

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Bacterias nativas de suelos de milpa como inóculo para la promoción de
crecimiento en cultivo de maíz

Por:

YEYETZIN NARAYANA RODRÍGUEZ ÁLVAREZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Torreón, Coahuila, México

Noviembre 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

Bacterias nativas de suelos de milpa como inóculo para la promoción de crecimiento en cultivo de maíz

Por:

YEYETZIN NARAYANA RODRÍGUEZ ÁLVAREZ

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Aprobada por:



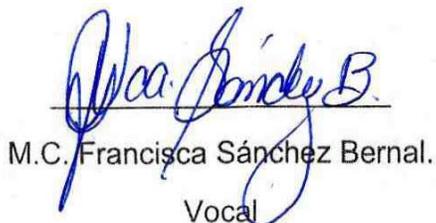
Dr. Rubén López Salazar.

Presidente



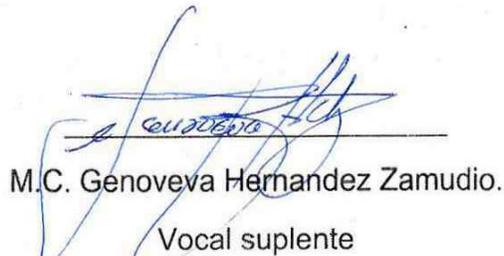
Dra. Rosina Cabrera Ruiz.

Vocal



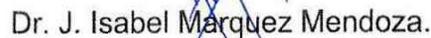
M.C. Francisca Sánchez Bernal.

Vocal



M.C. Genoveva Hernández Zamudio.

Vocal suplente



Dr. J. Isabel Márquez Mendoza.

Coordinador de la División de Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila, México.

Noviembre 2022

Universidad Autónoma Agraria
ANTONIO NARRO



**COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN
DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

Bacterias nativas de suelos de milpa como inóculo para la promoción de crecimiento en cultivo de maíz

Por:

YEYETZIN NARAYANA RODRÍGUEZ ÁLVAREZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dr. Rubén López Salazar.

Asesor Principal


Dra. Rosina Cabrera Ruiz.

Asesor

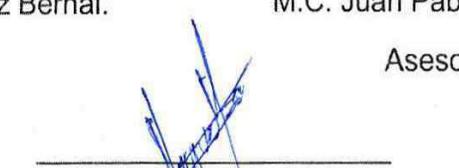

M.C. Francisca Sánchez Bernal.

Asesor


M.C. Juan Pablo Pérez Camarillo.

Asesor suplente

Universidad Autónoma Agraria
ANTONIO NARRO


Dr. J. Isabel Marquez Mendoza.

Coordinador de la División de Carreras Agronómicas



**COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN
DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

Torreón, Coahuila, México.

Noviembre 2022

AGRADECIMIENTOS

A mi madre: Teresita Álvarez Monroy por haberme motivado, y apoyado a poder lograr todo lo que lo que me proponga.

A mis hermanas: Sandra Sarahabi Rodríguez Álvarez, Yohely Guadalupe Rodríguez Álvarez, por darme su cariño y por motivarme a seguir siempre adelante.

A mi Alma Mater: por darme la información necesaria para poder realizarme como profesionista.

Al CONACYT: por el apoyo financiero otorgado para la realización de la investigación a través del proyecto 316145: “Manejo integral del cultivo de maíz mediante control biológico para la sustitución gradual de plaguicidas y glifosato en el Alto Mezquital, Hidalgo”. Aprobado en la convocatoria 2021: Desarrollo de innovaciones tecnológicas para una agricultura mexicana libre de agro insumos tóxicos. Así como por la beca otorgada.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Unidad Regional Hidalgo: por permitirme realizar el experimento en sus instalaciones.

A la Dra. Rosina Cabrera Ruiz: por haberme invitado a colaborar en su proyecto, y por el aprendizaje adquirido durante este.

Al Dr. Juan Pablo Pérez Camarillo: por su apoyo técnico recibido durante el trabajo en campo.

Al Centro de Innovación y Desarrollo Tecnológico SEDAGROH- Valle del Mezquital
y al Ing. Jaime Ortega Bernal: por permitirme trabajar en sus instalaciones y apoyarme
en las labores de campo del experimento.

Al Dr. Rubén López Salazar: por ser mi asesor de tesis y apoyarme en la redacción.

A mis compañeros y amigos de la universidad: por ayudarme y estar presente durante la
carrera.

DEDICATORIAS

A mi madre, Teresita Álvarez Monroy, por brindarme su amor, por creer en mí siempre y darme las herramientas necesarias para mi formación profesional.

A mi hermana, Yohely Guadalupe Rodríguez Álvarez, que, aunque se adelantó en el camino siempre fue mi fortaleza para no rendirme, por ayúdame a ser mejor persona y siempre darme su cariño

A mi hermana, Sandra Sarahabi Rodríguez Álvarez, por su apoyo, sus consejos y por sacarme tantas sonrisas a lo largo de este trayecto.

A mis tíos, Ausencio Heron Gonzales Hernández, Camerina Arenas Monroy, que siempre me cuidaron desde niña, me apoyaron de todas las formas posibles y me dieron su cariño incondicional.

A mis primos, Lupita, Gil, Laura, por todo su cariño y apoyo que he recibido a lo largo de mi vida.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS.....	iii
ÍNDICE GENERAL.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
RESUMEN.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo general	3
1.2 Objetivos específicos	3
1.3 Hipótesis.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Suelo y su Composición.....	4
2.2 Ecología Microbiana	6
2.3 Microorganismos del suelo y su interacción con las plantas.....	9
2.4 Sistemas Agrícolas Convencionales y de Conservación.....	10
2.5 Agroecología como alternativa sustentable para el cultivo de maíz	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
3.1 Cepas de microorganismos y medios de cultivo.....	14
3.2 Ensayos de antagonismo	14
3.3 Evaluación de la aplicación de microorganismos en experimentos <i>in situ</i> en cultivo de maíz.....	16
3.3.1 Evaluación en la comunidad Cuesta Blanca, Cardonal.....	18
3.3.2 Evaluación en la plataforma experimental del CiDT.....	19
3.4 Cinéticas de crecimiento	19
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
4.2 Evaluaciones <i>in situ</i> del efecto de la inoculación de cepas nativas de suelos de milpa sobre el desarrollo de plantas de maíz.....	23
4.2.1 Comunidad Cuesta Blanca, municipio de Cardonal, Hidalgo.	23
4.2.2 Plataforma experimental del CiDT.....	27
4.3 Cinéticas de crecimiento	31
V. CONCLUSIONES.....	34

VI. BIBLIOGRAFÍA	35
-------------------------------	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Rendimientos de producción.....	25
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Sistema de cultivo para la recuperación de metabolitos extracelulares secretados por las cepas bacterianas.....	15
Figura 2 Diseño experimental de la parcela ubicada en la comunidad Cuesta Blanca, municipio de Cardonal, Hidalgo.....	18
Figura 3 Diseño experimental de la parcela ubicada en la plataforma experimental del Centro de Innovación y Desarrollo Tecnológico del Valle del Mezquital- SEDAGROH (CiDT).....	19
Figura 4 Antagonismo de <i>Bacillus pumilus</i> Bx3 y <i>Acinetobacter</i> sp. Bx4 contra <i>Fusarium graminearum</i> RH1. A: Crecimiento micelial del hongo fitopatógeno sobre el medio de crecimiento conteniendo los metabolitos extracelulares de las cepas bacterianas. El control corresponde al medio de crecimiento sin metabolitos. B: Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de RH1 con respecto al control.....	21
Figura 5 Efecto de inoculación de microorganismos a plantas de maíz nativo con sobre el crecimiento vegetal.....	24
Figura 6 Eficiencia de la aplicación de microorganismos benéficos.....	25
Figura 7 Rendimiento de grano al final del ciclo de cultivo.....	26
Figura 8 Pudrición de la mazorca al final del ciclo de cultivo.....	26
Figura 9 Maíces cosechados en las parcelas experimentales. A) Control (sin inoculación); B) Tratamiento (plantas inoculadas).....	27
Figura 10 Densidad de población en etapa temprana y tardía de la inoculación in situ de <i>B. pumilus</i> Bx3 y <i>Acinetobacter</i> sp. Bx4 en cultivo de maíz. Muestreo 1: germinación de semilla; muestreo 2 (etapa temprano del cultivo de maíz: Estadio V3); muestreo 3 (etapa tardía del cultivo de maíz) ..	28
Figura 11 Evaluación de altura de plantas en etapa tardía del cultivo de maíz. Inoculación in situ de <i>B. pumilus</i> Bx3 y <i>Acinetobacter</i> sp. Bx4.....	29
Figura 12 Cinética de crecimiento de <i>Acinetobacter</i> sp. Bx4 a 25° C y 30° C.....	33

RESUMEN

Las bacterias presentes en el suelo desempeñan funciones vitales como la descomposición de la materia orgánica, la fijación de carbono o nitrógeno, la promoción de crecimiento en plantas y la actividad antagonica contra fitopatógenos. El género *Bacillus* spp. incluye especies empleadas como agentes de control biológico y promoción de crecimiento en plantas. El presente proyecto de investigación consistió en evaluar el efecto antagonico de las cepas *Bacillus pumilus* Bx3 y *Acinetobacter* sp. Bx4 contra el hongo fitopatógeno *Fusarium graminearum*. Además, se determinó el efecto de ambas cepas bacterianas en la promoción de crecimiento *in situ* en cultivos de maíz. De acuerdo con los resultados obtenidos, las cepas Bx3 y Bx4 mostraron 88 y 85% de inhibición; respectivamente. Los resultados obtenidos en las evaluaciones *in situ* en cultivos de maíz, donde las plantas fueron inoculadas con *B. pumilus* Bx3 y *Acinetobacter* sp. Bx4, presentaron capacidad para mejorar la altura de las plantas, la densidad de población, el rendimiento en grano y disminuir el daño en la mazorca. Con el objetivo de establecer las bases para la producción masiva de alguna de las cepas utilizadas, *Acinetobacter* sp. Bx4 presentó una temperatura óptima de crecimiento a los 25 °C. De acuerdo con la evidencia generada en esta investigación, *B. pumilus* Bx3 y *Acinetobacter* sp. Bx4 son dos cepas con potencial para ser utilizadas en estrategias para el manejo del cultivo de maíz.

