

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONOMICAS

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



**Aislamiento y caracterización de bacterias rizosféricas nativas de Ojinaga,
Chihuahua y su potencial como agentes de control biológico contra
*Botrytis cinerea***

Por:

Daniela Bravo Pérez

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Torreón, Coahuila, México
Junio 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONOMICAS

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Aislamiento y caracterización de bacterias rizosféricas nativas de Ojinaga,
Chihuahua y su potencial como agentes de control biológico contra
Botrytis cinerea

Por:

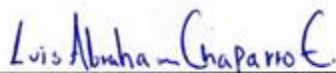
Daniela Bravo Pérez

TESIS

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

INGENIERO AGRÓNOMO

Aprobada por:



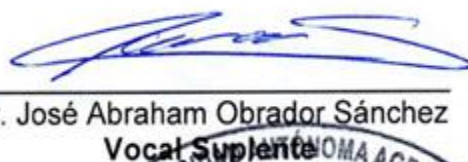
Dr. Luis Abraham Chaparro Encinas
Presidente



Dr. José Rafael Paredes Jácome
Vocal



Dr. Fabian García Espinoza
Vocal



Dr. José Abraham Obrador Sánchez
Vocal Suplente



MC. Rafael Avila Cisneros
Coordinador de la División de Carreras Agronómicas



Torreón, Coahuila, México
Junio 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONOMICAS

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

**Aislamiento y caracterización de bacterias rizosféricas nativas de Ojinaga,
Chihuahua y su potencial como agentes de control biológico contra
*Botrytis cinerea***

Por:

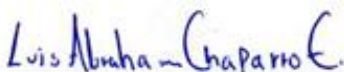
Daniela Bravo Pérez

TESIS

Presentado Como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Aprobado por el Comité de Asesoría:



Dr. Luis Abraham Chaparro Encinas
Asesor principal



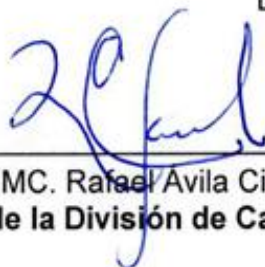
Dr. José Rafael Paredes Jácome
Coasesor



Dr. Fabian García Espinoza
Coasesor



Dr. José Abraham Obrador Sánchez
Coasesor



MC. Rafael Avila Cisneros
Coordinador de la División de Carreras Agronómicas



Torreón, Coahuila, México
Junio 2025

DEDICATORIA

Mi tesis está dedicada a mis padres, Tolentino Bravo Santos y María Pérez Silva, pues han sido ellos quienes han finalizado mi formación académica. Por la confianza y la posibilidad de continuar con mi educación, siempre estuvieron a mi lado ofreciéndome su respaldo para que yo pudiera evolucionar hacia una mejor persona.

A mi hermano, Eduardo Bravo Pérez, a pesar de la lejanía, quien con sus palabras de aliento no me dejó caer, permitiéndome continuar y alcanzar mi sueño.

A mi Tío José y mi Tía Itzel, quienes sin esperar nada a cambio, me brindaron su apoyo durante el tiempo que permanecí con ellos, asegurándose de que no me faltara nada.

A la Familia Bravo Villegas, y a mi Familia Pérez Silva, quienes siempre depositaron su confianza en mí durante estos 4 años, brindándome su apoyo y contribuyendo a que este sueño se materializara.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, doy gracias por permitirme tener una buena experiencia dentro de mi Universidad, y gracias por permitirme convertirme en un ser profesional en lo que tanto anhelaba, gracias a cada maestro que hizo parte de este proceso.

A mis compañeras Margarita, Natividad, Laura, Lizbeth que estuvieron presentes en la evolución y posterior desarrollo total de mi tesis, les agradezco con todo mi corazón.

A mi asesor de Tesis, Luis Abraham Chaparro Encinas, quien durante la realización de este proyecto me ha guiado en el complicado proceso. No ha sido nada fácil, sin embargo, gracias a su ayuda, esto ha parecido menos complicado.

El resultado de este proyecto ha sido espectacular, y una gran parte del desarrollo de ese excelente trabajo se lo agradezco a usted. Que Dios lo bendiga.

INDICE

DEDICATORIA -----	i
AGRADECIMIENTOS -----	ii
INDICE -----	iii
RESUMEN-----	iv
INTRODUCCION -----	1
ANTECEDENTES -----	2
PREGUNTA DE INVESTIGACION-----	5
Justificación -----	5
OBJETIVOS-----	6
Objetivo general -----	6
Objetivos específicos -----	6
METODOLOGIA -----	7
Obtención de la muestra -----	7
Aislamiento y purificación de microorganismos cultivables -----	7
Caracterización macro y microscópica -----	7
RESULTADOS Y DISCUSION -----	9
CONCLUSION-----	15
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS -----	16

RESUMEN

El uso de microorganismos en la creación de biofertilizantes y agentes de biocontrol puede disminuir la demanda de compuestos químicos sintéticos y fomentar prácticas de agricultura amigables con el entorno natural.

