



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES

Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

Tesis

“Respuesta del manejo agrícola y de la agrobiodiversidad en plantaciones de *Agave cupreata* en Queréndaro, Michoacán”

Que presenta

Biól. María Teresa Molinero Medina

Como requisito para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Biológicas

Director de tesis:

Dr. Alejandro Martínez Palacios

Co-Directora de tesis:

Dra. Luciana Raggi Hoyos

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi asesor el Dr. Alejandro Martínez y a mi co-asesora la Dra. Luciana Raggi por haberme compartido sus experiencias y conocimientos para poder desarrollar este trabajo. Agradezco al Dr. Bruno Chávez, al Dr. John Larsen y al Dr. Cuauhtémoc Sáenz por brindarme las herramientas y el tiempo que le dedicaron a este proyecto. Aprendí de cada uno de ustedes y agradezco haber tenido esa oportunidad.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada. Al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF), y al Laboratorio Nacional de Nutrigenómica y Microbiómica Digestiva Animal (LANMDA) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) por brindarme el espacio y las instalaciones para desarrollar esta investigación. Agradezco al Dr. Hipócrates Nolasco Cancino por abrirnos las puertas con el Consejo Regulador del Mezcal (CRM) del año 2020 quienes brindaron el presupuesto para que se llevara a cabo el proyecto.

También agradezco a todas las personas involucradas para la obtención de datos, a mis compañeras y amigas del Laboratorio de Biotecnología y Genética Forestal por ayudarme con las toma de muestras, cada salida fueron aventuras divertidas gracias a ustedes. A las auxiliares técnicos y alumnos del LANMDA por ayudarme con el procesamiento de las muestras, pero sobre todo porque encontré en ellos apoyo y amistad.

A los nuevos amigos y colegas que hice gracias a la maestría, porque aprendimos juntos y aprendí de ellos, nos motivamos unos a los otros para salir adelante y seguir enamorándonos de la ciencia. A esos amigos que por años han estado conmigo en la tranquilidad y la tempestad. A mi familia por su amor, por motivarme a superarme a mí misma y por creer en mí.

ÍNDICE

1.	RESUMEN	1
2.	SUMMARY	2
3.	INTRODUCCIÓN	3
4.	ANTECEDENTES	5
4.1	Agrobiodiversidad y servicios ecológicos.....	5
4.1.1	Plantas herbáceas silvestres.....	6
4.1.2	Microbioma	7
4.2	Bacterias promotoras del crecimiento asociadas a la raíz en agaves	9
4.2.1	Metagenómica en agaves	11
4.3	Efecto de las prácticas de manejo sobre las propiedades del suelo y la microbiota.....	12
4.3.1	Herbicidas.....	13
4.3.2	Fertilizantes	16
5.	JUSTIFICACIÓN.....	20
6.	HIPÓTESIS.....	21
7.	OBJETIVOS.....	22
7.1	Objetivo general.....	22
7.2	Objetivos particulares	22
8.	ÁREA DE ESTUDIO	23
8.1	Diseño experimental	23
9.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
9.1	Efecto de las prácticas de manejo sobre el crecimiento y salud de <i>Agave cupreata</i>	25
9.1.1	Crecimiento de <i>A. cupreata</i>	25
9.1.2	Incidencia y pérdida de daño por picudo (<i>Scyphophorus acupunctatus</i>) en <i>A. cupreata</i>	25
9.2.	Efecto de las prácticas de manejo sobre las propiedades químicas y enzimáticas del suelo de la zona de la raíz de <i>A. cupreata</i>	28
9.3	Comunidades bacterianas de la rizosfera y endófitas de la raíz de <i>A. cupreata</i>	30
10.	RESULTADOS	32
10.1	Crecimiento y supervivencia de agaves	32
10.1.1	Manejo de vegetación.....	32
10.1.2	Tipo de fertilización.....	35
10.1.3	Supervivencia	36

10.1.4 Productividad (desde la biomasa)	38
10.2 Incidencia y pérdida por daño por picudo (<i>Scyphophorus acupunctatus</i>).....	39
10.3 Propiedades del suelo de la zona de la raíz de <i>A. cupreata</i>	42
10.3.1 Manejo de la vegetación	42
10.3.2 Tipo de fertilización.....	44
10.4 Comunidades bacterianas rizosféricas y endófitas de la raíz de <i>A. cupreata</i>	48
11. DISCUSIÓN.....	61
11.1 Efecto de las prácticas de manejo sobre el crecimiento y salud de <i>A. cupreata</i>	61
11.1.1 Manejo de la vegetación	61
11.1.2 Tipo de fertilización.....	61
11.1.3 Supervivencia y productividad	62
11.1.4 Incidencia de picudo negro (<i>Scyphophorus acupunctatus</i>).....	63
11.2 Propiedades del suelo de la zona de la raíz de <i>A. cupreata</i>	64
11.2.1 Manejo de la vegetación	64
11.2.2 Tipo de fertilización.....	66
11.3 Comunidades bacterianas de la rizosfera y endófitas de la raíz de <i>A. cupreata</i>	68
12. CONCLUSIONES	78
13. LITERATURA CITADA.....	79
14. ANEXOS	94

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. CATEGORÍAS PARA DETERMINAR EL AVANCE Y EL DAÑO POR EL ATAQUE DE PICUDO NEGRO (S. ACUPUNCTATUS) EN A. CUPREATA.	26
CUADRO 2. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL MODELO LINEAL GENERALIZADO (GLM) Y VALORES PROMEDIOS PARA EL INCREMENTO DE TAMAÑO DEL DIÁMETRO Y LA ALTURA DE LAS PLANTAS DE AGAVE A 12 MESES TRATADAS CON LOS FACTORES: MANEJO DE LA VEGETACIÓN (GLIFOSATO, CONTROL MANUAL DE MALEZAS) Y TIPO DE FERTILIZACIÓN (COMPOSTA, HUMUS, TRIPLE16, SIN FERTILIZACIÓN), Y EL DIÁMETRO Y ALTURA A DOS AÑOS DE LAS PLANTAS DE AGAVE.....	33
CUADRO 3. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL MODELO LINEAL GENERALIZADO (GLM) PARA LA SUPERVIVENCIA DE A. CUPREATA A 12 MESES DE LA APLICACIÓN DE LOS FACTORES: MANEJO DE LA VEGETACIÓN (GLIFOSATO, CONTROL MANUAL DE MALEZAS) Y TIPO DE FERTILIZACIÓN (COMPOSTA, HUMUS, TRIPLE16, SIN FERTILIZACIÓN). (CM) CUADRADOS MEDIOS, (GL) GRADOS DE LIBERTAD.....	36
CUADRO 4. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL MODELO LINEAL GENERALIZADO (GLM) PARA LA INCIDENCIA DE PICUDO NEGRO (SCYPHOPHORUS ACUPUNCTATUS) EN A. CUPREATA A 17 MESES DE LA APLICACIÓN DE LOS FACTORES: MANEJO DE LA VEGETACIÓN (GLIFOSATO, CONTROL MANUAL DE MALEZAS) Y TIPO DE FERTILIZACIÓN (COMPOSTA, HUMUS, TRIPLE16, SIN FERTILIZACIÓN). (CM) CUADRADOS MEDIOS, (GL) GRADOS DE LIBERTAD.	39
CUADRO 5. VALORES DE LOS PORCENTAJES DEL NIVEL DE INCIDENCIA POR PICUDO NEGRO (SCYPHOPHORUS ACUPUNCTATUS) EN A. CUPREATA A 17 MESES DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS. NIVEL DE AVANCE: PLANTA COMPLETAMENTE SANA (1), PERFORACIONES EN LAS HOJAS DEL 2020 (2), PERFORACIONES EN LAS HOJAS DEL 2021 (3), PERFORACIONES EN LAS HOJAS DEL 2020 Y 2021 (4), PERFORACIONES EN LAS HOJAS DEL 2020 Y DAÑO EN EL COGOLLO DEL 2021 (5), DAÑO SEVERO CON SECRECIONES GOMOSAS Y NECROSIS EN EL COGOLLO DEL 2021 (6).	41
CUADRO 6. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL MODELO LINEAL GENERALIZADO (GLM) PARA LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO DE LA ZONA DE LA RAÍZ DE A. CUPREATA A 12 MESES DE LA APLICACIÓN DE LOS FACTORES: MANEJO DE LA VEGETACIÓN (GLIFOSATO, CONTROL MANUAL DE MALEZAS) Y TIPO DE FERTILIZACIÓN (COMPOSTA, HUMUS, TRIPLE16, SIN FERTILIZACIÓN). (CM) CUADRADOS MEDIOS, (GL) GRADOS DE LIBERTAD.	46
CUADRO 7. VALORES PROMEDIOS PARA LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO DE LA ZONA DE LA RAÍZ DE A. CUPREATA A 12 MESES DE LA APLICACIÓN DE LOS FACTORES: MANEJO DE LA VEGETACIÓN (GLIFOSATO, CONTROL MANUAL DE MALEZAS) Y TIPO DE FERTILIZACIÓN (COMPOSTA, HUMUS, TRIPLE16, SIN FERTILIZACIÓN).....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	24
FIGURA 2. INFESTACIÓN DE A. CUPREATA POR SCYPHOPHORUS ACUPUNCTATUS: A) S. ACUPUNCTATUS ADULTO, B) DAÑO RECIENTE POR ADULTO EN EL COGOLLO.....	26
FIGURA 3. GRADO VISUAL PARA DETERMINAR EL AVANCE Y EL DAÑO POR EL ATAQUE DE PICUDO NEGRO (S. ACUPUNCTATUS) EN A. CUPREATA.....	27
FIGURA 4. DIFERENCIA DE RESPUESTA EN EL USO DE GLIFOSATO Y CONTROL MANUAL DE MALEZAS (CMM) EN PLANTACIONES DE A. CUPREATA: A Y C) INCREMENTO DEL DIÁMETRO Y LA ALTURA DE LAS PLANTAS A 12 MESES CON DESHIERBE CON GLIFOSATO Y CMM. B Y D) VALORES PROMEDIO DEL DIÁMETRO Y LA ALTURA DE LAS PLANTAS DE AGAVE A DOS AÑOS, CON DESHIERBE CON GLIFOSATO Y CMM. DIFERENTES LETRAS SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES SEGÚN LA PRUEBA DE TUKEY, LAS BARRAS REPRESENTAN EL ERROR ESTÁNDAR DEL PROMEDIO ($P \leq 0.05$).....	32
FIGURA 5. DIFERENCIA DE RESPUESTA EN EL USO DE GLIFOSATO CON Y SIN FERTILIZANTE INORGÁNICO EN PLANTACIONES DE A. CUPREATA: A Y B) INCREMENTO DEL DIÁMETRO Y LA ALTURA DE LAS PLANTAS A 12 MESES CON GLIFOSATO Y TRATAMIENTO SIN FERTILIZANTE (SF). C Y D) INCREMENTO DEL DIÁMETRO Y LA ALTURA DE LAS PLANTAS A 12 MESES CON GLIFOSATO Y GLIFOSATO COMBINADO CON FERTILIZANTE INORGÁNICO (T16). DIFERENTES LETRAS SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES SEGÚN LA PRUEBA DE TUKEY, LAS BARRAS REPRESENTAN EL ERROR ESTÁNDAR DEL PROMEDIO ($P \leq 0.05$).....	34
FIGURA 6. DIFERENCIA DE RESPUESTA CON Y SIN EL USO DE FERTILIZANTES ORGÁNICOS E INORGÁNICOS EN PLANTACIONES DE A. CUPREATA: A Y C) INCREMENTO DEL DIÁMETRO Y LA ALTURA DE LAS PLANTAS A 12 MESES DE USO DE COMPOSTA, HUMUS, TRIPLE16 Y SIN FERTILIZACIÓN. B Y D) VALORES PROMEDIO DE DIÁMETRO Y LA ALTURA DE LAS PLANTAS DE AGAVE A DOS AÑOS, CON USO DE COMPOSTA, HUMUS, TRIPLE16 Y SIN FERTILIZACIÓN. DIFERENTES LETRAS SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES SEGÚN LA PRUEBA DE TUKEY, LAS BARRAS REPRESENTAN EL ERROR ESTÁNDAR DEL PROMEDIO ($P \leq 0.05$).	35
FIGURA 7. CURVA DE SUPERVIVENCIA DE PLANTAS DE A. CUPREATA, SUJETAS A DIFERENTES TRATAMIENTOS. (G) GLIFOSATO, (GT) GLIFOSATO Y TRIPLE 16, (T) TRIPLE 16, (H) HUMUS, (SF) SIN FERTILIZACIÓN Y (C) COMPOSTA.....	37
FIGURA 8. ÍNDICE DE PRODUCTIVIDAD DE A. CUPREATA A 12 MESES EN DISTINTOS TRATAMIENTOS: (G) GLIFOSATO, (GT) GLIFOSATO Y TRIPLE16, (T) TRIPLE16, (H) HUMUS, (SF) SIN FERTILIZACIÓN Y (C) COMPOSTA.....	38
FIGURA 9. PORCENTAJE DEL NIVEL DE INCIDENCIA POR PICUDO NEGRO (SCYPHOPHORUS ACUPUNCTATUS) EN A. CUPREATA A 17 MESES DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS: GLIFOSATO (GLIF), GLIFOSATO Y TRIPLE16 (GLIF+TRIP), TRIPLE16 (TRIP), HUMUS (HUM), SIN FERTILIZACIÓN (SF), COMPOSTA (COMP). NIVEL DE AVANCE: PLANTAS MUERTAS (0), PLANTA COMPLETAMENTE SANA (1), PERFORACIONES EN LAS HOJAS DEL 2020 (2), PERFORACIONES EN LAS HOJAS DEL 2021 (3), PERFORACIONES EN LAS HOJAS DEL 2020 Y 2021 (4), PERFORACIONES EN LAS HOJAS DEL 2020 Y DAÑO EN EL COGOLLO DEL 2021 (5), DAÑO SEVERO CON SECRECIONES GOMOSAS Y NECROSIS EN EL COGOLLO DEL 2021 (6).	40
FIGURA 10. VALORES PROMEDIO DE LA RESPUESTA ENZIMÁTICA CON EL USO DE GLIFOSATO Y CONTROL MANUAL DE MALEZAS EN EL SUELO DE LA ZONA DE LA RAÍZ DE A. CUPREATA: A) FE: FOSFOMONOESTERASA. B) BG: B-GLUCOSIDASA. C) PO: POLIFENOL OXIDASA. D) LA: LEUCINA AMINOPEPTIDASA. DIFERENTES LETRAS SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES SEGÚN LA PRUEBA DE TUKEY, LAS BARRAS REPRESENTAN EL ERROR ESTÁNDAR DEL PROMEDIO ($P \leq 0.05$).	43
FIGURA 11. VALORES PROMEDIO DE LA RESPUESTA QUÍMICA CON EL USO DE GLIFOSATO Y CONTROL MANUAL DE MALEZAS EN EL SUELO DE LA ZONA DE LA RAÍZ DE A. CUPREATA: A) PH. B) CE: CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA. C) CARBONO ORGÁNICO. D) CO ₂ . DIFERENTES LETRAS SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES SEGÚN LA PRUEBA DE TUKEY, LAS BARRAS REPRESENTAN EL ERROR ESTÁNDAR DEL PROMEDIO ($P \leq 0.05$).	43
FIGURA 12. VALORES PROMEDIO DE LA RESPUESTA ENZIMÁTICA DE LA RESPUESTA CON Y SIN EL USO DE FERTILIZANTES ORGÁNICOS E INORGÁNICOS EN EL SUELO DE LA ZONA DE LA RAÍZ DE A. CUPREATA: A) FE: FOSFOMONOESTERASA. B) BG: B-GLUCOSIDASA. C) PO: POLIFENOL OXIDASA. D) LA: LEUCINA	

AMINOPEPTIDASA. DIFERENTES LETRAS SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES SEGÚN LA PRUEBA DE TUKEY, LAS BARRAS REPRESENTAN EL ERROR ESTÁNDAR DEL PROMEDIO ($P \leq 0.05$).	45
FIGURA 13. VALORES PROMEDIO DE LA RESPUESTA CON Y SIN EL USO DE FERTILIZANTES ORGÁNICOS E INORGÁNICOS EN EL SUELO DE LA ZONA DE LA RAÍZ DE A. CUPREATA: A) PH. B) CE: CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA. C) CARBONO ORGÁNICO. D) CO ₂ . DIFERENTES LETRAS SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES SEGÚN LA PRUEBA DE TUKEY, LAS BARRAS REPRESENTAN EL ERROR ESTÁNDAR DEL PROMEDIO ($P \leq 0.05$).	45
FIGURA 14. CURVAS DE RAREFACCIÓN A PARTIR DE LA MATRIZ DE UNIDADES TAXONÓMICAS OPERATIVAS (OTUs) BACTERIANAS DE A. CUPREATA EN DISTINTOS TRATAMIENTOS: (G) GLIFOSATO, (GT) GLIFOSATO Y TRIPLE16, (T) TRIPLE16, (H) HUMUS, (C) COMPOSTA, (SF) SIN FERTILIZACIÓN. A) BACTERIAS RIZOSFÉRICAS. B) BACTERIAS ENDÓFITAS DE LA RAÍZ.....	48
FIGURA 15. ESTIMADOR CHAO1 E ÍNDICE DE SHANNON ESTIMANDO LA DIVERSIDAD BACTERIANA DE LA RIZOSFERA Y RAÍZ DE A. CUPREATA EN DIFERENTES TRATAMIENTOS: GLIFOSATO (GLI), GLIFOSATO Y TRIPLE16 (GLI+T16), TRIPLE16 (T16), HUMUS (HUM), SIN FERTILIZACIÓN (SF), COMPOSTA (COM). A) RIZOSFERA. B) RAÍZ.....	50
FIGURA 16. GRÁFICA DE ESCALA MULTIDIMENSIONAL NO MÉTRICA (NMDS) DE LA DIVERSIDAD BETA DE BRAY-CURTIS ESTIMADA A PARTIR DE LA MATRIZ DE UNIDADES TAXONÓMICAS OPERATIVAS (OTUs) BACTERIANAS DE LA RIZOSFERA Y RAÍZ DE A. CUPREATA CON DIFERENTES TRATAMIENTOS: GLIFOSATO (G), GLIFOSATO Y TRIPLE16 (GT), TRIPLE16 (T), HUMUS (H), COMPOSTA (C), IN FERTILIZACIÓN (SF). A) RIZOSFERA. B) RAÍZ.....	51
FIGURA 17. GRÁFICAS DE ABUNDANCIA RELATIVA DE BACTERIAS RIZOSFÉRICAS DE A. CUPREATA CON DIFERENTES TRATAMIENTOS: COMPOSTA (COM), GLIFOSATO (GLI), GLIFOSATO Y TRIPLE16 (GLI+TR), HUMUS (HUM), SIN FERTILIZACIÓN (SF) Y TRIPLE16 (TR). A) NIVEL DE PHYLUM. B) NIVEL DE GÉNERO. ..	53
FIGURA 18. GRÁFICAS DE ABUNDANCIA RELATIVA DE BACTERIAS ENDÓFITAS DE LA RAÍZ DE A. CUPREATA CON DIFERENTES TRATAMIENTOS: COMPOSTA (COM), GLIFOSATO (GLI), GLIFOSATO Y TRIPLE16 (GLI+TR), HUMUS (HUM), SIN FERTILIZACIÓN (SF) Y TRIPLE16 (TR). A) NIVEL DE PHYLUM. B) NIVEL DE GÉNERO. ..	54
FIGURA 19. MAPAS LEFSe DE LOS GÉNEROS DIFERENCIALMENTE ABUNDANTES DE BACTERIAS ENDÓFITAS DE LA RAÍZ DE A. CUPREATA ENTRE TRATAMIENTOS, $P < 0.05$, LDA > 2 COMO ESTÁNDAR. A) GÉNEROS SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENCIALES ENTRE LOS TRATAMIENTOS: (SF) SIN FERTILIZACIÓN (BARRAS VERDES) Y (G) GLIFOSATO (BARRAS ROJAS). B) GÉNEROS SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENCIALES ENTRE LOS TRATAMIENTOS: (SF) SIN FERTILIZACIÓN (BARRAS VERDES) Y (C) COMPOSTA (BARRAS ROJAS).....	57
FIGURA 20. MAPAS LEFSe DE LOS GÉNEROS DIFERENCIALMENTE ABUNDANTES DE BACTERIAS ENDÓFITAS DE LA RAÍZ DE A. CUPREATA ENTRE TRATAMIENTOS, $P < 0.05$, LDA > 2 COMO ESTÁNDAR. A) GÉNEROS SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENCIALES ENTRE LOS TRATAMIENTOS: (GT) GLIFOSATO + TRIPLE16 (BARRAS ROJAS) Y (T) TRIPLE16 (BARRAS VERDES). B) GÉNEROS SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENCIALES ENTRE LOS TRATAMIENTOS: (SF) SIN FERTILIZACIÓN (BARRAS ROJAS) Y (T) TRIPLE16 (BARRAS VERDES). C) GÉNEROS SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENCIALES ENTRE LOS TRATAMIENTOS: (SF) SIN FERTILIZACIÓN (BARRAS VERDES) Y (G) GLIFOSATO (BARRAS ROJAS).....	58
FIGURA 21. ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA CANÓNICA (CCA) BASADO EN LA ABUNDANCIA RELATIVA DE LOS 30 GÉNEROS MÁS ABUNDANTES DE BACTERIAS Y LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS EN A. CUPREATA. LAS FLECHAS AZULES REPRESENTAN LOS PARÁMETROS DEL SUELO: (C ORG) CARBONO ORGÁNICO, (CO ₂) RESPIRACIÓN MICROBIANA, (CE) CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA, (LA) LEUCINA AMINOPEPTIDASA, (BG) B-GLUCOSIDASA, (FE) FOSFOMONOESTEREAZA, (PO) POLIFENOL OXIDASA. LOS PUNTOS VERDES INDICAN LOS TRATAMIENTOS: (SF) SIN FERTILIZACIÓN, (C) COMPOSTA, (G) GLIFOSATO, (H) HUMUS, (T) TRIPLE16 Y (GT) GLIFOSATO + TRIPLE16. LAS LETRAS GRISAS INDICAN LOS GÉNEROS DE BACTERIAS. A) MUESTRAS DE LA RIZOSFERA. B) MUESTRAS DE LA RAÍZ.	60

1. RESUMEN

Las bacterias son componentes clave en el ciclo de nutrientes y la descomposición de la materia orgánica, sin embargo, se desconoce el efecto de las prácticas de manejo sobre las bacterias en un cultivo de *Agave cupreata*. En este estudio se comparó el efecto de las prácticas de manejo sobre los agaves y las comunidades bacterianas. Se analizó el tamaño y salud de los agaves, las propiedades químicas del suelo de la zona de la raíz y, las comunidades bacterianas de la rizosfera y endófitas de la raíz mediante la secuenciación del gen 16S rRNA en seis tratamientos: tres bajo manejo agrícola convencional representando por el glifosato (G), glifosato y triple16 (GT) y triple16 (T), y los otros tres bajo manejo de la agrobiodiversidad representado por humus (H), composta (COM) y sin fertilización (SF). Todos los tratamientos tuvieron control manual de malezas (CMM), excepto G y GT. Los resultados muestran que las plantas con mayor crecimiento fueron con G en comparación con CMM durante 12 meses. También, fue mayor el incremento en las plantas fertilizadas con T y SF. Sin embargo, con G tuvieron 81% de supervivencia, además G y T tuvieron mayor incidencia de daño por picudo negro (*Scyphophorus acupunctatus*), mientras que en SF tuvo 100% de supervivencia. El manejo convencional (G y T) alteró la comunidad microbiana, incrementó significativamente la actividad enzimática de leucina aminopeptidasa y polifenol oxidasa, sin embargo, el CMM y la COM disminuyeron dicha actividad y aumentó el contenido de C orgánico en el suelo de la zona de la raíz. Por otra parte, el LEfSe indicó que la aplicación de G y COM modificó la comunidad bacteriana de la rizosfera, así como el T y el GT sobre la raíz. Además, el análisis de correspondencia canónica (CCA) demostró que el C orgánico y las enzimas fueron factores clave para conformar la comunidad bacteriana, principalmente en la rizosfera. Nuestros resultados sugieren que permitir el crecimiento de la vegetación silvestre y la adición de composta aumenta la materia orgánica del suelo, la disponibilidad de nutrientes y la diversidad bacteriana, lo que incrementa el crecimiento y supervivencia del cultivo.

Palabras Clave: Fertilizantes inorgánicos, fertilizantes orgánicos, herbicidas, malezas

2. SUMMARY

Bacteria are key components on the nutrient cycle and decomposition of organic matter, nevertheless, the effects of management practices on *Agave cupreata* crops are still unknown. This study compared the effects of conventional management practices against agrobiodiversity management over the agave and bacterial communities. The analysis covers the size and health of the agaves, the chemical properties of the soil in the root's zone and the bacterial communities of the rhizosphere and endophytes on the root through the sequencing of the 16S rRNA gene on six treatments: three under conventional agricultural management represented by the glyphosate (G), glyphosate and triple 16 (GT) and triple 16 (T), and the other three under agrobiodiversity management represented by humus (H), compost (COM) and without fertilizers (SF). All the treatments had manual undergrowth control (CMM), except G and T. The results showed that plants had bigger growth with G in comparison with CMM in a 12-month period. Also, plants fertilized with T and SF had an increment in growth. Nevertheless, they had an 81% survival rate with G, also, G and T had a higher damage incidence by black weevil (*Scyphophorus acupunctatus*), while SF had a 100% survival rate. Conventional management (G and T) altered the microbial community, enzymatic activity of leucyl aminopeptidase and polyphenol oxidase had a significant increase while CMM and COM had lower values on said activity and an increase in the content of organic C in the root's soil zone. On the other hand, the LEfSe indicated that the application of G and COM modified the bacterial community on the rhizosphere, as well as T and G on the root. Also, the canonical correspondence analysis (CCA) demonstrated that the organic C and enzymes were a key factor in the composition of the bacterial community, especially on the rhizosphere. The results suggest that allowing the growth of wild vegetation with the addition of compost increased the organic matter on the soil, the availability of nutrients and bacterial biodiversity, which in turn, increases the growth and survival of the crops.

Keywords: Inorganic fertilizers, organic fertilizers, herbicides, weeds

3. INTRODUCCIÓN

El género *Agave* se distribuye en más del 75% del país, particularmente en las zonas áridas y semiáridas (García-Mendoza, 2007), se consideran especies clave por producir elevadas cantidades de recursos, son usadas como materia prima para producir bebidas fermentadas, destiladas y fibras, entre muchos otros usos (Avendaño-Arrazate *et al.*, 2015). El mezcal es una de las bebidas más importantes, las destilerías mexicanas producen cerca de ocho millones de litros de mezcal cada año (COMERCAM, 2020).

Para producir mezcal en Michoacán, *Agave cupreata* Trel. & Berger (Maguey Chino) es una de las especies más explotadas, esta especie se distribuye en las laderas de la depresión del Balsas entre 1220 a 1850 msnm en los estados de Guerrero y Michoacán (Gentry, 1982; Martínez-Palacios *et al.*, 2011), se reproduce únicamente por semilla y es una planta que alcanza la madurez sexual entre los 7 y 15 años (Avendaño-Arrazate *et al.*, 2015).

Aunque en Michoacán es ampliamente cultivada, tiene apenas dos décadas el establecimiento de plantaciones, por lo cual, existen registros de que el manejo de las plantaciones de *A. cupreata* han sido ineficientes, y que en el Estado ha habido pérdidas de hasta el 80% del área sembrada, asociado a la falta de asesoría técnica y el uso excesivo de agroquímicos por algunos productores (Martínez-Castro *et al.*, 2015).

Las características sobresalientes de los sistemas de manejo agrícola convencional son la simplificación del sistema, reducción importante de la biodiversidad, uniformidad a nivel genético (Sarandón, 2009), uso intensivo de agroquímicos y fertilizantes, tendencia al monocultivo, degradación del suelo y el aumento en los riesgos para la salud humana (Gliessman, 2002).

Es por esto, que es importante llevar a cabo prácticas basadas en la conservación y manejo de la biodiversidad asociada a los sistemas agrícolas, es decir, usar los componentes de la agrobiodiversidad como una propuesta para crear sistemas sustentables (Thrupp, 2004; Bergel, 2017). Dentro de los componentes de la agrobiodiversidad se incluyen las especies cultivadas, las especies silvestres

comúnmente llamadas como “malezas” y las especies asociadas que interactúan con ellas, como los polinizadores, los simbioses, los depredadores y las plagas (Qualset *et al.*, 1995). Dichos componentes proveen numerosos servicios en los agroecosistemas que proporcionan beneficios a corto y largo plazo (Hooper y Vitousek, 1997; Swift *et al.*, 2004).

Particularmente, uno de los componentes fundamentales son los microorganismos del suelo que son importantes para la fertilidad, estructura y salud del suelo (Thrupp, 2000). En las últimas décadas, la metagenómica ha sido una herramienta fundamental para entender mejor las interacciones plantas - microorganismos (Calvo *et al.*, 2008). Sobre todo, de aquellas bacterias simbióticas y no simbióticas que contribuyen en el desarrollo de las plantas; por medio de la adquisición de nutrientes del ambiente, fijación de nitrógeno atmosférico, solubilización de fósforo, producción de hormonas vegetales y disminución de los efectos adversos por fitopatógenos (De Jesús Santos *et al.*, 2014).

En la presente investigación se determinó el efecto de las prácticas de manejo agrícolas convencionales y agroecológicas sobre las bacterias endófitas y rizosféricas, los parámetros químicos del suelo, así como sobre el crecimiento y salud de *A. cupreata*.

4. ANTECEDENTES

4.1 Agrobiodiversidad y servicios ecológicos

Los logros de la Revolución Verde fueron basados principalmente en el uso de fertilizantes inorgánicos y pesticidas, desencadenando una serie de alteraciones en los ciclos de los nutrientes, así como eutroficación de grandes ecosistemas (Casas y Vallejo, 2019). A finales de los años setenta, emerge la agroecología como respuesta a la crisis ecológica en la búsqueda de diseñar agroecosistemas de forma sustentable y económicamente viables. Sin embargo, a partir de la década de los ochenta surgió como un movimiento y un conjunto de prácticas (Wezel *et al.*, 2009).

