



**Universidad Michoacana de San Nicolás
de Hidalgo**



Facultad de Químico Farmacobiología

**“Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en
Phaseolus vulgaris, *Solanum lycopersicum* y *Triticum aestivum* con el
 NH_4NO_3 al 70% potenciado con un extracto crudo de nanopartículas
de carbono”**

Tesis que presenta:

Alexis Xavier Nava-Vázquez

Para obtener el título de:

Químico Farmacobiólogo

Director

D.C. Juan Manuel Sánchez-Yañez

Laboratorio de Microbiología Ambiental
Intituto de Investigacion Quimico-Biológicas
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Morelia, Michoacán, Agosto de 2022

Declaración

Esta tesis fue realizada en el Laboratorio de Microbiología Ambiental del edificio B-3 del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas en ciudad universitaria de la UMSNH, bajo la dirección del Dr. Juan Manuel Sánchez Yañez. Morelia.

Agradecimientos

Al proyecto “Field Tests of a Living Biofertilizer for Crop Growth in Mexico” (2020-2022, apoyado por el Fondo de Innovación de México apoyado por el Centro David Rockefeller de Estudios Latinoamericanos de la Universidad de Harvard, Ma, EUA.

Al proyecto 2.7 (2022). “Microorganismos probióticos de plantas y otras fuentes para la restitución de la capacidad agrícola productiva de un suelo contaminado por hidrocarburos” Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH.

Por el apoyo para el Invernadero y Beca de tesis a PHYTONUTRIMENTOS y BIONUTRA S. A. de C.V., Maravatío, Mich., México



índice

Agradecimientos	2
Acrónimo.....	4
Significado	4
Resumen.....	5
Introducción.....	7
Antecedentes	9
Justificación.....	9
Hipotesis.....	10
Objetivo.....	10
Material y Metodos	10
Área de estudio	10
Origen del suelo y preparacion de experimento.....	10
Activación y cuenta viable de <i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i>	11
Obtención de un extracto crudo de nanopartículas de carbono a partir de <i>Albizia</i> sp.	12
Inoculación de en semillas de <i>P. vulgaris</i> , <i>S. lycopersicum</i> y <i>T. aestivum</i> con <i>A. vinelandii</i> y/o <i>X. autotrophicus</i>	13
Prueba de sensibilidad a antibióticos por Técnica de Kirby-Bauer.....	14
Análisis estadístico.....	15
Resultados y discusión	16
Conclusión.....	41
Literatura citada	41

Acrónimo	Significado
AP	Altura de la planta
BEPCV	Bacteria endófitas promotora de crecimiento vegetal
C	Carbono
CA	Control absoluto
CR	Control relativo
C:N	Carbono: Nitrógeno
ECNC	Extracto crudo de nanopartículas de carbono
FN	Fertilizante nitrogenado
LR	Longitud radical
PFA	Peso fresco aéreo
PFR	Peso fresco radical
PSA	Peso seco aéreo
PSR	Peso seco radical
SM	Solución mineral

Resumen

El sano crecimiento de cultivos de importancia económica como *Phaseolus vulgaris* (frijol), *Solanum lycopersicum* (tomate) y *Triticum aestivum* (trigo) demandan fertilizante nitrogenado en forma de NH_4NO_3 (nitrato de amonio), el que aplicado irracionalmente causa la relativa mineralización de la materia orgánica con la pérdida de la fertilidad del suelo. Una alternativa de solución es reducir y optimizar el NH_4NO_3 en *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* a partir de la inoculación de las semillas con géneros y especies como: *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* que a través de la conversión de los compuestos de la semilla mejoran el porcentaje de germinación; colonizan el interior de las raíces y convierten compuestos orgánicos en fitohormonas, que simultáneamente pueden ser potenciadas a partir de la nanotecnología usando un extracto crudo de nanopartículas de carbono (ECNC) para una mayor generación de pelos radicales que aumentan la capacidad de absorción radical y la optimización del NH_4NO_3 al 70%. El objetivo de esta investigación fue analizar el efecto de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* en *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* con el NH_4NO_3 al 70% potenciados con un ECNC. El experimento se realizó bajo un diseño experimental de bloques al azar con dos controles, seis tratamientos y seis repeticiones, mediante las variables-respuesta: días de emergencia y porcentaje (%) de germinación, la fenología: altura de planta (AP) y longitud de raíz (LR) y la biomasa: peso fresco y seco aéreo y radical: (PFA/PFR)/(PSA/PSR) a estadios de plantula y floración; los datos experimentales se analizaron por ANOVA/Tukey ($P < 0.01$). Los resultados mostraron un efecto benéfico de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con el NH_4NO_3 al 70% potenciado

con 10 o 20 ppm de ECNC en el porcentaje de germinación de las semillas de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum*; al igual que en la fenología y en la biomasa a plántula y floración, donde se registraron valores numéricos con diferencia estadística comparados con los obtenidos en *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* sin *A. vinelandii* y *X. autotrophicus*, solo con el NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC o control relativo (CR). Estos resultados apoyan el hecho de que el ECNC potenció la actividad fitohormonal de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* para un incremento sustancial del sistema radical necesario para la máxima optimización del NH_4NO_3 al 70%, sin afectar el sano crecimiento de vegetal.

Palabras clave: Suelo, cultivos doméstico, BEPCV, nanotecnología, NH_4NO_3 .

Abstract

The healthy growth of economically important crops such as *Phaseolus vulgaris* (beans), *Solanum lycopersicum* (tomato) and *Triticum aestivum* (wheat) requires nitrogen fertilizer in the form of NH_4NO_3 (ammonium nitrate), which when applied irrationally causes relative mineralization of organic matter with loss of soil fertility. An alternative solution is to reduce and optimize NH_4NO_3 in *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* and *T. aestivum* by inoculating seeds with genera and species such as: *Azotobacter vinelandii* and *Xanthobacter autotrophicus* that through the conversion of seed compounds improve the germination percent; colonize the interior of the roots and convert organic compounds into phytohormones, which simultaneously can be enhanced from nanotechnology using a crude extract of carbon nanoparticles (CECN) for a greater generation of radical hairs that increase the capacity of radical absorption and optimization of NH_4NO_3 to 70%. The objective of this research was to analyze the effect of *A. vinelandii* and *X. autotrophicus* on *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* and *T. aestivum* with 70% NH_4NO_3 enhanced with an CECN. The experiment was conducted under a randomized block experimental design

with two controls, six treatments and six replicates, using the response variables: days of emergence and percentage (%) of germination, phenology: plant height (PA) and root length (RL) and biomass: aerial and root fresh and dry weight: (AFW/RWP)/(AFP/RWP) at seedling and flowering stages; the experimental data were analyzed by ANOVA/Tukey ($P < 0.01$). The results showed a beneficial effect of *A. vinelandii* and *X. autotrophicus* with 70% NH_4NO_3 enhanced plus 10 or 20 ppm CECN on the germination rate of seeds of *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* and *T. aestivum*; as well as in phenology and biomass at seedling and flowering, where numerical values with statistical difference were recorded compared to *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* and *T. aestivum* no *A. vinelandii* and neither *X. autotrophicus*, only with NH_4NO_3 at 100% without CECN or relative control (RC). These results support the fact that CECN enhanced the phytohormonal activity of *A. vinelandii* and *X. autotrophicus* for a substantial increase of the root system necessary for maximum optimization of NH_4NO_3 at 70%, without affecting healthy plant growth.

Introducción

El sano crecimiento de plantas de importancia doméstica como *Phaseolus vulgaris* (frijol), *Solanum lycopersicum* (tomate) y *Triticum aestivum* (trigo) demanda fertilizante nitrogenado (FN) comunmente en forma de NH_4NO_3 (nitrato de amonio), el que aplicado en exceso causa la pérdida de la fertilidad del suelo debido a un desequilibrio en la relación C:N (carbono-nitrógeno), la salinidad y el riesgo de contaminación de agua superficial y subterránea (Isbell *et al.*, 2013; Soto-Mora *et al.*, 2016; Studdert *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2017).

Una alternativa de solución que evita la hiperfertilización nitrogenada es la inoculación de la semilla de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* con géneros y especies de

bacterias como *Azospirillum lipoferum*, *Bacillus cereus*, *B. Subtilis*, *Pseudomonas* sp, que colonizan la rizosfera de gramíneas, hortalizas y leguminosas; ahí convierten exudados y compuestos orgánicos del metabolismo vegetal en fitohormonas (Gupta *et al.*, 2018; Moreno Reséndez *et al.*, 2018; Castaño *et al.*, 2021), que pueden estimular el desarrollo de un sistema radical denso para la optimización de la toma de NH_4NO_3 , por las plantas; no obstante, algunos de estos géneros y especies de bacterias rizosféricas pueden ser desplazadas por la competitividad con otras bacterias nativas del suelo o por la especificidad que tienen para colonizar ciertas variedades de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* cuando la dosis del NH_4NO_3 se reduce por debajo de lo recomendado (Kobua *et al.*, 2021). Este problema puede ser solucionado con la selección y aplicación de géneros y especies de bacterias endófitas promotoras de crecimiento vegetal (BEPCV) como *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* que a través de la conversión de los compuestos orgánicos de la semilla aceleran la germinación para después invadir el interior de las raíces, luego moverse por el xilema en donde los carbohidratos y ácidos orgánicos, metabolitos generados por la fotosíntesis son usados como fuente de carbono y energía que convierten en fitohormonas necesarias para la formación de un sistema radical denso que favorece la optimización del NH_4NO_3 (Barajas-Vargas *et al.*, 2021), sin causar un efecto negativo en el crecimiento sano de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum*.

Una innovación para maximizar la optimización del NH_4NO_3 cuando se reduce hasta en un 70% de acuerdo a la literatura puede ser potenciando el efecto benéfico tanto de *A. vinelandii* como *X. autotrophicus* a partir de un extracto crudo de nanopartículas de carbono (ECNC) (Chaudhary *et al.*, 2021), puesto que se ha reportado que la aplicación de distintas formas alotrópicas de carbono a nano escala como las nanopartículas pueden aumentar la retención de agua y la entrada de sales minerales esenciales para un sano

crecimiento vegetal (Hatami, 2017; Merinero *et al.*, 2022). Por lo tanto, en este trabajo se propuso mejorar la actividad fitohormonal de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con un ECNC para optimizar al máximo la asimilación del NH_4NO_3 al 70%.

Antecedentes

En la literatura existe nula información relacionada al uso de géneros y especies benéficas promotoras de crecimiento vegetal en leguminosas, hortalizas y gramíneas como: *P. vulgaris* (frijol), *S. lycopersicum* (tomate) y *T. aestivum* (trigo) cuando el NH_4NO_3 es reducido por debajo de lo recomendado y potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono. Un ejemplo es lo reportado por Velazquez-Medina *et al.*, 2022 que analizaron el efecto de *Xanthobacter autotrophicus* y *Bacillus thuringiensis* en *Triticum aestivum* (trigo) con el NH_4NO_3 reducido al 50% y potenciado con ECNC. Los resultados demostraron un efecto positivo de *X. autotrophicus* y *B. thuringiensis* que registró una mejora en el porcentaje de germinación del 93% en comparación con el 73% de *T. aestivum* sin *X. autotrophicus* y *B. thuringiensis* con el NH_4NO_3 al 100% sin tratar con ECNC.