Palabras clave: *Acinetobacter* sp., *Bacillus pumilus*, promoción de crecimiento vegetal, bacterias benéficas del suelo.

I. INTRODUCCIÓN

En el Estado de Hidalgo, los productores que establecen el cultivo de maíz en condiciones temporales y de riego, enfrentan la incidencia de importantes problemas en su producción. Dentro de estos problemas destacan la presencia de maleza que invade sus tierras de cultivo, provocando como consecuencia la presencia de plagas y enfermedades. Las principales enfermedades que afectan negativamente la producción en esta región son la pudrición de la raíz y la mazorca, el cual se identifica hasta el tiempo de cosecha (PérezCamarillo et al., 2018; Cabrera et al., 2020). Sin embargo, esta pudrición puede ocurrir en diferentes etapas: 1) cuando el cultivo está en su etapa de desarrollo de la plántula, y la raíz presenta algún daño físico; 2) cuando el tallo es perforado por un insecto barrenador (*Diatraea* spp.) y por este daño ocurre el proceso de pudrición; 3) cuando el maíz es dañado por el gusano del maíz (*Helicoverpa zea*) y 4) cuando el maíz tiene problemas de cobertura de mazorcas (Turkington, et al. 2016). Estudios realizados en la región del Alto Mezquital han demostrado que esta podredumbre es causada por la presencia del hongo fitopatógeno *Fusarium graminearum* (Cabrera et al., 2020). Este fitopatógeno se desarrolla a través de los haces vasculares hasta que llega a la mazorca y provoca su pudrición, cuando la pudrición se produce en el tallo o raíz. Además, cuando el daño es causado por el gusano cogollero, la pudrición ocurre directamente en el grano. Para minimizar el daño causado por *F. graminearum* y por otros fitopatógenos en el cultivo de maíz, productores que practican la agricultura de riego en del Alto Mezquital (municipio de Santiago de Anaya) utilizan semillas inoculadas con fungicidas (Comunicación personal). Además, estos compuestos agroquímicos se aplican durante la plantación para controlar las plagas del suelo, mitigando

así la pudrición de las raíces. Por otra parte, para la erradicación del problema de maleza, los productores recurren al uso del herbicida glifosato, el cual es fácilmente adquirido por su disponibilidad en el mercado (Comunicación personal). Como consecuencia del cambio climático y las prácticas agrícolas convencionales utilizadas por los productores de maíz en la región del Alto Mezquital, la incidencia de enfermedades emergentes y el deterioro paulatino de los suelos es inminente. Como estrategia sustentable para el manejo del cultivo de maíz, se propone el uso de microorganismos nativos adaptados a las condiciones climáticas de la región, con capacidad de favorecer el desarrollo de las plantas. En la Unidad Regional Hidalgo del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. se cuenta con una colección de bacterias benéficas aisladas de suelos de milpa que presentan capacidad antagonista frente a *F. graminearum* RH1, así como capacidades colectivas involucradas en interacciones bacteria-planta, tales como formación de biopelículas, desplazamiento y producción de proteasas extracelulares. En la presente investigación se propone la formulación de un inóculo basado en las cepas *Bacillus pumilus* Bx3 y *Acinetobacter* sp. Bx4 para determinar su efecto sobre el desarrollo de plantas de maíz.

1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de las cepas *Bacillus pumilus* Bx3 y *Acinetobacter sp.* Bx4 como inóculo para la promoción de crecimiento en cultivo de maíz.

1.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de *Bacillus pumilus* Bx3 y *Acinetobacter sp.* Bx4 como antagonista de *Fusarium graminearum*.
2. Determinar el efecto de la inoculación de las cepas Bx3 y Bx4 en cultivos de maíz a campo abierto sobre el desarrollo de las plantas.
3. Realizar una cinética de crecimiento de la cepa que haya mostrado resultados positivos a nivel de campo.

1.3 Hipótesis

La inoculación de microorganismos nativos adaptados a las condiciones climáticas del Alto Mezquital, Hidalgo, contribuyen a mejorar el desarrollo de plantas de maíz.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Suelo y su Composición

El suelo es la capa más superficial de la litósfera y se define como un subsistema natural, complejo y dinámico que está integrado por materia mineral, orgánica, aire y agua. El suelo alberga a una población viva que incluye macrofauna (insectos), mesofauna (nemátodos, artrópodos), microfauna (protozoarios) y microflora (bacterias, hongos, algas y actinomicetos). Estos elementos establecen estrechas relaciones siendo la actividad de los microorganismos en el suelo fundamental, ya que degradan la materia orgánica y ayudan a mantener los ciclos biogeoquímicos (Nannipieri et al., 2002; Nortcliff et al., 2011; UNAN, 2011). Las interacciones entre los microorganismos y las partículas del suelo a menudo involucran simultáneamente procesos biológicos, físicos y fisicoquímicos. Las interacciones biológicas involucran el crecimiento y multiplicación de las células, así como la secreción de sustancias orgánicas, como enzimas y otros biopolímeros. Los procesos físicos se relacionan con la geometría y cohesión de la matriz del sólido, incluyendo la distribución del tamaño del poro, la retención de agua, estabilidad agregada y propiedades mecánicas; dichas características son altamente dependientes del tamaño, forma y el arreglo espacial de las partículas. Por otra parte, las interacciones fisicoquímicas incluyen procesos en las interfaces o en la solución del suelo, por ejemplo, la sorción, disolución, hidrólisis, oxidación y parámetros como el pH, las características de las partículas de la superficie, el área, carga electrostática, energía libre y grupos funcionales (Chenu y Stotzky, 2002). El comportamiento de una población microbiana y sus efectos sobre el suelo dependen en gran parte de las características físicas y químicas de éste. El entendimiento de dicho comportamiento resulta esencial para predecir la aparición y la velocidad de las funciones

mediadas por microorganismos que son de importancia agronómica y ambiental, tales como la mineralización del nitrógeno, desnitrificación, fijación del nitrógeno, reincorporación de carbono y nitrógeno, estabilidad de la estructura del suelo, biodegradación de contaminación orgánica, etc. (Chenu y Stotzky, 2002; Frioni, 2005)

El suelo comprende una superficie sumamente variada y multiforme, sobre la cual se producen los fenómenos climáticos como la lluvia, el viento, etc. Es escenario de complejos procesos químicos y físicos, así como de un ecosistema subterráneo de pequeños animales y abundantes microorganismos, cuya presencia impacta directamente en la fertilidad del mismo. (Plata, 2006). El tamaño de las partículas minerales que forman el suelo determina sus *propiedades físicas*: textura, estructura, capacidad de drenaje del agua, aireación. Con base en estas propiedades, los suelos pueden clasificarse de la siguiente manera:

- *Suelos arenosos*: Son suelos sueltos y se trabajan con facilidad, pero los surcos se desmoronan y el agua se infiltra rápidamente. Tienen pocas reservas de nutrientes aprovechables por las plantas.
- *Suelos limosos*: Tienen gránulos de tamaño intermedio, son pesados y con pocos nutrientes. Los suelos arcillosos están formados por partículas muy pequeñas, son pesados, no drenan ni se desecan fácilmente y contienen buenas reservas de nutrientes. Al secarse se endurecen y forman terrones. Son fértiles, pero difíciles de trabajar cuando están muy secos,
- *Suelos francos*: Son mezclas de arena, limo y arcilla. Son fértiles y al secarse forman pequeños terrones que se deshacen. Un suelo con una composición equilibrada de cada mineral es un suelo agrícola fácil de trabajar y con buenas reservas de nutrientes. (FAO, El suelo , 1996)

México es un país con una gran complejidad geológica, en donde existe una gran diversidad de rocas con características y orígenes distintos, lo que dio como resultado diferentes tipos de suelos. De las 28 unidades o categorías de suelo reconocidas por la FAO/UNESCO/ISRIC en 1988, en México se encuentran 25, entre los cuales sobresalen 10 que constituyen el 74% de la superficie del territorio. Cinco de estas variedades cubren casi cuatro quintas partes del territorio nacional: leptosoles, regosoles calcisoles, feozems y vertisoles. (México, 2004)

El suelo puede definirse como un sistema natural desarrollado a partir de una mezcla de minerales y restos orgánicos bajo la influencia del clima y del medio biológico, se diferencia en horizontes y suministra, en parte, los nutrimentos y el sostén que necesitan las plantas, al contener cantidades apropiadas de aire y de agua. (Fassbender, 1971). De esta manera, el suelo tiene cuatro componentes importantes: minerales, materia orgánica, aire y agua. La fase sólida (mineral y orgánica) ocupa generalmente hasta el 50% de su volumen total. El resto lo ocupan la fase líquida (agua) y la fase gaseosa (aire), las que mantienen una proporción complementaria al llenar los poros que se originan entre los agregados y las partículas de la fase sólida. (Fassbender, 1971)

