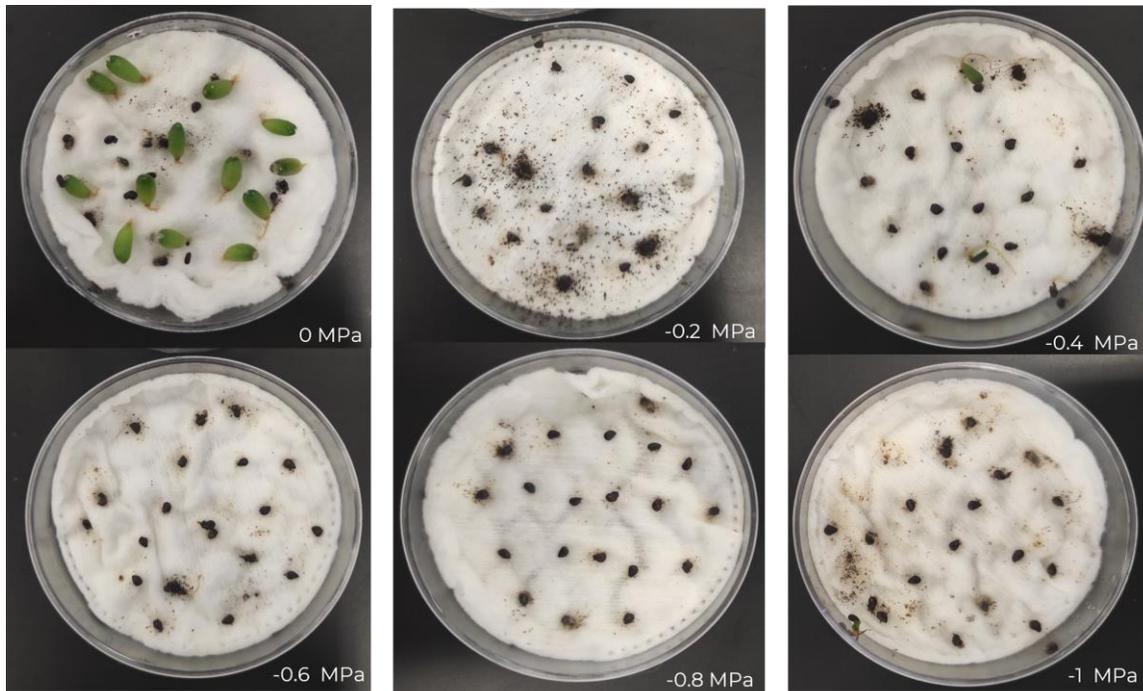


Figura 13. Semillas no sanitizadas + inóculo germinadas al día 30 del experimento en los diferentes potenciales hídricos. Se puede observar que conforme disminuyen los potenciales hídricos, disminuye la germinación de las semillas. Además, se puede notar que las semillas fueron invadidas por hongos.

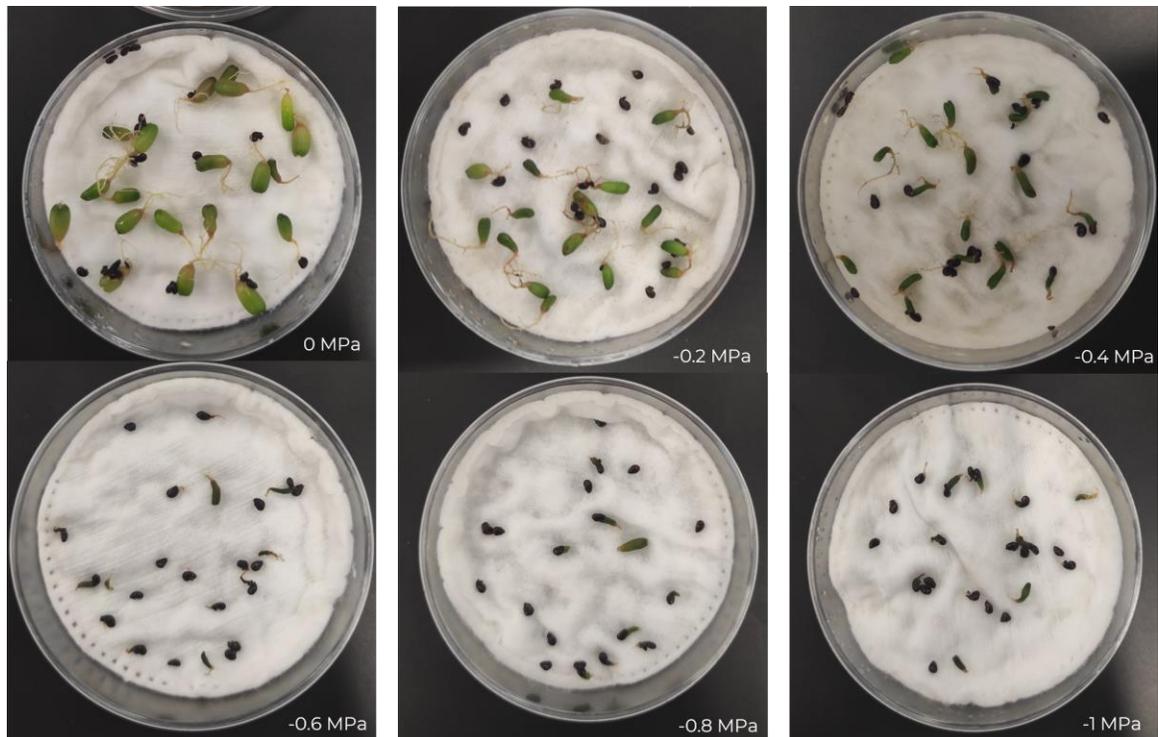


Figura 14. Semillas sanitizadas germinadas al día 30 del experimento en los diferentes potenciales hídricos. Se puede observar que conforme disminuyen los potenciales hídricos, disminuye la germinación de las semillas. A diferencia de las semillas no sanitizadas, las sanitizadas no fueron invadidas por hongos y se observó mayor germinación.

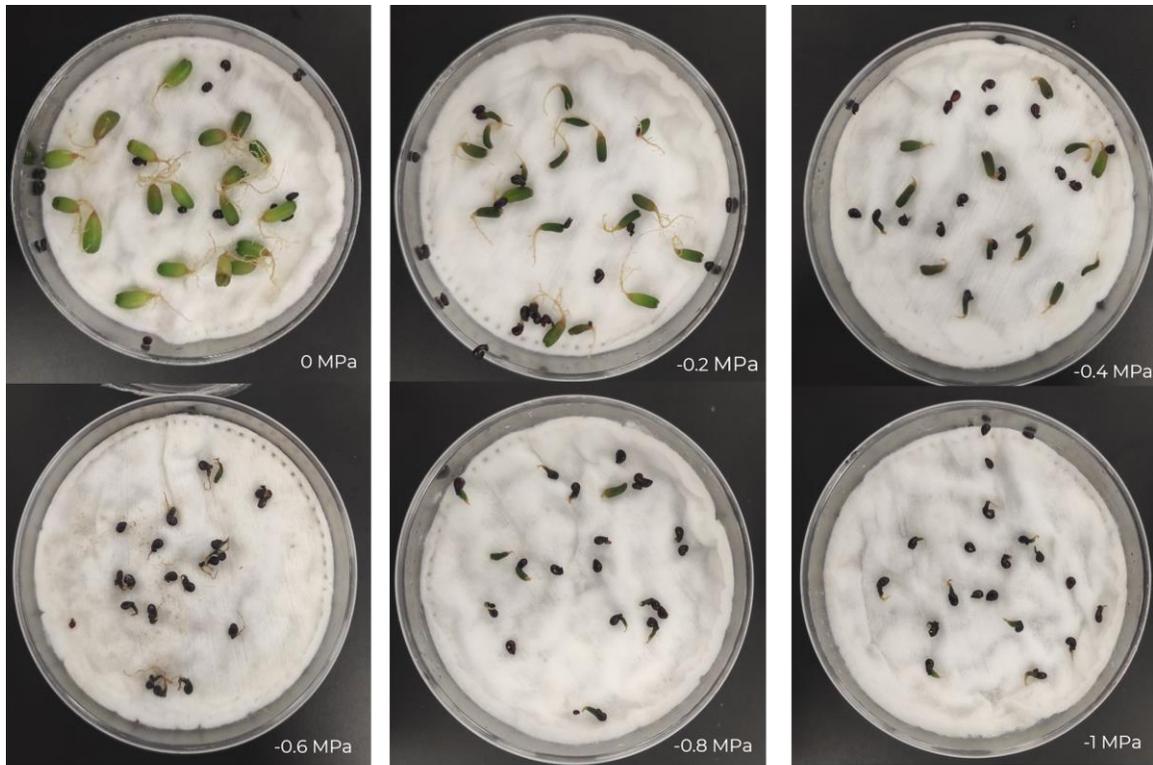


Figura 15. Semillas sanitizadas + inóculo germinadas al día 30 del experimento en los diferentes potenciales hídricos. Se puede observar que conforme disminuyen los potenciales hídricos, disminuye la germinación de las semillas. Además, se puede notar que, a diferencia de las semillas no sanitizadas, las sanitizadas no fueron invadidas por hongos y se observó mayor germinación.

4.3 Efectos de la inoculación del consorcio de PGPR sobre los parámetros fisiológicos de plántulas de *E. platyacanthus* ante la suspensión del riego

El análisis discriminante canónico tiene como propósito analizar y describir las diferencias entre los grupos en función de las variables predictoras. Este análisis mostró que dos funciones discriminantes explican el 96.51% de la varianza total, contribuyendo significativamente a la separación entre los tratamientos (Wilks' λ , $F = 5.72$, $P < 0.0001$, $n = 40$) (Tabla 9).

Tabla 9. Resumen de los resultados del análisis discriminante canónico de las variables ecofisiológicas de plántulas de *E. platyacanthus*.

Función canónica	Valor propio	Proporción		Valor de p
		Valor	Acumulada	
Función 1	59.2	91.38	91.38	0
Función 2	3.32	5.13	96.51	0.0001

Las variables ecofisiológicas que contribuyeron significativamente a las dos primeras funciones canónicas se muestran en los coeficientes canónicos estandarizados (Tabla 10). Estos coeficientes reflejan la contribución conjunta de las variables analizadas para cada función canónica, e individualmente indican la importancia relativa de cada variable (Pires da Silva *et al.*, 2001). Estas variables fueron contenido relativo de agua, succulencia, longitud de tallo y contenido de carotenoides, en la primera función.

Tabla 10. Variables ecofisiológicas evaluadas en plántulas de *E. platyacanthus* y utilizadas en el análisis canónico discriminante y su contribución parcial a las funciones expresadas por los coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes. El asterisco en el coeficiente estandarizado indica el poder de discriminación de la variable.

Variables ecofisiológicas	Coeficientes estandarizados	
	Función 1	Función 2
Contenido relativo de agua (RWC)	0.918 *	0.025
Suculencia (SWC)	0.966 *	-0.064
Longitud de tallo (mm)	0.975 *	0.009

Longitud de raíz (mm)	0.244	0.031
Acumulación de acidez nocturna	0.788	-0.254
Contenido de clorofilas totales	-0.568	-0.757
Contenido de carotenoides	-0.897 *	-0.125
Contenido de clorofila a	-0.536	-0.710
Contenido de clorofila b	-0.448	-0.605
Relación clorofila a/b	-0.277	-0.180

En la Figura 16a se pueden observar los centroides de las variables canónicas representadas por las siglas de los tratamientos. El análisis discriminante clasificatorio mostró que los centroides de cada grupo eran significativamente diferentes ($P < 0.0001$), y que el contenido relativo de agua, la succulencia, la longitud de tallo y el contenido de carotenoides fueron las variables que más contribuyeron a la separación del centroide entre tratamientos (Figura 16b). En la figura se observa claramente la separación de los tratamientos de acuerdo con el riego. Mientras que los tratamientos NEISR, NER, EIR y ESR se diferencian claramente entre ellos sin que se sobrepongan los centroides. El tratamiento ESR (estéril sin riego, sin inóculo) se diferenció en mayor medida del resto de tratamientos.