El presente estudio se centra en el aislamiento, purificación, caracterización y evaluación del potencial como agentes de control biológico de microorganismos cultivables nativos del noreste de México (Ojinaga, Chihuahua), contra el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Las muestras se obtuvieron de suelo rizosférico de uso agrícola procedente de Ojinaga, Chihuahua. Las bacterias cultivables nativas fueron aisladas y purificadas mediante técnicas microbiológicas, tales como diluciones seriales y cultivo en estría por agotamiento, obteniéndose 34 cepas bacterianas. Las bacterias fueron caracterizadas macroscópica y microscópicamente mediante observación y tinciones diferenciales (tinción Gram). Se realizaron pruebas de antagonismo Bacteria-Hongo contra el fitopatógeno modelo *B. cinerea*, mediante el método de Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial (PICR), de las cuales se identificaron dos (2) cepas con potencial control biológico (ANBR45 y ANBR63), con valores de 63.0%-83.3% de PICR. Los resultados del presente estudio constituyen un paso inicial para determinar el potencial de las bacterias nativas de Ojinaga, Chihuahua como agentes de control biológico contra *B. cinerea*, un hongo de relevancia agrícola en la región noreste de México.

Palabras clave: PGPR, Bioprospección, Biofertilizantes, Inoculación, PICR

INTRODUCCION

La biotecnología ha emergido como un campo vital para enfrentar los retos mundiales vinculados a la seguridad alimentaria y la sostenibilidad en la agricultura. El incremento en la utilización de microorganismos brinda una oportunidad única para investigar nuevas aplicaciones biotecnológicas que promuevan el crecimiento de cultivos y la protección contra plagas. Actualmente, existe una gran variedad de biofertilizantes con diversas funciones y atendiendo al tipo de cultivo. En general, los biofertilizantes más difundidos se componen de hongos micorrícicos y bacterias (All-Taweil *et al.*, 2009; Pooja *et al.*, 2007)

El presente estudio se centra en el aislamiento, purificación, caracterización y evaluación del potencial como agentes de control biológico de microorganismos cultivables nativos del noreste de México Ojinaga Chihuahua contra el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Lo anterior con el objetivo de detectar potenciales usos agrobiotecnológicos mediante la creación de biofertilizantes

La investigación posee el potencial de ejercer un impacto considerable en diversas esferas, tales como la optimización local de la productividad y vigor de los cultivos, la comprensión científica de los microbiomas edáficos en la región y sus aplicaciones biotecnológicas, y la promoción a nivel nacional y mundial de prácticas agrícolas sostenibles. La relevancia del proyecto reside en su capacidad para proporcionar soluciones sustentables y respetuosas con el medio ambiente para el sector agrícola.

ANTECEDENTES

Vessey (2003) define los biofertilizantes como una mezcla de microorganismos vivos que, al incorporarse a semillas, superficies vegetales o tierra, colonizan la rizósfera o el interior de la planta, promoviendo su crecimiento y optimizando la provisión o la accesibilidad de nutrientes primarios.

Se considera que estos biofertilizantes sustituirían de manera parcial o total a los fertilizantes artificiales, reduciendo sus efectos nocivos (Arora *et al.*, 2024). En el ámbito agrícola, los microorganismos desempeñan un rol fundamental en la optimización de la calidad del suelo, la promoción del desarrollo vegetal y la regulación natural de las plagas (INIFAP, 2021). La existencia de microorganismos en el terreno de cultivo se basa en elementos locales, tales como la calidad del suelo, fomentan el desarrollo de las plantas y regulan naturalmente los patógenos (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022).

Es crucial utilizar estrategias para detectar y aislar estos microorganismos, a través de técnicas como la plantación en medios de cultivo selectivo y diferencial, diluciones en serie, y utilizando las características únicas de los microorganismos. (Xu y sus colegas, 2024). Estas tácticas suelen fusionarse para optimizar el procedimiento de aislamiento de microorganismos.

