



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO
BIOLOGICAS



**Evaluación de formulaciones líquidas y sólidas de bacterias promotoras
de crecimiento vegetal con fertilización reducida para su integración en el
manejo agronómico del maíz**

Tesis que presenta:

Javier Tinoco Salazar

Para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Biología Experimental

Director de tesis:

D.C. Josué Altamirano Hernández

Sinodales:

D.C. Alfonso Luna Cruz

D.C. Lourdes Iveth Macías Rodríguez

D.C. Homero Reyes de la Cruz

D.C. Mauro Manuel Martínez Pacheco

Morelia Michoacán, enero de 2026

Contenido	
Resumen.....	7
Abstract.....	8
1. Introducción	9
2. Antecedentes	10
2.1. Maíz (<i>Zea mays</i>)	10
2.2. Producción de maíz en México	10
2.2.1 Distribución y consumo de maíz en México	12
2.3. Variedades de maíz	13
2.3.1. Criollos	13
2.3.2. Híbridos	13
2.3.3 Importancia de las variedades	14
2.4. Ciclo vegetativo del maíz	15
2.5. Requerimiento nutricional del maíz	16
2.5.1. Uso de fertilizantes en México	17
2.6. Forma de siembra actual.....	18
2.7. Biofertilizantes a base de PGPR.....	19
2.7.1. PGPR nativos y no nativos	20
2.8. Aplicaciones de bioinoculantes	21
2.9. Mecanismos de promoción.....	23
2.9.1. Fijación biológica de nitrógeno	23
2.9.2. Solubilización de fosfatos.....	24
2.9.3. Solubilización de calcio.....	25
2.9.4. Producción de auxinas	25
2.10. Uso de PGPR en maíz	26
3. Justificación.....	30
4. Hipótesis.....	31
5. Objetivos	31
6. Materiales y métodos	32
6.1. Aislamiento de PGPR.....	32
6.2. Selección de PGPR.....	32
6.2.1. Pruebas cualitativas	32
6.2.2. Pruebas cuantitativas	35
6.3. Preparación del bioinoculante	37
6.3.1. Líquido	37

6.3.2. Sólido.....	37
6.4. Preparación de la semilla.....	37
6.5. Siembra de la semilla.....	38
6.5.1 Germinación y Vigor.....	38
6.5.2 Preparación del suelo	38
6.5.3 Etapa vegetativa 3 (V3).....	39
6.5.4 Etapa vegetativa 6 (V6).....	39
6.6. Fertilización química	39
6.7. Ensayos en campo	40
6.7.1. Condiciones de la parcela.....	41
6.7.2. Diseño de experimentos.....	41
6.7.3. Medición de parámetros	42
6.7.4. Permanencia de los microorganismos	43
6.8. Análisis estadístico	44
7. Discusión y resultados.....	46
7.1. Selección de bacterias.....	46
7.2. Efecto de las formulaciones sólidas y líquidas en la germinación y vigor de maíz criollo e híbrido.....	49
7.3. Efecto de las formulaciones sólidas y líquidas en la etapa vegetativa tres (V3) en maíz criollo e híbrido	53
7.4. Efecto de las formulaciones sólidas y líquidas en la etapa vegetativa seis (V6) en maíz criollo e híbrido.....	70
7.5. Efecto integral en el desarrollo del maíz.	85
7.6. Selección de bacterias para los ensayos en campo	94
7.7. Evaluación de los tratamientos en condiciones de campo.....	95
7.8. Efecto de los tratamientos en el rendimiento.....	96
7.9. Efecto de los tratamientos en la microdiversidad de la rizosfera de maíz (Zea mays) en condiciones de campo en Santiago Undameo	102
7.10. Aislados de los tratamientos en la de la rizosfera de maíz (Zea mays) en condiciones de campo en Santiago Undameo.....	104
7.11. Limitaciones y perspectivas futuras	106
8. Conclusiones	107
9. Referencias	108

