



Short Note [Nota corta]

EFFECTO DEL SULFATO DE COBRE PENTAHIDRATADO (CuSO₄·5H₂O) Y RIZOBACTERIAS EN LA GERMINACIÓN DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) †

[EFFECT OF COPPER SULPHATE PENTAHYDRATE (CuSO₄·5H₂O) AND RHIZOBACTERIA ON THE GERMINATION OF ROSELLE (*Hibiscus sabdariffa* L.)]

Mario Francisco Santoyo-de la Cruz¹, Abdul Khalil-Gardezi*¹, Guillermo Carrillo-Castañeda¹, Héctor Manuel Ortega-Escobar¹, Oscar Raúl Mancilla Villa³, Juan Enrique Rubiños-Panta¹, José Abel López-Buenfil¹, Mario Ulises Larque-Saavedra², Gabriel Haro-Aguilar¹ and Cristian Alejandro Ali-Gamboa¹

¹*Colegio de Postgraduados-Montecillo. Departamento de hidrocencias. Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230. Email: kabdul@colpos.mx*

²*Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco. Departamento de análisis de sistemas. Av. San Pablo 180, Col. Reynosa Tamaulipas, Alcaldía Azcapotzalco, Ciudad de México, México. C. P. 02200*

³*Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de la Costa Sur, Departamento de Producción Agrícola, Av. Independencia, Autlán, Jalisco, México. C. P. 48900.*

*Corresponding author

SUMMARY

Background: Heavy metals are perceived as the most persistent and dangerous. Cu is essential for plants, in excess it causes detrimental effects on plants and human health. Plant growth promoting bacteria have been mainly used in agriculture to promote seed germination, plant vigor and growth, and improve crop yields. **Objective:** To analyse the effect of germination in two roselle varieties that were inoculated with extracellular plant growth-promoting rhizobacteria of the genus *Pseudomonas* and in seven solutions of copper sulphate pentahydrate. **Methodology:** Roselle seeds were germinated in copper sulphate solutions, the seeds were inoculated with bacterial suspensions of two strains of *Pseudomonas* M40 and M67, the germination percentages were determined and vigour tests were also carried out. **Results:** The effect of copper sulphate on germination was significant in the interaction between main factors, but no significance was found in the effect of the strains and their interaction with the varieties. In the vigour tests, significance was detected between factors of stem dry weight, root and stem length, and strains. **Implications:** The tolerance of the seeds to copper sulphate, to know if it has an effect of promoting germination or, on the contrary, inhibits it. **Conclusion:** copper sulphate has the effect of promoting the germination of roselle seeds. Jamaica has a potential effect of phytoremediation of metals in combination with the inoculation of rhizobacteria that promote plant growth.

Keywords: Bacterial inoculation; germination percentage; heavy metals; phytoremediation; *Pseudomonas*; vigour tests.

RESUMEN

Antecedentes: Los metales pesados se perciben como los más persistentes y peligrosos. El Cu es esencial para las plantas, en exceso causa efectos perjudiciales en los vegetales y la salud humana. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal se han utilizado principalmente en la agricultura para promover la germinación de semillas, el vigor y el crecimiento de las plantas y mejorar el rendimiento de los cultivos. **Objetivo:** Analizar el efecto de la germinación en dos variedades de jamaica que fueron inoculadas con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

† Submitted April 1, 2022 – Accepted September 29, 2022. <http://doi.org/10.56369/tsaes.4286>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = M.F. Santoyo-de la Cruz: <https://orcid.org/0000-0002-8239-428X>; A. Khalil-Gardezi: <https://orcid.org/0000-0003-2636-1579>; G. Carrillo-Castañeda: <https://orcid.org/0000-0003-3444-3902>; H.M. Ortega-Escobar: <https://orcid.org/0000-0002-1580-4795>; O.R. Mancilla-Villa: <https://orcid.org/0000-0003-4845-1188>; J.E. Rubiños-Panta: <https://orcid.org/0000-0002-9788-0280>; J.A. López-Buenfil: <https://orcid.org/0000-0002-4471-5783>; G. Haro-Aguilar: <https://orcid.org/0000-0003-4483-2426>

extracelular del género *Pseudomonas* y en siete soluciones de sulfato de cobre pentahidratado. **Metodología:** Se germinaron semillas de jamaica en soluciones de sulfato de cobre, las semillas se inocularon con suspensiones bacterianas de dos cepas de *Pseudomonas* M40 y M67, los porcentajes de germinación se determinaron y, además se hicieron pruebas de vigor. **Resultados** El efecto del sulfato de cobre en la germinación resulto significativo en la interacción entre factores principales, pero no se encontró significancia en el efecto de las cepas y su interacción con las variedades. En las pruebas de vigor se detecta significancia entre factores de peso seco de tallo, longitud de raíz y tallo y las cepas. **Implicaciones:** La tolerancia de las semillas al sulfato de cobre, para saber si tiene efecto de promover la germinación o por el contrario la inhibe. **Conclusión:** el sulfato de cobre tiene efecto de promover la germinación de semillas de jamaica. La jamaica tiene efecto potencial de fitorremediación de metales en combinación con la inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal.