Nomenclatura de los tratamientos y variables ecofisiológicas

Tratamientos	Variables ecofisiológicas
EIR: Estéril + inóculo + riego	RWC: Contenido relativo de agua
ESR: Estéril sin riego	SWC: Succulencia
NEISR: No estéril + inóculo sin riego	Tallo: Longitud de tallo
NESR: No estéril sin riego	Raíz: Longitud de raíz
E: Estéril + riego	CAM: Acumulación de acidez nocturna
EISR: Estéril + inóculo sin riego	Clorofilas totales: Concentración de clorofilas totales
NEIR: No estéril + inóculo + riego	Relación clorofila a/b
NER: No estéril + riego	Carotenoides: Concentración de carotenoides

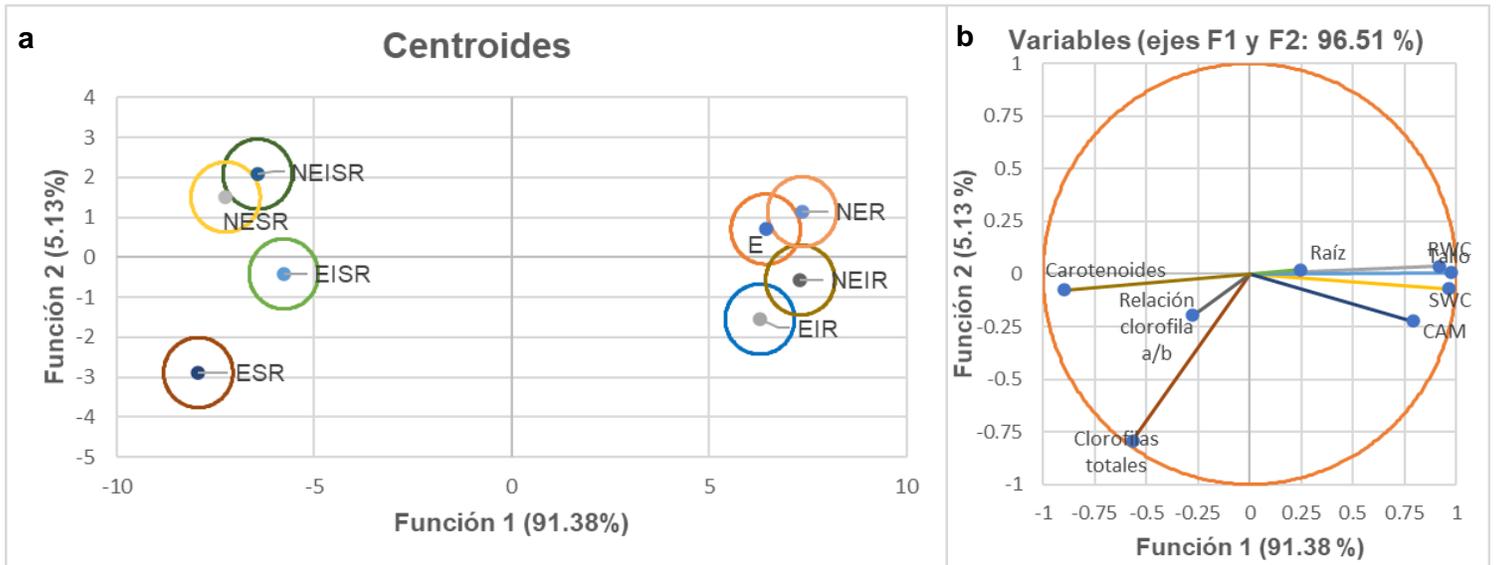


Figura 16. Disposición de los ocho tratamientos utilizando los centroides, las dos funciones discriminantes canónicas (a) y vectores de tendencia lineal de las variables ecofisiológicas consideradas (b).

4.3.1 Crecimiento de plántulas

4.3.1.1 Tallo

Esta variable fue afectada significativamente por la inoculación ($F = 8.18$; $p = 0.01$), el riego ($F = 62.07$, $P < 0.001$) y la interacción de los tratamientos de inoculación y riego ($F = 3.43$; $P < 0.05$). Se encontró mayor longitud de tallo en plántulas inoculadas que en las no inoculadas (inoculadas 12.98 ± 3.98 , no inoculadas 13.38 ± 4.29), así como en plántulas regadas que en las no regadas (con riego 16.57 ± 1.4 , sin riego 8.79 ± 0.87). La longitud de tallo fue menor en plántulas sin riego y sin inocular (Figura 17).

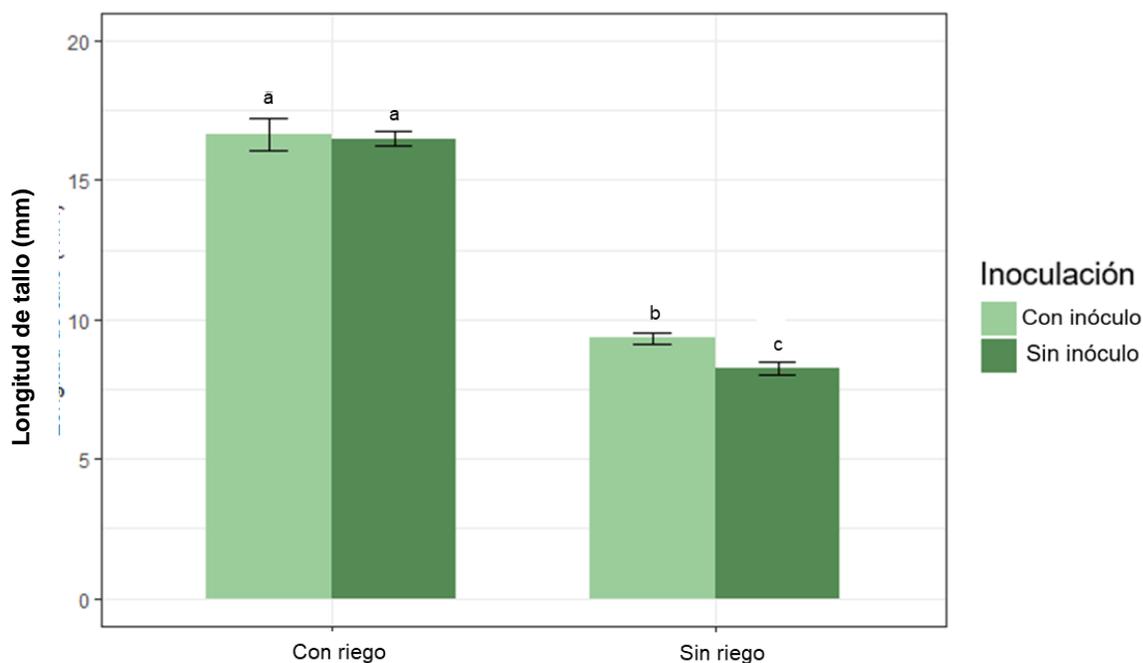


Figura 17. Diferencias en la longitud del tallo en plántulas de *E. platyacanthus* como variable ecofisiológica evaluada al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

A continuación, se muestran las imágenes de las plántulas antes y después de los tratamientos de riego e inoculación. Al lado derecho de las Figuras 18, 19, 20, 21 y 22 se encuentran las plántulas de 120 días al inicio del experimento previo a la aplicación de los tratamientos y del lado izquierdo se muestran las plántulas de 195 días tras la aplicación de éstos.

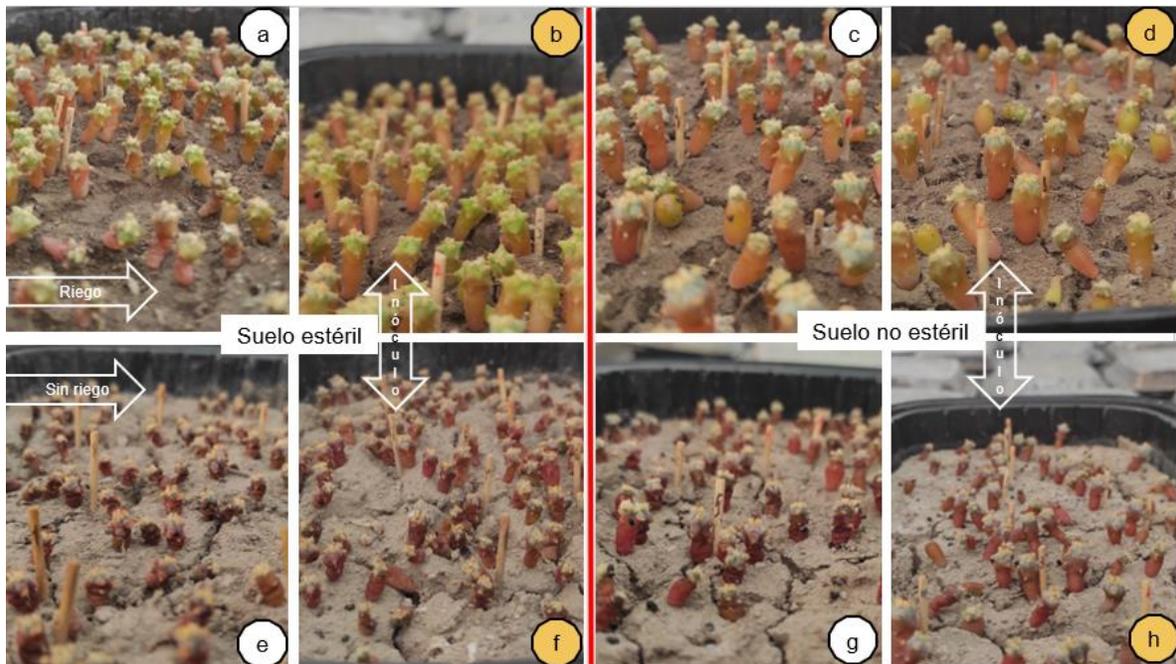


Figura 18. Plántulas de *E. platyacanthus* bajo los diferentes tratamientos de esterilidad, inoculación y riego al final del experimento. En la parte superior se encuentran las plántulas que se regaron a lo largo del experimento (a, b, c y d) y en la parte inferior las que no fueron regadas (e, f, g y h). Los círculos amarillos muestran las plántulas que fueron inoculadas.



Figura 19. Plántulas de *E. platyacanthus* de los tratamientos de suelo estéril con riego sin inóculo (b) y con inóculo (d). Se pueden observar las plántulas al inicio (a y c) y al final del experimento (b y d).

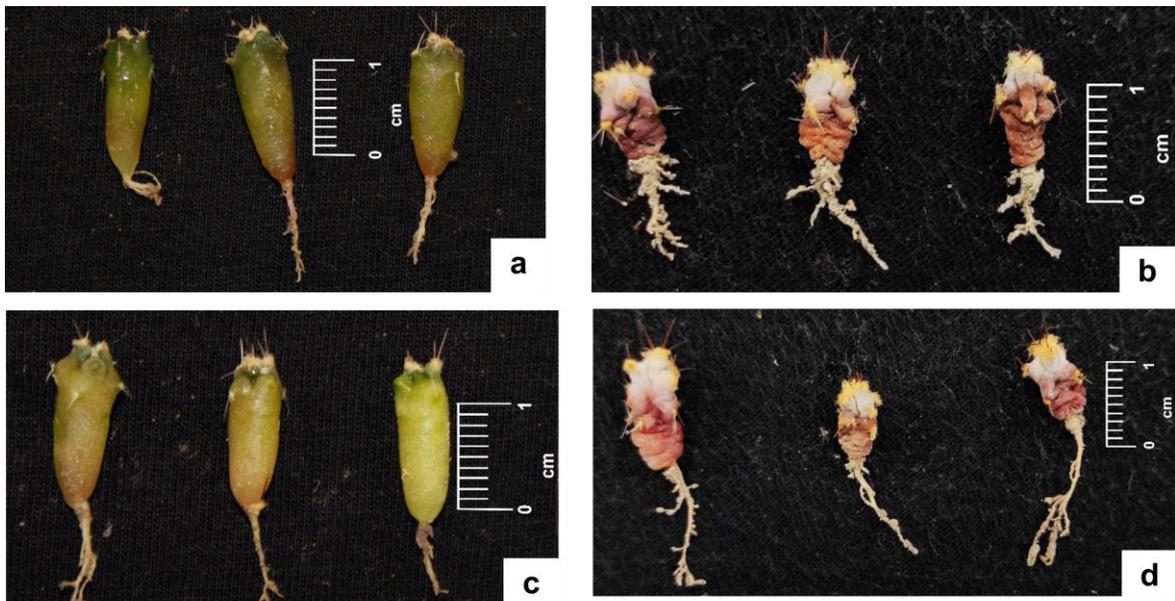


Figura 20. Plántulas de *E. platyacanthus* de los tratamientos de suelo estéril sin riego, sin inóculo (b) y con inóculo (d). Se pueden observar las plántulas al inicio (a y c) y al final del experimento (b y d).



Figura 21. Plántulas de *E. platyacanthus* de los tratamientos de suelo no estéril con riego, sin inóculo (b) y con inóculo (d). Se pueden observar las plántulas al inicio (a y c) y al final del experimento (b y d).

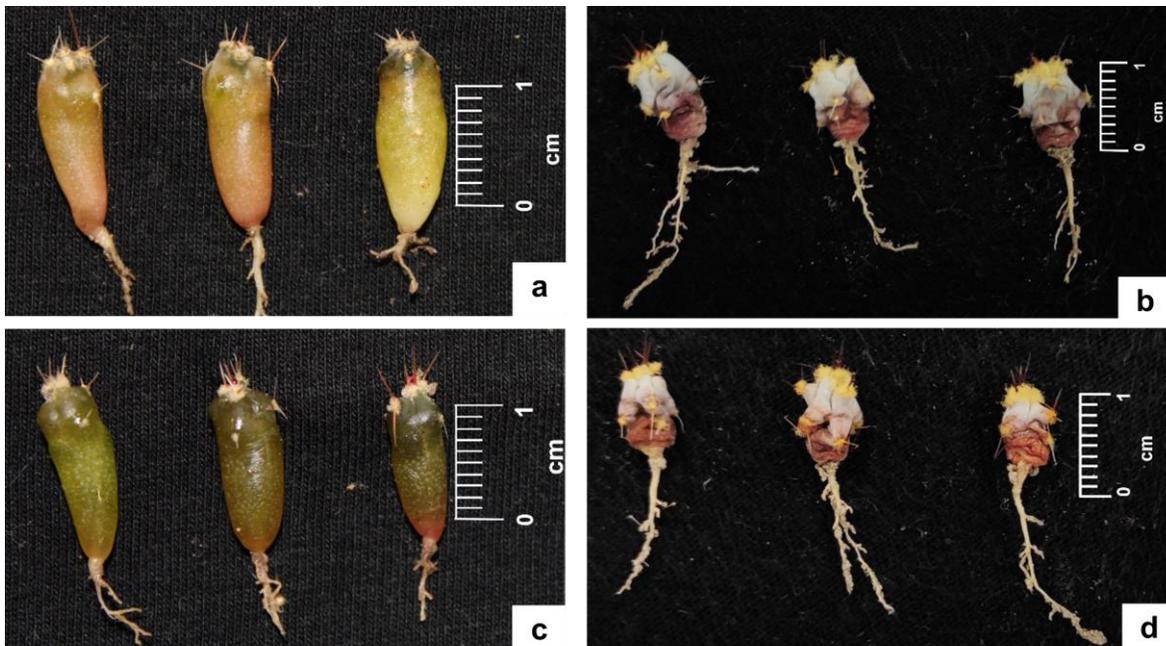


Figura 22. Plántulas de *E. platyacanthus* de los tratamientos de suelo no estéril sin riego, sin inóculo (b) y con inóculo (d). Se pueden observar las plántulas al inicio (a y c) y al final del experimento (b y d).