Los microorganismos antagonistas se han utilizado en combinación con otras alternativas o con los fungicidas sintéticos, además de que se considera importante que se integre el uso de estos dentro de las prácticas de manejo de la tecnología postcosecha. En este sentido, se han desarrollado diversos estudios para conocer la eficiencia biológica de los antagonistas. Por ejemplo, al analizar el comportamiento de cuatro levaduras antagonistas (*T. pullulans*, *C. laurentii*, *R. glutinis* y *P. membranefaciens*), se encontró que fueron efectivas contra importantes patógenos postcosecha (*A. alternata*, *P. expansum*, *B. cinerea* y *R. stolonifer*) en cerezas (*Rubus idaeus* L.) almacenadas a 25° C. Sin embargo, a bajas temperaturas y en condiciones de atmósfera controlada se suprimió el crecimiento de *T. pullulans* y *P. membranefaciens* (Qin *et al.*, 2004). También se ha encontrado el efecto inverso, en estudios realizados en duraznos [*Prunus persica* (L.) Batsch] para controlar la

enfermedad causada por *B. cinerea* y *P. expansum* con el antagonista *Candida oleophila* Montrocher, evidenciaron que esta levadura por sí sola no fue capaz de ejercer efecto de biocontrol, pero cuando se combinó con la atmósfera modificada durante el empaque se redujo la pudrición (Karabulut y Baykal, 2004).

Varios estudios han examinado la efectividad de los biofertilizantes. Arora *et al.* (2024) llevaron a cabo una investigación exhaustiva sobre la efectividad de los biofertilizantes en varios tipos de suelo, demostrando su capacidad para mejorar la disponibilidad de nutrientes y el crecimiento de las plantas en comparación con los fertilizantes sintéticos convencionales. Debido a la actividad de los microorganismos beneficiosos presentes en los biofertilizantes, Xu *et al.* (2024) investigaron el uso de biofertilizantes en cultivos específicos y encontraron mejoras significativas en la salud y el rendimiento de las plantas. En cuanto a las bacterias rizosféricas, Deng *et al.* (2024) destacaron su papel en la promoción del crecimiento vegetativo a través de la producción de fitohormonas y la solubilización de minerales esenciales, subrayando la importancia de estas interacciones para la salud del suelo. Los mecanismos por los cuales las bacterias rizosféricas benefician a las plantas fueron revisados por Xu *et al.* (2024). Estos mecanismos incluían la inhibición de patógenos y la mejora de la tolerancia a los estresores abióticos (Deng *et al.*, 2024).

Andrews (1992), define el control biológico como la aplicación artificial de componentes de regulación. Microorganismos con actividad antimicrobiana, diseñados para regular plagas y patologías. Su habilidad se fundamenta en las características específicas de cada organismo y en los sistemas de producción. En el conjunto de controladores se han detectado levaduras, bacterias y hongos con hallazgos significativos en relación con la regulación de *Botrytis* en diversas especies vegetales.

Ren y sus colegas, (2022). Mostró que el uso de *Bacillus velezensis* tiene una actividad. Para *Botrytis*, la acción antifúngica es esencial, indicando que los compuestos más significativos que controlan son el isooctanol y el 2-nonanol. Descubrieron un efecto curativo y protector que superó el 80% de control, estos procedimientos se realizaron en plantaciones de tomate y se realizaron evaluaciones 7 y 14 días tras la aplicación. Se fusionaron las cepas con aceite para garantizar una suspensión del componente

activo. En contraste con los métodos de agricultura tradicionales, la utilización de biofertilizantes y el control biológico que utiliza microorganismos ofrecen una alternativa sustentable y respetuosa con el medio ambiente (INIFAP, 2021). La finalidad de este estudio es comprender más a fondo las capacidades de estos microorganismos, al mismo tiempo que ofrece soluciones efectivas y útiles para mejorar la salud del suelo y la productividad agrícola en zonas de importancia agrícola en Coahuila y Chihuahua.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

El propósito del presente estudio es abordar la problemática del control biológico del hongo fitopatógeno *Botrytis* spp., a través de la exploración del potencial de bacterias antagonistas nativas del suelo de la región noreste de México como agentes de biocontrol. Por lo anterior, la pregunta de investigación planteada es:

¿Pueden las bacterias nativas del suelo rizosférico Ojinaga (Chihuahua) inhibir el crecimiento y proliferación del hongo fitopatógeno *Botrytis* spp??

Justificación

Las especies del género *Botrytis* son uno de los hongos más relevantes para la fitopatología por presentar una amplia gama de hospedadores y generar daños económicos a productores a nivel mundial. Las pérdidas que genera van desde la producción, la cosecha, el almacenamiento y transporte (Montiel *et al.*, 2021).

La implementación de bacterias antagonistas nativas como agentes de biocontrol proporciona una estrategia innovadora y respetuosa con el medio ambiente. Estas bacterias poseen la habilidad intrínseca de inhibir la proliferación de fitopatógenos, lo que contribuye a la reducción de la dependencia de productos químicos sintéticos (Pranab *et al.*, 2022). Esta medida no solo optimiza la salud del suelo y la calidad ambiental, sino que también fomenta prácticas agrícolas de mayor sostenibilidad. La exploración de las bacterias autóctonas del suelo rizosférico en regiones como Ojinaga, Chihuahua, posibilita la formulación de estrategias de gestión específicas que pueden ser implementadas a escala local, contribuyendo así al robustecimiento de la agricultura a nivel regional.