Palabras clave: Fitorremediación; inoculación de bacterias; metales pesados; pruebas de vigor; porcentaje de germinación; *Pseudomonas*.

INTRODUCCIÓN

La absorción de contaminantes ambientales en los sistemas suelo-cultivo es una vía principal de exposición humana, y los metales pesados se perciben como los más persistentes y peligrosos. El aumento de la urbanización, la industrialización y la agricultura, intensifica la presión antropogénica sobre los agroecosistemas, con descargas de metales pesados a través de la deposición atmosférica generalizada y la actividad industrial local. La contaminación por metales pesados de las tierras cultivadas sigue siendo una amenaza dominante para el entorno agroalimentario ya que tiene efectos perjudiciales en la calidad de los cultivos (Xingjia *et al.*, 2021). Entre los contaminantes principales de las aguas residuales se encuentran los metales pesados y existe preocupación mundial por su toxicidad, bioacumulación en las cadenas alimentarias y persistencia en los ecosistemas acuáticos y terrestres (Tomno *et al.*, 2020).

Se ha reportado que la presencia de metales pesados está asociado a enfermedades como cáncer, daños hepáticos y renales. Las actividades agrícolas también pueden contaminar el suelo a largo plazo, debido al uso de fertilizantes y agroquímicos, en cuya constitución se encuentran metales pesados como el cobre; el uso prolongado de aguas residuales sin tratar incrementa los niveles de metales pesados en el suelo. La acumulación de metales pesados en el suelo se potencia con la formación de complejos con compuestos orgánicos o la adsorción en la micela coloidal. En principio estas propiedades le permitirían actuar al suelo como filtro ambiental; sin embargo, las actividades agrícolas que incluyan cambios en el pH pueden hacer disponibles estos metales, bajo el riesgo que estos sean traslocados a la planta, donde existe la posibilidad de que los mismo se lixivien, contaminando las aguas subterráneas (Mendoza *et al.*, 2021).

Aunque el cobre (Cu) es esencial para las plantas, en exceso este elemento causa efectos perjudiciales en la producción vegetal primaria, la salud humana y el crecimiento de las especies de plantas. Algunos efectos

específicos de la toxicidad del Cu en las plantas incluyen la restricción del desarrollo de las raíces, la reducción del crecimiento de los brotes y la clorosis en las hojas jóvenes, como resultado de desequilibrios fisiológicos, nutricionales y hormonales. Para evitar o eliminar concentraciones excesivas de metales, las plantas presentan diferentes mecanismos de tolerancia. El estrés de las plantas se puede prevenir restringiendo la absorción de metales del suelo mediante la inmovilización a través de la asociación, secuestro de micorrizas por exudados de raíces. En los tejidos vegetales, los metales son retenidos por el potencial de las raíces e inmovilizados en las paredes celulares, evitando la translocación a la parte aérea. La tolerancia, acumulación y translocación de metales pesados a la parte aérea de las plantas son aspectos fundamentales y es un requisito esencial para la acumulación de metales y, por lo tanto, para la implementación exitosa de la fitorremediación (Pereira *et al.*, 2020).

La fitoextracción (uso de vegetación para tratar suelos y sedimentos contaminados *in situ*, y de agua) se ha vuelto particularmente popular recientemente debido a su rentabilidad y aplicabilidad a largo plazo. La fitoextracción es la capacidad de una especie para soportar concentraciones relativamente más altas de metales pesados sin efectos tóxicos o inhibición del crecimiento junto con la absorción y desintoxicación de estas sustancias tóxicas a menos metabolitos tóxicos. Sin embargo, el potencial para la extracción de plantas depende de las características fisicoquímicas del suelo: pH, conductividad eléctrica y capacidad de intercambio de cationes (Saleem *et al.*, 2020).

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), es una especie perteneciente a la familia Malvaceae. Es nativa naturalizada de la India y Malasia. Ha sido ampliamente distribuida en los trópicos y subtropicos de ambos hemisferios, además, se ha vuelto naturalizada en muchas áreas de las Antillas y América Central. Durante la época colonial, los españoles fueron quienes introdujeron la planta de jamaica a México. Es un cultivo que actualmente está cobrando más importancia en México y forma parte del sector de

especies y plantas medicinales. En los últimos años ha tenido un uso potencial para bajar el colesterol y la hipertensión, además, se le atribuyen propiedades diuréticas y antipiréticas. Estos beneficios están avalados por diversas investigaciones científicas que los relacionan con compuestos como las vitaminas E y C, ácidos polifenólicos y antioxidantes como flavonoides y antocianinas. Además de tener efecto potencial de fitorremediación el cual ha sido poco estudiado (Romero *et al.*, 2020).