Por lo tanto, la agroecología es una disciplina que provee la aplicación de conceptos y principios ecológicos para el diseño y manejo de agroecosistemas sostenibles, ambientalmente adecuados y económicamente viables (Gliessman, 2002). Desde hace unos años, se ha demostrado que los sistemas agrícolas dependen de la agrobiodiversidad para cumplir estos objetivos (Sarandón, 2020).

El sitio de producción agrícola es denominado agroecosistema. La intervención del ser humano hace que los agroecosistemas sean diferentes de los ecosistemas naturales. Sin embargo, es posible conservar los procesos, la estructura y otras características de un ecosistema natural (Gliessman, 2002). Como la red compleja de interacciones dando como resultado un sistema estable, caso contrario a los monocultivos (Griffon y Torres-Alruiz, 2016).

La agrobiodiversidad es el resultado de la selección natural y de las prácticas de manejo que se han llevado a cabo durante milenios (FAO, 2004). La agrobiodiversidad es un subconjunto de la biodiversidad que incluye la variación genética y la diversidad de animales, plantas y microorganismos que son utilizados directa o indirectamente para la agricultura. Toma en cuenta la diversidad de especies que regulan la producción, como los microorganismos del suelo, depredadores y polinizadores, componentes necesarios para sostener las funciones del agroecosistema (FAO, 1999).

La agrobiodiversidad proporciona a los agricultores materias primas, mejora la producción, la seguridad alimentaria, rentabilidad económica y hace a los sistemas sostenibles (FAO, 1999). Se propone como una vía alternativa para mejorar los servicios ecosistémicos, como es la dinámica de nutrientes, producción de biomasa, el control biológico de plagas y de enfermedades, la polinización, la reducción de la erosión, la retención del agua, incremento de la materia orgánica, entre muchos otros beneficios al ambiente (Constanzo y Bàrberi, 2014). Dichos procesos bioquímicos, biofísicos y biológicos aseguran la productividad biológica y la perpetuación del ecosistema (Swift *et al.*, 2004).

Se requiere tener una transición a una agricultura basada en procesos ecológicos y no a una dependiente de insumos externos (Sarandón, 2020). Existen algunos procesos ecológicos que deben tomarse en cuenta para optimizar el agroecosistema como la eliminación de agroquímicos, sustituidos por la adición de materia orgánica en el suelo y evitar el reemplazo de especies locales con especies mejoradas o exóticas (Altieri, 2001).

4.1.1 Plantas herbáceas silvestres

Las combinaciones de especies con rasgos funcionales particulares pueden proveer servicios al agroecosistema (Hooper y Vitousek, 1997). Las plantas silvestres asociadas al cultivo pueden conservar la humedad del suelo, aumentan la materia orgánica, sirven como refugio y fuente de alimento para los enemigos naturales de las plagas, para la macrofauna y para los humanos (Jordan y Vatovec, 2004; Rana y Rana, 2016). Además, las raíces de las plantas liberan compuestos orgánicos en forma de exudados e interactúan con los microorganismos del suelo (Bradi y Vivanco, 2009). Muchas plantas silvestres conocidas como malezas contienen una serie de fitoquímicos tales como saponinas, taninos, alcaloides, di y triterpenoides, entre otros, los cuales presentan alta actividad insecticida, que repelen a insectos nocivos (Jannet *et al.*, 2001).

Se ha comprobado que, en especies no domesticadas, las especies asociadas al cultivo resultan favorables. Madrigal y Zavala (2015) estudiaron sitios que

corresponden a la distribución natural de los agaves mezcaleros en Michoacán, observando que el mejor manejo es aquel que se acerca a las condiciones naturales en su condición silvestre. En este estudio, se destacan las plantas herbáceas acompañantes del cultivo, especialmente las plantas silvestres aromáticas que funcionan como repelentes de insectos que pudieran convertirse en plaga, y las leguminosas, al tener la facultad de fijar nitrógeno al suelo, además de poder ser usadas como forraje para el ganado. Por el contrario, los monocultivos con eliminación de la biodiversidad son sistemas vulnerables, genéticamente homogéneos y susceptibles a enfermedades (Swift *et al.*, 2004). La pérdida de biodiversidad genera un desequilibrio, que favorece el incremento de oportunistas y la manifestación de plagas y enfermedades (Krebs, 1985).

4.1.2 Microbioma

Los microorganismos del suelo son clave en ecosistemas agrícolas y naturales. En diversos trabajos se ha demostrado que tienen la capacidad de mejorar la salud y la productividad de los cultivos (Hodge *et al.*, 2010; Turner *et al.*, 2013; Shen *et al.*, 2014; Igiehon y Babalola, 2018), incluyendo el desarrollo de los agaves donde se ha demostrado el efecto de bacterias rizosféricas y endófitas en conjunto con hongos micorrízicos arbusculares (Robles-Martínez *et al.*, 2013; Bautista-Cruz *et al.*, 2015; De Jesus-Santos *et al.*, 2019; Bautista-Cruz *et al.*, 2020).

La presencia de algunos microorganismos eucariotas y procariotas de vida libre o simbioses que habitan en la rizosfera, cuentan con capacidades bioquímicas específicas, por lo que pueden estimular el crecimiento vegetal participando en varios mecanismos como la fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes, síntesis de sustancias reguladoras de crecimiento, control de patógenos, y la descomposición y mineralización de la materia orgánica de origen vegetal y animal (Loredo-Osti *et al.*, 2004; Swift *et al.*, 2004).

La compleja relación entre plantas y microorganismos rizosféricos es dada en el área adyacente a la raíz (rizosfera), a una distancia aproximada de 0 a 2 mm de la superficie, en este espacio ocurre la absorción de nutrientes y agua, y liberación de

exudados por las raíces que impactan en la estructura del suelo y en el establecimiento y actividad de las comunidades microbianas (Bertin *et al.*, 2003).

Los exudados de las raíces de las plantas aportan muchos tipos de compuestos orgánicos que incluyen azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, nucleótidos, vitaminas, entre otros (Jones *et al.*, 2004). La cantidad y tipo de exudados varía de acuerdo con factores bióticos como la especie y la edad fisiológica de la planta (Uren, 2000), así como de los factores abióticos, por ejemplo, la fertilización mineral, la humedad, el pH, la temperatura, el tipo de suelo y la sequía (Kuzyakov y Domanski, 2000). Los carbohidratos liberados de los exudados son el alimento de los microorganismos, dentro y fuera de la raíz, a cambio, los microorganismos le facilitan nitrógeno y fósforo a la planta (Lynch y Whipps, 1990).

Los microorganismos crean una red compleja planta - hongo micorrízico - bacteria (Jones *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2017). Diversos autores tratan de enlistar los factores bióticos y abióticos que determinan el ensamblaje del microbioma. Algunos han determinado que principalmente el pH y la humedad del suelo son los más importantes (Martin *et al.*, 2017; López-Lozano *et al.*, 2020). Mientras que también se mencionan otros factores que tienen gran influencia como es el caso de la disponibilidad de nitrógeno, el contenido de carbono orgánico y la temperatura (Fierer, 2017), además de la materia orgánica, las actividades enzimáticas y la conductividad eléctrica (Alia *et al.*, 2013).

Un alto contenido de materia orgánica suministra nutrientes y disponibilidad de agua, por lo cual mejora la fertilidad del suelo. La materia orgánica está compuesta principalmente por carbono orgánico, su incorporación al suelo es llevada a cabo por microorganismos heterótrofos (FAO, 2017). La descomposición o mineralización de la materia orgánica puede medirse a través de la emisión de CO₂ liberado por dichos microorganismos (Zhao *et al.*, 2016). Algunos factores que influyen en la descomposición incluyen la temperatura, el contenido de agua y la composición de la comunidad de microorganismos, entre otros (FAO, 2017).

Otro método para estimar la dinámica de la mineralización de la materia orgánica del suelo es calculando las actividades enzimáticas extracelulares que son capaces de influir en el ciclo biogeoquímico de C, N, P y S (Stevenson y Cole, 1999). Las enzimas catalizan las reacciones químicas, actuando en sustratos específicos para transformarlos en productos necesarios para los ciclos biológicos. Por lo que la actividad de celulasas, fosfatasas y otras hidrolasas, así como la respuesta a las perturbaciones son ampliamente estudiadas (Rincón y Muñoz, 2005). La actividad de las enzimas es mayor en la rizosfera que en el suelo a granel, debido a que la actividad microbiana es mayor al haber interacción con la planta, contribuyendo a ésta con los exudados o la liberación de enzimas de las raíces (Badalucco y Kuikman, 2001).

La enzima β -glucosidasa, cataliza la hidrólisis de glucósidos, actuando en la degradación microbiológica de la celulosa a glucosa (Tabatabai, 1994). La enzima fenol oxidasa, es responsable de la transformación de la lignina. Las ligninas son moléculas recalcitrantes de alto peso molecular de origen vegetal. Algunos microorganismos utilizan esta enzima para degradar la lignina y el humus. Por lo que estas dos enzimas están involucradas en la obtención del C (Durán y Esposito, 2000).

Las fosfatasas están encargadas de la hidrólisis de los compuestos de fósforo orgánico, por lo que está involucrada en el ciclo del P. Las fosfomonoesterasas se clasifican en ácidas y alcalinas, de acuerdo con el pH óptimo para su actividad (Eivazi y Tabatabai, 1977). Mientras que la leucina y alanina aminopeptidasa, hidrolizan los aminoácidos del extremo N-terminal de los polipéptidos y las proteínas, para obtener N orgánico (Zhang *et al.*, 2021).

4.2 Bacterias promotoras del crecimiento asociadas a la raíz en agaves

Las comunidades bacterianas juegan un papel importante en los procesos biogeoquímicos y son clave para la productividad agrícola, debido a que tienen la

capacidad de producir y consumir gases atmosféricos, acidificar el suelo, intervenir en el ciclo del carbono y de otros nutrientes como el nitrógeno, el fósforo, el hierro y el azufre (Fierer, 2017).

La capacidad de fijar N atmosférico pertenece a varios grupos simbióticos y no simbióticos de bacterias diazotórfas y arqueas. Donde el N_2 es reducido a través de la enzima nitrogenasa resultando la síntesis de NH_4 (Kneip, 2007), proceso conocido como fijación biológica de nitrógeno (De Jesús Santos *et al.*, 2014). Se ha demostrado la presencia de bacterias diazotróficas en todos los tejidos internos (raíz, tallo, hoja, inflorescencia y bulbillos) y rizosfera de *Agave sisalana*, sin embargo, son más abundantes en las raíces. Los géneros más abundantes fueron *Bacillus*, *Leifsonia*, *Enterobacter* y *Rhizobium* (De Jesús-Santos, 2019).

Por otro lado, los organismos solubilizadores de fosfatos tienen la capacidad de solubilizar por medio de ácidos orgánicos (Zaidi *et al.*, 2009). La concentración de P soluble y disponible para las plantas suele ser muy baja por fijarse al Ca y Mg en suelos calcáreos, y, al Fe y al Al en suelos ácidos (Alia *et al.*, 2013; Bautista-Cruz *et al.*, 2019). Sin embargo, se ha confirmado que las bacterias solubilizadoras de fosfato (BSP) de la rizosfera de *A. angustifolia* pueden solubilizar más el P del fosfato tricálcico ($Ca_3(PO_4)_2$) que del fosfato de aluminio ($AlPO_4$) y del fosfato de hierro ($FePO_4$) (Martínez-Gallegos *et al.*, 2018).

Con respecto a esto, se ha comprobado que las BSP de la rizosfera de *A. angustifolia* pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Enterobacter* y *Aeromonas*, al inocularse incrementó el peso seco aéreo, el peso de la raíz y el diámetro del tallo de *A. angustifolia* con respecto al control (Bautista-Cruz *et al.*, 2015). La combinación de *Pseudomonas luteola* y *Bacillus* sp. incrementó la altura, el peso seco de hojas, el diámetro y el peso de las raíces en relación con el control. El notable efecto en raíces y hojas también se debe a que todas las cepas producen ácido indol acético (AIA) y ácido giberélico (Bautista-Cruz *et al.*, 2019), hormonas que promueven el crecimiento vegetal (Martínez-Gallegos *et al.*, 2018).

Las interacciones entre bacterias y plantas dan como resultado la producción y modulación de hormonas vegetales (López *et al.*, 2008). Asimismo, los géneros *Leifsonia* y *Rhizobium* aislados a partir de *A. sisalana* han estimulado la proliferación de las raíces de otras especies de plantas debido a la producción de AIA (De Jesús-Santos *et al.*, 2014).

En cuanto a las bacterias endófitas, se han aislado bacterias de la base de las hojas de *A. tequilana* que incrementan el crecimiento por su fijación de N y solubilización de fosfato, especies pertenecientes a los géneros *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella* y *Pseudomonas* (Martínez-Rodríguez *et al.*, 2014).

4.2.1 Metagenómica en agaves

Debido a que el microbioma del suelo puede tener efectos en diversos procesos del agroecosistema, es importante identificar los taxones que son responsables de dichos procesos (Fierer, 2017). Recientemente, la metagenómica es un método ampliamente usado para evaluar la estructura de las comunidades de microorganismos del suelo y de los tejidos de las plantas, registrando una extensa lista de especies y efectos (Bonfante y Anca, 2009), que revelan la salud del agroecosistema y los factores que pueden alterar dichas comunidades (Calvo *et al.*, 2008).

Coleman-Derr *et al.* (2015) compararon la composición en seis sitios distintos de la planta, de *A. tequilana* cultivado, *A. salmiana* y *A. deserti* nativos, a través de la amplificación de la región 16S rRNA. Se ha encontrado que la rizosfera de *A. tequilana* está conformada el 92% en promedio por las órdenes Pseudomonales y Enterobacteriales. Por otro lado, los endófitos de la raíz registrados pertenecen a los filos Actinobacteria, Alpha- Beta- y Gamma-proteobacteria. También se encontró que *A. tequilana* tuvo niveles más bajos de diversidad procariota en comparación con las especies silvestres. La reducción de procariotas podría deberse al tipo de sistema

monocultivo y al tipo de reproducción vegetativo, dando como resultados agaves genéticamente idénticos. Otro estudio tuvo resultados similares, donde *A. tequilana* se registró con menor diversidad microbiana que en *A. salmiana*, *Opuntia robusta* y *Myrtillocactus geometrizans*, estas tres últimas silvestres (Flores-Núñez *et al.*, 2020).

López-Lozano *et al.* (2020), investigaron las comunidades microbianas de la rizosfera de *A. lechuguilla* y del suelo a granel, a través de la secuenciación del gen 16S rRNA. Este agave recluta microorganismos con rasgos funcionales que benefician a la planta a través de la promoción del crecimiento y la nutrición. Encontraron una mayor abundancia relativa de fijadores de N en la rizosfera que en el suelo a granel, representado principalmente por Sphingomonadales y Rhizobiales. Mientras que los solubilizadores de P pertenecen a la familia Gaiellaceae. La influencia de la temporada seca o de lluvias no fue significativa sobre las comunidades bacterianas.

4.3 Efecto de las prácticas de manejo sobre las propiedades del suelo y la microbiota

El uso de fertilizantes inorgánicos, pesticidas y organismos inoculados con bacterias son aplicados con el objetivo de aumentar la productividad, mientras que los efectos negativos suelen ser ignorados (Bünemann *et al.*, 2006). Los fertilizantes y pesticidas tienden a permanecer en el suelo por largos periodos, afectando directamente el microbioma y las características del suelo como el pH, la humedad, la conductividad, la actividad enzimática, el balance natural del carbón orgánico del suelo, del N y del P, entre otros muchos (Prashar y Shah, 2016).

Dado que los procesos biogeoquímicos están estrechamente relacionados con la actividad biológica, las prácticas de manejo pueden modificar la productividad agrícola. Por lo que es necesario implementar prácticas de manejo para conservar la calidad del suelo. Actualmente en el país, los cultivos de agave son dominados por un sistema de tipo monocultivo con adición de insumos químicos, sin embargo, hay algunos productores que practican algunas estrategias agroecológicas como el policultivo y la rotación de tierras (Herrera-Pérez *et al.*, 2017).

4.3.1 Herbicidas

Los organismos responden de maneras diferentes a los pesticidas. Uno de los herbicidas más populares en el mundo es el glifosato, un herbicida no selectivo que actúa mediante la inhibición de síntesis de aminoácidos aromáticos esenciales para las plantas (De Andréa *et al.*, 2003). Desde la introducción del glifosato por la compañía Monsanto en 1974 su efecto ha sido estudiado en diversos tipos de ecosistemas (Benbrook, 2012). Debido a la evidencia por su toxicidad con especies terrestres y acuáticas, así como las correlaciones entre el uso de glifosato y varias enfermedades humanas (Van Bruggen *et al.*, 2018).

La residualidad del glifosato resulta ser un tema controversial, algunos autores mencionan que persiste tres meses por adherirse a los sedimentos del suelo y a los minerales (Andréa *et al.*, 2003), mientras que otros autores afirman que persiste durante 47 días (Tejada, 2009).

Desarrollo en las plantas

En agaves, se ha demostrado que el uso de herbicidas como el glifosato puede resultar desfavorable para su desarrollo, Martínez-Palacios *et al.* (2015a) registraron que al usar de dos a tres aplicaciones de glifosato como herbicida en el periodo de julio a octubre en plantaciones de temporal de *A. cupreata* reduce el tamaño sobre todo en juveniles (≤ 25 cm), en comparación con el control manual de malezas. Un efecto similar al trabajo de Sarkar *et al.* (2014) con los herbicidas trifluralina y pretilaclor en la biomasa de *A. sisalana*, así como la reducción del total de bacterias.

Sin embargo, algunos estudios han registrado efectos positivos sobre el desarrollo de las plantas únicamente con bajas dosis, efecto conocido como hormesis. Probablemente como una respuesta hormonal ante el estrés (Cedergreen, 2008). Nascentes *et al.* (2018), determinaron el aumento del crecimiento de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y del eucalipto (*Eucalyptis grandis*), con dosis de 5.8 a 19 g a.e. ha⁻¹. Mientras que, Cedergreen (2008) lo demostró con la cebada

(*Hordeum vulgare*) a dosis de 6 a 60 g a.e. ha⁻¹. Ambos estudios en condiciones de invernadero.

Comunidades bacterianas

Conocer la composición de las comunidades bacterianas resulta importante ya que estas regulan la respuesta de la planta ante el glifosato modificando el crecimiento (Ramírez-Villacis *et al.*, 2020). Existen muchos tipos de respuesta sobre el efecto del glifosato sobre las comunidades bacterianas asociadas a la raíz, algunas especies parecen recuperarse del tratamiento a corto plazo con glifosato (Arango *et al.*, 2014) e incluso puede ser usado como fuente de nutrientes (Mijangos *et al.*, 2009), mientras que, otras especies resultan ser sensibles y son reducidas, como se mencionó anteriormente, dosis altas o con aplicaciones en periodos cortos pueden retrasar el crecimiento.

Un ejemplo de esto es el trabajo de Arango *et al.* (2014), donde determinaron que a 7 y 14 días después de la aplicación de glifosato en la soya (*Glycine max*), tuvo un efecto negativo en la abundancia de especies de *Burkholderia*. Mientras que, tuvo un aumento sobre la abundancia de Gemmatimonadetes, se discute que la respuesta fue positiva probablemente relacionado con la liberación de fosfatos por la degradación del herbicida. Por otro lado, Imperato *et al.* (2016) demostraron que el uso de glifosato en dosis bajas (3.6×10^{-6} g a.e./L) en la cebada (*Hordeum vulgare*), aumentó la colonización de bacterias de crecimiento rápido y un efecto necrótico visible sobre las raíces. La descomposición de las raíces liberó ácidos orgánicos y azúcares facilitando dicha colonización. Ramírez-Villacis *et al.* (2020) reportan que en *Arabidopsis thaliana* aumentó la abundancia de Firmicutes (*Bacillus* y *Paenibacillus*), y se redujeron las Actinobacterias (*Arthrobacter*).

Mientras que, Newman *et al.* (2016) probaron que con la adición de glifosato (300 mL ha⁻¹) en maíz (*Zea mays*) y en soya, se reflejó un aumento de la abundancia de Gammaproteobacterias, particularmente de la familia Xanthomonadaceae, se discute que este grupo bacteriano es abundante en suelos alterados. Mientras que, la

abundancia de las phyla Acidobacteria y Actinobacteria disminuyeron, bacterias asociadas con la degradación de celulosa. Sin embargo, la diversidad de la comunidad bacteriana fue similar con y sin glifosato.

Además de la estructura de la comunidad, la actividad microbiana responde de diferente manera a lo largo del tiempo. Mijangos *et al.* (2009), revelan que a 15 días de que el herbicida fue aplicado este fue usado como fuente de nutrientes como C, N y P. Resultando en una estimulación de la actividad y diversidad funcional a dosis de 50 a 500 mg kg⁻¹ en la rizosfera de triticale (*Triticosecale*) y de guisantes (*Pisum sativum*), sin embargo, el N mineralizable disminuyó. Mientras que, a 30 días después de la aplicación la diversidad y la actividad microbiana se redujeron.

Por otro lado, se ha demostrado que la respiración y la biomasa microbiana es modificada por el tipo de textura del suelo, la adición de residuos de plantas (Najmadeen *et al.*, 2010), la concentración de herbicidas y otros factores del suelo, como el pH y el contenido de C orgánico (Nguyen *et al.*, 2016).

Plagas y enfermedades

La proliferación de plagas y enfermedades frecuentemente está asociada al uso excesivo de herbicidas provocando pérdida de la productividad. En cultivos de agave, es notable el ataque del picudo negro (*Scyphophorus acupunctatus*) y la incidencia de bacterias (*Erwinia carotovora*) (Solís-Aguilar *et al.*, 2001). Siendo el primero la plaga principal del agave pulquero, tequilero y mezcalero (Ramírez-Choza, 1993). Martínez-Palacios *et al.* (2015a), relacionaron el manejo agrícola convencional con el uso excesivo de agroquímicos, entre ellos el uso de glifosato, con el alto índice de mortandad de *A. cupreata* por el ataque del picudo negro y las enfermedades fúngicas por *Fusarium oxysporum* y *E. carotovora*.

El daño del picudo negro se detecta por la presencia de secreciones gomosas, un exudado pegajoso y café producido por el agave. Los adultos perforan el cogollo y ovipositan en él, posteriormente, los huevos eclosionan y las larvas hacen galerías en el tallo y cogollo. Al ser vector de la bacteria *E. carotovora*, puede provocar la

podrición en el cogollo y la muerte de las plantas, lo cual afecta negativamente la producción (Rodríguez, 1999). El picudo ataca en cualquier mes del año, aunque es más frecuente en época de lluvias (Cuervo-Parra *et al.*, 2019)

De manera similar, Tofiño-Rivera *et al.* (2020) encontraron que la aplicación de glifosato disminuye el rendimiento del cultivo de frijol (*Phaseous vulgaris*) asociado a enfermedades fúngicas (*Fusarium sonali*, *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum lindemuthianum*) y ataque de coleópteros “gallina ciega” (*Phyllophaga absoleta*), facilitado por la destrucción de la raíz. Por el contrario, ellos reportan que en el tratamiento con cobertura vegetal tuvo aumento de P disponible, bacterias y hongos benéficos.

4.3.2 Fertilizantes

La productividad de un cultivo está relacionada con la fertilidad del suelo, lo que incluye el hacer disponible los nutrientes para la absorción de las plantas. Este proceso es facilitado por el almacenamiento de nutrientes en la materia orgánica del suelo, el reciclaje de nutrientes de formas orgánicas a minerales y de los procesos físicos y químicos que permiten la movilidad de los nutrientes (FAO, 2017). En resumen, la fertilidad y calidad del suelo depende de la interacción del suelo, las plantas y los microorganismos.

Fertilizantes inorgánicos

La aplicación constante de fertilizantes inorgánicos puede inducir cambios importantes en las propiedades del suelo (pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, etc.) y en los microorganismos. La fertilización con altas tasas de P mineral en una plantación de alfalfa (*Medicago sativa*) aumentó el P soluble del suelo, sin embargo, no aumentó la productividad, redujo la humedad del suelo y la actividad microbiana. Lo que sugiere que la comunidad microbiana en suelo con bajo contenido de P podría mejorar la eficiencia de los nutrientes (Beauregard *et al.*, 2010). Por otro lado, con la aplicación de N mineral se ha demostrado que acidifica el

suelo significativamente, sin embargo, el N total se relaciona positivamente con el contenido de C, modificando las comunidades bacterianas del suelo incluso si la tasa de N es baja. Un estudio comprobó que Gammaproteobacterias y Actinobacterias aumentaron con las entradas de N, por el contrario, el filo Cyanobacteria y el género *Nitrospira* disminuyeron (Ramírez *et al.*, 2010; Sradnick *et al.*, 2013).

Fertilizantes orgánicos

En diversos trabajos, particularmente los erosionados por acciones agrícolas se recomienda el uso de fertilizantes orgánicos como el estiércol, la composta y las sustancias húmicas para restaurar la fertilidad del suelo (Bünemann *et al.*, 2006). Estas prácticas de manejo modifican la calidad del suelo, mejora la agregación y porosidad del suelo, parámetros importantes para la infiltración del agua y la aireación del suelo. Además, la adición de materia orgánica representa una fuente importante de nutrientes para las plantas y los microorganismos (Peña, 2002; FAO, 2017). Mientras que, el uso de fertilizantes inorgánicos ofrece disponibilidad rápida de los nutrientes, sin embargo, la absorción de la planta no es completamente eficiente (Peña-Turruella *et al.*, 2002). En una comunidad con microorganismos simbiotes, como los hongos micorrízicos, facilita la entrada directa de los elementos requeridos por la planta, mientras en un suelo sin asociaciones o estéril, la planta gasta energía en incorporar dichos elementos (Bonfante y Anca, 2009).

Propiedades del suelo y comunidades bacterianas

El efecto de los fertilizantes inorgánicos y orgánicos en plantaciones de *A. tequilana* ha sido estudiado por De la Mora-Orozco *et al.* (2020) a lo largo de dos años, quienes comprobaron que los tratamientos con fertilizante orgánico (estiércol de pollo) tuvieron mayor porcentaje de C orgánico total (COT) y nitrógeno total, aun si se combinaba con fertilizantes inorgánicos (NPK, N, P). Del mismo modo, Guo *et al.* (2019) evaluaron el efecto de fertilizante inorgánico y orgánico en suelos de arroz. Además de obtener resultados similares a los mencionados anteriormente,

demonstraron que las bacterias no dominantes Gemmatimonadetes y Latescibacteria se correlacionaron negativa y positivamente con la mineralización de C y las propiedades del suelo, respectivamente, lo que diferenció la mineralización de C. Por otro lado, López *et al.* (2001) demostraron que, entre los fertilizantes orgánicos, la composta es el que conserva más humedad.

Como consecuencia al aumento del N total y el COT, la actividad microbiana incrementa, Ge *et al.* (2010) demostraron que el fertilizante orgánico (estiércol de ganado) aumenta la biomasa microbiana, la actividad enzimática (ureasa) del suelo y la respiración basal del suelo (CO₂). Estos resultados pueden deberse al aumento de la materia orgánica y nutrientes del suelo. Mientras que, los fertilizantes inorgánicos (N y P) no tienen efectos significativos sobre dichos parámetros, sin embargo, disminuyeron de manera significativa el pH y el COT. También se ha demostrado el aumento de la actividad enzimática de la catalasa y fosfatasa en tratamientos con abono orgánico (estiércol de cerdo) en comparación con los tratados con fertilización inorgánica (NPK) (Xu *et al.*, 2018).

Otro tipo de fertilizante orgánico son los ácidos húmicos derivados de la descomposición y transformación de residuos de plantas, se han hecho diversos trabajos donde se demuestra que mejora las propiedades del suelo como aumentar la capacidad de retención de humedad. Además, promueve el crecimiento de las plantas y el contenido de clorofila en especies como *Yucca aloifolia* (Altae y Alsawaf, 2019). Al inducir cambios en las propiedades del suelo los ácidos húmicos influyen en la actividad microbiana. En condiciones de laboratorio, Ji y *et al.* (2017) comprobaron efectos positivos en la altura del crisantemo (*Chrysanthemum morifolium*), mayor concentración de N disponible y efecto positivo significativo en la diversidad y actividad microbiana de la rizosfera en comparación con la fertilización mineral (NPK).

Los estudios realizados con el cambio de la composición de bacterias asociadas a la rizosfera del cultivo con relación a distintos tipos de fertilización son pocos, uno de ellos es el de Xu *et al.* (2018), donde la composición y la actividad enzimática de la comunidad microbiana de *Setaria italica* tuvo correlación significativa con la materia

orgánica (MO) y el P disponible. Los géneros que se correlacionaron con las propiedades del suelo fueron *Opitutus* y *Arthobacter* con la MO, *Iamia* y *Chitinophaga* con la MO y el P disponible, *Solirubrobacter* con el P disponible y, *Devosia* y *Mycobacterium* con el N disponible.

A diferencia de lo anteriormente expuesto, existe evidencia de cultivos de agaves sin adición de fertilizantes, De Jesús Santos *et al.* (2014) reportan que el cultivo de *A. sisalana* no requiere adicionar fertilizantes, algunas veces utilizan las hojas de desecho para fertilizarla orgánicamente, la promoción del crecimiento la atribuyeron totalmente a las bacterias diazotróficas endófitas. De igual forma, Martínez-Palacios *et al.* (2015b), reportan un cultivo de *Agave cupreata* bajo un manejo libre de agroquímicos y de componentes orgánicos, la plantación fue establecida en un bosque de selva baja caducifolia deforestado, atribuyendo de igual forma a los microorganismos del mismo suelo y el manejo integral de la biodiversidad surgida durante el cultivo.

5. JUSTIFICACIÓN

Las prácticas de manejo agrícolas convencionales y sustentables tienen efecto diferencial sobre el microbioma y la productividad de los cultivos. Recientemente, se ha buscado reducir o eliminar por completo el uso de agroquímicos dañinos para el agroecosistema y para la salud del ser humano. Se busca cambiar las prácticas de manejo, conservando y aumentando la fertilidad del suelo a través de la adición de la materia orgánica, asegurando el desarrollo de las plantas y un manejo adecuado de las plagas. Particularmente, cuando una plantación de *A. cupreata* se estableció en un suelo de bosque deforestado y se desarrolló bajo un manejo agroecológico, desde el inicio hasta su maduración registrando baja incidencia de plagas y enfermedades y alta productividad (Martínez-Palacios *et al.*, 2015b)

Debido a los resultados antes mencionados, es importante conocer la respuesta del desarrollo de las plantas de *A. cupreata* en suelo con historia agrícola, bajo manejo agrícola con agroquímicos y bajo manejo agroecológico, poniendo énfasis en la actividad bacteriana de la rizosfera y endófitos de la raíz, que nos permitieran entender las relaciones de éstas con el crecimiento de las plantas, lo que podría permitir desarrollar estrategias racionales para mejorar el rendimiento y la productividad de los cultivos de agave.

