

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGÍA



**Microbioma rizosférico bacteriano de tres razas criollas de maíz
(*Zea mays* L.) y su impacto en el rendimiento en el campo
experimental El Retiro en Coahuila de Zaragoza, México**

Por:

Manuel López Astudillo

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

Torreón, Coahuila, México.

Junio 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGÍA

**Microbioma rizosférico bacteriano de tres razas criollas de maíz
(*Zea mays* L.) y su impacto en el rendimiento en el campo
experimental El Retiro en Coahuila de Zaragoza, México**

Por:

Manuel López Astudillo

TESIS

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

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

Aprobada por:



Dr. Jesús Vásquez Arroyo
Presidente



M.C. Eduardo Blanco Contreras
Vocal



Dra. Alejandra Cabrera Rodríguez
Vocal



M.C. Gerardo Zapata Sifuentes
Vocal Suplente


Dr. J. Isabel Márquez Mendoza

Coordinador de la División de Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila, México.



Junio 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGÍA

**Microbioma rizosférico bacteriano de tres razas criollas de maíz
(*Zea mays* L.) y su impacto en el rendimiento en el campo
experimental El Retiro en Coahuila de Zaragoza, México**

Por:

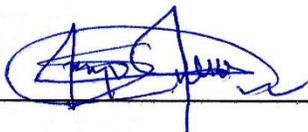
Manuel López Astudillo

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

Aprobada por el Comité de asesoría:



Dr. Jesús Vásquez Arroyo
Asesor Principal



M.C. Eduardo Blanco Contreras
Co-Asesor



Dra. Alejandra Cabrera Rodríguez
Co-Asesor



Dr. J. Isabel Márquez Mendoza

Coordinador de la División de Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila, México.

Junio 2023



AGRADECIMIENTOS

A la **universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna** por haber permitido cursar y culminar mi estudio superior.

Al **departamento de Agroecología** por todo el apoyo que recibí para llegar hasta qui y poder concluir mis estudios, el espacio donde me pasaba la mayor parte del día.

Al **Dr. Jesús Vásquez Arroyo** por su valioso apoyo, consejos y enseñanza que ayudaron mucho para mi formación, agradecido por haber cambiado mi forma de pensar y actuar, gracias por siempre hacerme sentir como en casa y darme su confianza, impulsándonos siempre a ser mejores profesionales.

Al **M.C. Eduardo Blanco Contreras** por su gran apoyo que me brindo para poder llegar a concluir mis estudios, su conocimiento y sembrar en nosotros el amor por la agroecología.

A mis maestros de COBACH, **Ing. Mirian Cabrera Robles (†), Ing. Araceli García Estrada, Lic. Manuel de Jesús Pérez Macias, Ing. Víctor López Alcocer, Lic. Marco Antonio Santizo**, sus palabras fueron sabias, su aportación de conocimiento para mi formación, gracias por esa paciencia, dedicación y tolerancia.

DEDICATORIA

A **Dios** por haberme permitido vivir y lograr mis estudios superiores.

A mis padres **Manuel López Flores** y **Hilda Araceli Astudillo Cahueque** por su gran apoyo, confianza que siempre me brindaron y guiarme para llegar a ser una buena persona y motivarme cuando más lo necesitaba, estoy eternamente agradecido.

A mis hermanas **Rosa Elena**, **Araceli** y **Anahí** por su gran apoyo que siempre tuve, por estar presentes en los momentos más difícil que se presentaron, por creer en mí, les dedico cada logro de mi vida.

A mis abuelitos **Artemio López Majata** y **Ma. Antonia Flores de la Cruz** por sus consejo y apoyo que siempre me dieron, por inculcarme siempre el superarme y nunca dejarme solo, estoy muy agradecido por aportar su conocimiento y sabiduría para ser una buena persona.

A mis tíos **Juan Agustín Vera Vázquez** y **Alejandra López F**, por el espacio que me brindaron en su casa y apoyarme en cada uno de los procesos que realice y sus consejos. A **Darinel Lopez F.**, **Javier López F.**, **Artemio López F.**, por su apoyo y consejos que me proporcionaron durante toda mi formación academica hasta concluirla, estoy muy agradecido con ustedes por nunca dejarme solo.

A mi padrino **Alberto Antonio Niño** por siempre estar conmigo y su apoyo brindado en mi formación academica.

A mis sobrinos **Adrián de los Santos López** y **Jaziel de los Santos López**.

A mi mejor amigo **Isaí Obed** y a todos mis demás compañeros por compartir esos momentos tan agradable juntos.

RESUMEN

El maíz es considerado el cereal esencial en la dieta de los mexicanos, así mismo, se caracteriza por su importancia cultural y económica. Por ello, el presente trabajo se realizó para identificar las comunidades de bacterias encontradas en la rizosfera del suelo, en donde se establecieron tres diferentes razas de maíz criollo (C1,C2,C3). El experimento se llevó a cabo en el campo experimental El Retiro, perteneciente a la UAAAN, ubicado en el municipio de Francisco I. Madero, Coahuila de Zaragoza, México. El 13 de junio del 2021 se realizó la siembra, a los 51 días se efectuó el muestreo del suelo. Se extrajo el DNA para la amplificación de las regiones V3-V4, después se realizó la secuenciación Illumina y se utilizó la base de taxonómica EzBioCloud. Se determinó diferencia significativa en los taxones en relación a las abundancias relativas y las diferencias con el índice de Bray Curtis, al aplicar la prueba de Kruskal-Wallis. Se demostró que el Phylum Proteobacteria, la clase Phycisphaerae, los órdenes Shingomonadales, micrococcales y Phycisphaerales, las familias Moroxellaceae, Micrococcaceae, Chitinophagaceae, Shingobacteriaceae y Enterobacteriaceae, y los géneros *Acinetobacter*, *Cryseobacterium* y *Shingobacterium*, fueron los más abundantes. Dentro de los taxones mencionados se encontraron BPCV (Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal) que ayudan en el desarrollo de las plantas. Se identificó una diversidad de bacterias en la rizosfera que pueden ser de importancia para las plantas. De las razas analizadas la C2, es considerada como la que contiene los mejores rendimientos de peso del grano y peso seco en forraje, la cual representa una opción de preservar la semilla y realizar investigaciones posteriores a diferentes condiciones.

Palabras clave: *Zea mays* L, Maíz nativo, BPCV, Secuenciación masiva 16S rRNA.

INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	ii
RESUMEN.....	iii
OBJETIVO GENERAL	2
OBJETIVO ESPECÍFICO	2
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Agroecología	4
2.2 Manejo agroecológico.....	4
2.3 Agroecosistema	5
2.4 Biodiversidad.....	5
2.5 Zonas áridas y semiáridas	6
2.6 El cultivo del maíz (<i>Zea mays</i> L.).....	6
2.6.1 Diversidad del maíz en México y producción de maíz en México	7
2.7 Suelo	8
2.8 Rizosfera	8
2.9 Comunidades microbianas en suelos agrícolas.....	9
2.10 Metagenómica.....	10
2.12 Gen 16S	10
2.13 Secuenciación masiva de la siguiente generación	11
MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1. Ubicación y condiciones ambientales del área de estudio	12
3.2 Diseño experimental.	12
3.3. Rendimiento en granos y biomasa (Mg ha^{-1})	13
3.4. Muestreo de microbioma del suelo.....	13

3.5. Extracción de DNA del microbioma del suelo	14
3.6. Análisis bioinformático	15
RESULTADOS	17
4.1. Rendimiento del Cultivo.....	17
4.1.1. Rendimiento en granos y biomasa (Mg ha ⁻¹).....	17
4.2. Análisis de la microbiota bacteriano	17
CONCLUSIONES.....	31
LITERATURA CITADA.....	32

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Rendimiento De Peso De Mazorca (Pm, G), Peso Seco (Ps, G) Y Estimación Aproximada De Las Toneladas De Peso Seco Por Hectárea (Mg Ha-1). C1=Criollo 1, C2=Criollo 2, C3=Criollo 3.....	17
Cuadro 2. Numero De Secuencias Obtenidas Para Cada Raza Criolla De Maíz.	18
Cuadro 3. Especies Identificadas En La Base Taxonómica Para Las 3 Razas Criollas De Maíz.	23
Cuadro 4. Análisis De Similitud Porcentual (Simper) Y Prueba De Kruskal-Wallis Disimilitud Prom. = Disimilitud Promedio, Contrib. % = Porcentaje De Contribución, Acumulado %= Porcentaje Acumulado, Mean = Media Poblacional H = Valor Kruskal-Wallis, G.L. = Grados De Libertad, P = Valor De Significancia, * Bacteria Promotora Del Crecimiento Vegetal.	23

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Localización Del Área Del Experimento (Municipio De Francisco I. Madero Coahuila, México).</i>	12
Figura 2. Curvas De Rarefacción Para Las Secuencias Bacterianas Rizosféricas De Tres Razas Criollas De Maíz Con Tres Repeticiones.....	18
Figura 3. Abundancia Relativa (%) Individual Y Promedio De Los Principales Phylum De Las Tres Razas Criollas De Maíz Con Tres Repeticiones. C11 = Criollo 1, Repetición1, C12 = Criollo 1, Repetición 2, C13 = Criollo 1, Repetición 3, Y Así En El Orden Dado Para C2 Y	19
Figura 4. Abundancia Relativa (%) Individual Y Promedio De Las Principales Clases De Las Tres Razas Criollas De Maíz Con Tres Repeticiones.....	20
Figura 5. Abundancia Relativa (%) Individual Y Promedio De Las Principales Órdenes De Las Tres Razas Criollas De Maíz Con Tres Repeticiones.	20
Figura 6. Abundancia Relativa (%) Individual Y Promedio De Las Principales Familias De Las Tres Razas Criollas De Maíz Con Tres Repeticiones.....	21
Figura 7. Abundancia Relativa (%) Individual Y Promedio De Los Principales Géneros De Las Tres Razas Criollas De Maíz Con Tres Repeticiones.	21
Figura 8. Mapa De Calor De Los 17 Géneros Bacterianos Más Abundantes En Rizósfera De Tres Variedades De Maíz Criollo	22
Figura 9. Visualización De Las Tres Razas Criollas De Maíz Utilizando Pcoa.....	25
Figura 10. Gráfico De Barras Resultado Del Lefse.	26
Figura 11. Clandograma Representativo De Los Resultados Del Lefse.	27

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cereales más consumidos y producidos a nivel mundial debido a sus propiedades nutrimentales, como lo es el elevado contenido de carbohidratos, y a su fácil adaptación (Blanco-Valdes *et al.*, 2021). Así mismo, en México es considerado como el más importante, ya que es un cereal que forma parte del alimento base y se caracteriza por su importancia cultural e histórica del país (CONABIO,2020). Actualmente los maíces nativos de México cobran importancia por el patrimonio biocultural que tiene, mismo que se ha diversificado en todo el mundo y llegan a ser el sustento de varios miles de familias que se encuentran en zonas rurales (Fernández Suárez *et al.*, 2013). Al respecto, uno de los aspectos importantes del cultivo, son los pequeños productores que la gran parte de sus unidades de producción se ubican en zonas rurales con condiciones ecológicas diversas (Fernández Suarez *et al.*, 2013; Wellhausen *et al.*, 1951 citado por Navarro-Garza *et al.*, 2012).

El cultivo de maíz se establece principalmente para la producción de grano y forraje. En este sentido, la producción de grano es relevante, dado que existe una diversidad de platillos que se realiza a base de este básico. Por otra parte, el maíz para forraje forma parte de la dieta de los rumiantes por su alto contenido nutrimental que la planta de maíz proporciona al animal. Al respecto, Elizondo y Boschini, 2002, menciona que las variedades para utilizar como forraje pueden ser todas aquellas plantas de maíz que se caracterizan por sus rendimientos de biomasa y que sean de porte alto. Debido a lo anterior, la producción de maíz en México es una de las actividades más importantes en el sector agrícola, ya que el 82% de las unidades rurales establecen el cultivo de maíz como cultivo principal (Villanueva, 2021).

Es este sentido, uno de los recursos de suma importancia para los agricultores, es el suelo, dado que es el sustento de actividades productivas primarias de la agricultura. En él se producen diversos procesos de transformación en los cuales están involucrados los microorganismos, agua, raíces, intercambio de gases,

descomposición y neoformaciones entre otros procesos. Gracias a ello, proporciona servicios ambientales los cuales son importantes en el sostenimiento del ecosistema, así como de la vida humana, entre las funciones más conocida se encuentran el suministro y soporte de nutrientes a las plantas (Zorrilla *et al.*, 2007). Al respecto, la presencia de microorganismo en el suelo es importante debido a que son los precursores principales de los procesos de ciclado de nutrientes, regulando así, la dinámica del secuestro de carbono, materia orgánica del suelo, la emisión de gases de efecto invernadero, la estructura del suelo y la retención de agua. De igual manera están estrechamente relacionados al aumento de la eficiencia de los nutrientes y la salud vegetal, de esta forma los microorganismos localizados en la rizosfera del suelo, permite que la planta acceda a fuentes esenciales para su crecimiento (Correa, 2013).