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal se han utilizado principalmente en la agricultura para promover la germinación de semillas, el vigor y el crecimiento de las plantas y mejorar el rendimiento de los cultivos, y para el control de microorganismos patógenos de plantas. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, además de sus aplicaciones agrícolas, se han utilizado con éxito para mitigar el daño del crecimiento de las plantas causado por las descargas de aguas residuales en los suelos de cultivo, para que los cultivos prosperen y produzcan satisfactoriamente porque las bacterias tienen la capacidad de mejorar los procesos de biorremediación de aguas residuales. Las rizobacterias promueven los procesos de biorremediación en las plantas para permitir la extracción rápida de materiales peligrosos de suelos contaminados (Gardezi *et al.*, 2020a).

En este trabajo se analiza el efecto de la germinación en dos variedades de jamaica (Guerrero y Criolla) que fueron inoculadas con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal extracelular del género *Pseudomonas* y en siete soluciones de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) con el fin de analizar el efecto fitorremediador de esta planta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se usaron semillas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) de las variedades (Guerrero y Criolla) que fueron adquiridas en tiendas especializadas de semillas agrícolas.

Germinación con agua destilada

La germinación se llevó a cabo utilizando 50 semillas por caja Petri de 9 cm de diámetro, sobre papel filtro humedecido con 4 mL de agua destilada (cada tratamiento con tres repeticiones por variedad). El porcentaje de germinación fue determinado diariamente hasta finalizar la germinación.

Germinación en soluciones de siete concentraciones de sulfato de cobre

Para determinar las concentraciones de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ para las dos variedades de alfalfa se llevó a cabo una prueba de germinación en presencia de soluciones de

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 10^{-1} a 10^{-7} M. Se contaron 48 lotes de 50 semillas de cada una de las dos variedades de jamaica y se colocaron en placas Petri con papel filtro absorbente. A cada placa se le agregaron 4 mL de las diluciones anteriormente mencionadas. Se realizaron 3 repeticiones por cada dilución y 3 repeticiones sin $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Las semillas fueron colocadas en una cámara de germinación ajustada a 28-30 °C y diariamente se contaron las semillas que habían germinado.

Inoculación de la semilla con suspensiones bacterianas y determinación de la germinación y el vigor de las semillas de jamaica

Para realizar la inoculación de la semilla, los cultivos bacterianos se prepararon en placas de Petri que contenían medio B de King que se incubaron durante 24 h a 28-30 °C. A partir de los cultivos, se prepararon suspensiones bacterianas en agua destilada estéril ajustado entre 0.8 y 1 de turbidez (660 nm).

Para preparar el medio B de King se procede a suspender 38 gramos del medio en un litro de agua destilada. Se agregó 10 mL de glicerol de la marca Richchem. Se mezcló bien y se disolvió por calentamiento agitando con frecuencia. Posteriormente se hirvió durante un minuto hasta su completa disolución. Se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Luego se enfrió a 45-50 °C, y se mezcló. El medio de cultivo utiliza peptona que proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. También ayuda en la producción de fluoresceína. El hidrogenofosfato de potasio de la marca Baker es una fuente de fósforo, y el sulfato de magnesio proporciona cationes para activar la producción de fluoresceína. El glicerol es una fuente de carbono. El agar bacteriológico de la marca Bioxon es el agente solidificante. Este medio promueve la producción de pyoverdina, un pigmento fluorescente amarillo-verde que puede oxidarse a amarillo. Es soluble en agua y, a diferencia de la picrocianina, no es soluble en cloroformo. El pigmento se difunde por todo el medio y el color amarillo verdoso fluorescente se observa mediante el uso de una lámpara UV (Condalab, 2021).

A partir del banco de bacterias, se prepararon los cultivos de las cepas de bacterias para inocular las muestras de semillas de las 2 variedades de alfalfa con tres repeticiones. La inoculación de semillas se realizó en dos bloques con tres repeticiones cada una. En el primer bloque se probaron la cepa M40 en el segundo bloque la cepa M67. Las semillas se mezclaron con la suspensión bacteriana (50 semillas mezcladas con 0.8 mL de suspensión bacteriana), esta preparación se dejó por 20 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, las semillas inoculadas se colocaron sobre dos hojas de papel filtro humedecidas con 4 mL

de agua destilada en cajas Petri de plástico de 9 cm de diámetro. Las semillas se colocaron en una cámara de germinación a 28-30 °C y se contaron diariamente las semillas que habían germinado, semillas en las que la punta de la raíz ya era visible.

Pruebas de vigor

De las semillas de jamaica inoculadas con las cepas M40 y M67 un lote de cada variedad se sembró en charolas de unicel con sustrato de Peet Moss (turba). Una vez que las plantas crecieron durante 30 días se procedió a extraerlas cuidando de no dañar las estructuras vegetales: la longitud de la raíz y el tallo, mismas que se midieron con papel milimétrico. Enseguida 15 plántulas seleccionadas de cada variedad que habían sido inoculadas con suspensiones de las dos cepas bacterianas fueron utilizadas para separar la parte aérea de la parte radicular, se colocaron en hojas de papel de estraza para secar las muestras en la estufa a 28 °C por 4 días y en otra estufa por 4 días a 70 °C para determinar el peso de biomasa seca en una balanza digital.