4.3.1.2 Raíz

Los resultados de longitud de raíz en los diferentes tratamientos se muestran en la Tabla 9. La longitud de raíz no fue afectada por los factores ni por sus interacciones (Tabla 11).

Tabla 11. Longitud de raíz de plántulas de *E. platyacanthus* 75 días posteriores a la aplicación de los tratamientos de inoculación y con riego en suelo estéril y no estéril. Se muestra la media y desviación estándar (n = 15).

Esterilidad	Riego	Longitud de raíz (mm)	
		Con inóculo	Sin inóculo
Suelo estéril	Con riego	13.13 ± 0.88	14.03 ± 0.64
	Sin riego	13.26 ± 1.13	12.39 ± 1.53
Suelo no estéril	Con riego	15.18 ± 1.01	12.93 ± 0.94
	Sin riego	13.27 ± 0.75	12.37 ± 0.89

Tabla 12. Resultados del ANOVA de tres vías para la longitud de raíz de plántulas de *E. platyacanthus* al final del experimento ($P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).**

Factor	Valor de <i>F</i>
Esterilidad	0.11
Riego	1.97
Inoculación	1.20
Esterilidad x inoculación	1.25
Riego x inoculación	0.02
Esterilidad x riego	0.12
Esterilidad x riego x inoculación	1.21

4.3.2 Contenido de agua

4.3.2.1 Suculencia

La suculencia de plántulas de *E. platyacanthus* fue afectada por los factores riego ($F = 10.22$, $P < 0.01$) e inoculación ($F = 5.02$; $P < 0.05$). Se encontró mayor suculencia en plántulas regadas que en las no regadas (con riego 19.09 ± 2.69 ,

sin riego 5.9 ± 0.87), así como en las inoculadas que en las no inoculadas (con inóculo 13.01 ± 7.08 , sin inóculo 11.98 ± 6.98). La interacción riego x inóculo fue significativa (Figura 23; $P < 0.05$).

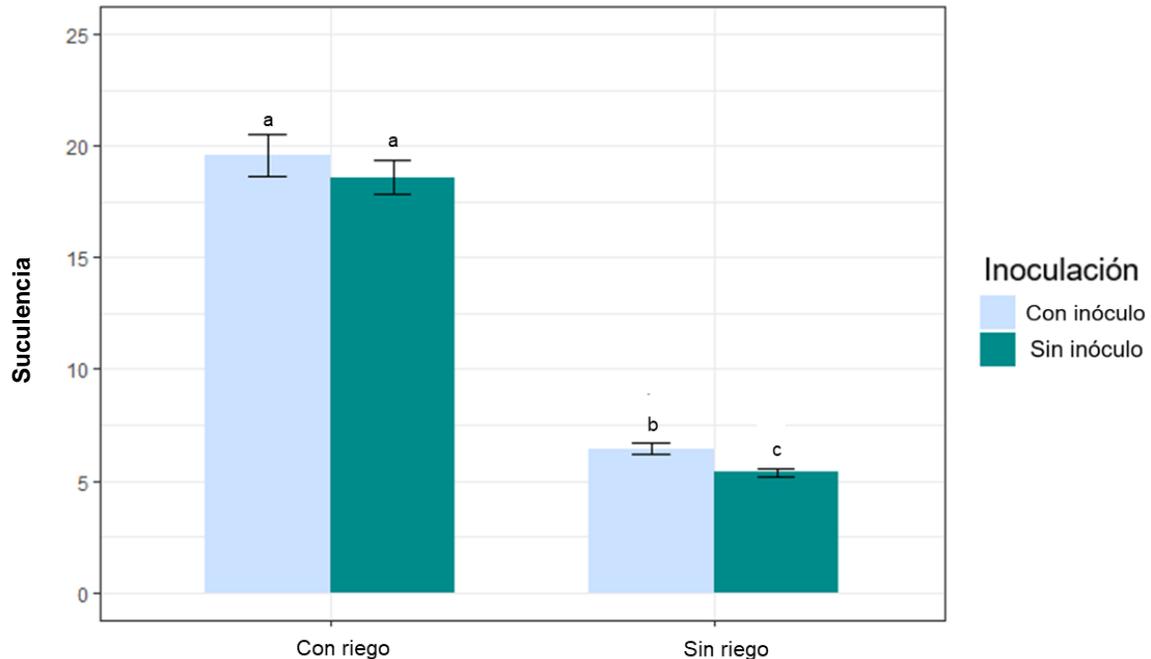


Figura 23. Diferencias en la succulencia en plántulas de *E. platyacanthus* al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos.

4.3.2.1 Contenido relativo de agua

Esta variable fue afectada por los factores riego ($F = 300.13$, $P < 0.001$) e inoculación ($F = 21.25$, $P < 0.001$), así como por la interacción riego x inoculación ($F = 9.258$, $P < 0.01$). Se encontró mayor contenido relativo de agua en plántulas regadas que en las no regadas (con riego 93.96 ± 2.09 , sin riego 86.72 ± 1.34), así como en las inoculadas que en las no inoculadas (con inóculo 91.3 ± 4.48 , sin inóculo 89.38 ± 3.42). En la Figura 24 se observa que existen diferencias significativas en el tratamiento con riego, con mayor contenido relativo de agua en

plantas inoculadas que sin inocular. En plantas sin riego no hubo un efecto de la inoculación.

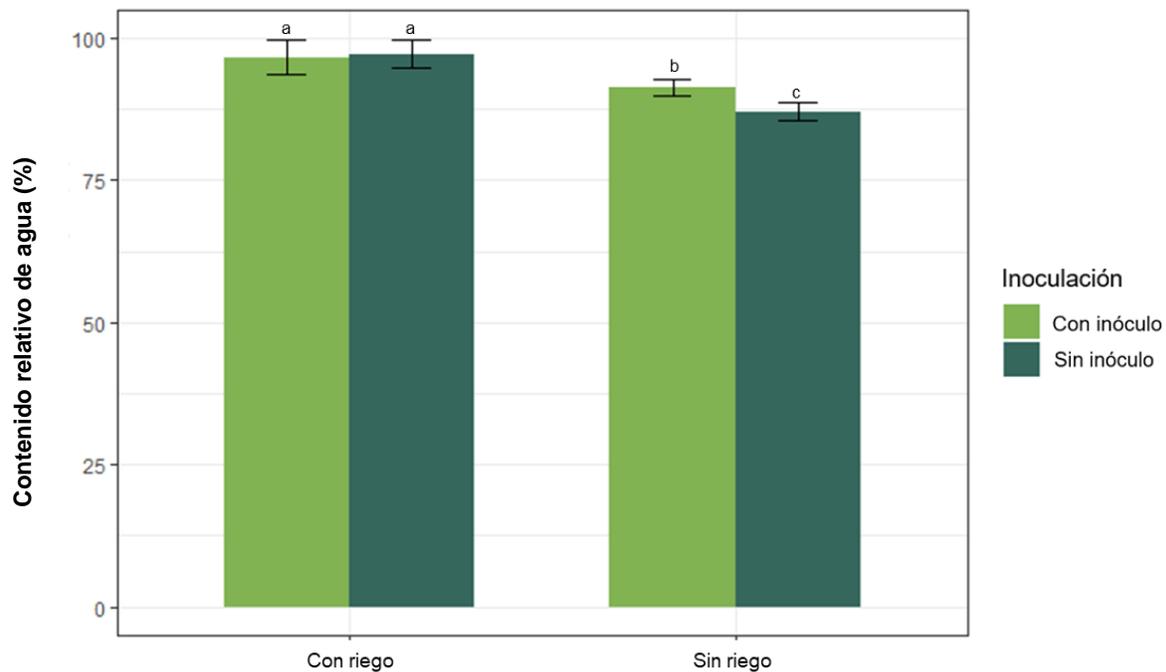


Figura 24. Diferencias en el contenido relativo de agua en plántulas de *E. platyacanthus* al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.01$).

4.3.3 Fotosíntesis

4.3.3.1 Acumulación de acidez nocturna

La acumulación nocturna de acidez fue afectada únicamente por el riego ($F = 63.9$, $P < 0.001$), con mayor acidez en las plantas con riego que sin riego (Figura 25).

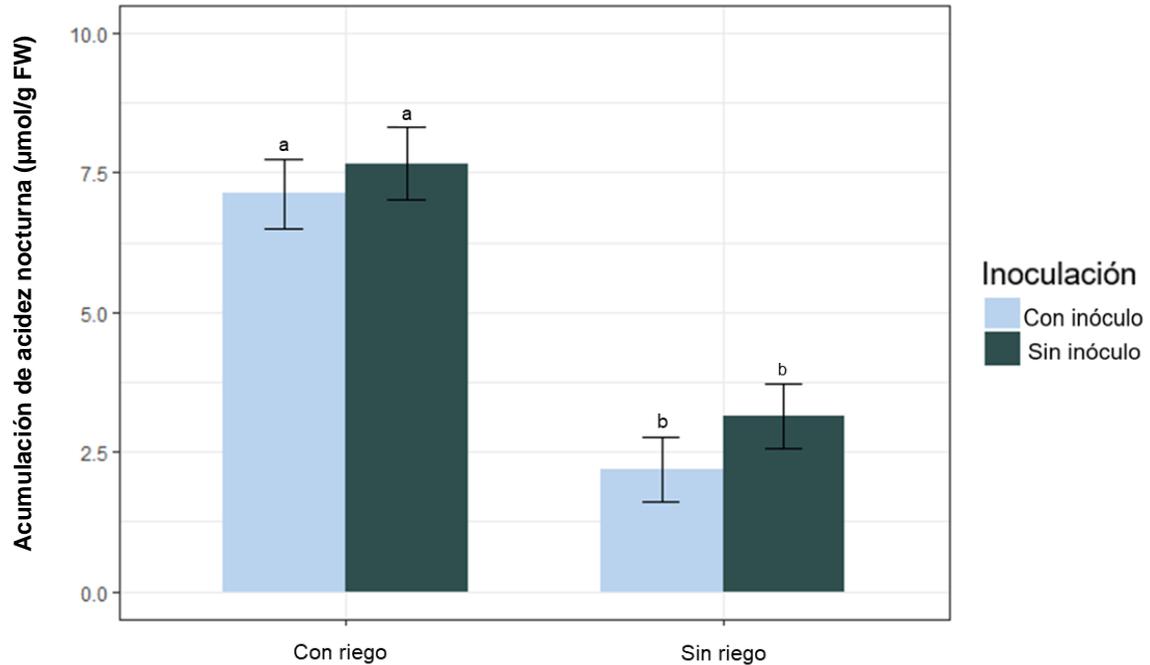


Figura 25. Diferencias en la acumulación de acidez nocturna de plántulas de *E. platyacanthus* al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.001$).

4.3.3.2 Fluorescencia de la clorofila

Esta variable fue afectada únicamente por el riego ($F = 42.81$, $P < 0.001$), con mayor F_v/F_m en las plantas con riego que sin riego (Figura 26).

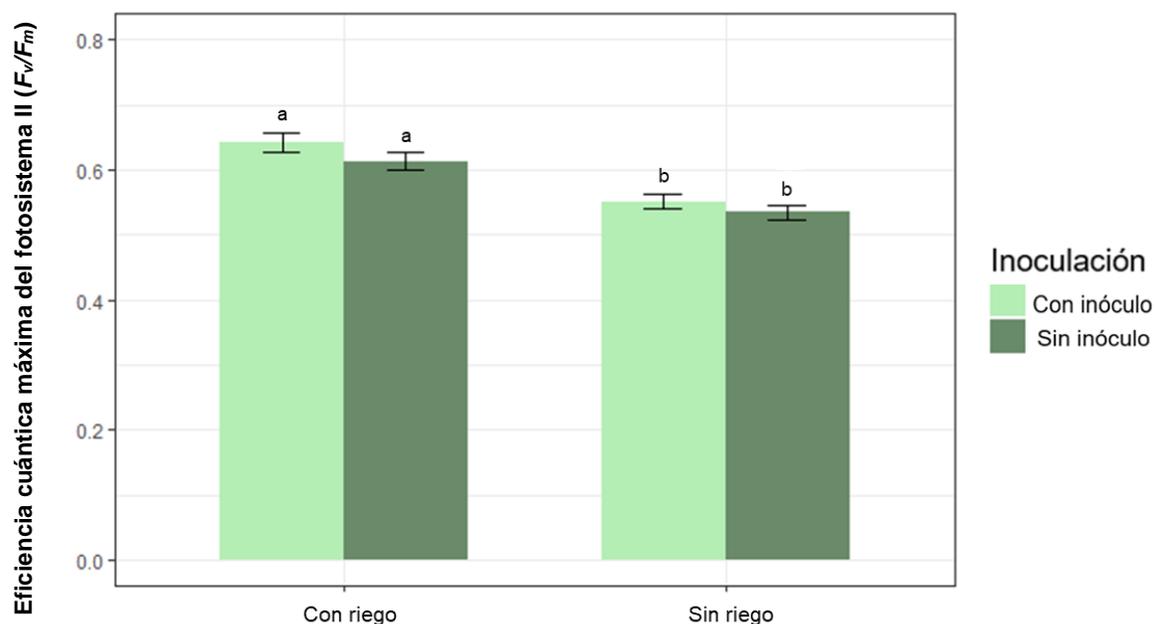


Figura 26. Diferencias en la eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) en plántulas de *E. platyacanthus* al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.001$).