Por lo tanto, el estudio de la diversidad microbiana cobra importancia debido a que, mediante estudios del material genético de DNA y ARN, se logra encontrar miles de millones de especies microbianas que pueden ayudar a inferir su papel en la dinámica suelo – planta. Sin embargo, la diversidad de los microorganismos es tan grande que en la actualidad solo se conoce el 3% de los microorganismos existentes y pocos son los que se han estudiado a profundidad (Montaño *et al.*, 2010). Por la importancia y la relación que los microorganismos tienen con las plantas y su comportamiento en la comarca lagunera; el presente trabajo plantea conocer la diversidad microbiana existente en la rizosfera de plantas de maíz criollo de grano como de forraje en la región y su impacto en el rendimiento.

OBJETIVO GENERAL

Identificar las bacterias existente en la rizosfera del suelo asociadas al cultivo de maíz criollo y su posible impacto en el rendimiento.

OBJETIVO ESPECÍFICO

1.- Determinar el rendimiento en relación al peso y biomasa de tres razas de maíz criollo bajo condiciones experimentales del Campo Experimental El Retiro, ubicado en Francisco I. Madero de Coahuila de Zaragoza.

2.- Determinar la abundancia relativa de taxas bacterianas asociadas a la rizósfera de tres razas de maíz Criollo.

3.- Establecer la presencia de géneros bacterianos indicadores asociados en las razas criollas de maíz estudiadas.

HIPÓTESIS

Ho. La diversidad microbiana rizosférica influye en el rendimiento de las tres razas criollas de maíz

Ha. La diversidad microbiana rizosférica no influye en el rendimiento de las tres razas criollas de maíz.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Agroecología

La agroecología es denominada como una disciplina científica la cual tiene un enfoque en el estudio de la agricultura con una perspectiva ecológica en la cual su fin es el análisis de los procesos agrícolas de manera más amplia tomando en cuenta el ecosistema como una unidad fundamental para el estudio en la cual interviene los ciclos minerales, transformación de la energía, los procesos biológicos y las relaciones socioeconómica (Altieri y Nicholls, 2000). La agroecología promueve los fundamentos ecológicos para la conservación de la biodiversidad en la agricultura, tales como la renovación y servicios ecológicos de los agroecosistemas, en ello interviene las interacciones de los componentes del agroecosistemas como son los cultivos, animales, arboles, suelo entre otros (Altieri y Nicholls, 2000).

Por otro lado, Altieri, (2002) menciona que la agroecología tiene como idea principal ir más allá de la realización de la practicas agrícolas convencionales, si no desarrollar el agroecosistema tomando en cuenta que la dependencia de los agroquímicos sea mínimo, al igual que los insumos de energía, por otro lado expone que la agroecología incluye el recicla de nutrientes y energía, el mejoramiento de la materia orgánica y la actividad biológica del suelo, diversificación de las especies de plantas y los recursos genéticos de los agroecosistemas. En este sentido, la agroecología propone un modelo de gestión agraria el cual se basa en un enfoque estrechamente relacionado al medioambiente y socialmente más sensible, el cual se dirige no solamente a la producción, sino a la estabilidad ecología de los sistemas productivos (Sans, 2007).

2.2 Manejo agroecológico

En Latinoamérica se han impulsado en el proceso de transición y conversión de los sistemas agrícolas el cual durante muchos años se realiza de forma convencional con la utilización de agroquímicos que afectan el microbiota del suelo entre otros aspectos, ha existido la transición de los sistemas de producción convencional al agroecológico con nuevas alternativas más amigable para el agroecosistema. El manejo agroecológico se enfoca en buscar una alternativa para la producción de alimentos

sanos, diversos, surge a partir del reconocimiento y la valorización de los saberes que existe en los pueblos indígenas y campesino (Suarez *et al.*, 2019). En relación con esto el manejo agroecológico ayuda a la rizosfera en el mejoramiento de la fertilidad del suelo y de los cultivos, al igual influye en la optimización de las condiciones del suelo y las excreciones de las raíces (Labrador, 2008).

2.3 Agroecosistema

El agroecosistema se ha definido como una unidad básica de estudio en el cual tiene un amplio nivel jerárquico, como un sistema con valores intrínsecos que es conocido como la intervención y modificación que existe entre el hombre y el ecosistema en el cual interviene también los proceso social productivos de la agricultura que de una u otra manera es un modelo de investigación para la interpretación de la compleja realidad en la que interaccionan subsistemas que reconocen los componentes naturales al igual que los socioeconómicos y culturales (Platas-Rosado *et al.*, 2017).

Cuevas-Coeto *et al.*, (2019) considera al agroecosistema como una expresión antropogénica con mayor complejidad, que han sido deliberadamente transformados por el hombre con el finde producir bienes de valor para los humanos a partir de diferentes aspectos como son las plantas, animales y microorganismos. Altieri, (2011) expone que los agroecosistemas son comunidades de plantas y animales que interactúan con el ambiente físico y químico que se han modificado para poder producir alimentos, fibras combustibles entre otros productos para el procesamiento humano.

2.4 Biodiversidad

El termino biodiversidad es surgido en el momento en el cual existe preocupaciones de la pérdida del ambiente natural (Gaston y Spicer, 1998 citado por Núñez *et al.*, 2003), es considerado como la propiedad de los sistemas vivos de ser distintos, una característica de las múltiples formas de adaptación e integración de las especies humana a los ecosistemas de la tierra no en un recurso. La biodiversidad proporciona múltiples servicios ambientales, esto quiere decir que provee condiciones y procesos que son naturales de los ecosistemas en los cuales incluye las especies y los genes

que de una u otra manera los seres humanos obtenemos diversos beneficios (Núñez *et al.*, 2003).

2.5 Zonas áridas y semiáridas

Las zonas áridas y semiáridas se caracterizan por la escasa disponibilidad de agua, uno de los aspectos que se presenta es la alta evaporación con alta radiación solar incidente, las temperaturas diurnas y la presión del vapor del aire. El tipo de suelo presente en esta zona suelen variar en profundidad, textura, pH, conductividad eléctrica y la fertilidad del suelo, un problema notable en esta zona es el cambio climático, este fenómeno ha obligado a generar nuevos conocimientos para el desarrollo de la agricultura en estas zonas (Águila & Carolina, 2013).

2.6 El cultivo del maíz (*Zea mays* L.)

El maíz (*Zea mays*) es un cultivo con mayor importancia en el sector agrícola mexicano, dado que representa toda una tradición productiva y de consumo, ya que cumple con diversas funciones alimenticias y socioeconómicas que permiten trascender hasta la actualidad. Su importancia se deriva del uso como un ingrediente principal en las dietas de los mexicanos y como producto que producen más de dos terceras parte de los productores agrícolas del país, dado que es uno de los principales granos cultivados en el mundo y su consumo no solo es humano sino también para el sector ganadero (Santos-Ramos *et al.*, 2017).

El maíz además de ser unos de los principales granos cultivados también posee un gran contenido sociocultural dado que es el alimento básico en nuestro país y que de forma tradicional se ha utilizado para la elaboración de la tortilla (Trigo & Montenegro, 2002). En México, el consumo per cápita anual de maíz es de 120.5 kg al años (FAOSTAT, 2014), el 60% de la producción de maíz se deriva de productores de pequeña escala, si tomamos en cuenta el porcentaje de medianos productores considerando a aquellos que producen hasta 10 toneladas por hectárea contemplan el 75% de la producción nacional de maíz (SADER,2020). De acuerdo con los datos de

la Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database del 2000-2019 se consideraron a EUA, Brasil y Argentina como los principales exportadores a nivel mundial de maíz (FAOSTAT. 2021).

2.6.1 Diversidad y producción del maíz en México

México es considerado como el centro de origen, domesticación y diversificación del maíz (*Zea mays*) de acuerdo con la clasificación basada en las características morfológicas e isoenzimáticas existen alrededor de 68 razas de maíz consideradas nativas (Barrer et al., 2013). La gran diversidad de los maíces en México se debe a la diversidad geográfica y cultura que se tiene en el país (CIMMYT, 2016).

La relación que existe entre los mexicanos y el maíz es milenaria dado que es estrechamente asociado a la evolución de la civilización mesoamericana, en el cual interviene desde la domesticación el cual ha servido como alimentación para la población, el maíz es tan diverso que va desde granos y forrajes, que se utilizan para diferentes alimentos. Existe una estimación sobre la asociación existente entre los productos que van de más de 4 mil productos asociados al maíz entre ellos encontramos el almidón, fructuosa, aceites, chocolates, biocombustibles, alimento animal entre otros (Selene y García, 2016).

La demanda de maíz en México se ha duplicado en los últimos 25 años. La organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO) expone que en 1990 la demanda de maíz en México era de 15.9 millones de toneladas, mientras que en el 2015 aumento 92% el cual alcanzo un total de 30.5 millones de toneladas. En cuanto a producción el maíz se duplico en los últimos 35 años dado que en 1980 en México se producía 12.4 millones de toneladas mientras que para el 2015 la producción de maíz blanco y amarillo a nivel nacional alcanzo 24.7 millones de toneladas. Existe una gran demanda de maíz para consumo pecuario dado que este factor es influenciado por el incremento global de proteína animal en ese sentido la FAO expone que para el 2030 México consumirá un 88% más de carne de res, un 72% más de productos lácteos y un 170% más de carne de pollo en este sentido el aumento del consumo de maíz para fines pecuarios toma importancia (CIMMYT, 2019).

2.7 Suelo

El suelo es considerado como un recurso fundamental para la producción de los alimentos, aunque se estima que a nivel nacional el 87% de los suelos agrícolas presentan cierta degradación del suelo debido a las diferentes prácticas que se aplican a los cultivos y que al paso del tiempo provocan erosión, pérdida de los nutrientes, aumento de la salinidad y la compactación por el exceso de maquinaria agrícola (SEMARNAT, 2016). Burbano, (2016) Menciona que el suelo es un recurso natural finito y el cual es no renovable que presenta diversos servicios ecosistémicos o ambientales, en ellos se presentan ciclos como el biogeoquímicos de elementos clave para los ciclos del carbono, nitrógeno, fósforo entre otros.

El manejo sostenible para los suelos agrícolas del mundo y la producción sostenible es una alternativa imprescindible para evitar la degradación de los suelos y que se garantice la seguridad alimentaria futura y actual del mundo. La vegetación y el suelo tiene relaciones muy estrechas al igual que el contenido de nutrientes de las plantas se relacionan con el contenido de nutrientes del suelo y la capacidad que tienen para intercambiar esos nutrientes y el agua a las raíces de las plantas. La degradación está estrechamente relacionada con el uso discriminante de los fertilizantes y plaguicidas, el empleo de maquinaria pesada y la eliminación de las cosechas de la superficie del suelo (Vega *et al.*, 2015). El suelo es uno de los lugares que albergan infinidad de biodiversidad dado que existe un enorme número de organismos que viven en la superficie y el interior del suelo, su abundancia es tan grande que se considera que supera la establecida por encima de este cuerpo natural (Burbano, 2016).

2.8 Rizosfera

La rizosfera comprende la zona del suelo en donde se desarrolla las raíces de las plantas, en la cual existe la presencia de diversas comunidades de microorganismos y sus actividades están vinculadas a diferentes procesos relacionados a la nutrición mineral, intercambio de cationes y la producción de exudados, entre otros procesos que son importante para la planta y el suelo (Jaramillo, 2011). Calvo *et al.*, 2008 define a la rizosfera como el volumen de suelo que es influenciado por la presencia de raíces

de las plantas vivas y la extensión dependerá del tipo de planta, edad, especie y tipo de suelo, se tienen en cuenta que las bacterias y las raíces de las plantas tienen una relación entre sí la cual puede llegar a ser benéfica para las plantas dado que existen bacterias que pueden ser promotoras de crecimiento vegetal o ayudar con los ataques de patógenos del suelo.

La calidad del suelo está relacionada con la capacidad de funcionar en un determinado ecosistema natural o modificado (agroecosistema), esto implica el poder sostener la productividad vegetal y animal, en ello también influye los procesos microbianos que ocurren en el suelo, las interacciones entre las plantas y los microorganismos los cuales promueven en el desarrollo de un ambiente dinámico (rizosfera) gracias a los exudados que se producen como el material orgánico que es depositado al suelo provee el desarrollo de las poblaciones microbianas que existe alrededor de las raíces, los principales microorganismos que prevalecen en la rizosfera no son patógenos esto quiere decir que afectan positivamente el crecimiento y desarrollo de las plantas (Díaz & Blanco, 2022). (Ampliar este apartado, es importante).

2.9 Comunidades microbianas en suelos agrícolas

Las poblaciones microbianas desempeñan un papel importante en la liberación de los nutrientes, al igual que el establecimiento de las especies vegetales en las áreas (Beltrán *et al.*, 2017). La interacción que existe entre los microorganismos y la agricultura es abundante y se tiene en cuenta su importancia, la existencia de microorganismos que son patógenos para las plantas y microorganismos que tienen la capacidad de controlar a esos patógenos, por ello la importancia de transformar productos agrícolas primarios en productos de mayor valor agregado sobre todo cobra importancia en todos los alimentos (Soria, 2016).