En la actualidad la información sobre el efecto de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con extracto crudo de nanopartículas de carbono en la germinación y crecimiento de plantas de importancia doméstica es escaso. Con base a lo anterior es posible mejorar la respuesta de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* y el NH_4NO_3 al 70% potenciado con un ECNC.

Justificación

La agricultura como el conjunto de técnicas y conocimientos para el cultivo en el suelo con el fin de alimentar humanos y ganado se encuentra comprometida debido a un aumento poblacional, reducción de tierras cultivables, degradación del suelo y cambio

climático, como respuesta a estos problemas se crea la agricultura sustentable que busca ser ecológicamente adecuada, económicamente viable, socialmente justa, culturalmente apropiada y basada en un enfoque científico holístico.

Hipotesis

El efecto de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* es benéfico para *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un ECNC.

Objetivo

Analizar el efecto de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* en *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un ECNC.

Material y Metodos

Área de estudio

Esta investigación se realizó en el invernadero del laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, Morelia, Mich, México. La temperatura promedio es de 23.2 °C, luminosidad de 450 lx·m², humedad relativa de 67%.

Origen del suelo y preparacion de experimento.

En este ensayo se usó un suelo agrícola de Morelia, Michoacán, México con una textura franco de acuerdo con la NOM-021.RECNAT-2000 (Tabla 1). El suelo se tamizó con una malla del No. 20 y se solarizó a 70°C/48 h para reducir plagas y enfermedades. Posteriormente se pesó 1.0 kg de suelo y colocó en la parte superior de una jarra de Leonard (Figura 1), mientras que el agua o el NH_4NO_3 en una solución mineral (SM) con la siguiente composición química (g/L): NH_4NO_3 , 10; K_2HPO_4 , 2.5; KH_2PO_4 , 2.0; MgSO_4

0.5; NaCl, 0.1; CaCl₂, 0.1; FeSO₄ y 1.0 ml/L de una solución de microelementos (g/L): H₃BO₃ 2.86; ZnSO₄•7H₂O 0.22; MgCl₂•7H₂O 1.8, y pH ajustado a 6.8; se colocó en el reservorio de la parte inferior, ambas partes se conectaron por una tira de algodón de aproximadamente 20 cm de largo, para permitir el movimiento del líquido por capilaridad al suelo donde se sembraron las 6 semillas de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum*.

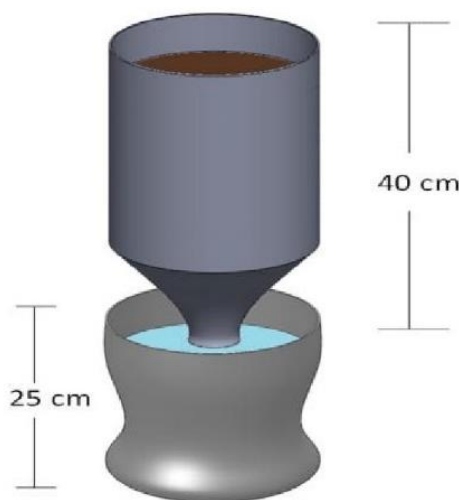


Figura 1. Diseño de la jarra de Leonard

Activación y cuenta viable de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus*.

Los microorganismos se tomaron de la colección del Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH. Se activó *A. vinelandii* en agar Burk con la siguiente composición química (g/L): Glucosa, 10; KH₂PO₄, 2.0; K₂HPO₄, 2.0; MgSO₄, 3.0; 1.0 mL de solución de oligoelementos; 10 mL azul de Bromotimol; 10.0 mL Tecto al 10%; pH ajustado a 7.8; agar bacteriológico, 18. En tanto que *X. autotrophicus* se cultivó en agar sin nitrato ni sacarosa (ASNNS) con la siguiente composición química (g/L); MgSO₄, 0.5; FeSO₄•7H₂O, 0.01; agar, 18.0 agar bacteriológico, pH de 7.0 ± 0.2, luego se incubaron a 36°C/30-35 h (Sánchez-Yáñez, 2007).

La densidad del inoculó viable se determinó a partir de 1.0 mL de *A. vinelandii* y/o *X. autotrophicus* suspendidas previamente en solución salina detergente (SSD) al 0.85% (w/v)

de sal y 0.01 del detergente se agitó durante 30 min y se diluyó en tubos de 18 x 150 con 9 mL de SSD al 0.85% hasta la dilución 10^{-8} . De las diluciones 10^{-2} , 10^{-4} y 10^{-6} se tomó 0.1 mL y se sembró por duplicado en el centro de la caja Petri con ayuda de perlas de vidrio estériles, para *A. vinelandii* en agar Burk y para *X. autotrophicus* en ASNNS. Las cajas con Burk y SNNS se incubaron a 36°C/30-35 h, después se realizó el conteo de las colonias formadoras de colonias (UFC)/mL para *A. vinelandii* y/o *X. autotrophicus* (Sánchez-Yáñez, 2007).

Obtención de un extracto crudo de nanopartículas de carbono a partir de *Albizia* sp.

Se recolectaron hojas de *Albizia* sp de Ciudad Universitaria, UMSNH, Morelia, Mich., luego se desinfectaron por inmersión con NaCl al 0.5%/1 min, se enjuagaron con H₂O desionizada estéril, después las hojas se cortaron en trozos de 5 cm, se secaron a 80°C/12 h, de las que se usaron 30 g de *Albizia* sp suspendidas en 300 mL de H₂O desionizada, enseguida se calentaron a 70°C/30 min, después el extracto acuoso de *Albizia* sp se filtró en Whatman No. 1, se centrifugó a 4000 rpm/10 min y se refrigeró a 4°C. Posteriormente, para la caracterización del ECNC se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6400 del Instituto de Investigación en Metalurgia y Materiales de la Investigación en Metalurgia y Materiales de la UMSNH, Morelia, Mich, México. El procedimiento para caracterizar el tamaño y la morfología de las nanopartículas del extracto crudo fue de acuerdo con el siguiente procedimiento: se secó el ECNC a 100°C/12 h, luego se aplicó una película de oro para permitir que la muestra fuera conductora y así analizar la forma y tamaño de las nanopartículas. Para determinar la composición cualitativa y cuantitativa de las ECNC se realizó mediante energía dispersiva (EDS), para lo cual se secaron las ECNC y se analizaron con un microscopio de emisión de campo JEOL-JSM-7600F EDS.

Inoculación de en semillas de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* con *A. vinelandii* y/o *X. autotrophicus*

En bolsas de plástico de 250 g por cada 10 semillas de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* se inocularon con 1.0 ml de *A. vinelandii* y/o *X. autotrophicus* en relación 1:1 (v/v) equivalente a una concentración de 1×10^6 UFC/mL, obtenida por cuenta viable en placa en agar Burk y ASNNS, después se trataron con 1.0 mL de una concentración de 10 y/o 20 ppm del ECNC en NaCl al 0.85% con detergente Roma^{MR} al 0.5% (p/V). Las semillas con *A. vinelandii* y/o *X. autotrophicus* y las ECNC se agitaron a 200 rpm/30 min a 28°C, enseguida se sembraron en el suelo de las jarras de Leonard según el diseño experimental de la Tabla 2 con dos controles, 6 tratamientos y 6 repeticiones: *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* irrigado con agua o control absoluto (CA); *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* con el NH_4NO_3 al 100% o control relativo (CR); *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* con *A. vinelandii* y/o *X. autotrophicus* potenciado con 10 y/o 20 ppm de un ECNC plus el NH_4NO_3 al 70%.

El NH_4NO_3 utilizado se preparó con la siguiente composición química (g/L): 10.0, NH_4NO_3 ; 2.5, K_2HPO_4 ; 2.0, KH_2PO_4 ; 0.5, MgSO_4 ; 0.1, NaCl; 0.1, CaCl_2 ; trazas de FeSO_4 y 1.0 mL/L de una solución de microelementos (g/L): 2.86, H_3BO_3 ; 0.22, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1.8, $\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, pH ajustado a 6.8 se aplicó cada tercer día durante dos meses (García-González *et al.*, 2005). Las variables-respuestas utilizadas fueron: días de emergencia y porcentaje de germinación, la fenología: altura de planta (AP) y longitud radical (LR); y la biomasa: peso fresco aéreo y radical (PFA/PFR) y peso seco aéreo y radical (PSA/PSR) en estadios de plántula (30 días) y floración (60 días) (Sánchez-Yáñez, 2007).

Prueba de sensibilidad a antibióticos por Técnica de Kirby-Bauer

Para demostrar que el efecto benéfico de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* en *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* se realizó por la técnica de Kirby-Bauer para el perfil de sensibilidad a antibióticos de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* antes y después de inocular las semillas.

El perfil de sensibilidad fue para géneros y especies de bacterias Gram negativas como *A. vinelandii* y *X. autotrophicus*: ampicilina (AM), cefotaxima (CF), ceftazidima (CTX), cefuroxima (CAZ), pefloxacina (CXM), tetraciclina (DC) y trimetoprim-sulfametoxazol (E), cefalotina (GE), dicloxacina (PEF), eritromicina (PE), gentamicina (TE) y penicilina (STX). Entonces *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* se sembraron en agar Burk y agar SNNS, se colocaron los sensidiscos previo a la inoculación de la semilla de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum*, luego ambos medios de cultivo se incubaron a 30°C/30-35 h; al terminó se midieron los halos de inhibición de acuerdo con el método Kirby-Bauer y se obtuvo el perfil de sensibilidad a antibióticos usado como referencia. Posteriormente cuando *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* se inocularon con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* después de plántula y floración se tomó 1.0 g tallo y/o raíces cada uno desinfectado según lo descrito en el inciso v); así 1.0 mL del caldo Burk y caldo SNNS se incubaron a 30°C/72 h, cuando se observó crecimiento con un hisopo estéril se sembró en agar Burk y agar SNNS, enseguida se colocaron los sensidiscos de antibióticos a ambos medios de cultivo y se incubaron a 32°C/30-35 h. Al terminó se midieron los halos de inhibición de acuerdo con el método Kirby-Bauer, para comparar con el perfil de sensibilidad a antibióticos antes y después de la inoculación de la semilla de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* (Singh *et al.*, 2015).

Análisis estadístico

Los resultados experimentales obtenidos se sometieron al análisis de varianza (ANOVA) mediante la prueba comparativa de medias de Tukey HSD ($P < 0.01$) con el programa estadístico statgraphics centurión (Plata-Guzmán *et al.*, 2020).

Tabla 1. Diseño experimental para analizar el efecto de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* en *P. vulgaris*, *S. lycopersicum*, *T. aestivum* con el NH_4NO_3 al 70% potenciado con un ECNC.