Índice de tablas

Tabla 1 Producción y rendimiento del maíz en México. Primeros diez puestos ordenados respecto a la producción en 2023.	11
Tabla 2 Distribución de siembra, producción, consumo e importaciones del maíz blanco y amarillo en el 2023.	12
Tabla 3 Requerimientos nutricionales del maíz para conseguir 1 tonelada de grano.	16
Tabla 4 Medio libre de nitrógeno (NFb).....	33
Tabla 5 Medio pikovskaya modificado	34
Tabla 6 Medio NBRIP	34
Tabla 7 Caldo suelo	35
Tabla 8 Análisis físico químico de la mezcla de sustrato	39
Tabla 9 Fertilizaciones aplicadas a los tratamientos de invernadero (V6)	40
Tabla 10 Tratamientos para las pruebas en campo	42
Tabla 11 Resultados de las pruebas de fijación de nitrógeno (N) y de solubilización de fosfatos (P) y calcio (Ca).	46
Tabla 12 Resultados cuantitativos de las pruebas de fijación de nitrógeno, solubilización de fosforo y calcio	47
Tabla 13 Comparativa de los mejores resultados de los aislados de Nahuatzen contra los de Ocampo.....	47
Tabla 14 Bacterias seleccionadas para las pruebas en invernadero y su capacidad de promoción de crecimiento	48
Tabla 15 Relación de los tratamientos con los números para el PCA	60
Tabla 16 Relación de los tratamientos y los números para el PCA en maíz criollo en V6... ..	77
Tabla 17 Distribución de las diferencias significativas en las variables de maíz criollo aplicaciones sólidas	88
Tabla 18 Distribución de las diferencias significativas en las variables de maíz criollo aplicaciones líquidas.....	89
Tabla 19 Distribución de las diferencias significativas en las variables de maíz híbrido aplicaciones sólidas	92
Tabla 20 Distribución de las diferencias significativas en las variables de maíz híbrido aplicaciones líquidas.....	92
Tabla 21 Selección de bacterias para las pruebas en Santiago Undameo.....	95
Tabla 22 Efecto de las bacterias en aplicación sólida sobre parámetros de crecimiento (R12) en plantas de maíz híbrido en Santiago Undameo.....	96
Tabla 23 Efecto de las bacterias en aplicación sólida sobre parámetros de rendimiento en maíz híbrido en Santiago Undameo	97
Tabla 24 Distribución de las diferencias significativas en las variables de maíz híbrido aplicaciones sólidas en todas las etapas evaluadas	101
Tabla 25 Comunidad bacteriana en la rizosfera de los aislados de maíz.....	104
Tabla 26 Identificación bioquímica y antibiograma de aislados de la rizosfera de maíz en Santiago Undameo.....	105

Índice de figuras

Figura 1 Superficie sembrada de todas las variedades de maíz en México en el periodo 1970-2020.....	12
Figura 2 Etapas fenológicas del maíz.....	15
Figura 3 Tendencia del uso de fertilizantes en México para el cultivo de maíz.....	17
Figura 4 Vista satelital del terreno en Santiago Undameo.....	41
Figura 5 Representación de los tratamientos en la parcela de Santiago Undameo	42
Figura 6 Efectos de las diferentes bacterias y aplicaciones en la germinación del maíz criollo.....	49
Figura 7 Efectos de las diferentes bacterias y aplicaciones en el vigor del maíz criollo.	50
Figura 8 Efectos de las diferentes bacterias y aplicaciones en la germinación del maíz híbrido.....	51
Figura 9 Efecto de las bacterias y las aplicaciones en el vigor del maíz híbrido.	52
Figura 10 Efecto de las bacterias y aplicaciones en la longitud de la raíz de maíz criollo en V3.	55
Figura 11 Efecto de las bacterias y las aplicaciones en la longitud de la parte área de maíz criollo en V3	56
Figura 12 Efecto de las bacterias y las aplicaciones en el peso seco de maíz criollo en V3	57
Figura 13 Análisis de componentes principales realizado con los valores de LR, LA y PS en maíz criollo en V3	60
Figura 14 Efecto de las bacterias y las aplicaciones en la longitud de la raíz en el maíz híbrido en V3.....	62
Figura 15 Efecto de las bacterias y los tratamientos en la longitud de la parte área de maíz híbrido en V3	64
Figura 16 Efecto de las bacterias y los tratamientos en el peso seco de maíz híbrido en V3	65
Figura 17 Análisis de componentes principales realizado con los valores de LR, LA y PS en maíz híbrido en V3.	68
Figura 18 Efecto de las bacterias y las aplicaciones en la longitud de la raíz de maíz criollo en V6.....	71
Figura 19 Efecto de las bacterias y aplicaciones en la longitud de la parte área de maíz criollo en V6.	73
Figura 20 Efecto de las bacterias y aplicaciones en el peso seco de maíz criollo en V6.	74
Figura 21 Análisis de componentes principales realizado con los valores de LR, LA y PS en maíz criollo en V6	76
Figura 22 Efecto de las bacterias y aplicaciones en la longitud de la raíz de maíz híbrido en V6	79
Figura 23 Efecto de las bacterias y aplicaciones en la longitud de la parte área en maíz híbrido en V6.....	80
Figura 24 Efecto de las bacterias y aplicaciones en el peso seco de maíz híbrido en V6. ...	82
Figura 25 Análisis de componentes principales realizado con los valores de LR, LA y PS en maíz híbrido en V6	83