Los microorganismos que se encuentran presentes en el suelo son factores que toman importancia en la mayoría de los ciclos de nutrientes, se ha encontrado que interviene en el ciclo del carbono, nitrógeno, azufre y fósforo (Orozco Corral *et al.*, 2016). En el ciclo de carbono los microorganismos son los responsables de la descomposición de

los residuos orgánicos contaminantes que se encuentran presentes en el suelo, estos son usualmente utilizados en la realización de biofertilizantes como enmiendas orgánicas para su activación o repoblación (Ros *et al.*, 2010).

2.10 Metagenómica

Hernández De Lira *et al.*, (2014) menciona que la metagenómica tiene como objetivo el estudiar todo el DNA genómico que se presenta en un nicho ambiental, la efectividad de la metagenómica radica en la posibilidad de aislar todo el DNA y en base a eso identificar los genomas, genes y proteínas que son más relevantes en las muestras a analizar. Handelsman, (2004); Riesenfeld *et al.*, (2004) citado por Hernández-León *et al.*, (2010) describe a la metagenómica como la ciencia que surge de la rama de las ciencias genómicas la cual se centra en el estudio del metagenoma de un nicho en particular, al mismo tiempo menciona que el metagenoma es considerado como el total del DNA de una cierta muestra ambiental.

QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) es un software el cual tienen la capacidad de realizar análisis de las comunidades microbianas, el cual ha sido ocupado para diversos estudios los cuales interpretan y analizan datos de secuencias de ácidos nucleicos de comunidades de hongos, virus, bacterias y arquea (Kuczynski *et al.*, 2011).

2.12 Gen 16S

El surgimiento de nuevas tecnologías en el rubro de la secuenciación y capacidades del análisis de comunidades microbiana de carácter ambiental permite adentrarse a la complejidad de los sistemas (Valenzuela-González *et al.*, 2015). La secuenciación del gen ARN ribosómico 16S es considerado como un método más rápido y con un gran nivel de precisión. El ARNr 16S está formado por 19 proteínas de la cuales está formada por subunidades de 30S del ribosoma Bacteriano la cual está presente en todas las bacterias dado que juega un papel importante en el ensamblaje del ribosoma. La realización de extracción se realiza mediante la reacción de cadena de polimerasa que coloquialmente se denomina PCR (Ostale *et al.*, 2022). Rodicio & Mendoza, 2004 mencionan que el gen 16S es una macromolécula considerada como la más utilizada

para estudios de filogenia y taxonomía bacteriana, su utilización está basada en bacterias que para su identificación se dificulta mediante otras técnicas.

2.13 Secuenciación masiva de la siguiente generación

El termino de secuenciación es muy amplio y comprende desde el análisis de diferentes entidades moleculares a finde conocer su secuencia precisa de nucleótidos mediante diferentes técnicas, mediante este proceso es posible realizar el análisis de un genoma complejo (Mordoh, 2019). La secuenciación de nueva generación o Next generation sequencing (NGS) es un grupo de tecnologías que están diseñadas para poder secuenciar una gran cantidad de segmentos del ADN de forma masiva y en paralelo, con la optimización del tiempo y menores costos por base. Su utilización surge como una variante para detectar nucleótidos únicos, pero actualmente existen diferentes tipos de variantes que se han desarrollado como por ejemplo inserciones, deleciones y grandes rearrreglos (Rubio *et al.*, 2020).

Rodríguez-Santiago & Armengol, (2012) menciona que esta tecnología de secuenciación masiva ha permitido obtener millones de secuencias de ADN con una velocidad sin precedentes y con costos menores, de misma forma ha permitido la identificación de nuevos genes. La secuenciación masiva promete expandir las aproximaciones moleculares en aspectos de estudios ecológicos y evolutivos con un objetivo relacionado a la conservación y manejo de la biodiversidad biológica ante la problemática del cambio climático (Escalante *et al.*, 2014).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación y condiciones ambientales del área de estudio

Se recolectaron muestras de microbioma del suelo del rancho El Retiro perteneciente a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicado en el municipio de Francisco I. Madero en Coahuila (25°49'53.45" N y 103°7'4.03" O). En la región se presenta una precipitación pluvial promedio anual de 258 mm y temperatura media anual de 21 ° C contemplando máximas de 33.7 ° C y mínima de 7.5 ° C (Montemayor-Trejo *et al.*, 2012).

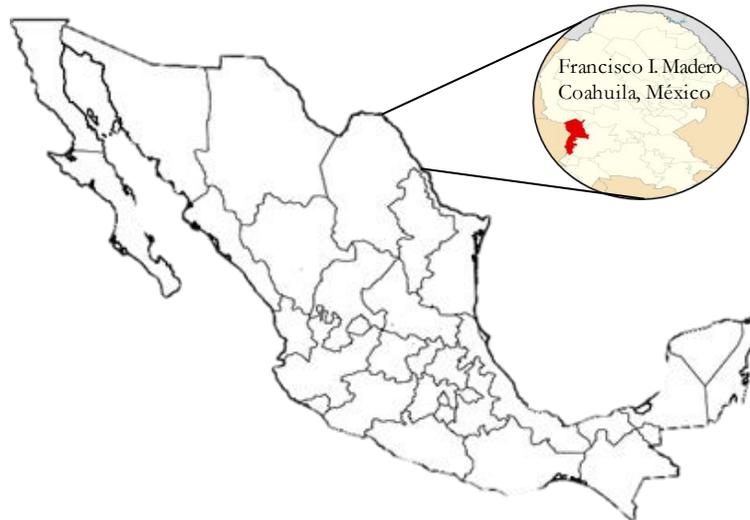


Figura 1. Localización del área del experimento (Municipio de Francisco I. Madero Coahuila, México).

3.2 Diseño experimental.

Se establecieron tres razas de maíz criollo, las semillas ocupadas se proporcionaron por el banco de germoplasma perteneciente al departamento de agroecología de la UAAAN, las cuales fueron identificadas como C1: raza forrajera; C2: raza doble propósito (grano y forraje); y C3: raza para grano, cada de las razas se utilizaron tres repeticiones etiquetadas como C11, C12, C13; C21, C22, C23; C31, C32 y C33, respectivamente.

El diseño experimental ocupado en el experimento fue completamente al azar con tres tratamientos que correspondieron a las razas criollas de maíz (Criollo 1, 2 y 3), para la obtención de los datos de rendimiento se cosecharon todos los surcos de las diferentes razas de maíz criollo, mismo procedimiento se realizó con los datos biomasa.

3.3. Rendimiento en granos y biomasa (Mg ha⁻¹)

El rendimiento se determinó en base a una selección de 10 mejores mazorcas de cada tratamiento, tomando en cuenta el peso y tamaño. Cada mazorca fue pesada con ayuda de una báscula digital marca Santul®, apoyados de una bitácora se registraron los datos a evaluar; número de hileras número de granos por hileras, peso del olote, peso del grano y peso de la mazorca de cada raza de maíz criollo, se etiquetaron como C1: repetición 1, repetición 2 y repetición 3, lo mismo se realizó para C2 y C3.

Con los datos obtenidos, se calculó la desviación estándar para todas las variables evaluadas, se realizó la comparación de medias utilizando la prueba de Tukey, al igual que la determinación del rendimiento contemplando la densidad de plantación (67,000 plantas ha⁻¹).

La estimación de rendimiento en grano, se tomó una densidad de 69,000 plantas x ha y se multiplicó por el rendimiento promedio de grano de mazorca. Para el caso de la variable de peso seco, se contempló el peso de tres plantas por tratamiento (C1, C2, C3), los datos recaudados se procedieron a determinar el rendimiento por hectárea tomando en cuenta la densidad de plantación y se realizó las comparación de media de Tukey correspondiente ($\alpha=0.05$).

3.4. Muestreo de microbioma del suelo

La siembra del cultivo de maíz criollo para las tres poblaciones se realizó el 13 de junio del 2021, a los 51 días después de la siembra se realizó el muestreo de rizosfera en el cual estaba establecido un cultivo de 3 poblaciones de maíz criollo (*Zea Mays* L.) las cuales fueron colocados en tubos Zymo Research™ el cual contenía 750 μ l de buffer lisante/estabilizador Xpedition™. Cada tubo se situó en un disruptor celular TerraLyzer™ durante 45 segundos para su conservación a temperatura ambiente.

3.5. Extracción de DNA del microbioma del suelo

El DNA de la muestra se extrajo con la utilización de un kit DNA MiniPrep de Zymo Research™, una vez extraído se procedió a la medición del DNA mediante un fluorómetro marca NanoQ. Para efectuar la amplificación de las regiones V3-V4 del gen 16S rARN se hizo uso de los primers propuestos por Klindworth *et al.*, (2013): S-D-Bact-0341-b785-a-A-21, 5′CCTACGGGNGGCWGCAG-3′ y S-D-Bact-0785-a-A-21, 5′-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3′, el cual genera un amplicón de ~460 pb. Las secuencias fueron enviadas a sintetizar con los adaptadores “overhang” del protocolo de Illumina (2017a) teniendo como resultado lo siguiente: 5′TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3′ y 5′GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3′ (amplicón de ~550 pb). Se empleo el protocolo de PCR Illumina (2017a) suministrando 12.5 µl de MyTaq™ Ready Mix 1X (Bioline®), 1 µl de cada primer (10 uM), 5 µl de DNA (50 ng totales) y 5.5 µl de H₂O grado molecular; Se manejo el siguiente ciclo: 95 °C por 3 minutos; 25 ciclos de 95 °C por 30 segundos, 55 °C por 30 segundos, 72 °C por 30 segundos; 72 °C por 5 minutos en un termociclador Labnet Multigene™ Gradient PCR. Se situó 1 µl de los productos de PCR en un chip de Bioanalyzer DNA 1000 para la verificación del tamaño del amplicón (~550 pb). Se efectuó la purificación de los amplicones con perlas Agencourp® AMPure® XP al 0.8%. Posteriormente, los amplicones se etiquetaron utilizando el Nextera XT Index Kit™ para la creación de las bibliotecas, con ayuda del protocolo de Illumina (2017b), aplicando 25 µl de MyTaq™ Ready Mix 1X (Bioline®), 5 µl de cada primer (N7xx y S5xx), 5 µl de DNA y 10 µl de H₂O grado molecular; se empleó el siguiente ciclo: 95 °C por 3 minutos; 10 ciclos de 95 °C por 30 segundos; 55 °C por 30 segundos, 72 °C por 30 segundos; 72 °C por 5 minutos. Se efectuó la purificación de las bibliotecas con perlas Agencourt® AMPure® XP al 1.2%.

Se aplico 1 µl de la biblioteca final de algunos productos de PCR seleccionados al azar en un chip de Bioanalyzer DNA 1000 para comprobar el tamaño del amplicón a la expectativa de tener un tamaño de ~630 pb. Para concluir, se llevó a cabo la cuantificación, normalización (equimolaridad), la agrupación de las bibliotecas y la

secuenciación masiva de siguientes generaciones (MiSeq Illumina® de 2 × 250 lecturas de final pareado) empleando el protocolo para metagenómica 16S (Illumina, 2017a).

3.6. Análisis bioinformático

El análisis de las secuencias se efectuó con ayuda de la máquina virtual Oracle VM VirtualBox 6.1.34 en la plataforma MGLinux por medio de software bioinformático Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME) v.1.46 (Caporaso *et al.*, 2010). El proceso comenzó con el ensamblaje de las secuencias forward y reverse de las muestras utilizando el programa PEAR (Zhang *et al.*, 2014) con un traslape de 50 pb, una mínima longitud por lectura de 430 pb y máxima de 470 pb, con un criterio de calidad Q30 (una base errónea por cada 1,000 bases) y un valor de $p < 0.0001$, mismos procedimientos fueron efectuados por García *et al.*, (2019). Posteriormente, se transformaron los archivos a formato FASTA y se realizó la eliminación de secuencias quiméricas de las muestras con USEARCH (Edgar, 2010).

Para la selección de OTUs se efectuó el método UCLUST (Edgar, 2010) al 97% de similitud; se consiguió una secuencia representativa para cada OTU y se realizó la asignación taxonómica tomando en cuenta la base de datos EzBioCloud (Yoon *et al.*, 2017). Se elaboro la tabla de OTUs en formato biom (Biological observation matrix; McDonald *et al.*, 2012), se realizó la separación de los dominios y se filtró los singletons (OTUs que solo tuvieron una observación) de acuerdo con Navas-Molina *et al.*, (2013). Con los datos obtenidos se elaboró las tablas de abundancia absoluta de OTUs y se procedió a graficar el número de secuencias por número de taxones, categoría género, para poder visualizar si se alcanzó una buena profundidad de cobertura (curvas de tendencia asíntota); para la elaboración de las gráficas se hizo uso del programa PAST ver. 4.10 (Hammer *et al.*, 2001).