Análisis estadístico

Los experimentos se condujeron bajo las normas del diseño completamente al azar con estructura de tratamientos: Para evaluar la germinación: 2(cepas) x 8 (siete niveles de sulfato de cobre más un testigo), 2(cepas) x 2 (variedades) ambos con tres repeticiones. Para evaluar vigor 2(cepas) x 2(variedades) al azar se seleccionaron 15 plantas de cada tratamiento. Para evaluar la germinación se usó la transformación arco seno de la proporción de germinación observada. Los análisis estadísticos se llevaron al cabo con el paquete estadístico SAS con el procedimiento ANOVA y se aplicó el procedimiento de Tukey para la separación de las medias.

RESULTADOS

Germinación en soluciones de sulfato de cobre pentahidratado

Las semillas en germinación para cada tratamiento se muestran en la figura 1. Los efectos principales y la interacción variedad de jamaica y dosis de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ fueron significativos (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de germinación para observar los efectos entre variedades de jamaica y dosis de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

| Tratamientos Variedad - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | Media | | Variedad | Media | | $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | Media | |
|---|-------------|---|----------|-------------|---|---|-------------|---|
| Guerrero-10 ⁻¹ M | 0.62 | B | Criolla | 0.98 | A | 10 ⁻¹ M | 0.79 | B |
| Guerrero-10 ⁻² M | 0.94 | A | Guerrero | 0.91 | B | 10 ⁻² M | 0.97 | A |
| Guerrero-10 ⁻³ M | 0.96 | A | | | | 10 ⁻³ M | 0.98 | A |
| Guerrero-10 ⁻⁴ M | 0.95 | A | | | | 10 ⁻⁴ M | 0.97 | A |
| Guerrero-10 ⁻⁵ M | 0.98 | A | | | | 10 ⁻⁵ M | 0.99 | A |
| Guerrero-10 ⁻⁶ M | 0.96 | A | | | | 10 ⁻⁶ M | 0.98 | A |
| Guerrero-10 ⁻⁷ M | 0.93 | A | | | | 10 ⁻⁷ M | 0.96 | A |
| Control Guerrero | 0.96 | A | | | | Control | 0.96 | A |
| Criolla-10 ⁻¹ M | 0.96 | A | | | | | | |
| Criolla-10 ⁻² M | 0.99 | A | | | | | | |
| Criolla-10 ⁻³ M | 0.99 | A | | | | | | |
| Criolla-10 ⁻⁴ M | 1 | A | | | | | | |
| Criolla-10 ⁻⁵ M | 1 | A | | | | | | |
| Criolla-10 ⁻⁶ M | 1 | A | | | | | | |
| Criolla-10 ⁻⁷ M | 0.98 | A | | | | | | |
| Control Criolla | 0.96 | A | | | | | | |
| DHS (0.05) | 0.08 | | | 0.01 | | | 0.05 | |

DHS= Diferencia Honesta Significante, si la diferencia entre dos medias es mayor que el valor DHS se declara significativa la comparación. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas. Se usó una significancia del 5% (Alfa=0.05).