6. HIPÓTESIS

El manejo agroecológico de plantaciones de *A. cupreata*, permite las interacciones con la biodiversidad nativa, conserva el suelo y el agua, en comparación con el manejo agrícola convencional que reduce la biodiversidad, altera las interacciones, contamina y erosiona los suelos, y hace más susceptibles a plagas y enfermedades a las plantas de agave.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

Analizar la respuesta del crecimiento de plantas de *A. cupreata* y presencia de bacterias nativas de la rizosfera y endófitas de la raíz, promotoras del crecimiento en plantas, y su relación con la incidencia de picudo negro (*Scyphophorus acupunctatus*), bajo manejo agrícola convencional y manejo de la agrobiodiversidad durante el segundo año de la plantación.

7.2 Objetivos particulares

- Estimar el crecimiento de *A. cupreata* entre el manejo agrícola convencional y de la agrobiodiversidad, empleando el diámetro y la altura de las plantas durante un año.
- Registrar la incidencia y pérdida de daño por picudo (*S. acupunctatus*) y por pudrición de tallo en ambos tipos de manejo.
- Analizar las propiedades químicas del suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata* en ambos tipos de manejo al final de los tratamientos.
- Analizar la composición de las comunidades bacterianas nativas promotoras del crecimiento que se encuentran en la rizosfera y endófitas de la raíz de *A. cupreata* en ambos tipos de manejo al final de los tratamientos.

8. ÁREA DE ESTUDIO

El sitio de estudio es una parcela de 4.5 ha localizada en el Municipio de Queréndaro, Michoacán (19°48'59.94" N y -100°53'01.04" W). El suelo es de tipo franco-arcilloso, ligeramente alcalino. El terreno presenta una pendiente inferior a 5°, a una altitud de 1840 msnm. De acuerdo con la clasificación de Köppen modificado por García, se encuentra localizado en el tipo de clima C(w1) (w) templado subhúmedo con lluvias en verano (INEGI, 2017). La temperatura media mensual varía de 12.5 a 19.5°C. Mientras que la precipitación media anual es de 700 mm (Allende y Mendoza, 2007).

Las plantas de *Agave cupreata* con las que se trabajó fueron establecidas en campo en junio del 2019. La parcela presenta un sistema tipo bicultivo de agaves (*Agave cupreata*) intercaladas con alfalfa (*Medicago sativa*). Los agaves plantados con 3.5 m de separación entre surcos. La alfalfa sembrada con una amplitud de 1.5 m entre surcos, dejando a cada lado aproximadamente 1 m entre las plantas de alfalfa y las de agave. El sistema de riego se llevó a cabo por gravedad aproximadamente cada 30 días en la temporada seca (noviembre a mayo).

8.1 Diseño experimental

Se llevó el seguimiento de 90 plantas por tratamiento, con un diseño de cinco bloques por cada tratamiento, desde junio del 2020 a junio del 2021. Bajo manejo agrícola convencional, se establecieron tres tratamientos con fertilizantes y herbicidas químicos: glifosato (G), triple16 y glifosato (GT), triple16 (T). Por otro lado, el manejo ecológico implicó la conservación de la biodiversidad, por lo que se tomó como manejo de la agrobiodiversidad, en donde se establecieron tres tratamientos con y sin fertilizantes orgánicos: humus (H), sin fertilización (SF) y composta (C). En todos los tratamientos se llevó a cabo el control manual de malezas (CMM) hasta la altura de los agaves, excepto en G y GT el cual fue controlado por la acción del herbicida (Fig. 1).

Composición y dosis de la aplicación de fertilizantes. Los ácidos húmicos (humus) derivados de la descomposición de materia orgánica se aplicaron a una dosis de 25 ml / l en un área de 300 m². Mientras que la composta está originalmente procesada de residuos orgánicos y estiércol de ganado vacuno, se aplicaron 3 kg por individuo. Por otro lado, se usó el fertilizante inorgánico granulado triple 16 compuesto por un balance de 9.5% NH₄ – 6.5% NO₃ - 16% P₂O₅ y 16% K₂O (FERTINOVA, 2020), se aplicaron dosis de 10 kg / 300 m². Todos los componentes de cada tratamiento fueron aplicados cada tres meses, siendo abril del 2021 la última aplicación para este estudio.

Control de la vegetación silvestre. Para los tratamientos G y GT, la vegetación silvestre se controló con glifosato-isopropilamina comercial (Jornal) equivalente a 355 g de ia / l, a una concentración de 20 ml / l, se aplicó por aspersion con una bomba de fumigar alrededor del agave cada que las malezas tuvieran una altura de 20 cm. En el resto de los tratamientos T, H, SF, C, se controló a través del CMM cortándola con el uso de machete a la altura del agave.

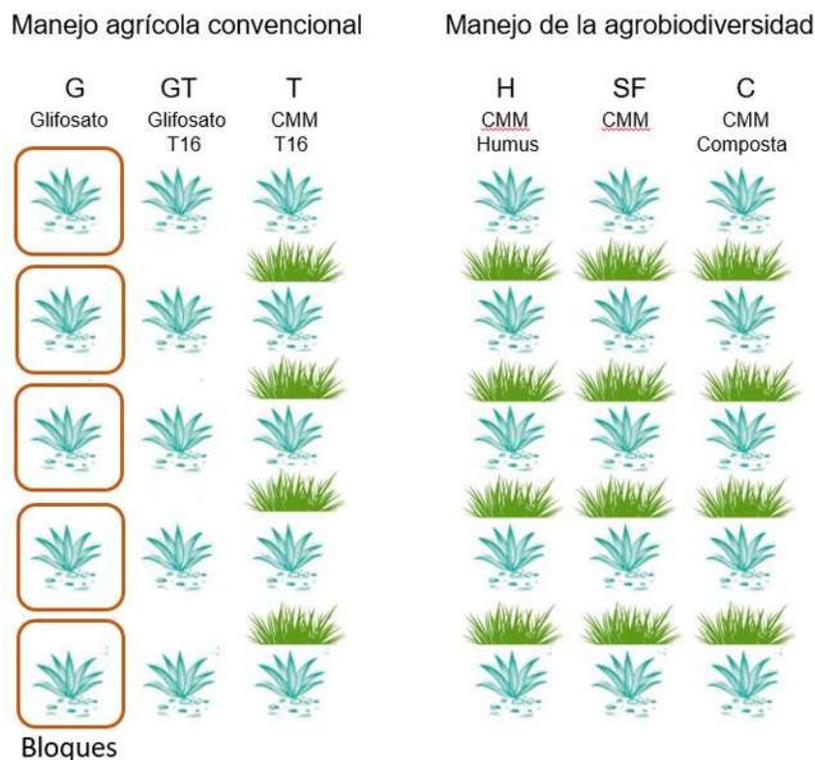


Figura 1. Diseño experimental

9. MATERIALES Y MÉTODOS

9.1 Efecto de las prácticas de manejo sobre el crecimiento y salud de *Agave cupreata*

9.1.1 Crecimiento de *A. cupreata*

Se evaluó el crecimiento de 90 plantas por tratamiento, tomando en cuenta el diseño de cinco bloques. El seguimiento del crecimiento se llevó a cabo mediante mediciones del diámetro (distancia entre las puntas de las hojas más expandidas) y la altura (distancia entre la base del tallo y la espina central). Se hicieron evaluaciones durante un año: junio del 2020 (inicio de la temporada de lluvias), octubre del 2021 (fin de la temporada de lluvias) y junio del 2021. Durante este tiempo también se registró la mortandad de los individuos.

9.1.2 Incidencia y pérdida de daño por picudo (*Scyphophorus acupunctatus*) en *A. cupreata*

Durante la evaluación de la salud de las plantas se detectó el ataque de *Scyphophorus acupunctatus* (Fig 2a). Por lo que se realizó una inspección de todas las plantas al final de los tratamientos en noviembre del 2021 para observar el daño de manera detallada (Fig. 3). Se categorizó el avance del ataque y la severidad de daño con respecto a las perforaciones y tejido con necrosis (Cuadro 1). Las incidencias más recientes son detectadas mediante secreciones gomosas expulsadas por el agave (Fig 2b). Algunas plantas logran detener la infestación presentando solo perforaciones en las hojas.



Figura 2. Infestación de *A. cupreata* por *Scyphophorus acupunctatus*: a) *S. acupunctatus* adulto, b) Daño reciente por adulto en el cogollo.

Cuadro 1. Categorías para determinar el avance y el daño por el ataque de picudo negro (*S. acupunctatus*) en *A. cupreata*.

Categoría de avance	Descripción de los síntomas
1	Planta completamente sana.
2	Perforaciones en las hojas del 2020.
3	Perforaciones en las hojas del 2021.
4	Perforaciones en las hojas del 2020 y 2021.
5	Perforaciones del 2020 y daño en el cogollo del 2021.
6	Daño severo con secreciones gomosas y necrosis en el cogollo del 2021.

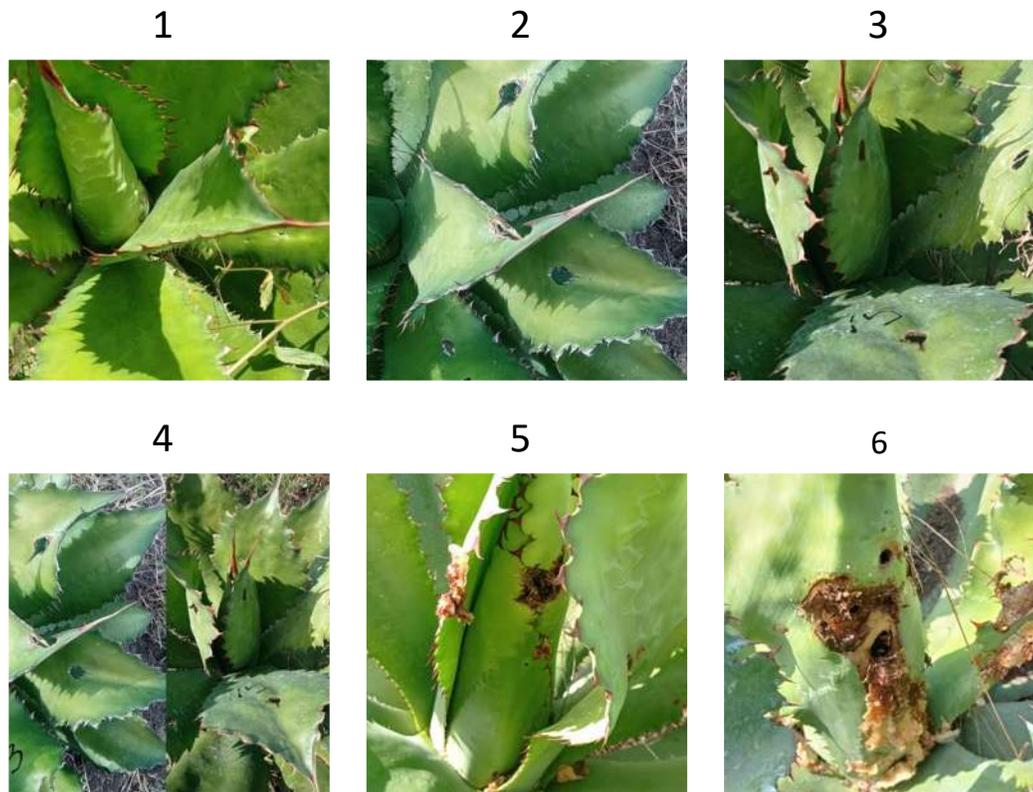


Figura 3. Grado visual para determinar el avance y el daño por el ataque de picudo negro (*S. acupunctatus*) en *A. cupreata*.

Análisis de datos

La estructura de los tratamientos se consideró como factores: 1) *manejo de vegetación*, con dos niveles, control manual de malezas (CMM) y glifosato; y, 2) *tipo de fertilización*, con cuatro niveles, triple 16, composta, humus y sin fertilización. El efecto de los factores sobre el crecimiento se analizó con un modelo lineal generalizado (GLM), usando error Gaussian, función de enlace identity, y como variable de respuesta el incremento del diámetro (la diferencia entre los valores finales e iniciales), el diámetro y la altura final de los agaves. En algunos casos específicos se utilizó pruebas T de Student para evaluar diferencias entre dos niveles.

De igual manera, se realizó un GLM con las mismas características para la incidencia y pérdida por daño por *S. acupunctatus*, como variable de respuesta se usaron las categorías de avance. Para la supervivencia se analizó con un GLM usando error de distribución binomial, función de enlace logit, con la prueba de Chi². Al tener efecto los factores, las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Se obtuvo un índice de productividad (Sáenz-Romero *et al.*, 2021) para cada tratamiento, multiplicando el volumen del cono a partir de la altura y diámetro en la última evaluación del año: $V = (\mu \cdot d^2 \cdot h) / 12$; donde $\mu=3.1416$, d = incremento del diámetro, h = incremento de la altura (Martínez-Palacios *et al.*, 2015b) multiplicado por la proporción de la supervivencia. Se realizó un análisis de varianza y al tener efecto los factores las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Todos los análisis se realizaron en el programa estadístico R v 4.0.3 (R Core Team, 2021).

9.2. Efecto de las prácticas de manejo sobre las propiedades químicas y enzimáticas del suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata*

Colecta de muestras

Se excavó hasta 15 cm de profundidad alrededor de cada planta a muestrear para ubicar las raíces. Se colectó aproximadamente 500 gr de suelo adherido y adyacente a las raíces de cinco plantas adultas y sanas por cada tratamiento, una por cada bloque. Se ubicaron cuatro puntos equidistantes alrededor de la planta para representar de mejor manera el suelo de la zona de la raíz, se colectaron las muestras y se homogeneizaron para formar una muestra compuesta por cada planta. Las muestras se guardaron en bolsas herméticas y se almacenaron en bolsas plásticas oscuras a 4°C hasta su análisis. Considerando los seis tratamientos y cinco muestras por tratamiento, la colecta correspondió a un total de 30 muestras.

La colecta de muestras fue tomada en junio del 2021 (inicio de temporada de lluvias), dos meses después de la aplicación de fertilizantes y seis días después de la aplicación del herbicida.

Análisis de laboratorio

Para determinar las características del suelo y la dinámica de nutrientes en las muestras colectadas se analizaron diferentes parámetros químicos: pH, y conductividad eléctrica. La respiración microbiana (mineralización de carbono) se midió a través de un método de incubación aeróbica. Para registrar la actividad microbiana relacionada con la materia orgánica del suelo, se calcularon las actividades enzimáticas de la β -glucosidasa (B), polifenol oxidasa (PO), leucina aminopeptidasa (LA) y fosfomonoestereasa (F) (Chávez-Vergara *et al.*, 2014; 2016; 2018). Lo cual se desarrolló con el Dr. Bruno Chávez Vergara en el Laboratorio de biogeoquímica y materia orgánica del suelo, del Instituto de Geología de la UNAM.

Análisis de datos

La estructura de los tratamientos se consideró como factores: 1) *manejo de vegetación*, con dos niveles, control manual de malezas y Glifosato; y, 2) *tipo de fertilización*, con cuatro niveles, Triple 16, composta, humus y sin fertilización. El efecto de los factores sobre las variables del suelo se analizó con un modelo lineal generalizado, usando error Gaussian, función de enlace identity. Al tener efecto los factores, las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

9.3 Comunidades bacterianas de la rizosfera y endófitas de la raíz de *A. cupreata*

Colecta de muestras

Se excavó hasta 15 cm de profundidad alrededor de cada planta a muestrear para ubicar las raíces. Por ser difícil de delimitar la rizosfera, se consideró como tal el suelo adherido a las raíces para los análisis de metagenómica (López-Lozano *et al.*, 2020). Se colectaron raíces y suelo de la rizosfera de cinco plantas adultas y sanas por cada tratamiento, una por cada bloque. La colecta de muestras fue tomada en junio del 2021 (inicio de temporada de lluvias), dos meses después de la aplicación de fertilizantes y seis días después de la aplicación del herbicida.

Se ubicaron cuatro puntos equidistantes alrededor de la planta para representar de mejor manera la zona de la raíz, se colectaron las muestras y se homogeneizaron para formar una muestra compuesta por cada planta y se guardaron en bolsas herméticas. Las muestras de la rizosfera se fijaron con alcohol al 96%. Posteriormente, las muestras de raíz y rizosfera se almacenaron a -80°C hasta su procesamiento.

Preparación de muestras, extracción de ADN y secuenciación

Las raíces fueron desinfectadas externamente colocándolas durante dos min con alcohol al 70%, 10 min en hipoclorito de sodio al 5% y, se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril (Desgarenes *et al.*, 2014). Se utilizó aproximadamente 0.3 g de raíz y, con ayuda de un mortero previamente esterilizado, se pulverizó la muestra adicionando nitrógeno líquido. Se extrajo el ADN microbiano de las raíces por el método de CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio), de acuerdo con el protocolo del Laboratorio Nacional de Nutrigenómica y Microbiómica Digestiva Animal (LANMDA) (Anexo 1).

Mientras que para las muestras de la rizosfera se extrajo el ADN microbiano de 0.3 g de suelo usando el kit ZymoBIOMICS™ DNA MiniPrep (Zymo Research, CA, USA) de acuerdo con el protocolo del fabricante. La concentración y la pureza del ADN de

todas las muestras se determinó usando un espectrofotómetro NanoDrop Lite (Thermo Scientific).

Se llevó a cabo la amplificación por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) una región de ≈ 200 pb correspondiente a la región V3 del gen 16S ribosomal (16S rRNA), con adaptadores específicos. Las librerías se construyeron con el kit Nextera XT (Illumina, San Diego, CA). La secuenciación se realizó con la plataforma Illumina MiSeq, conforme a los protocolos del Laboratorio de Genómica Microbiana (en CIAD, Mazatlán).

Procesamiento de datos y análisis estadístico

Las lecturas Fastq se ensamblaron y filtraron de acuerdo con su calidad con prinseq-lite (Schmieder y Edwards, 2011) y FLASH (Magoč y Salzberg, 2011). Las quimeras fueron identificadas y eliminadas con el algoritmo VSEARCH (Rognes *et al.*, 2016). Para determinar la diversidad de las comunidades bacterianas se asignaron Unidades Taxonómicas Operativas (OTU, por sus siglas en inglés) con un 97% de similitud con mg_classifier. Las secuencias se clasificaron utilizando la base de datos de referencia SILVA (www.arb-silva.de).

Se calcularon curvas de rarefacción, diversidad alfa con índice de Shannon y el estimador Chao1. Para la diversidad beta, se utilizó un análisis de Escalamiento Multidimensional No Métrica (NMDS, por sus siglas en inglés) basado en el índice de disimilitud de Bray Curtis. Para todos los análisis los resultados significativos corresponden al 95% de intervalo de confianza ($\alpha < 0.05$). Para relacionar la abundancia de los géneros con los parámetros del suelo se usó el Análisis Canónico de Correspondencias (CCA, por sus siglas en inglés). Los análisis anteriores se realizaron en el programa estadístico R v 4.0.3 (R Core Team, 2021).

Se usó el algoritmo efecto tamaño (LEfSe) del Análisis Discriminante Lineal (LDA, por sus siglas en inglés), para identificar taxones (nivel phylum y género) que difieren en abundancia relativa. Este análisis se realizó en la interfaz Galaxy en línea (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy/>).

10.RESULTADOS

10.1 Crecimiento y supervivencia de agaves

10.1.1 Manejo de vegetación

La práctica de manejo de la vegetación silvestre tuvo efectos significativos sobre el crecimiento de *A. cupreata* (Cuadro 2). Durante 12 meses las plantas tratadas con glifosato tuvieron un mayor incremento en diámetro y altura, en comparación con el control manual de malezas (CMM) (Fig. 4 a-c).

Por lo tanto, en la última evaluación a los dos años de la plantación (junio 2021), las plantas en presencia de glifosato registraron un tamaño total en diámetro y altura mayor que el CMM (Fig. 4 b-d).

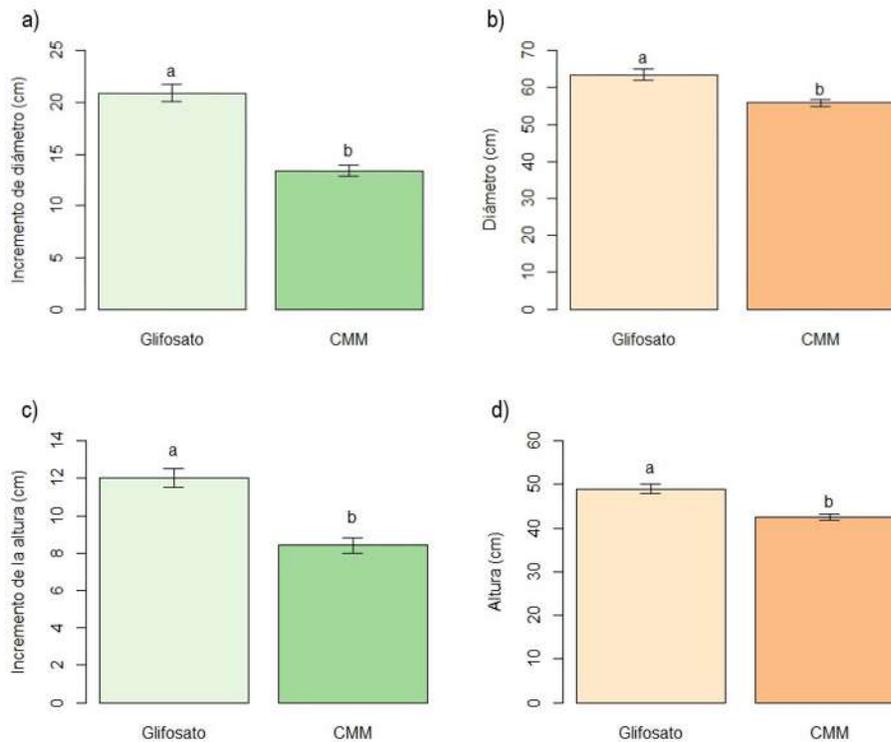


Figura 4. Diferencia de respuesta en el uso de glifosato y control manual de malezas (CMM) en plantaciones de *A. cupreata*: a y c) Incremento del diámetro y la altura de las plantas a 12 meses con deshierbe con glifosato y CMM. b y d) Valores promedio del diámetro y la altura de las plantas de agave a dos años, con deshierbe con glifosato y CMM. Diferentes letras son significativamente diferentes según la prueba de Tukey, las barras representan el error estándar del promedio ($p \leq 0.05$).

Cuadro 2. Estadística descriptiva del modelo lineal generalizado (GLM) y valores promedios para el incremento de tamaño del diámetro y la altura de las plantas de agave a 12 meses tratadas con los factores: Manejo de la vegetación (glifosato, control manual de malezas) y tipo de fertilización (composta, humus, triple16, sin fertilización), y el diámetro y altura a dos años de las plantas de agave.

	CM	F	gl	p	CM	F	gl	p
	Incremento de diámetro				Incremento de altura			
Manejo de la vegetación	6009	65	1	<0.001	1394	27.4	1	<0.001
Tipo de Fertilización	2358	25.5	3	<0.001	143.7	2.8	3	0.03
Bloque	979	10.6	4	<0.001	70	1.3	4	0.23
Veg:Fert	23	0.2	1	0.61	104	2	1	0.15
Error	92.3				50.8			
	Diámetro				Altura			
Manejo de la vegetación	6317	22.3	1	<0.001	4424	27.5	1	<0.001
Tipo de Fertilización	6092	21.5	3	<0.001	3349	20.8	3	<0.001
Bloque	1721	6	4	<0.001	253	1.5	4	0.1
Veg:Fert	172	0.6	1	0.43	5	0.03	1	0.8
Error	282				160			
Manejo de la vegetación								
	Incremento de la altura (cm)		Incremento del diámetro (cm)		Altura (cm)		Diámetro (cm)	
Glifosato	11.9 ± 0.4 a		20.6 ± 0.8 a		48.7 ± 1.0 a		63.2 ± 1.4 a	
Control manual de malezas	8.1 ± 0.4 b		13.0 ± 0.5 b		42.1 ± 0.7 b		55.2 ± 0.9 b	
Tipo de fertilización								
Composta	6.0 ± 1.1 b		18.6 ± 1.0 a		46.0 ± 1.1 a		61.9 ± 1.7 a	
Humus	7.5 ± 0.7 b		6.4 ± 0.9 b		36.7 ± 1.7 c		45.6 ± 1.9 c	
Sin fertilización	10.7 ± 0.5 a		18.0 ± 0.9 a		50.0 ± 0.9 a		64.1 ± 1.4 a	
Triple16	10.3 ± 0.5 a		15.7 ± 0.7 a		41.5 ± 0.9 b		55.5 ± 1.3 b	

(CM) Cuadrados medios, (gl) grados de libertad. Medias con letras iguales por columna no son estadísticamente diferentes (\pm error estándar, Tukey <0.05).

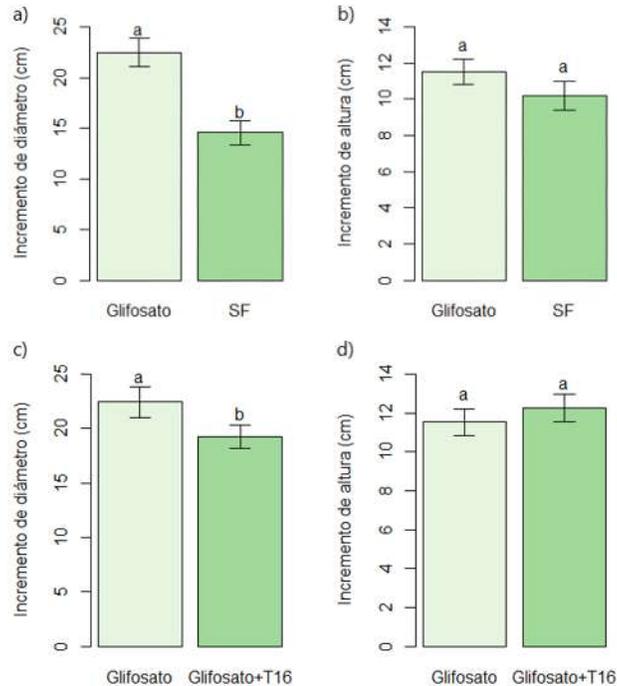


Figura 5. Diferencia de respuesta en el uso de glifosato con y sin fertilizante inorgánico en plantaciones de *A. cupreata*: a y b) Incremento del diámetro y la altura de las plantas a 12 meses con glifosato y tratamiento sin fertilizante (SF). c y d) Incremento del diámetro y la altura de las plantas a 12 meses con glifosato y glifosato combinado con fertilizante inorgánico (T16). Diferentes letras son significativamente diferentes según la prueba de Tukey, las barras representan el error estándar del promedio ($p \leq 0.05$).

Las pruebas T de Student reflejan en mayor detalle que la adición de glifosato influye en el incremento del diámetro de los agaves (Fig. 5a), pero no en el incremento de la altura (Fig. 5b). El uso de glifosato aumentó el diámetro significativamente ($p \leq 0.01$) en comparación con el tratamiento que lleva únicamente un control manual de malezas sin ningún tipo de fertilizante (SF). Sin embargo, el impacto del glifosato en combinación con el fertilizante inorgánico (T16) reduce el incremento del diámetro significativamente ($p \leq 0.01$) (Fig. 5 c-d). Por lo que el fertilizante inorgánico no es el factor que esté dando el aumento de talla en los agaves.

10.1.2 Tipo de fertilización

El análisis arrojó diferencias significativas entre los tipos de fertilización (Cuadro 2). Las estimaciones del incremento del diámetro solo tuvieron diferencias significativas con el tratamiento con humus, donde tuvo menor talla que los otros tratamientos. En cuanto al incremento de la altura, el tratamiento sin fertilización (SF) y el fertilizante inorgánico triple16 fueron los que tuvieron mayor incremento (Fig. 6 a-c).

Para las plantas con dos años de vida, se registró que las mayores tallas fueron las tratadas con composta y SF. Mientras que, las plantas con triple16 y con humus fueron las que mostraron menor talla, respectivamente (Fig. 6 b-d).

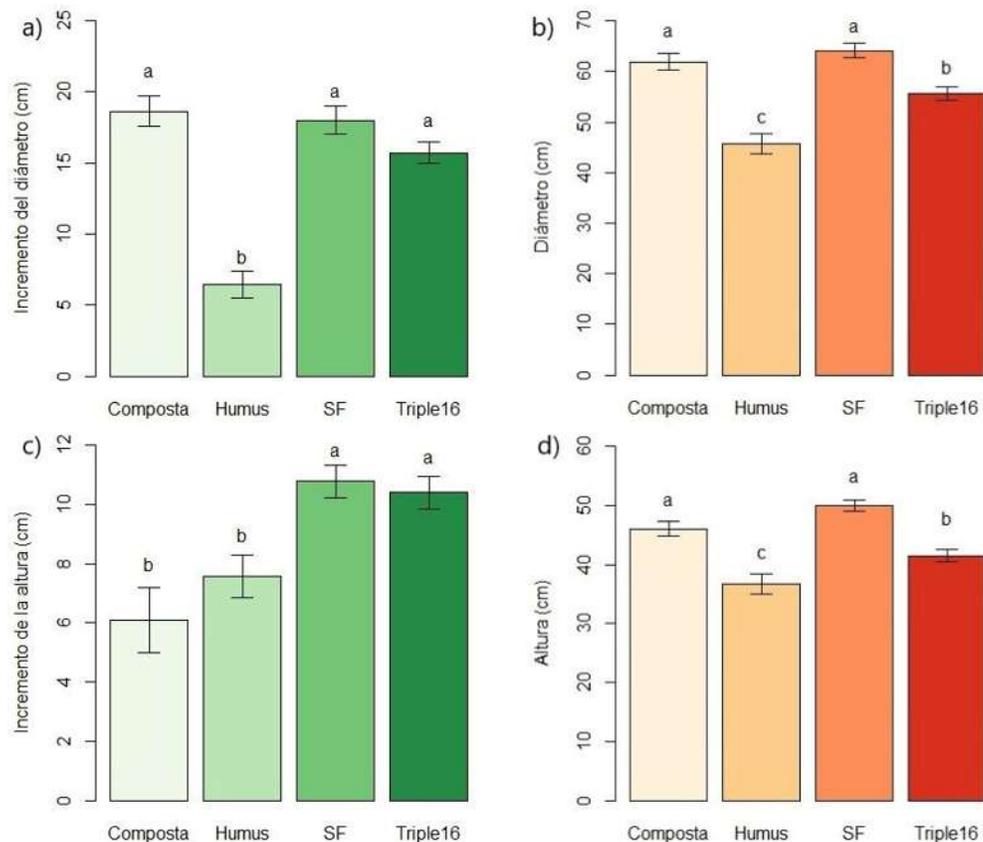


Figura 6. Diferencia de respuesta con y sin el uso de fertilizantes orgánicos e inorgánicos en plantaciones de *A. cupreata*: a y c) Incremento del diámetro y la altura de las plantas a 12 meses de uso de composta, humus, triple16 y sin fertilización. b y d) Valores promedio de diámetro y la altura de las plantas de agave a dos años, con uso de composta, humus, triple16 y sin fertilización. Diferentes letras son significativamente diferentes según la prueba de Tukey, las barras representan el error estándar del promedio ($p \leq 0.05$).