Desde una perspectiva social, este estudio posee el potencial para optimizar la calidad de vida de los agricultores locales, proporcionándoles herramientas biológicas eficaces para la protección de sus cultivos. Esta circunstancia puede resultar en una mayor estabilidad económica y seguridad alimentaria para las comunidades rurales, además de una disminución de los riesgos vinculados al empleo de productos químicos en la práctica agrícola. Mediante la promoción de técnicas de control biológico, se promueve una agricultura más segura y saludable, beneficiando tanto a los productores como a los consumidores.

En el contexto académico, este estudio contribuye a la comprensión y conocimiento de

la biodiversidad microbiana en suelos particulares del noreste de México, proporcionando información significativa sobre las interacciones planta-microorganismo y sus aplicaciones en la biotecnología agrícola (Cruz-Cárdenas *et al.*, 2021). Desde una perspectiva metodológica, la investigación propone un modelo para la caracterización y evaluación de microorganismos nativos, que puede ser replicado en estudios análogos. Este enfoque metodológico no solo resulta beneficioso para la identificación de nuevas cepas con potencial para el biocontrol, sino que también establece los cimientos para el desarrollo de biofertilizantes y agentes de control biológico más eficaces.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la capacidad de microorganismos nativos del suelo rizosférico Ojinaga, Chihuahua, para inhibir el crecimiento y proliferación del hongo fitopatógeno *Botrytis spp.*

Objetivos específicos

- Aislar y purificar microorganismos nativos cultivables del suelo rizosférico Ojinaga Chihuahua; utilizando técnicas microbiológicas.
- Describir las características macroscópicas y microscópicas de las cepas aisladas.
- Evaluar el potencial de las cepas como agentes de control biológico contra el hongo fitopatógeno *Botrytis sp. in vitro*.

1. Hipótesis

Los microorganismos nativos del suelo rizosférico de Ojinaga, Chihuahua, son capaces de inhibir significativamente el crecimiento y proliferación del hongo fitopatógeno *Botrytis spp.*

METODOLOGIA

Obtención de la muestra

Se realizaron muestreos de suelo rizosférico que comprenden zonas representativas de uso agrícola Chihuahua asociados del nogal en Ojinaga, Chihuahua.

Para ello, se seleccionaron puntos de muestreo representativos en un arreglo aleatorio simple y se extrajeron muestras de suelo adherido a las raíces, es decir, suelo rizosférico, a una profundidad aproximada de 30 cm siguiendo la metodología descrita por la norma oficial mexicana NMX-AA-132-SCFI-2006. Las muestras se colocaron en bolsas de plástico estériles y se mantuvieron refrigeradas a 4°C hasta su procesamiento en el laboratorio. Este enfoque permitió capturar la diversidad microbiana asociada al suelo rizosférico de los sitios de muestreo.

Aislamiento y purificación de microorganismos cultivables

En el Laboratorio de Fitomejoramiento de la UAAAN UL, se realizó el aislamiento de microorganismos cultivables a partir de suelo rizosférico mediante la técnica de diluciones seriadas, sembrando en cajas Petri con medio agar nutritivo por quintuplicado. Lo anterior para capturar la mayor parte de diversidad bacteriana cultivable del suelo. Posteriormente se mantuvo en incubadora durante 48 horas a 37°C para permitir el desarrollo de colonias típicas.

Una vez cumplido el periodo de incubación, se seleccionaron y purificaron las colonias morfológicamente diferentes y se asignó una clave única a cada cepa conformada por los siguientes criterios: (1) Las iniciales “AN” en alusión a nuestra institución (Antonio Narro); el tipo de microorganismo, “B” por bacteria; el tipo de suelo de procedencia, rizosférico “R” y no rizosférico “B” (bulksoil); y un número secuencial. Las cepas bacterianas aisladas fueron depositadas en la Colección de Organismos Rizosféricas y Edáficas de Noreste (CORE Noreste), en la UAAAN Unidad Laguna.

Caracterización macro y microscópica

Se caracterizaron macroscópicamente las cepas bacterianas aisladas basándose en parámetros morfológicos de las colonias, como el color, la forma, la textura, el margen, la altura, entre otros. La caracterización microscópica se llevó a cabo posteriormente a

través de la tinción de Gram, que clasifica las bacterias según la estructura de su pared celular. Además, se observó su forma y conjunto como cocos, bacilos, vibrios, entre otros.

Ensayos de Antagonismo Bacteria-Hongo

Para evaluar el potencial de las bacterias nativas como agentes de biocontrol, se llevaron a cabo ensayos de confrontación bacteria-hongo utilizando el método de Determinación de Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial (PICR). Estos ensayos se realizaron inicialmente con el hongo fitopatógeno modelo *Botrytis spp.*

Se midió el crecimiento radial del hongo en las placas con presencia de bacterias y en placas de control sin bacterias.