4.3.3.3 Contenido de pigmentos

4.3.3.3.1 Clorofila a

La clorofila a fue afectada por el riego ($F = 24.78$, $P < 0.001$), la esterilidad ($F = 17.1$, $P < 0.001$) y la interacción riego x inoculación ($F = 8.1$; $P < 0.01$). Se encontró mayor concentración de clorofila a en plantas sin riego (71.09 ± 19.39) que con riego (53.77 ± 8.71), así como en plantas en suelo estéril (estéril 69.86 ± 19.8) que en plantas en suelo no estéril (55.01 ± 10.07) y en las plantas sin riego y sin inocular (Figura 27). Los resultados con la interacción múltiple, los cuales se muestran en la Figura 28, no fueron significativamente distintos.

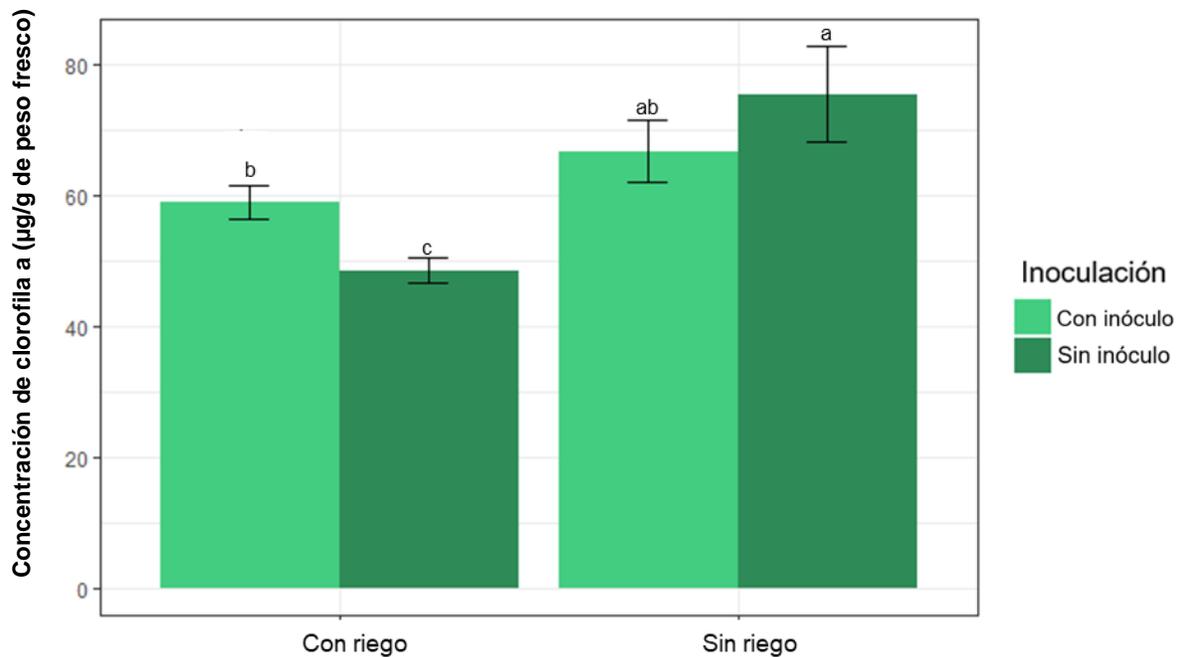


Figura 27. Diferencias en la concentración de clorofila a en plántulas de *E. platyacanthus* al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.01$).

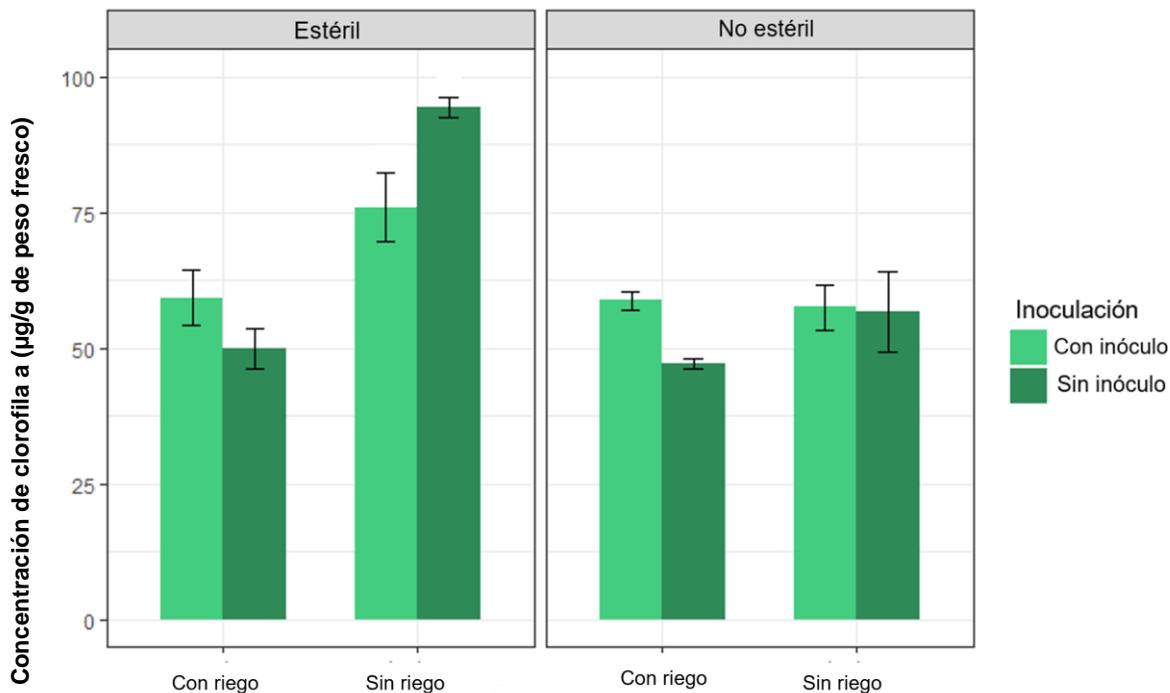


Figura 28. Diferencias en la concentración de clorofila a en plántulas de *E. platyacanthus* al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días, en tratamientos de esterilidad en el sustrato. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar. La interacción esterilidad x riego x inoculación no fue significativa ($P > 0.05$)

4.3.3.3.2 Clorofila b

La clorofila b fue afectada por el riego ($F = 13.71$, $P < 0.001$), la esterilidad ($F = 10.62$, $P < 0.01$) y la interacción riego x inoculación ($F = 26.37$; $P < 0.001$). Se encontró mayor concentración de clorofila b en plantas sin riego que con riego (con riego 60.97 ± 10.72 ; sin riego 52.28 ± 9.70), así como en plantas en suelo estéril que en plantas en suelo no estéril (estéril 60.45 ± 11.9 ; no estéril 52.8 ± 8.73) y en las plantas sin riego y sin inóculo, así como con riego y con inóculo (Figura 30). La interacción múltiple (esterilidad x riego x inoculación) no fue significativa (Figura 31).

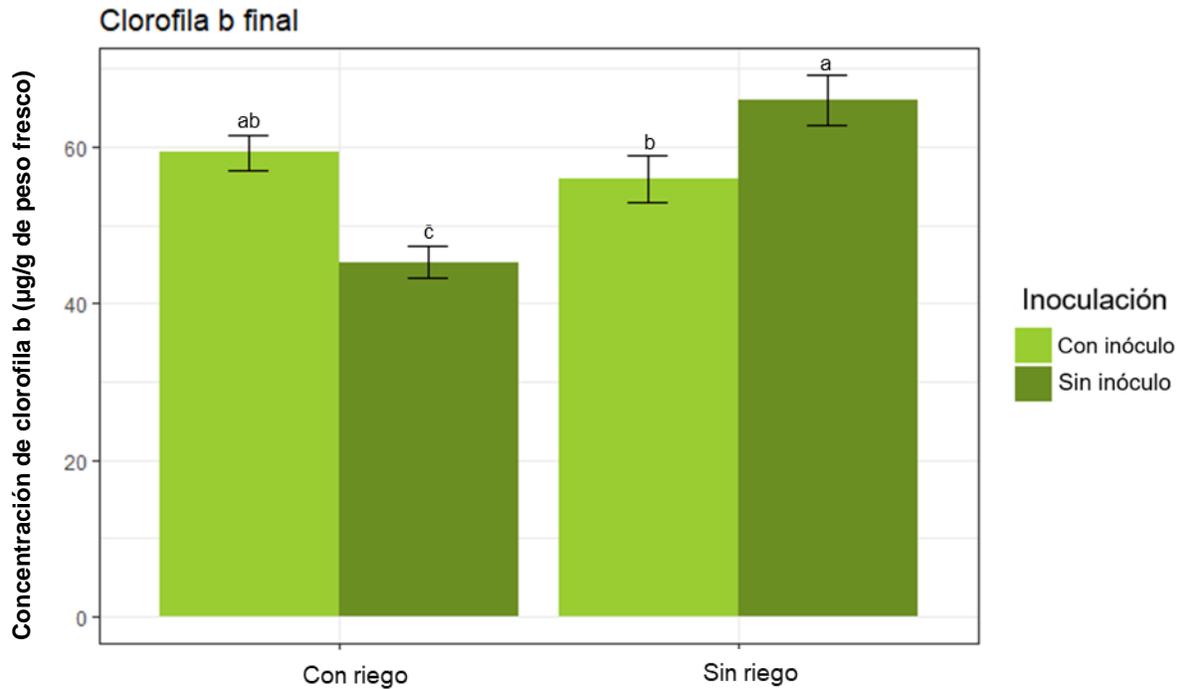


Figura 30. Diferencias en la concentración de clorofila *b* en plántulas de *E. platyacanthus* como variable ecofisiológica evaluada al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm la desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.001$).

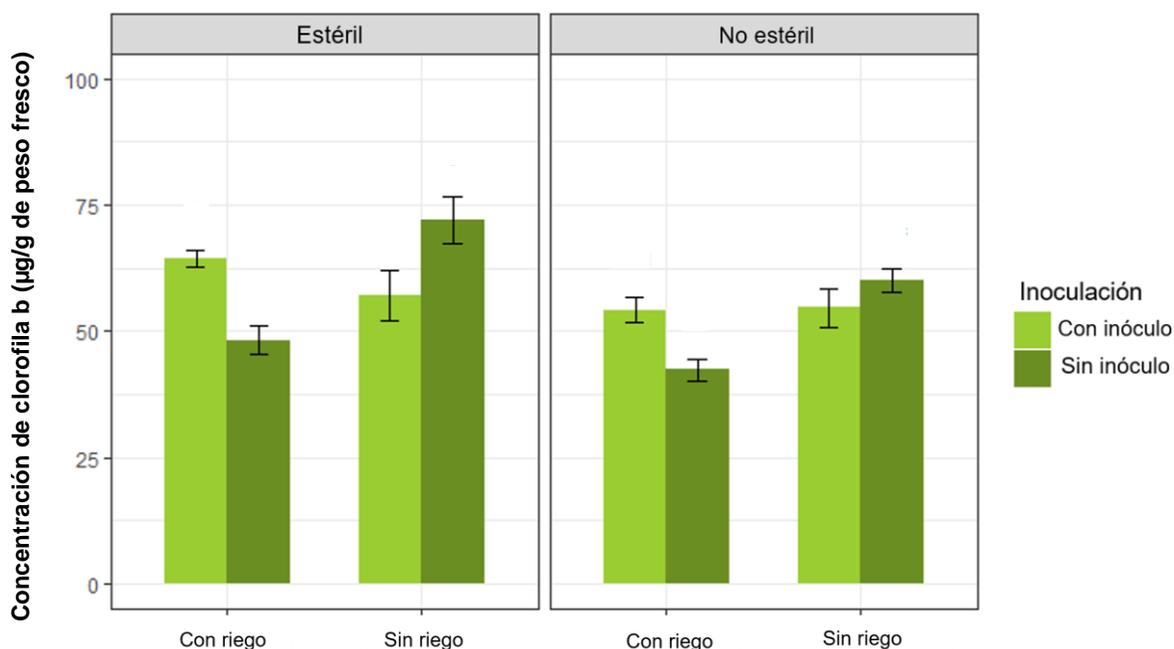


Figura 31. Diferencias en la concentración de clorofila *b* en plántulas de *E. platyacanthus* como variable ecofisiológica evaluada al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días, en tratamientos de esterilidad en el sustrato. Se muestran los valores promedio \pm desviación estándar. La interacción esterilidad x riego x inoculación no fue significativa.

4.3.3.3.3 Clorofila *a/b*

La clorofila *a/b* no fue afectada por los factores (excepto por la inoculación), ni por sus interacciones (Tablas 13 y 14).

Tabla 13. Concentraciones de clorofila *a/b* de plántulas de *E. platyacanthus* 75 días posteriores a la aplicación de los tratamientos de inoculación y riego en suelo estéril y no estéril. Se muestra la media y desviación ($n = 15$).