10.1.3 Supervivencia

El manejo de la vegetación, el tipo de fertilización y su interacción tuvieron un efecto significativo sobre la supervivencia de *A. cupreata* (Cuadro 3). El tratamiento con glifosato fue el que tuvo mayor mortandad, la supervivencia de este tratamiento fue del 81%, mientras que el tratamiento sin fertilización (SF) y el tratamiento con composta tuvieron 100% y 98% de supervivencia, respectivamente. Seguido de los tratamientos triple16 (96%), glifosato+triple16 (95%) y humus (92%) ($X^2 = 52.5$, $gl = 5$, $p < 0.001$) (Fig. 7). Entre las causas visuales de mortandad se encuentra el ataque de picudo (*Scyphophorus acupunctatus*) y falta de enraizamiento.

Cuadro 3. Estadística descriptiva del modelo lineal generalizado (GLM) para la supervivencia de *A. cupreata* a 12 meses de la aplicación de los factores: Manejo de la vegetación (glifosato, control manual de malezas) y tipo de fertilización (composta, humus, triple16, sin fertilización). (CM) Cuadrados medios, (gl) grados de libertad.

Supervivencia				
	CM	F	gl	p
Manejo de la vegetación	0.31	12.8	2	<0.001
Tipo de Fertilización	0.09	3.7	3	0.01
Bloque	0.24	9.9	4	0.001
Veg:Fert	0.40	16.7	1	<0.001
Error	0.02			

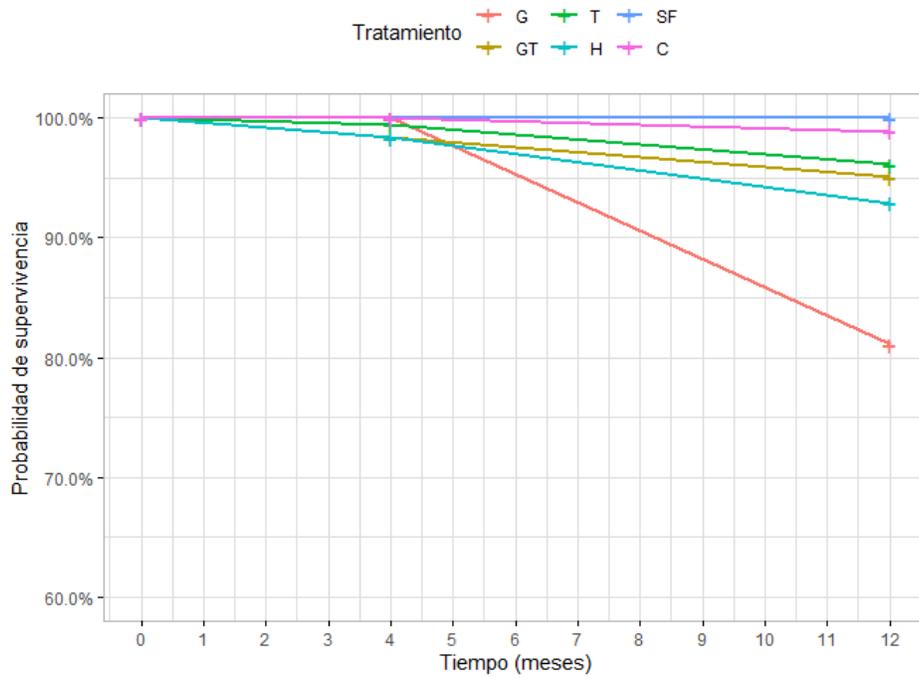


Figura 7. Curva de supervivencia de plantas de *A. cupreata*, sujetas a diferentes tratamientos. (G) Glifosato, (GT) Glifosato y triple 16, (T) Triple 16, (H) Humus, (SF) Sin fertilización y (C) Composta.

10.1.4 Productividad (desde la biomasa)

Los resultados del análisis de varianza reflejan que el tipo de tratamiento tuvo diferencias significativas sobre el índice de productividad ($F = 7.83$, $gl = 5$, $p < 0.05$). La prueba de Tukey reveló que los tratamientos con glifosato y sin fertilización son de mayor tamaño, mientras que con el humus y el fertilizante inorgánico no mejoró la talla (Fig. 8).

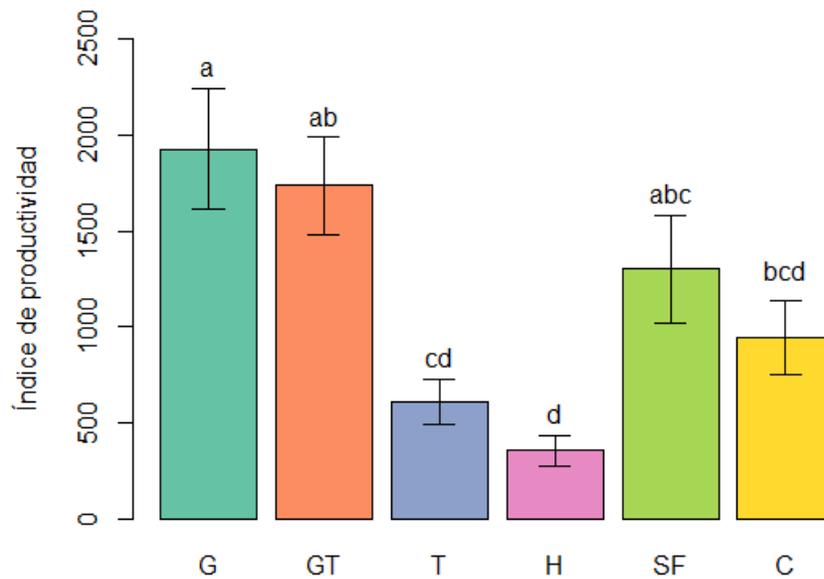


Figura 8. Índice de productividad de *A. cupreata* a 12 meses en distintos tratamientos: (G) Glifosato, (GT) Glifosato y Triple16, (T) Triple16, (H) Humus, (SF) Sin fertilización y (C) Composta.

10.2 Incidencia y pérdida por daño por picudo (*Scyphophorus acupunctatus*)

El manejo de la vegetación y el tipo de fertilización tuvieron efecto significativo sobre la incidencia de picudo negro medido por las categorías de avance (Cuadro 4). Las plantas tratadas con glifosato y su combinación con triple16 tuvieron más visitas por el picudo en el 2020 y 2021 que los otros tratamientos. El 16.6% de las plantas tratadas con glifosato resultaron en categoría 2 (perforaciones en las hojas en el 2020). Mientras que, en el tratamiento con glifosato y triple16 presentó mayor porcentaje de plantas en categoría 3 (perforaciones en las hojas en el 2021) con 12.2% y en categoría 6 (plantas con daño severo) con 7.7%.

En cambio, el 86.6% de las plantas tratadas con humus fueron clasificadas como categoría 1 (completamente sanas), siendo el tratamiento con mayor número de plantas sin daño. Seguido de los tratamientos sin fertilización y con composta, el 84.4% de las plantas resultaron sanas, así como el 10 y el 7.7% de las plantas presentaron perforaciones en las hojas en el 2021 (Fig. 9).

Cuadro 4. Estadística descriptiva del modelo lineal generalizado (GLM) para la incidencia de picudo negro (*Scyphophorus acupunctatus*) en *A. cupreata* a 17 meses de la aplicación de los factores: Manejo de la vegetación (glifosato, control manual de malezas) y tipo de fertilización (composta, humus, triple16, sin fertilización). (CM) Cuadrados medios, (gl) grados de libertad.

Categorías de avance				
	CM	F	gl	p
Manejo de la vegetación	18.5	16.5	1	<0.001
Tipo de Fertilización	3.7	3.3	3	0.02
Bloque	3.5	3.1	4	0.01
Veg:Fert	2.2	2	1	0.1
Error	1.1			

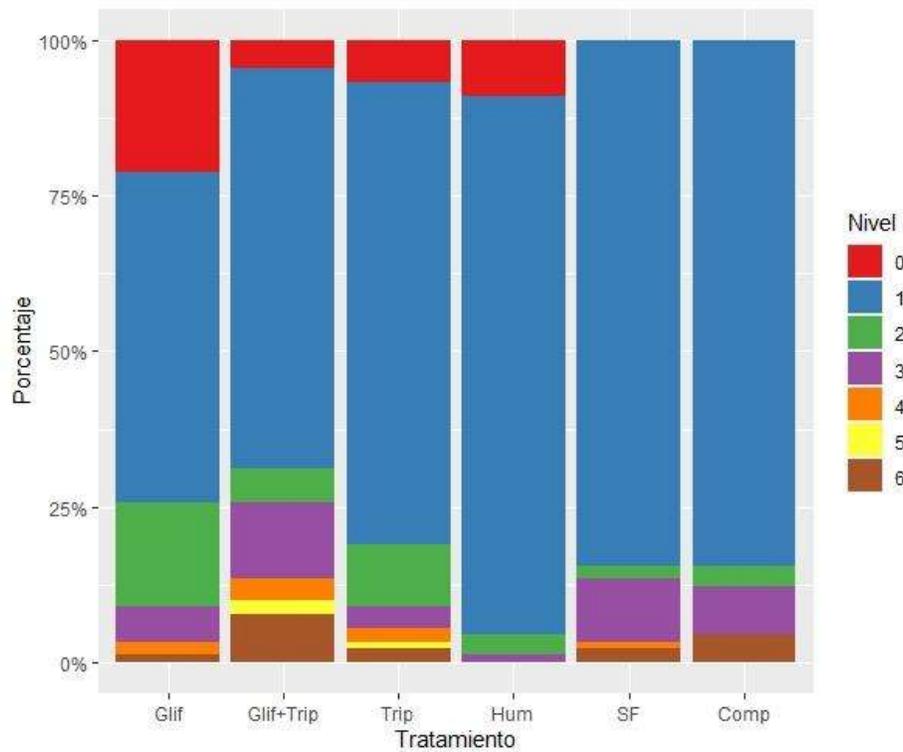


Figura 9. Porcentaje del nivel de incidencia por picudo negro (*Scyphophorus acupunctatus*) en *A. cupreata* a 17 meses de la aplicación de los tratamientos: Glifosato (Glif), Glifosato y triple16 (Glif+Trip), Triple16 (Trip), Humus (Hum), sin fertilización (SF), Composta (Comp). Nivel de avance: Plantas muertas (0), Planta completamente sana (1), perforaciones en las hojas del 2020 (2), perforaciones en las hojas del 2021 (3), perforaciones en las hojas del 2020 y 2021 (4), perforaciones en las hojas del 2020 y daño en el cogollo del 2021 (5), daño severo con secreciones gomosas y necrosis en el cogollo del 2021 (6).

Cuadro 5. Valores de los porcentajes del nivel de incidencia por picudo negro (*Scyphophorus acupunctatus*) en *A. cupreata* a 17 meses de la aplicación de los tratamientos. Nivel de avance: Planta completamente sana (1), perforaciones en las hojas del 2020 (2), perforaciones en las hojas del 2021 (3), perforaciones en las hojas del 2020 y 2021 (4), perforaciones en las hojas del 2020 y daño en el cogollo del 2021 (5), daño severo con secreciones gomosas y necrosis en el cogollo del 2021 (6).

Tratamiento	Nivel	Individuos	(%)	Tratamiento	Nivel	Individuos	(%)
Glifosato	1	48	53.3	Humus	1	78	86.6
	2	15	16.6		2	3	3.3
	3	5	5.5		3	1	1.1
	4	2	2.2		4	0	0
	5	0	0		5	0	0
	6	1	1.1		6	0	0
Glifosato + triple16	1	58	64.4	Sin fertilización	1	76	84.4
	2	5	5.5		2	2	2.2
	3	11	12.2		3	9	10
	4	3	3.3		4	1	1.1
	5	2	2.2		5	0	0
	6	7	7.7		6	2	2.2
Triple16	1	67	74.4	Composta	1	76	84.4
	2	9	10		2	3	3.3
	3	3	3.3		3	7	7.7
	4	2	2.2		4	0	0
	5	1	1.1		5	0	0
	6	2	2.2		6	4	4.4

10.3 Propiedades del suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata*

10.3.1 Manejo de la vegetación

Valor de pH, conductividad eléctrica y C orgánico del suelo

El manejo de la vegetación no alteró el pH del suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata*, manteniéndose neutro con valores promedio de 6.9 (Fig. 10a). Sin embargo, el manejo de vegetación modificó significativamente el porcentaje de carbono orgánico en el suelo (Cuadro 6). Siendo mayor en el control manual de malezas (CMM) en comparación con el uso de glifosato (Fig. 10b). La conductividad eléctrica (CE) se encontró dentro de los parámetros normales, sin embargo, fue significativamente mayor en el uso de glifosato, en comparación con el CMM.

Respiración microbiana

El análisis demostró que el control manual de malezas (CMM) modificó la utilización del C ($p \leq 0.05$), la mineralización de C fue mayor con el CMM mostrando niveles más altos de CO₂ en comparación con el control químico del glifosato (Fig. 10d).

Actividad enzimática

En cuanto a las actividades enzimáticas, este factor no tuvo efecto sobre la enzima β -glucosidasa (BG), polifenol oxidasa (PO), y fosfomonoestereasa (FE), manteniéndose con una actividad promedio de 0.1, 1.9 y 0.4, respectivamente (Cuadro 7). En cambio, la enzima leucina aminopeptidasa (LA) fue significativamente más activa en el tratamiento con glifosato, a diferencia del CMM (Fig. 11).

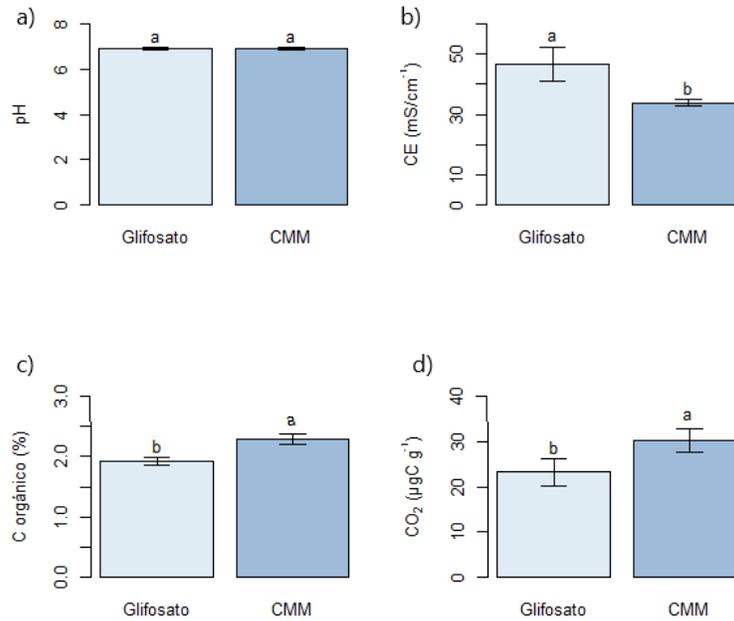


Figura 11. Valores promedio de la respuesta química con el uso de glifosato y control manual de malezas en el suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata*: a) pH. b) CE: conductividad eléctrica. c) Carbono orgánico. d) CO₂. Diferentes letras son significativamente diferentes según la prueba de Tukey, las barras representan el error estándar del promedio ($p \leq 0.05$).

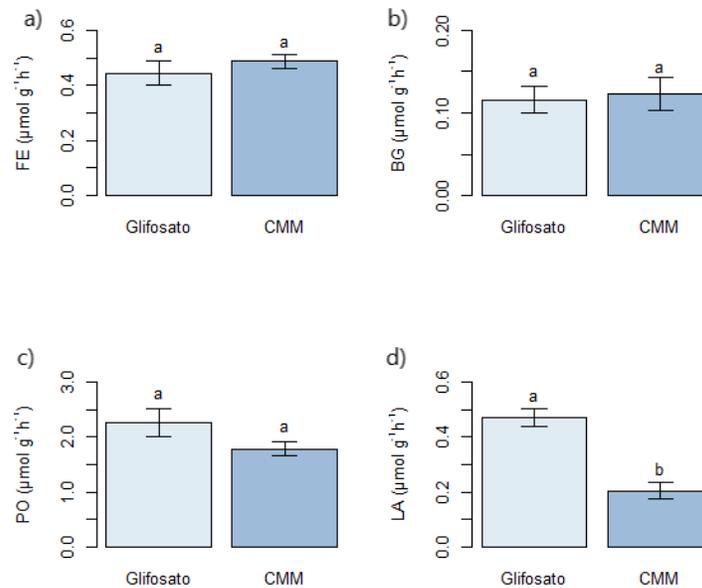


Figura 10. Valores promedio de la respuesta enzimática con el uso de glifosato y control manual de malezas en el suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata*: a) FE: fosfomonoesterasa. b) BG: β -glucosidasa. c) PO: polifenol oxidasa. d) LA: leucina aminopeptidasa. Diferentes letras son significativamente diferentes según la prueba de Tukey, las barras representan el error estándar del promedio ($p \leq 0.05$).

10.3.2 Tipo de fertilización

Valor de pH, conductividad eléctrica y C orgánico del suelo

El tipo de fertilización no tuvo efectos significativos sobre el pH en el suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata*, oscilando en promedio entre 6.8 a 6.9. La conductividad eléctrica (CE) no fue alterada significativamente, manteniéndose en un rango entre 33.8 y 41.1 (mS/cm⁻¹) en promedio. Los resultados reflejan que el C orgánico fue significativamente mayor en el tratamiento con composta, en comparación con el fertilizante inorgánico triple16 (Fig.12).

Respiración microbiana

El análisis reflejó que la respiración microbiana (CO₂) incrementó en el tratamiento con humus, mientras que hubo decremento en los tratamientos con triple16 y con composta (Fig. 12d).

Actividad enzimática

Las actividades enzimáticas de β-glucosidasa (BG) y fosfomonoesterasa (FE), no tuvieron efecto significativo, manteniéndose entre 0.1 y 0.4 en todos los tratamientos, respectivamente. Mientras que, la enzima polifenol oxidasa (PO) fue significativamente mayor en el uso de triple16 y del humus. La adición de composta y el tratamiento sin fertilización redujeron la actividad de la enzima. Una tendencia similar con la enzima leucina aminopeptidasa (LA), siendo mayor con triple16, seguido del tratamiento sin fertilizante y humus. Mientras que el uso de composta reduce dicha actividad (Fig. 13).

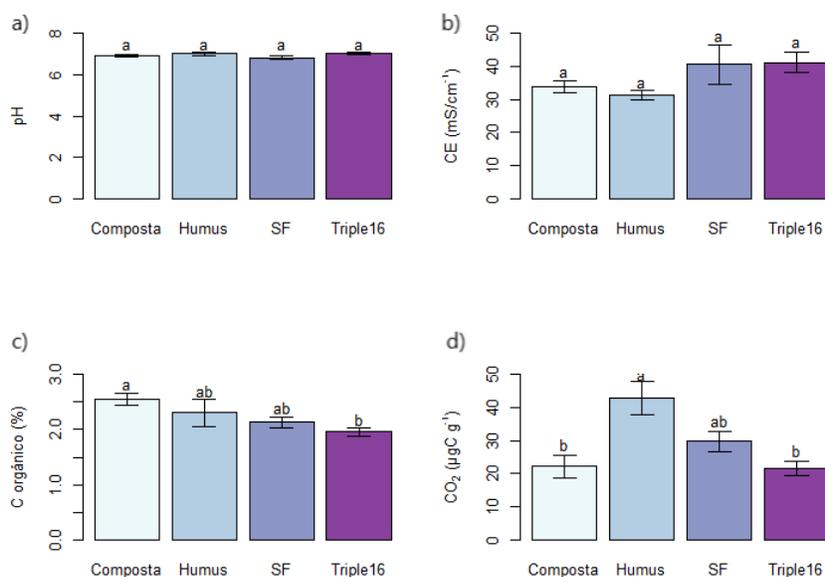


Figura 13. Valores promedio de la respuesta con y sin el uso de fertilizantes orgánicos e inorgánicos en el suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata*: a) pH. b) CE: Conductividad eléctrica. c) Carbono orgánico. d) CO₂. Diferentes letras son significativamente diferentes según la prueba de Tukey, las barras representan el error estándar del promedio ($p \leq 0.05$).

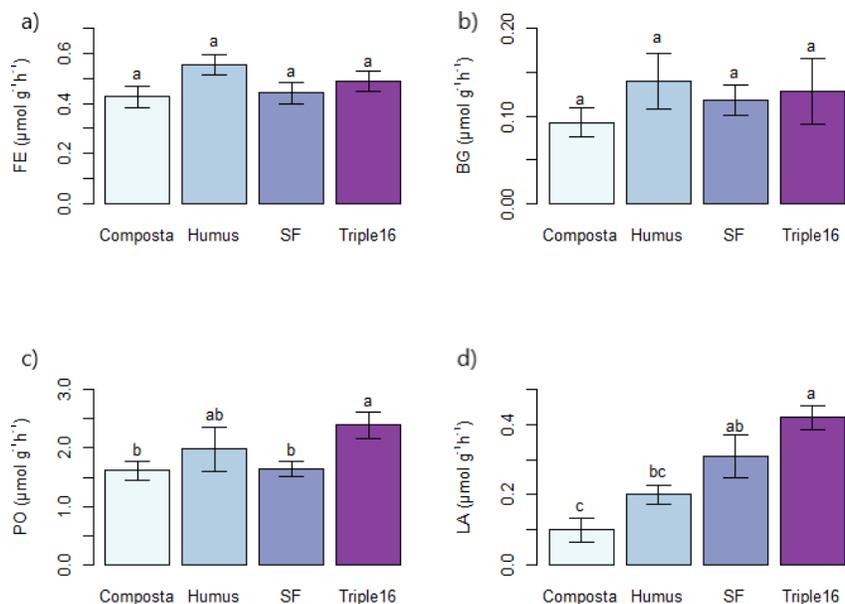


Figura 12. Valores promedio de la respuesta enzimática de la respuesta con y sin el uso de fertilizantes orgánicos e inorgánicos en el suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata*: a) FE: fosfomonoesterasa. b) BG: β -glucosidasa. c) PO: polifenol oxidasa. d) LA: leucina aminopeptidasa. Diferentes letras son significativamente diferentes según la prueba de Tukey, las barras representan el error estándar del promedio ($p \leq 0.05$).

Cuadro 6. Estadística descriptiva del modelo lineal generalizado (GLM) para las propiedades químicas del suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata* a 12 meses de la aplicación de los factores: Manejo de la vegetación (glifosato, control manual de malezas) y tipo de fertilización (composta, humus, triple16, sin fertilización). (CM) Cuadrados medios, (gl) grados de libertad.

	CM	F	gl	p	CM	F	gl	p
	pH				C orgánico (C org)			
Manejo de la vegetación	0.002	0.05	1	0.81	0.91	8.97	1	< 0.01
Fertilización	0.072	1.47	3	0.25	0.20	2.01	3	0.14
Bloque	0.092	1.86	4	0.15	0.04	0.41	4	0.79
Veg:Fert	0.018	0.37	1	0.54	0.28	2.82	1	0.10
Error	0.049				0.10			
	Conductividad eléctrica (CE)				CO₂			
Manejo de la vegetación	1083.37	7.70	1	0.01	336.98	4.37	1	0.04
Fertilización	16.04	0.11	3	0.95	494.39	6.41	3	< 0.01
Bloque	115.73	0.82	4	0.52	78.78	1.02	4	0.42
Veg:Fert	114.24	0.81	1	0.37	9.29	0.12	1	0.73
Error	2812.85				77.10			
	β-glucosidasa (BG)				Polifenol oxidasa (PO)			
Manejo de la vegetación	0.01	0.72	1	0.40	1.47	4.18	1	0.05
Fertilización	0.01	0.99	3	0.41	1.07	3.06	3	0.05
Bloque	0.001	0.07	4	0.98	0.31	0.88	4	0.49
Veg:Fert	0.01	0.60	1	0.44	0.14	0.42	1	0.52
Error	0.34				0.35			
	Leucina aminopeptidasa (LA)				Fosfomonoesterasa (FE)			
Manejo de la vegetación	0.47	56.97	1	< 0.001	0.01	0.72	1	0.40
Fertilización	0.04	5.76	3	< 0.01	0.01	0.99	3	0.41
Bloque	0.001	0.23	4	0.91	0.001	0.07	4	0.98
Veg:Fert	0.07	9.59	1	< 0.01	0.01	0.60	1	0.44
Error	0.008				0.01			

Cuadro 7. Valores promedios para las propiedades químicas del suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata* a 12 meses de la aplicación de los factores: Manejo de la vegetación (glifosato, control manual de malezas) y tipo de fertilización (composta, humus, triple16, sin fertilización).

	pH	CE (mS/cm ⁻¹)	C org (%)	CO ₂ (µgC g ⁻¹)
Manejo de la vegetación				
Glifosato	6.9 ± 0.06 a	46.5 ± 5.7 a	1.9 ± 0.08 b	23.2 ± 3 b
Control manual de malezas	6.9 ± 0.05 a	33.8 ± 1.1 b	2.2 ± 0.05 a	30.3 ± 2.5 a
Tipo de fertilización				
Composta	6.9 ± 0.06 a	33.8 ± 1.8 a	2.5 ± 0.1 a	22.1 ± 3.4 b
Humus	6.9 ± 0.08 a	31.3 ± 1.4 a	2.3 ± 0.2 ab	42.7 ± 5.1 a
Sin fertilización	6.8 ± 0.09 a	40.4 ± 5.8 a	2.1 ± 0.09 ab	29.7 ± 3.0 ab
Triple16	6.9 ± 0.05 a	41.1 ± 3.1 a	1.9 ± 0.07 b	21.6 ± 2.0 b
Actividad enzimática				
	BG	PO	LA	FE
Manejo de la vegetación				
Glifosato	0.1 ± 0.01 a	2.2 ± 0.2 a	0.4 ± 0.03 a	0.4 ± 0.04 a
Control manual de malezas	0.1 ± 0.02 a	1.7 ± 0.1 a	0.2 ± 0.02 b	0.4 ± 0.02 a
Tipo de fertilización				
Composta	0.09 ± 0.01 a	1.6 ± 0.1 b	0.1 ± 0.03 c	0.4 ± 0.04 a
Humus	0.1 ± 0.03 a	1.9 ± 0.3 ab	0.2 ± 0.02 bc	0.5 ± 0.04 a
Sin fertilización	0.1 ± 0.01 a	1.6 ± 0.1 b	0.3 ± 0.06 ab	0.4 ± 0.04 a
Triple16	0.1 ± 0.03 a	2.3 ± 0.2 a	0.4 ± 0.03 a	0.4 ± 0.04 a

(CE) Conductividad eléctrica, (C org) Carbono orgánico, (BG) β-glucosidasa, (PO) Polifenol oxidasa, (LA) Leucina aminopeptidasa, (FE) Fosfomonoestereasa. Medias con letras iguales por columna no son estadísticamente diferentes (± error estándar, Tukey < 0.05).

10.4 Comunidades bacterianas rizosféricas y endófitas de la raíz de *A. cupreata*

Diversidad y riqueza de bacterias

En la rizosfera se obtuvieron 18,839 Unidades Taxonómicas Operativas (OTUs, por sus siglas en inglés) en total. Se encontraron un total de 1010 géneros anotados. De forma general, las curvas de rarefacción describen que la secuenciación fue lo suficientemente exhaustiva para representar la diversidad en los tratamientos con composta y glifosato, mientras que en algunas muestras las curvas indican secuenciación recursiva de la minoría y por lo tanto especies no detectadas, como en

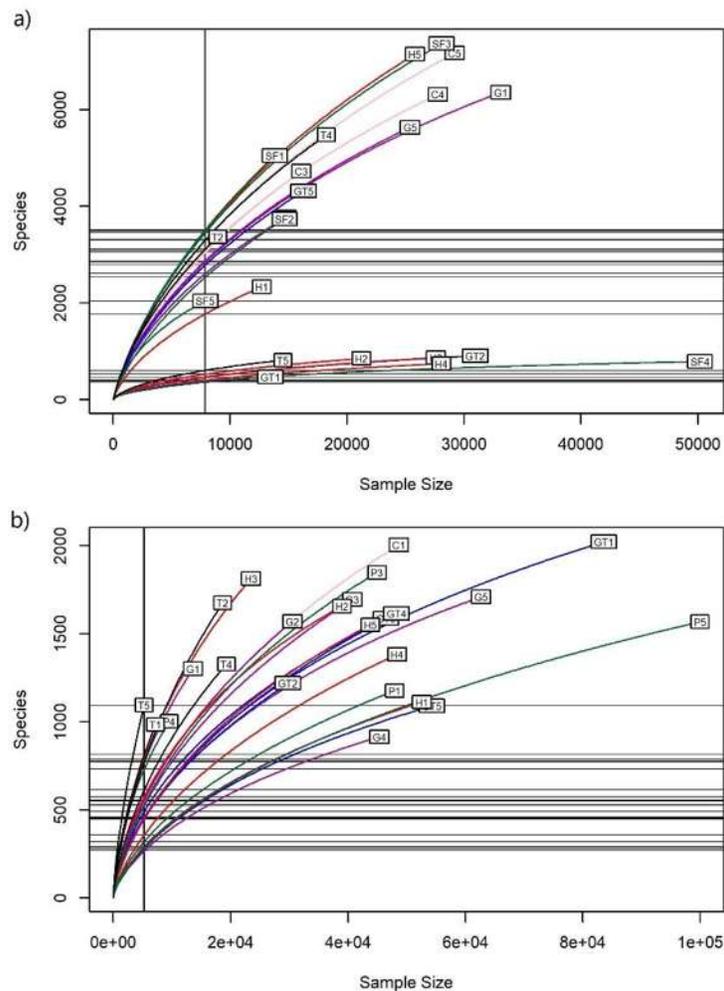


Figura 14. Curvas de rarefacción a partir de la matriz de unidades taxonómicas operativas (OTUs) bacterianas de *A. cupreata* en distintos tratamientos: (G) Glifosato, (GT) Glifosato y Triple16, (T) Triple16, (H) Humus, (C) Composta, (SF) Sin fertilización. a) Bacterias rizosféricas. b) Bacterias endófitas de la raíz.

el caso del tratamiento con humus (Fig. 14a).