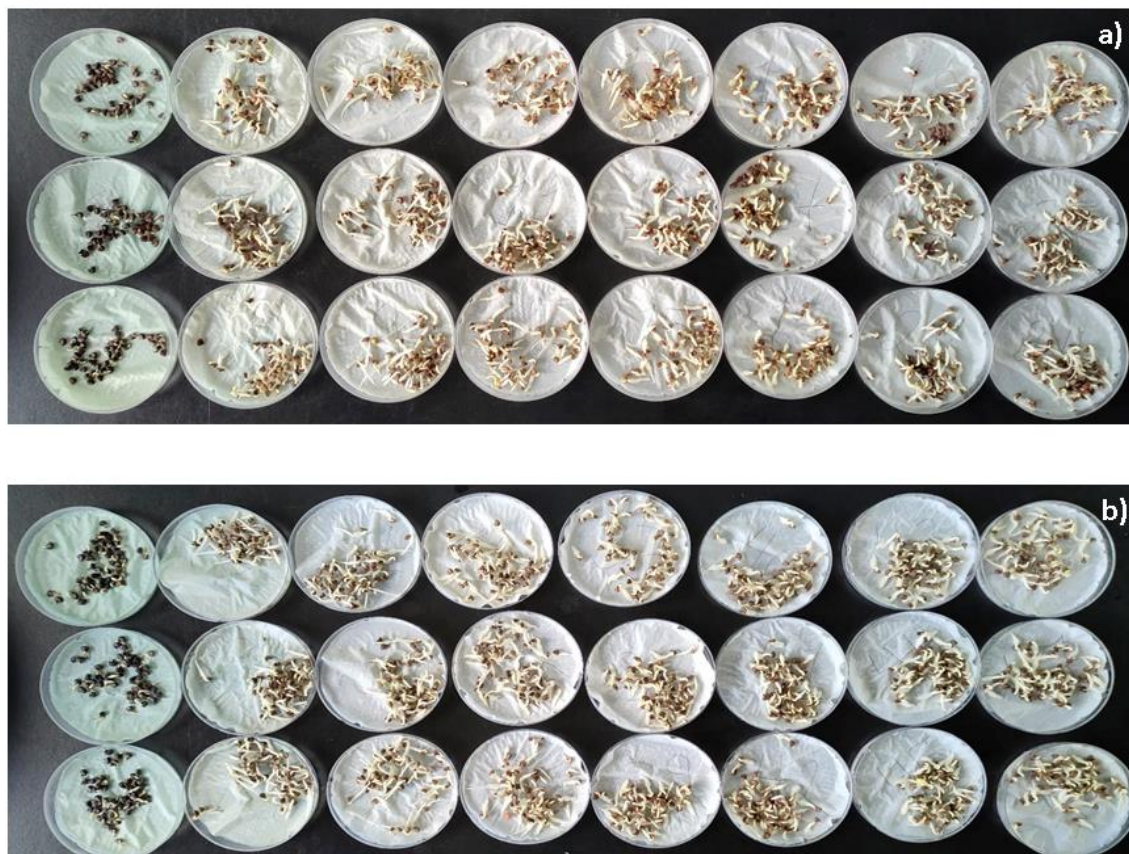


Figura. 1. Aspecto de las semillas de jamaica en el día uno, con las soluciones de siete concentraciones de sulfato de cobre pentahidratado, a) variedad Criolla y b) variedad Guerrero.

Germinación con inoculación de las cepas M40 y M67

En cuanto a la germinación de jamaica de las dos variedades inoculadas con suspensiones celulares de dos cepas de bacterias (M40 y M67) no se encontraron diferencias significativas entre efectos principales y ni la interacción (Tabla 2).

Pruebas de vigor de las variedades de jamaica

En la figura 2 se muestra el aspecto de las plántulas de jamaica inoculadas con las cepas M40 y M67 en donde se observa la raíz y la parte aérea a los 30 días de cultivo y en la tabla 3 se presentan los resultados de la prueba de vigor.

Tabla 2. Resultados de germinación para observar los efectos entre variedades de jamaica y cepas (M40 y M67).

| Tratamientos Variedad-Cepa | Media | | Variedad | Media | | Cepa | Media | |
|-------------------------------|-------------|---|----------|-------------|---|------|-------------|---|
| Criolla-M40 | 0.96 | A | Criolla | 0.97 | A | M40 | 0.96 | A |
| Criolla-M67 | 0.98 | A | Guerrero | 0.79 | A | M67 | 0.80 | A |
| Guerrero-M40 | 0.96 | A | | | | | | |
| Guerrero-M67 | 0.62 | A | | | | | | |
| DHS (0.05) | 0.68 | | | 0.35 | | | 0.35 | |

DHS= Diferencia Honesta Significante, si la diferencia entre dos medias es mayor que el valor DHS se declara significativa la comparación. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas. Se usó una significancia del 5% (Alfa=0.05).



Figura 2. Aspecto de las plántulas de jamaica que se utilizaron para determinar la longitud de tallo, raíz y peso de biomasa seca. Variedad Criolla inoculada con la cepa a) M40 y b) M67. La variedad Guerrero inoculada con la cepa c) M40 y d) M67.

Tabla 3. Resultados de pruebas de vigor para observar los efectos entre variedades de jamaica y cepas.

| Vigor | | | | | | | | |
|-------------------|-------------------|---|--------------------|---|------------------|---|-------------------|---|
| Tratamientos | Longitud de tallo | | Peso seco de tallo | | Longitud de raíz | | Peso seco de raíz | |
| Criolla-M40 | 4.44 | A | 1723.33 | A | 6.92 | B | 891.33 | A |
| Criolla-M67 | 3.66 | B | 1691.33 | A | 7.44 | A | 886.00 | A |
| Guerrero-M40 | 4.23 | A | 2267.00 | B | 7.96 | A | 878.67 | A |
| Guerrero-M67 | 4.16 | A | 1628.00 | B | 7.23 | A | 892.00 | A |
| DHS (0.05) | 0.54 | | 50.94 | | 0.93 | | 70.716 | |
| Variedad | | | | | | | | |
| Criolla | 4.05 | A | 1707.33 | A | 7.18 | A | 888.67 | A |
| Guerrero | 4.2 | A | 1625.33 | B | 7.60 | A | 885.33 | A |
| DHS (0.05) | 0.29 | | 27.25 | | 0.49 | | 37.83 | |
| Cepas | | | | | | | | |
| M40 | 0.34 | A | 73 | A | 7.44 | A | 885 | A |
| M67 | 0.91 | B | 59.67 | A | 7.34 | A | 889 | A |
| DHS (0.05) | 0.29 | | 27.25 | | 0.49 | | 37.83 | |

DHS= Diferencia Honesta Significante, si la diferencia entre dos medias es mayor que el valor DHS se declara significativa la comparación. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas. Se usó una significancia del 5% (Alfa=0.05).