Esterilidad	Riego	Concentraciones de clorofila <i>a/b</i> (µg/g de peso fresco)	
		Con inóculo	Sin inóculo
Suelo estéril	Con riego	0.92 \pm 0.17	1.04 \pm 0.19
	Sin riego	1.35 \pm 0.28	1.34 \pm 0.23
Suelo no estéril	Con riego	1.09 \pm 0.09	1.13 \pm 0.13
	Sin riego	1.17 \pm 0.43	0.96 \pm 0.35

Tabla 14. Resultados del ANOVA de tres vías para la concentración de clorofila a/b de plántulas de *E. platyacanthus* al final del experimento ($P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$).**

Factor	Valor de F
Esterilidad	0.90
Riego	3.84
Inoculación	0.04
Esterilidad x inoculación	0.75
Riego x inoculación	1.41
Esterilidad x riego	6.33
Esterilidad x riego x inoculación	0.11

4.3.3.3.4 Clorofila total

La clorofila total fue afectada por el riego ($F = 43.22$, $P < 0.001$), la esterilidad ($F = 32.32$, $P < 0.001$) y las interacciones inoculación x riego ($F = 30$, $P < 0.001$) e inoculación x esterilidad ($F = 43.22$, $P < 0.001$). Se encontró mayor concentración de clorofila total en plantas sin riego que con riego (sin riego 132.06 ± 25.45 ; con riego 106.06 ± 16.58), así como en plantas en suelo estéril que en plantas en suelo no estéril (estéril 130.3 ± 28.46 ; no estéril 107.82 ± 14.23). La interacción múltiple (esterilidad x riego x inoculación) no fue significativa (Figura 32).

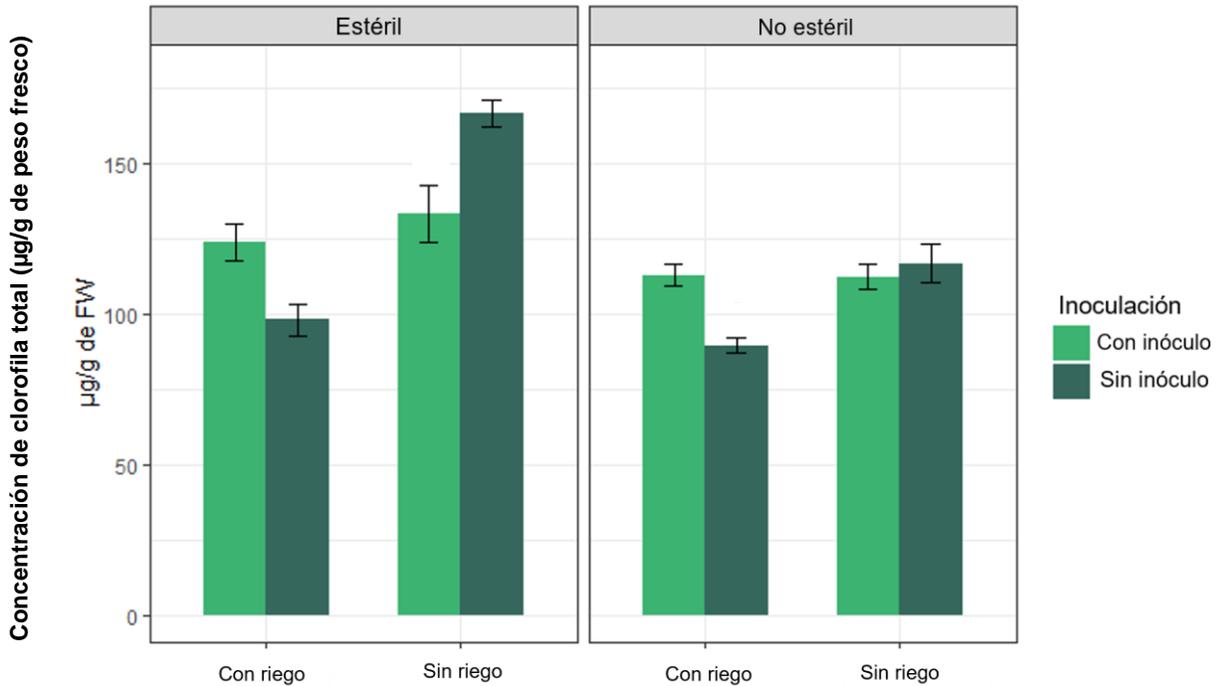


Figura 32. Diferencias en las concentraciones de clorofilas totales en plántulas de *E. platyacanthus* evaluadas al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días, en tratamientos de esterilidad en el sustrato. Se muestran los valores promedio \pm y desviación estándar. No se muestran letras indicando diferencias porque la interacción esterilidad x riego x inoculación no fue significativa ($P > 0.05$).

4.3.3.3.5 Carotenoides

La concentración de carotenoides fue afectada por el riego ($F = 247.42$, $P < 0.001$), la inoculación ($F = 7.8$, $P < 0.01$) y la interacción riego x inoculación ($F = 9.84$, $P < 0.01$). Se encontró mayor concentración de carotenoides en plantas sin riego que con riego (sin riego 51.33 ± 12.57 ; con riego 20.16 ± 4.09). También se encontró mayor concentración de carotenoides en plantas sin riego y sin inóculo, y menor concentración en plantas regadas, con y sin inóculo (Figura 31).

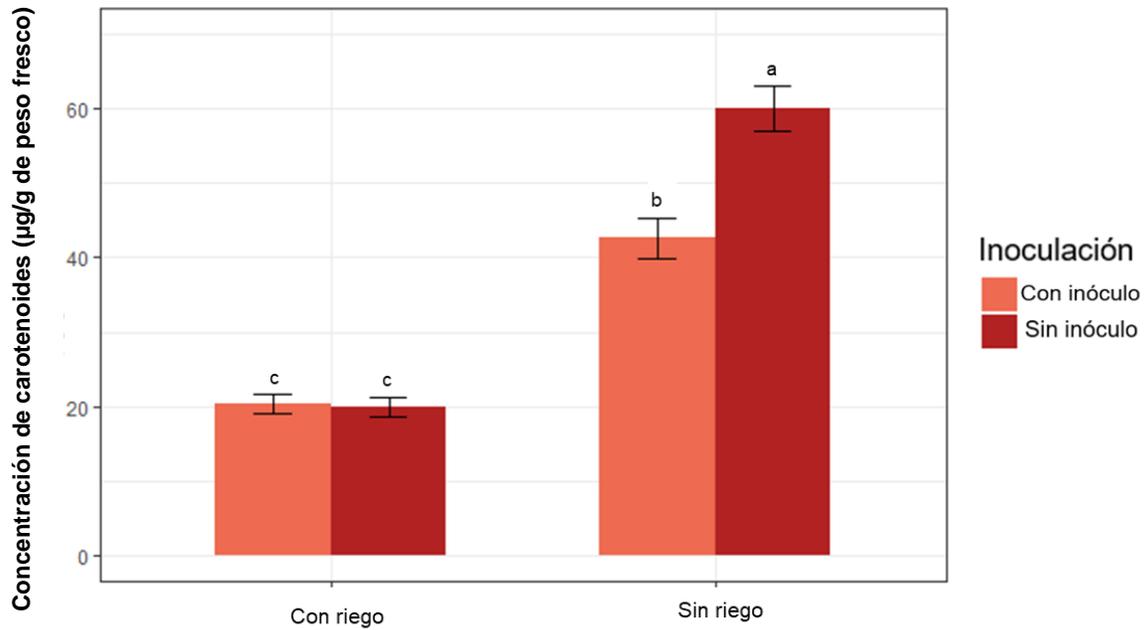


Figura 31. Diferencias en la concentración de carotenoides ($\mu\text{g/g}$ de peso fresco (FW)) en plántulas de *E. platyacanthus* al final del experimento para conocer su respuesta ante la inoculación del consorcio de bacterias benéficas y limitación de riego durante 75 días. Se muestran los valores promedio \pm y la desviación estándar, las letras indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.01$).

5. Discusión

5.1 Capacidad de producción de EPS por las cepas bacterianas del consorcio en condiciones de estrés hídrico.

En el presente trabajo se evaluó la capacidad de producción de EPS bajo condiciones normales y de estrés hídrico en las seis cepas que conforman el consorcio bacteriano. Estudios previos han documentado que cepas de los géneros *Bacillus*, *Acromobacter* y *Stenotrophomonas* son capaces de producir EPS bajo condiciones normales (Abd-Alla *et al.*, 2018; García *et al.*, 2015; Marvasi *et al.*, 2010; Patil *et al.*, 2015; Rahmat, 2021; Ramamoorthy *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020), no obstante, este trabajo es uno de los primeros en evaluar la capacidad de las mismas bajo condiciones de estrés hídrico.

En general todas las cepas presentaron un patrón similar en el cual conforme aumenta el estrés hídrico disminuye la producción de EPS en los diferentes tipos de carbohidratos. Ghosh *et al.* (2019) observaron que no todas las cepas tienen el mismo comportamiento, pues mientras algunas aumentan la producción de EPS cuando existe mayor estrés hídrico, otras disminuyen su producción en estas condiciones.

En esta investigación, la única excepción fue *Stenotrophomonas* sp.2, en donde se observó que la mayor producción de los diferentes carbohidratos ocurrió en el mayor estrés hídrico (-0.73 MPa) a un nivel similar al tratamiento control sin estrés hídrico (0 MPa). Por lo tanto, esta cepa bacteriana del consorcio se destaca por su notable producción de EPS en forma de glucosa (monosacárido), sacarosa (disacárido) y almidón (polisacárido). Cabe mencionar que el carbohidrato que más produjo esta cepa es el almidón, lo cual se esperaba debido a las características de este polímero de alto peso molecular, pues se conoce que los exopolisacáridos bacterianos (EPS) son una mezcla natural de polímeros de alto peso molecular liberados por bacterias a su entorno (Morcillo & Manzanera, 2021). La presencia del género *Stenotrophomonas* fue previamente reportada en semillas de *E. platyacanthus* por Mascot-Gómez *et al.* (2020), dominando tanto en las comunidades microbianas episeminales como en las endoseminales, lo cual

sugiere que las interacciones con este género pudieran ser relevantes para la adaptación a las condiciones de estrés hídrico. La cepa utilizada en el presente estudio tiene alta similitud en su secuencia del gen 16S rRNA con *Stenotrophomonas maltophilia*, la cual en un estudio previo fue aislada de nódulos de raíces de *Cicer arietinum* y *Vigna unguiculata* en el que exhibió un alto rendimiento en la producción de EPS (Abd-Alla *et al.*, 2018). De la misma forma, en otro trabajo, la cepa *Stenotrophomonas sp. CV83* produjo exopolisacáridos en condiciones de mayor estrés por sequía (Sharma *et al.*, 2023).

Es importante destacar que la producción de EPS ante situaciones de estrés hídrico puede variar ampliamente entre diferentes especies bacterianas, (Ghosh *et al.*, 2019). Dicha respuesta puede depender de las condiciones ambientales, así como de la intensidad y duración del estrés (Naseem *et al.*, 2018). Los resultados obtenidos confirman que algunas bacterias pueden aumentar la producción de EPS para adaptarse y sobrevivir en condiciones de estrés generando una mayor cantidad de cierto tipo de sacáridos, como fue el caso de la cepa *Stenotrophomonas sp. 2*, mientras que otras especies pueden reducir su producción de EPS y priorizar otras estrategias de supervivencia, como las demás cepas del consorcio. Por lo tanto, comprender mejor los mecanismos fisiológicos y moleculares subyacentes a diferentes especies microbianas, permitirá la selección adecuada de bacterias productoras de EPS, adaptadas a condiciones de estrés hídrico, para conformar un consorcio bacteriano con funciones benéficas para la planta que sean complementarias.

5.2 Efectos de la inoculación del consorcio de PGPR, sobre la velocidad y porcentaje de germinación de semillas de *E. platyacanthus* bajo diferentes tratamientos de estrés hídrico inducido.

Se ha reportado que la disminución del potencial hídrico afecta negativamente la germinación de varias especies desérticas (Flores *et al.*, 2017) y se observa un aumento del tiempo medio de germinación (Barrios *et al.*, 2021). Aunado a esto, en cactáceas se ha observado que la inoculación de semillas con bacterias benéficas tiene efectos positivos, puesto que reduce el tiempo de germinación

(Puente & Bashan, 1993) e incrementa considerablemente la germinación en comparación con semillas sin inocular (Chávez-Ambriz *et al.*, 2016). A su vez, bacterias aisladas de plantas desérticas al ser inoculadas en semillas de trigo muestran índices de velocidad de germinación máximos en condiciones de estrés inducido (Zia *et al.*, 2021). Con estos antecedentes, en este trabajo esperábamos tener un efecto positivo de la inoculación durante la germinación, no obstante, en el caso particular de las condiciones aplicadas en el experimento no se tuvo un efecto significativo. Esto es contrario a lo esperado, ya que este fenómeno ha sido observado en otros trabajos. Chávez-Ambriz *et al.* (2016) obtuvieron cuatro aislados bacterianos pertenecientes al género *Bacillus* de la rizosfera de *Mammillaria magnimamma* y *Coryphantha radians*, los cuales fueron utilizados para inocular semillas de *M. magnimamma* encontrando que los aislados incrementaron la germinación desde un 17% hasta un 34.3% (con respecto a las semillas testigo sin inocular). Sin embargo; en el actual experimento no se observaron diferencias significativas entre las semillas inoculadas y no inoculadas en el potencial hídrico 0 MPa. Estas diferencias en los efectos de la inoculación pueden deberse a que las cepas específicas del consorcio seleccionado no tienen las características necesarias para favorecer la germinación de semillas de *E. platyacanthus*, pues a pesar de que se contaba con referencias de que los géneros bacterianos que conforman el consorcio tienen rasgos promotores del crecimiento vegetal (Aeron *et al.*, 2020; Ali & Osman, 2022; Blake *et al.*, 2021; Contreras-Pérez *et al.*, 2019; Essalimi *et al.*, 2022; A. Hashem *et al.*, 2019; Rashad *et al.*, 2022; Ulrich *et al.*, 2021; Wass *et al.*, 2019), las cepas utilizadas en el experimento no fueron caracterizadas específicamente para conocer si poseen rasgos clave que promueven la germinación como: producción de giberelinas, citoquininas y ácido abscísico (ABA), de manera que no se sabe con seguridad si cuentan con estos rasgos específicos, por lo que posiblemente los efectos benéficos se expresan en otras etapas del desarrollo de esta especie vegetal.