En la raíz se obtuvieron 8,060 OTUs. Se detectaron 664 géneros de bacterias endófitas de la raíz en total. Para la mayoría de las muestras las curvas de rarefacción fueron muy altas, por lo que la cobertura de secuenciación fue buena (Fig. 14b).

El estimador Chao1 y el índice de Shannon en las muestras de rizosfera y raíz no presentaron diferencias significativas de la diversidad bacteriana entre los tratamientos ($p > 0.05$). Sin embargo, en las muestras de rizosfera, al ser excluidas las muestras que no presentaban un buen patrón de diversidad, puede visualizarse una diversidad promedio mayor en el tratamiento con el uso de composta (7.6 ± 0.1), triple16 (7.5 ± 0.2) y glifosato (7.3 ± 0.2). Mientras que, los tratamientos sin fertilización (7.1 ± 0.7) y humus (6.7 ± 1.6) fue menor, presentando más variación entre muestras. En el índice de riqueza Chao1 se observan ligeras diferencias, registrando un aumento en el tratamiento con composta y glifosato (Fig. 15a).

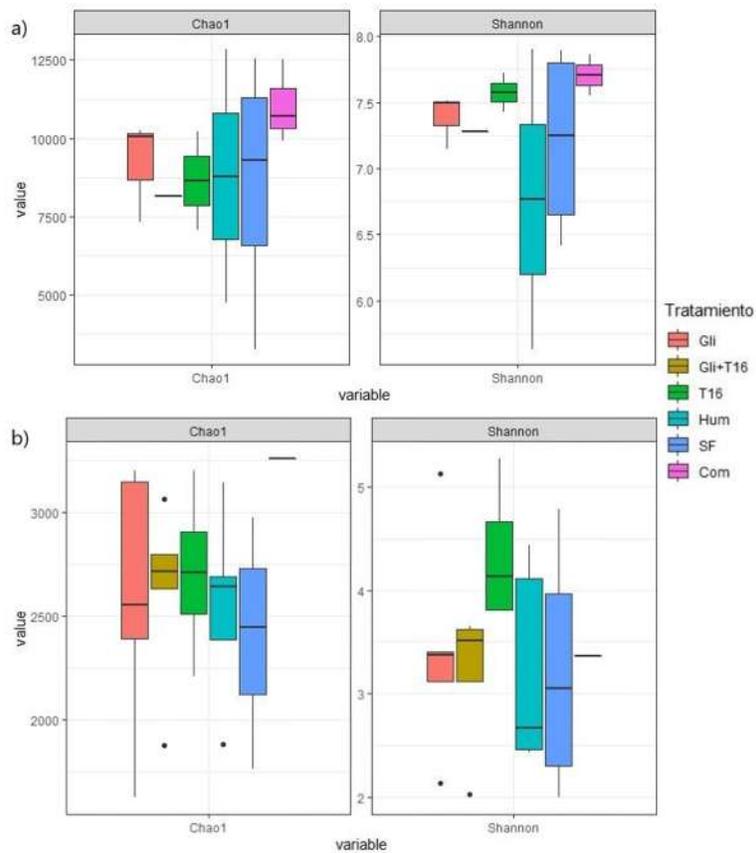


Figura 15. Estimador Chao1 e índice de Shannon estimando la diversidad bacteriana de la rizosfera y raíz de *A. cupreata* en diferentes tratamientos: Glifosato (Gli), glifosato y triple16 (Gli+T16), triple16 (T16), humus (Hum), sin fertilización (SF), composta (Com). a) Rizosfera. b) Raíz.

La diversidad alfa en las muestras de la endosfera de la raíz fue más baja que en la rizosfera, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, fue marginalmente mayor el promedio en el tratamiento con el fertilizante inorgánico solo (4.3 ± 0.6), y combinado con glifosato (3.1 ± 0.6), seguido del uso de glifosato (3.4 ± 1). Los tratamientos sin fertilización (3.2 ± 1.2) y con humus (3.1 ± 0.9) presentaron mayor variación en la diversidad. Lo que sugiere que la adición de fertilizantes y el herbicida están modificando ligeramente la diversidad. El índice de Chao1 no mostró diferencias, pero hubo una gran variación en el tratamiento con glifosato (Fig. 15b).

La gráfica de escala multidimensional no métrica (NMDS) de las muestras de la rizosfera reveló que las muestras tratadas con composta, glifosato y triple16 se agrupan claramente, pero no en las muestras de humus y sin fertilizante donde hay mayor variación entre muestras, confirmando la información anteriormente mencionada sobre la diversidad (Fig. 16a).

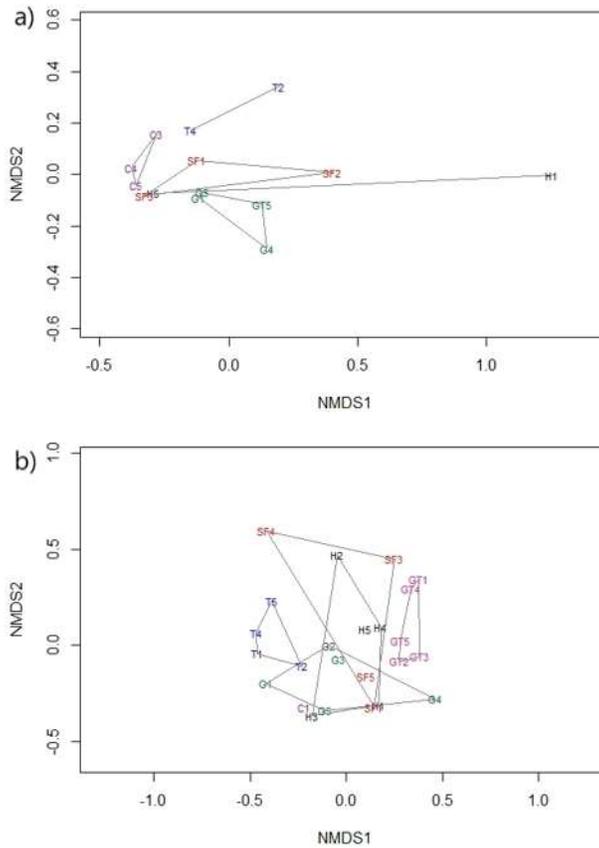


Figura 16. Gráfica de escala multidimensional no métrica (NMDS) de la diversidad beta de Bray-Curtis estimada a partir de la matriz de unidades taxonómicas operativas (OTUs) bacterianas de la rizosfera y raíz de *A. cupreata* con diferentes tratamientos: Glifosato (G), glifosato y triple16 (GT), triple16 (T), humus (H), composta (C), in fertilización (SF). a) Rizosfera. b) Raíz.

Del mismo modo, en la endosfera de la raíz las muestras tratadas con triple16 y la combinación de glifosato y triple16 formaron grupos claros, mientras que las muestras de humus, glifosato y sin fertilización muestra mayor variación y se traslapan entre sí (Fig. 16b). Los resultados de los gráficos de NMDS confirman que el tipo de manejo contribuye en la agrupación de las comunidades bacterianas.

Abundancias relativas

En todas las muestras de la rizosfera se detectaron un total de 34 phyla distintos de bacterias, donde Actinobacteria, Proteobacteria y Acidobacteria comprendieron > 60% de cada muestra (Fig. 17a). Los perfiles de las abundancias relativas bacterianas parecían similares, algunas muestras tuvieron un patrón distinto por lo que fueron excluidas del análisis de diversidad. De forma general, en la rizosfera de *A. cupreata* las órdenes el Vicinamibacterales (13%), Rhizobiales (11%) y Bacillales (5%) fueron las más abundantes. En la endosfera de la raíz, resultaron un total de 28 phyla, Cyanobacteria y Proteobacteria cubrieron > 80% en todas las muestras (Fig. 18a). La orden Cyanobacteriales cubrió > 60% de las muestras.

A nivel de género, la rizosfera estuvo comprendida principalmente por *Vicinamibacter* (13%, Acidobacteriota), *Gemmatimonas* (4.5%, Gemmatimonadota), *Bacillus* (5%, Firmicutes), *Chelativorans* (3.3%, Alphaproteobacteria) y *Tepidisphaera* (3%, Planctomycetota), representaron en promedio el 28% de los perfiles de abundancias relativas (Fig. 17b). En las muestras de la endosfera de la raíz la abundancia de *Tolypothrix* (68.3%, Cyanobacteria) y *Rhodoligotrophos* (9.3%, Alphaproteobacteria) fueron los géneros más abundantes (Fig. 18b).

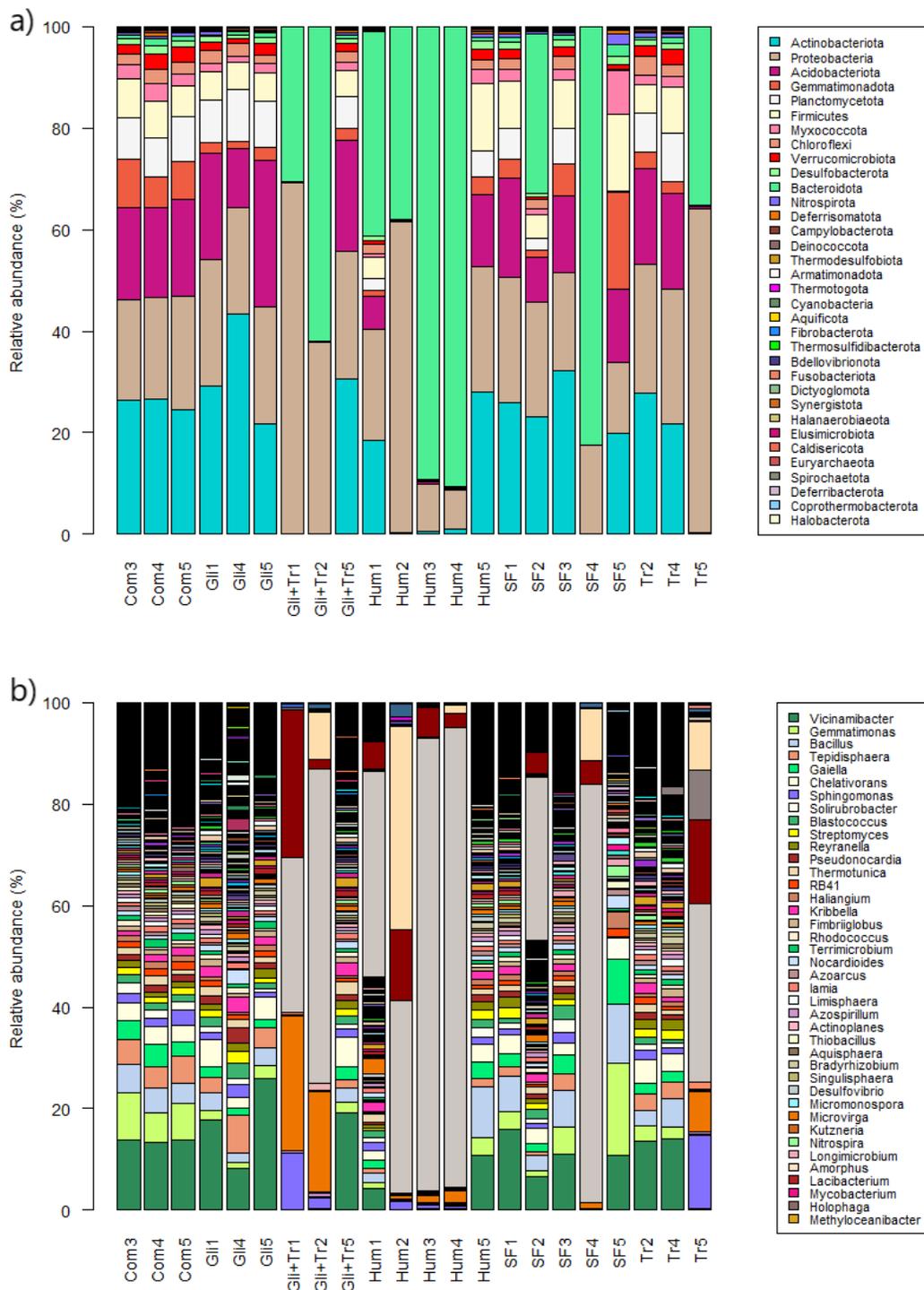


Figura 17. Gráficas de abundancia relativa de bacterias rizosféricas de *A. cupreata* con diferentes tratamientos: Composta (Com), glifosato (Gli), glifosato y triple16 (Gli+Tr), humus (Hum), sin fertilización (SF) y triple16 (Tr). a) Nivel de phylum. b) Nivel de género.

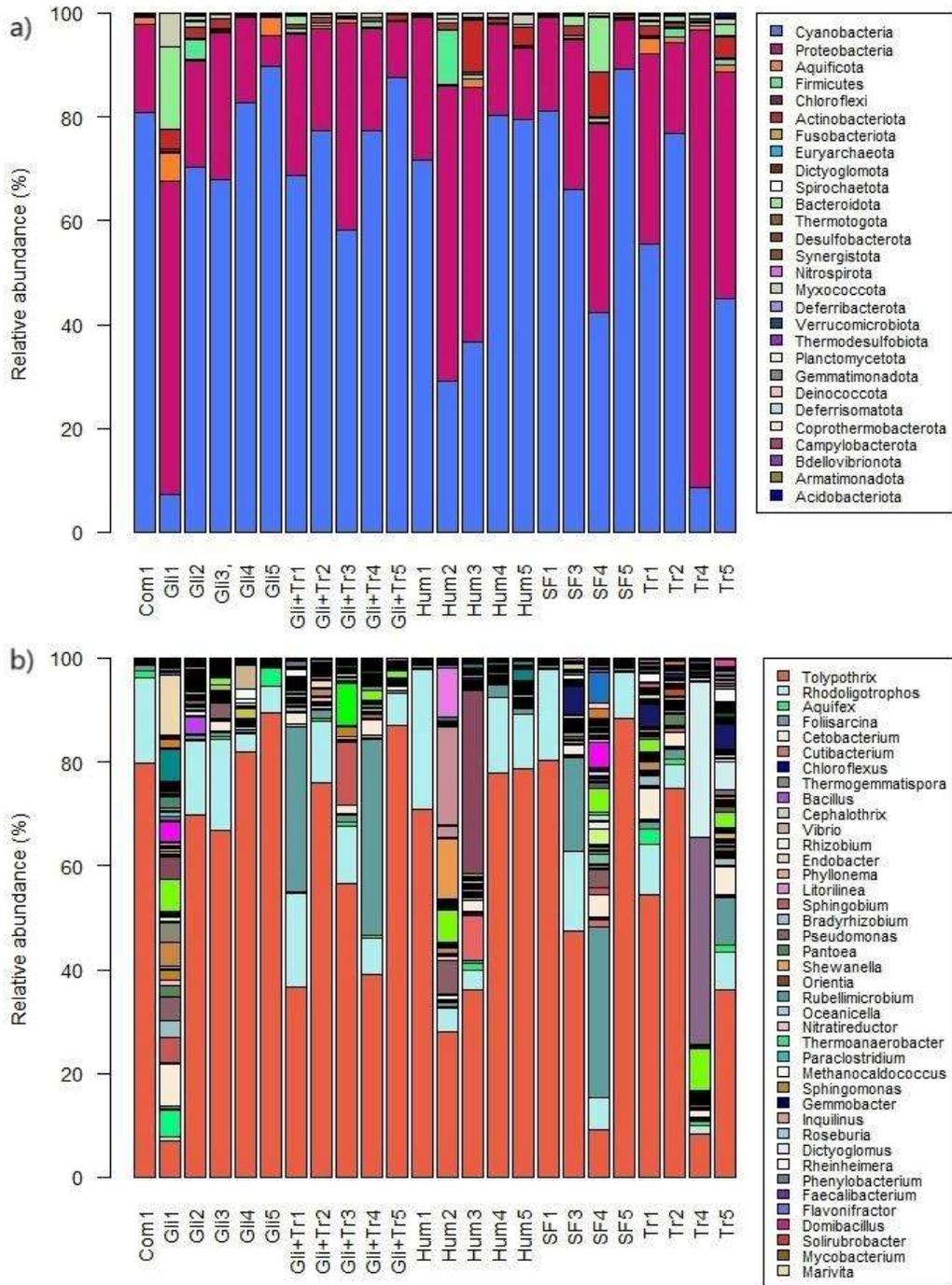


Figura 18. Gráficas de abundancia relativa de bacterias endófitas de la raíz de *A. cupreata* con diferentes tratamientos: Composta (Com), glifosato (Gli), glifosato y triple16 (Gli+Tr), humus (Hum), sin fertilización (SF) y triple16 (Tr). a) Nivel de phylum. b) Nivel de género.

Estructura de las comunidades bacterianas en el nivel de phylum

Para identificar los organismos diferencialmente abundantes asociados con las prácticas de manejo se usó el tamaño del efecto (LEfSe) del análisis discriminante lineal (LDA). Los resultados del LEfSe en las bacterias rizosféricas detectaron que el phylum Planctomycetota aumentó en los tratamientos con composta y con glifosato en comparación con el tratamiento sin fertilización (SF), mientras que, en SF se encontraron más abundantes Thermosulfidibacterota, Thermotogota, Cyanobacteria, Thermodesulfobiota, Fibrobacterota y Deinococcota. Por otro lado, la abundancia de ocho phyla se enriqueció en el tratamiento con composta en comparación con el tratamiento de glifosato, entre ellos se encuentran Gemmatimonadota, Firmicutes, Myxococcota, Deinococcota, Caldisericota, Thermotogota, Fusibacteriota y Thermodesulfobiota, en ese orden.

En la endosfera de la raíz, el phylum Fusobacteriota fue más abundante en el tratamiento con composta en comparación con los otros tratamientos. En cuanto al glifosato solo mostró diferencias en los organismos cuando se combinó con el fertilizante químico.

Estructura de las comunidades bacterianas en el nivel de género

Los resultados muestran que el uso de glifosato y composta modificó significativamente los géneros de la rizosfera. El género *Agromyces* (Actinobacteria) es detectado con LDA alto en el tratamiento con glifosato comparado con los otros tratamientos. La abundancia de 28 géneros se modificó positivamente con la aplicación de glifosato (G) en comparación con el tratamiento sin fertilización (SF), entre los más relevantes en glifosato fue el incremento de *Kribbella* y *Nitratireductor*. En cambio, disminuyeron 22 géneros como *Spirosoma* y *Anaeromyxobacter* (Fig. 19a).

La abundancia de 25 géneros aumentó con el uso de composta en comparación con el tratamiento SF, entre ellos *Gemmatimonas* y *Tepidisphaera*, así como también se observó decremento de 21 géneros como *Microvirga* e *Hyphomicrobium* mayormente

(Fig. 19b). Tanto el uso de composta como de glifosato redujeron la abundancia de *Endobacter* y *Rhodoligotrophos*, pero bajo ambos insumos aumentaron géneros como *Aeromicrobium*.

La adición de insumos externos también modificó la comunidad de bacterias endófitas de la raíz, principalmente el glifosato y el fertilizante inorgánico triple16, combinados o por separado. El resultado de NMDS mencionado anteriormente muestra una clara diferencia entre los tratamiento triple16 (T) y su combinación con glifosato (GT). En este análisis se muestra que con el uso de T ocasiona el aumento de 19 géneros, mientras que, GT aumentan 8 géneros (Fig. 20a).

Al comparar los tratamientos bajo el manejo convencional contra el tratamiento sin ningún insumo muestra diferencias significativas. Al comparar el triple16 con el tratamiento SF, el fertilizante inorgánico aumentó 21 géneros, mientras que, siete géneros fueron reducidos (Fig. 20b). En las comparaciones el fertilizante inorgánico se enriqueció principalmente con *Aquifex*, *Steroidobacter*, *Vibrio*, *Luteolibacter*, *Thermogemmatispora*, *Endobacter* y *Paraclostridium*.

Por otro lado, la adición de glifosato aumentó la abundancia relativa de 7 géneros en comparación con el tratamiento SF, y disminuyeron 10 géneros (Fig. 20c). El uso del herbicida y el fertilizante inorgánico afectaron negativamente géneros como *Paracoccus*, *Acinetobacter* y *Cutibacterium*.

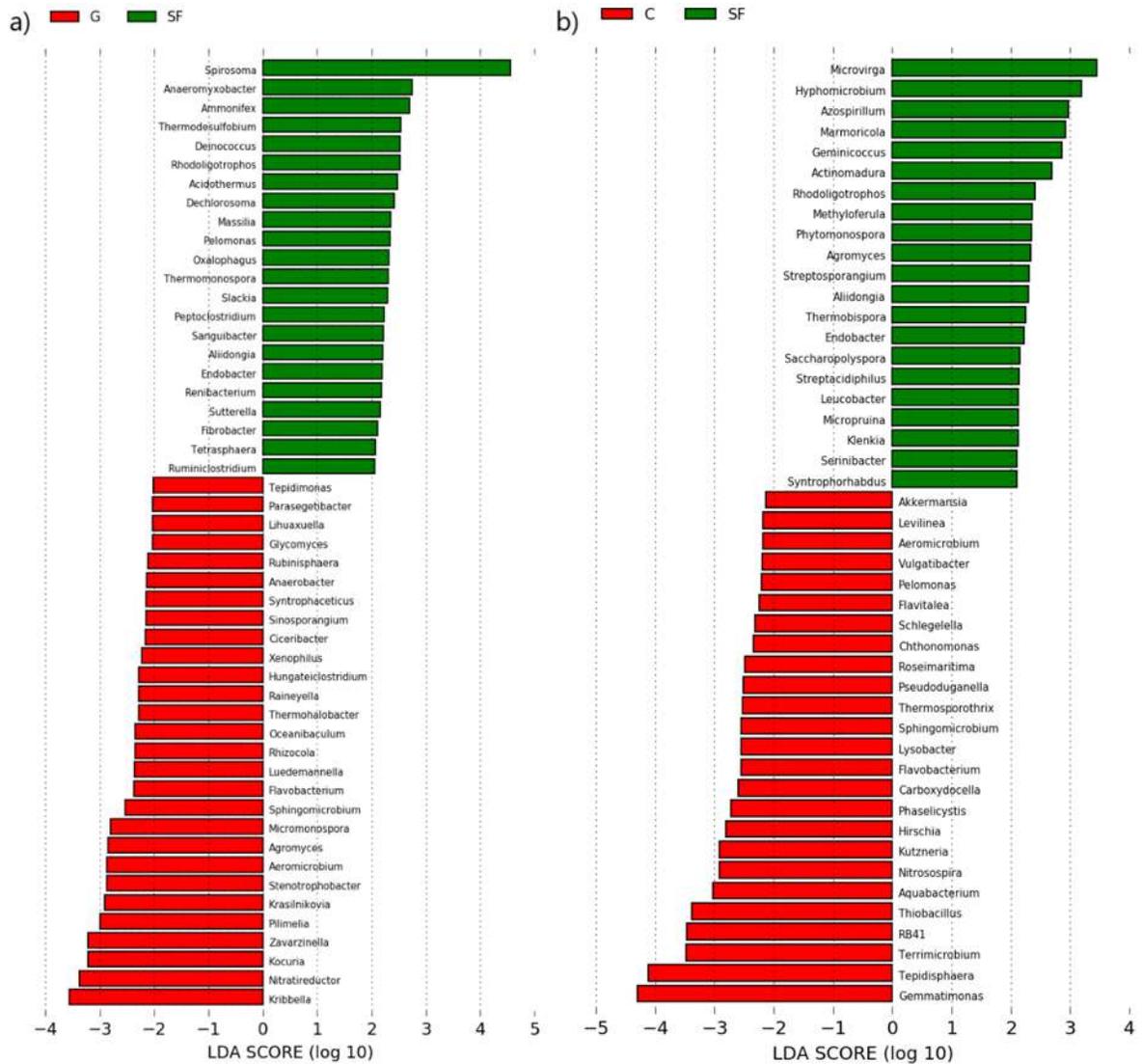


Figura 19. Mapas LEfSe de los géneros diferencialmente abundantes de bacterias endófitas de la raíz de *A. cupreata* entre tratamientos, $P < 0.05$, $LDA > 2$ como estándar. a) Géneros significativamente diferenciales entre los tratamientos: (SF) sin fertilización (barras verdes) y (G) glifosato (barras rojas). b) Géneros significativamente diferenciales entre los tratamientos: (SF) sin fertilización (barras verdes) y (C) composta (barras rojas).

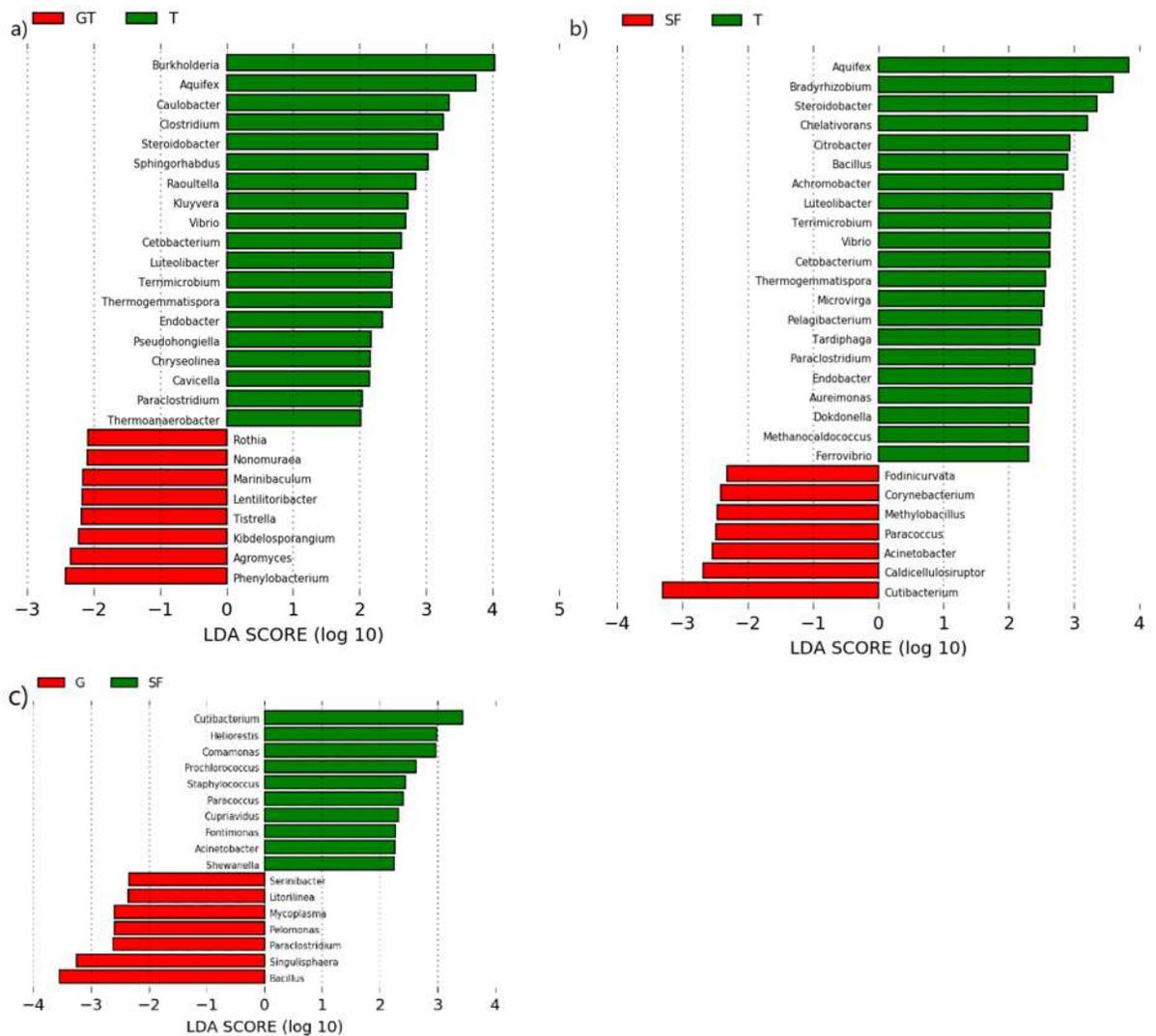


Figura 20. Mapas LEfSe de los géneros diferencialmente abundantes de bacterias endófitas de la raíz de *A. cupreata* entre tratamientos, $P < 0.05$, $LDA > 2$ como estándar. a) Géneros significativamente diferenciales entre los tratamientos: (GT) glifosato + triple16 (barras rojas) y (T) triple16 (barras verdes). b) Géneros significativamente diferenciales entre los tratamientos: (SF) sin fertilización (barras rojas) y (T) triple16 (barras verdes). c) Géneros significativamente diferenciales entre los tratamientos: (SF) sin fertilización (barras verdes) y (G) glifosato (barras rojas).