2.2 Ecología Microbiana

La ecología microbiana estudia las interrelaciones entre los microorganismos y el ambiente, así como las propiedades y el comportamiento de éstos en su entorno natural. Los microorganismos son un componente fundamental en el hábitat del suelo, donde desempeñan actividades importantes en el funcionamiento del ecosistema, mediante el control de las reacciones del ciclo de nutrientes esenciales para mantener una fertilidad, contribuyendo a la génesis y mantenimiento del suelo. El 90% de la descomposición de la materia orgánica es

realizado por bacterias y hongos, por lo que están cercanamente asociados en el ciclo de nutrientes que resultan de suma importancia para la agricultura. A pesar de ello, se ha demostrado que una reducción en cualquier grupo de especies microbianas tiene poco efecto en los procesos generales en el suelo, dado que otros microorganismos pueden asumir su función (Brussaard, 1997; Clegg y Murray, 2002; Nannipieri et al., 2002; Frioni, 2005). La diversidad microbiana se refiere a la cantidad y distribución de información genética dentro de las especies microbianas, referente a la diversidad de especies de bacterias y hongos en una comunidad, en contraste a la diversidad ecológica que es referente a la variación en la estructura de la comunidad, complejidad de las interacciones, número de los niveles tróficos y el número de gremios. De acuerdo a Park et al. (2018), actualmente existen 87,106 genomas bacterianos referenciados en el GenBank y se estima que un solo gramo de suelo puede albergar hasta 10¹⁰ células bacterianas, con una diversidad estimada de entre 4x10³ a 5x10⁴ especies (Torsvik et al., 1990; Roesch et al., 2007). En el suelo se han identificado 26 phyllums predominantes, siendo el phylum más abundante el de Proteobacteria (27%), seguido por Actinobacteria (14%), Chloroflexi (8%) y Firmicutes (6%) (Nannipieri et al., 2002; Wang et al., 2017). Gibbons y Murray (1978), describieron la división de Firmicutes para abarcar a todas las bacterias Gram-positivas. Las bacterias de este phylum contienen a un grupo heterogéneo de microorganismos tradicionalmente incluidos en tres clases Bacilli, Clostridia y Mollicutes, cuenta con 26 familias y 223 géneros. Los miembros de este filo son altamente diversos en su morfología y fisiología, siendo capaces de habitar una amplia variedad de ambientes, incluyendo hábitats hipersalinos. Dentro de este filo, las clases *Bacilli* y *Clostridia* contienen tres y dos familias, respectivamente, con un gran número de especies halófitas aisladas de diferentes entornos salinos e hipersalinos. El phylum Firmicutes resulta ser abundante en el suelo debido a que la mayoría de las bacterias que lo conforma produce

endosporas, las cuales son formas estructurales resistentes a diversos ambientes, en numerosos hábitats y con nichos ecológicos distintos. Se ha reportado que algunos géneros pertenecientes a este phylum se caracterizan por ser antagonistas de patógenos de plantas, lo que representa un papel importante de defensa utilizado para control biológico de fitopatógenos (De Vos et al., 2009; Horikoshi et al., 2011; López-Rivera, 2011).

La Ecología Microbiana, puente de unión entre la Ecología y la Microbiología, aborda el complejo estudio del papel que juegan los microorganismos en la biosfera. Esta disciplina, surgida con fuerza a partir de la segunda mitad del siglo XX, muestra como todos los seres vivos de la tierra dependen de la enorme diversidad de sus actividades. Este mundo invisible, presente en todo tipo de ambientes, cuyas condiciones sean compatibles con la existencia de vida, ha sido durante largo tiempo ignorado o tratado de forma muy rudimentaria en los estudios de Ecología clásicos. Pero su posición clave en los niveles tróficos de los ecosistemas, sus funciones centrales en los ciclos biogeoquímicos, la importancia básica de sus interacciones con el resto de los seres vivos y, en definitiva, su papel fundamental para mantener la salud de los ecosistemas, ha puesto de manifiesto, en los últimos años, la necesidad de integrar a los microorganismos como un componente esencial en los estudios ecológicos para la comprensión del funcionamiento de la biosfera. (M. Guerrero Sánchez, 2005)

La ecología microbiana trata sobre la relación de los microorganismos con el ambiente donde habitan. El suelo superficial (0-20cm) es el ambiente donde ocurren la mayoría de los procesos microbianos que influyen sobre la nutrición de los cultivos, de los cuales se ocupa la Microbiología Agrícola. Desde un punto de vista ecológico, un ambiente está constituido por: 1) una fracción abiótica (el hábitat), y 2) una fracción biótica (los componentes vivos).

La fracción abiótica del suelo incluye: a) partículas minerales de diferente tamaño y composición química, b) agua y solutos, c) gases y d) compuestos orgánicos; mientras que la fracción biótica incluye: a) raíces vivas de plantas, b) fauna (detritívoros) y c) microorganismos (descomponedores) (Anónimo, 2019).

La ecología microbiana es la ciencia que examina específicamente la relación entre microorganismos y su ambiente biótico y abiótico (planta, animal y humano). La ecología microbiana aplica los principios ecológicos generales para explicar las funciones de la vida de los microorganismos *in situ*, es decir, directamente en su entorno natural en lugar de simulado bajo laboratorio artificial condiciones *ex situ* o *in vitro*. Aunque los procesos microbianos *in situ* son el objetivo final en la mayoría de estudios ecológicos, no excluye experimentos de laboratorio y modelos matemáticos como herramientas de investigación eficientes a nivel intermedio etapas encaminadas a la elucidación de subyacente mecanismos y prueba de hipótesis. (Panikov, 2010)

2.3 Microorganismos del suelo y su interacción con las plantas

Los microorganismos presentes en el suelo forman una parte importante en la biodiversidad, tienen un papel fundamental en los procesos ecológicos como la mineralización de la materia orgánica y el ciclo del carbono y nitrógeno, además de brindar a las plantas protección contra estrés biótico y abiótico. Estos se encuentran organizados e interactúan en comunidades microbianas conformando el microbioma del suelo (Michel Palafox Felix, 2021)

El género *Bacillus* es uno de los grupos más utilizados para el control biológico de patógenos y plagas. Producen una gran variedad de metabolitos que pueden inhibir el crecimiento y las funciones de las células organismos como bacterias, hongos, insectos, nematodos y organismos

acelulares como virus. Genomas de especies de *Bacillus* codifican genes para la biosíntesis de metabolitos secundarios que muestran propiedades antimicrobianas, enzimas líticas, compuestos orgánicos volátiles y toxinas. *Bacillus* puede inhibir directamente el crecimiento de plagas y patógenos a través de la producción de compuestos antimicrobianos, enzimas o toxinas, mientras que indirectamente, la planta la respuesta inmunitaria puede desencadenarse a través de inductores bacterianos específicos (A.K. Saxena, 2019)

2.4 Sistemas Agrícolas Convencionales y de Conservación

Las actividades humanas inducen a la degradación del suelo provocando una disminución de la diversidad microbiana e influyendo directamente en la sostenibilidad ambiental, social y económica. Por décadas, se han implementado técnicas de cultivo consideradas de mayor producción, para el incremento de los rendimientos de áreas cultivadas mediante el uso de semillas híbridas, fertilización química, maquinaria y equipo con alto uso de energéticos fósiles, haciendo cada vez menos sustentables las prácticas agrícolas. Dichas prácticas son conocidas como sistemas de cultivo convencionales, en donde, predomina la técnica de monocultivo, favoreciendo la pérdida de especies, deterioro de los suelos por extracción de nutrientes y la erosión (Shankar, 2015; Mishra y Arora, 2016; Sánchez-Morales y Romero-Arenas, 2016).

Las prácticas agrícolas convencionales progresivamente han deteriorado la productividad y calidad de los suelos de cultivo, llevando así a la pérdida de comunidades microbianas beneficiosas y al deterioro del funcionamiento del ecosistema. Actualmente, se realizan grandes inversiones para aumentar la fertilidad y producción de los suelos, pues existe una demanda creciente de suelos destinados a la producción agrícola para satisfacer la demanda

de alimentos por la creciente población. El uso de pesticidas químicos y fertilizantes, como intento de mejorar la productividad y controlar enfermedades de plantas provocan la inestabilidad ambiental. El mantener una seguridad alimentaria y desarrollar una agricultura racional sustentable, sin uso de agentes químicos dañinos para la salud y que contaminan los ecosistemas, es un reto actualmente (Shankar, 2015; Mishra y Arora, 2016; Sánchez-Morales y Romero-Arenas, 2016).

En contraste a la agricultura convencional, la agricultura de conservación es considerada como un sistema de producción agrícola sostenible, con prácticas agronómicas adaptadas al cultivo y a las condiciones de la región. Estas técnicas de cultivo protegen al suelo de la erosión y degradación, mejoran su calidad y biodiversidad, y contribuyen a la preservación de los recursos naturales. El manejo de los cultivos con estas prácticas supone una mejora del medio ambiente en los ecosistemas agrícolas, implicando un incremento del contenido de materia orgánica, mejorando la estructura y porosidad del suelo, aumentando la biodiversidad e incrementando la fertilidad natural del suelo (Gil-Ribes et al., 2017).

La agricultura convencional hasta el momento se reduce en la producción de alimentos que abastece al ser humano, en una cantidad suficiente que le permita obtener altos ingresos, con un enfoque exclusivamente hacia el mercado, y a la comercialización de sus productos. Su modelo se basa en el uso de semillas tradicionales, tratadas y mejoradas, preparación del suelo con labranza mínima o intensiva, plantaciones de monocultivo, uso de maquinaria agrícola y generalmente recurre a combustibles fósiles y de carácter contaminante (Ortega, 2019). Como resultado del desarrollo de las prácticas agrícolas convencionales se ha ocasionado un desbalance en los ecosistemas, debido a la contaminación de aguas y del

ambiente, la pérdida de fertilidad del suelo, y las funciones de los microorganismos (Moya, 1994).