* <i>P. vulgaris</i>, <i>S. lycopersicum</i> y <i>T. aestivum</i>	<i>Azotobacter vinelandii</i>	<i>Xanthobacter autotrophicus</i>	ECNC (ppm)	Agua	NH_4NO_3 (%)
Control absoluto	-	-	-	+	-
Control relativo	-	-	-	-	100
Tratamiento 1	+	-	10	-	70
Tratamiento 2	-	+	10	-	70
Tratamiento 3	+	+	10	-	70
Tratamiento 4	+	-	20	-	70
Tratamiento 5	-	+	20	-	70
Tratamiento 6	+	+	20	-	70

*número de repeticiones (n) = 6; agregado (+); no agregado (-).

Resultados y discusión

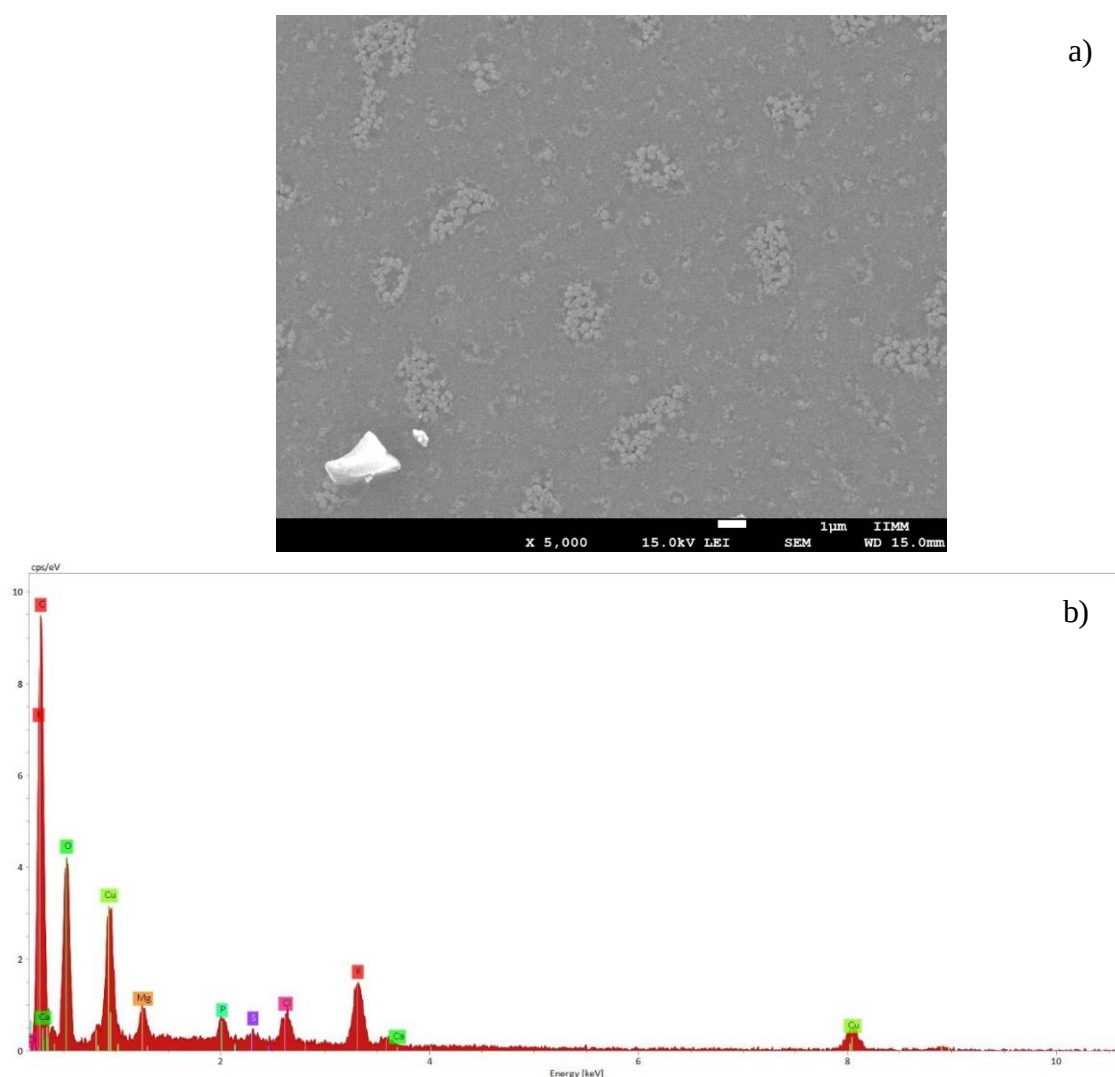
Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de suelo agrícola de Morelia.

Parámetro*	Valor
pH (1:2)	6.68
Conductividad Eléctrica:2 (H ₂ O) (ms/cm)	0.33
Densidad aparente (s/mL)	0.80
Materia Orgánica (%)	2.27
Textura	Franco
Densidad aparente del suelo (g/cm ³)	0.92
Nitrógeno total (%)	0.15
Nitrógeno Nítrico (ppm)	30.16
Potasio (ppm)	368
Fósforo (ppm)	4.65

*Parámetros Fisicoquímicos para suelos agrícolas de acuerdo con la NOM-021.RECNAT-2000.

En la Tabla 1, se muestran las propiedades físico-químicas del suelo; ahí se detectó un pH ligeramente ácido de 6.68 que condiciona la solubilidad de los PO₄⁻³, con un contenido de materia orgánica de 2.27% medio que indica un evidente desequilibrio en la relación C:N; con una textura franco en relación 40-40-20% (arena-limo-arcilla); una densidad aparente bajo. También se registró que en este suelo el N total fue bajo, mientras que en el N nítrico fue alto, igual que el K. Estos factores son limitantes para un sano crecimiento de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* (Sánchez-Yáñez, 2007; Contreras-Santos *et al.*, 2020).

Figura 2. A) Micrografía de microscopia electrónica de barrido y B) grafica del espectro de energía dispersa del ECNC de *Albizia* sp.



En la Figura 2a se muestra la micrografía SEM que proporciona la morfología y tamaño de las nanopartículas presentes en el extracto crudo sintetizado a partir de *Albizia* sp; ahí se registraron formas esféricas con tamaño variable, donde algunas tendían a estar dispersas mientras que otras formaban aglomerados. En tanto que en el análisis EDS se registraron algunos elementos químicos que pudiesen estar implicados en la formación de las nanopartículas (Figura 2b). El perfil elemental cuantitativo y cualitativo del ECNC registró un porcentaje atómico de carbono del 50.98%, siendo el elemento principal. También hubo presencia de oxígeno hasta un 30.41% atómico y algunas trazas de

magnesio, fósforo, cloro y potasio, confirmando la formación de nanopartículas de carbono (Abdelmoteleb *et al.*, 2017; Velazquez-Medina *et al.*, 2022).

Tabla 3. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación de *Phaseolus vulgaris* con NH_4NO_3 al 70% potenciado con extracto crudo de nanopartículas de carbono.

<i>Phaseolus vulgaris</i> *	Días de emergencia	Porcentaje de germinación (%)
Irigado con agua o control absoluto (CA)	2-8	52% ^{c**}
Alimentado con NH_4NO_3 al 100% o control relativo (CR)	2-7	69% ^b
<i>Azotobacter vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70% + 10 ppm de ECNC	2-7	66% ^{bc}
<i>Xanthobacter autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70% + 10 ppm de ECNC	2-7	66% ^{bc}
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70% + 10 ppm de ECNC	2-6	83% ^a
<i>Azotobacter vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70% + 20 ppm de ECNC	2-8	47% ^{cd}
<i>Xanthobacter autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70% + 20 ppm de ECNC	2-7	72% ^b
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70% + 20 ppm de ECNC	3-8	36% ^d

*n=6, **valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística ($P < 0.01$) según ANOVA/Tukey.

En la Tabla 3, se muestran el 69% de germinación de *P. vulgaris* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus*, alimentado con el NH_4NO_3 al 100% sin ECNC, o control relativo (CR) valore estadísticamente diferentes con los datos de *P. vulgaris* inoculado con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con el NH_4NO_3 al 70% potenciados con 10 ppm de ECNC, que registró un 83% de germinación, y con el 72% de germinación de *P. vulgaris* con *X. autotrophicus* y NH_4NO_3 al 70% plus 20 ppm de ECNC. Esto resultados indirectamente indican que la semilla de *P. vulgaris* al embeber agua reactivo la hidrólisis del almidón por la α -amilasa, con liberación de ácidos orgánicos, aminoácidos y algunos azúcares por degradación del endospermo, los cuales tanto *A. vinelandii* como *X. autotrophicus* utilizaron para crecer, simultáneamente sintetizar estos compuestos en fitohormonas que potenciadas con el

ECNC favorecieron un mayor porcentaje de germinación. Este hecho se confirma con lo mostrado en la Figura 3 donde la semilla de *P. vulgaris* con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con el NH_4NO_3 al 70% plus el ECNC al 7° día después de la siembra; alcanzó un mayor crecimiento de la raíz y tallo comparado con la semilla de *P. vulgaris* sin *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* solo con el NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC o CR que mostró una raíz menos densa.

Figura 3. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación de *Phaseolus vulgaris* con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono a los 7 días después de siembra.



CA= *P. vulgaris* sin *A. vinelandii* ni *X. autotrophicus* irrigado con agua; CR= *P. vulgaris* sin *A. vinelandii* ni *X. autotrophicus*, alimentado con NH_4NO_3 al 100% sin ECNC; T1= *P. vulgaris* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70% + 10 ppm de ECNC; T2= *P. vulgaris* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70% + 10 ppm de ECNC; T3= *P. vulgaris* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70% + 10 ppm de ECNC; T4= *P. vulgaris* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70% + 20 ppm de ECNC; T5= *P. vulgaris* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70% + 20 ppm de ECNC; T6= *P. vulgaris* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70% + 20 ppm de ECNC.

Tabla 4. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación de *Solanum lycopersicum* con NH_4NO_3 al 70% y potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono.

<i>Solanum lycopersicum</i> *	Días de emergencia	Porcentaje de germinación (%)
Irigado con agua o control absoluto (CA)	7	56.3% ^{d**}
Alimentado con NH_4NO_3 al 100% o control relativo (CR)	6	70.5% ^c
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	6	87.1% ^b
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	5	86.7% ^b
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	5	93% ^a
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	5	83.9% ^{bc}
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	6	86.4% ^b
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	5	85.3% ^b

*n=6, **valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística ($P<0.01$) según ANOVA/Tukey.