Relaciones entre las propiedades del suelo y las comunidades bacterianas

Se usó el Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) para detectar las relaciones entre las propiedades del suelo y las abundancias relativas de los 30 géneros más abundantes de la rizosfera y de la endosfera de la raíz. Se reveló que, en la rizosfera el primer y el segundo componente pudieron explicar el 50% de la variación bacteriana. Se mostró que el C orgánico, la leucina aminopeptidasa y la beta glucosidasa, en este orden, tuvieron un impacto sobre los patrones de abundancia de la comunidad de bacterias de todas las muestras, los parámetros menos importantes fueron la conductividad eléctrica y el pH. La frecuencia de *Gemmatimonas* y *Thiobacillus* y *Gaiella* estuvieron asociados con los sitios con composta y con el C orgánico. mientras que, *Vicinamibacter*, *Chelativorans* y *Fimbriiglobus* se asociaron en los sitios con glifosato, e influenciados por la enzima polifenol oxidasa y la leucina aminopeptidasa (Fig. 21a).

En la endosfera de la raíz, los primeros dos componentes del CCA explicaron solo el 18% de la variación bacteriana. El resultado sobre la abundancia de la comunidad bacteriana endofítica influye principalmente las enzimas polifenol oxidasa y la leucina aminopeptidasa, y en menor medida la conductividad eléctrica y la beta glucosidasa. *Sphingobium* y *Sphingomonas* estuvieron relacionados con la enzima polifenol oxidasa. La distribución de los OTUs fue más concentrada en relación con los parámetros del suelo, no se asociaron claramente con los parámetros del suelo, por lo que otro factor no incluido están explicando la variación (Fig. 21b).

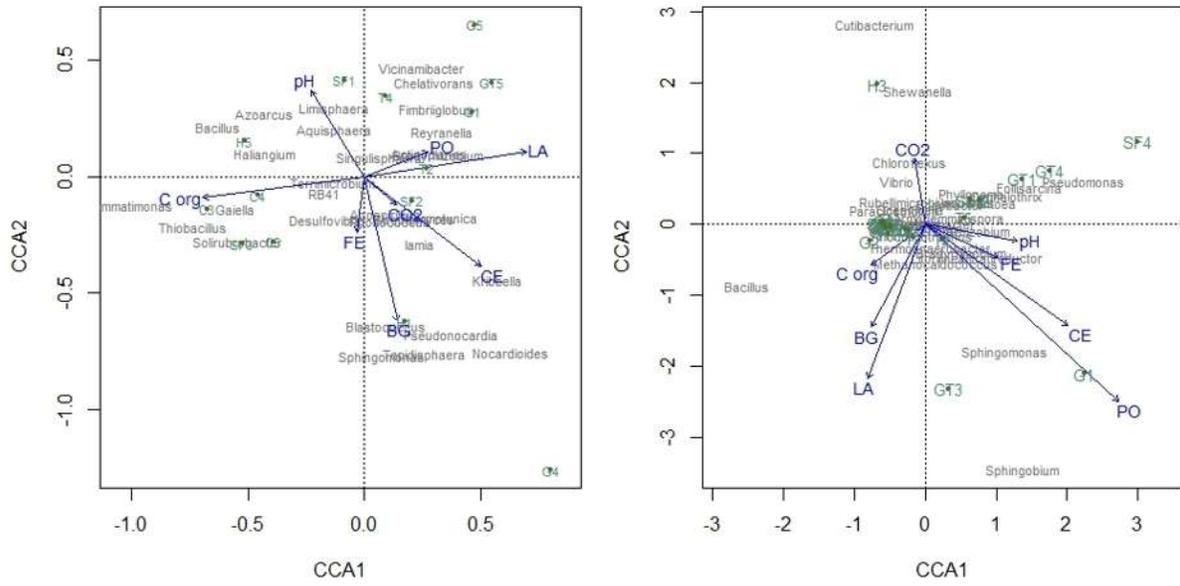


Figura 21. Análisis de correspondencia canónica (CCA) basado en la abundancia relativa de los 30 géneros más abundantes de bacterias y las propiedades químicas del suelo entre los diferentes tratamientos en *A. cupreata*. Las flechas azules representan los parámetros del suelo: (C org) carbono orgánico, (CO₂) Respiración microbiana, (CE) conductividad eléctrica, (LA) leucina aminopeptidasa, (BG) β-glucosidasa, (FE) Fosfomonoestereasa, (PO) Polifenol oxidasa. Los puntos verdes indican los tratamientos: (SF) sin fertilización, (C) composta, (G) glifosato, (H) humus, (T) triple16 y (GT) glifosato + triple16. Las letras grises indican los géneros de bacterias. a) Muestras de la rizosfera. b) Muestras de la raíz.

11. DISCUSIÓN

11.1 Efecto de las prácticas de manejo sobre el crecimiento y salud de *A. cupreata*

11.1.1 Manejo de la vegetación

La aplicación cada tres meses de glifosato en la plantación de *Agave cupreata* con riego en la época de secas favoreció el crecimiento de las plantas en relación con los otros sistemas de control de maleza. Se reporta que el glifosato en dosis bajas puede estimular el crecimiento de las plantas, registrándose el fenómeno de hormesis (Cedergreen, 2008; Silva *et al.*, 2016). Dicho fenómeno ha sido observado en caña de azúcar y eucalipto (Nascentes *et al.*, 2018), en cebada (Cedergreen, 2008) y soja (Silva *et al.*, 2016). El fenómeno puede estar relacionado con el incremento de aminoácidos aromáticos como el triptófano y la fenilalanina cambiando la respuesta hormonal, los cuales son precursores de proteínas y auxinas (Silva *et al.*, 2016).

Martínez-Palacios *et al.* (2015a) reportan una respuesta contraria en plantaciones de temporal de *A. cupreata*, con tres aplicaciones de glifosato entre los meses de julio y septiembre, las plantas registraron las menores tallas en relación con el control, a lo largo de 24 meses de estudio. La diferencia pudo deberse al tiempo corto entre cada una de las tres aplicaciones por año. Resultados similares se reportaron en *A. sisalana* a nivel de laboratorio (Sarkar *et al.*, 2014).

11.1.2 Tipo de fertilización

La composta y sin fertilización se registró la mayor respuesta en diámetro y altura en 24 meses de crecimiento en relación con el triple 16 y el humus. Trabajos previos en *Agave angustifolia* en invernadero, registraron que la aplicación de fuentes de N, P y K no reflejaron mayor incremento del contenido foliar de N, K y Ca, tampoco se reflejó una mayor respuesta en la altura de la planta, en diámetro del tallo y el peso seco de las raíces en relación con el control sin fertilización (Sánchez-Mendoza *et al.*, 2019). De igual forma, *A. angustifolia* en otros trabajos reportan que la aplicación de composta comparado con el uso de fertilizantes mejoró significativamente la respuesta en el diámetro del tallo, volumen de las raíces y biomasa total de las

plantas cultivadas en invernadero (Enríquez-del Valle *et al.*, 2009). Aunque el humus no favoreció el crecimiento de *A. cupreata*, existen reportes que la concentración de la aplicación a 2 ml / l favoreció el crecimiento en plantas de *Yucca aloifolia* (Altaee y Alsawaf, 2019). Con respecto a esto, Rose *et al.* (2014) mencionan que las sustancias húmicas pueden tener efectos inconsistentes en el desarrollo de las plantas. Los efectos varían de acuerdo con factores como la tasa de aplicación, el tipo de sustancia húmica, las condiciones ambientales y la especie de la planta.

11.1.3 Supervivencia y productividad

Se registró mayor mortandad en el tratamiento con glifosato a un año de la aplicación de los tratamientos, el mayor decremento se presentó después de la temporada de lluvias. Está documentado el uso de glifosato y la disminución del rendimiento del cultivo, prevalencia de plagas y enfermedades, reducción de microorganismos rizosféricos y microfauna, e inmovilización de micronutrientes como el Ca y el Mg en cultivos sensibles al glifosato (Duke *et al.*, 2012). Además, disminuye el contenido de clorofila y las tasas de fotosíntesis, dando como resultado el amarillamiento de hojas, así como necrosis de las raíces (Gomes *et al.*, 2016). Lo que podría ser causa de la mortandad de individuos.

El control manual de malezas no tuvo ninguna pérdida durante el desarrollo del estudio y tuvo las plantas de mayor tamaño en diámetro y altura. Dichas plantas proveen algunos servicios, como conservar la humedad al reducir el suelo expuesto (Rana y Rana, 2016). En el sitio de estudio, la vegetación silvestre era controlada de forma manual y natural, debido a que la vegetación anual llegaba a su senescencia, sirviendo como fuente de materia orgánica, mientras que vivas liberan exudados permitiendo el aumento de biomasa microbiana en el suelo (Sturz *et al.*, 2001). Los cultivos con vegetación de cobertura, se ha reportado que estos últimos favorecen las condiciones físicas del suelo (Haynes, 1980), tal como, la estructura del suelo, la infiltración de agua, incremento de la materia orgánica y la aireación del suelo.

Se ha demostrado que las plantas cultivadas han perdido sus rasgos funcionales y han reducido la diversidad microbiana en comparación a sus parientes silvestres

(Coleman-Derr *et al.*, 2016). Por lo que algunas malezas, incluyendo gramíneas, tienen mayor cantidad y diversidad de bacterias que la planta de cultivo (*Solanum tuberosum*), sirviendo como fuente de rizobacterias. El manejo de las malezas está permitiendo el ciclo de nutrientes directa e indirectamente mediante la manutención de microorganismos, como el caso de estudio de Sturz *et al.* (2001).

En cuanto a los nutrientes se ha observado que con mayor abundancia de malezas aumentan los niveles de Ca, Mg y N en el suelo, protegiendo la pérdida del N por lixiviación (Jordan y Vatovec, 2004). Durante el tiempo de observación la vigorosidad y tonalidad verde fuerte era notorio en dichos tratamientos en comparación con los individuos tratados con glifosato, probablemente por tener una cantidad adecuada de nutrientes.

Además, la diversidad vegetal del sitio promovía refugio y alimento para depredadores, herbívoros y polinizadores. En teoría la diversidad de plantas impide que los herbívoros se centren en la planta de cultivo, y se alimenten de la amplia gama disponible (Letourneau *et al.*, 2011).

En nuestro estudio, la productividad en el tratamiento sin fertilización fue alta similar a la que registró el efecto de hormesis por la presencia de glifosato, sin embargo, por los beneficios de la vegetación acompañante discutidos anteriormente, es necesario hacer un cambio en los agroecosistemas para que sean amigables con el ambiente.

11.1.4 Incidencia de picudo negro (*Scyphophorus acupunctatus*)

En este estudio, los tratamientos con herbicida y fertilizante químico fueron los que tuvieron mayor porcentaje de incidencia de picudo negro, debilitando las plantas. De manera similar, Tofiño-Rivera *et al.* (2020) reportan que el glifosato aumentó el ataque de coleópteros y de hongos patógenos, facilitando la destrucción de la raíz del cultivo de frijol, bajando el rendimiento. Está reportado que el uso de fertilización inorgánica a base de N, P y K hace a las plantas más susceptibles a plagas y enfermedades (El-Zahi *et al.*, 2012).

11.2 Propiedades del suelo de la zona de la raíz de *A. cupreata*

11.2.1 Manejo de la vegetación

Valor de pH, conductividad eléctrica y C orgánico del suelo

El pH del suelo es importante para determinar la estructura de las comunidades bacterianas y la liberación de nutrientes, sin embargo, en el presente trabajo puede ser que no sea un factor que esté modificando dichos componentes. En otro estudio el pH también se ha mantenido neutro con la adición de glifosato (6.54) (Tofiño-Rivera *et al.*, 2020).

Por otro lado, se registró que la adición de glifosato eleva la conductividad eléctrica (CE) del suelo de la zona de la raíz significativamente, aunque no lo suficiente para considerarlo como suelo salino. En diversos estudios se ha encontrado que a medida que incrementa la concentración de glifosato, aumenta la conductividad eléctrica (Zobiolo *et al.*, 2010; Da Costa *et al.*, 2021). Esta respuesta puede estar relacionada con el ingrediente activo del glifosato, la sal isopropilamina la cual es altamente soluble (Baylis, 2000), el aumento de iones disueltos o sales aumenta la CE y la absorción del agroquímico, y disminuye su desorción, como ocurre con otros compuestos salinos como la atrazina, componente de otros herbicidas (Zobiolo *et al.*, 2010; Tofiño-Rivera *et al.*, 2020).

Aunque los agaves eran de mayor talla con la adición de glifosato, la conservación de la vegetación asociada incrementó el porcentaje y mineralización de C orgánico. Puede deberse al hecho de que algunas hierbas se pueden descomponer fácilmente, proporcionando una fuente importante de materia orgánica disponible (Jordan y Vatovec, 2004). Yang *et al.* (2007), compararon las prácticas de manejo sobre cultivo de cítricos, y demostraron que, con el corte manual de malezas la materia orgánica y el N total fueron más altos que con herbicida.

Respiración microbiana

El flujo de C mineralizable proporciona información sobre los cambios en la materia orgánica (Kaur *et al.*, 2008). El flujo de CO₂ en este estudio fue mayor con el control

manual de malezas que con el uso de glifosato. Lo cual coincide con el estudio de Nguyen *et al.* (2016), donde el glifosato (200 mg kg⁻¹) y el suelo con pH neutro (5.5-7.5) tienen un efecto negativo sobre la respiración microbiana, mientras que las concentraciones de glifosato superiores y un suelo ácido (< 5.5) la pueden estimular.

Por otro lado, la adición de residuos vegetales ha mejorado la mineralización de C por parte de los microorganismos por la gran cantidad de recursos disponible y disponibilidad de nutrientes (Najmadeen *et al.*, 2010). Por lo que la vegetación acompañante aumenta la disponibilidad de C para la actividad microbiana.

Actividad enzimática

La mayoría de las actividades enzimáticas no fueron alteradas por el uso de glifosato, excepto la enzima leucina aminopeptidasa implicada en la transformación del N orgánico. Diversos estudios han estimado el efecto de los herbicidas sobre las actividades enzimáticas. Los patrones de las actividades enzimáticas se relacionaron con el tipo de herbicida, dosis, distancia a la raíz y tipo de suelo (Nguyen *et al.*, 2018; Rose *et al.*, 2018).

En otro estudio, se observaron efectos temporales sobre la leucina aminopeptidasa siete días después de la aplicación del herbicida, sin embargo, la respuesta enzimática varió con el tipo de suelo (Rose *et al.*, 2018). Así mismo, hubo efectos significativos mayores en la leucina aminopeptidasa con el uso del herbicida RoundupCT en comparación con el uso de glifosato a los tres días de su aplicación (Nguyen *et al.*, 2018). Sin embargo, en ambos estudios después del día 28 de la aplicación estos efectos ya no eran evidentes.

Es posible que el aumento de la actividad pudo deberse a una limitación de N, dando como resultado el aumento de la actividad para satisfacer la demanda del nutriente a través de la descomposición de la materia orgánica, como se ha demostrado en el estudio de Loepmann *et al.* (2016). Mientras que, Rose *et al.* (2018) reportan que los herbicidas tuvieron efectos temporales e inconsistentes sobre las actividades

enzimáticas y los niveles de N, herbicidas como el 2,4-D causaron reducción de NO_3 o aumento de NH_4 .

11.2.2 Tipo de fertilización

Valor de pH, conductividad eléctrica y C orgánico del suelo

En nuestro estudio, el tipo de fertilización no modificó el pH ni la conductividad eléctrica del suelo, similar a otros trabajos donde los fertilizantes orgánicos e inorgánicos registraron valores de pH tendientes al neutro, de 6.1 y 7.4 respectivamente (De la Mora-Orozco *et al.*, 2020). En otros trabajos la adición de fertilizantes inorgánicos ha disminuido el valor del pH (Ge *et al.*, 2010). Sin embargo, el porcentaje de C orgánico fue diferencial, registrando un valor superior en presencia del fertilizante orgánico composta. Lo que coincide con otros estudios donde el C orgánico aumenta con enmiendas orgánicas en comparación con la fertilización inorgánica en plantaciones de *A. tequilana* (De la Mora-Orozco *et al.*, 2020), arroz (Guo *et al.*, 2019) y maíz, principalmente en los primeros 15 cm de la superficie del suelo (Kaur *et al.*, 2008). Incluso el C orgánico disminuye con la adición de fertilizantes inorgánicos en comparación con el control (Ge *et al.*, 2010).

Respiración microbiana

El tipo de nutrientes que son implementados en los suelos cultivados pueden alterar la actividad y la estructura de la comunidad bacteriana (Zhang *et al.*, 2012). El tratamiento con humus y sin fertilización tuvo mayor mineralización de C que los tratamientos con composta y el fertilizante inorgánico triple16.

Las tasas de mineralización de C suelen ser más altas bajo un manejo orgánico que con el manejo convencional (Gimsing *et al.*, 2004). Los resultados de este estudio reflejaron que la respiración microbiana fue menor con la fertilización inorgánica, similar a otros estudios donde la fertilización mineral de N, NP y NPK no tuvieron efecto sobre este parámetro (Ge *et al.*, 2010; Guo *et al.*, 2019).

La respuesta cambia cuando se combinan fertilizantes inorgánicos y orgánicos. Aumenta la producción de CO₂ y la población bacteriana con la adición de fertilizante (NPK) con diferentes concentraciones de ácidos húmicos (Sharif *et al.*, 2002), y abono orgánico (estiércol de granja). Lo cual se le atribuye al incremento en la materia orgánica, y sustratos de C más lábiles que mantienen el proceso de mineralización (Kaur *et al.*, 2008).

Los cambios en la tasa de mineralización también pueden deberse a los cambios en la composición microbiana, en el caso de Guo *et al.* (2019) reportan el aumento de CO₂ con fertilizantes orgánicos (estiércol de ganado vacuno) en comparación con el control y el fertilizante inorgánico (NPK), donde la fuente de C fue más abundante o disponible, lo que mejoró la actividad microbiana de algunas especies de bacterias y por lo tanto aceleró la mineralización.

Actividad enzimática

Los resultados demuestran que la actividad de algunas enzimas cambia por el tipo de fertilización. El tratamiento con fertilizante inorgánico y con humus estimularon la actividad de la polifenol oxidasa en el suelo adyacente a las raíces. Mientras que, el tratamiento con fertilizante inorgánico y sin fertilizante estimularon la leucina aminopeptidasa, De manera similar Wang *et al.* (2022) registraron que la fertilización inorgánica (NPK) aumentó la actividad de dichas enzimas en comparación con el control, sin embargo, la combinación del fertilizante con enmiendas orgánicas (paja de maíz) mejoraron significativamente las actividades enzimáticas del suelo.

Otros estudios indican que los fertilizantes inorgánicos aumentaron otras enzimas como la ureasa y glicosidasas en el suelo a granel, involucradas en la mineralización de N y la descomposición de carbohidratos almacenados en la celulosa y quitina (Saiya-Cork *et al.*, 2002; Ai *et al.*, 2011).

El aumento de la actividad de las enzimas en el tratamiento con fertilización inorgánica que proporciona NPK al suelo puede ser el resultado de la disminución de

la asignación de C y N. Los tratamientos con fertilizante triple16, humus y sin fertilización tuvieron menor porcentaje de C orgánico, lo que podría explicar el aumento de la actividad de la polifenol oxidasa. Se ha observado que los microorganismos secretan más leucina aminopeptidasa ante la baja disponibilidad de NO_3 y NH_4 para obtener N orgánico en tratamientos con fertilización orgánica (Wang *et al.*, 2022). Por el contrario, el tratamiento con composta no tuvo limitaciones de C orgánico lo que corresponde con la baja actividad de leucina aminopeptidasa y polifenol oxidasa. Similar a lo que Ai *et al.* (2011) reportaron, donde la fertilización con composta de estiércol no aumentó la actividad de dichas enzimas.

Las actividades de la β -glucosidasa y la fosfomonoestereasa se mantuvieron sin cambios según el tipo de fertilización. La estabilidad de la actividad enzimática en el suelo adyacente a las raíces está asociada al proceso de mineralización y la descomposición de la materia orgánica (Ai *et al.*, 2011).

11.3 Comunidades bacterianas de la rizosfera y endófitas de la raíz de *A. cupreata*

Diversidad y riqueza de bacterias

Los análisis de diversidad de bacterias en la rizosfera y en la raíz de *A. cupreata* no reflejaron diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo, se modificó la estructura de las comunidades. Similar a lo que Newman *et al.* (2006) donde reportan que la diversidad fue similar con y sin glifosato en la rizosfera de maíz y soja. Así como Ma *et al.* (2021) mencionan que la diversidad de bacterias endófitas del trigo no fue alterada con la fertilización.

La diversidad alfa en todos los tratamientos es mayor en la rizosfera que en la endosfera de la raíz. Resultados similares a los encontrados en agaves silvestres, por el contrario, en *A. tequilana* se reflejó baja diversidad en ambas zonas, al parecer por las prácticas intensivas agronómicas (Coleman *et al.*, 2016). Otros trabajos muestran una reducción de la diversidad bacteriana en presencia de fertilizante químico (NPK), mientras que, la aplicación de estiércol lo aumentó (Cui *et al.*, 2018).

Abundancias relativas dominantes a nivel de phylum y género

Se observaron patrones de abundancia relativa similares entre *Agave cupreata*, *A. tequilana*, *A. salmiana*, *A. deserti* (Coleman-Derr *et al.*, 2016) y *A. lechuguilla* (López-Lozano *et al.*, 2020). En la rizosfera de *A. cupreata*, los phyla Actinobacteria, Proteobacteria y Acidobacteria fueron los más abundantes, mientras que, en la endosfera de la raíz se enriquecieron con Cyanobacteria y Proteobacteria. Similar a la estructura de las comunidades bacterianas de otros agaves; en la rizosfera y endosfera de la raíz de *A. tequilana*, *A. salmiana* y *A. deserti* dominaron los phyla Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes (Coleman-Derr *et al.*, 2016). En cuanto a la rizosfera de *A. lechuguilla* los phyla más abundantes fueron Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi y Proteobacteria (López-Lozano *et al.*, 2020).

Entre los géneros más abundantes de la rizosfera de *A. cupreata* se encuentran *Vicinamibacter*, *Gemmatimonas* y *Bacillus*. El género *Vicinamibacter* es una de las acidobacterias más abundantes en los suelos, recientemente descrito por Huber y Overmann (2015). *Gemmatimonas* (Gemmatimonadota) se ha encontrado de forma abundante en la rizosfera de plantas sanas, correlacionado con valores altos de nitrógeno total (Shen *et al.*, 2014). Por otro lado, *Bacillus* (Firmicutes), también es abundante en la rizosfera de *A. sisalana* (De Jesús-Santos, 2019). Las cepas de *Bacillus* aisladas de *A. angustifolia* se les ha caracterizado por la capacidad de incrementar diámetro, altura y el peso de las raíces, por la capacidad de fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos y producir hormonas que promueven el crecimiento vegetal (Bautista-Cruz *et al.*, 2019).

Los géneros más abundantes de bacterias endófitas de la raíz de *A. cupreata* fueron *Tolypothrix* (Cyanobacteria) y *Rhodoligotrophos* (Alphaproteobacteria). *Tolypothrix* cuenta con especies diazotróficas ampliamente utilizadas como biofertilizantes en distintos cultivos (Silva y Silva, 2013). Mientras que, sobre *Rhodoligotrophos* se sabe poco, es común aislarlos de muestras de agua dulce (Liu *et al.*, 2019). De forma distinta en *A. tequilana*, los géneros dominantes en la raíz fueron *Stenotrophomonas*

y *Agrobacterium* (ambos pertenecientes a Proteobacteria) (Coleman-Derr *et al.*, 2016). El papel que juegan se habla en los siguientes apartados.

Cambio en la estructura de las comunidades bacterianas en el nivel de phylum

De acuerdo con los resultados del Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS) y el algoritmo LEfSe, se observó que los insumos externos influyeron en las comunidades bacterianas asociadas a la raíz de *A. cupreata*. El cambio de la estructura de la comunidad bacteriana por la adición de glifosato concuerda con estudios previos (Imparato *et al.*, 2016; Ramírez-Villacis *et al.*, 2020; Carles y Artigas, 2020).

En el caso de la rizosfera aumentó el phylum Planctomycetes con el uso de glifosato en comparación con el tratamiento sin insumos (SF), Mientras que, decrecieron Thermosulfidibacteria, Thermotogota y Cyanobacteria. Carles y Artigas (2020) reportan que la abundancia de Planctomycetes se caracterizó por la degradación del glifosato para la obtención de P. Estudios previos han tenido resultados distintos en otras plantas con la adición de glifosato, se observó la disminución de los phyla Actinobacteria y Acidobacteria (Newman *et al.*, 2016). Así, como el aumento sobre Gemmatimonadetes en la rizosfera de la soja (Arango *et al.*, 2014) y de Acidobacteria en el algodón (Barriuso *et al.*, 2012).

También, el uso de composta modificó la comunidad bacteriana de la rizosfera, probablemente por el incremento en el contenido de C orgánico. Ramírez *et al.* (2010) menciona que los cambios de la disponibilidad de C podrían explicar los cambios observados en la composición de la comunidad bacteriana. El tratamiento con composta aumentó los phyla Planctomycetes y Armatimonadetes en comparación con el tratamientos SF. Similar a los resultados de Guo *et al.* (2019) donde Planctomycetes fue más abundante con el fertilizante orgánico en comparación con el control y la fertilización química (NPK). Este grupo es considerado por ser descomponedores de materia orgánica de crecimiento lento (Kulichevskaya *et al.*, 2012). Mientras que, se ha reportado el incremento de las

bacterias amoniacales Armatimonadetes en suelos con estiércol de cerdo (Li *et al.*, 2020).

En la endosfera de la raíz se mostraron diferencias con el uso de triple16 (T) y la combinación con el glifosato (GT), con T aumentaron los phyla Aquificota, Acidobacteria, Verrumicrobiota, Spirochaetota y Fusobacteria, mientras que con GT aumentó el phylum Campylobacterota. Las acidobacterias tienen capacidades relevantes como usar una amplia gama de sustratos de carbono complejos y nitritos como fuente de N (Kielak *et al.*, 2016). Por otro lado, se ha reportado que Verrumicrobiota fue reducido en la rizósfera de calabacín (*Cucurbita pepo*) tratados con herbicidas (Mierzejewska *et al.*, 2022), lo que explicaría su reducción en GT. En el caso de Fusobacteria se reportó una correlación negativa con la materia orgánica del suelo de soja (Zhi-dan *et al.*, 2019).

Cambio en la estructura de las comunidades bacterianas en el nivel de género

Glifosato

El glifosato es un compuesto organofosforado que contiene un fuerte enlace C-P que no se puede romper fácilmente (Krzyśko-Łupicka *et al.*, 2015). Sin embargo, puede ser biodegradado por algunas cepas especializadas que pueden romper este enlace. Se ha demostrado que a 15 días de adicionar glifosato este fue usado como fuente de C, N y P (Mijangos *et al.*, 2009). Por lo que la comunidad bacteriana de *A. cupreata* probablemente refleja notorios cambios porque algunos microorganismos pueden tolerar o usar el glifosato como fuente de nutrientes, mientras que para otros puede ser tóxico (Krzyśko-Łupicka *et al.*, 2015; Onwona-Kwakye *et al.*, 2020).

Al comparar las muestras de la rizosfera en el tratamiento con glifosato con el tratamiento sin insumos externos (SF), se identificó que con el glifosato incrementó la abundancia de géneros que cuentan con especies que son capaces de degradar herbicidas como *Sphingomicrobium* (Alphaproteobacteria), *Flavobacterium* (Bacteroidetes) y *Agromyces* (Actinobacteria). *Sphingomicrobium* también cuenta con la capacidad de degradar compuestos naturales recalcitrantes (Ezeokoli *et al.*, 2021).

Con relación a *Flavobacterium* (Bacteroidetes), se comprobó en una especie la capacidad de degradar el glifosato y utilizarlo como fuente de P principalmente (Balthazor y Hallas, 1986). Mientras que, *Agromyces* (Actinobacteria) (Nie *et al.*, 2011) también fue abundante en las raíces en las plantas tratadas con glifosato.

Bajo el régimen del glifosato también aumentó la abundancia de bacterias con capacidad de promover el crecimiento vegetal. En la rizosfera se encontraron bacterias fijadoras de N como *Kribbella* (Actinobacteria) (Feng *et al.*, 2021), *Micromonospora* (Actinobacteria) (Sellstedt y Richau, 2013) y *Anaerobacter* (Firmicutes) (Lebedinsky *et al.*, 2015). En otros estudios, las modificaciones que se han presentado con el glifosato sobre bacterias promotoras del crecimiento varían. Por ejemplo, se han presentado efectos negativos en *Burkholderia*, *Pseudomonas*, en la rizosfera (Arango *et al.*, 2014) y efectos positivos como bacteria endófitas de la soja (Kuklinsky-Sobral *et al.*, 2005).

En el caso de endosfera de la raíz, fue abundante el género *Bacillus* (Firmicutes) en los tratamientos con glifosato y triple 16, diversas especies de este género son conocidas por producir fitohormonas y solubilizar fosfatos (Bautista-Cruz *et al.*, 2019). Sin embargo, se ha demostrado en *B. subtilis* la capacidad de descomponer compuestos organofosforados (Manogaran *et al.*, 2017), por lo que este género es frecuentemente aislado del suelo tras la aplicación de glifosato (Roundup) (Krzyśko-Łupicka *et al.*, 2015; Ramírez-Villacis *et al.*, 2020; Onwona-Kwakye *et al.*, 2020).

El aumento de bacterias como *Bacillus* aumenta el potencial de promover la biorremediación y promover el crecimiento de las plantas (Onwona-Kwakye *et al.*, 2020). Anteriormente se ha demostrado que *Bacillus* sp. ha incrementado la altura y el peso seco de las hojas en *A. angustifolia* (Bautista-Cruz *et al.*, 2019). Por lo que el incremento de la talla de los agaves pudo deberse al efecto de hormesis como se discutió anteriormente, o a la composición de las especies bacterianas que en diversos estudios se ha demostrado que además de degradar el herbicida tienen características para promover la producción de hormonas del crecimiento de plantas (Kuklinsky-Sobral *et al.*, 2005; Andriani *et al.*, 2017; Ezaka *et al.*, 2018).

Por el contrario, otras bacterias resultaron sensibles al glifosato, se redujo la abundancia de *Anaeromyxobacter* (Deltaproteobacteria) en la rizosfera, resultado similar en la rizosfera de la Yuca (*Manihot esculenta*) donde también disminuyó con el uso del herbicida (Zeng *et al.*, 2021). Asimismo, hubo decremento de *Staphylococcus* (Firmicutes) y *Comamonas* (Betaproteobacteria), géneros que han sido reportados como sensibles a los pesticidas (herbicidas e insecticidas) (Onwona-Kwakye *et al.*, 2020).