Por otra parte, en el estudio realizado por Flores *et al.* (2017) se determinó que el mayor porcentaje de germinación de *E. platyacanthus* ocurrió a -0.4 MPa a 32° C y se comprobó que el potencial hídrico se vuelve menos limitante para la germinación de semillas cuando la temperatura está cerca del óptimo de germinación (32° C). Sin embargo, en el actual experimento la temperatura empleada fue de 29°C, debido a que fue la temperatura máxima alcanzada por las cámaras de germinación utilizadas. Esta temperatura pudo afectar negativamente la germinabilidad a potenciales hídricos más negativos, ya que se observó un marcado patrón de disminución del porcentaje de germinación mientras más disminuye el potencial hídrico. Esto concuerda con lo demostrado por Barrios *et al.* (2021) en otra especie de cactácea puesto que con la disminución del potencial hídrico observó una menor germinación en semillas de *Leptocereus spp*, así como un aumento del tiempo medio de germinación al disminuir los potenciales hídricos.

Mascot-Gómez *et al.* (2020) realizaron un estudio en el que se demostró que el porcentaje de germinación fue estadísticamente mayor en semillas de *E. platyacanthus* sin sanitizar que en semillas sanitizadas. Sin embargo, en los resultados obtenidos en este experimento no se observaron diferencias significativas entre las semillas sanitizadas y no sanitizadas en el potencial hídrico de 0 MPa. No obstante, se observó que conforme disminuyen los potenciales hídricos, las semillas sanitizadas tienen significativamente mejor germinabilidad que las no sanitizadas. Una de las posibles razones por las que se obtuvo este resultado es que el proceso de lavado utilizado por Mascot fue más agresivo en comparación con el utilizado en este experimento. Probablemente en el presente experimento no se haya eliminado por completo la microbiota episeminal y el mucílago al exterior de la semilla, lo cual pudo beneficiar a las semillas en vez de perjudicarlas.

Así mismo, se pudo observar que las semillas sanitizadas no fueron invadidas por hongos mientras que las no sanitizadas sí, mostrando una mayor germinación en semillas no invadidas que fueron sanitizadas. Mascot-Gómez *et al.* (2021) encontraron que las semillas lavadas de *E. platyacanthus* son susceptibles

de ser colonizadas por una cepa muy similar a *Aspergillus welwitschiae*, un hongo que ha sido considerado saprofito. Este hongo parasita facultativamente las plantas utilizando un modo nutricional necrotrófico, además de ser tolerante al estrés salino y a metales pesados (Gul *et al.*, 2023; Husna *et al.*, 2022). Es probable que nuestro tratamiento de sanitización haya eliminado este tipo de patógenos, lo cual minimizó la colonización de las semillas y en consecuencia se observó una mayor germinación.

Aunque los tratamientos de inoculación no favorecieron significativamente la germinabilidad y el tiempo medio de germinación, se encontraron diferencias significativas entre los potenciales hídricos utilizados y los tratamientos de sanitización. Es necesario tener en cuenta que el éxito de la inoculación depende de varios factores como: las cepas seleccionadas, rasgos benéficos que poseen, condiciones ambientales, compatibilidad con la semilla, calidad de las semillas, técnica de inoculación, método de sanitización, así como etapa de desarrollo de la planta. Esto puede implicar que el consorcio de PGPR seleccionado posiblemente no cuenta con los rasgos necesarios que promueven la germinación de semillas de *E. platyacanthus*. Por esta razón es necesario emplear cepas que se hayan caracterizado por tener rasgos promotores del crecimiento vegetal que favorezcan la germinación como: cepas del género *Bacillus megaterium*, *Bacillus flexus*, *Azospirillum brasilense*, *Proteus mirabilis* R2, *Pseudomonas balearica* RF-2 y *Cronobacter sakazakii* RF-4 que se han probado con éxito en la germinación de *M. magnimamma*, *Pachycereus pringlei* y *Triticum vulgare*, respectivamente (Chávez-Ambriz *et al.*, 2016; Puente & Bashan, 1993; Zia *et al.*, 2021). Sin embargo, el hecho de que el consorcio empleado en este trabajo no tuviera efectos benéficos durante la germinación no interfiere en sus efectos durante otras etapas de desarrollo.

5.3 Efectos de la inoculación del consorcio de PGPR, sobre los parámetros fisiológicos de plántulas de *E. platyacanthus* ante la suspensión del riego

A pesar de que las plantas CAM están adaptadas a entornos extremos en los que se combina el estrés hídrico y las altas temperaturas, el agua juega un papel esencial para su funcionamiento, pues les permite realizar la fotosíntesis de manera eficiente minimizando la pérdida de agua por transpiración, lo que es crucial para su adaptación y supervivencia en entornos áridos, además de ser fundamental para el transporte de nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo (Hashem & Mohamed, 2020b; Kluge & Ting, 1978; Lambers *et al.*, 2008).

En la inoculación de las plántulas de *E. platyacanthus* con el consorcio seleccionado se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de inoculación, dado que la longitud del tallo fue mayor en plántulas inoculadas que en las no inoculadas (Figura 16), indicando que la inoculación con PGPR puede influir en el crecimiento y desarrollo general de las plántulas de *E. platyacanthus* bajo estrés. Lo anterior sugiere que al mejorar la adquisición de nutrientes se ayuda indirectamente a la elongación del tallo de la plántula, incluso en condiciones de estrés hídrico. También, al producir hormonas que promueven el crecimiento de las plantas como auxinas (AIA) como principal promotora y de forma indirecta las giberelinas y citoquininas, pueden promover el alargamiento del tallo, contrarrestando potencialmente los efectos inhibidores del estrés hídrico, pues son responsables de activar una respuesta eficaz contra el estrés (Ahmad *et al.*, 2022; Kang *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2020).

En condiciones de estrés hídrico los microorganismos pueden promover el ajuste osmótico al sintetizar y acumular osmolitos y EPS que ayudan a retener el agua en sus células, previniendo la pérdida de agua en los tejidos de las plantas (Adessi *et al.*, 2018; Ghosh *et al.*, 2019; Morcillo & Manzanera, 2021). Esto puede explicar por qué se encontraron valores más altos de contenido relativo de agua y succulencia en plántulas inoculadas con PGPR bajo condiciones de déficit hídrico, lo cual concuerda con lo demostrado por Meenakshi *et al.* (2019) y (H.G. *et al.*, 2020); En estos últimos estudios diferentes cepas de *Bacillus subtilis* mejoraron el

contenido relativo de agua en trigo y tomate bajo condiciones de agua limitada en comparación con plantas control.

Aunado a esto, los carotenoides son un grupo de pigmentos que se encuentran en las plantas, son esenciales para la fotosíntesis y la fotoprotección, también influyen en el desarrollo de las plantas y en las respuestas al estrés (Li *et al.*, 2008). Así pues, el aumento en las concentraciones de carotenoides en plantas con estrés abiótico se debe a la sobresaturación de los mecanismos de disipación de energía y un aumento en la fotooxidación inducida por el estrés oxidativo (Aragón-Gastélum *et al.*, 2020). Las PGPR pueden incrementar el contenido de carotenoides en las plantas que se encuentran bajo estrés, debido a que las cepas bacterianas aumentan la disipación no fotoquímica, las plántulas pueden tolerar de mejor manera el estrés (Abdela *et al.*, 2020). También Estrada-González *et al.*, (2023) encontraron que durante la estación seca, ejemplares de *E. platyacanthus* realizan ajustes fisiológicos como el aumento de carotenoides y clorofilas para responder a la baja disponibilidad de agua y nutrientes del suelo. De manera similar, en este estudio se encontraron cantidades mayores de carotenoides en las plántulas que se encontraban más estresadas (tratamiento sin inoculación y supresión de riego) y menores cantidades en las plántulas que fueron inoculadas.

Es importante tener en cuenta que los efectos específicos de las PGPR pueden variar según las especies de cactus y las condiciones ambientales. En un estudio realizado en individuos adultos de *E. platyacanthus* se reportó la relevancia de la interacción con microorganismos asociados a la rizósfera involucrados en la adquisición de nutrientes que pueden estar relacionados en la tolerancia ante el estrés hídrico. En la estación seca las comunidades bacterianas de la rizósfera de *E. platyacanthus* cambian y predominan las bacterias benéficas, además de que se observan importantes ajustes fisiológicos como respuesta a la baja disponibilidad de agua, por ejemplo, el aumento de la clorofila y carotenoides, así como la disminución de la actividad CAM y del potencial hídrico de la planta (Estrada-González *et al.*, 2023). Las interacciones entre PGPR y cactus son

complejas, por lo que se necesita más investigación para comprender íntegramente los mecanismos involucrados y su influencia en los parámetros fisiológicos de las plántulas de *E. platyacanthus* durante la sequía. Las PGPR pueden facilitar la adaptación de *E. platyacanthus* a condiciones ambientales adversas como en las temporadas secas mediante la adquisición de nutrientes y agua (Estrada-González *et al.*, 2023), lo cual se demuestra en parte de este trabajo, complementando la importancia de los EPS en la obtención de agua en condiciones de escases de agua.

6. Conclusiones

1. Se demostró que las cepas que conforman el consorcio son capaces de producir EPS en condiciones de estrés hídrico, en especial *Stenotrophomonas* sp. 2 la cual destaca por su capacidad de adaptación al nivel máximo de estrés hídrico. Estos hallazgos contribuyen al conocimiento sobre cómo las bacterias pueden influir en la adaptación de las plantas al estrés hídrico.
2. Aunque no se demostró un efecto significativo de la inoculación en la germinación de semillas de *E. platyacanthus* bajo las condiciones en las que se realizó este experimento, se resalta que posiblemente el consorcio tenga un efecto positivo en la protección de la semilla ante patógenos. También es de suma importancia mencionar que es necesario caracterizar las cepas que conforman el consorcio según su aplicación específica, pues si se desea favorecer la germinación las cepas deben poseer rasgos que promuevan la germinación.
3. Los resultados destacan el potencial de las cepas bacterianas PGPR para mejorar la tolerancia de las plántulas al estrés hídrico ante la falta de riego, así como fomentar su crecimiento y supervivencia en condiciones adversas, pues la inoculación con el consorcio bacteriano tuvo un efecto significativo en los parámetros contenido relativo de agua, succulencia, longitud de tallo, y contenido de carotenoides y las cepas son capaces de producir EPS en condiciones de estrés hídrico, mecanismo que promueve el crecimiento y ayuda a la retención de agua.

7. Bibliografía

- Abd-Alla, M. H., Bashandy, S. R., Nafady, N. A., & Hassan, A. A. (2018). Enhancement of exopolysaccharide production by *Stenotrophomonas maltophilia* and *Brevibacillus parabrevis* isolated from root nodules of *Cicer arietinum* L. and *Vigna unguiculata* L. (Walp.) plants. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 29(1), 117–129. <https://doi.org/10.1007/s12210-018-0671-1>
- Abdela, A. A., Barka, G. D., & Degefu, T. (2020). Co-inoculation effect of *Mesorhizobium ciceri* and *Pseudomonas fluorescens* on physiological and biochemical responses of Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) during drought stress. *Plant Physiology Reports*, 25(2), 359–369. <https://doi.org/10.1007/s40502-020-00511-x>
- Abdel-Rahman, H. M., Salem, A. A., Moustafa, M. M. A., & El-Garhy, H. A. S. (2017). A novice *Achromobacter* sp. EMCC1936 strain acts as a plant-growth-promoting agent. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(2), 61. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2360-6>
- Adessi, A., Cruz de Carvalho, R., De Philippis, R., Branquinho, C., & Marques da Silva, J. (2018). Microbial extracellular polymeric substances improve water retention in dryland biological soil crusts. *Soil Biology and Biochemistry*, 116, 67–69. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.10.002>
- Aeron, A., Dubey, R. C., & Maheshwari, D. K. (2020). Characterization of a plant-growth-promoting non-nodulating endophytic bacterium (*Stenotrophomonas maltophilia*) from the root nodules of *Mucuna utilis* var. *capitata* L. (Safed Kaunch). *Canadian Journal of Microbiology*, 66(11), 670–677. <https://doi.org/10.1139/cjm-2020-0196>
- Ahmad, H. M., Fiaz, S., Hafeez, S., Zahra, S., Shah, A. N., Gul, B., Aziz, O., Mahmood-Ur-Rahman, Fakhar, A., Rafique, M., Chen, Y., Yang, S. H., & Wang, X. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria eliminate the effect of drought stress in plants: A review. *Frontiers in Plant Science*, 13, 875774.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.875774>

Albalasmeh, A. A., Berhe, A. A., & Ghezzehei, T. A. (2013). A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 253–261.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.072>

Ali, A., A., & Osman, N. H. (2022). Isolation, identification and evaluation of the plant growth promoting activities of endophytic *Stenotrophomonas maltophilia* to stimulate growth of clover plants under salt stress. *Microbiology Research Journal International*, 7–20. <https://doi.org/10.9734/mrji/2022/v32i81336>

Aragón Gastélum, J. L. (2011). *Viviparidad en Echinocactus platyacanthus en el Altiplano Potosino y su posible beneficio para las etapas iniciales de desarrollo*. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Aragón-Gastélum, J. L., Flores, J., Yáñez-Espinosa, L., Badano, E., Ramírez-Tobías, H. M., Rodas-Ortiz, J. P., & González-Salvatierra, C. (2014). Induced climate change impairs photosynthetic performance in *Echinocactus platyacanthus*, an especially protected Mexican cactus species. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 209(9), 499–503. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.06.002>