La agricultura de conservación hace un mejor uso de los recursos agrícolas a través de un manejo integrado del suelo, el agua y los recursos biológicos disponibles. Su principal objetivo es mejorar los rendimientos de los cultivos y de la capacidad de reacción del suelo contra sequías y otros riesgos (FAO, 2001). Sus características esenciales son la de no labranza y mantenimiento de una cobertura material vegetal sobre la superficie del suelo, las rotaciones de cultivos y cultivos de cobertura que se utilizan para maximizar los controles biológicos, se utilizan equipos especializados y se hace un uso continuo de la tierra. A pesar de las ventajas, la agricultura de conservación se ha expandido de una manera relativamente lenta, debido al cuidadoso manejo que se debe de tener además de la inversión en nuevos equipos; sin embargo, existen beneficios en escala local y global, uno de los beneficios mas importantes como consecuencia de la calidad del suelo es que favorece la actividad benéfica de los microorganismos, diversas investigaciones han indicado que el sistema de labranza cero incrementa la biomasa microbiana y el tamaño de la población. (FAO, 2002)

Sin lugar a dudas, la Agricultura de Conservación es una de estas técnicas que, sin perder la eficacia y la rentabilidad de las explotaciones agrarias, cuida a la vez temas tan importantes como evitar la erosión, fijar CO₂ en el terreno (lucha contra el cambio climático), aprovechar mejor el agua en los cultivos y reducir el consumo de combustible, tan importante en estos momentos. (Ribes, 2008).

2.5 Agroecología como alternativa sustentable para el cultivo de maíz

Hoy en día, se requiere asegurar patrones de desarrollo sustentable en los sistemas de producción agrícola, promovidos como agroecosistemas sustentables desde el punto de vista ambiental y sociocultural. (Salvador González Flores, 2020) El incremento poblacional, el deterioro ambiental y el modelo de la agricultura intensiva, ha generado interés en la sociedad sobre la creación de nuevas estrategias encaminadas al desarrollo sustentable, que logren la producción de alimentos sin afectar los ecosistemas naturales (Salvador González Flores, 2020). Con el objetivo de brindar orientaciones a los países para que transformen sus sistemas agrícolas y alimentarios, integren la agricultura sostenible a gran escala y logren el Reto del Hambre Cero y otros Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), en los seminarios regionales de la FAO sobre agroecología se establecieron los siguientes 10 elementos (FAO, Los 10 elementos de la agroecología , 2011). Tales como, la diversidad, las sinergias, la eficiencia, la resiliencia, el reciclaje y la creación conjunta y el intercambio de conocimientos (que describen las características comunes de los sistemas agroecológicos, las prácticas básicas y los criterios de innovación); los valores humanos y sociales y la cultura y tradiciones alimentarias (que ponen de manifiesto aspectos contextuales); la economía circular y solidaria y la gobernanza responsable (que tratan el entorno favorable). Los 10 elementos de la agroecología están interrelacionados y son interdependientes. (FAO, Los 10 elementos de la agroecología , 2011)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Cepas de microorganismos y medios de cultivo

Se utilizarán las cepas bacterianas *Bacillus pumillus* Bx3, *Acinetobacter* sp. Bx4 y del hongo fitopatógeno *Fusarium graminearum* RH1 (Cabrera et al., 2020), depositadas en el Cepario de Aislados Ambientales de la Unidad Regional Hidalgo del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Los medios de cultivo utilizados serán Agar-Papa-Dextrosa (APD) ajustado a un pH final de 7.0.

3.2 Ensayos de antagonismo

Para evaluar el perfil antagonico de los metabolitos secretados por *Bacillus pumilus* Bx3 y *Acinetobacter* sp Bx4, se utilizó un sistema de cultivo que permitirán la recuperación de los metabolitos secretados por la actinobacteria. El sistema de cultivo consistió en acondicionar placas Petri con una primera capa de 20 mL con medio agar-papa-dextrosa, seguido de una membrana de nitrocelulosa con punto de corte de 3 kDa, y, por último, una segunda capa superior de 15 mL de agar nutritivo. se inoculo en la superficie de las placas 200 µl de un preinóculo de la cepa Bx3 y Bx4 y utilizando perlas de vidrio las células fueron esparcidas homogéneamente (Figura 1). Las placas se incubaron a 25°C por 72 horas. Posteriormente, una vez observado el crecimiento bacteriano, la primera capa de agar que contenía el crecimiento celular fue retirado en conjunto con la membrana. De esta forma se recuperó la segunda capa de agar conteniendo los metabolitos secretados por las cepas bacterianas. Posteriormente, un explante de 4 mm de diámetro con crecimiento micelial del hongo

fitopatógeno *Fusarium graminearum* fue inoculado en el centro de la placa e incubadas a 25°C durante cinco días, periodo en el cual se monitoreo el crecimiento fúngico.



Figura 1 Sistema de cultivo para la recuperación de metabolitos extracelulares secretados por las cepas bacterianas.

La actividad de antagonista de las cepas bacterianas se determinó midiendo el crecimiento bacteriano del hongo *F. graminearum* RH1, utilizando el software ImageJ para calcular el porcentaje de inhibición utilizando la Ecuación 1.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{Tratamiento}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

Ecuación 1

Donde, A_{Control} es el área del crecimiento del hongo en el cultivo sin metabolitos, y $A_{\text{Tratamiento}}$ es el área de la colonia del hongo crecida sobre el medio conteniendo los metabolitos secretados por las cepas bacterianas Bx3 y Bx4.

3.3 Evaluación de la aplicación de microorganismos en experimentos *in situ* en cultivo de maíz

Las evaluaciones en cultivos de maíz se realizaron durante el ciclo de cultivo primavera-verano 2021, en la comunidad de Cuesta Blanca, municipio de Cardonal, Hidalgo y en el campo experimental del Centro de Innovación y Desarrollo Tecnológico del Valle del Mezquital-SEDAGOH (CiDT). A continuación, se describe el diseño experimental para cada sitio de trabajo. Los parámetros evaluados fueron los siguientes:

- *Densidad de población (DP):*

$$DP = \frac{NP_{8m^2}}{1250} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde, NP_{8m^2} es el número de plantas en $8 m^2$ del cultivo.

- *Eficiencia de aplicación sobre la altura de las plantas (EFAP):*

$$EFAP = \frac{AP_{Tratamiento} - AP_{Control}}{A_{Control}} \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde, $AP_{Control}$ es la altura de las plantas (m) del control y $A_{Tratamiento}$ es la altura de las plantas inoculadas (m).

- *Porcentaje de pudrición de granos (PGP):*

$$PGP = \frac{NGP}{NGT} \times 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde, PGP es el porcentaje de granos podridos, NGP es el número de granos podridos y NGT es el número de granos totales.

- *Rendimiento de grano (R):*

$$R = PPM \times NTM \times \frac{100-FC14}{86} \times FDG \times \frac{1000}{D} \quad \text{Ecuación 5}$$

$$FC14 = \frac{100-PHG}{86} \quad \text{Ecuación 6}$$

$$FDG = \frac{PG5Mz}{P5Mz} \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde R es el rendimiento de grano (kg/ha) estandarizado al 14% de humedad, PPM es el peso promedio de 5 mazorcas muestreadas por tratamiento, NTM es el número total de mazorcas en la muestra (se tomará el número de planas contadas en campo para cada tratamiento), FC14 es el factor de conversión para estandarizar el rendimiento al 14% de humedad, PHG es el porcentaje de humedad del grano al momento de pesar las 5 mazorcas, FDG es el factor de desganado o relación grano olote, PG5Mz es el peso del grano sin olote, P5Mz es el peso de las cinco mazorcas (grano más olote) y D es el ancho del surco (m). El factor D se calcula para convertir a kg/ha ($10000/10D @ 1000/D$).

3.3.1 Evaluación en la comunidad Cuesta Blanca, Cardonal

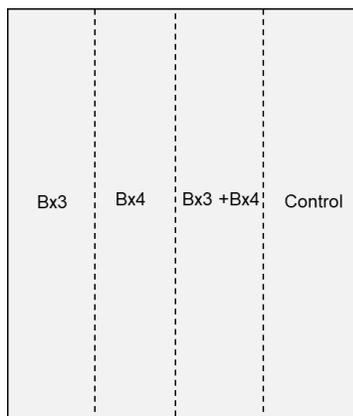


Figura 2 Diseño experimental de la parcela ubicada en la comunidad Cuesta Blanca, municipio de Cardonal, Hidalgo.

Las evaluaciones fueron realizadas en una parcela particular propiedad del Sr. Bernardo Mendieta Ruiz. El diseño experimental utilizado fue un completamente al azar dividido en cuatro unidades experimentales. Los tratamientos utilizados fueron: Tratamiento 1: Inoculación con *B. pumillus* Bx3; Tratamiento 2: Inoculación con *Acinetobacter* sp. Bx4; Tratamiento 3: Co-inoculación con *B. pumillus* Bx3 + *Acinetobacter* sp. Bx4; Tratamiento 4: Control (plantas sin inoculación de microorganismos). De cada bacteria se inocularon 1×10^5 UFC/mL (Figura 2).