La inhibición del crecimiento se calculó utilizando el método de PICR, que se determina con la siguiente fórmula:

$$\text{PICR (\%)} = ((R1 - R2) / R1) \times 100$$

Donde:

R1 es el radio del crecimiento del hongo en la placa de control.

R2 es el radio del crecimiento del hongo en la placa con presencia de bacterias.

RESULTADOS Y DISCUSION

Aislamiento y purificación

En el presente estudio, se llevó a cabo el aislamiento y purificación de bacterias nativas del suelo rizosférico de Ojinaga (Chihuahua). Hasta la fecha, se han identificado y caracterizado un total de 36 cepas bacterianas, estas bacterias se obtuvieron de la zona alrededor de las raíces de las plantas, donde interactúan de manera directa con el sistema radicular y pueden influir significativamente en el crecimiento y salud de las plantas.

TABLA.1 CARACTERIZACION MICROSCOPICA

CODIGO DE LA CEPA	MICROSCOPICA	AGRUPACION CELULAR
ANBR32	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR33	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR34	GRAM POSITIVA	COCO BACILO CORTO
ANBR35	GRAM POSITIVA	BACILO CORTO
ANBR36	GRA NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR37	GRAM NEGATIVA	BACILOS CORTO
ANBR38	GRAM POSITIVA	COCO BACILO
ANBR39	GRAM NEGATIVA	COCO
ANBR40	GRAM NEGATIVA	STREPTO COCCO
ANBR41	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR42	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR43	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR44	GRAM POSITIVA	COCO
ANBR45	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR46 A	GRAM POSITIVA	FILAMENTOSA
ANBR46 B	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR47	GRAM NEGATIVA	BACILO LARGO
ANBR48	GRAM NEGATIVA	COCO
ANBR49	GRAM NEGATIVA	FILAMENTOSA
ANBR50	GRAM NEGATIVA	BACILO
ANBR51	GRAM POSITIVA	STREPTO BACILO
ANBR52	GRAM NEGATIVA	BACILOCORTO
ANBR53	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR54	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO

ANBR55	GRAM POSITIVA	COCO
ANBR56	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR57	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR58	GRAM POSITIVA	COCO BASILO
ANBR59	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR60	GRAM POSITIVA	BACILO CORTO
ANBR61	GRAM POSITIVA	BACILO CORTO
ANBR62	GRAM NEGATIVA	FILAMENTOSA
ANBR63	GRAM POSITIVA	BACILO LARGO
ANBR64	GRAM POSITIVA	COCO
ANBR65	GRAM NEGATIVA	BACILO CORTO
ANBR66	GRAM POSITIVA	BACILO CORTO

De estas cepas se encontraron 23 cepas Gram negativas y 13 Gram positivas, lo que indica una mayor proporción de bacterias Gram negativas. Morfológicamente se encontraron diferentes formas, bacilos largo, filamentosas, cocco, cocobacilo, estreptobacilo.

Mediante el uso de la tinción de Gram, logramos categorizar las bacterias según su color y forma, lo que nos permitió identificar el tipo de bacteria. (Figura 1).

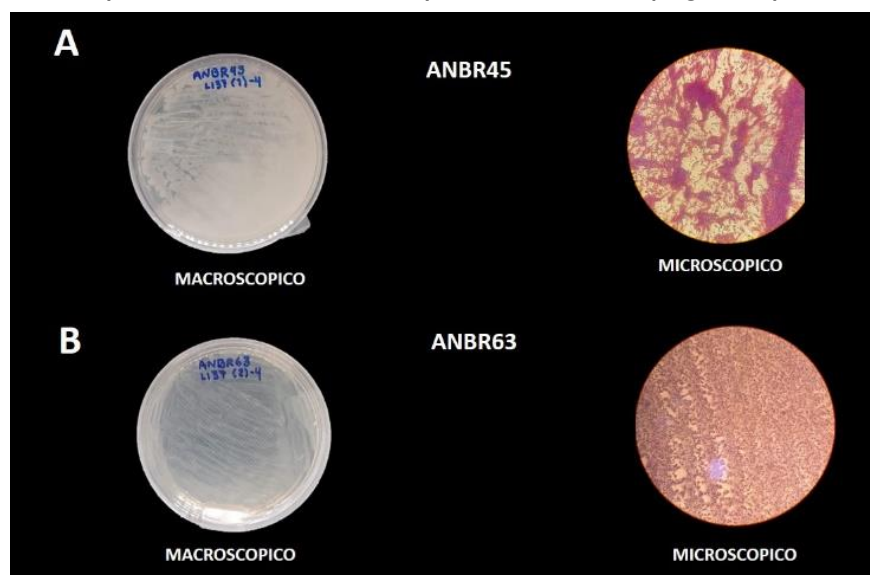


Figura.1 A) Crecimiento macroscópico de la cepa rizosférica ANBR45 (Izquierda) y micrografía de la cepa ANBR45 (tinción Gram) (Derecha) **B)** Crecimiento macroscópico de la cepa ANBR63 (Derecha) y micrografía de la cepa ANBR63.