En la variable de longitud de tallo se detectaron diferencias significativas para los tratamientos y para el factor de cepa, así como para la interacción variedad - cepa. Así mismo también se detectó diferencia significativa entre tratamientos, e interacción entre la variedad y la cepa en la variable de longitud de raíz. En la variable de peso seco de raíz no se encontró diferencias significativas. Finalmente se detectó diferencias en el peso seco de tallo entre tratamientos, atribuible principalmente al efecto de la variedad.

DISCUSIÓN

El sulfato de cobre puede tener efecto negativo en la germinación como en el caso de la variedad Guerrero, en otras palabras, algunas especies o variedades, dependiendo del metal de que se trate, pueden ser superiores a otras en el proceso de germinación, en el trabajo de Carrillo *et al.* (2005) las cantidades de Cu detectadas en las plántulas enteras variaron de 21.55 mg (plántulas de la variedad N inoculadas con células de la cepa 154) a 53.67 mg de la variedad salvaje WB inoculadas con células de la cepa *Pseudomonas fluorescens* (Avm) esta respuesta generalizada puede constituir un mecanismo protector, particularmente de la interacción del cobre y los sistemas vegetales de la plántula en el caso de menores porcentajes de germinación. Sin embargo, la presencia de este metal no representa letalidad ya que a cierta concentración de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ logra estimular la germinación.

Se ha estudiado que la adición de sulfato de cobre puede aumentar la estimulación de procesos de regeneración en cotiledones como en la variedad de pimiento Maritza, por lo que favorece la producción de embriones y promueve la germinación (Grozewa, 2015).

Sin embargo, los efectos principales como la concentración de sulfato de cobre pentahidratado y las variedades de jamaica (Criolla y Guerrero) presentaron interacción entre ellos por lo que resultaron con diferencias significantes. La alta concentración de Cu disponible puede afectar la germinación de semillas y el crecimiento de plantas de cultivo normales, esto se debe a que los iones de Cu tienen una fuerte afinidad por los sitios específicos de las moléculas orgánicas (Silva *et al.*, 2020). Se puede observar que la acumulación de Cu en las raíces está influenciada por la presencia de metal en la solución y, por lo tanto, la acumulación de Cu en las raíces fue ligeramente aumentando por la presencia de Cu en el medio.

La germinación de semillas de la variedad Criolla responde de manera favorable a las inoculaciones de las células bacterianas a diferencia de la variedad Guerrero que responde con menor porcentaje de germinación. La germinación también puede verse beneficiada con la asociación de materia orgánica a

diferentes dosis lo que se ha demostrado con las variedades de jamaica H1038 y Criolla la adición de la materia orgánica de los medios de cultivo mejora constantemente el porcentaje de germinación de las plántulas (Gardezi *et al.*, 2020a).

Sin embargo, ocurre el caso de que las cepas promotoras del crecimiento vegetal no muestren diferencias significativas para los tratamientos ni para los efectos principales ni su interacción, hay que tener en cuenta que el beneficio que la planta obtiene de las bacterias debe ocurrir después de que estas colonicen sus raíces y no solo durante el proceso de germinación (Romero *et al.*, 2020).

Se han encontrado diferencias entre cepas de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en la germinación *in vitro* de las esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobresaliendo las cepas de *Pseudomonas tolasii* P-61, la cual mejoró la germinación de las esporas de *Rhizophagus intraradices*, Mérida-Papaya, Jalapa I y Cedro (600, 300, 300 y 300% respectivamente) (Leos *et al.*, 2020). En cuanto a este trabajo también las bacterias *Pseudomonas* M67 y M40 mejoraron la germinación en el día 1, debido principalmente al éxito del proceso de simbiosis con la planta.

La variedad Criolla inoculada con la cepa M40 presentó mayor efecto de crecimiento de raíz y la variedad Guerrero con la misma cepa tiene parecido efecto de crecimiento de raíz, notándose que las dos cepas de bacterias (M40 y M67) tienen efectos similares en el crecimiento de la raíz ya que estadísticamente no son significantes. En el trabajo de Gardezi *et al.* (2020a) consiguió que la inoculación de bacterias mejorara significativamente el crecimiento y aumenten las características del producto del cáliz de las plantas (*Hibiscus sabdariffa*) en comparación con el control. En cuanto al peso de biomasa seca de raíces en la variedad H1038, no hubo diferencia significativa entre la inoculación y la no inoculación, resultados similares en la variable de peso seco de raíz de jamaica no se detectó diferencia significativa probablemente porque las cepas solo actuaron en la interacción planta-microorganismo solubilizando minerales aprovechables para la planta y no como fitoestimuladores que aumentan el número de pelos radicales y raíces laterales.