Al apreciar el número de secuencias obtenidas de manera simultánea por todas las muestras fue 13,000, se procedió a hacer la rarefacción aleatoria simple (Weiss *et al.*, 2017) partiendo de este valor para generar el número de secuencias. Con el archivo

generado se procedió al cálculo de la diversidad beta mediante el índice de Bray-Curtis (Beals, 1984); la matriz de diversidad beta se empleó para llevar a cabo la prueba Permanova ($p < 0.05$) para la comprobación de la diferencia significativa de las 3 razas de maíz criollo. Para el caso de la diversidad alfa se realizó mediante los índices de Shannon y Simpson; para la comprobación de la diferencia significativa de las 3 razas de maíz criollo se empleó pruebas no paramétricas de t student con 999 permutaciones Monte Carlo para calcular el valor de significancia.

La abundancia relativa para Phylum, clase, orden y familia obtenidas fueron graficadas en Excel. Los géneros fueron representados en un mapa de calor, solo aquellos que su abundancia relativa fue superior al 0.01%; para la elaboración de dendrograma de las muestras se utilizó el método de conglomerados jerárquicos con medida euclidiana; se realizó con el software Morpheus (<https://software.broadinstitute.org/GENE-E/>). Se enumeraron las taxas para la visualizar los grupos de muestras utilizando Análisis de Coordenadas principales (PCoA) y se utilizó el software Emperor (Vazquez-Baeza *et al.*, 2013). Para concluir, se realizó el análisis LEfSe (tamaño de efecto del análisis discriminante lineal) para la determinación estadística y biológicamente los biomarcadores clave que más contribuyeron a las diferencias entre grupos. Este análisis se realizó en el sitio web (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/lefse/>).

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1. Rendimiento del Cultivo

4.1.1. Rendimiento en granos y biomasa (Mg ha⁻¹)

Los rendimientos en peso de grano y peso seco de cada raza de maíz criollo junto con una estimación aproximada en toneladas por hectárea (Mg ha⁻¹) se muestran en el Cuadro 1 en donde se especifican las desviación estándar del rendimiento en grano y biomasa.

CUADRO 1. Rendimiento de peso de mazorca (PM, g), peso seco (PS, g) y estimación aproximada de las toneladas de peso seco por hectárea (Mg ha⁻¹). C1=Criollo 1, C2=Criollo 2, C3=Criollo 3

Razas	*PM (g mazorca ⁻¹)	PS (g planta ⁻¹)	Rendimiento PS (Mg ha ⁻¹)	Rendimiento grano (Mg ha ⁻¹)
C1	116.2 ± 24.02 ^b	84.23 ± 12.38 ^b	7.41 ± 12.38 ^b	7.78 ± 24.02 ^b
C2	232.3 ± 39.60 ^a	120.6 ± 10.44 ^a	10.61 ± 10.44 ^a	15.56 ± 39.6 ^a
C3	126.8 ± 31.73 ^b	83.57 ± 4.65 ^b	7.35 ± 4.56 ^b	8.49 ± 31.73 ^b

PM*: peso promedio de 10 mazorcas. Datos con letras distintas presentan diferencias significativas (Tukey ≤0.05).

4.2. Análisis de la microbiota bacteriano

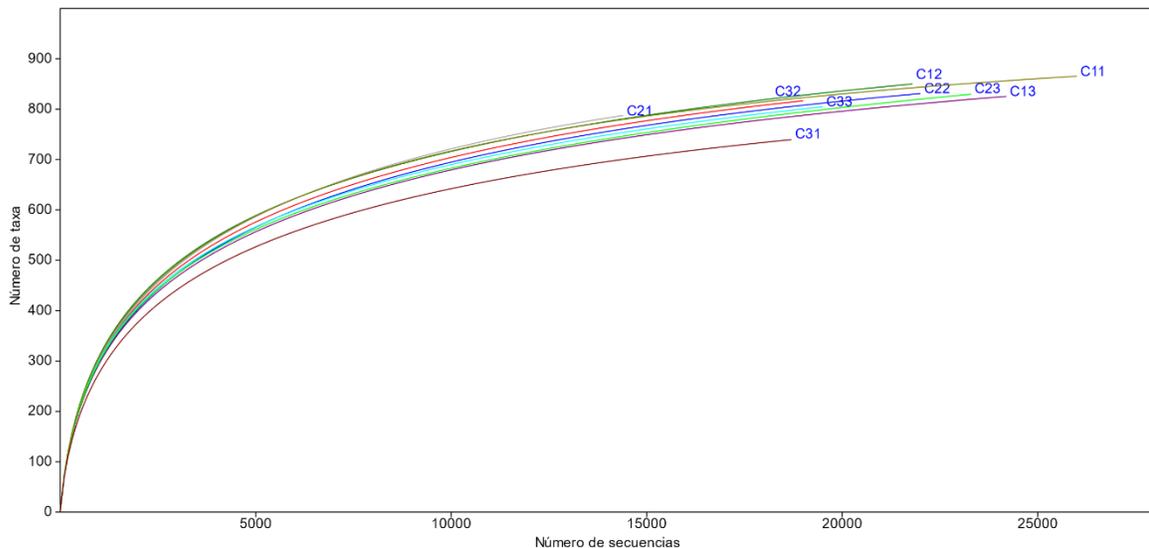
El número total de secuencias obtenidas antes del ensamblaje presenta una media de 35,607, en el caso de las secuencias ensambladas, la media fue de 33,142 y las secuencias descartadas tuvo una media de 2,465; las quimeras eliminadas fueron de un promedio de 3.608, resultando una media de secuencias de calidad de 29,523. Luego de la asignación taxonómica, se obtuvo una media de secuencia bacterianas de 27,645 que posteriormente se eliminaron los singletons obteniendo 21,134 (Cuadro 2).

Se presentó una apropiada profundidad de cobertura referente al número de OTUs bacterianos de las muestras, dado que todas las curvas presentes lograron la asíntota alrededor de las 13,000 secuencias (Figura 1).

CUADRO 2. Numero de secuencias obtenidas para cada raza criolla de maíz.

Muestra	Totales	Ensambladas	Descartadas	QE	SC	SB	SBSS
C11	42,542	39,505	3,037	36,336	33,952	33,952	26,136
C12	36,579	34,209	2,370	30,148	28,250	28,250	21,937
C13	41,190	38,072	3,118	34,007	31,691	31,691	24,301
Media	40,104	37,262	2,842	33,497	31,298	31,298	24,125
C21	27,361	25,342	2,019	22,599	20,982	20,982	14,529
C22	37,218	34,527	2,691	30,532	28,761	28,761	22,146
C23	37,860	35,374	2,486	31,634	29,772	29,772	23,475
Media	34,146	31,748	2,399	28,255	26,505	26,505	20,050
C31	32,456	30,373	2,083	26,753	25,042	25,042	18,891
C32	32,765	30,564	2,201	26,730	25,056	25,056	19,150
C33	32,489	30,310	2,179	26,964	25,296	25,296	19,639
Media	32,570	30,416	2,154	26,816	25,131	25,131	19,227

C11 = Criollo 1, repetición1, C12 = Criollo 1, repetición 2, C13 = Criollo 1, repetición 3, y así en el orden dado para C2 y C3. ST = Secuencias totales, SE = Secuencias ensambladas, SD = secuencias descartadas, QE = Quimeras eliminadas, SC = Secuencias de calidad después de la eliminación de quimeras, SBSS = Secuencias bacterianas después de la eliminación de los singletons. OTUs = Unidades Taxonómicas Operativas sin singletons.

**Figura 2.** Curvas de rarefacción para las secuencias bacterianas rizosféricas de tres razas criollas de maíz con tres repeticiones.

Se presentaron 31 Phylum, entre ellos los más abundantes fueron Proteobacteria (\bar{x} = 33%), Actinobacteria (\bar{x} = 18%), Acidobacteria (\bar{x} = 13%), Gemmatimonadetes (\bar{x} = 11%), Chloroflexi (\bar{x} = 8%), Bacteroidetes (\bar{x} = 6%), Planctomycetes (\bar{x} = 5%)

(Figura 2). Se registraron 96 clases, de las cuales Alphaproteobacteria ($\bar{x} = 19\%$), Actinobacteria_c ($\bar{x} = 11\%$), Vicinamibacter_c ($\bar{x} = 7\%$), Gammaproteobacteria ($\bar{x} = 6\%$), Gemmatimonadetes_c ($\bar{x} = 6\%$), Longimicrobia ($\bar{x} = 5\%$), Deltaproteobacteria ($\bar{x} = 4\%$) fueron los más abundantes (Figura 3). Se determinaron 185 órdenes, de los cuales Sphingomonadales ($\bar{x} = 8\%$), Vicinamibacter_o ($\bar{x} = 7\%$), Gemmatimonadales ($\bar{x} = 6\%$), Rhizobiales ($\bar{x} = 5\%$), Rhodospirillales ($\bar{x} = 5\%$), Myxococcales ($\bar{x} = 5\%$), Gaiellales ($\bar{x} = 3\%$) mostraron porcentajes más altos (Figura 4). De 414 familias encontradas predominaron Sphingomonadaceae ($\bar{x} = 7\%$), Vicinamibacter_f ($\bar{x} = 7\%$), Gemmatimonadaceae ($\bar{x} = 3\%$), Gaiellaceae ($\bar{x} = 3\%$), GQ263235_f ($\bar{x} = 3\%$), Rhodospirillaceae ($\bar{x} = 3\%$), Tepidisphaeraceae ($\bar{x} = 3\%$) (Figura 5). Se presentaron 1164 géneros entre los cuales *Sphingomonas* ($\bar{x} = 6\%$), *Gaiella* ($\bar{x} = 3\%$), PAC001846_g ($\bar{x} = 3\%$), PAC001874_g ($\bar{x} = 3\%$), *Tepidisphaera* ($\bar{x} = 2\%$), PAC000624_g ($\bar{x} = 2\%$), *Steroidobacter* ($\bar{x} = 2\%$) fueron los más abundantes (Figura 6). Respecto a las especies se encontraron 1284 de las cuales no todas están identificadas.

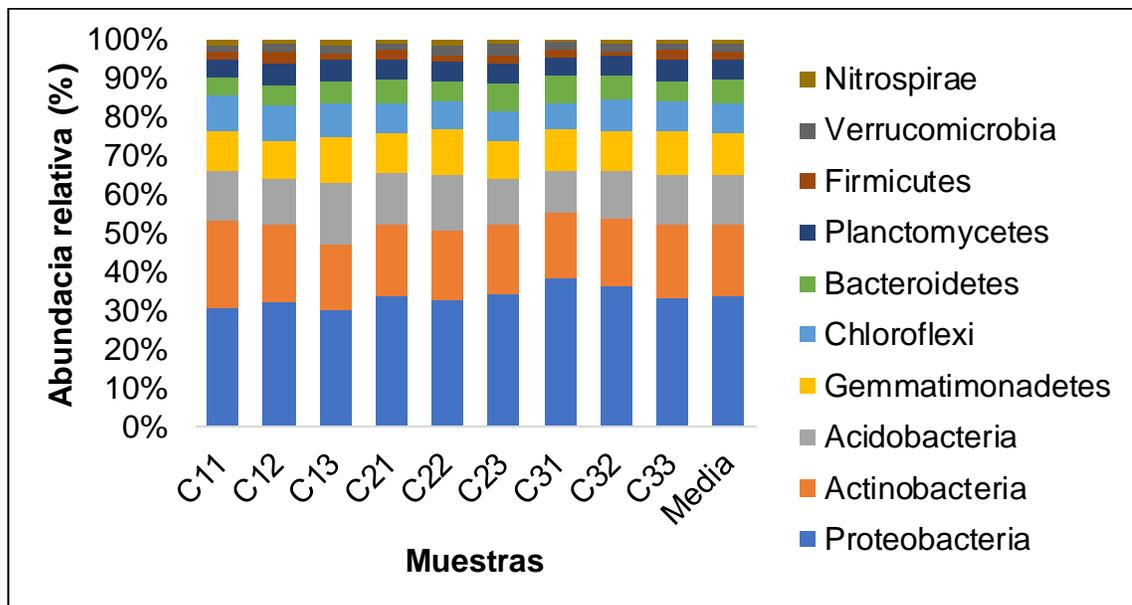


Figura 3. Abundancia relativa (%) individual y promedio de los principales Phylum de las tres razas criollas de maíz con tres repeticiones. C11 = Criollo 1, repetición 1, C12 = Criollo 1, repetición 2, C13 = Criollo 1, repetición 3, y así en el orden dado para C2 y

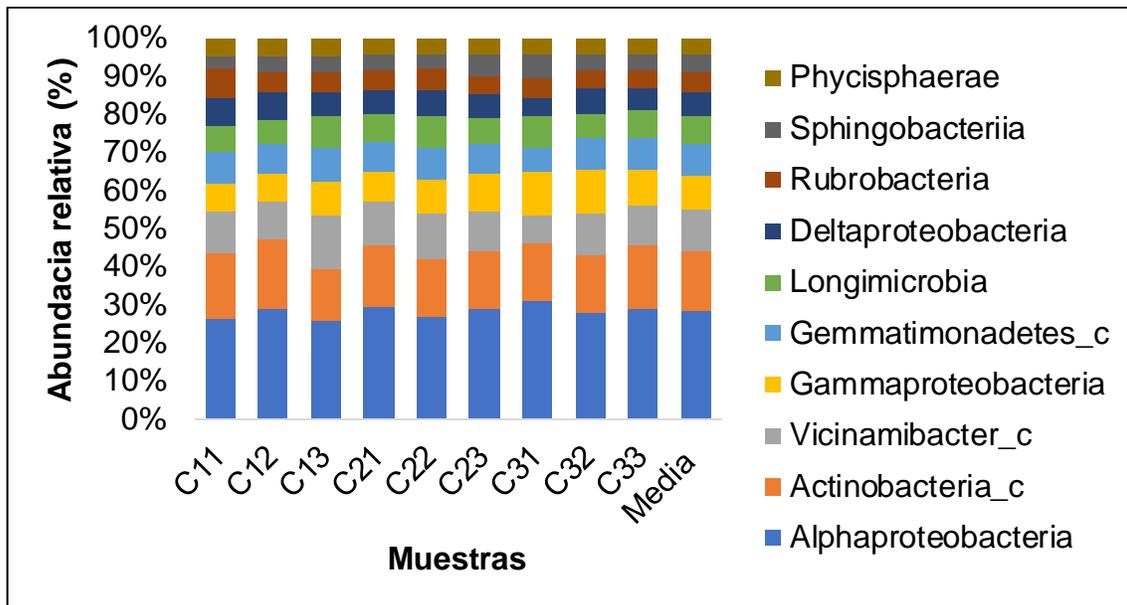


Figura 4. Abundancia relativa (%) individual y promedio de las principales clases de las tres razas criollas de maíz con tres repeticiones.