Figura 26 Análisis de componentes principales de todas las variables para maíz criollo. Factor 1 y 2	86
Figura 27 Análisis de componentes principales de todas las variables para maíz criollo. Factor 1 y 3	86
Figura 28 Análisis de componentes principales realizado con todas las variables para maíz criollo. Factor 1 y 2	87
Figura 29 Análisis de componentes principales realizado con todas las variables para maíz criollo. Factor 1 y 3	88
Figura 30 Análisis de componentes principales de todas las variables para maíz híbrido. Factor 1 y 2	90
Figura 31 Análisis de componentes principales de todas las variables para maíz híbrido. Factor 1 y 3	90
Figura 32 Análisis de componentes principales realizado con todas las variables para maíz híbrido. Factor 1 y 2	91
Figura 33 Análisis de componentes principales realizado con todas las variables para maíz híbrido. Factor 1 y 3	91
Figura 34 Análisis de componentes principales realizado con las variables PR, LA, PS, NM, G/M, G/O y REN en maíz híbrido en Santiago Undameo	98
Figura 35 Análisis de componentes principales de todas las variables (VE, V3, V6 y R12) para maíz híbrido. Factor 1 y 2	99
Figura 36 Análisis de componentes principales de todas las variables (VE, V3, V6 y R12) para maíz híbrido. Factor 1 y 3	100
Figura 37 Aislados representativos de la microdiversidad de los diferentes tratamientos en Santiago Undameo.....	102

Resumen

Esta investigación exploró el potencial de bioinoculantes sólidos con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) para optimizar el desarrollo del maíz criollo e híbrido bajo condiciones de fertilización química reducida. El estudio comparó formulaciones líquidas y sólidas a lo largo de distintas etapas vegetativas, desde laboratorio hasta condiciones reales de campo, con el objetivo de identificar alternativas sostenibles para la agricultura y una integración favorable en los sistemas agrarios actuales.

Las bacterias utilizadas fueron aisladas de suelos rizosféricos de Michoacán, seleccionadas por su capacidad para fijar nitrógeno y solubilizar fosfatos y calcio. Tras preparar formulaciones líquidas y sólidas, se evaluaron parámetros clave: germinación (etapa VE), crecimiento en la etapa vegetativa 3 (V3) y la etapa vegetativa 6 (V6) (longitud de raíz, biomasa aérea y peso seco), y finalmente el rendimiento en campo. Las parcelas experimentales recibieron solo el 50% de la fertilización química convencional, contrastando con controles de fertilización completa (100%) y fertilización reducida sin inoculación.

Los resultados revelaron que las formulaciones sólidas superaron consistentemente a las líquidas. Destacó el tratamiento con *Azotobacter* sp. BKY (BKY) en formato sólido, que aumentó el peso seco en un 28.79% y la longitud radicular en 21.8% respecto al control con fertilización completa. En campo, el bioinoculante sólido con *Azotobacter* sp. BKY alcanzó un rendimiento de 12.20 ton/ha, superando en un 33% al control regional (9.25 ton/ha) utilizando apenas la mitad de los fertilizantes químicos.

El análisis de la microbiota del suelo mostró que las formulaciones sólidas preservaron mejor la diversidad microbiana, aunque cepas como BKY exhibieron mayor dominancia. Los microorganismos inoculados persistieron en la rizosfera hasta la cosecha, con poblaciones entre 1.0×10^5 y 7.8×10^7 UFC/mL, confirmando su estabilidad y adaptación.

Estos hallazgos demuestran que los bioinoculantes sólidos pueden reducir hasta el 50% el uso de fertilizantes sintéticos en el cultivo de maíz sin comprometer los rendimientos, e incluso mejorándolos en algunos casos. El estudio subraya la necesidad de seleccionar cepas específicas según la variedad de maíz y el contexto edafoclimático, ofreciendo un marco científico para prácticas agrícolas más eficientes y sostenibles en México.

Palabras claves: Bioinoculante. Agricultura. PGPR. Sostenible. Maíz. Aplicación sólida

Abstract

This research explored the potential of solid bioinoculants containing plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to optimize the development of both landrace and hybrid maize under reduced chemical fertilization. The study compared liquid and solid formulations across different vegetative stages, from laboratory to actual field conditions, with the aim of identifying sustainable alternatives for agriculture and their favorable integration into current farming systems.