Aragón-Gastélum, J. L., Ramírez-Benítez, J. E., González-Durán, E., González-Salvatierra, C., Ramírez-Tobías, H. M., Flores, J., Gutiérrez-Alcántara, E. J., Méndez-Guzmán, E., & Jarquín-Gálvez, R. (2020). Photochemical activity in early-developmental phases of *Agave angustifolia* subsp. *tequilana* under induced global warming: Implications to temperature stress and tolerance. *Flora*, 263, 151535. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.151535>

Azizoglu, U. (2019). *Bacillus thuringiensis* as a biofertilizer and biostimulator: A mini-review of the little-known plant growth-promoting properties of Bt. *Current Microbiology*, 76(11), 1379–1385. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01705-9>

- Bacilio, M., Hernandez, J.-P., & Bashan, Y. (2006). Restoration of giant cardon cacti in barren desert soil amended with common compost and inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils*, *43*(1), 112–119.
<https://doi.org/10.1007/s00374-006-0072-y>
- Barrios, D., Flores, J., Sánchez, J. A., & González-Torres, L. R. (2021). Combined effect of temperature and water stress on seed germination of four *LEPTOCEREUS* SPP . (CACTACEAE) from CUBAN dry forests. *Plant Species Biology*, 1442-1984.12334.
<https://doi.org/10.1111/1442-1984.12334>
- 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). *Plant and Soil*, *378*(1–2), 1–33.
<https://doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x>
- Baskin, C. C., & Baskin, J. (1998). Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. *New York: Academic Press.*, 7.
- Blake, C., Christensen, M. N., & Kovács, Á. T. (2021). Molecular Aspects of Plant Growth Promotion and Protection by *Bacillus subtilis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, *34*(1), 15–25. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-20-0225-CR>
- Bonatelli, M. L., Lacerda-Júnior, G. V., dos Reis Junior, F. B., Fernandes-Júnior, P. I., Melo, I. S., & Quecine, M. C. (2021). Beneficial Plant-Associated Microorganisms From Semiarid Regions and Seasonally Dry Environments: A Review. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 553223. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.553223>
- Bravo-Hollis, H., & Sánchez-Mejorada, H. (1991). *Las cactáceas de México: Vol. II*. Universidad nacional de Mexico.
- Burlyn E. Michel. (1983). Evaluation of the Water Potentials of Solutions of Polyethylene Glycol 8000 Both in the Absence and Presence of Other Solutes. *Plant Physiology*, *72*(1), 66–70. <https://doi.org/10.1104/pp.72.1.66>

- Carrillo-García, Á., Bashan, Y., Rivera, E. D., & Bethlenfalvay, G. J. (2000). Effects of Resource-Island Soils, Competition, and Inoculation with *Azospirillum* on Survival and Growth of *Pachycereus pringlei*, the Giant Cactus of the Sonoran Desert. *Restoration Ecology*, 8(1), 65–73. <https://doi.org/10.1046/j.1526-100x.2000.80009.x>
- Castañeda Romero, M., Luna Contreras, M., Vela Godinez, D., Montoya Santiago, G., González Bermúdez, A., Martínez Peña, R., & Esperón Rodríguez, M. (2016). *Nota sobre la estructura poblacional de Echinocactus platyacanthus (cactacea) en la reserva de la Biósfera "Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México.* 115, 65–73.
- Chandra, P., Wunnava, A., Verma, P., & Sharma, R. K. (2021). Strategies to mitigate the adverse effect of drought stress on crop plants—Influences of soil bacteria: A review—ScienceDirect. *Pedosphere*, 31, 496–509. [https://biblos.ipicyt.edu.mx:2116/10.1016/S1002-0160\(20\)60092-3](https://biblos.ipicyt.edu.mx:2116/10.1016/S1002-0160(20)60092-3)
- Chávez-Ambríz, L. A., Hernández-Morales, A., Cabrera-Luna, J. A., Luna-Martínez, L., & Pacheco-Aguilar, J. R. (2016). Aislados de *Bacillus* provenientes de la rizósfera de cactus incrementan la germinación y la floración en *Mammillaria* spp. (Cactaceae). *Revista Argentina de Microbiología*, 48(4), 333–341. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.09.001>
- Chiappero, J., Cappellari, L. del R., Sosa Alderete, L. G., Palermo, T. B., & Banchio, E. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. *Industrial Crops and Products*, 139, 111553. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111553>
- Compant, S., Van Der Heijden, M. G. A., & Sessitsch, A. (2010). Climate change effects on beneficial plant-microorganism interactions: Climate change and beneficial plant-microorganism interactions. *FEMS Microbiology Ecology*, no-no.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00900.x>

- Contreras-Pérez, M., Hernández-Salmerón, J., Rojas-Solís, D., Rocha-Granados, C., Orozco-Mosqueda, Ma. D. C., Parra-Cota, F. I., De Los Santos-Villalobos, S., & Santoyo, G. (2019). Draft genome analysis of the endophyte, *Bacillus toyonensis* COPE52, a blueberry (*Vaccinium* spp. Var. Biloxi) growth-promoting bacterium. *3 Biotech*, *9*(10), 370. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1911-5>
- De Almeida, J. R., Bonatelli, M. L., Batista, B. D., Teixeira-Silva, N. S., Mondin, M., Dos Santos, R. C., Bento, J. M. S., De Almeida Hayashibara, C. A., Azevedo, J. L., & Quecine, M. C. (2021). *BACILLUS THURINGIENSIS* RZ2MS9 , a tropical plant growth-promoting rhizobacterium, colonizes maize endophytically and alters the plant's production of volatile organic compounds during co-inoculation with *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* AB-V5 . *Environmental Microbiology Reports*, *13*(6), 812–821. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13004>
- De la Rosa-Manzano, E., Flores, J., & Delgado-Sánchez, P. (2016). Effects of shading on aspects of photosynthesis for three cactus species. *Botanical Sciences*, *94*(2), 301. <https://doi.org/10.17129/botsci.458>
- de la Torre Hernández, M. E. de la T., Salinas Virgen, L. I. S., Aguirre Garrido, J. F. A., & Ramírez Saad, H. C. R. (2020). Caracterización molecular de bacterias rizosféricas asociadas a *Echinocactus platyacanthus* en invernadero y silvestres. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *11*(3), 531–542.
- de la Torre-Hernández, M. E., Salinas-Virgen, L. I., Aguirre-Garrido, J. F., Fernández-González, A. J., Martínez-Abarca, F., Montiel-Lugo, D., & Ramírez-Saad, H. C. (2020). Composition, Structure, and PGPR Traits of the Rhizospheric Bacterial Communities Associated With Wild and Cultivated *Echinocactus platyacanthus* and *Neobuxbaumia polylopha*. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 1424. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01424>

- de Vries, F. T., Griffiths, R. I., Knight, C. G., Nicolitch, O., & Williams, A. (2020). Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production. *Science*, 368(6488), 270–274. <https://doi.org/10.1126/science.aaz5192>
- Eke, P., Kumar, A., Sahu, K. P., Wakam, L. N., Sheoran, N., Ashajyothi, M., Patel, A., & Fekam, F. B. (2019). Endophytic bacteria of desert cactus (*Euphorbia trigonas* Mill) confer drought tolerance and induce growth promotion in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Microbiological Research*, 228, 126302. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126302>
- Essalimi, B., Esserti, S., Rifai, L. A., Koussa, T., Makroum, K., Belfaiza, M., Rifai, S., Venisse, J. S., Faize, L., Albuquerque, N., Burgos, L., Jadoumi, S. E., & Faize, M. (2022). Enhancement of plant growth, acclimatization, salt stress tolerance and verticillium wilt disease resistance using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) associated with plum trees (*Prunus domestica*). *Scientia Horticulturae*, 291, 110621. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110621>
- Estrada González, Á. de J. (2017). *Aislamiento, caracterización e identificación de bacterias asociadas a Opuntia spp. Y su efecto en la germinación y crecimiento de Arabidopsis thaliana L.* [masterThesis, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C.]. <https://repositorio.ipicyt.edu.mx//handle/11627/3143>
- Estrada-González, Á. J., Medina-De La Rosa, G., Bautista, E., Flores, J., & López-Lozano, N. E. (2023). Physiological regulations of a highly tolerant cactus to dry season modify its rhizospheric microbial communities. *Rhizosphere*, 25, 100655. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100655>
- Fahad, S., Hussain, S., Bano, A., Saud, S., Hassan, S., Shan, D., Khan, F. A., Khan, F., Chen, Y., Wu, C., Tabassum, M. A., Chun, M. X., Afzal, M., Jan, A., Jan, M. T., & Huang, J. (2015). Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: Consequences for changing environment.

Environmental Science and Pollution Research, 22(7), 4907–4921.

<https://doi.org/10.1007/s11356-014-3754-2>

Flores, J., Pérez-Sánchez, R. M., & Jurado, E. (2017). The combined effect of water stress and temperature on seed germination of Chihuahuan Desert species. *Journal of Arid Environments*, 146, 95–98. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2017.07.009>

Galeano, R. M. S., de Russo Godoy, F. M., Duré, L. M. M., Fernandes-Júnior, P. I., Baldani, J. I., Paggi, G. M., Zanoelo, F. F., & Brasil, M. S. (2021). Potential of Bacterial Strains Isolated from Ironstone Outcrops Bromeliads to Promote Plant Growth Under Drought Conditions. *Current Microbiology*.

<https://doi.org/10.1007/s00284-021-02540-7>

García, C. A., Alcaraz, E. S., Franco, M. A., & Passerini de Rossi, B. N. (2015). Iron is a signal for *Stenotrophomonas maltophilia* biofilm formation, oxidative stress response, OMPs expression, and virulence. *Frontiers in Microbiology*, 6.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00926>

Ghosh, D., Gupta, A., & Mohapatra, S. (2019). A comparative analysis of exopolysaccharide and phytohormone secretions by four drought-tolerant rhizobacterial strains and their impact on osmotic-stress mitigation in *Arabidopsis thaliana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(6), 90.

<https://doi.org/10.1007/s11274-019-2659-0>

González, L., & González-Vilar, M. (2001). Determination of Relative Water Content. En M. J. Reigosa Roger (Ed.), *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques* (pp. 207–212). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/0-306-48057-3_14

Goswami, M., & Deka, S. (2020). Plant growth-promoting rhizobacteria—alleviators of abiotic stresses in soil: A review. *Pedosphere*, 30(1), 40–61.

[https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(19\)60839-8](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(19)60839-8)

Gul, H., Ali, R., Rauf, M., Hamayun, M., Arif, M., Khan, S. A., Parveen, Z., Alrefaei, A. F., &

- Lee, I.-J. (2023). *Aspergillus welwitschiae* BK Isolate Ameliorates the Physicochemical Characteristics and Mineral Profile of Maize under Salt Stress. *Plants*, 12(8), 1703. <https://doi.org/10.3390/plants12081703>
- Gururani, M. A., Upadhyaya, C. P., Baskar, V., Venkatesh, J., Nookaraju, A., & Park, S. W. (2013). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Enhance Abiotic Stress Tolerance in *Solanum tuberosum* Through Inducing Changes in the Expression of ROS-Scavenging Enzymes and Improved Photosynthetic Performance. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(2), 245–258. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9292-6>
- Hashem, A., Tabassum, B., & Fathi Abd_Allah, E. (2019). *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1291–1297. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>
- Hashem, H. A., & Mohamed, A. H. (2020). Strategies for Drought Tolerance in Xerophytes. En M. Hasanuzzaman (Ed.), *Plant Ecophysiology and Adaptation under Climate Change: Mechanisms and Perspectives I: General Consequences and Plant Responses* (pp. 269–293). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2156-0_9
- Hendry, G. A. F., Grime, J. P., Armstrong, W., Hodgson, J. G., Booth, R. E., Gaitens, P., Grime, J. P., Band, S. R., Mowforth, M. A., Crawford, R. M. M., Bossard, C. C., Hillier, S. H., Leprince, O., Thorpe, P. C., Duran, M. V., Reiling, K., Davison, A. W., Ashenden, T. W., Percy, R. W., ... Warman, E. A. (1993). Methods of Comparative Study. En *Methods in Comparative Plant Ecology* (pp. 29–222). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1494-3_3
- Hernandez-Gonzalez, O., & Villarreal, O. B. (2007). Crassulacean acid metabolism photosynthesis in columnar cactus seedlings during ontogeny: The effect of light on nocturnal acidity accumulation and chlorophyll fluorescence. *American Journal of Botany*, 94(8), 1344–1351. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.8.1344>

- H.G., G., S., B. S., M., M., N., S., Prasad, M., Aiyaz, M., K.N., A., & S.R., N. (2020). Induction of drought tolerance in tomato upon the application of ACC deaminase producing plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* Rhizo SF 48. *Microbiological Research*, 234, 126422.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126422>
- Husna, Hussain, A., Shah, M., Hamayun, M., Qadir, M., & Iqbal, A. (2022). Heavy metal tolerant endophytic fungi *Aspergillus welwitschiae* improves growth, ceasing metal uptake and strengthening antioxidant system in *Glycine max* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(11), 15501–15515.
<https://doi.org/10.1007/s11356-021-16640-1>
- IPCC. (2021). *Climate change 2021: The physical science basis*.
<https://www.ipcc.ch/report/sixth-assessment-report-working-group-i/>
- Kang, S.-M., Radhakrishnan, R., Khan, A. L., Kim, M.-J., Park, J.-M., Kim, B.-R., Shin, D.-H., & Lee, I.-J. (2014). Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 84, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.09.001>
- Kasim, W. A., Osman, M. E., Omar, M. N., Abd El-Daim, I. A., Bejai, S., & Meijer, J. (2013). Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(1), 122–130.
<https://doi.org/10.1007/s00344-012-9283-7>
- Kavamura, V. N., Santos, S. N., Silva, J. L. da, Parma, M. M., Ávila, L. A., Visconti, A., Zucchi, T. D., Taketani, R. G., Andreote, F. D., & Melo, I. S. de. (2013). Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiological Research*, 168(4), 183–191.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.002>