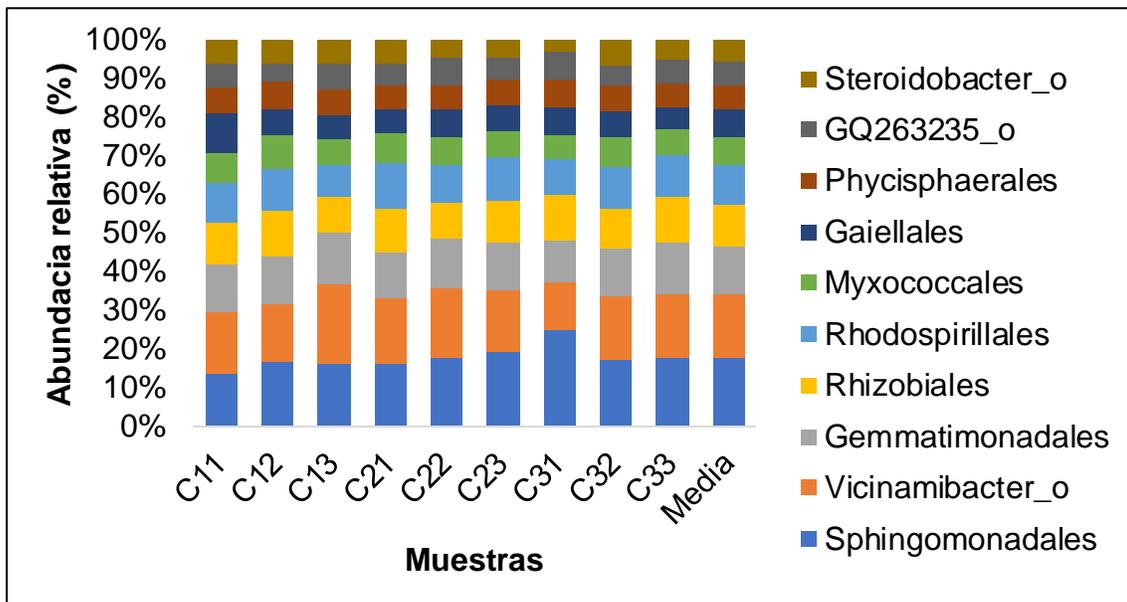


Figura 5. Abundancia relativa (%) individual y promedio de las principales órdenes de las tres razas criollas de maíz con tres repeticiones.

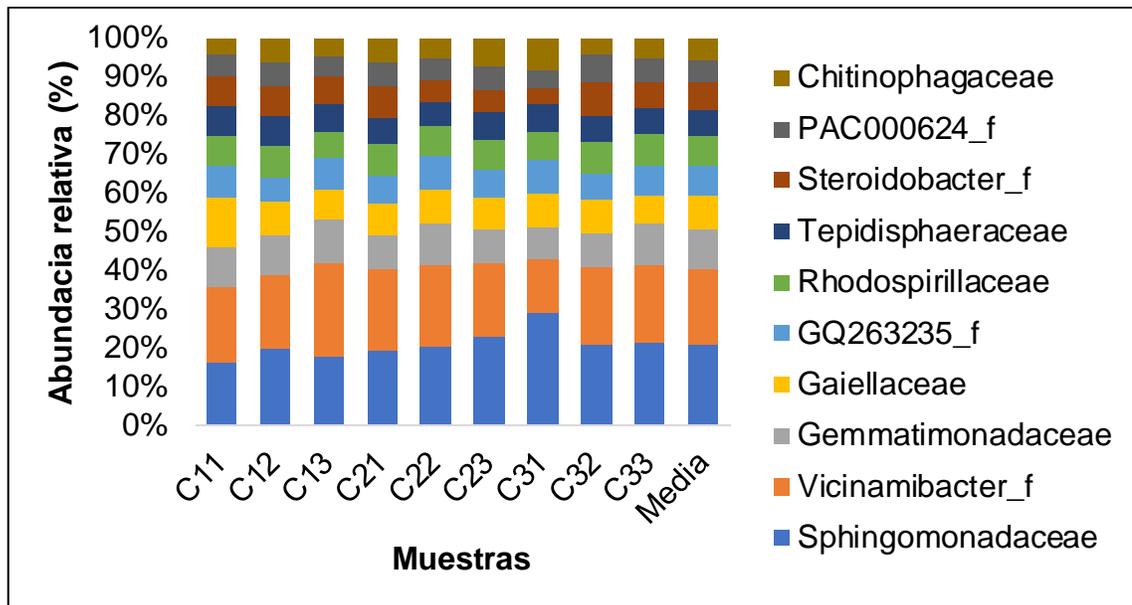


Figura 6. Abundancia relativa (%) individual y promedio de las principales familias de las tres razas criollas de maíz con tres repeticiones.

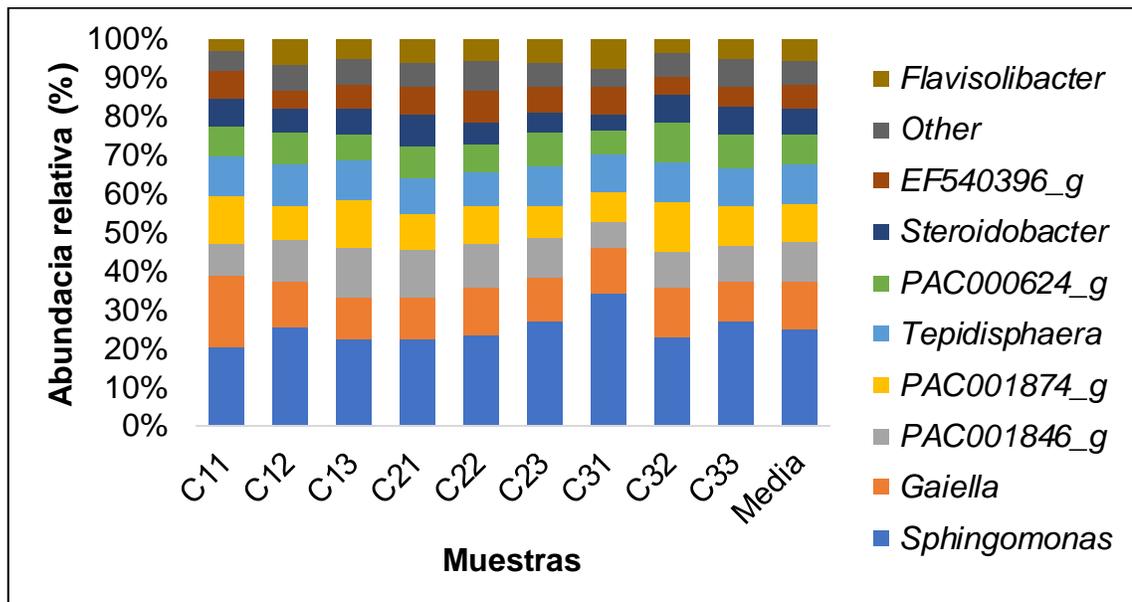


Figura 7. Abundancia relativa (%) individual y promedio de los principales géneros de las tres razas criollas de maíz con tres repeticiones.

Se representaron los géneros mediante un mapa de calor cuya abundancia relativa fue mayor al 0.01% (figura 7). Se cuantificaron 1284 especies de las cuales 14 están identificadas en la base taxonómica, aunque no fueron las más abundante (Cuadro 4).

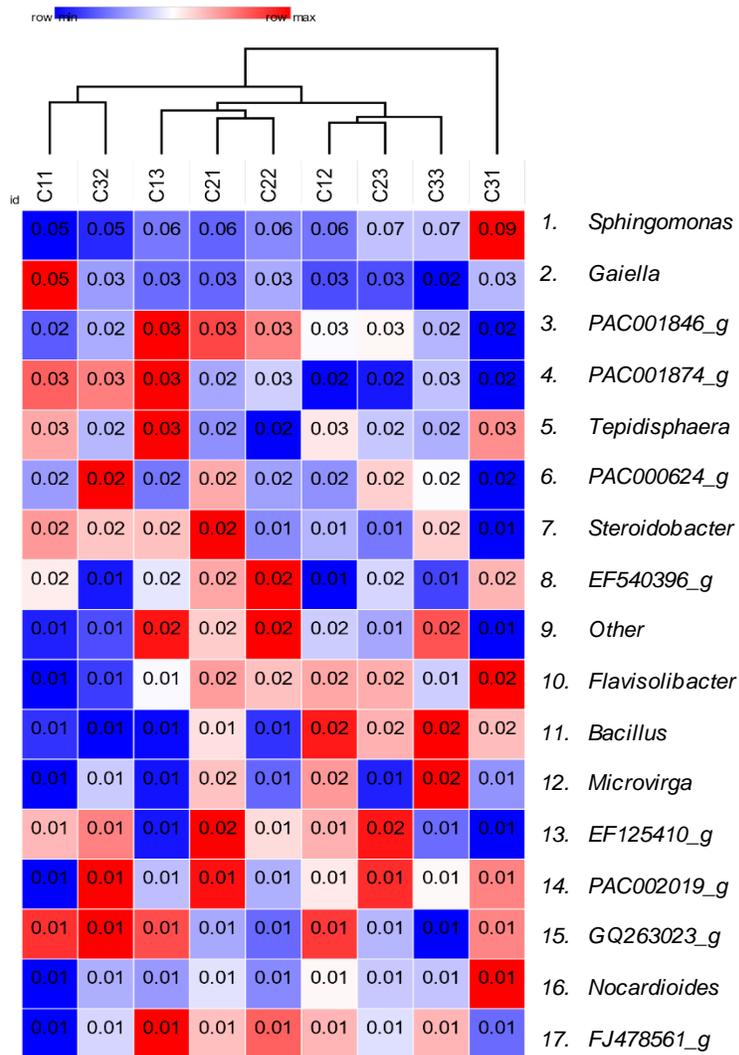


Figura 8. Mapa de calor de los 17 géneros bacterianos más abundantes en rizósfera de tres variedades de maíz criollo

CUADRO 3. Especies identificadas en la base taxonómica para las 3 razas criollas de maíz.

Especies
<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Kibdelosporangium aridum</i>
<i>Kallotenue papyrolyticum</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>Roseomonas gilardii</i>
<i>Amycolatopsis keratiniphila</i>
<i>Streptomyces thermoviolaceus</i>
<i>Nonomuraea roseoviolacea</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Goodfellowiella coeruleoviolacea</i>
<i>Neochlamydia hartmannellae</i>
<i>Parachlamydia acanthamoebae</i>
<i>Allorhizobium borbori</i>

Mediante el análisis de similitud porcentual (SIMPER) realizado para la determinación de la contribución de los taxa en relación a la abundancia relativa y las diferencias observadas mediante el índice de Bray-Curtis (Cuadro 3) en donde solo se muestran rizobacterias que obtuvieron un promedio de disimilitud >0.10 y que obtuvieron un valor $p \leq 0.05$.

CUADRO 4. Análisis de similitud porcentual (SIMPER) y prueba de Kruskal-Wallis
Disimilitud Prom. = disimilitud promedio, Contrib. % = porcentaje de contribución, Acumulado %= porcentaje acumulado, Mean = media poblacional H = valor Kruskal-Wallis, g.l. = grados de libertad, p = valor de significancia, * Bacteria Promotora del Crecimiento Vegetal.