The bacteria used were isolated from rhizospheric soils in Michoacán and selected for their ability to fix nitrogen and solubilize phosphates and calcium. After preparing liquid and solid formulations, key parameters were evaluated: germination (VE stage), growth at vegetative stage 3 (V3) and vegetative stage 6 (V6) (root length, shoot biomass, and dry weight), and finally, field yield. The experimental plots received only 50% of the conventional chemical fertilization, contrasting with controls of full fertilization (100%) and reduced fertilization without inoculation.

The results revealed that the solid formulations consistently outperformed the liquid ones. The solid treatment with *Azotobacter* sp. BKY (BKY) was particularly notable, increasing dry weight by 28.79% and root length by 21.8% compared to the fully fertilized control. In the field, the solid bioinoculant with *Azotobacter* sp. BKY achieved a yield of 12.20 ton/ha, surpassing the regional control (9.25 ton/ha) by 33% while using only half the amount of chemical fertilizers.

Soil microbiota analysis showed that solid formulations better preserved microbial diversity, although strains like BKY exhibited greater dominance. The inoculated microorganisms persisted in the rhizosphere until harvest, with populations between 1.0×10^5 and 7.8×10^7 CFU/mL, confirming their stability and adaptation.

These findings demonstrate that solid bioinoculants can reduce the use of synthetic fertilizers in maize cultivation by up to 50% without compromising yields, and even improving them in some cases. The study underscores the need to select specific strains according to the maize variety and the edaphoclimatic context, offering a scientific framework for more efficient and sustainable agricultural practices in Mexico.

Keywords: Bioinoculant. Agriculture. PGPR. Sustainable. Maize. Solid

1. Introducción

El maíz (*Zea mays* L.) es un cultivo fundamental para la seguridad alimentaria, la economía y la cultura de México. Sin embargo, en los últimos años, el país enfrenta una creciente brecha entre producción y demanda: en 2023, se produjeron 3.55 millones de toneladas de maíz amarillo, pero el consumo nacional alcanzó 14.84 millones de toneladas, lo que obligó a importar 12.75 millones de toneladas (SIAP 2024). Esta dependencia externa no solo representa un riesgo para la soberanía alimentaria, sino que también refleja las limitaciones de un sistema agrícola donde 75.9% del maíz se siembra en condiciones de temporal, con baja tecnificación y rendimientos insuficientes (FIRA, 2023).

Ante este escenario, es urgente implementar estrategias que aumenten la productividad sin expandir la frontera agrícola, especialmente en un contexto de suelos degradados, cambio climático y reducción de áreas cultivables. Una alternativa prometedora es el uso de bioinoculantes con microorganismos nativos promotores del crecimiento vegetal (PGPR), los cuales pueden mejorar la absorción de nutrientes, reducir el uso de fertilizantes químicos y aumentar los rendimientos en condiciones adversas. Sin embargo, su efectividad depende de factores como la formulación (sólida o líquida), la adaptación a las variedades de maíz (criollo vs. híbrido) y su interacción con los ecosistemas que representan los suelos mexicanos.

Este trabajo evalúa el potencial de un bioinoculante sólido con PGPR nativos para mejorar el crecimiento y rendimiento del maíz bajo condiciones de fertilización reducida, comparando su eficacia con formulaciones líquidas y analizando su impacto en la microbiota del suelo. Los resultados buscan aportar soluciones científicas aplicables que contribuyan a cerrar la brecha productiva, reducir costos para los agricultores y promover una agricultura más sostenible y resiliente.

Con esta investigación, se espera no solo validar una alternativa técnica viable, sino también sentar bases para políticas públicas que impulsen la transición hacia sistemas agroalimentarios menos dependientes de insumos externos y más adaptados a las realidades del campo mexicano.

2. Antecedentes

2.1. Maíz (*Zea mays*)

En México, el maíz no es solo un cultivo, sino, una parte fundamental de la identidad nacional, al punto de que su gente ha sido calificada como "gente del maíz" o "hijos del maíz". Originario del centro de México, el maíz, surgió hace aproximadamente 7,000 años a partir de una hierba silvestre llamada teocintle. La evidencia apunta a que su primera domesticación fue en Tehuacán, Puebla, permitiendo a los grupos nómadas volverse sedentarios y convirtiéndose en el sustento principal de las civilizaciones mesoamericanas (SADER 2021).