3.3.2 Evaluación en la plataforma experimental del CiDT.



Figura 3 Diseño experimental de la parcela ubicada en la plataforma experimental del Centro de Innovación y Desarrollo Tecnológico del Valle del Mezquital- SEDAGROH (CiDT).

Las evaluaciones fueron realizadas en la plataforma experimental del CiDT. El diseño experimental utilizado fue un completamente al azar dividido en nueve unidades experimentales, tres a lo largo y tres a lo ancho, los tratamientos aplicados fueron: Tratamiento 1: Inoculación con *Acinetobacter sp.* Bx4; Tratamiento 2: Co-inoculación con *B. pumilus* Bx3 y *Acinetobacter sp.* Bx4; Tratamiento 3: Control (plantas sin inoculación de microorganismos). De cada bacteria se inocularon 1×10^5 UFC/mL (Figura 3).

3.4 Cinéticas de crecimiento

Para la realización de cinéticas de crecimiento se partió de un pre-inóculo, el cual fue preparado creciendo a *Acinetobacter sp.* Bx4 en medio nutritivo durante 48 horas a 25 °C. Para el cultivo del pre-inóculo se tomaron 100 μ L de las células conservadas a -80°C y se inocularon en 50 mL de caldo nutritivo, se incubaron a 25 °C por 24 h y 160 rpm. A partir de este pre-inóculo, se tomó el inóculo para el cultivo donde se realizaron las cinéticas de

crecimiento. A 50 mL del medio de esporulación Schaeffer's (SSM), se adicionaron 200 μ L del pre-inóculo y se inoculo cada matraz con el medio de esporulación. Los matraces fueron incubados a 25°C y 30 °C, para evaluar el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de la bacteria. Las condiciones de crecimiento fueron agitación constante a 160 rpm. Cada hora se tomó 1ml de muestra de cada matraz y el crecimiento fue medido registrando midiendo la densidad óptica a 600 nm utilizando un lector de microplacas. Los cultivos fueron realizados por triplicado.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Capacidad antagonista de los metabolitos extracelulares de las cepas Bx3 y Bx4

La actividad antagonista de las cepas bacterianas se determinó midiendo el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno *F. graminearum* en el medio de cultivo conteniendo los metabolitos extracelulares de *B. pumilus* Bx3 y *Acinetobacter* sp. Bx4 (Figura 4A). De acuerdo con los resultados obtenidos, las cepas bacterianas mostraron 88 y 85% de inhibición; Bx3 y Bx4, respectivamente (Figura 4B).

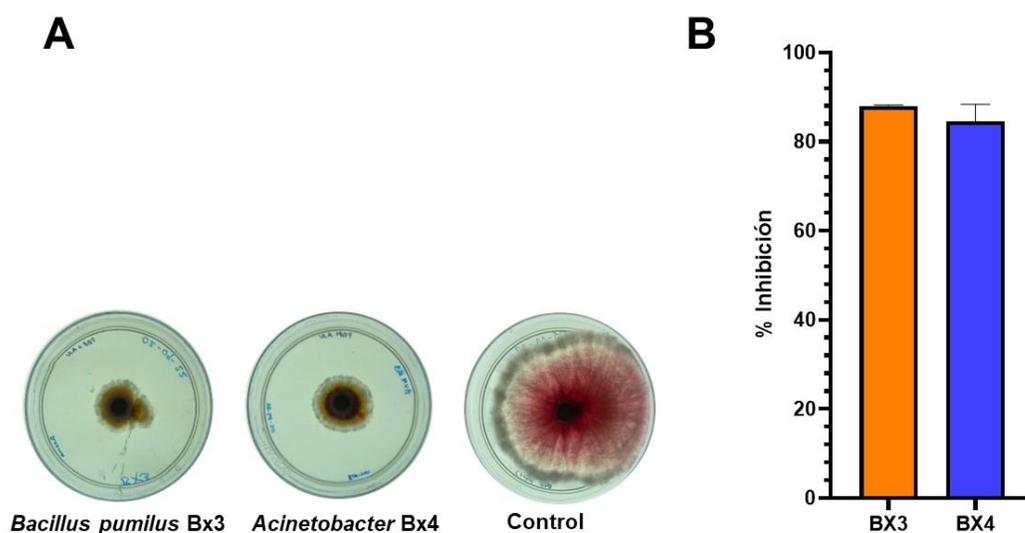


Figura 4 Antagonismo de *Bacillus pumilus* Bx3 y *Acinetobacter* sp. Bx4 contra *Fusarium graminearum* RH1. A: Crecimiento micelial del hongo fitopatógeno sobre el medio de crecimiento conteniendo los metabolitos extracelulares de las cepas bacterianas. El control corresponde al medio de crecimiento sin metabolitos. B: Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de RH1 con respecto al control.

La cepa *F. graminearum* RH1 fue aislada a partir de plantas de maíz del Valle del Mezquital, Hidalgo en donde es considerado uno de los agentes causantes de la pudrición de la raíz y la mazorca que socaban la producción en esta región y que se identifica hasta el tiempo de cosecha (García-López 2017; Pérez-Camarillo et al., 2018; Cabrera et al. 2020). Este agente es un hongo fitopatógeno en cereales como trigo, cebada y triticale, arroz avena, frijol y maíz. Las afectaciones en la planta incluyen, la destrucción de flores, producción de granos enfermos, arrugados y de menor tamaño. Además de almacenar micotoxinas, causando problemas de postcosecha (Trail, 2009; Turkington, et al. 2016).

Existen solo algunas especies bacterianas que han sido descritas como antagonistas de *Fusarium* y capaces de reducir su población (Gardener, 2004; Popiel, et al., 2008). Dentro de éstas, se ha definido al género *Bacillus* como un grupo de bacterias capaces de promover la salud de los cultivos suprimiendo fitopatógenos y plagas. Se ha reportado que especies del género *Bacillus* son antagonistas de *Fusarium* spp. De los agentes de control biológico bacteriano, las especies de *Bacillus* genéticamente diversos son conocidos por poseer actividad antagónica contra enfermedades fúngicas y bacterianas de las plantas transmitidas en el suelo. Estas actividades a menudo son supuestamente el resultado de antibiosis provocada por la producción de metabolitos antifúngicos, incluidos antibióticos, enzimas hidrolíticas y proteasas (Chan et al., 2003). La actividad antagónica de *Bacillus* spp. controla el crecimiento micelial de los hongos previniendo las enfermedades fúngicas de la planta y aumentando el crecimiento y rendimiento. *Bacillos* spp. se adhieren a las paredes celulares del micelio y la quitosanas, proteasa, celulasa, glucanasa y sideróforos de las bacterias se agrietan y deforman las hifas, lo que conduce a una estructura y funciones celulares alteradas debido a la vacuolización y la fuga de protoplasto (Radhakrishnan, 2017).

Por otra parte, *Acinetobacter* ha sido reportado como una bacteria que inhibe el crecimiento de algunos hongos fitopatógenos, tales como, *Cryphonectria parasítica*, *Glomerella glycines*, *Phytophthora capsici*, *Fusarium graminearum*, *Botrytis cinérea* y *Rhizoctonia solani* (Liu et al., 2007).

Debido a los importantes daños que ocasiona *Fusarium* en la agricultura, es de importancia el descubrimiento de microorganismos con capacidad de antagonizar a este fitopatógeno. En este contexto, las cepas de *B. pumilus* Bx3 y *Acinetobacter* sp. Bx4 mostraron potencial para ser utilizadas en estrategias para el manejo de la pudrición de la raíz y la mazorca, en cultivos de maíz a nivel de campo.

4.2 Evaluaciones *in situ* del efecto de la inoculación de cepas nativas de suelos de milpa sobre el desarrollo de plantas de maíz

Como parte de la evaluación del efecto de las cepas bacterianas nativas aisladas de suelos de milpa del Alto Mezquital, Hidalgo, a continuación se muestran los resultados generados en los experimentos *in situ*.

4.2.1 Comunidad Cuesta Blanca, municipio de Cardonal, Hidalgo.

Se realizó un diagnóstico directamente en parcela para identificar los problemas presentes en el cultivo, así como para realizar el diseño para la aplicación de los microorganismos. Se trabajó en una parcela con cultivo de maíz nativo de temporal. En la parcela se realizaron las siguientes inoculaciones mediante aspersión en la base de la planta y en el follaje: Tratamiento 1: *B. pumilus* Bx3; Tratamiento 2: *Acinetobacter* sp. Bx4; Tratamiento 3: *B. pumilus* Bx3 + *Acinetobacter* sp. Bx4. En el diseño experimental se estableció un cultivo

control que correspondió a plantas sin aplicación. Las aplicaciones fueron realizadas cuando las plantas se encontraban en estadio V3 del desarrollo.

En la primera evaluación (un mes después de la aplicación de los tratamientos), las plantas inoculadas presentaron una mayor altura con respecto a las plantas del cultivo control (Figuras 5). Las plantas inoculadas con la cepa Bx3 presentaron una altura de 2.04 m, mientras que las inoculadas con Bx4 y con la mezcla de ambos microorganismos (Bx3 + Bx4), presentaron una altura de 2.01 y 2.03 m, respectivamente. La altura de las plantas control (sin inoculación), fue de 1.7 m. Con base en estos resultados, se determinaron las eficiencias de la aplicación sobre la altura de las plantas con respecto a las plantas control, siendo de 20.3, 18.0 y 21.1%, para los tratamientos con Bx3, Bx4 y Bx3 + Bx4, respectivamente (Figura 6).