Las bacterias Gram positivas poseen una pared celular gruesa que puede contener hasta un 90% de peptidoglicano, proporcionando rigidez y protección; según Beveridge

(2019), esta característica es fundamental para su resistencia a condiciones ambientales adversas. Estos datos indican que existe una diversidad considerable de bacterias en el suelo rizosférico, lo cual es prometedor para la identificación de cepas con potencial biotecnológico. Un grupo grande y diverso de bacterias que viven en el interior de las raíces se llama rizobacterias. Estas relaciones pueden ser neutrales, beneficiosas o incluso perjudiciales, aunque en última instancia son menos severas. Las relaciones entre las bacterias y las raíces vegetales han jugado un papel crucial en la adaptación y desempeño de las plantas a lo largo del tiempo. Varios estudios proporcionan evidencia de que las rizobacterias han impulsado el crecimiento, la productividad y la salud de las plantas. La inoculación de biofertilizantes que contienen bacterias rizosféricas ha provocado incrementos significativos en la productividad de los cultivos agrícolas (Armenta-Bojórquez *et al.*, 2010). Esto se debe a que, las bacterias asociadas a las especies vegetales poseen la capacidad de producir o generar reguladores de crecimiento y aproximadamente el 80 % de éstas son productoras de auxinas.

Entre las rizobacterias se encuentran las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), grupos de diversas especies que mejoran el crecimiento de las plantas (González y Fuentes, 2017).

Pruebas de Antagonismo

Se llevaron a cabo pruebas de antagonismo para evaluar la capacidad de las cepas bacterianas nativas de inhibir el crecimiento del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Las pruebas se realizaron utilizando el método de determinación de Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR).

La cepa ANBR45, mostró una alta capacidad de inhibición del crecimiento radial del hongo *Botrytis cinerea*, con valores de PICR superiores al 83.33%. La cepa ANBR63, presentó valores de PICR menores a 62.96%, pero aún significativos, indicando un buen potencial antagonista. (Figura 2).

Las especies de *Bacillus* se encuentran ampliamente distribuidas a nivel mundial debido a su habilidad para formar endosporas, característica que les confiere resistencia y potencia su aislamiento en diversos hábitats, tanto ecosistemas acuáticos

como terrestres, e incluso en ambientes bajo condiciones extrema (Tejera-Hernández *et al.*, 2011).

Si bien, el presente estudio no se planteó como objetivo la caracterización molecular de las cepas (quedan como perspectivas para sucesivos estudios) a través de barcoding 16S y secuenciación Sanger; por las características macroscópicas, microscópicas y los resultados de las pruebas de antagonismo, existe la probabilidad de que estas pertenezcan a uno de los géneros bacterianos más prevalentes en el suelo: el género *Bacillus*.

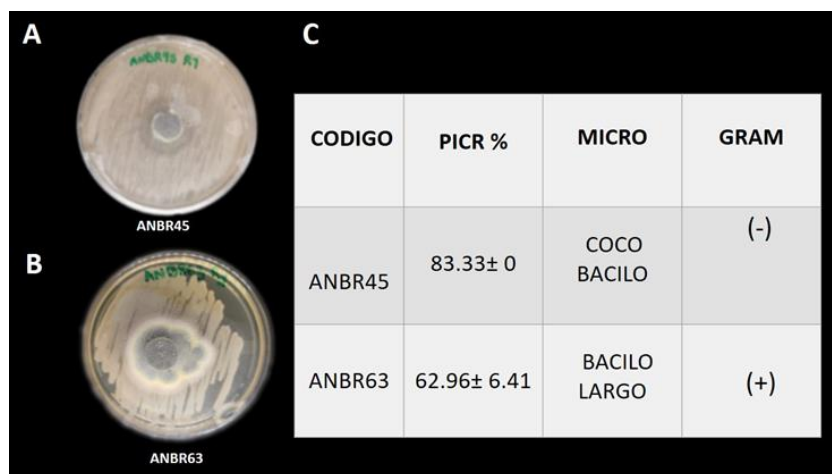


Figura.2 A) Confrontaciones ANBR45 B) Confrontaciones ANBR63 C) Valores de PICR, $n=3$.