En la Tabla 4, se muestra el 70.5% de germinación de *S. lycopersicum* sin *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* alimentado con el NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC, o CR valor numérico con diferencia estadística en relación al *S. lycopersicum* con *A. vinelandii* y el NH_4NO_3 al 70% potenciado con 10 ppm de ECNC registró un 93% de germinación, además de 85.3% de germinación de *S. lycopersicum* con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* y NH_4NO_3 al 70% plus 20 ppm de ECNC. Esto sugiere que *S. lycopersicum* cuando fue inoculado con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 70%, plus 10 ppm de ECNC de acuerdo a la literatura, las semillas al embeber agua se reactivó la α -amilasa que cataliza la hidrólisis de aminoácidos y algunos azúcares derivados de la degradación del endospermo, mismos que *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* transformaron en fitohormonas que simultáneamente potenciadas por el ECNC acortaron los días de emergencia y favoreció un mayor porcentaje de germinación de *S. lycopersicum*, tal como se observa en la Figura 4 (Lira *et al.*, 2018; Vázquez *et al.*, 2020).

Figura 4. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación de *Solanum lycopersicum* con NH_4NO_3 al 70% y potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono a los 7 días después de siembra.



CA= *S. lycopersicum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* irrigado con agua; CR= *S. lycopersicum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus*, alimentado con NH_4NO_3 al 100% ni tratar con el ECNC; T1= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T2= *S. lycopersicum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70% + 10 ppm de ECNC; T3= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T4= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T5= *S. lycopersicum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T6= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC.

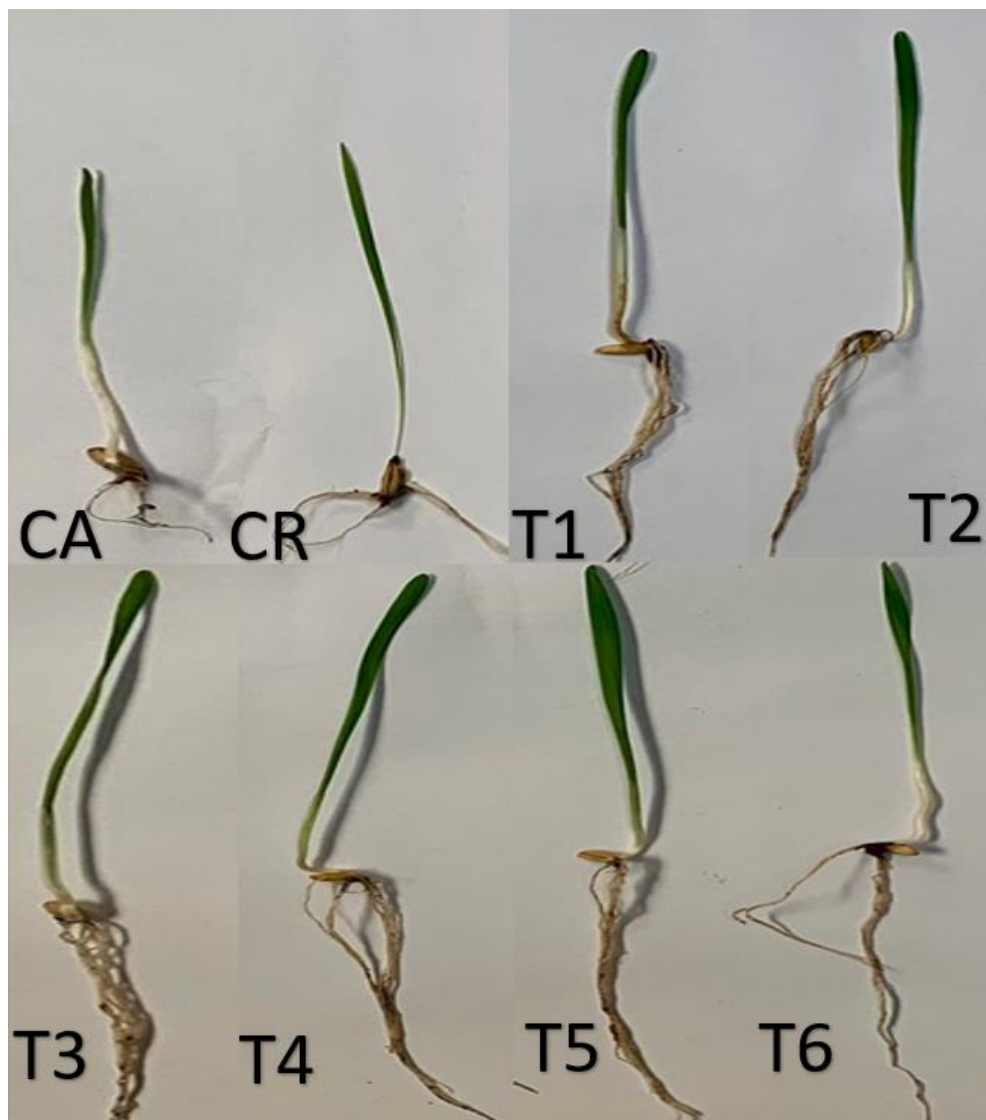
Tabla 5. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación de *Triticum aestivum* con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono.

<i>Triticum aestivum</i> *	Días de emergencia	Porcentaje de germinación (%)
Irigado con agua o control absoluto (CA)	5-6	86.1% ^{b**}
Alimentado con NH_4NO_3 al 100% o control relativo (CR)	5-6	80.5% ^b
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	5-8	77.7% ^c
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	4-6	86.1% ^b
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	4-6	83.3% ^b
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	4-6	97.2% ^a
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	5-6	86.1% ^b
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	4-6	91.6% ^a

*n=6, **valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística ($P<0.01$) según ANOVA/Tukey.

En la Tabla 5, se muestra el 80% de germinación de *T. aestivum* sin *A. vinelandii* y *X. autotrophicus*, alimentado con el NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC, o CR valores numérico con diferencia estadística comparados con *A. vinelandii* en *T. aestivum* y NH_4NO_3 al 70% potenciado con 20 ppm de ECNC que registró un 97.2% de germinación; y en *T. aestivum* coinoculado con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* y el NH_4NO_3 al 70% plus 20 ppm de ECNC que registró el 91.6% de germinación. Estos resultados son similares a los reportados por Velazquez-Medina *et al.*, 2022, quienes registraron un efecto benéfico en la germinación de semillas de *T. aestivum* inoculadas con *B. thuringiensis* y *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 50% potenciadas con 10 y 20 ppm de un ECNC. Lo anterior se confirma según la Figura 5; ahí se muestra el efecto benéfico de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* potenciado con un ECNC y el NH_4NO_3 al 70% en la germinación entre los 6 y 8 días después de la siembra.

Figura 5. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la germinación de *Triticum aestivum* con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono a los 6 días después de la siembra.



CA= *T. aestivum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* irrigado con agua; CR= *T. aestivum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus*, alimentado con NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC; T1= *T. aestivum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T2= *T. aestivum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T3= *T. aestivum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T4= *T. aestivum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T5= *T. aestivum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T6= *T. aestivum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC.

Tabla 6. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* a nivel de plántula con el NH_4NO_3 al 70% potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono.

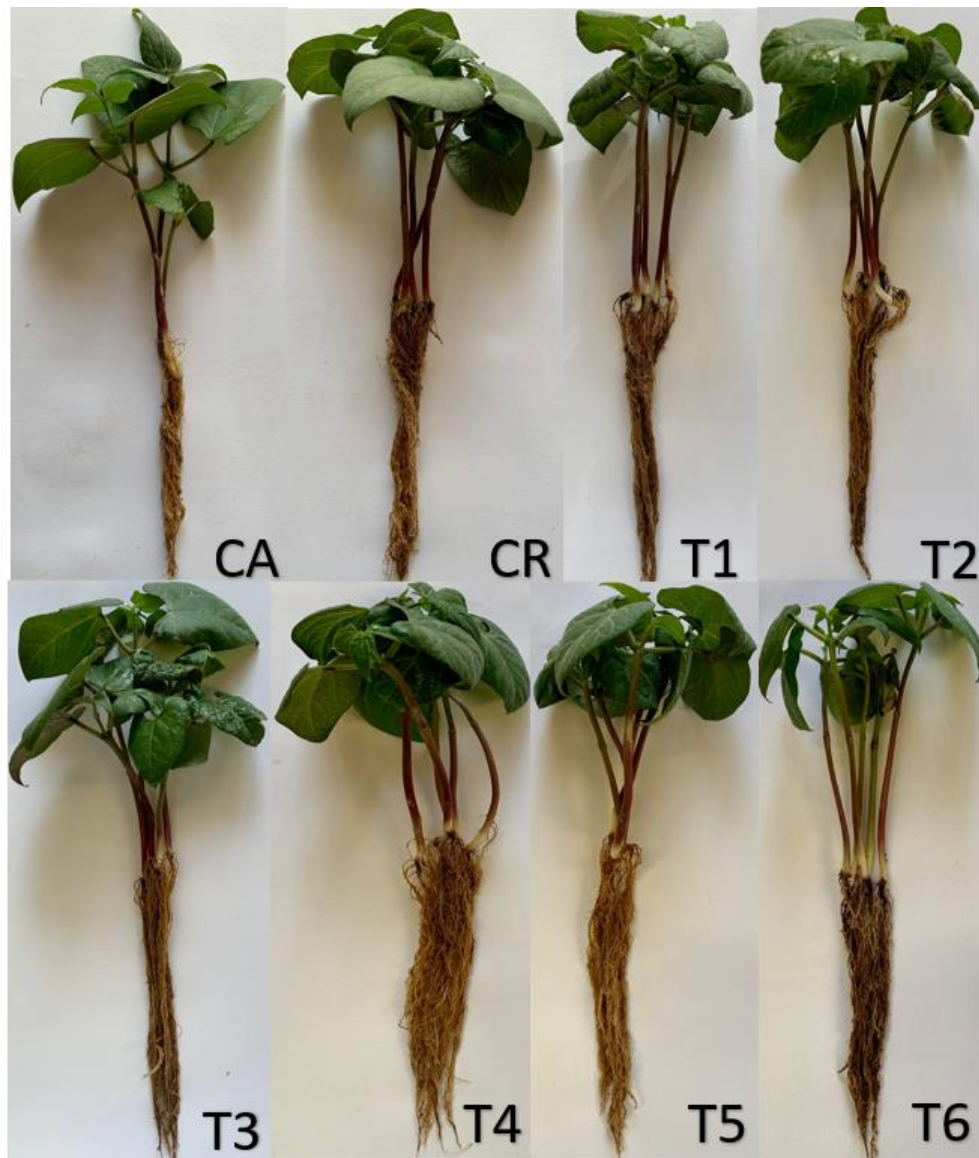
<i>Phaseolus vulgaris</i> *	Altura de planta (cm)	Longitud radical (cm)	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
			Radica	Aéreo	Radical	Aéreo
Irrigado con agua o control absoluto (CA)	39.5 ^{d**}	16.96 ^c	1.32 ^c	0.20 ^{cd}	0.17 ^c	0.03 ^{bc}
Alimentado con NH_4NO_3 al 100% o control relativo (CR)	51.33 ^b	18.5 ^b	1.55 ^b	0.25 ^c	0.21 ^{bc}	0.03 ^{bc}
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	56.75 ^a	21.66 ^a	2.60 ^a	0.74 ^a	0.40 ^a	0.11 ^a
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	50.86 ^b	18.03 ^b	2.24 ^{ab}	0.40 ^b	0.29 ^b	0.06 ^b
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	49.25 ^b	17.41 ^b	1.81 ^b	0.39 ^{bc}	0.23 ^{bc}	0.05 ^{bc}
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	52.31 ^b	16.81 ^{bc}	2.27 ^{ab}	0.54 ^b	0.28 ^b	0.08 ^{ab}
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	46.01 ^c	18.58 ^b	1.72 ^b	0.35 ^c	0.23 ^{bc}	0.06 ^b
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	43.48 ^c	18.66 ^b	1.96 ^b	0.45 ^b	0.29 ^b	0.08 ^{ab}

*n=6, **valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística ($P<0.01$) según ANOVA/Tukey.