- Khan, N., Ali, S., Tariq, H., Latif, S., Yasmin, H., Mehmood, A., & Shahid, M. A. (2020). Water Conservation and Plant Survival Strategies of Rhizobacteria under Drought Stress. *Agronomy*, 10(11), 1683. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111683>
- Khan, N., Bano, A., Rahman, M. A., Guo, J., Kang, Z., & Babar, Md. A. (2019). Comparative Physiological and Metabolic Analysis Reveals a Complex Mechanism Involved in Drought Tolerance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Induced by PGPR and PGRs. *Scientific Reports*, 9(1), 2097. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38702-8>
- Kim, Y.-C., Glick, B. R., Bashan, Y., & Ryu, C.-M. (2012). Enhancement of Plant Drought Tolerance by Microbes. En R. Aroca (Ed.), *Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features* (pp. 383–413). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0_15
- Lai, L., Chen, L., Jiang, L., Zhou, J., Zheng, Y., & Shimizu, H. (2016). Seed germination of seven desert plants and implications for vegetation restoration. *AoB Plants*, 8, plw031. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw031>
- Lee, T. J., & Pielke, R. A. (1992). Estimating the Soil Surface Specific Humidity. *Journal of Applied Meteorology*, 31(5), 480–484. [https://doi.org/10.1175/1520-0450\(1992\)031<0480:ETSSSH>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0450(1992)031<0480:ETSSSH>2.0.CO;2)
- Li, F., Vallabhaneni, R., Yu, J., Rocheford, T., & Wurtzel, E. T. (2008). The Maize Phytoene Synthase Gene Family: Overlapping Roles for Carotenogenesis in Endosperm, Photomorphogenesis, and Thermal Stress Tolerance. *Plant Physiology*, 147(3), 1334–1346. <https://doi.org/10.1104/pp.108.122119>
- Lopez, B. R., Tinoco-Ojanguren, C., Bacilio, M., Mendoza, A., & Bashan, Y. (2012). Endophytic bacteria of the rock-dwelling cactus *Mammillaria fraileana* affect plant growth and mobilization of elements from rocks. *Environmental and Experimental Botany*, 81, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.02.014>

- Lozano-Isla, F., Benites-Alfaro, O. E., & Pompelli, M. F. (2019). GerminaR: An R package for germination analysis with the interactive web application “GerminaQuant for R”. *Ecological Research*, *34*(2), 339–346. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.1275>
- Ma, Y., Dias, M. C., & Freitas, H. (2020). Drought and Salinity Stress Responses and Microbe-Induced Tolerance in Plants. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 591911. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.591911>
- Martins, S. J., Rocha, G. A., de Melo, H. C., de Castro Georg, R., Ulhôa, C. J., de Campos Dianese, É., Oshiquiri, L. H., da Cunha, M. G., da Rocha, M. R., de Araújo, L. G., Vaz, K. S., & Dunlap, C. A. (2018). Plant-associated bacteria mitigate drought stress in soybean. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*(14), 13676–13686. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1610-5>
- Marvasi, M., Visscher, P. T., & Casillas Martinez, L. (2010). Exopolymeric substances (EPS) from *Bacillus subtilis*: Polymers and genes encoding their synthesis: EPS from *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Letters*, *313*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02085.x>
- Mascot-Gómez, E., Flores, J., & López-Lozano, N. E. (2021). The seed-associated microbiome of four cactus species from Southern Chihuahuan Desert. *Journal of Arid Environments*, *190*, 104531. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2021.104531>
- Mascot-Gómez, E., Flores, J., López-Lozano, N. E., & Yáñez-Espinosa, L. (2020). Seed germination of Southern Chihuahuan desert cacti: Effect of mucilage, light and phytohormones. *Flora*, *263*, 151528.
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—A practical guide. *Journal of Experimental Botany*, *51*(345), 659–668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>
- Meenakshi, Annapurna, K., Govindasamy, V., Ajit, V., & Choudhary, D. K. (2019). Mitigation of drought stress in wheat crop by drought tolerant endophytic bacterial

- isolates. *Vegetos*, 32(4), 486–493. <https://doi.org/10.1007/s42535-019-00060-1>
- Morcillo, R., & Manzanera, M. (2021). The Effects of Plant-Associated Bacterial Exopolysaccharides on Plant Abiotic Stress Tolerance. *Metabolites*, 11(6), 337. <https://doi.org/10.3390/metabo11060337>
- Munns, R. (2011). Plant Adaptations to Salt and Water Stress. En *Advances in Botanical Research* (Vol. 57, pp. 1–32). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387692-8.00001-1>
- Naseem, H., Ahsan, M., Shahid, M. A., & Khan, N. (2018). Exopolysaccharides producing rhizobacteria and their role in plant growth and drought tolerance. *Journal of Basic Microbiology*, 58(12), 1009–1022. <https://doi.org/10.1002/jobm.201800309>
- Ngumbi, E., & Kloepper, J. (2016). Bacterial-mediated drought tolerance: Current and future prospects. *Applied Soil Ecology*, 105, 109–125. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.04.009>
- Niu, X., Song, L., Xiao, Y., & Ge, W. (2018). Drought-Tolerant Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Associated with Foxtail Millet in a Semi-arid Agroecosystem and Their Potential in Alleviating Drought Stress. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2580. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02580>
- Ogburn, R. M., & Edwards, E. J. (2012). Quantifying succulence: A rapid, physiologically meaningful metric of plant water storage: Quantifying succulence. *Plant, Cell & Environment*, 35(9), 1533–1542. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02503.x>
- Parkash, V., & Singh, S. (2020). A Review on Potential Plant-Based Water Stress Indicators for Vegetable Crops. *Sustainability*, 12(10), 3945. <https://doi.org/10.3390/su12103945>
- Patil, S. P., Shirsath, L. P., & Arts, P. (2015). *Production of exopolysaccharide by an osmotolerant, thermostable and metal resistant Bacillus subtilis*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Production-of-exopolysaccharide-by-an->

- osmotolerant%2C-Patil-Shirsath/0c56956b6e3a1527dffdb20030b9c52fd65c98e1
- Pires da Silva, A., Imhoff, S., Giarola, N. F. B., & Tormena, C. A. (2001). Análisis multivariado y univariado en la discriminación de sistemas de uso de suelos del centro de Santa Fe. *Edafología*, 8(1), 21–34.
- Puente, E., & Bashan, Y. (1993). Effect of Inoculation with *Azospirillum brasilense* Strains on the Germination and Seedlings Growth of the Giant Columnar Cardon Cactus (*Pachycereus pringlei*). *Symbiosis*, 15.
- Puente, E., Li, C. Y., & Bashan, Y. (2009). Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 66(3), 402–408. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.04.007>
- Rahmat, R. (2021). Strain Mutagenesis of *Stenotrophomonas maltophilia* for Higher Exopolysaccharide Production. *IBRAS*, 81–82. <https://doi.org/10.37962/IBRAS/2021/81-82>
- Ramamoorthy, S., Gnanakan, A., S. Lakshmana, S., Meivelu, M., & Jeganathan, A. (2018). Structural characterization and anticancer activity of extracellular polysaccharides from ascidian symbiotic bacterium *Bacillus thuringiensis*. *Carbohydrate Polymers*, 190, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.047>
- Rashad, E. M., Shaheen, D. M., Al-Askar, A. A., Ghoneem, K. M., Arishi, A. A., Hassan, E. S. A., & Saber, W. I. A. (2022). Seed Endophytic *Achromobacter* sp. F23KW as a Promising Growth Promoter and Biocontrol of *Rhizoctonia* Root Rot of Fenugreek. *Molecules*, 27(17), 5546. <https://doi.org/10.3390/molecules27175546>
- Rodés García, R., & Collazo Ortega, M. (2006). *Manual de Practicas de Fotosíntesis*. UNAM.
- Rosas, U., Lara-González, J. A., De-la-Rosa-Tilapa, A., & Terrazas, T. (2021). Persistent adventitious and basal root development during salt stress tolerance in

- Echinocactus platyacanthus (Cactaceae) seedlings. *Journal of Arid Environments*, 187, 104431. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104431>
- Saleem, A. R., Brunetti, C., Khalid, A., Della Rocca, G., Raio, A., Emiliani, G., De Carlo, A., Mahmood, T., & Centritto, M. (2018). Drought response of *Mucuna pruriens* (L.) DC. inoculated with ACC deaminase and IAA producing rhizobacteria. *PLOS ONE*, 13(2), e0191218. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191218>
- Sandhya, Ali, Sk. Z., Grover, M., Reddy, G., & Venkateswarlu, B. (2010). Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. On compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant Growth Regulation*, 62(1), 21–30. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9479-4>
- Sandhya, Sk. Z., A., Grover, M., Reddy, G., & Venkateswarlu, B. (2009). Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. *Biology and Fertility of Soils*, 46(1), 17–26. <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0401-z>
- Sandhya, V., Ali, Sk. Z., Venkateswarlu, B., Reddy, G., & Grover, M. (2010). Effect of osmotic stress on plant growth promoting *Pseudomonas* spp. *Archives of Microbiology*, 192(10), 867–876. <https://doi.org/10.1007/s00203-010-0613-5>
- Sarria Carabalí, M. M., García-Oliva, F., Cortés Páez, L. E., & López Lozano, N. E. (2019). The response of candy barrel cactus to zinc contamination is modulated by its rhizospheric microbiota. *Rhizosphere*, 12, 100177. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2019.100177>
- Sarria Carabalí, M. M., García-Oliva, F., Cortés Páez, L. E., & López-Lozano, N. E. (2020). Effect of cadmium contamination on the rhizosphere bacterial diversity of *Echinocactus platyacanthus*. *Rhizosphere*, 13, 100187. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100187>
- SEMARNAT. (2010). *NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección*

*AMBIENTAL-ESPECIES NATIVAS de México de Flora y Fauna Silvestres-
Categorías de Riesgo y Especificaciones Para su Inclusión, Exclusión o Cambio-
Lista de Especies en Riesgo.*

http://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091

Sharma, A., Vaishnav, A., Jamali, H., Keswani, C., Srivastava, A. K., Kaushik, R., Gupta, S., & Bansal, Y. K. (2023). Unraveling the Plant Growth-Promoting Mechanisms of *Stenotrophomonas* sp. CV83 for Drought Stress Tolerance and Growth Enhancement in Chickpea. *Journal of Plant Growth Regulation*.

<https://doi.org/10.1007/s00344-023-11010-2>

Singh, R. P., & Jha, P. N. (2017). The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 Augments Resistance against Biotic and Abiotic Stress in Wheat Plants. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1945. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01945>

Surówka, E., Rapacz, M., & Janowiak, F. (2020). Climate Change Influences the Interactive Effects of Simultaneous Impact of Abiotic and Biotic Stresses on Plants. *Plant Ecophysiology and Adaptation under Climate Change: Mechanisms and Perspectives I*, 1–50. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2156-0_1

Talaat, N. B., & Shawky, B. T. (2017). Microbe-Mediated Induced Abiotic Stress Tolerance Responses in Plants. En D. P. Singh, H. B. Singh, & R. Prabha (Eds.), *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives: Volume 2: Microbial Interactions and Agro-Ecological Impacts* (pp. 101–133). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_5

Timmusk, S., Abd El-Daim, I. A., Copolovici, L., Tanilas, T., Kännaste, A., Behers, L., Nevo, E., Seisenbaeva, G., Stenström, E., & Niinemets, Ü. (2014). Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles. *PLoS ONE*, 9(5), e96086. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096086>

- Tiwari, S., Lata, C., Chauhan, P. S., & Nautiyal, C. S. (2016). *Pseudomonas putida* attunes morphophysiological, biochemical and molecular responses in *Cicer arietinum* L. during drought stress and recovery. *Plant Physiology and Biochemistry*, *99*, 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.11.001>
- IUCN. (2021). *The IUCN Red List of Threatened Species*. IUCN Red List of Threatened Species. <https://www.iucnredlist.org/en>
- Ulrich, K., Kube, M., Becker, R., Schneck, V., & Ulrich, A. (2021). Genomic analysis of the endophytic *Stenotrophomonas* strain 169 reveals features related to plant-growth promotion and stress tolerance. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 687463. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.687463>
- Wang, J., Shen, J., Ye, D., Yan, X., Zhang, Y., Yang, W., Li, X., Wang, J., Zhang, L., & Pan, L. (2020). Disinfection technology of hospital wastes and wastewater: Suggestions for disinfection strategy during coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pandemic in China. *Environmental Pollution*, *262*, 114665. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114665>
- Wass, T. J., Syed-Ab-Rahman, S. F., Carvalhais, L. C., Ferguson, B. J., & Schenk, P. M. (2019). Complete genome sequence of *Achromobacter spanius* UQ283, a soilborne isolate exhibiting plant growth-promoting properties. *Microbiology Resource Announcements*, *8*(16), e00236-19. <https://doi.org/10.1128/MRA.00236-19>
- Zia, R., Nawaz, M. S., Yousaf, S., Amin, I., Hakim, S., Mirza, M. S., & Imran, A. (2021). Seed inoculation of desert-plant growth-promoting rhizobacteria induce biochemical alterations and develop resistance against water stress in wheat. *Physiologia Plantarum*, *172*(2), 990–1006. <https://doi.org/10.1111/pp.13362>