Observándose en este trabajo que el factor de variedad presenta mayor efecto de peso seco de tallo por lo que resulta con diferencia significativa, como el caso de los resultados de Gardezi *et al.* (2020a) muestran diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las características agronómicas ensayadas en plantas de jamaica a partir de semillas inoculadas con células bacterianas que en plantas no inoculadas y peso de biomasa seca de raíz. En la variedad Criolla (variedad

local de los agricultores), el efecto de la cepa A7 fue numéricamente mejor en seis características agronómicas probadas, en comparación con tres características donde la cepa A9m fue superior. Valores más altos se encontraron en seis características agronómicas en plantas generadas a partir de semillas inoculadas con células de la cepa A9m en comparación con los de la cepa A7 en la variedad H1038, por lo que las variedades de jamaica tienen efecto significativo en el peso del tallo, esto podría ser por la diversidad genética de las variedades Criolla y Guerrero. El peso del tallo y raíz de las plántulas pueden mostrar diferencias significativas o no al inocular semillas.

Resultados parecidos en el trabajo de investigación de Gardezi *et al.* (2020b) encontró que el tratamiento con micorrizas arbusculares y materia orgánica influyó positivamente en todas variables agronómicas como índice de área foliar (cm²), número de hojas y peso fresco de raíz, el resultado fue significativamente diferente ($p \leq 0.05$). De manera similar, se encontró en otra especie de mezquite (*Prosopis articulata* y *Parkinsonia microphylla*) una respuesta positiva (altura, número de ramas y diámetro del tallo) a la inoculación con plantas promotoras del crecimiento vegetal con micorrizas arbusculares y materia orgánica como fuente de vermicomposta. En lo que respecta a este trabajo la longitud del tallo presento diferencia significativa en los tratamientos para el factor de cepa y la interacción de variedad y cepa y también presenta diferencia significativa la longitud de raíz atribuible a la interacción entre variedad y cepa. La inoculación de semillas de jamaica con cepas mejora el crecimiento y rendimiento, como lo muestran los resultados de (Zafar *et al.*, 2019) donde se inocula trigo con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal mejorando las partes vegetativas y florales, así como el aumento en el peso seco de raíces y brotes, el número de macollos y los rendimientos de varios cultivos. Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal habitan en las raíces de las plantas y, por lo tanto, mejoran el crecimiento de las plantas. El mecanismo explicativo subyacente de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal para promover el crecimiento de las plantas implica el aumento de nutrientes, la reducción de patógenos que producen sideróforos y antibióticos u hormonas vegetales como etileno que provocan alteraciones fisiológicas en tejidos vegetales. Además, las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal son capaces de aliviar el estrés en las raíces de las plantas y tienen capacidad para producir 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa (ACC desaminasa) que se puede utilizar como una enmienda eficiente reduciendo el estrés por acumulación de etileno en las plantas (Zafar *et al.*, 2019).

CONCLUSIÓN

La germinación de semillas presentó diferencias significantes entre los factores de concentración del sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄·5H₂O) con las variedades de jamaica (Criolla y Guerrero). Las semillas inoculadas con suspensiones bacterianas de la cepa M40 y M67 no presentaron diferencias atribuible a los factores estudiados ni su interacción, lo que sugiere a ambas cepas como alternativa para promover la germinación de variedades de jamaica. Sin embargo, si hay diferencias significativas en las longitudes de tallo y raíz y en el peso seco del tallo, lo que resulta interesante saber que las cepas en la prueba de vigor tienen una interacción directa con el factor de variedad, y no así en el peso seco de raíz. Con estos resultados es posible desarrollar tecnologías para incrementar la absorción de metales a través de la planta, lo que reflejaría el potencial de la planta de *Hibiscus sabdariffa* L. como una alternativa viable para la descontaminación de sitios afectados por metales potencialmente tóxicos.

Agradecimientos

Agradecimiento al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología del Estado de México, por el apoyo económico recibido durante el desarrollo de cátedras (COMECyT) y al Colegio de Postgraduados campus Montecillo por el uso de sus instalaciones como el laboratorio, invernadero y equipos.

Funding: This work was funded by the Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT). Through the COMECyT- 2021-2022 chair program.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest in this research article.

Compliance with ethical standards: The research does not include measurements with humans or animals. The species under study is not protected or in danger of extinction, therefore, its use does not have any negative repercussions.

Author contribution statement (CRediT) **M. F. Santoyo-de la Cruz, A. K. Gardezi y G. Carrillo-Castañeda:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Supervision, Writing—original draft. **H. M. Ortega-Escobar, O. R. Mancilla-Villa y J. E. Rubiños-Panta:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Supervision, Writing – original draft, Writing – review and editing. **J. A. López-Buenfil:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Supervision, Writing—original draft, Writing – review and editing. **M. U. Larque-**

Saavedra: Conceptualization, Formal analysis, Writing – review and editing. **G. Haro-Aguilar y C. A. Ali-Gamboa:** Conceptualization, Formal analysis, Writing – review and editing.