En la Tabla 6, se presenta los valores de 51.33 cm de AP y los 18.5 de LR de *P. vulgaris* sin *A. vinelandii* y *X. autotrophicus*, alimentada solo con NH_4NO_3 al 100% sin tratar con ECNC o (CR), valores estadísticamente diferentes comparados con los de *P. vulgaris* inoculado con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* más NH_4NO_3 al 70% potenciado con 10 ppm de ECNC a plántula, donde registró 56.75 cm de AP y 21.66 cm de LR. En la biomasa fresca y seca los 1.55 g PFA, 0.25 g PFR, 0.21 g de PSA y 0.03 g de PSR de *P. vulgaris* sin *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con el NH_4NO_3 al 100% sin tratar con ECNC o CR. Estos valores fueron estadísticamente diferentes con *P. vulgaris* con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 70% y 10 ppm de ECNC registró 2.60 g PFA, 0.74 g PFR, 0.40 g de PSA y 0.11 g de PSR. Los datos numéricos registrados en la fenología y

biomasa de *P. vulgaris* a *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 70% y potenciado con 10 ppm de ECNC. Lo que apoya el hecho de que *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* crecieron en la rizosfera, luego invadieron el primordio de raíz de *P. vulgaris*; sitio donde evitaron la competencia externa con otros microorganismos del suelo por los compuestos orgánicos que luego *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* convirtieron en fitohormonas que potenciadas con el ECNC indujeron la proliferación de raíces secundarias para maximizar la absorción radical del NH_4NO_3 al 70%, sin causar un efecto negativo en el sano crecimiento de *P. vulgaris* (Lira *et al.*, 2018). Esto se confirma con lo observado en la Figura 6, donde la respuesta de *P. vulgaris* a *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con el NH_4NO_3 al 70% y potenciado con el ECNC a los 25 días después de la siembra se registró un aumento en el diámetro del tallo y la densidad de las raíces en comparación con *P. vulgaris* o CR, donde hubo un diámetro de tallo y densidad radical menor, con lo que se demuestra que NH_4NO_3 al 100% no fue absorbido al máximo.

Figura 6. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* a *Phaseolus vulgaris* con NH_4NO_3 al 70% y potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono en la fenología y biomasa a nivel de plántula.



CA= *P. vulgaris* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* irrigado con agua; CR= *P. vulgaris* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus*, alimentado con NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC alimentado; T1= *P. vulgaris* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T2= *P. vulgaris* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T3= *P. vulgaris* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T4= *P. vulgaris* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T5= *P. vulgaris* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T6= *P. vulgaris* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC.

Tabla 7. Respuesta de *Solanum lycopersicum* a plántula con *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* y el NH_4NO_3 al 70% potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono.

<i>Solanum lycopersicum</i> *	Altura de planta (cm)	Longitud radical (cm)	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
			Aéreo	Radical	Aéreo	Radical
Irrigado con agua o Control absoluto (CA)	15 ^{b**}	2.5 ^c	0.41 ^{cd}	0.12 ^d	0.02 ^c	0.02 ^c
Alimentado con NH_4NO_3 al 100% o Control relativo (CR)	15.7 ^b	5.2 ^b	0.53 ^c	0.16 ^c	0.04 ^b	0.04 ^{bc}
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	8.5 ^d	5 ^b	0.48 ^c	0.19 ^{ab}	0.06 ^{ab}	0.04 ^{bc}
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	7.5 ^d	5.75 ^a	0.56 ^c	0.21 ^a	0.05 ^b	0.09 ^a
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	11 ^{cd}	6.5 ^a	0.44 ^b	0.22 ^a	0.06 ^a	0.08 ^a
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	13.5 ^c	4.8 ^b	0.77 ^b	0.19 ^{ab}	0.06 ^a	0.05 ^b
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	17.5 ^a	6.5 ^a	0.86 ^{ab}	0.23 ^a	0.06 ^a	0.04 ^{bc}
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	15.5 ^b	5.5 ^{ab}	0.93 ^a	0.18 ^b	0.07 ^a	0.06 ^b

*n=6, **valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística ($P < 0.01$) según ANOVA/Tukey.

En la Tabla 7, se muestra a nivel de plántula la respuesta positiva de *S. lycopersicum* con *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 70% y potenciado con 20 ppm de ECNC ahí registró 17.5 cm de AP y 6.5 cm de LR. Lo anterior apoyan que *X. autotrophicus* al invadir el interior de las raíces evito la competencia externa con otros microorganismos autóctonos del suelo, luego convirtió compuestos de carbono derivados de la fotosíntesis en fitohormonas que potenciadas por el ECNC indujeron un sistema radical más denso para

maximizar la optimización del NH_4NO_3 al 70% (Ahmed *et al.*, 2021). Los valores numéricos antes descritos fueron estadísticamente diferentes comparados con los 15.7 cm de AP y los 6.7 cm de LR de *S. lycopersicum* sin *A. vinelandii* y *X. autotrophicus*, con el NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC o control relativo (CR). En la biomasa fresca y seca de *S. lycopersicum* con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 70% plus 20 ppm de ECNC registró 0.93 g de PFA, 0.18 g de PFR, 0.07 g de PSA y los 0.06 g de PSR, valores con diferencia estadística en relación con los 0.53 g de PFA, los 0.16 g de PFR, los 0.04 g de PSA y los 0.04 g de PSR de *T. aestivum* referido como CR. El sano crecimiento de *S. lycopersicum* a plántula, indican que *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* tuvieron la capacidad de colonizaron la endodermis del sistema radical; ahí convirtieron metabolitos de la fotosíntesis en fitohormonas, mismas que al ser potenciadas por el ECNC causaron la formación de pelos radicales para la máxima optimización de absorción del FN al NH_4NO_3 al 70%. Lo anterior se confirma con lo mostrado en la Figura 7, donde se observa el efecto positivo tanto de *A. vinelandii* como de *X. autotrophicus* cuando fueron potenciados con 20 ppm el ECNC y el NH_4NO_3 al 70% en la fenología de *P. vulgaris* a plántula.

Figura 7. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la fenología y biomasa de *Solanum lycopersicum* a nivel de plántula con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono.



CA= *S. lycopersicum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* irrigado con agua; CR= *S. lycopersicum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus*, alimentado con NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC alimentado; T1= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T2= *S. lycopersicum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T3= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T4= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T5= *S. lycopersicum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T6= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC.

[Tabla 8. Respuesta de *Triticum aestivum* a *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* a nivel de plántula con NH_4NO_3 al 70% y potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono.

<i>Triticum aestivum</i> *	Altura de planta (cm)	Longitud radical (cm)	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
			Aéreo	Radical	Aéreo	Radical
Irigado con agua o control absoluto (CA)	22 ^{b**}	12.75 ^c	0.29 ^b	0.14 ^c	0.04 ^b	0.02 ^b
Alimentado con NH_4NO_3 al 100% o control relativo (CR)	21.91 ^b	12.91 ^c	0.31 ^b	0.27 ^a	0.05 ^{ab}	0.03 ^{ab}
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	24.75 ^a	14.2 ^c	0.40 ^a	0.29 ^a	0.07 ^a	0.04 ^{ab}
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	21.08 ^b	16.6 ^{ab}	0.25 ^c	0.17 ^b	0.05 ^{ab}	0.03 ^{ab}
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	16.78 ^c	16.03 ^{ab}	0.19 ^d	0.14 ^c	0.04 ^b	0.03 ^{ab}
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	22.55 ^{ab}	17.03 ^a	0.24 ^c	0.17 ^b	0.04 ^b	0.04 ^{ab}
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	23.2 ^a	16.83 ^{ab}	0.32 ^b	0.29 ^a	0.06 ^a	0.07 ^a
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	20.41 ^b	17.16 ^a	0.24 ^c	0.19 ^b	0.04 ^b	0.03 ^{ab}

*n=6, **valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística ($P<0.01$) según ANOVA/Tukey.

En la tabla 8, se muestra a nivel de plántula la respuesta positiva de *T. aestivum* a *A. vinelandii* con NH_4NO_3 al 70% y potenciado con 10 ppm de ECNC que registró 24.75 cm de AP y 16.6 cm de LR, mientras que en *T. aestivum* con *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 70% plus 20 ppm de ECNC y registró 23.2 cm de AP y 16.83 cm de LR, lo que indican que los derivados de los metabolitos intermediarios de la fotosíntesis fueron

convertidos en fitohormonas que potenciadas con el ECNC indujeron la generación de un sistema radical denso para la absorción y optimización del NH_4NO_3 al 70%. Estos valores numéricos fueron estadísticamente diferentes comparados con los 21.91 cm de AP y los 12.91 cm de LR de *T. aestivum* sin *A. vinelandii* y *X. autotrophicus*, con el NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC o control relativo. En la biomasa fresca *T. aestivum* con *A. vinelandii* con NH_4NO_3 al 70% más 10 ppm de ECNC registró 0.40 g de PFA y 0.29 g de PFR, valores con diferencia estadística en relación con los 31 g de PFA y los 0.27 g de PFR de *T. aestivum* referido como CR. Respecto a la biomasa seca, *T. aestivum* cuando se inocula individual o en mezcla con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con el NH_4NO_3 al 70% y potenciado con el ECNC registró valores numéricos sin diferencia estadística en comparación con el CR. Estos resultados apoyan el hecho de que la biomasa fresca y seca de *T. aestivum* fueron dependientes de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* que al colonizar el interior del primordio de raíz; ahí transformaron compuestos orgánicos de la fotosíntesis en fitohormonas, que al ser potenciadas por el ECNC indujeron un sistema radical más denso y apto para absorber y optimizar al máximo el NH_4NO_3 al 70%, sin comprometer el sano crecimiento de *T. aestivum* (Kanitkar *et al.*, 2020). Lo anterior se confirma con lo mostrado en la Figura 8, donde se observa el efecto positivo de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* en la fenología de *P. vulgaris* con el NH_4NO_3 al 70% potenciado con el ECNC y en comparación con las del CR.

Figura 8. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la fenología y biomasa de *Triticum aestivum* a nivel de plántula con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono



CA= *T. aestivum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* irrigado con agua; CR= *T. aestivum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus*, con NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC alimentado con NH_4NO_3 al 100%; T1= *T. aestivum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T2= *T. aestivum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T3= *T. aestivum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T4= *T. aestivum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T5= *T. aestivum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T6= *T. aestivum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC.