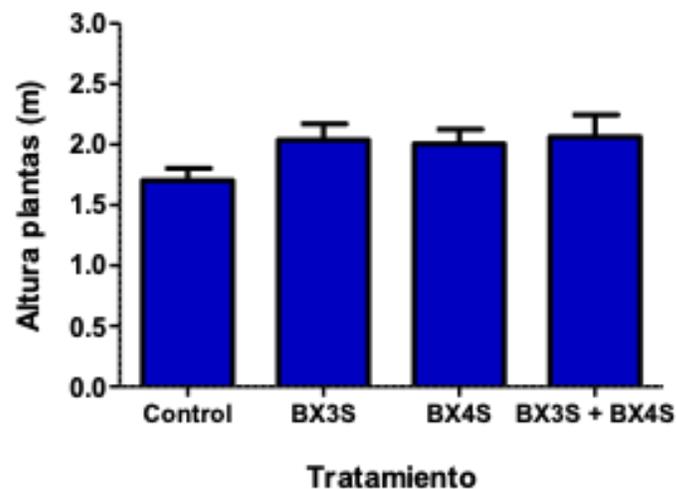


Figura 5 Efecto de inoculación de microorganismos a plantas de maíz nativo con sobre el crecimiento vegetal.

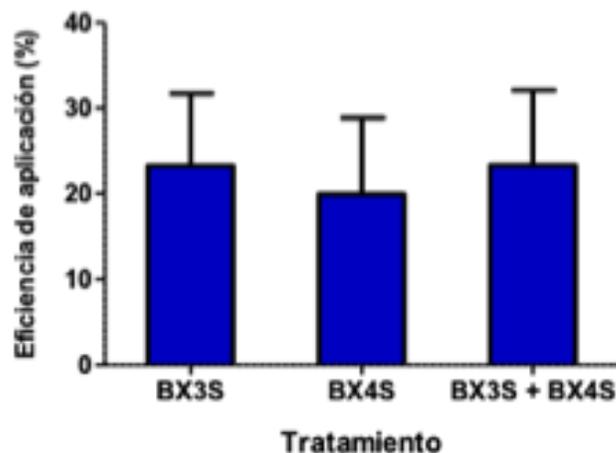


Figura 6 Eficiencia de la aplicación de microorganismos benéficos.

La densidad de población del cultivo control (sin aplicación de microorganismos) fue de 40,833 MP/ha. Para el cultivo correspondiente a las plantas inoculadas con *B. pumilus* Bx3, la densidad fue de 44,167 MP/ha. Mientras que, para tratamientos de las plantas inoculadas con *Acinetobacter* sp. Bx4 y con la mezcla de Bx3 + Bx4, la densidad de población fue de 44,792 MP/ha y 42,182 MP/ha, respectivamente (Tabla 1). A la finalización de la evaluación de la estrategia de control biológico, se obtuvo un rendimiento de grado estandarizado al 14% de humedad de 3,337 kg/ha en el cultivo control y de 4,232 kg/ha para el cultivo con los tratamientos (Figura 7).

Tabla 1 Rendimientos de producción.

Tratamiento	Rendimiento de grano (kg/ha)
Cultivo con aplicación	4,232 ± 236
Control	3,337 ± 350

Cultivo control = plantas sin aplicación de microorganismo. Los valores representan la media ± la desviación estándar.

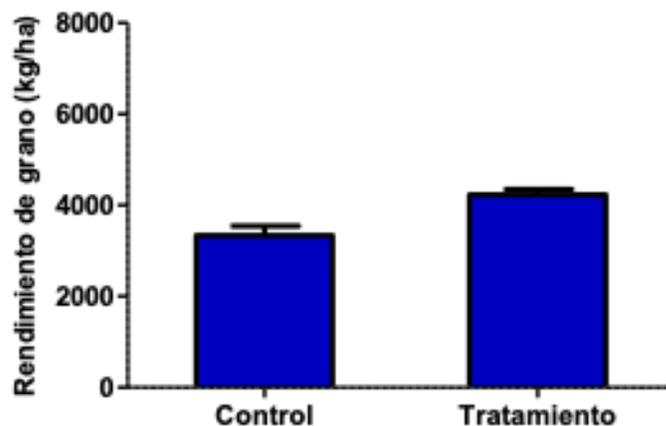


Figura 7 Rendimiento de grano al final del ciclo de cultivo.

La pudrición de la mazorca también fue evaluada al final del ciclo de cultivo. Los resultados mostraron 3.49% de daño por pudrición en la mazorca, mientras que las plantas inoculadas presentaron 1.09% de daño en la mazorca (Figura 8). En la Figura 9 se muestran los maíces cosechados por en campo a la finalización del ciclo de cultivo.

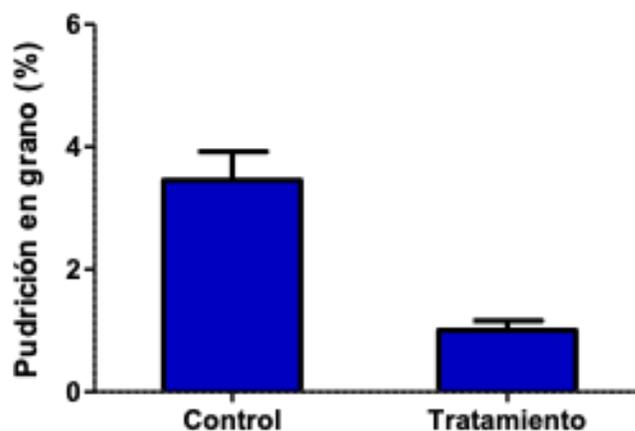


Figura 8 Pudrición de la mazorca al final del ciclo de cultivo.



Figura 9 Maíces cosechados en las parcelas experimentales. **A)** Control (sin inoculación); **B)** Tratamiento (plantas inoculadas).

4.2.2 Plataforma experimental del CiDT.

En la plataforma experimental del Centro de Innovación y Desarrollo Tecnológico (CiDT SEDAGROH-Valle del Mezquital), se utilizó un diseño experimental completamente al azar, en el que se evaluaron tres tratamientos con tres repeticiones, arrojando un total de nueve unidades experimentales. Los tratamientos evaluados fueron: 1) inoculación con *Acinetobacter sp* Bx4, 2) Co-inoculación *B. pumilus* Bx3 y *Acinetobacter sp* Bx4, 3) plantas control sin inóculo. Se realizó la inoculación de la semilla con cada uno de los tratamientos, y como refuerzo, adicionalmente se aplicaron estos mismos tratamientos mediante aspersión en la base de la planta y en el follaje. En la Figura 10 se muestran los resultados de densidad de población para cada uno de los tratamientos. Las plantas inoculadas con la cepa Bx4

mostraron una mayor germinación de semilla (muestreo 1), siendo la densidad de población de $29,457 \pm 7,752$ P/ha, mientras que el cultivo inoculado con ambas cepas Bx3 + Bx4 mostraron una germinación de $23\ 772.5 \pm 2,067.5$ P/ha. La germinación de semilla en el tratamiento control fue de $12,920 \pm 7,752$ P/ha. En etapa tempranas del desarrollo del cultivo del maíz (Estadio v3, muestreo 2), el cultivo inoculado con *Acinetobacter sp.* Bx4 presentó una mayor densidad de población con respecto al tratamiento control $55,814 \pm 1,034$ P/ha y $47,545 \pm 1,033.5$ P/ha, respectivamente. Por otra parte, la densidad de población del cultivo en donde se inoculo con Bx3 + Bx4 mostraron una densidad de población de $54,780.5 \pm 1,033.5$ P/ha. En etapas de desarrollo tardío de cultivo de maíz (muestreo 3) fueron mayores en el cultivo inoculado con Bx4 $59\ 948.5 \pm 2\ 067.5$ P/ha. Mientras que para el tratamiento Bx3 + Bx4 y para el control su densidad de población fue la misma ($57\ 881.5 \pm 1\ 033.5$ P/ha).

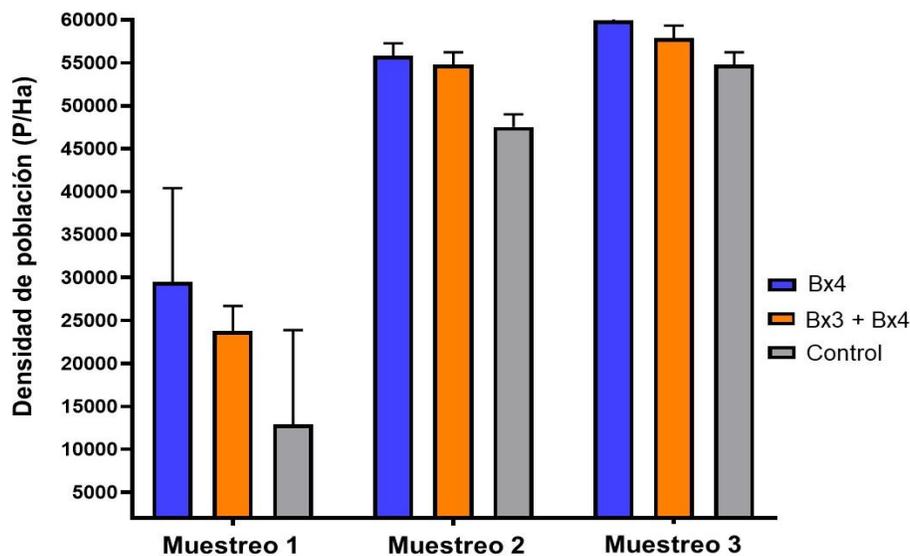


Figura 10 Densidad de población en etapa temprana y tardía de la inoculación in situ de *B. pumilus* Bx3 y *Acinetobacter sp.* Bx4 en cultivo de maíz. Muestreo 1: germinación de semilla; muestreo 2 (etapa temprano del cultivo de maíz: Estadio V3); muestreo 3 (etapa tardía del cultivo de maíz).