Fertilizantes

Las abundancias relativas y el algoritmo LEfSe determinaron que *Gemmatimonas* (Gemmatimonadetes) fue de los géneros más abundantes en la rizosfera en todas las muestras, y de forma significativa en el tratamiento con composta en comparación con el tratamiento sin fertilizante (SF). Además, el Análisis de Correlación Canónica (CCA) reflejó que su abundancia se relaciona con el contenido de C orgánico en el suelo. Resultados respaldados por los de Li *et al.* (2017), donde se menciona que *Gemmatimonas* es uno de los taxones clave que incrementó con las enmiendas orgánicas y tiene una fuerte relación con el C orgánico y el N total. Incluso, ha sido relacionado con la reducción de enfermedades fúngicas, por lo que podría responder a la supresión de *Fusarium* (Shen *et al.*, 2014).

Con el uso de composta incrementó la abundancia de bacterias rizosféricas que han sido reportadas abundantes en los cultivos orgánicos con estiércol como *Aeromicrobium* (Actinobacteria) que además se correlacionó positivamente con la promoción del crecimiento de las plantas (Nuzzo *et al.*, 2020) y el contenido de NO₃ (Zhou *et al.*, 2019), *Hirschia* (Alphaproteobacteria), *Lysobacter* (Gammaproteobacteria) (Semenov *et al.*, 2020), *Phaselicystis* (Deltaproteobacteria) y *Tepidisphaera* (Planctomycetes), juegan un papel importante en el ciclo del C del suelo al tener la capacidad de degradar polisacáridos (Sharma *et al.*, 2016; Cuartero *et al.*, 2021). Aunado a esto, con la composta se enriquecieron algunas bacterias promotoras del crecimiento, como la fijadora de N *Pelomonas* (Betaproteobacteria)

(Guo *et al.*, 2022) y la solubilizadora de P *Thiobacillus* (Betaproteobacteria) (Beheshti *et al.*, 2018).

Por otro lado, en el tratamiento sin fertilizantes fueron abundantes algunos géneros de la rizosfera involucrados en el ciclo del N, como *Microvirga* (Alphaproteobacteria), *Actinomadura* (Actinobacteria) y *Micropruina* (Actinobacteria), bacterias que se caracterizan por poseer la capacidad de reducir el nitrato a nitrito (Dahal y Kim, 2017; Malisorn *et al.*, 2018; Nielsen *et al.*, 2019). También fueron abundantes *Azospirillum* y *Methyloferula* (Alphaproteobacteria) registradas como bacterias diazotróficas y productoras de hormonas vegetales (Kaschuk y Hungría, 2017).

En la endosfera de la raíz, la fertilización inorgánica con y sin glifosato, fueron los elementos que marcaron la diferencia en la comunidad bacteriana. Con el fertilizante inorgánico aumentó la abundancia de varias bacterias promotoras del crecimiento. Tal es el caso de *Burkholderia* (Betaproteobacteria), *Bradyrhizobium* (Alphaproteobacteria), *Caulobacter* (Alphaproteobacteria), *Clostridium* (Firmicutes), *Vibrio* (Gammaproteobacteria), *Achromobacter* (Betaproteobacteria), *Raoultella* (Gammaproteobacteria) y *Kluyvera* (Gammaproteobacteria).

En el caso de *Burkholderia* y *Bradyrhizobium* son conocidos por ser diazótrofos y solubilizadores de fosfatos (Coenye y Vandamme, 2003; Solanki *et al.*, 2020), aunque debe tomarse en cuenta que *Burkholderia* y otros géneros anteriormente mencionados también cuentan con especies patógenas de plantas (Coenye y Vandamme, 2003). Posiblemente la presencia de estas bacterias puede estar influenciado por el tipo de sistema de cultivo. Solanki *et al.* (2020) mencionan que los géneros *Bradyrhizobium*, *Burkholderia* y *Pelomonas* han predominado en los sistemas de cultivo intercalados con leguminosas.

En cuanto a *Caulobacter* facilitó el crecimiento de varias especies de plantas al promover la división celular (Berrios, 2022). Se ha comprobado que es más dominante en la fertilización química en comparación con la fertilización orgánica y sin fertilización (Hui *et al.*, 2019). Por otra parte, algunas especies de *Clostridium* (Saito y Minamisawa, 2006), *Vibrio* (Adhikari y Mukhopadhyay, 2021), *Achromobacter* (Jha y Kumar, 2009) y *Raoultella* (Schicklberger *et al.*, 2015) tienen la capacidad de

fijar N (Saito y Minamisawa, 2006). Mientras que, *Kluyvera* cuenta con la capacidad de solubilizar fosfatos (Pratiwi *et al.*, 2020).

El manejo del fertilizante inorgánico combinado con glifosato (GT) en comparación con el fertilizante inorgánico (T), registró mejor respuesta en el incremento de la abundancia de géneros endófitos que tienen la capacidad de degradar herbicidas como *Phenylobacterium* (Alfaproteobacteria) (Artigas *et al.*, 2020) y *Agromyces* (Nie *et al.*, 2011), lo cual podría ser la causa del cambio de estructura de la comunidad bacteriana entre estos dos tratamientos.

El tratamiento con fertilizante inorgánico y sin fertilizante mostraron mayor incremento en diámetro y altura de los agaves. Tal vez, las plantas bajo fertilización inorgánica reclutan varias bacterias promotoras del crecimiento, y los microorganismos a su vez incrementan las actividades enzimáticas (leucina aminopeptidasa y polifenol oxidasa) para adquirir nutrientes.

El tratamiento con fertilización inorgánica mostró menor mineralización y porcentaje de C orgánico, así como mayor actividad enzimática para la adquisición de C y N, lo cual coincide con la abundancia significativa de *Steroidobacter* (Gammaproteobacteria) y *Thermogemmatispora* (Chloroflexi) en este tratamiento, en comparación con el tratamiento SF y GT. Debido a que *Steroidobacter* ha sido abundante en suelos pobres en C orgánico y su presencia favorecería la descomposición de materia orgánica (Lian *et al.*, 2017). Mientras que, *Thermogemmatispora* se ha encontrado de manera abundante bajo la fertilización inorgánica y correlacionado negativamente con el contenido de materia orgánica (Lin *et al.*, 2019). Por otra parte, se ha observado mayor abundancia de *Bradyrhizobium* en suelos con bajos nutrientes (Okubo *et al.*, 2012).

Las modificaciones de abundancia de los géneros bacterianos de la comunidad microbiana de la rizosfera y la endosfera de la raíz pueden deberse a la alteración de la exudación de las raíces (Arango *et al.*, 2014). Por ejemplo, se ha demostrado que, a baja disponibilidad de N y P, las plantas aumentan la exudación de metabolitos que regulan la arquitectura de las raíces y moléculas de señalización para asociarse con los microorganismos. Por lo que las plantas son sensibles a la disponibilidad de

nutrientes para regular la producción de exudados para no ser parasitados por los microorganismos cuando obtienen suficientes nutrientes por sí mismas (Yoneyama *et al.*, 2013).

También se observó que la abundancia de un género cambió de acuerdo con el insumo agregado, por ejemplo, el uso de composta y glifosato redujeron el género *Endobacter* (Alphaproteobacteria) en la rizosfera, mientras que el uso de triple16 incrementó su abundancia en las raíces. Esta bacteria es conocida por ser productora de ácido indol acético (AIA) auxina promotora del crecimiento vegetal (Estrada-González, 2017).

En este análisis, el manejo agrícola convencional incrementó la abundancia de géneros pertenecientes a Alpha y Gammaproteobacterias en la endosfera de la raíz, y de Actinobacterias en la rizosfera. Mientras que en la rizosfera con la fertilización orgánica incrementaron las Betaproteobacterias y, en el tratamiento sin fertilizantes las Actinobacterias, Firmicutes y Alphaproteobacterias. Las actinobacterias están jugando un papel importante en la rizosfera en la descomposición de materiales orgánicos como la celulosa y la quitina (Anandan *et al.*, 2016). De forma similar, Thapa *et al.* (2018) informan que la aplicación de fertilizantes inorgánicos (NPK) resultó en cambios en la abundancia de los phyla bacterianos endofíticos, principalmente en Alphaproteobacteria, Bacteriodetes, Firmicutes y Planctomycetes.

Relaciones entre las propiedades del suelo y las comunidades bacterianas

El Análisis de Correlación Canónica (CCA) mostró que el porcentaje de C orgánico y la enzima leucina aminopeptidasa (LA) principalmente, tuvieron mayor influencia en la comunidad bacteriana rizosférica. En el caso de la variación de la abundancia de las bacterias endofitas de la raíz, los parámetros evaluados sólo explican una pequeña parte de la variación, el CCA reflejo que las enzimas polifenol oxidasa (PO) y leucina aminopeptidasa (LA) influyeron en mayor medida. Similar a los resultados de Cui *et al.* (2018), donde demuestran que el carbono orgánico del suelo es uno de los factores clave para la estructura de la comunidad bacteriana de la rizosfera.

Asimismo, Xu *et al.* (2018), reportan que la materia orgánica del suelo y la actividad de la enzima ureasa se correlacionaron significativamente con las comunidades bacterianas rizosféricas. Siendo estos parámetros determinantes para explicar la variación de las comunidades bacterianas en la rizosfera.

El Modelo Lineal Generalizado (GLM) reflejó que el uso del control manual de malezas y composta aumentó significativamente el porcentaje de C orgánico, en comparación con el uso de glifosato y triple 16, respectivamente. Aunado a esto, las enzimas LA y PO se correlacionaron negativamente con el contenido de C orgánico. Lo anterior concuerda con los resultados de Ai *et al.* (2011), donde la fertilización con composta de estiércol no aumentó la actividad de LA y PO. Así mismo, De la Mora-Orozco *et al.* (2020) comprueban que los fertilizantes orgánicos elevan el contenido de C orgánico.

12. CONCLUSIONES

Las diferentes prácticas de manejo tuvieron efecto sobre el crecimiento de los agaves, las propiedades del suelo, las actividades enzimáticas y la estructura de las comunidades bacterianas asociadas a la raíz.

- Las plantas tratadas con glifosato (G) crecieron más que las tratadas con el control manual de malezas (CMM) durante 12 meses, sin embargo, el primero presentó mayor mortandad de las plantas. La fertilización inorgánica (T) y sin fertilizante (SF) con únicamente limpieza manual de la vegetación tuvieron mayor incremento de diámetro y altura, sin embargo, el tratamiento con composta y SF mostraron mayor supervivencia de agaves.
- El manejo agrícola convencional (G y T) tuvo mayor incidencia de picudo negro (*Scyphophorus acupunctatus*), en comparación con el manejo ecológico.
- El manejo agrícola convencional (G y T) aumentó las actividades enzimáticas dirigidas a la adquisición de N y C. En cambio, en el manejo ecológico (CMM y con composta) se redujeron dichas actividades enzimáticas y aumentó el contenido de C orgánico en la zona de la raíz.
- Los phyla más abundantes en las muestras de la rizosfera fue Actinobacteria, Proteobacteria y Acidobacteria. En cambio, en la endosfera de la raíz fue Cyanobacteria y Proteobacteria.
- La riqueza y la diversidad de las comunidades bacterianas no fueron afectadas por el tipo de manejo, pero si provocó cambios en la estructura taxonómica de las comunidades. El glifosato y la composta reunieron una composición específica de la comunidad bacteriana de la rizosfera. Mientras que, el glifosato y el fertilizante inorgánico modificó la estructura de la comunidad de las bacterias endófitas.
- El C orgánico y las actividades enzimáticas explicaron la variación de la abundancia de los géneros bacterianos, principalmente de las bacterias rizósfericas.

13. LITERATURA CITADA

- Abalos, D., Van Groenigen, J. W., Philippot, L., Lubbers, I. M., y De Deyn, G. B. (2019). Plant trait-based approaches to improve nitrogen cycling in agroecosystems. *Journal Of Applied Ecology*, 56(11), 2454-2466.
- Adhikari, M., y Mukhopadhyay, M. (2021). Potentials of Endophytes of *Andrographis Paniculata* for the Production of Plant Growth Promoters, Enzymes and Antimicrobial Compounds. *SAARC Journal of Agriculture*, 19(2), 157-170.
- Ai, C., Liang, G., Sun, J., Wang, X., y Zhou, W. (2012). Responses of extracellular enzyme activities and microbial community in both the rhizosphere and bulk soil to long-term fertilization practices in a fluvo-aquic soil. *Geoderma*, 173, 330-338.
- Alia, A. A., Shahida, K. N., Bushra, J., y Saeed, A. A. (2013). Phosphate solubilizing bacteria associated with vegetables roots in different ecologies. *Pakistan Journal of Botany*, 45(SPL.ISS), 535–544.
- Allende, T., y Mendoza, M. E. (2007). Análisis hidrometeorológico de las estaciones de la cuenca de lago de Cuitzeo. *Investigaciones Geográficas*, 63, 56-76.
- Altaee, A. H. Y., y Alsawaf, M. D. (2019). Effect of urea foliar and organic fertilizer Humimax application on growth of *Yucca aloifolia* L. *International Journal of Agricultural and Statistical Sciences*, 15(2), 605–610
- Altieri, M. (2001). Agroecología: principios y estrategias para diseñar sistemas agrarios sustentables. *Agroecología. El Camino Hacia Una Agricultura Sustentable*, 27–34.
- Anandan, R., Dharumadurai, D., y Manogaran, G. P. (2016). An introduction to actinobacteria. In: *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. Intechopen.
- Andriani, L. T., Aini, L. Q., y Hadiastono, T. (2017). Glyphosate biodegradation by plant growth promoting bacteria and their effect to paddy germination in glyphosate contaminated soil. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 5(1), 995.
- Arango, L., Buddrus-Schiemann, K., Opelt, K., Lueders, T., Haesler, F., Schmid, M., Ernst, E., y Hartmann, A. (2014). Effects of glyphosate on the bacterial community associated with roots of transgenic Roundup Ready® soybean. *European journal of soil biology*, 63, 41-48.
- Artigas, J., Batisson, I., y Carles, L. (2020). Dissolved organic matter does not promote glyphosate degradation in auto-heterotrophic aquatic microbial communities. *Environmental Pollution*, 259, 113951.
- Avendaño-Arrazate, C. H., Iracheta-Donjuan, J. C., Gódinez-Aguilar, J. C., López-Gómez, P., y Barrios-Ayala, A. (2015). Caracterización morfológica de *Agave cupreata*, especie endémica de México. *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 9457, 148–162.
- Badalucco, L., y Kuikman, P.J., (2001). Mineralization and immobilization in the rhizosphere. In: Pinton, R., Varanini, Z., Nannipieri, P. (Eds.), *The rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil–plant interface*. Marcel Dekker, New York, pp. 159–196.
- Balthazor, T. M., y Hallas, L. E. (1986). Glyphosate-degrading microorganisms from industrial activated sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 51(2), 432-434.

- Bautista, J. A., y Smit, M. A. (2012). Sustentabilidad y agricultura en la “región del mezcal” de Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(1), 5–20. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i1.1477>
- Bautista-Cruz, A., Antonio-Revuelta, B., del Carmen Martínez Gallegos, V., y Báez-Pérez, A. (2019). Phosphate-solubilizing bacteria improve *Agave angustifolia* Haw. growth under field conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(14), 6601–6607. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9946>
- Bautista-Cruz, A., Martínez-Gallegos, V., Martínez-Martínez, L., y Martínez, G. (2015). Effect of phosphate solubilizing bacteria on the growth of *Agave angustifolia* Haw. (maguey espadín). *Pak. J. Bot*, 47(3), 1033-1038.
- Baylis, A. D. (2000). Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses, and prospects. *Pest Management Science*, 56(4), 299–308.
- Beauregard, M. S., Hamel, C., y St-Arnaud, M. (2010). Long-term phosphorus fertilization impacts soil fungal and bacterial diversity but not AM fungal community in alfalfa. *Microbial Ecology*, 59(2), 379-389.
- Beheshti Ale Agha, A., Kahrizi, D., Ahmadvand, A., Bashiri, H., y Fakhri, R. (2018). Identification of *Thiobacillus* bacteria in agricultural soil in Iran using the 16S rRNA gene. *Molecular biology reports*, 45(6), 1723-1731.
- Bergel, S. D. (2017). La agrobiodiversidad como tema bioético. *Alegatos*, 96, 349 364.
- Berrios, L. (2022). The genus *Caulobacter* and its role in plant microbiomes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(3), 1-11.
- Bertin, C., Yang, X., y Weston, L. A. (2003). The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 256(1), 67–83. <https://doi.org/10.1023/A:1026290508166>
- Bonfante, P., y Anca, I. A. (2009). Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: A network of interactions. *Annual Review of Microbiology*, 63, 363–383. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073504>
- Bradi, D. V. y Vivanco, J. M. (2009). Regulation and function of root exudates. *Plant, cell & environment* 32(6), 666-681.
- Bulgarelli, D., Garrido-Oter, R., Münch, P. C., Weiman, A., Dröge, J., Pan, Y., McHardy, C., y Schulze-Lefert, P. (2015). Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley. *Cell host & microbe*, 17(3), 392-403.
- Bünemann, E. K., Schwenke, G. D., y Van Zwieten, L. (2006). Impact of agricultural inputs on soil organisms—a review. *Soil Research*, 44(4), 379-406.
- Calvo, P., Meneses, L., y Zúñiga, D. (2008). A study of potato (*Solanum tuberosum*) crop rhizosphere microbial population in highland zones. *Ecología Aplicada*, 7(1-2), 141-148.
- Carles, L., y Artigas, J. (2020). Science of the Total Environment Interaction between glyphosate and dissolved phosphorus on bacterial and eukaryotic communities from river biofilms. *Science of the Total Environment*, 719, 137463. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137463>

- Casas, A., y Vallejo, M. (2019). Crisis ambiental en México. Ruta para el cambio. *Sustainable Management of Genetic Resources and Ecosystems*, 10(9), 99–117.
- Cedergreen, N. (2008). Is the growth stimulation by low doses of glyphosate sustained over time? *Environmental Pollution*, 156(3), 1099–1104. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.04.016>
- Coenye, T., y Vandamme, P. (2003). Diversity and significance of Burkholderia species occupying diverse ecological niches. *Environmental microbiology*, 5(9), 719-729.
- Coleman-Derr, D., Desgarenes, D., Fonseca-Garcia, C., Gross, S., Clingenpeel, S., Woyke, T., North, G., Visel, A., Partida-Martinez, L. P., y Tringe, S. G. (2016). Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native Agave species. *New Phytologist*, 209(2), 798–811. <https://doi.org/10.1111/nph.13697>
- Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal (COMERCAM), 2020. En línea: <https://comercam-dom.org.mx>
- Consejo Regulador del Tequila (CRT). 2000. Avances en la investigación científica del Agave tequilana Weber var. Azul. Boletín Técnico No. 1. Junio de 2000. Comité Técnico Agronómico, CRT. Guadalajara, Jalisco.
- Costanzo, A., y Bàrberi, P. (2014). Functional agrobiodiversity and agroecosystem services in sustainable wheat production. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2), 327–348. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0178-1>
- Cuartero, J., Özbolat, O., Sánchez-Navarro, V., Egea-Cortines, M., Zornoza, R., Canfora, L., Orru, L., Pascual, J. A., Vivo, J. y Ros, M. (2021). Changes in Bacterial and Fungal Soil Communities in Long-Term Organic Cropping Systems. *Agriculture*, 11(5), 445.
- Cui, X., Zhang, Y., Gao, J., Peng, F., y Gao, P. (2018). Long-term combined application of manure and chemical fertilizer sustained higher nutrient status and rhizospheric bacterial diversity in reddish paddy soil of Central. *Scientific Reports*, July, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34685-0>
- Da Costa, Y. K. S., Ribeiro, N. M., de Moura, G. C. P., Oliveira, A. R., Bianco, S., Alcántara-de la Cruz, R., y De Carvalho, L. B. (2021). Effect of glyphosate and P on the growth and nutrition of Coffea arabica cultivars and on weed control. *Scientific Reports*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87541-z>
- Dahal, R. H., y Kim, J. (2017). Microvirga soli sp. nov., an alphaproteobacterium isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(1), 127-132.
- Daims, H., y Wagner, M. (2018). Nitrospira. *Trends in Microbiology*, 26(5), 462-463.
- De Andréa, M. M., Peres, T. B., Luchini, L. C., Bazarin, S., Papini, S., Matallo, M. B., y Tedeschi Savoy, V. L. (2003). Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 38(11), 1329–1335. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2003001100012>
- De Jesús-Santos, A. F., Moreira, Z. P. M., de Souza, J. T., de Oliveira, L. M., Barbosa, H. R., de Souza Silva, E., da Silva, R. M., y Soares, A. C. F. (2019). Culturable diazotrophic bacterial community associated with Agave sisalana P. plants from semi-arid regions in Brazil. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 14(3). <https://doi.org/10.5039/agraria.v14i3a5666>

- De Jesús-Santos, A., Santos Martins, C., Patrícia, O. S., Barbosa, É., Ramos Barbosa, H., Suarez Sandoval, A. P., Muniz Oliveira, L., de Souza, J. T., y Fermino S, A. C. (2014). Diazotrophic bacteria associated with sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm): potential for plant growth promotion. *Plant and Soil*, 385(1–2), 37–48.
- De la Mora-Orozco, C. D. la, Flores-Garnica, J. G., Vega-Ramírez, L. M., González-Acuña, I. J., Nápoles-Armenta, J., y Martínez-Orozco, E. (2020). Total organic carbon assessment in soils cultivated with agave tequilana weber in Jalisco, Mexico. *Sustainability*, 13(1), 1–13. <https://doi.org/10.3390/su13010208>
- Desgarenes, D., Garrido, E., Torres-Gomez, M. J., Peña-Cabriales, J. J., y Partida-Martinez, L. P. (2014). Diazotrophic potential among bacterial communities associated with wild and cultivated *Agave* species. *FEMS Microbiology Ecology*, 90(3), 844–857.
- Duke, S. O., Lydon, J., Koskinen, W. C., Moorman, T. B., Chaney, R. L., y Hammerschmidt, R. (2012). Glyphosate effects on plant mineral nutrition, crop rhizosphere microbiota, and plant disease in glyphosate-resistant crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(42), 10375–10397. <https://doi.org/10.1021/jf302436u>
- Durán, N., y Esposito, E. (2000). Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. *Applied catalysis B: environmental*, 28(2), 83-99.
- Eivazi, F. y Tabatabai, M. A. (1977). Phosphatases in soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 9, 167 – 172.
- El-Zahi, E. S., Arif, S. A., Jehan, B. A. E., y Madeha, E. H. E. (2012). Inorganic fertilization of cotton field-plants in relation to sucking insects and yield production components of cotton plants. *The Journal of American Science*, 8(2), 509-517.
- Enríques- del Valle, J. R., Velasco, V. A., Campos, G. V. A., Hernández-Gallardo, E., y Rodríguez-Mendoza, M. N. (2009). *Agave angustifolia* plants grown with different fertigation doses and organic substrates. *Acta Horticulturae*, 843, 49–56. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2009.843.4>
- Estrada-González, Á. D. J. (2017). Aislamiento, caracterización e identificación de bacterias asociadas a *Opuntia* spp. y su efecto en la germinación y crecimiento de *Arabidopsis thaliana* L (Tesis de maestría).
- Ezaka, E., Akintokun, A. K., Akintokun, P. O., Taiwo, L. B., Uthman, A. C. O., Oyedele, O. A., y Aluko, O. I. (2018). Glyphosate degradation by two plant growth promoting bacteria (PGPB) isolated from rhizosphere of maize. *Microbiology Research Journal International*. J. Inter, 26, 1-11.
- Ezeokoli, O. T., Nuaila, V. N., Obieze, C. C., Muetanene, B. A., Fraga, I., Tesinde, M. N., Ndayiragije, A., Coutinho, J., Melo, A., Adeleke, R., Ribeiro-Barros, A., y Fangueiro, D. (2021). Assessing the impact of rice cultivation and off-season period on dynamics of soil enzyme activities and bacterial communities in two agroecological regions of Mozambique. *Agronomy*, 11(4), 694.
- FAO. (1999). Agricultural Biodiversity, Multifunctional Character of Agriculture and Land Conference, Background Paper 1.

- FAO. (2004). What is agrobiodiversity?. En línea: <https://www.fao.org/3/y5609e/y5609e01.htm>
- FAO. (2017). *Carbono Orgánico del Suelo: el potencial oculto*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. Roma, Italia.
- Feng, L., Xu, N., Qu, Q., Zhang, Z., Ke, M., Lu, T., y Qian, H. (2021). Synergetic toxicity of silver nanoparticle and glyphosate on wheat (*Triticum aestivum* L.). *Science of The Total Environment*, 797, 149200.
- Fertinova Agroproductos. (2020). Ficha técnica: TRIPLE 16. En línea: <http://www.fertinova.mx/sites/default/files/FICHA%20TRIPLE%2016.pdf>. Ultimo acceso: Julio 2010.
- Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: Disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 15(10), 579–590. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.87>
- Flores-Núñez, V. M., Fonseca-García, C., Desgarenes, D., Eloé-Fadrosch, E., Woyke, T., y Partida-Martínez, L. P. (2020). Functional signatures of the epiphytic prokaryotic microbiome of agaves and cacti. *Frontiers in microbiology*, 10, 3044.
- Ge, G., Li, Z., Fan, F., Chu, G., Hou, Z., y Liang, Y. (2010). Soil biological activity and their seasonal variations in response to long-term application of organic and inorganic fertilizers. *Plant and Soil*, 326(1), 31–44. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0186-8>
- García-Mendoza, A. J. (2007). Los agaves de México. *Redalyc*, 087, 14–23
- Gentry, H. S. (1982). *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona Press. <https://doi.org/10.2307/1223617>
- Gimsing, A. L., Borggaard, O. K., Jacobsen, O. S., Aamand, J., y Sørensen, J. (2004). Chemical and microbiological soil characteristics controlling glyphosate mineralization in Danish surface soils. 27, 233–242. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2004.05.007>
- Gliessman, S. R. (2002). *Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible*. Catie.
- Griffon, D., y Torres-Alruiz, M. (2016). On the inherent instability of private money. *Review of Economic Dynamics*, 20, 198–214. <https://doi.org/10.1016/j.red.2015.02.002>
- Guo, Z., Han, J., Li, J., Xu, Y., y Wang, X. (2019). Effects of long-term fertilization on soil organic carbon mineralization and microbial community structure. *PLoS One*, 14(1), e0211163.
- Guo, L., Wang, C., Zheng, M., Li, W., Cai, Z., Wang, B., Chen, J., y Shen, R. (2022). Fertilization practices affect biological nitrogen fixation by modulating diazotrophic community in acidic soil in southern China. *Pedosphere*.
- Haynes, R. J. (1980). Influence of soil management practice on the orchard agro-ecosystem. *Agro-ecosystems*, 6(1), 3-32.
- Herrera-Pérez, L., Valtierra-Pacheco, E., Ocampo-Fletes, I., y Tornero-Campante, M. A. (2017). Prácticas agroecológicas en Agave tequilana Weber bajo dos sistemas de cultivo en Tequila, Jalisco * Ecological practices in Agave tequilana Weber under two culture systems in Tequila, Jalisco Resumen. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 18, 3711–3724. <https://doi.org/2007-0934>

- Hodge, A., Helgason, T., y Fitter, A. H. (2010). Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal ecology*, 3(4), 267-273.
- Hooper, D. U., y Vitousek, P. M. (1997). The effects of plant composition and diversity on ecosystem processes. *Science*, 277, 1302–1305. <https://doi.org/10.1126/science.277.5330.1302>
- Huber, R. (2015). Ammonifex. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-4.
- Huber, K. J., y Overmann, J. (2015). Vicinamibacter. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-5.
- Hui, C., Liu, B., Wei, R., Jiang, H., Zhao, Y., Liang, Y., Zhang, Q., y Xu, L. (2019). Dynamics, biodegradability, and microbial community shift of water-extractable organic matter in rice–wheat cropping soil under different fertilization treatments. *Environmental Pollution*, 249, 686-695.
- Igiehon, N. O., y Babalola, O. O. (2018). Rhizosphere microbiome modulators: contributions of nitrogen fixing bacteria towards sustainable agriculture. *International journal of environmental research and public health*, 15(4), 574.
- Imparato, V., Santos, S. S., Johansen, A., Geisen, S., y Winding, A. (2016). Stimulation of bacteria and protists in rhizosphere of glyphosate-treated barley. *Applied Soil Ecology*, 98, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.09.007>
- Jackson, L. E., Pascual, U., y Hodgkin, T. (2007). Utilizing and conserving agrobiodiversity in agricultural landscapes. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 121(3), 196–210. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.12.017>
- Jannet, H. B., H-Skhiri, F., Mighri, Z., Simmonds, M. S. J., y Blaney, W. M. (2001). Antifeedant activity of plant extracts and of new natural diglyceride compounds isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves against *Spodoptera littoralis* larvae. *Industrial Crops and Products*, 14(3), 213-222.
- Jha, P., y Kumar, A. (2009). Characterization of novel plant growth promoting endophytic bacterium *Achromobacter xylosoxidans* from wheat plant. *Microbial ecology*, 58(1), 179-188.
- Ji, R., Dong, G., Shi, W., y Min, J. (2017). Effects of liquid organic fertilizers on plant growth and rhizosphere soil characteristics of chrysanthemum. *Sustainability (Switzerland)*, 9(5), 1–16. <https://doi.org/10.3390/su9050841>
- Jones, D. L., Hodge, A., y Kuzyakov, Y. (2004). Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. *New Phytologist*, 163(3), 459–480. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01130.x>
- Jordan, N., y Vatovec, C. (2004). Agroecological Benefits from Weeds. *Weed Biology and Management*, 137–158. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0552-3_6
- Kaschuk, G. y Hungria, M. (2017) Diversity and Importance of Diazotrophic Bacteria to Agricultural Sustainability in the Tropics. In: de Azevedo J., Quecine M. (eds) *Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics*. Springer, Cham. 269-292 pp.