Tabla 9. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la fenología y biomasa de *Phaseolus vulgaris* a floración con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un con extracto crudo de nanopartículas de carbono.

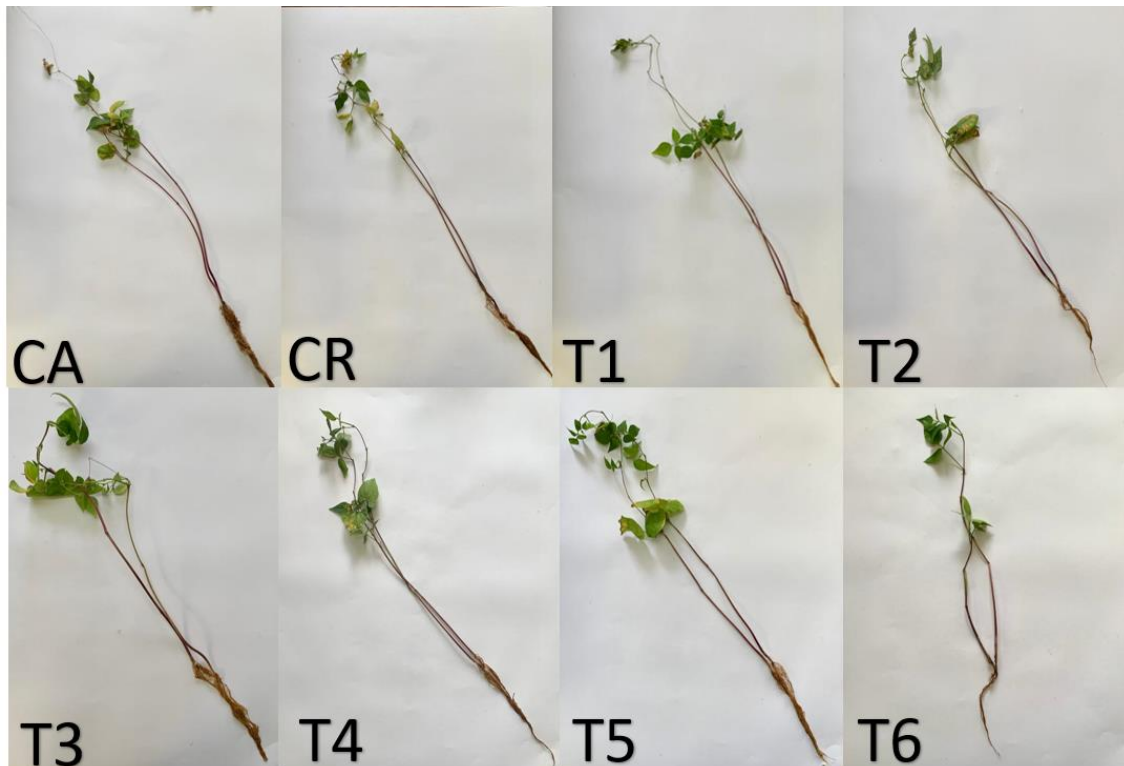
<i>Phaseolus vulgaris</i> *	Altura de planta (cm)	Longitud radical (cm)	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
			Aéreo	Radica	Aéreo	Radica
Irigado con agua o control absoluto (CA)	43.25 ^{c**}	18.5 ^d	1.36 ^c	0.1 ^d	0.22 ^d	0.04 ^c
Alimentado con NH_4NO_3 al 100% o control relativo (CR)	66.5 ^b	22.75 ^c	2.39 ^b	0.33 ^{cd}	0.41 ^{bc}	0.08 ^b
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	77.7 ^a	25.25 ^b	2.65 ^{ab}	0.33 ^{cd}	0.44 ^{bc}	0.08 ^b
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	79 ^a	18.5 ^a	3.11 ^a	0.91 ^b	0.50 ^a	0.13 ^b
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	66.5 ^b	27.6 ^{ab}	2.75 ^{ab}	0.26 ^{cd}	0.43 ^{bc}	0.11 ^b
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	75.25 ^{ab}	26.85 ^b	2.53 ^{ab}	0.28 ^{cd}	0.45 ^b	0.10 ^b
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	73.75 ^b	27.25 ^{ab}	3.15 ^a	0.52 ^c	0.46 ^b	0.10 ^b
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	75.25 ^{ab}	29.75 ^a	3.39 ^a	1.70 ^a	0.55 ^a	0.18 ^a

*n=6, **valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística ($P<0.01$) según ANOVA/Tukey.

En la Tabla 9, se muestra a nivel de floración el efecto positivo de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* en *P. vulgaris* con NH_4NO_3 al 70% y potenciado con 20 ppm de ECNC ahí se registraron: 75.25 cm de AP, 29.75 cm de LR; 3.39 g de PFA, 1.70 g de PFR, 0.55 g de PSA y 0.18 g de PSR. Estos datos numéricos apoya a que el efecto benéfico de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* fue potenciado por el ECNC, pues se mantuvo la conversión de metabolitos de la fotosíntesis en fitohormonas lo que causó un aumento de la altura de tallo y la proliferación de raíces secundarias de *P. vulgaris*, en consecuencia hubo mayor absorción del NH_4NO_3 al 70%, para un sano crecimiento (El-Batal *et al.*, 2016; Barajas-

González *et al.*, 2017; Abdel-Aziz *et al.*, 2022), este hecho se puede confirmar con base a la Figura 9. Los valores numéricos registrados en *P. vulgaris* con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 70% plus 20 ppm de ECNC fueron estadísticamente diferentes en comparación con los: 66.5 cm de AP, 22.75 cm de LR, 2.39 g de PFA, 0.33 g de PFR, 0.41 g de PSA y los 0.08 g de PSR de *P. vulgaris* sin *A. vinelandii* y/o *X. autotrophicus*, alimentado con el NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC o CR.

Figura 9. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la fenología y biomasa de *Phaseolus vulgaris* a floración con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un con extracto crudo de nanopartículas de carbono.



CA= *P. vulgaris* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* irrigado con agua; CR= *P. vulgaris* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus*, con NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC alimentado T1= *P. vulgaris* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T2= *P. vulgaris* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T3= *P. vulgaris* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T4= *P. vulgaris* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T5= *P. vulgaris* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T6= *P. vulgaris* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC.

Tabla 10. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la fenología y biomasa de *Solanum lycopersicum* a floración con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un con extracto crudo de nanopartículas de carbono

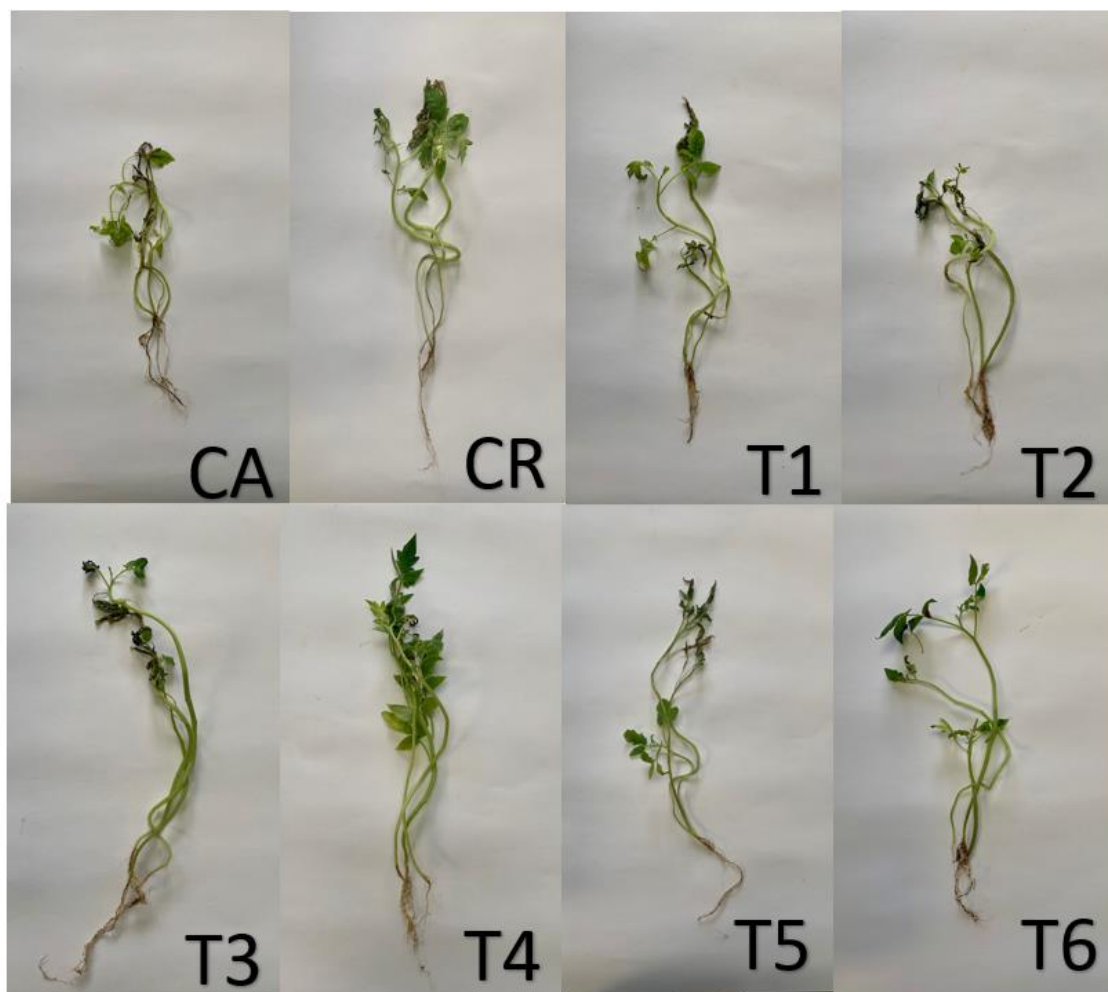
<i>Solanum lycopersicum</i> *	Altura de planta (cm)	Longitud radical (cm)	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
			Aéreo	Radica	Aéreo	Radica
Irigado con agua o control absoluto (CA)	21.5 ^{c**}	3.8 ^c	0.72 ^c	0.21 ^d	0.06 ^b	0.04 ^d
Alimentado con NH_4NO_3 al 100% o control relativo (CR)	23.7 ^b	6.2 ^b	0.85 ^b	0.29 ^c	0.08 ^b	0.08 ^d
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	28.5 ^a	7.8 ^a	0.82 ^b	0.35 ^a	0.012 ^a	0.08 ^d
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	27.5 ^a	8.7 ^a	0.87 ^b	0.3 ^b	0.012 ^a	0.014 ^c
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	22 ^b	7.5 ^a	0.75 ^{bc}	0.35 ^a	0.011 ^a	0.021 ^{ab}
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	23.8 ^b	6.9 ^b	0.81 ^b	0.29 ^c	0.012 ^a	0.024 ^a
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	26.1 ^a	7.8 ^a	1.33 ^a	0.33 ^a	0.014 ^a	0.021 ^{ab}
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	25.9 ^{ab}	7.7 ^a	1.4 ^a	0.32 ^{ab}	0.013 ^a	0.025 ^a

*n=6, **valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística ($P<0.01$) según ANOVA/Tukey.