Como parte de las evaluaciones se determinó las alturas de las plantas en etapa tardía del cultivo, se realizaron 3 muestreos. En la Figura 11 se pueden observar como parte de las evaluaciones cada uno de los muestreos, en los cuales el tratamiento Bx3 + Bx4 las plantas presentaron mayor altura siendo estas de muestreo 1: 45.4 ± 1.6 cm, muestreo 2: 75.4 ± 0.43 m, muestreo 3: 99.2 ± 3.61 cm. Las plantas inoculadas con la cepa Bx4 presentaron las siguientes medidas, muestreo 1: 46.3 ± 1.37 cm, muestreo 2: 73.4 ± 1.29 cm, muestreo 3: 95 ± 1.57 cm. Mientras que el control tuvo las medidas: muestreo 1: 43.9 ± 0.43 cm, muestreo 2: 70.1 ± 0.03 cm, muestreo 3: 90.1 ± 0.52 cm.

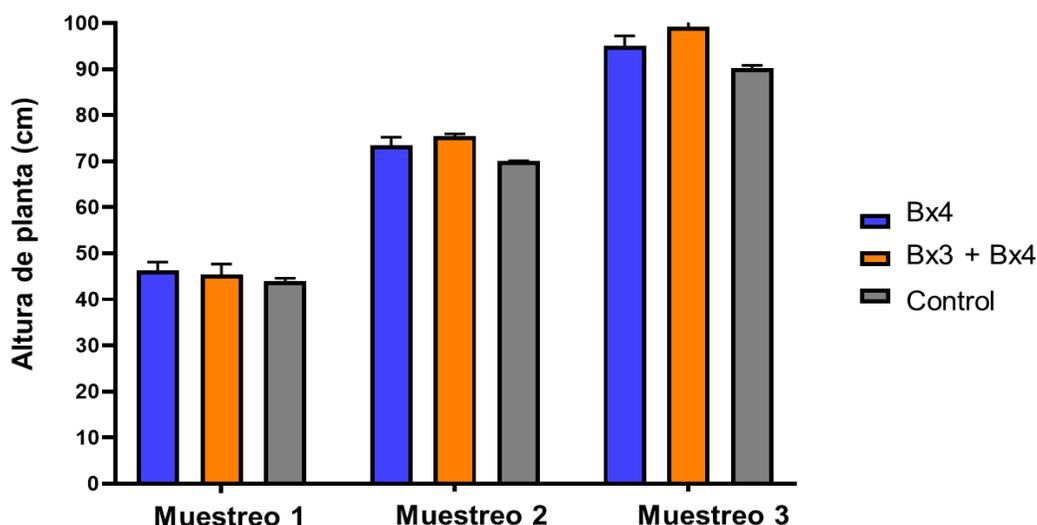


Figura 11 Evaluación de altura de plantas en etapa tardía del cultivo de maíz. Inoculación in situ de *B. pumilus* Bx3 y *Acinetobacter* sp. Bx4.

Los microorganismos promotores de crecimiento en plantas (PGPB=Plant growth-promoting bacteria) actúan como biofertilizantes, incrementando la disponibilidad de nutrientes a través de la fijación de nitrógeno atmosférico y la solubilización de minerales del suelo (fósforo y

potasio) (Bath et al., 2019). La inoculación con microorganismos promotores de crecimiento en cultivos agrícolas, ha sido considerado una alternativa sustentable al control químico (dos Santos Lopes et al., 2021). Con respecto al género *Bacillus*, se han reportado especies que pueden estimular las defensas de la planta antes de que una infección suceda, facilitando la absorción de nutrientes, fijando directamente el nitrógeno y promoviendo la simbiosis de la rizosfera y micorrizas (Gardener, 2004). Dichas cepas han sido identificadas como PGPB, ya que suprimen los patógenos y secretan ciertos compuestos que promueven el crecimiento de las plantas y la estimulación de las defensas del huésped de la planta que inducen la resistencia sistémica de esta (Sansinenea, 2019).

B. pumilus ES4 y *B. pumilus* RZ01, fueron evaluadas por su capacidad para mejorar el crecimiento y el desarrollo de las plantas de la codorniz arbustiva nativa del desierto de Sonora (*Atriplex lentiformis*). La inoculación de quailbush con las dos cepas bacterianas mejoró significativamente los parámetros de crecimiento, como la germinación, la longitud de la raíz, el peso seco de los brotes y las raíces y la relación raíz/brote. La promoción del crecimiento de codorniz después de la inoculación con estas PGPB fue significativa. Ninguna de las PGPB aumentó significativamente la longitud de los brotes o el número de hojas por planta; todas las cepas mejoraron el peso seco de raíces y brotes de las plantas. *B. pumilus* ES4 tuvo el mayor efecto en estos parámetros. La relación raíz: tallo fue mejorada solo por *B. pumilus* RIZO1.

Para el caso de *Acinetobacter*, se ha encontrado que desempeña un papel importante en la promoción de crecimiento de las plantas y se han relacionado con una actividad de fitoestimulación, basada en la producción de hormonas promotoras de crecimiento vegetal y solubilización de fosfato (Zamin et al., 2011).

Shi et al. (2011) reportaron que *Acinetobacter johnsonii* cepa 3-1, tiene un efecto sobre la remolacha azucarera, esta cepa promovió el crecimiento de plántulas de remolacha después de la inoculación de semillas. La altura de la planta y el peso seco aumentó un 19% y 69% en comparación del control. Además, el contenido de sacarosa, fructosa y el rendimiento de la remolacha aumentaron. Por otra parte, Rajwar et al. (2018) encontraron que *Acinetobacter* sp. ST-02 tiene un considerable potencial en la promoción del crecimiento de plantas y puede utilizarse de manera eficiente para la producción de garbanzos y que la inoculación con esta cepa puede reducir sustancialmente o reemplazar el 40% de los productos químicos fertilizantes.

Estas investigaciones soportan los resultados obtenidos en las evaluaciones *in situ* en cultivos de maíz, donde la inoculación con *B. pumilus* Bx3 y *Acinetobacter* sp. Bx4 presentaron una capacidad para mejorar la altura de las plantas, la densidad de población, el rendimiento en grano y disminuir el daño en la mazorca.

4.3 Cinéticas de crecimiento

La cepa *Acinetobacter* sp. Bx4 presentó actividad antagónica en contra del hongo fitopatógeno *F. graminearum* y un efecto de promotor de crecimiento vegetal en plantas de maíz, por lo que se decidió conocer su crecimiento en un sistema de cultivo líquido.

La cinética de crecimiento de la cepa Bx4 fue obtenida en cultivo líquido, a una temperatura de 25°C y 30°C, utilizando el medio de esporulación SSM y siguiendo el crecimiento registrando la densidad óptica a 600 nm. En ambas temperaturas se encontró que la bacteria presenta un crecimiento exponencial hasta la hora 10 (Figura 12). A una temperatura de crecimiento de 25°C se observó que la bacteria presentó un mayor crecimiento, alcanzándose

hasta 1.6 densidades ópticas a 600 nm. Mientras que, a 30°C, la bacteria alcanzó 1.2 densidades ópticas a 600 nm.

La curva del crecimiento microbiano representa la evolución del número de células viables presente en un cultivo microbiano líquido a lo largo del tiempo. Se estudia el número de células viables por mililitro de un cultivo de volumen limitado y con una cantidad de nutrientes limitada; por ejemplo, un medio de cultivo líquido en un matraz que ha sido inoculado con una cantidad inicial de microorganismos o inóculo (Bikandi, 2014). Las células cultivadas en un medio de cultivo apropiado, utilizan los nutrientes que tienen disponibles sintetizando sus propios componentes celulares y dividiéndose cuando duplican su masa y material genético. El tiempo que tarda una célula en cumplir ese proceso se denomina tiempo de generación (τ) y puede variar desde unos 20 minutos en condiciones óptimas hasta varios meses en condiciones ambientales. Cada vez que transcurre un tiempo de generación, el número de células se duplica, siguiendo, por tanto, un incremento exponencial (Salvucci, 2017).

De acuerdo con los resultados obtenidos en las cinéticas de crecimiento, *Acinetobacter* sp. Bx4 presenta una temperatura óptima de crecimiento a los 25 °C, temperatura en la cual el número de células obtenidas al final del cultivo incrementó, con respecto a la cinética de 30 °C. Dicha evidencia establece las bases para la producción de esta bacteria a una escala mayor (por ejemplo, a nivel de bio-reactor).