Entre las características del género *Bacillus* destaca su crecimiento aerobio o en ocasiones anaerobio facultativo, Gram positivas, morfología bacilar, movilidad flagelar, y tamaño variable (0.5 a 10 μm), su crecimiento óptimo ocurre a pH neutro, presentando un amplio intervalo de temperaturas de crecimiento, aunque la mayoría de las especies son mesófilas (temperatura entre 30 y 45 $^{\circ}\text{C}$), su diversidad metabólica asociada a la promoción del crecimiento vegetal y control de patógenos (Tejera-Hernández *et al.*, 2011); además, destaca su capacidad de producir endosporas (ovales o cilíndricas) como mecanismo de resistencia a diversos tipos de estrés (Calvo y Zúñiga, 2010; Layton *et al.*, 2011;).

No obstante, se considera al suelo como el principal reservorio de este género bacteriano, ya que la mayoría de las especies de *Bacillus* son saprófitas, capaces de aprovechar la amplia variedad de sustratos orgánicos existentes en el suelo. Esta es

una matriz complicada para la formación de una amplia variedad genética y funcional de especies microbianas, McSpadden, 2004. Así pues, diversas especies de *Bacillus* pueden desarrollarse en los suelos, con números cultivables que oscilan entre 3 y 6 por gramo de peso fresco del suelo, principalmente en especies parecidas genéticamente al conjunto de *B. subtilis* y *B. cereus*, Vargas-Ayala *et al.*, 2000. Sin embargo, las investigaciones sobre ARNr en suelo contradicen la prevalencia relativa de especies de este género bacteriano, tanto cultivables como no cultivables (Kumar *et al.*, 2011).

Respecto al género *Bacillus*, Villarreal y colaboradores (2017) están de acuerdo en sostener que es un género dominante en el biocontrol. Uno de los atributos más destacados del género *Bacillus* es su habilidad para generar una amplia gama de antibióticos que pueden inhibir el crecimiento de agentes fitopatógenos, incluyendo los péptidos cíclicos no ribosomales, que han sido los más investigados. Los lipopéptidos (LPs) están estructuralmente formados por un péptido cíclico vinculado a una cadena de ácidos grasos β -hidroxi o β -amino, categorizados en tres familias distintas (iturinas, fengicinas y surfactinas), según sus secuencias de aminoácidos y la longitud del ácido graso (Ongena y Jaques, 2008).

Las rizobacterias constituyen una opción biotecnológica en el sector agrícola, principalmente debido a su elevada presencia. Estructuras moleculares que promueven la mejora del rendimiento y la salud vegetal. Los cultivadores basados en rizobacterias constituyen una alternativa biotecnológica para la agricultura sustentable, dado que permiten incrementar la productividad y disminuir los costos de producción durante el proceso agrícola.

Las interacciones entre las rizobacterias que fomentan el crecimiento vegetal (RPCV) y el entorno biológico (plantas y microorganismos) son sumamente complejas y utilizan una serie de mecanismos de acción para impulsar el crecimiento vegetal.

- 1) Biocontrol
- 2) Fitoestimulación
- 3) Biofertilización.

Cuando se agrega RPCV a los cultivos, se reduce significativamente el uso de fertilizantes sintéticos y sus efectos perjudiciales en el suelo, aumenta el rendimiento de los cultivos.

CONCLUSION

Se han logrado hallazgos prometedores en las etapas iniciales de la investigación. El aislamiento y la caracterización de un total de 36 cepas bacterianas nativas del suelo rizosférico en la región de Ojinaga, Chihuahua revelaron una diversidad morfológica considerable.

La caracterización microscópica subrayó la presencia de cepas pertenecientes a las formas coco bacilo, bacilo largo, filamentosa, estreptobacilo.

Adicionalmente, el análisis de tinción de Gram reveló una prevalencia notable de bacterias Gram negativas, con 23 cepas, y Gram positivas, con 13 cepas, un factor crucial para la elección de cepas con potencial biotecnológico.

Las evaluaciones de antagonismo llevadas a cabo contra el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* evidenciaron que diversas cepas bacterianas nativas, particularmente las cepas ANBR45 y ANBR63 poseen una capacidad notable para inhibir el crecimiento radial del hongo, con porcentajes que superan el 80%.

Esto indica que las bacterias autóctonas del noreste de México podrían emplearse eficientemente como agentes de biocontrol, proporcionando una opción sostenible frente a los métodos convencionales de control químico.

Las etapas subsecuentes implicarán la ejecución de ensayos complementarios con el hongo *Fusarium* spp. y la minuciosa caracterización de las cepas bacterianas (barcoding 16S y minería genómica) para una comprensión más profunda de sus mecanismos de acción y la optimización de su implementación en el campo de la biotecnología agrícola.