En la Tabla 10, se muestra a nivel de floración el efecto positivo de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 70% y potenciado con 20 ppm de ECNC en *S. lycopersicum* donde registró 25.9 cm de AP y 7.7 cm de LR, lo que apoya, que compuestos orgánicos derivados de la fotosíntesis fueron convertidos en fitohormonas que potenciadas con el ECNC indujeron un sistema radical denso para la absorción y optimización del NH_4NO_3 al 70%. Estos valores numéricos fueron estadísticamente diferentes comparados con los 23 cm de AP y los 6.2 cm de LR de *S. lycopersicum* sin *A. vinelandii* y *X. autotrophicus*, alimentado con el NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC o control relativo. En función de la biomasa fresca y seca de *S. lycopersicum* con *A.*

vinelandii y *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 70% plus 20 ppm de ECNC registró 1.4 g de PFA, 0.32 g de PFR, 0.013 g de PSA y 0.025 g de PSA; en *S. lycopersicum* inoculada con *X. autotrophicus* con NH_4NO_3 al 70% potenciada con 20 ppm de ECNC registró 1.33 g de PFA, 0.33 g de PFR, 0.014 g de PSA y 0.021 g de PSA. Estos valores fueron estadísticamente diferentes en relación con los 0.85 g de PFA, 0.29 g de PFR, 0.08 g de PSA y 0.08 g de PSA de *S. lycopersicum* referido como CR. De acuerdo con la literatura y los datos registrados en la fenología y biomasa de *S. lycopersicum* cuando fue inoculado con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* plus el ECNC, indica que se mantuvo la conversión de metabolitos de la fotosíntesis en fitohormonas lo que mejoró la absorción y optimización del NH_4NO_3 al 70% (Khodakovskaya *et al.*, 2009), lo cual se puede confirmar con base a la Figura 10.

Figura 10. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* a la fenología y biomasa de *Solanum lycopersicum* a nivel de floración con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono.



CA= *S. lycopersicum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* irrigado con agua; CR= *S. lycopersicum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus*, con NH_4NO_3 al 100% sin tratar con el ECNC alimentado; T1= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T2= *S. lycopersicum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T3= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T4= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T5= *S. lycopersicum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T6= *S. lycopersicum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC.

Tabla 11. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en *Triticum aestivum* a floración con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un extracto crudo de nanopartículas de carbono.

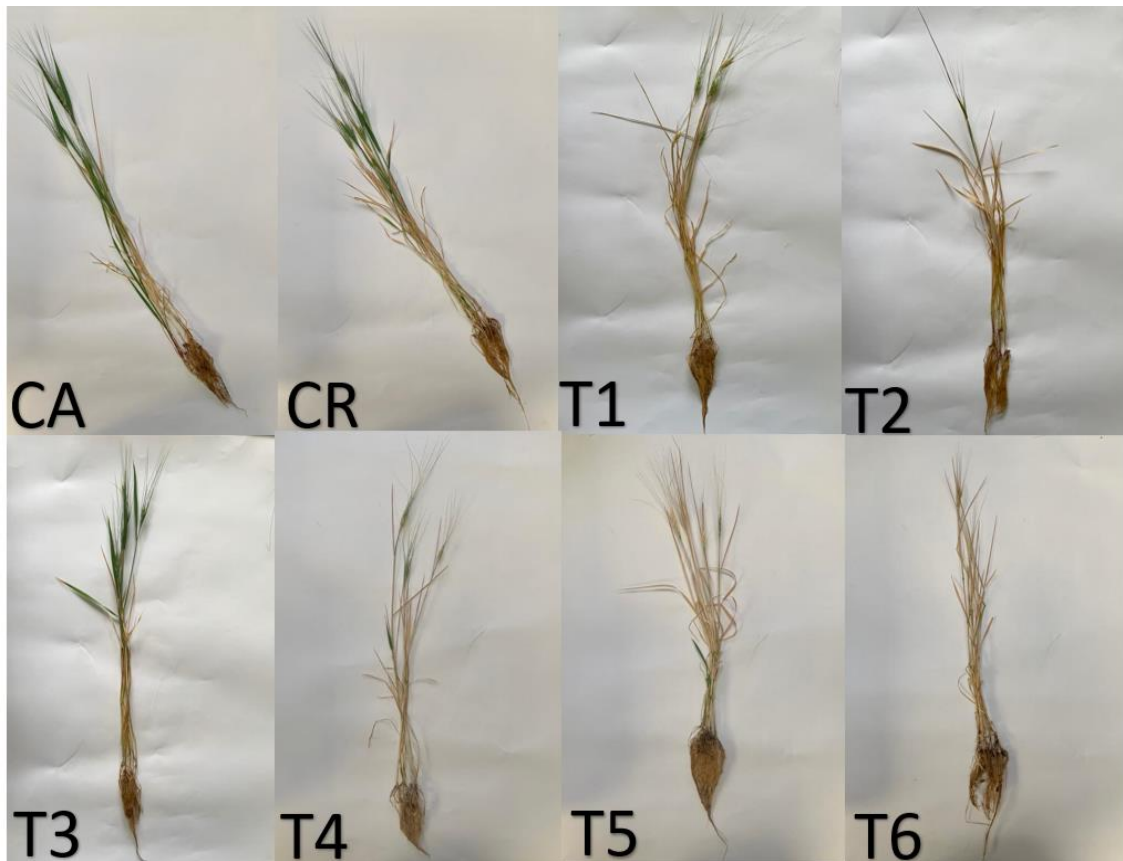
<i>Triticum aestivum</i> *	Altura de planta (cm)	Longitud radical (cm)	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
			Aéreo	Radica	Aéreo	Radical
Irrigado con agua o control absoluto (CA)	33.03 ^{d**}	13.5 ^c	0.33 ^d	0.18 ^c	0.11 ^c	0.06 ^c
Alimentado con NH_4NO_3 al 100% o control relativo (CR)	37.5 ^c	13.58 ^c	0.45 ^c	0.43 ^c	0.15 ^c	0.09 ^c
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	42.25 ^b	15.7 ^b	0.64 ^b	0.41 ^b	0.24 ^b	0.012 ^b
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	43.83 ^b	17.2 ^b	0.55 ^b	0.56 ^a	0.25 ^b	0.014 ^{ab}
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC	51.03 ^a	20.83 ^a	0.69 ^a	0.52 ^b	0.39 ^a	0.018 ^a
<i>A. vinelandii</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	38.8 ^{bc}	20.16 ^a	0.62 ^b	0.47 ^b	0.22 ^{bc}	0.017 ^a
<i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	41.91 ^b	19.08 ^a	0.54 ^b	0.55 ^a	0.24 ^a	0.017 ^a
<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC	39.5 ^b	19.31 ^a	0.56 ^b	0.57 ^a	0.26 ^b	0.015 ^{ab}

*n=6, **valores con letras distintas tuvieron diferencia estadística ($P<0.01$) según ANOVA/Tukey.

En la Tabla 11, se presenta a nivel de floración el efecto positivo de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* en *T. aestivum* con NH_4NO_3 al 70%, potenciado con 10 ppm de ECNC donde se registró 51.03 cm de AP y 20.83 cm de LR, valores con diferencia estadística con los 37.5 cm de AP y los 13.58 cm de LR de *T. aestivum* alimentado solo con el NH_4NO_3 al 100% o CR. En la biomasa, *T. aestivum* con *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* y NH_4NO_3 al 70% plus 10 ppm de ECNC registró 0.69 g de PFA, 0.52 g de PFR, 0.39 g de PSA y 0.018 g de PSR. Esto indica que tanto *A. vinelandii* como *X. autotrophicus* al ubicarse en el interior del sistema radical sintetizaron fitohormonas que simultáneamente

potenciadas por el ECNC, pudieron mejorar la capacidad radical de *T. aestivum* y así maximizar la optimización del NH_4NO_3 al 70%, sin poner en riesgo el sano crecimiento vegetal (Velázquez-Medina *et al.*, 2022). Los valores numéricos anteriores presentan diferencia estadística en relación con los 0.45 g de PFA, los 0.43 g de PFR, los 0.15 g de PSA y los 0.09 g de PSR de *T. aestivum* referido como CR. Lo anterior puede confirmarse con lo observado en la Figura 11.

Figura 11. Efecto de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* en la fenología de *Triticum aestivum* a nivel de floración con NH_4NO_3 al 70% potenciado con un con extracto crudo de nanopartículas de carbono.



CA= *T. aestivum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* irrigado con agua; CR= *T. aestivum* sin *A. vinelandii*/*X. autotrophicus*, con NH_4NO_3 al 100% ni tratar con el ECNC; T1= *T. aestivum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T2= *T. aestivum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70% + 10 ppm de ECNC; T3= *T. aestivum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 10 ppm de ECNC; T4= *T. aestivum* + *A. vinelandii* + NH_4NO_3 al 70% + 20 ppm de ECNC; T5= *T. aestivum* + *X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC; T6= *T. aestivum* + *A. vinelandii*/*X. autotrophicus* + NH_4NO_3 al 70%+ 20 ppm de ECNC.

Tabla 12. Antibiógrama de *Azotobacter vinelandii* y *Xanthobacter autotrophicus* recuperados de *Phaseolus vulgaris*, *Solanum lycopersicum* y *Triticum aestivum*.

Antibióticos	Cepa referencia		<i>A. vinelandii</i> y <i>X. autotrophicus</i> recuperadas de <i>Phaseolus vulgaris</i>, <i>Solanum lycopersicum</i> y <i>Triticum aestivum</i>		
	<i>Azotobacter vinelandii</i>	<i>Xanthobacter autotrophicus</i>	Hoja	Tallo	Raíz
Ampicilina (AM)	-	-	-	-	-
Cefotaxima (CF)	-	-	-	-	-
Ceftazidima (CTX)	-	-	-	-	-
Cefuroxima (CAZ)	-	-	-	-	-
Pefloxacina (CXM)	+	+	+	+	+
Tetraciclina (DC)	+	+	+	+	+
Trimetoprim-sulfametoxazol (E)	+	+	+	+	+
Cefalotina (GE)	-	-	-	-	-
Dicloxacina (PEF)	-	-	-	-	-
Eritromicina (PE)	-	-	-	-	-
Gentamicina (TE)	-	-	-	-	-
Penicilina (STX)	+	+	+	+	+

(+) = sensible; (-) = resistente.