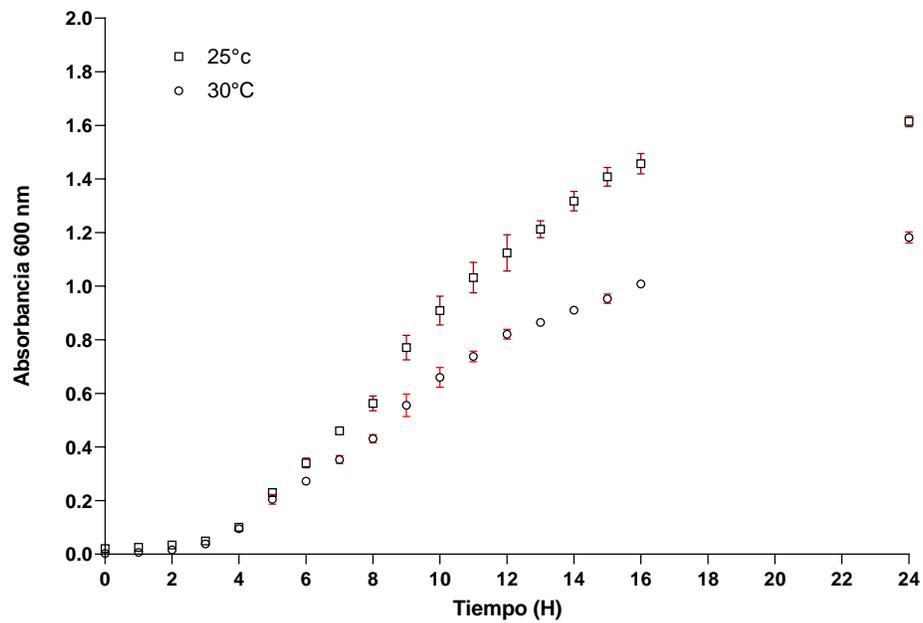


Figura 12 Cinética de crecimiento de *Acinetobacter* sp. Bx4 a 25° C y 30° C.

V. CONCLUSIONES

La naturaleza del suelo agrícola sin perturbaciones y alto contenido de materia orgánica, que distinguen al sistema milpa tradicional y en el que no se utilizan agroquímicos para el control de plagas y enfermedades, permite establecer la hipótesis de que conserven una alta diversidad de microorganismos benéficos para las plantas. En el presente trabajo de investigación se utilizaron como inóculo para el cultivo de maíz, dos cepas bacterianas aisladas de suelos de milpa del Alto Mezquita, Hidalgo. De acuerdo con los resultados generados, las cepas *B.pumilus* Bx3 y *Acinetobacter sp.* Bx4 mostraron efecto antagónico contra el hongo fitopatógeno *F. graminearum* RH1. Mediante inoculaciones in situ en cultivos de maíz a campo abierto, se encontró que ambas cepas presentaron capacidad para mejorar la altura de plantas, la densidad de población el rendimiento en grano y disminuir el daño en la mazorca. Por otra parte, mediante cultivos en liquido se encontró que la temperatura óptima para el crecimiento de la cepa *Acinetobacter sp.* Bx4 fue de 25°C, lo cual es relevante para establecer las bases para la producción escala masiva de este microorganismo. De acuerdo con la evidencia generada en esta investigación *B.pumilus* Bx3 y *Acinetobacter sp.* Bx4 son dos cepas con potencial para ser utilizadas en estrategias sustentables para el manejo del cultivo de maíz.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- A.K. Saxena, M. K. (2019). Bacillus species in soil as a natural resource for plant health and nutrition . *Jornal of Applied Microbiology*, 12.
- Anónimo. (2019). Ecología microbiana. *Microbiología del suelo*, 8.
- Bikandi, J. (2014). Cinética de la fase exponencial de la curva de crecimiento microbiano. *DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA*, 8.
- C. H. Liu, X. T. (2007). Study of the antifungal activity of *Acinetobacter baumannii* LCH001 in vitro and identification of its antifungal components. *APPLIED MICROBIAL AND CELL PHYSIOLOGY*. 459-466.
- Delgado, M. F. (2018). El género Bacillus como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 48-54.
- Estefania Castañeda Alvarez, L. C. (2016). Evaluación del crecimiento de cuatro especies del género Bacillus sp., primer paso para entender su. *NOVA*, 53-65.
- FAO. (1996). El suelo . *Ecología y enseñanza rural*, 11.
- FAO. (1996). El suelo . *Ecología y enseñanza rural* , 11.
- FAO. (2002). Agricultura de conservación estudio de casos de America Latina y Africa . *Boletín de suelos de la FAO*.
- FAO. (2011). Los 10 elementos de la agroecología . *Guía para la transición hacia sistemas alimentarios y agrícolas sostenibles* , 15.
- Fassbender, H. W. (1971). Composición del suelo . *Química del suelo, con énfasis en suelos latinos* , 418.
- Guerrero Sánchez, L. A. (2005). Ecología microbiana. *Ecosistemas* , 3.
- Yiu-Kwok Chan, W. A. (2003). Characterization of an antifungal soil bacterium and its antagonistic activities against Fusarium species. *Can. J. Microbiol. Vol. 49*, 253.
- J., C. z. (2016). aplicación de secuenciación masiva para el estudio y explotación de diversidad microbiana. *AGRO productividad*, 83.
- Jaime, A. P. (2008). Bases para una política de I&D e innovación de la cadena de valor de maíz . *Foro consultivo y tecnológico* , 246.
- Jyoti Rajawar, R. C. (2018). Comparative phosphate solubilizing efficiency of psychrotolerant *Pseudomonas jessonii* MP1 and *acinetobacter* sp. ST02 against chickpea for sustainable hill agriculture. *Institute of Molecular Biology*, 10.

- Jyoti Rajwar, R. C. (2018). Comparative phosphate solubilizing efficiency of psychrotolerant *Pseudomonas jessenii* MP1 and *Acinetobacter* sp. ST02 against chickpea for sustainable hill agriculture. *Institute of Molecular Biology*, 793-802.
- Lina María Gómez Betancur, S. M. (2018). La milpa como alternativa de conversión agroecológica de sistemas agrícolas convencionales de frijol. *Idesia*, 37.
- López-Forment, I. S. (1998). Dynamics of the traditional milpa system in Yucatán. *Changes in Diversity in the Process of Milpa Intensification in the Henequen Zone in Yucatan, Mexico*, 14.
- Luz Adriana Pedraza, C. E.-V. (2019). Mecanismos de acción de *Bacillus* spp. (Bacillaceae) contra microorganismos fitopatógenos durante su interacción con plantas. *Acta biológica colombiana*, 14.
- M. Guerrero Sánchez, A. I. (2005). Ecología microbiana. *Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente*, 14.
- Martínez, E. D. (2008). Ampliación del gen rrs. *Laboratorios de investigación en biotecnología médica*, 296.
- México, G. (2004). El suelo. *GEO México*, 21.
- Michel Palafox Felix, H. G. (2021). La milpa como un agroecosistema de microdiversidad: fuente abundante de actinobacterias con potencial en biotecnología agrícola. *Tópicos selectos de sustentabilidad: un reto permanente para el año 2021*, 205.
- Mohd Auyoub Bhat, R. S. (2019). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Sustainable and Eco-Friendly Agriculture. *ACTA SCIENTIFIC AGRICULTURE*, 2581-365X)
- Monyck Jane dos Santos Lopes, M. E. (2021). *Successful Plant Growth- Promoting Microbes: Inoculation Methods and Abiotic Factors. Frontiers in Sustainable Food Systems*, 13.
- Moya, J. R. (1994). La agricultura sostenible como alternativa a agricultura convencional. 15.
- Orberá Ratón, T., Pérez Portuondo, I., & Ferrer Salas, D. (2005). Aislamiento de la cepa *Bacillus* sp. Con potencialidades para la bioprotección y estimulación del crecimiento vegetal. *Revista Cubana de Química*, 189-105.
- Ortega, G. (2019). Agroecología vs. Agricultura. *Base investigaciones sociales*, 24.
- Ortega, I. S. (2014). Maíz (*Zea mays*). *Reduca*, 181.
- Panikov, N. S. (2010). Ecología microbiana. *Principios de la ecología microbiana*, 121.
- Pereira, C. (2015). composición del suelo. *Semana de la ciencia y tecnología jornada de puertas abiertas*, 19.
- Plata, U. N. (2006). El suelo: un universo invisible. *Mantenimiento de espacios verdes*, 14.

- Ramalingam Radhakrishnan, A. H. (2017). Bacillus : una herramienta biológica para la mejora de cultivos a través de cambios biomoleculares en entornos adversos. *Fisiol*, 78.
- Ribes, J. A. (2008). Agricultura de conservación. *Revista de la Asociación Española de la Agricultura* , 44.
- Rodríguez Limach, V. J. (2004). Efecto antagonico y biocontrolador . *Tesis digital UNMSM*, 27.
- Rokhbakhsh-Zamin, F. D.-P. (2011). Characterization of Plant-Growth-Promoting Traits of Acinetobacter Species Isolated from Rhizosphere of Pennisetum glaucum. *J. Microbiol. Biotechnol*, 556-566.
- Roland Ebel, . J. (2005). Manejo orgánico de la milpa: rendimiento de maíz, frijol y calabaza. *Rendimiento del maiz* , 12.
- Rosina Cabrera, S. P. (2019). Estrategias para el control del hongo fitopatógeno Fusarium en el sector agrícola: del control químico al control biológico . *Frontera biotecnológica*, 8.
- Salvador González Flores, L. G. (2020). Evaluación de la sustentabilidad del cultivo de maiz en Villaflores y la Trinitaria, Chiapas . *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas* , 14.
- Salvucci, E. (2017). Cecimiento microbiano . *Hacia una nueva biología* , 17.
- Sansinenea, E. (2019). Bacillus spp.: como bacteria promotora del crecimiento vegetal. *Metabolitos secundarios de rizomicroorganismos promotores del crecimiento vegetal*, 241.
- Tejera-Hernández, B., & Rojas-Badía, M. M. (2011). Género Bacillus. *CENIC Ciencias biológicas* , 9.
- Villarreal-Delgado, M. F. (2018). El género Bacillus como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Fitopatol*, 15.
- Villarreal-Delgado, M. F. (2018). El género Bacillus como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de fitopatología*, 48-53.
- Yingwu Shi, K. L. (2011). Growth promotion effects of the endophyte Acinetobacter johnsonii strain 3-1 on sugar beet. *Springer Science+Business Media B.V. 2011*, 8.