Taxa	Disimilitud Prom.	Contrib. %	Acumulado %	Media C1	Media C2	Media C3	H	p
Phylum Proteobacteria	1.668	26.11	26.11	0.303	0.329	0.351	5.956	0.050
Clases Phycisphaerae	0.1322	1.485	80.34	0.0313	0.0274	0.0289	6.489	0.038

Orden	Sphingomonadales	0.696	5.676	5.676	0.068	0.0778	0.088	5.956	0.050
	Micrococcales	0.3624	2.955	21.82	0.0119	0.0172	0.0227	7.2	0.026*
	Phycisphaerales	0.1293	1.055	69.43	0.0311	0.0273	0.0289	6.489	0.038
Familia	Moraxellaceae	0.3838	2.518	11.39	0.00017	0.00256	0.0117	7.2	0.027
	Micrococcaceae	0.2778	1.823	21.77	0.00669	0.0109	0.015	7.2	0.027*
	Chitinophagaceae	0.2647	1.737	23.5	0.0177	0.0219	0.0205	10.11	0.001
	Sphingobacteriaceae	0.1943	1.275	35.65	0.00151	0.00413	0.00731	6.489	0.038
	Enterobacteriaceae	0.1194	0.7834	58.21	0.00028	0.00241	0.00385	6.489	0.037
Género	<i>Acinetobacter</i>	0.3846	1.899	4.761	0.00015	0.00254	0.0117	7.2	0.027*
	<i>Chryseobacterium</i>	0.1937	0.9566	21.07	0.00064	0.00156	0.00628	5.956	0.050
	<i>Sphingobacterium</i>	0.1345	0.664	28.68	0.00020	0.001	0.00423	6.489	0.037*

Se realizó la visualización de las muestras para las tres razas criollas de maíz con las tres repeticiones mediante el análisis de coordenadas principales (PCoA) en la cual se apreció la separación de las razas criollas (Figura 8).

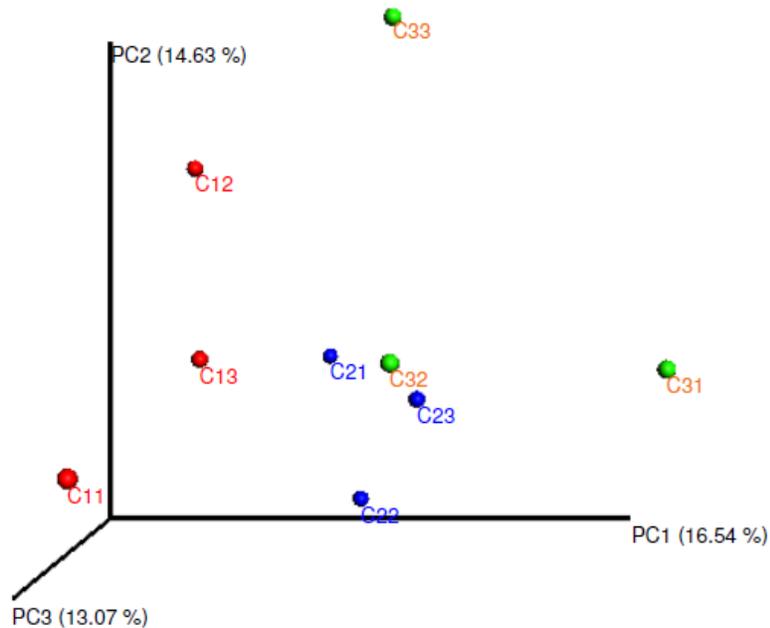


Figura 9. Visualización de las tres razas criollas de maíz utilizando PCoA.

Se realizó la gráfica de barras para su análisis de las razas criollas de maíz (Figura 9), de igual forma mediante el análisis LEfSe se realizó el cladograma para hacer las comparaciones de los géneros (Figura 10).

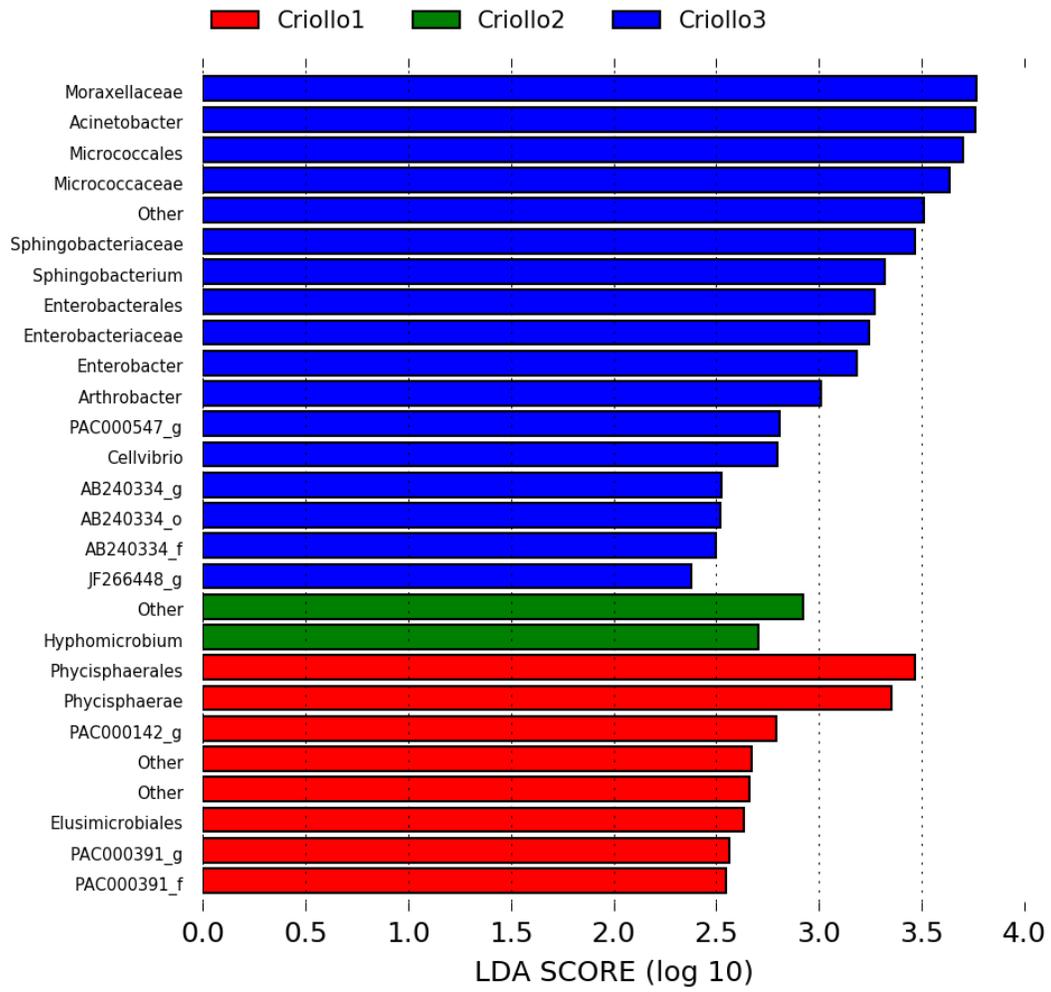


Figura 10. Gráfico de barras resultado del LEfSe.

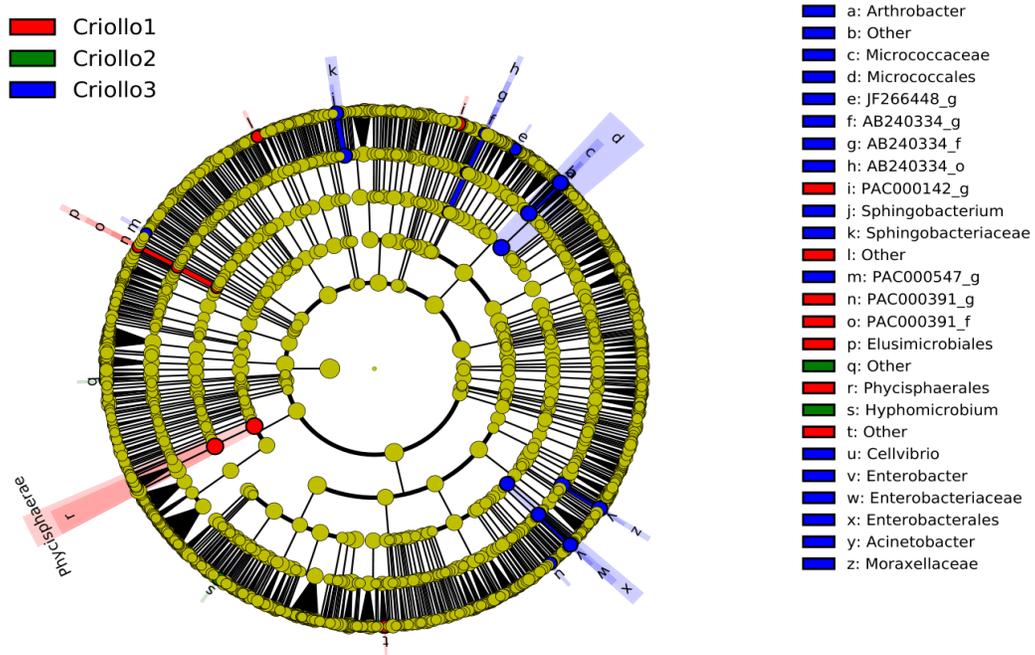


Figura 11. Cladograma representativo de los resultados del LEfSe.

DISCUSIÓN

De acuerdo a los rendimientos obtenidos y presentados en el Cuadro 1, las comparaciones múltiples de medias en relación a los datos obtenidos del peso de grano, arrojó como resultado diferencia importante entre la media C2, destinado para grano, en comparación con el resto de las razas. Conforme a los resultados de producción en peso seco por hectárea estimada, el C2 también obtuvo el mejor rendimiento en toneladas en comparación con el resto de razas de maíz, obteniendo 10.61 Mg ha^{-1} , de igual forma fue el que mayor rendimiento de grano obtuvo con 15.56 Mg ha^{-1} , por otro lado, el criollo 1 y 3 no resultaron significativas entre ambas. Los rendimientos estimados de grano y forraje están estrechamente relacionados con las bacterias promotoras de crecimiento vegetal encontradas en la rizosfera del suelo, dado que se ha demostrado que la presencia de estas bacterias estimulan el crecimiento de las gramíneas dado que sus múltiples mecanismos que contemplan como la fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes y la producción de sustancias promotoras de crecimiento, las bacterias pertenecientes a este grupo (BPCV) también tiene beneficios de supervivencia en condiciones de estrés y sequía, que son características de las zonas áridas que coincide con la ubicación donde se realizó el experimento (Loredo-Osti *et al.*, 2004).

Por los resultados obtenidos del análisis metagenómicos, demuestran una gran cantidad de OTUs bacterianos de las tres razas criollas de maíz estudiadas, de las cuales se determinaron 31 Phylum, 96 clases, 185 órdenes, 414 familias, 1164 géneros y 1284 especies; esto concuerda con Sánchez-Bautista *et al.*, 2018, donde menciona que la riqueza y la diversidad de las bacterias asociadas a las raíces de maíz es abundante.

El Phylum más abundante que se encontró fue Proteobacteria ($\bar{x} = 33\%$) seguido de Actinobacteria ($\bar{x} = 18\%$) y Acidobacteria ($\bar{x} = 13\%$), estos filos desempeñan un papel importante en la estabilidad de las poblaciones microbianas de la rizosfera (Wei *et al.*, 2017), también se ha demostrado en estudios realizados que son las más abundantes

en los suelos y que el grupo de proteobacterias interviene en el proceso de descomposición de la materia orgánica en los suelos (Janssen, 2006; Lladó *et al.*, 2016).

Tan *et al.*, 2020 encontraron que las clases Betaproteobacteria, Alphaproteobacteria y gammaproteobacteria fueron los más abundantes en suelos con sistemas de cultivo de maíz a largo plazo. Tendencia similar se presentó en el presente estudio donde ambas clases también fueron unas de las más abundantes en las muestras analizadas. Referente a los géneros bacterianos encontrados en las tres razas de maíz, *Sphingomonas* y *Gaiella* fueron los que predominaron.

El género *Sphingomonas* se caracteriza por su habilidad de degradar contaminantes ambientales y una gama amplia de compuestos xenobióticos como herbicidas y pesticidas, dado a esto, se puede considerar como una opción para la biorremediación de los suelos (He *et al.*, 2017). Se ha demostrado que este género mitiga las respuestas al estrés provocado por la sequía en ciertos cultivos de gramíneas (Khan *et al.*, 2012, Comas *et al.*, 2013). Algunas especies pertenecientes a este género comprende características que promueven el crecimiento y se han encontrado en la raíces del maíz (Mehnaz *et al.*, 2007). Por otro lado, el género *Gaiella* se ha demostrado que en la rizosfera cumple funciones de reducción de nitratos, contribuyendo a las plantas a asimilar los carbohidratos, aminoácidos y ácidos orgánicos (Severino *et al.*, 2019).