- Kielak, A. M., Barreto, C. C., Kowalchuk, G. A., van Veen, J. A., y Kuramae, E. E. (2016). The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes. *Frontiers in microbiology*, 7, 744.
- Krebs, C. J. (1985). *Ecología: estudio de la distribución y abundancia*. 2da. Editorial Harla, México.
- Krzyśko-Łupicka, T., Kręciđło, Ł., y Koszałkowska, M. (2015). The ability of selected bacteria to grow in the presence of glyphosate. *Ecological Chemistry and Engineering. A*, 22(2).
- Kneip, C., Lockhart, P., Voß, C., y Maier, U. G. (2007). Nitrogen fixation in eukaryotes - New models for symbiosis. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 1–12. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-55>
- Kuklinsky-Sobral, J., Araújo, W. L., Mendes, R., Pizzirani-Kleiner, A. A., y Azevedo, J. L. (2005). Isolation and characterization of endophytic bacteria from soybean (*Glycine max*) grown in soil treated with glyphosate herbicide. *Plant and Soil*, 273(1–2), 91–99. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-6894-1>
- Kulichevskaya, I. S., Serkebaeva, Y. M., Kim, Y., Rijpstra, W. I. C., Damsté, J. S. S., Liesack, W., y Dedysh, S. N. (2012). *Telmatocola sphagniphila* gen. nov., sp. nov., a novel dendriform planctomycete from northern wetlands. *Frontiers in microbiology*, 3, 146.
- Kuzyakov, Y., y Domanski, G. (2000). Carbon input by plants into the soil. Review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163, 421–431.
- Lafi, F. F., Bokhari, A., Alam, I., Bajic, V. B., Hirt, H., y Saad, M. M. (2016). Draft genome sequence of the plant growth-promoting *Cupriavidus gilardii* strain JZ4 isolated from the desert plant *Tribulus terrestris*. *Genome Announcements*, 4(4), e00678-16.
- Lebedinsky, D., Mushegjan y Mitjushina. (2015). *Anaerobacter*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-2.
- Letourneau, D. K., Armbrecht, I., Rivera, B. S., Lerma, J., Carmona, E. J., Daza, M. C., Escobar, S., Galindo, V., Gutiérrez, C., López, S. D., Mejía, J. L., Rangel, A. M. A., Rangel, J. H., Rivera, L., Saavedra, C. A., Torres, A. M., y Trujillo, A. R. (2011). Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. *Ecological Applications*, 21(1), 9–21. <https://doi.org/10.1890/09-2026.1>
- Li, F., Chen, L., Zhang, J., Yin, J., y Huang, S. (2017). Bacterial community structure after long-term organic and inorganic fertilization reveals important associations between soil nutrients and specific taxa involved in nutrient transformations. *Frontiers in Microbiology*, 8, 187.
- Li, H., Ding, X., Chen, C., Zheng, X., Han, H., Li, C., Gong, J., Xu, T., Li, Q. X., Ding, G. C. y Li, J. (2019). Enrichment of phosphate solubilizing bacteria during late developmental stages of eggplant (*Solanum melongena* L.). *FEMS Microbiology Ecology*, 95(3).
- Li, P., Wu, J. Q., Sha, C. Y., Ye, C. M., y Huang, S. F. (2020). Effects of manure and organic fertilizer application on soil microbial community diversity in paddy fields. *Huan Jing ke Xue= Huanjing Kexue*, 41(9), 4262-4272.

- Lian, T., Jin, J., Wang, G., Tang, C., Yu, Z., Li, Y., Liu, J., Zhang, S., y Liu, X. (2017). The fate of soybean residue-carbon links to changes of bacterial community composition in Mollisols differing in soil organic carbon. *Soil Biology and Biochemistry*, 109, 50-58.
- Lin, Y., Ye, G., Kuzyakov, Y., Liu, D., Fan, J., y Ding, W. (2019). Long-term manure application increases soil organic matter and aggregation and alters microbial community structure and keystone taxa. *Soil Biology and Biochemistry*, 134, 187-196.
- Liu, Y. L., Meng, D., Li, R. R., Gu, P. F., Fan, X. Y., Huang, Z. S., Du, Z., y Li, Q. (2019). *Rhodoligotrophos defluvii* sp. nov., isolated from activated sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(12), 3830-3836.
- Loeppmann, S., Blagodatskaya, E., y Pausch, J. (2016). Soil Biology & Biochemistry Enzyme properties down the soil profile - A matter of substrate quality in rhizosphere and detritusphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 103, 274-283. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.08.023>
- Lobo, M. (2008). Importancia de los recursos genéticos de la agrobiodiversidad en el desarrollo de producciones sostenibles. *Revista Corpoica*, 9, 19-30.
- Long, C. L., Li, H., Ouyang, Z., Yang, X., Li, Q., y Trangmar, B. (2003). Strategies for agrobiodiversity conservation and promotion: A case from Yunnan, China. *Biodiversity and Conservation*, 12(6), 1145-1156. <https://doi.org/10.1023/A:1023085922265>
- López-Lozano, N. E., Echeverría Molinar, A., Ortiz Durán, E. A., Hernández Rosales, M., y Souza, V. (2020). Bacterial Diversity and Interaction Networks of Agave lechuguilla Rhizosphere Differ Significantly From Bulk Soil in the Oligotrophic Basin of Cuatro Ciénegas. *Frontiers in Plant Science*, 11(July), 1-14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01028>
- López-Mtz, J. D., Díaz Estrada, A., Martínez Rubin, E., y Valdez Cepeda, R. D. (2001). ABONOS ORGANICOS Y SU EFECTO EN PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DEL SUELO Y RENDIMIENTO EN MAIZ. *Terra Latinoamericana*, 19(4), 293-299. <http://www.redalyc.org/pdf/573/57319401.pdf>
- Loredo-Osti, C., López-Reyes, L., y Espinosa-Victoria, D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*, 22(2), 225-239.
- Lynch, J., y Whipps, J. (1990). Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 129, 1-10.
- Ma, Y., Weisenhorn P., Guo X., Wang D., Yang T., Shi Y., Zhang H., y Chu H. (2021). Effect of long-term fertilization on bacterial communities in wheat endosphere. *Pedosphere*. 31(4): 538-548.
- Madrigal, X. y Zavala, C. (2015). Vegetación y flora de las plantaciones de magueyes mezcaleros en Etúcuaro y Tzitzio, Michoacán. In: Martínez-Palacios A., J.L. Morales- García y S. Guillén Rodríguez (eds). Aspectos sobre el manejo y la conservación de Agaves mezcaleros en Michoacán. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo – Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación -Consejo Estatal de Ciencia Tecnología e Innovación, 43-59 pp.

- Magoč, T., y Salzberg, S. L. (2011). FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27(21), 2957-2963.
- Malisorn, K., Kanchanasin, P., Phongsopitanun, W., y Tanasupawat, S. (2018). *Actinomadura rhizosphaerae* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of the plant *Azadirachta indica*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(9), 3012-3016.
- Manogaran, M., Yasid, N. A., y Ahmad, S. A. (2017). Mathematical modelling of glyphosate degradation rate by *Bacillus subtilis*. *Journal of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology*, 5(1), 21-25.
- Martin, F. M., Uroz, S., y Barker, D. G. (2017). Ancestral alliances: Plant mutualistic symbioses with fungi and bacteria. *Science*, 356(6340). <https://doi.org/10.1126/science.aad4501>
- Martínez-Castro, L. E., Martínez-Palacios, A., Sánchez-Vargas, N., Lobit, P., Nápoles-Alvarez, C., Martínez Avalos, J. G. y Golubov, J. (2015). Poblaciones silvestres de Maguey Chino (*Agave cupreata*) en el Estado de Michoacán. In: Martínez-Palacios A., J.L. Morales- García y S. Guillén Rodríguez (eds). Aspectos sobre el manejo y la conservación de Agaves mezcaleros en Michoacán. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo – Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación -Consejo Estatal de Ciencia Tecnología e Innovación, 167–175 pp.
- Martínez-Gallegos, V., Bautista-Cruz, A., Martínez-Martínez, L., y Sánchez-Medina, P. S. (2018). First report of phosphate-solubilizing bacteria associated with *Agave angustifolia*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 20(6), 1298–1302. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0630>
- Martínez-Palacios, A., Gómez-Sierra, J. M., Sáenz-Romero, C., Pérez-Nasser, N., y Sánchez-Vargas, N. (2011). GENETIC DIVERSITY OF *Agave cupreata* TREL. & BERGER. CONSIDERATIONS FOR ITS CONSERVATION. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34(3), 159–165.
- Martínez-Palacios, A., Martínez-Castro, L. E., Nápoles-Alvarez, C., Sánchez-Vargas, N., Ambríz, L., Guillén, S. y Lobit, P. (2015a). Monocultivo y sistemas agresivos de manejo asociados a plagas y enfermedades en plantaciones de *Agave cupreata*. In: Martínez-Palacios A., J.L. Morales- García y S. Guillén Rodríguez (eds). Aspectos sobre el manejo y la conservación de Agaves mezcaleros en Michoacán. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo – Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación - Consejo Estatal de Ciencia Tecnología e Innovación, 85-101 pp.
- Martínez-Palacios, A., Chávez-Mendoza, S., Reyes-González, R., Aguilar-Alberto, A., Lobit, P. y Prat, C. (2015b). Orientación a la luz de la plantación de *Agave cupreata* Trel. y Berger, bajo manejo integral, Tzitzio, Mich. In: Martínez-Palacios A., J.L. Morales- García y S. Guillén Rodríguez (eds). Aspectos sobre el manejo y la conservación de Agaves mezcaleros en Michoacán. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo – Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación - Consejo Estatal de Ciencia Tecnología e Innovación, 63-82 pp.
- Martínez-Rodríguez, J. D. C., De La Mora-Amutio, M., Plascencia-Correa, L. A., Audelo-Regalado, E., Guardado, F. R., Hernández-Sánchez, E., Peña-Ramírez, Y. J., Escalante, A., Beltrán-García, M. J., y Ogura, T. (2014). Cultivable endophytic bacteria from leaf bases of *Agave*

- tequilana and their role as plant growth promoters. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(4), 1333–1339. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000400025>
- Mendoza, S. S., Bautista-Cruz, A., y Martínez-Gallegos, V. (2018). Fosfobacterias promueven la emergencia y el crecimiento de agaves silvestres. *Entreciencias: Diálogos en la Sociedad del Conocimiento*, 6(17).
- Mierzejewska, E., Urbaniak, M., Zagibałto, K., Vangronsveld, J., y Thijs, S. (2022). The Effect of Syringic Acid and Phenoxy Herbicide 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA) on Soil, Rhizosphere, and Plant Endosphere Microbiome. *Frontiers in plant science*, 13.
- Mijangos, I., Becerril, J. M., Albizu, I., Epelde, L., y Garbisu, C. (2009). Effects of glyphosate on rhizosphere soil microbial communities under two different plant compositions by cultivation-dependent and -independent methodologies. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(3), 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.12.009>
- Najmadeen, H., Mohammad, O., y Mohamed-Amin, H. (2010). Effects of Soil Texture on Chemical Compositions, Microbial Populations and Carbon Mineralization in Soil. *J. Exp. Biol*, 6(1), 59–64.
- Nascentes, R. F., Carbonari, C. A., Simões, P. S., Brunelli, M. C., Velini, E. D., y Duke, S. O. (2018). Low doses of glyphosate enhance growth, CO₂ assimilation, stomatal conductance and transpiration in sugarcane and eucalyptus. *Pest management science*, 74(5), 1197-1205.
- Newman, M. M., Hoilett, N., Lorenz, N., Dick, R. P., Liles, M. R., Ramsier, C., y Kloepper, J. W. (2016). Glyphosate effects on soil rhizosphere-associated bacterial communities. *Science of the Total Environment*, 543(2016), 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.008>
- Nguyen, Duy B., Rose, M. T., Rose, T. J., Morris, S. G., y Van Zwieten, L. (2016). Impact of glyphosate on soil microbial biomass and respiration: A meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 92, 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.09.014>
- Nguyen, Duy Binh, Rose, M. T., Rose, T. J., y Zwieten, L. Van. (2018). European Journal of Soil Biology Effect of glyphosate and a commercial formulation on soil functionality assessed by substrate induced respiration and enzyme activity. *European Journal of Soil Biology*, 85(December 2017), 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2018.01.004>
- Nie, Z. J., Hang, B. J., Cai, S., Xie, X. T., He, J., y Li, S. P. (2011). Degradation of cyhalofop-butyl (CyB) by *Pseudomonas azotoformans* strain QDZ-1 and cloning of a novel gene encoding CyB-hydrolyzing esterase. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(11), 6040-6046.
- Nielsen, P. H., McIlroy, S. J., Albertsen, M., y Nierychlo, M. (2019). Re-evaluating the microbiology of the enhanced biological phosphorus removal process. *Current opinion in biotechnology*, 57, 111-118.
- Nuzzo, A., Satpute, A., Albrecht, U., y Strauss, S. L. (2020). Impact of soil microbial amendments on tomato rhizosphere microbiome and plant growth in field soil. *Microbial ecology*, 80(2), 398-409.
- O'Loughlin, S. N. O., Graham, R. L. J., McMullan, G., y Ternan, N. G. (2006). A role for carbon catabolite repression in the metabolism of phosphonoacetate by *Agromyces fucosus* Vs2. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00344.x>

- Onwona-Kwakye, M., Plants-Paris, K., Keita, K., Lee, J., Brink, P. J. V. D., Hogarh, J. N., y Darkoh, C. (2020). Pesticides decrease bacterial diversity and abundance of irrigated rice fields. *Microorganisms*, 8(3), 318.
- Peña-Turruella, E. M., Carrión-Ramírez, F., Martínez, N. A., y Rodríguez, N. (2002). *Manual for the production of organic fertilizers in urban agriculture*. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT).
- Pimbert, M. (1999). Sustaining the Multiple Functions of Agricultural Biodiversity. FAO/Netherlands Conference on the Multifunctional Character of Agriculture and Land, 88, 41.
- Prashar, P., y Shah, S. (2016). Impact of fertilizers and pesticides on soil microflora in agriculture. In *Sustainable agriculture reviews* (pp. 331-361). Springer, Cham.
- Pratiwi, E. R., Ardyati, T., y Suharjono, S. (2020). Plant Growth Promoting Endophytic Bacteria of *Coffea canephora* and *Coffea arabica* L. in UB Forest. *The Journal of Experimental Life Science*, 10(2), 119-126.
- Qualset, C., McGuire, P., y Warburton, M. (1995). In California: 'Agrobiodiversity' key to agricultural productivity. *California Agriculture*, 49(6), 45–49.
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ramírez-Choza, J. L. (1993). Max del henequén *Scyphophorus interstitialis* Gylh. Bioecología y control. Libro Técnico. Centro de Investigación Regional del Sureste. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Recursos Hidráulicos.
- Ramirez, K. S., Lauber, C. L., Knight, R., Bradford, M. A., y Fierer, N. (2010). Consistent effects of nitrogen fertilization on soil bacterial communities in contrasting systems. *Ecology*, 91(12), 3463-3470.
- Ramirez-Villacis, D., Finkel, O., Salas-González, I., Fitzpatrick, C., Dangl, J., Jones, C., y Leon-Reyes, A. (2020). Root Microbiome Modulates Plant Growth Promotion Induced by Low Doses of Glyphosate. *Mosphere*, 5(4). <https://doi.org/10.46678/pb.20.1383160>
- Rana, S. S., y Rana, M. C. (2019). *Principles and Practices of Weed Management Third Edition*.
- Robles-Martínez, M. L., Robles, C., Rivera-Becerril, F., Ortega-Larrocea, M. D. P., y Pliego-Marín, L. (2013). Inoculación con consorcios nativos de hongos de micorriza arbuscular en *Agave angustifolia* Haw. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(SPE6), 1231-1240.
- Rodríguez, G. B. (1999). La investigación en agave tequilero en el CIATEJ. In: Bernache, P. F. y A. Avalos, C. (eds). El agave. Gaceta informativa. Unión Agrícola Regional de Mezcal Tequilero del estado de Jalisco. 2-3 pp.
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., y Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open-source tool for metagenomics.
- Rose, M. T., Ling, E., Han, Z., Wood, R., Rose, T. J., y Zwieter, L. Van. (2018). European Journal of Soil Biology Minor effects of herbicides on microbial activity in agricultural soils are

- detected by N-transformation but not enzyme activity assays. *European Journal of Soil Biology*, 87(May), 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2018.04.003>
- Rose, M. T., Patti, A. F., Little, K. R., Brown, A. L., Jackson, W. R., y Cavagnaro, T. R. (2014). A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: Practical implications for agriculture. In *Advances in Agronomy* (1st ed., Vol. 124). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800138-7.00002-4>
- Sáenz-Romero, C., O'Neill, G., Aitken, S. N., y Lindig-cisneros, R. (2021). Assisted Migration Field Tests in Canada and Mexico: Lessons, Limitations, and Challenges. *Forests*, 12(1), 9.
- Saito, A., y Minamisawa, K. (2006). Evaluation of the nitrogen-fixing ability of endophytic clostridia based on acetylene reduction and reverse transcription-PCR targeting the nifH transcript and ribosomal RNA. *Microbes and environments*, 21(1), 23-35.
- Saiya-Cork, K. R., Sinsabaugh, R. L., y Zak, D. R. (2002). The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(9), 1309–1315. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00074-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00074-3)
- Sánchez-Mendoza, S., Bautista-Cruz, A., Robles, C., y Rodríguez-Mendoza, M. de las N. (2019). Irrigation and slow-release fertilizers promote the nutrition and growth of *Agave angustifolia* Haw. *Journal of Plant Nutrition*, 43(5), 699–708. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1701025>
- Sarandón, S. (2009). Biodiversidad, agrobiodiversidad y agricultura sustentable. In *Vertientes del pensamiento agroecológico: fundamentos y aplicaciones*, 95–116.
- Sarandón, S. J. (2020). Biodiversidad, agroecología y agricultura sustentable. *Libros de Cátedra*.
- Sarkar, S., Majumdar, B., Saha, A. R., y Kundu, D. K. (2014). Effect of weed management on sisal (*Agave sisalana*) nursery. *Indian Journal of Agronomy*, 59(3), 445–450.
- Schmieder, R., y Edwards, R. (2011). Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. *Bioinformatics*, 27(6), 863-864.
- Sellstedt, A., y Richau, K. H. (2013). Aspects of nitrogen-fixing Actinobacteria, in particular free-living and symbiotic Frankia. *FEMS Microbiology Letters*, 342(2), 179-186.
- Semenov, M. V., Krasnov, G. S., Semenov, V. M., y van Bruggen, A. H. (2020). Long-term fertilization rather than plant species shapes rhizosphere and bulk soil prokaryotic communities in agroecosystems. *Applied Soil Ecology*, 154, 103641.
- Sharif, M., Khattak, R. A., y Sarir, M. S. (2002). Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33(19–20), 3567–3580. <https://doi.org/10.1081/CSS-120015906>
- Sharma, G., Khatri, I., y Subramanian, S. (2016). Complete genome of the starch-degrading myxobacteria *Sandaracinus amylolyticus* DSM 53668T. *Genome biology and evolution*, 8(8), 2520-2529.
- Shen, Z., Wang, D., Ruan, Y., Xue, C., Zhang, J., Li, R., y Shen, Q. (2014). Deep 16S rRNA pyrosequencing reveals a bacterial community associated with banana *Fusarium* wilt disease

- suppression induced by bio-organic fertilizer application. *PLoS ONE*, 9(5), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098420>
- Shu, W., Pablo, G. P., Jun, Y., y Danfeng, H. (2012). Abundance and diversity of nitrogen-fixing bacteria in rhizosphere and bulk paddy soil under different duration of organic management. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(2), 493-503.
- Silva, P. G., y Silva, H. D. J. (2013). Biomass production of *Tolypothrix tenuis* as a basic component of a cyanobacterial biofertilizer. *Journal of applied phycology*, 25(6), 1729-1736.
- Silva, F. M. L., Duke, S. O., Dayan, F. E., y Velini, E. D. (2016). Low doses of glyphosate change the responses of soyabean to subsequent glyphosate treatments. *Weed Research*, 56(2), 124-136.
- Solanki, M. K., Wang, F. Y., Li, C. N., Wang, Z., Lan, T. J., Singh, R. K., Singh, P., Yang, L. T., y Li, Y. R. (2020). Impact of sugarcane–legume intercropping on diazotrophic microbiome. *Sugar Tech*, 22(1), 52-64.
- Solís-Aguilar, J. F., González-Hernández, H., Leyva-Vázquez, J. L., Equihua-Martínez, A., Flores-Mendoza, F. J., y Martínez-Garza, A. (2001). *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal, Plaga Del Agave Tequilero En Jalisco, México. *Agrociencia*, 35, 663–670.
- Sradnick, A., Murugan, R., Oltmanns, M., Raupp, J., y Georg, R. (2013). Changes in functional diversity of the soil microbial community in a heterogeneous sandy soil after long-term fertilization with cattle manure and mineral fertilizer. *Applied Soil Ecology*, 63, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.09.011>
- Stevenson, F., y Cole, M. (1999). *Cycles of the soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*, second ed. John Wiley & Sons Inc., New York, NY, USA. 427 pp.
- Sturz, A. V., Matheson, B. G., Arsenault, W., Kimpinski, J., y Christie, B. R. (2001). Weeds as a source of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural soils. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(11), 1013–1024. <https://doi.org/10.1139/cjm-47-11-1013>
- Sviridov, A. V., Shushkova, T. V., Ermakova, I. T., Ivanova, E. V., Epiktetov, D. O., y Leontievsky, A. A. (2015). Microbial degradation of glyphosate herbicides. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 51(2), 188-195.
- Swift, M. J., Izac, A. M. N., y Van Noordwijk, M. (2004). Biodiversity and ecosystem services in agricultural landscapes - Are we asking the right questions? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 104(1), 113–134. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2004.01.013>
- Tabatabai, M. (1994). Soil enzymes. In: *Methods of soil analysis: part 2, Microbiological and biochemical properties*. 775-833 pp.
- Tejada, M. (2009). Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate+diflufenican herbicides. *Chemosphere*, 76(3), 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.040>
- Ternan, N. G., McGrath, J. W., Mc Mullan, G., y Quinn, J. P. (1998). Organophosphonates: occurrence, synthesis and biodegradation by microorganisms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14(5), 635-647.

- Thapa, S., Ranjan, K., Ramakrishnan, B., Velmourougane, K., y Prasanna, R. (2018). Influence of fertilizers and rice cultivation methods on the abundance and diversity of phyllosphere microbiome. *Journal of Basic Microbiology*, 58(2), 172–186. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700402>
- Thrupp, A. (2000). Linking Agricultural Biodiversity and Food Security: The Valuable Role of Sustainable Agriculture Lori Ann Thrupp International Affairs. *International Affairs*, 76(2), 265–281.
- Tofiño-Rivera, A. P., Carbono-Murgas, R. E., Melo-Ríos, A. E., y Merini, L. J. (2020). Effect of glyphosate on microbiota, soil quality and biofortified bean crop in Codazzi, department of Cesar, Colombia. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(1), 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.01.006>
- Trinidad-Cruz, J. R., Quiñones-Aguilar, E. E., Rincón-Enríquez, G., López-Pérez, L., y Hernández-Cuevas, L. V. (2017). Mycorrhization of *Agave cupreata*: Biocontrol of *Fusarium oxysporum* and plant growth promotion. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(2), 151-169.
- Turner, T. R., James, E. K., y Poole, P. S. (2013). The plant microbiome. *Genome Biology*, 14(6), 1–10. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-6-209>
- Uren, N. (2000). Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants. In R. Pinto, Z. Varanini, & P. Nannipieri (Eds.), *The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface* (pp. 19–40).
- Usman, K., Khan, S., Ghulam, S., Khan, M. U., Khan, N., Khan, M. A., y Khalil, S. K. (2012). Sewage sludge: an important biological resource for sustainable agriculture and its environmental implications. *American Journal of Plant Sciences*, 3, 1708-1721
- Van Bruggen, A. H. C., He, M. M., Shin, K., Mai, V., Jeong, K. C., Finckh, M. R., y Morris, J. G. (2018). Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment*, 616–617, 255–268. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.309>
- Wang, H., Liu, Z., Ma, L., Li, D., Liu, K., Huang, Q., Zhao, B., y Zhang, J. (2020). Denitrification potential of paddy and upland soils derived from the same parent material respond differently to long-term fertilization. *Frontiers in Environmental Science*, 8, 105.
- Wang, C., Ning, P., Li, J., Wei, X., Ge, T., Cui, Y., Deng, X., Jiang, Y., y Shen, W. (2022). Responses of soil microbial community composition and enzyme activities to long-term organic amendments in a continuous tobacco cropping system. *Applied Soil Ecology*, 169(September 2021), 104210. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104210>
- Wezel, A., Bellon, S., Doré, T., Francis, C., Vallod, D., y David, C. (2009). Agroecology as a science, a movement and a practice . A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 503–515.
- Xu, L., Yi, M., Yi, H., Guo, E., y Zhang, A. (2018). Manure and mineral fertilization change enzyme activity and bacterial community in millet rhizosphere soils. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(1), 1-13.

- Yang, Y., Wang, H., Tang, J., y Chen, X. (2007). Effects of weed management practices on orchard soil biological and fertility properties in southeastern China. *Soil and Tillage Research*, 93(1), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.still.2006.04.001>
- Yoneyama, K., Xie, X., Kisugi, T., Nomura, T., y Yoneyama, K. (2013). Nitrogen and phosphorus fertilization negatively affects strigolactone production and exudation in sorghum. *Planta*, 238(5), 885-894.
- Zabaloy, M. C., Garland, J. L., y Gómez, M. A. (2008). An integrated approach to evaluate the impacts of the herbicides glyphosate, 2,4-D and metsulfuron-methyl on soil microbial communities in the Pampas region, Argentina. *Applied Soil Ecology*, 40(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.02.004>
- Zaidi, A., Khan, M., Ahemad, M., y Oves, M. (2009). Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, 56(3), 263-284.
- Zeng, H., Xu, H., Liu, G., Wei, Y., Zhang, J., y Shi, H. (2021). Physiological and metagenomic strategies uncover the rhizosphere bacterial microbiome succession underlying three common environmental stresses in cassava. *Journal of Hazardous Materials*, 411, 125143.
- Zhang, Q. C., Shamsi, I. H., Xu, D. T., Wang, G. H., Lin, X. Y., Jilani, G., Hussain, N., y Chaudhry, A. N. (2012). Chemical fertilizer and organic manure inputs in soil exhibit a vice versa pattern of microbial community structure. *Applied Soil Ecology*, 57, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.012>
- Zhang, M., Tian, Z., Wang, J., Tian, X., Wang, C., Cui, J., Huo, J., Feng, L., Yu, X., y Ma, X. (2021). Visual Analysis and Inhibitor Screening of Leucine Aminopeptidase, a Key Virulence Factor for Pathogenic Bacteria-Associated Infection. *ACS sensors*, 6(10), 3604-3610.
- Zhao, X. M., He, L., Zhang, Z. D., Wang, H. B., y Zhao, L. P. (2016). Simulation of accumulation and mineralization (CO₂ release) of organic carbon in chernozem under different straw return ways after corn harvesting. *Soil and Tillage Research*, 156, 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.still.2015.11.001>
- Zhi-dan, F., Li, Z., Ping, C., Qing, D., Ting, P., Chun, S., Xiao-chun, W., Wei-guo, L., Wen-yu, Y., y Tai-wen, Y., (2019). Effects of maize-soybean relay intercropping on crop nutrient uptake and soil bacterial community. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(9), 2006-2018.
- Zhou, G., Qiu, X., Zhang, J., y Tao, C. (2019). Effects of seaweed fertilizer on enzyme activities, metabolic characteristics, and bacterial communities during maize straw composting. *Bioresource technology*, 286, 121375.
- Zobiolo, L. H. S., de Oliveira, R. S., Kremer, R. J., Muniz, A. S., y de Oliveira, A. (2010). Nutrient accumulation and photosynthesis in glyphosate-resistant soybeans is reduced under glyphosate use. *Journal of Plant Nutrition*, 33(12), 1860–1873. <https://doi.org/10.1080/01904167.2010.491890>

14. ANEXOS

ANEXO 1. PROTOCOLO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN MICROBIANO DE LAS RAÍCES

Preparación de las muestras

1. Colocar 0.5 g de raíz durante dos min en etanol al 70%, 10 min en hipoclorito de sodio al 5% y luego enjuagar dos veces en agua destilada para desinfectar (Desgarenes *et al.*, 2014).
2. Hacer cortes transversales con una cuchilla esterilizada y pulverizar en mortero esterilizado con nitrógeno líquido.
3. Traspasar las raíces trituradas en tubos Eppendorf de 1.5 ml estériles.

Extracción de ADN método CTAB

1. Agregar 480 μ L de EDTA 0.5 M y 120 μ L de lisozima (100 mg/ml), incubar a 37°C por 30 min, posteriormente centrifugar por 2 min a 15,000 rpm, una vez realizado lo anterior tirar el sobrenadante.
2. Agregar 350 μ L de buffer CTAB a cada tubo.
3. Agregar 20 μ L de proteinasa K en una concentración de 20 mg/ml y agitar brevemente.
4. Colocar los tubos en un termoblock a 55°C, aproximadamente 20 min. Transferir el sobrenadante (400 μ L) a tubos eppendorf 1.5 ml.
5. Agregar 300 μ L de LiCl 5M, 5 μ L de RNAsa y agitar por un minuto; posteriormente agregar 600 μ L de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) y agitar brevemente.
6. Agitar la mezcla durante 30 min a temperatura ambiente, posteriormente centrifugar a 13,000 rpm durante 15 min a temperatura ambiente.
7. Extraer 500 μ L de la capa acuosa (parte superior) del centrifugado y transferir a un nuevo tubo Eppendorf estéril de 1.5 ml.
8. Añadir 50 μ L de acetato de sodio 3 M pH 5.2 y 1 mL de Etanol 100% frío; agitar y colocar a -20°C por 1 hora aproximadamente.
9. Centrifugar durante 20 min a 13,000 rpm a 4°C y retirar el sobrenadante cuidadosamente para no perder el ADN sedimentado.
10. Agregar 750 μ L de etanol al 70%, agitar por 15 min a temperatura ambiente, enseguida centrifugar a máxima velocidad (14,000 rpm) durante 5 min a temperatura ambiente y retirar el sobrenadante por decantación.

11. Secar el pellet de ADN en una campana de flujo laminar, una vez seco, añadir 20 μ L de agua estéril (o buffer TE) para resuspender el pellet, durante 30 min a temperatura ambiente.
12. Calentar los tubos a 95°C por 5 minutos e inmediatamente colocar en hielo.
13. Guardar las muestras a -80°C.