En la Tabla 12, se muestra el antibiógrama de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* endófitas (cepas de referencia) para demostrar su efecto benéfico sobre la fenología y biomasa de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* a plántula y floración. Tanto *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* recuperadas de la raíz, tallo y hojas de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* según el método de Kirby y Bauer registraron sensibles al perfil antibiótico: CF, CTX, CAZ, GE, PEF, PE, TE y resistentes a CXM, DC, E y SXT, lo que apoya a *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* invadieron el xilema de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* para transformar metabolitos de la fotosíntesis en fitohormonas, que mejoraron la optimizaron del NH_4NO_3 al 70%, para un crecimiento saludable (Sánchez-Yañez,

2022). Este perfil de sensibilidad fue comparado y similar al obtenido por *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* antes y después de recuperarlo de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum*, mientras ninguno de los dos géneros y especies bacterianas se aisló de las mismas plantas, pero sin *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* usada como CR.

Conclusión

Estos resultados apoyan el hecho de que el ECNC potenció la actividad fitohormonal de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus* para un incremento sustancial del sistema radical necesario para la máxima optimización del NH_4NO_3 al 70%, sin afectar el sano crecimiento de vegetal.

Los resultados en la germinación, fenología y biomasa de *P. vulgaris*, *S. lycopersicum* y *T. aestivum* a plántula y floración apoyan el hecho de que el ECNC potenció la acción fitohormonal de *A. vinelandii* y *X. autotrophicus*, debido a que hubo un aumento en el porcentaje de germinación de las semillas, luego invadir el interior de las raíces; ahí convertir los compuestos orgánicos de la fotosíntesis en fitohormonas que potenciadas por el ECNC indujeron la proliferación de un sistema radical más denso para la absorción y optimización del NH_4NO_3 al 70%, sin riesgo de afectar el sano crecimiento vegetal, simultáneamente prevenir la pérdida de fertilidad el suelo.

Literatura citada

1. Abdelmoteleb, A., Valdez-Salas, B., Ceceña-Duran, C., Tzintzun-Camacho, O., Gutiérrez-Miceli, F., Grimaldo-Juarez, O., & González-Mendoza, D. 2017. Silver nanoparticles from *Prosopis glandulosa* and their potential application as biocontrol of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Bacillus cereus*. Chemical Speciation & Bioavailability, 29(1): 1-5.

2. Ahmed, B., Syed, A., Rizvi, A., Shahid, M., Bahkali, A. H., Khan, M. S., & Musarrat, J. (2021). Impact of metal-oxide nanoparticles on growth, physiology and yield of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) modulated by *Azotobacter salinestris* strain ASM. *Environmental Pollution*, 269(1): 116-218.
3. Isbell, F., Reich, P. B., Tilman, D., Hobbie, S. E., Polasky, S., & Binder, S. (2013). Nutrient enrichment, biodiversity loss, and consequent declines in ecosystem productivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(29); 11911-11916.
4. Gupta, S., Kaushal, R., & Sood, G. (2018). Impact of plant growth-promoting Rhizobacteria on vegetable crop production. *International Journal of Vegetable Science*, 24(3): 289-300.
5. Kobua, C. K., Jou, Y. T., & Wang, Y. M. (2021). Advantages of Amending Chemical Fertilizer with Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria under Alternate Wetting Drying Rice Cultivation. *Agriculture*, 11(7): 605.
6. Barajas-Vargas, A. Y., Márquez-Benavides, L., Hernández-Mendoza, J. L., & Sánchez-Yáñez, J. M. (2021). Crecimiento de *Triticum aestivum* con *Azotobacter vinelandii* y *Bacillus subtilis* endófitas de *Zea mays* var mexicana (teocintle) a dosis restringida de fertilizante nitrogenado. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 12(2): 87-95.
7. Chaudhary, P., Khati, P., Chaudhary, A., Gangola, S., Kumar, R., & Sharma, A. (2021). Bioinoculation using indigenous *Bacillus* spp. improves growth and yield of *Zea mays* under the influence of nanozeolite. *3 Biotech*, 11(1): 1-12.
8. Hatami, M. (2017). Toxicity assessment of multi-walled carbon nanotubes on *Cucurbita pepo* L. under well-watered and water-stressed conditions. *Ecotoxicology and environmental safety*, 142(1): 274-283.

9. Merinero, M., Alcudia, A., Begines, B., Martínez, G., Martín-Valero, M. J., Pérez-Romero, J. A., ... & Pajuelo, E. (2022). Assessing the Biofortification of Wheat Plants by Combining a Plant Growth-Promoting Rhizobacterium (PGPR) and Polymeric Fe-Nanoparticles: Allies or Enemies? *Agronomy*, 12(228): 1-19.
10. Sánchez-Yáñez J.M, Villegas J, Vela-Muzquiz G, Marquez-Benavides L. 2014. Respuesta del garbanzo (*Cicer arietinum*) a la inoculación con *Azotobacter vinelandii* y *Burkholderia cepacia* a dosis reducida de fertilizante nitrogenado. *Scientia Agropecuaria* 1(5): 115–120.
11. Kanitkar, S., Raut, VM, Kulkarni, M., Vyas, AK, Das, A. y Kadam, M. (2020). El uso de fitohormona (*Azotobacter chroococcum*) un biofertilizante líquido junto con fertilizante químico en el crecimiento y rendimiento de cultivos de trigo (*Triticum aestivum* L). *Revista Internacional de Investigación en Ciencias Aplicadas y Biotecnología* 7 (5): 80-88.
12. Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F., & Biris, A. S. (2009). Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS Nano*, 3(10): 3221-3227.
13. Wang, X., Han, H., Liu, X., Gu, X., Chen, K., & Lu, D. (2012). Multi-walled carbon nanotubes can enhance root elongation of wheat (*Triticum aestivum*) plants. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(6): 1-10.
14. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2000). Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. NOM-021-RECNA.
15. Sánchez-Yáñez J.M. (2007). Breve Tratado de Microbiología Agrícola, teoría y práctica, Ed. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad

- Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Corporativo de investigación sustentable, SA de CV, Centro de investigación y Desarrollo del Estado de Michoacán, SEDAGRO. Morelia, Michoacán, México. ISBN 978-970-95424-1-7.
16. Hernández-Escareño, J. J., Morales, P. G., Farías Rodríguez, R., & Sánchez-Yáñez, J. M. (2015). Inoculación de *Burkholderia cepacia* y *Gluconacetobacter diazotrophicus* sobre la fenología y biomasa de *Triticum aestivum* var. Nana F2007 a 50% de fertilizante nitrogenado. *Scientia Agropecuaria* 6(1): 7-16.
 17. García-González M. M., Farías-Rodríguez R. Peña-Cabriaes JJ & Sánchez-Yáñez JM. (2005). Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp y *Azotobacter beijerinckii*. *Terra Latinoamericana*. 23(1): 65-72.
 18. Singh, K., Verma, C., & Kumar, R. (2015). Comparative study of PGPR isolated from crop plants (mustard and maize) and wild medicinal plant (Lantana) and their potency for enhancement of wheat plant. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 6(1): 42-48.
 19. Pérez-Cordero, A, Tuberquia-Sierra A, & Amell-Jímenez, D. (2014). Actividad in vitro de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos. *Agronomía Mesoamericana* 25(2): 214-223.
 20. Plata-Guzmán, D., Ignacio-de la Cruz, J. L., CarrillosAmezcu, J. C., & Sánchez-Yáñez, J. M. (2020). Response of *Zea mays* var. Jala to *Burkholderia* sp. and *Klebsiella oxytoga* under reduced urea dose. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 12(2): 173-182.
 21. Váscónez, R. D. A., Moya, E. M. T., Jara, K. A. M., & Chiluisa-Utreras, V. P. (2020). Identificación molecular de cepas de *Bacillus* spp. y su uso como rizobacteria promotora del crecimiento en tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Scientia Agropecuaria*, 11(4); 575-581.

22. Lira Saldivar, R. H., Méndez Argüello, B., Vera Reyes, I., & De los Santos Villarreal, G. (2018). Agronanotecnología: una nueva herramienta para la agricultura moderna. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 50(2): 395-411.
23. Velázquez-Medina, A., Cruz, J. L. I. D., & Lopez, N. (2022). *Triticum aestivum* response to *Xanthobacter autotrophicus* and *Bacillus thuringiensis* optimized by crude extract carbon nano particles and 50% of NH_4NO_3 . *Horticulture International Journal* 6(1): 31-35.
24. Barajas-González, J. A., López-Díaz, S., Acevedo-Hernández, G. J., & Hernández, O. A. C. 2017. Acción concomitante de *Methylobacterium extorquens* en la fijación de nitrógeno uréico de aplicación foliar en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*). *Mexican Journal of Biotechnology* 2(2):1-10.
25. Abdel-Aziz, H. M., Hasaneen, M. N., & Helal, S. H. (2022). Effect of Multi-walled Carbon Nanotubes, Urea, and Peat Moss on Growth and Yield of Bean Plants Cultivated in Sandy Soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 1(15): 1173–1187.
26. El-Batal, AI, Gharib, FAEL, Ghazi, SM, Hegazi, AZ y Hafz, AGMAE 2016. Respuestas fisiológicas de dos variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) a la aplicación foliar de nanopartículas de plata. *Nanomateriales y Nanotecnología* 6 (13): 1-16
27. Studdert, G. A., Domingo, M. N., García, G. V., Monterubbianesi, M. G., & Domínguez, G. F. (2017). Carbono orgánico del suelo bajo sistemas de cultivo contrastantes y su relación con la capacidad de proveer nitrógeno. *Ciencia del suelo*, 35(2): 285-299.

28. Soto-Mora, E. S., Hernández-Vázquez, M., Luna-Zendejas, H. S., Ortiz-Ortiz, E., & García-Gallegos, E. (2016). Evaluación del contenido de materia orgánica en suelos agrícolas y su relación carbono/nitrógeno. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 3(5): 98-102.
29. Silva, A. R. E., Cobelas, M. Á., & González, E. M. (2017). Impactos del nitrógeno agrícola en los ecosistemas acuáticos. *Ecosistemas*, 26(1): 37-44.
30. Moreno Reséndez, A., Carda Mendoza, V., Reyes Carrillo, J. L., Vásquez Arroyo, J., & Cano Ríos, P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1): 68-83.
31. Castaño, A. M. P., Durango, D. P. M., Polanco-Echeverry, D., & Arias, J. A. C. (2021). Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): Una revisión sistemática 1990-2019. *Revista de Investigación Agraria y ambiental*, 12(2): 161-178.
32. Sánchez-Yañez, J. M. (2022). *Xanthobacter autotrophicus* an Endophytic Beneficial Bacterium for Wheat and Other Plants: A Short Review en Ansari, M. *Current Trends in Wheat Research*. (1-30) Intechopen.
33. Contreras-Santos, J. L., Martinez-Atencia, J., Cadena-Torres, J., Novoa-Yanez, R. S., & Tamara-Morelos, R. (2020). Una evaluación de las propiedades fisicoquímicas de suelo en sistema productivo de maíz-algodón y arroz en el

Valle del Sinú en Colombia. Revista Actualidad & Divulgación

Científica, 23(2): 1-10.

34. Arrieta, Y. R. H., Domínguez, J. T., & Palacio, D. D. 2019. Comportamiento morfológico del maíz inoculado con *Azotobacter chroococcum* a dosis reducida de fertilizante nitrogenado. Avances 21(2), 166-178.