Tepidisphaera fue uno de los géneros que se encontró en el quinto lugar de abundancia relativa en relación a las tres razas criollas analizadas, comúnmente suelen estar presentes en aguas termales terrestres y en diversos suelos de forma natural e incluso se ha demostrado que se encuentran en diferentes sistemas productivos como son los agrícolas e industriales (Kovaleva *et al.*, 2019). Los géneros PAC000624_g, EF540396_g y "other", no se encuentran identificados, la diversidad de bacterias en el suelo se han venido estudiando durante más de un siglo, aunque la mayor parte de la diversidad de bacterias aún permanecen sin describir, esto se puede atribuir a que la mayoría de las bacterias del suelo no tienen relación con las que se encuentra en bases de datos de genes preexistentes de ARN ribosoma 16S (ARNr),

por lo cual la información de estas bacterias es limitada y la mayoría de estas no se han podido cultivar con éxito *in vitro* (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2018).

En relación con el Cuadro 2, en comparación de las abundancias relativas de las tres razas estudiadas, Sphingomonadales miembro de Proteobacteria y Chryseobacterium perteneciente al Phylum Flavobacteria, no demostraron diferencias significativas ($p = 0.050$). Las taxas que presentaron diferencias significativas fueron: Enterobacteriaceae perteneciente al grupo de Proteobacteria, esta familia se puede encontrar en los suelos, plantas y granos, gran cantidad de las especies pertenecientes a esta familia causan tizón, marchitez y podredumbre blanda en el maíz (Brenner *et al.*, 2005); el género *Acinetobacter* pertenece a la familia Moraxellaceae, este género suele estar presente en suelos de forma natural (Brenner *et al.*, 2005), de igual forma pertenece al grupo de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) que estimula el crecimiento vegetal mediante la producción de sideróforos, fitohormonas y solubilizando el fosfato tricálcico insoluble (Sachdev *et al.*, 2010).

La familia Micrococcaceae perteneciente al orden Micrococcales y al filo Actinobacteria, son características por contemplar características por ser parte de las BPCV proporcionando un efecto positivo sobre las plantas, por mencionar algunos, ayuda a la disponibilidad de minerales, sintetiza sustancias que regulan el crecimiento vegetal e interviene en los ciclos de nutrientes ayudando a mantener el equilibrio biótico del suelo (Takizawa *et al.*, 1993).

CONCLUSIONES

En cuanto a rendimiento el criollo (C2) lo podemos considerar como candidato para su conservación y evaluación en condiciones diferentes, dado que este genotipo contempla características de doble propósito (grano y forraje) obteniendo el mayor rendimiento con 10.61 Mg ha⁻¹ de forraje y 15.56 Mg ha⁻¹ en rendimiento de grano estimado.

De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis metagenómico de las muestras de la rizosfera del suelo de las tres diferentes razas de maíz criollo, se logró representar la diversidad de bacterias, demostrando que los Phylum encontrados (Proteobacteria, Actinobacteria y Acidobacteria) son los más abundantes de forma natural en los suelos y tienen importancia en los procesos de las comunidades bacterianas que se encuentran en la rizosfera.

Finalmente, la estructura de las comunidades bacterianas presentes (principalmente las BPCV) en la rizosfera del suelo, probablemente atribuyen su presencia debido a la raza del maíz, ya que influyó positivamente en los rendimientos del criollo 2. Lo anterior puede sugerir la conservación de la semilla y continuar con investigaciones en donde se analice su comportamiento en diversas condiciones ambientales (o climáticas, o de manejo, etc.).

LITERATURA CITADA

- Agostini, M. D. L. Á., Monterubbianesi, M. G., Studdert, G. A., & Maurette, S. (2014). Un método simple y práctico para la determinación de densidad aparente. *Ciencia del suelo*, 32(2), 171-176.
- Águila, M., & Carolina, P. (2013). Agricultura en zonas áridas y semiáridas. *Idesia (Arica)*, 31(2), 3-4. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292013000200001>.
- Altieri, M y Nicholls. C. 2000. Agroecología: Teoría y Práctica para una Agricultura Sostenible. Seria Texto Básicos para la Formulación ambiental. ONU-PNUMA. p:16.
- Altieri, M. A. (2011). Agroecología: Principios y estrategias para diseñar sistemas agrarios sustentables. p:28.
- Altieri, M.A. 2002. Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments. *Agriculture, Ecosystems and Environment*.
- Atlas, R.M.; Bartha, R. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. 2° edición en español. Pearson Education, Madrid. 677p.
- Barrera-Guzmán, L. A., Legaria-Solano, J. P., & Ortega-Paczka, R. (2020). Genetic diversity in populations of mexican maize races. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(1), 121-125. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.1.121>
- Beals, E. W. (1984). Bray-Curtis ordination: an effective strategy for analysis of multivariate ecological data. *Advances in Ecological Research*, 14, 1–55.
- Beltrán, M. E., Rocha Gil, Z. E., Bernal Figueroa, A. A., & Pita Morales, L. A. (2017). Microorganismos funcionales en suelos con y sin revegetalización en el municipio de villa de leyva, boyacá. *Colombia Forestal*, 20(2), 159. <https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2017.2.a05>.
- Blanco-Valdes, Y., Cartaya-Rubio, O. E., Castro-Lizazo, I., & Espina-Nápoles, M. (2021). Efecto de la aplicación de un bioproducto en etapas tempranas del cultivo de maíz (*Zea mays* L.). *Cultivos Tropicales*, 42(4). <https://www.redalyc.org/journal/1932/193270002010/html/>.
- Blanquer, J., Ibáñez, S., & Moreno-Ramón, H. (2010). La textura del suelo. p:3.

- Brenner, D. J., Krieg, N. R., Ataley, J. T., Garrity, G. M., & Bergey, D. H. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd ed). New York: Springer. <https://link.springer.com/book/10.1007/0-387-28022-7>
- Burbano, H. (1989). El suelo: una visión sobre sus componentes biorgánicos. Serie de investigaciones, (1).
- Burbano, O. (2016). El suelo y su relación con los servicios ecosistémicos y la seguridad alimentaria. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 33(2), 117-124. <https://doi.org/10.22267/rcia.163302.58>
- Calderón-Medina, C. L., Bautista-Mantilla, G. P., & Rojas-González, S. (2018). Propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo, indicadores del estado de diferentes ecosistemas en una terraza alta del departamento del Meta. *ORINOQUIA*, 22(2), 141-157. <https://doi.org/10.22579/20112629.524>.
- Calderón-Medina, C. L., Bautista-Mantilla, G. P., Rojas-González, S., Calderón-Medina, C. L., Bautista-Mantilla, G. P., & Rojas-González, S. (2018). Propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo, indicadores del estado de diferentes ecosistemas en una terraza alta del departamento del Meta. *ORINOQUIA*, 22(2), 141-157. <https://doi.org/10.22579/20112629.524>.
- Calvo, V., Reymundo Meneses, L., & Zúñiga Dávila, D. (2008). Estudio de las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*solanum tuberosum*) en zonas altoandinas. *Ecología Aplicada*, 7(1-2), 141. <https://doi.org/10.21704/rea.v7i1-2.369>.
- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., Fierer, N., Peña, A. G., Goodrich, J. K., Gordon, J. I., Huttley, G. A., Kelley, S. T., Knights, D., Koenig, J. E., Ley, R. E., Lozupone, C. A., McDonald, D., Muegge, B. D., Pirrung, M., & Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7(5), 335-336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>
- Carbonetto, M. B. (2014). Diversidad de las comunidades microbianas de los suelos pampeanos. Enfoques ecológicos y metagenómicos (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires).

- CIMMYT, 2016. Maíz: de México para el mundo. Fecha de consulta. 18 de julio de 2022. Disponible en: <https://www.cimmyt.org/es/uncategorized/maiz-de-mexico-para-el-mundo/>.
- CIMMYT, 2019. Maíz para México. Plan estratégico 2030. p:25-26.
- Comas, L.H, S.R. Becker, V.M. Cruz, P.F. Byrne, and D.A. Dierig. 2013. Root traits contributing to plant productivity under drought. *Front Plant Sci* 4: 442.
- CONABIO y Galindo, C. 2013. Maíces mexicanos [Cartel]. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Mexico.
- CONABIO, 2020. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. Recuperado el 18 de marzo, 2023 de: https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/que-nos-aportan/N_maices.
- Correa, O. (2013). Los microorganismos del suelo y su rol indiscutido en la nutrición vegetal. pp:1-17.
- Cuevas Coeto, A., Vera Castillo, Y. B., Cuevas Sánchez, J. A., Cuevas Coeto, A., Vera Castillo, Y. B., & Cuevas Sánchez, J. A. (2019). Resiliencia y sostenibilidad de agroecosistemas tradicionales de México: Totonacapan. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(1), 165-175. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i1.1789>.
- Delgado-Baquerizo, M., Oliverio, A. M., Brewer, T. E., Benavent-González, A., Eldridge, D. J., Bardgett, R. D., Maestre, F. T., Singh, B. K., & Fierer, N. (2018). A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science*. 359 (6373), 320-325. <https://doi.org/10.1126/science.aap9516>
- Díaz, D., & Blanco, Y. (2022). Las arvenses como indicador microbiológico del suelo. *Cultivos Tropicales*, 43(1), 12. <https://doi.org/10.1234/ct.v43i1.1648>.
- Díaz, M. L., & Medina, H. E. (2015), Propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26, 2460–2461.
- Elizondo, J., & Boschini, C. (2002). Producción de forraje con maíz criollo y maíz híbrido. *Agronomía Mesoamericana*, 13(1), 13-17.

- Escalante, A. E., Barbolla, L. J., Ramírez-Barahona, S., & Eguiarte, L. E. (2014). El estudio de la biodiversidad en la era de la secuenciación masiva. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(4), Article 4. <https://doi.org/10.7550/rmb.43498>.
- FAOSTAT (Food and Agricultural Organization of United Nations - Statistical Database). 2014. Recuperado el 18 de marzo de 2023 en: <http://faostat.fao.org/site/609/default.aspx#ancor>
- Fernández Suárez, R., Morales Chávez, L. A., & Gálvez Mariscal, A. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional: Una revisión indispensable. *Revista fitotecnia mexicana*, 36, 275–283.
- Fernández Suárez, R., Morales Chávez, L. A., & Gálvez Mariscal, A. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional: Una revisión indispensable. *Revista fitotecnia mexicana*, 36, 275-283.
- Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database (Faostat). (2021). Cultivos y productos de ganadería. *Fao.Org*. Recuperado el 18 de marzo de 2023 de: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/TP>
- Gliessman S R. 2001a. Agroecología: Procesos Ecológicos en Agricultura Sostenible. CATIE, Turrialba. P:359.
- González-Barrios, J. L., González-Cervantes, G., & Chávez-Ramírez, E. (2012). Porosidad del suelo en tres superficies típicas de la cuenca alta del río Nazas. *Tecnología y ciencias del agua*, 3(1), 21-32.
- Hammer, Ř., Harper, D. A. T. y Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4, Recuperado el 05 mayo, 2015 de: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.html.
- Hart, R. D. 1985. Agroecosistemas conceptos basicos (No.1). Bib. Orton IICA/CATIE. p:82.
- He, W.-J., Zhang, L., Yi, S.-Y., Tang, X.-L., Yuan, Q.-S., Guo, M.-W., Wu, A.-B., Qu, B., Li, H.-P., & Liao, Y.-C. (2017). An aldo-keto reductase is responsible for Fusarium toxin-degrading activity in a soil *Sphingomonas* strain. *Scientific Reports*, 7(1), 9549. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08799-w>

- Hernandez De Lira, I., Huber, D., Luevanos Escareño, M., Hernández-Terán, F., Sáenz-Mata, J., & Balagurusamy, N. (2014). Metagenómica: Concepto y Aplicaciones en el Mundo Microbiano.
- Hernandez De Lira, I., Huber, D., Luevanos Escareño, M., Hernández-Terán, F., Sáenz-Mata, J., & Balagurusamy, N. (2014). Metagenómica: Concepto y Aplicaciones en el Mundo Microbiano.
- Hernández-León, R., Velázquez-Sepúlveda, I., Orozco-Mosqueda, M. C., & Santoyo, G. (2010). Metagenómica de suelos: Grandes desafíos y nuevas oportunidades biotecnológicas. *Phyton (Buenos Aires)*, 79(2), 133-139.
- Illumina. (2017a). 16S Metagenomic sequencing library preparation, Preparing 16S ribosomal RNA gene amplicons for the Illumina MiSeq system. Recuperado el 10 agosto, 2017 de: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf.
- Illumina. (2017b). Nextera XT DNA library prep kit reference guide. Recuperado el 10 agosto, 2017 de: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/samplepreps_nextera/nextera-xt/nextera-xt-library-prep-reference-guide-15031942-02.pdf
- Janssen, P. H. (2006). Identifying the Dominant Soil Bacterial Taxa in Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 1719–1728. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1719-1728.2006>
- Jaramillo, R. (2011). La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizósfera: comunidad microbiológica dinámica del suelo. *Revista Contactos*, 81, 17-23.
- Khan, Z., Gielich, H., Phan, R., Redman, and S. Doty. 2012. Bacterial and yeast endophytes from poplar and willow promote growth in crop plants and grasses. *ISRN Agronomy*. doi:10.5402/2012/890280.
- Kirby, E., & Romheld, V. (2008). Micronutrientes en la fisiología de la planta: funciones, absorción y movilidad. *Informaciones Agronómicas*, (68), 1-3.
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., & Glöckner, F. O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for

- classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1). <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Kovaleva, O. I., Elcheninov, A. g., Kublanov, I. v., & Bonch-Osmolovskaya, E. (2019). Tepidisphaeraceae. En *Bergey's Manual 600 of Systematics of Archaea and Bacteria* (pp. 1-3). John Wiley & Sons, Ltd. 601. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.fbm00305>
- Kuczynski, J., Stombaugh, J., Walters, W. A., González, A., Caporaso, J. G., & Knight, R. (2011). Using QIIME to Analyze 16S rRNA Gene Sequences from Microbial Communities. *Current Protocols in Bioinformatics*, 36(1), 10.7.1-10.7.20. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1007s36>
- Labrador, J. (2008). Manejo del suelo en los sistemas agrícolas de producción ecológica. p:47.
- Lladó, S., Žifčáková, L., Větrovský, T., Eichlerová, I., & Baldrian, P. (2016). Functional screening of abundant bacteria from acidic forest soil indicates the metabolic potential of Acidobacteria subdivision 1 for polysaccharide decomposition. *Biology and Fertility of Soils*, 52(2), 251–260. <https://doi.org/10.1007/s00374-015-1072-6>
- Loredo-Osti, C., López-Reyes, L., & Espinosa-Victoria, D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*, 22(2), 225–239.
- Martín, B. D., Cairo, P. C., Sarmiento, M. M., & Artilles, P. T. (2004). Influencia de diferentes sistemas de manejo de la materia orgánica sobre el estado estructural y la consistencia del suelo. *Centro Agrícola*, 31(3-4), 5.
- McDonald, D., Price, M. N., Goodrich, J., Nawrocki, E. P., DeSantis, T. Z., Probst, A., Andersen, G. L., Knight, R., & Hugenholtz, P. (2012). An improved Greengenes taxonomy with explicit ranks for ecological and evolutionary analyses of bacteria and archaea. *The ISME Journal*, 6(3), 610-618. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.139>
- Mehnaz, S., Weselowski, B., Lazarovits, G., 2007. *Sphingobacterium canadense* sp. nov., an isolate from corn roots. *Systematic and Applied Microbiology* 30, 519e524.

- Montaño, N., Pérez, A., Ricalde, S., & Sanchez-Yañez, J. (2010). Los microorganismos: Pequeños gigantes. *Elementos: Ciencia y cultura*. pp: 15-23.
- Montemayor-Trejo, J. A., Lara-Míreles, J. L., Woo-Reza, J. L., Munguía-López, J., Rivera-González, M., & Trucíos-Caciano, R. (2012). Producción de maíz forrajero (*Zea mays* L.) en tres sistemas de irrigación en la Comarca Lagunera de Coahuila y Durango, México. *Agrociencia*, 46(3), 267-278.
- Mordoh, A. (2019). Secuenciación masiva de ADN: La próxima generación. *Dermatología Argentina*, 25(1), 02-08.
- Moreno, R. H., Gisbert, J. M y Ibáñez, S. 2009. La estructura de un suelo. p:3-7.
- Navarro Bravo, A., Figueroa Sandoval, B., Sangerman-Jarquín, D. M., & Osuna Ceja, E. S. (2012). Propiedades físicas y químicas del suelo bajo labranza de conservación y su relación con el rendimiento de tres cultivos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(SPE4), 690-697.
- Navarro-Garza, H., Hernández-Flores, M., Castillo-González, F., & Pérez-Olvera, M. A. (2012). Diversidad y caracterización de maíces criollos: Estudio de caso en sistemas de cultivo en la Costa Chica de Guerrero, México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 9(2), 149-165.
- Navas-Molina, J. A., Peralta-Sánchez, J. M., González, A., McMurdie, P. J., Vázquez-Baeza, Y., Xu, Z., Ursell, L. K., Lauber, C., Zhou, H., Song, S. J., Huntley, J., Ackermann, G. L., Berg-Lyons, D., Holmes, S., Caporaso, J. G., & Knight, R. (2013). Advancing our understanding of the human microbiome using QIIME. *Methods in Enzymology*, 531, 371-444. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407863-5.00019-8>
- Núñez, I., González-Gaudiano, É., & Barahona, A. (2003). La biodiversidad: Historia y contexto de un concepto. *Interciencia*, 28(7), 387-393.
- Orozco Corral, A. L., Valverde Flores, M. I., Martínez Téllez, R., Chávez Bustillos, C., & Benavides Hernández, R. (2016). Propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo con biofertilización cultivado con manzano. *Terra Latinoamericana*, 34(4), 441-456.

- Ortiz, E., López, P. A., Gil, A., Guerrero, J. D. D., López, H., Taboada, O. R., & Valadez, M. 2013. Rendimiento y calidad de elote en poblaciones nativas de maíz de Tehuacán, Puebla. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 19(2), 225-238.
- Ostale, M. S., Galindo, S. M. B., Bona, A. P., Arregui, C. del A., Cundin, M. C. O., & Cruz, M. H. D. L. (2022). Secuenciación de bacterias ARNR 16S. *Revista Sanitaria de Investigación*, 3(1), 191.
- Pérez Rosales, A., Galvis Spínola, A., Bugarín Montoya, R., Hernández Mendoza, T. M., Vázquez Peña, M. A., Rodríguez González, A., Pérez Rosales, A., Galvis Spínola, A., Bugarín Montoya, R., Hernández Mendoza, T. M., Vázquez Peña, M. A., & Rodríguez González, A. (2017). Capacidad de intercambio catiónico: Descripción del método de la tiourea de plata (AgTU + n). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(1), 171-177. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i1.80>.
- Platas-Rosado, D. E., González-Reynoso, L., López-Romero, G., Vilaboa-Arroniz, J., Severino-Lendechy, V. H., & Vilaboa-Arroniz, I. (2017). Un Análisis Teórico Para El Estudio De Los Agroecosistemas. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20(3), 395-399.
- Rodicio, M. del R., & Mendoza, M. del C. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: Fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 22(4), 238-245.
- Rodríguez-Santiago, B., & Armengol, L. (2012). Tecnologías de secuenciación de nueva generación en diagnóstico genético pre y postnatal. *Diagnóstico Prenatal*, 23(2), 56-66. <https://doi.org/10.1016/j.diapre.2012.02.001>.
- Ros, M., I. Rodríguez, C. García, and T. Hernández. 2010. Microbial communities involved in the bioremediation of an aged recalcitrant hydrocarbon polluted soil by using organic amendments. *Bioresour. Technol.* 101: 6916-6923.
- Rubio, S., Pacheco-Orozco, R. A., Gómez, A. M., Perdomo, S., & García-Robles, R. (2020). Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: Presente y futuro en la práctica clínica. *Universitas Médica*, 61(2). <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed61-2.sngs>.

- Rucks, L., García, F., Kaplan, A., Ponce de León, J y Hill, M. 2004. Propiedades físicas del suelo. p:2, 27.
- Sachdev, D., Nema, P., Dhakephalkar, P., Zinjarde, S., & Chopade, B. (2010). Assessment of 16S rRNA gene-based phylogenetic diversity and promising plant growth-promoting traits of Acinetobacter community from the rhizosphere of wheat. *Microbiological Research*, 165(8), 627-638. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.12.002>
- Salamanca, A., & Sadeghian, S. (2006). La densidad aparente y su relación con otras propiedades en suelos de la zona cafetera colombiana.
- Sánchez-Bautista, A., León-García de Alba, C. D., Aranda-Ocampo, S., Zavaleta-Mejía, E., Nava-Díaz, C., Goodwin, P. H., Leyva-Mir, S. G., Sánchez-Bautista, A., León-García de Alba, C. D., Aranda-Ocampo, S., Zavaleta-Mejía, E., Nava-Díaz, C., Goodwin, P. H., & Leyva-Mir, S. G. (2018). Bacterias endófitas de la raíz en líneas de maíces tolerantes y susceptibles a sequía. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(1), 35–55. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1710-3>
- Sans, F. (2007). La diversidad de los agroecosistemas: *Ecosistemas*, 16(1):45.
- Santos-Ramos, M. D. los, Romero-Rosales, T., & Bobadilla-Soto, E. E. (2017). Dinámica de la producción de maíz y frijol en México de 1980 a 20141. *Agronomía Mesoamericana*, 28(2), 439-453.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) (2020) Maíz el cultivo de México, recuperado el 18 de Marzo de 2023 de: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-el-cultivo-de-mexico>
- Selene, M. R y García, V. 2016. Producción y comercialización del maíz en México, cobertura de riesgo con derivados. p:3.
- SEMARNAT (Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2016. La degradación de los suelos en México. Los procesos que llevan a la desertificación. pp. 158-187. In: SEMARNAT. Informe de la situación del medio ambiente en México: compendio de estadísticas ambientales, indicadores clave de desempeño ambiental y de crecimiento verde. Edición 2015. SEMARNAT. Ciudad de México, México.

- Severino, R., Froufe, H. J. C., Barroso, C., Albuquerque, L., Lobo-da-Cunha, A., da Costa, M. S., & Egas, C. (2019). High-quality draft genome sequence of *Gaiella occulta* isolated from a 150 meter deep mineral water borehole and comparison with the genome sequences of other deep-branching lineages of the phylum Actinobacteria. *MicrobiologyOpen*, 8(9), e00840. <https://doi.org/10.1002/mbo3.840>
- Soria, M. A. (2016). ¿Por qué son importantes los microorganismos del suelo para la agricultura? *Química Viva*, 15(2), 3-10.
- Suarez, M. C., Ortega, F. U., & Jaimes, E. (2019). Desarrollo de sistemas de producción agroecológica: Dimensiones e indicadores para su estudio. *Revista de Ciencias Sociales (Ve)*, XXV(3), 172-185.
- Takizawa, M., Colwell, R. R., & Hill, R. T. (1993). Isolation and diversity of actinomycetes in the chesapeake bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(4), 997-1002. <https://doi.org/10.1128/aem.59.4.997-1002.1993>
- Tan, W., Wang, J., Bai, W., Qi, J., & Chen, W. (2020). Soil bacterial diversity correlates with precipitation and soil pH in long-term maize cropping systems. *Scientific Reports*, 10(1), Art. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62919-7>
- Trigo, Y. M., & Montenegro, J. L. (2002). El maíz en México: biodiversidad y cambios en el consumo. *Análisis económico*, 17(36), 281-303.
- Valenzuela-González, F., Casillas-Hernández, R., Villalpando, E., Vargas-Albores, F., Valenzuela-González, F., Casillas-Hernández, R., Villalpando, E., & Vargas-Albores, F. (2015). El gen ARNr 16S en el estudio de comunidades microbianas marinas. *Ciencias marinas*, 41(4), 297-313. <https://doi.org/10.7773/cm.v41i4.2492>.
- Valenzuela-González, F., Castilla-Hernández, R., Villalpando E. & Vargas-Albores F. (2015). El gen ARNr 16S en el estudio de comunidades microbianas marinas. *Cienc. Mar* 41(4). <https://doi.org/10.7773/cm.v41i4.2492>.
- Vega, N. S., González, A. M., & Elorza, P. B. (2015). La importancia del suelo en la producción agrícola. 2015: Año internacional del suelo. p:16.

- Villanueva, J. L. J. (2021). Movimientos del tipo de cambio y comercio de maíz entre México y Estados Unidos. *Agrociencia*, 55(7), 627-643. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v55i7.2608>.
- Wei, Z., Hu, X., Li, X., Zhang, Y., Jiang, L., Li, J., Guan, Z., Cai, Y., & Liao, X. (2017). The rhizospheric microbial community structure and diversity of deciduous and evergreen forests in Taihu Lake area, China. *PLoS ONE*, 12(4), e0174411. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174411>
- Weiss, S., Xu, Z. Z., Peddada, S., Amir, A., Bittinger, K., Gonzalez, A., Lozupone, C., Zaneveld, J. R., Vázquez, Y., Birmingham, A., Hyde, E. R., & Knight, R. (2017). Normalization and microbial differential abundance strategies depend upon data characteristics. *Microbiome*, 5(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0237-y>
- Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H., & Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: A taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(5), 1613-1617. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001755>
- Zhang J., Kobert, K., Flouri, T. y Stamatakis, A. (2014). PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End read merger. *Bioinformatics*, 30, 614–620.
- Zorrilla, M., Sotelo, E., Quiñones, L., Cortina, S., Cotler, H., & Dominguez, J. (2007). La conservación de suelos: Un asunto de interés público. *Gaceta Ecológica*, 83, 5-71.