Estos hallazgos iniciales establecen un fundamento robusto para investigaciones subsecuentes y aplicaciones prácticas en la gestión sostenible de enfermedades agrícolas, respaldando de esta manera la continuación y ampliación de este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Arora, P. K., Tripathi, S., Anand, R., Chauhan, P., Sinhal, V. K., Singh, A., Srivastava, A., Garg, S. K., & Singh, V. P. (2024). Next-generation fertilizers: the impact of bionanofertilizers on sustainable agriculture. *Microbial Cell Factories*, 23, 254. <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02528-5>
- Cruz-Cárdenas, C. I., Zelaya Molina, L. X., Sandoval Cancino, G., Santos Villalobos, S. de los, Rojas Anaya, E., Chávez Díaz, I. F., & Ruíz Ramírez, S. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(5), 899-913. Epub 14 de marzo de 2022. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2905>
- Cuervo-Parra, J. A., Aparicio-Burgos, J. E., Pérez-España, V. H., Morales-Ovando, M. A., Peralta-Gil, M., & Romero-Cortes, T. (2024). Bioquímica de la pared celular de Gram positivas y Gram negativas. *PADI Boletín Científico de Ciencias Básicas E Ingenierías del ICBI*, 12(23), 1-8. <https://doi.org/10.29057/icbi.v12i23.11450>
- Deng, Y., Kong, W., Zhang, X., Zhu, Y., Xie, T., Chen, M., Zhu, L., Sun, J., Zhang, Z., Chen, C., Yin, H., Huang, S., & Gu, Y. (2024). Rhizosphere microbial community enrichment processes in healthy and diseased plants: implications of soil properties on biomarkers. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1333076. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1333076>
- Hernández-Lauzardo, A. N., Bautista-Baños, S., Valle, M. G. V., & Hernández-Rodríguez, A. (2007). Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos. *Revista Mexicana de Fitopatología(En Línea)/Revista Mexicana de Fitopatología*, 25(1), 66-74. <http://www.redalyc.org/pdf/612/61225109.pdf>.
- INIFAP. (2021). Recursos genéticos microbianos para la seguridad alimentaria. Recuperado de <https://www.gob.mx/inifap/articulos/recursos-geneticos-microbianos-para-la-seguridad-alimentaria>
- Krishnan, S. V., Nampoothiri, K. M., Suresh, A., Linh, N. T., Balakumaran, P. A., Pócsi, I., & Pusztahelyi, T. (2024). Fusarium biocontrol: antagonism and mycotoxin elimination by lactic acid bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1260166. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1260166>

- Mokobi, F. (2020). *Fusarium spp.* En línea: <https://microbenotes.com/fusarium-spp/> Fecha de consulta: julio de 2020.
- Pranab, D., Muthukrishnan, G., Sabarinathan Kutalingam, G., Rajakumar, D., Ananthi, K., Karthiba, L., Kalaiselvi, P., M. Arumugam, P., Gk, U., Sarodee, B., Lipa, D., Arti, K., Madhusmita, M., Punabati, H., & Ak, M. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and its mechanisms against plant diseases for sustainable agriculture and better productivity. *Biocell*, 46(8), 1843-1859. <https://doi.org/10.32604/biocell.2022.019291>
- Rodríguez-Sahagún, A., Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O., Acevedo-Hernández, G., & Aarland, R. C. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 333-345. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>
- Rubio-Tinajero, S., Osorio-Hernández, E., Estrada-Drouaillet, B., Silva-Espinosa, J. H. T., Rodríguez-Mejía, M. de L., & Nava-Juárez, R. A. (2021). Biocontrol in vitro de *Fusarium oxysporum* y *Dickeya chrysanthemi* con antagonistas. *Revista mexicana de fitopatología*, 39(3), 515-528. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2104-1>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2022). Biofertilizantes, nutrición integral y respeto al medio ambiente. Recuperado de <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/biofertilizantes-nutricion-integral-y-respeto-al-medio-ambiente>.
- Universidad de Boyacá. (2019). Biofertilizantes: alternativa biotecnológica para los agroecosistemas. Recuperado de <https://www.uniboyaca.edu.co/es/documents/biofertilizantes-alternativa-biotecnologica-para-los-agroecosistemas>
- Velasco-Jiménez, A., Castellanos-Hernández, O., Acevedo-Hernández, G., Aarland, R. C., & Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de la Ciénega. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 333–345. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.470>
- Villarreal-Delgado MF, Villa-Rodríguez ED, Cira Chávez LA, Estrada-

Alvarado MI, Parra-Cota FI, De los Santos-Villalobos S. 2017. The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36(1): 95-130. DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1706-5

- Xu, Y., Li, J., Qiao, C., Yang, J., Li, J., Zheng, X., Wang, C., Cao, P., & Chen, Q. (2024). Rhizosphere bacterial community is mainly determined by soil environmental factors, but the active bacterial diversity is mainly shaped by plant selection. *BMC Microbiology*, 24, 450. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03611-y>