Concentración de metales pesados en suelos agrícolas bajo diferentes sistemas de labranza. *TecnoLógicas*, 24(51), pp. 4-15. <https://doi.org/10.22430/22565337.1738>

REFERENCIAS

- Carrillo, C.G., Juárez, M.J., Peralta, V.J.R., Gómez, E. and Gardea, T.J.L., 2005. Modulation of uptake and translocation of iron and copper from root to shoot in common bean by siderophore-producing microorganisms. *Journal of Plant Nutrition*, 28(10), pp. 1853-1865. <https://doi.org/10.1080/01904160500251340>
- Condalab. 2021. Laboratorio de análisis de bacterias, https://www.condalab.com/int/es/index.php?controller=attachment&id_attachment=, Madrid, España. (Consultado el 24 de noviembre de 2021).
- Gardezi, A.K., Hernández, T.O.E., Carrillo, C.G., Márquez, B.S.R., Flores, M.H., Valdés, V.E., Larqué, S.M.U. and Haro, A.G., 2020a. Evaluation of the development of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in two soil types with interaction of bacterial cells and vermicompost. *International Journal of Environmental and Agriculture Research*, 6(11), pp. 52-61. <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.4297920>
- Gardezi, A.K., Márquez, B.S.R., Valdés, V.E., Ortega, E.H.M., Escalona, M.M.J., Haro, A.G. and Larqué, S.M.U., 2020b. Inoculation of (*Prosopis laevigata*) by Arbuscular mycorrhizal fungi in different doses of organic matter in two types of soil. *International Journal of Environmental and Agriculture Research*, 6(1), pp. 1-8. <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.4297161>
- Grozeva, S., 2015. Effect of copper levels in the culture medium on shoot regeneration in pepper. *Banat's Journal of Biotechnology*, VI (12), pp. 96.
- Leos, E.L., Delgadillo, M.J., Favela, C.E., García, C.M., Moreno, R.A., Preciado, R.P. and Montano, D.L.F., 2019. Rizobacterias promotoras del crecimiento y resistencia a patógenos en Chile que favorecen su micorrización. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(3), pp. 601-614. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i3.1523>
- Mendoza, E.B., Torres, R.D.M., Lué, M.G.C., Estanga, B.M. and García, O.Y., 2021. Concentración de metales pesados en suelos agrícolas bajo diferentes sistemas de labranza. *TecnoLógicas*, 24(51), pp. 4-15. <https://doi.org/10.22430/22565337.1738>
- Pereira, W.C., Da Silveira, P.W.V., Medrado, G.D.A., Marques, T.O.M., Bastos, A.C. and Rodríguez, F.A., 2020. Phytoremediation potential of *Khaya ivorensis* and *Cedrela fissilis* in copper contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 268, 110733, pp. 301-4797. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110733>
- Romero, A.K.N., Carrillo, C.G., Gardezi, A.K., Flores, M.H., Valdés, V.E., Larqué, S.M.U. and Haro, A.G., 2020. Criteria for the selection of vegetable growth-promoting bacteria to applied on roselle crop (*Hibiscus sabdariffa* L.) and bioremediation. *International Journal of Environmental and Agriculture Research*, 6 (12), pp. 41-49. <http://doi.org/10.5281/zenodo.4405070>
- Saleem, M.H., Rehman, M. and Kamran, M., 2020. Investigating the potential of different jute varieties for phytoremediation of copper-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, pp. 30367–30377. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09232-y>
- Silva, G.M.I., De Almeida, S.M.I., Rocha, A.K., Nascimento, J.A., Da Costa, C.D., Santos, A.R., and De Jesús, S.J.C., 2020. Aged biochar changed copper availability and distribution among soil fractions and influenced corn seed germination in a copper-contaminated soil. *Chemosphere*, 240, pp. 124828, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124828>
- Tomno, R.M., Julius, K.N., Stephen, N.M., Douglas, S. and Fuchaka, W., 2020. Heavy metal contamination of water, soil and vegetables in urban streams in Machakos municipality, Kenya. *Scientific African*, 9, pp. e00539. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00539>
- Xingjia, W., Wenbo, Li, Dongyan, W., Songze, W., Zhuoran, Y. and Jiaqi, H., 2021. Trinity assessment method applied to heavy-metal contamination in peri-urban soil-crop systems: A case study in northeast China. *Ecological Indicators*, 132, pp. 108329. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.108329>

Zafar, H.M., Shahzad, B.T., Shaaban, M., Hussain S., Farooq, Q.M., Aslam, U. and Ahmad, Z., 2019. Influence of plant growth promoting rhizobacterial inoculation on wheat productivity under soil salinity stress. *Phyton*, 88(2), pp. 119-129. <http://doi.org/10.32604/phyton.2019.06570>