Desde su domesticación, por los pueblos nativos, se convirtió en una fuente de alimento esencial, con su influencia extendiéndose a nivel global. Hoy en día, el maíz juega un papel cada vez más importante y diverso en los sistemas agroalimentarios mundiales. En las últimas décadas, la producción global de maíz ha experimentado un notable incremento, impulsado por la creciente demanda, los avances tecnológicos, el aumento en el rendimiento de las cosechas y la expansión de las áreas de cultivo (Ranum *et al.*, 2014).

Actualmente, el maíz es el cereal líder en términos de volumen de producción y está destinado a convertirse en el cultivo más ampliamente cultivado y comercializado en el próximo decenio. Este cultivo versátil y multipropósito se utiliza principalmente como alimento para animales a nivel global, pero también es de gran importancia como alimento básico en regiones como el África subsahariana y América Latina. Además de su uso alimentario, el maíz tiene múltiples aplicaciones industriales, lo que refuerza aún más su relevancia en los sistemas agroalimentarios globales (Erenstein *et al.*, 2022).

Dada su importancia, es crucial continuar invirtiendo en investigación y desarrollo para fortalecer los roles del maíz en la seguridad alimentaria y de subsistencia, para intensificar de manera sostenible su producción.

2.2. Producción de maíz en México

México fue el sexto productor de maíz a nivel mundial en el año 2022 (FAO, 2024), reflejando una notable capacidad agrícola que varía considerablemente entre sus regiones. Dentro del país, como se observa en la Tabla 1, se destaca Jalisco como el principal estado productor, por su parte Aguascalientes, aunque no es el mayor productor en términos absolutos, se sitúa como líder en rendimiento por hectárea, superando la media nacional de 4.4 toneladas por hectárea. En contraste, Michoacán, que ocupa el séptimo lugar en producción nacional, se encuentra por debajo de esta media debido a su bajo nivel de tecnificación y a la persistencia en el uso de maíz criollo, una variedad tradicional de mejor calidad nutricional pero menos productiva (SIAP, 2024).

Tabla 1 Producción y rendimiento del maíz en México. Primeros diez puestos ordenados respecto a la producción en 2023.

Posición	Entidad federativa	Producción (Millones de T)	Rendimiento (T/Ha)
1	Jalisco	7.6	10.0
2	Sinaloa	5.1	10.0
3	México	3.0	5.7
4	Durango	2.2	11.0
5	Chihuahua	2.1	8.6
6	Guanajuato	1.8	5.1
7	Michoacán	1.8	4.0
8	Aguascalientes	1.3	18.1
9	Chiapas	1.3	1.9
10	Guerrero	1.3	2.8
Promedio Nacional		4.3	4.4

Tomado y modificado de SIAP, 2024

Este contraste regional se enmarca en una tendencia nacional en la que, a pesar de la disminución de la superficie sembrada de maíz desde 1980 hasta 2023, la producción total ha aumentado (SIAP, 2024). Este incremento se debe a la tecnificación agrícola, la adopción de variedades híbridas más productivas y un aumento sostenido en el uso de fertilizantes (FAO, 2023), factores que han permitido compensar la reducción en la superficie cultivada y mejorar la eficiencia productiva a lo largo de las décadas.

Sin embargo, estas soluciones conllevan consecuencias. La adopción de variedades híbridas, si bien incrementa la producción, reduce el interés y el uso de las variedades regionales o criollas. Estas últimas, aunque de menor rendimiento, ofrecen ventajas nutricionales y de salud: poseen un equilibrio de fibras, minerales, proteínas y grasas benéficas, además de pigmentos antioxidantes (en maíces azules, rojos y amarillos) con propiedades quimioprotectoras. Las tortillas hechas con maíz nativo, por ejemplo, tienen un índice glucémico bajo —ideales para personas con diabetes— y carecen de residuos de plaguicidas o aflatoxinas cancerígenas. mientras el maíz híbrido presenta un mayor contenido de carbohidratos, el criollo destaca por su aporte proteico. En contraste, el maíz híbrido y transgénico presenta una mayor proporción de carbohidratos (almidón) y menor contenido de nutrientes clave (Colín-Chávez, *et al.*, 2020; CONAHCYT 2023).

2.2.1 Distribución y consumo de maíz en México

En el 2023 en México se produjo 3.55 millones de toneladas de maíz amarillo, sin embargo, su consumo fue de 14.84 millones de toneladas, por lo cual, en ese año se tuvo que importar 12.75 millones de toneladas de estados unidos (SIAP 2024). Dicho comportamiento (Tabla 2) muestra una fuerte necesidad de aumentar la producción de maíz en México, ya que nos encontramos en una deficiencia alimentaria. El Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) estima que en el 2030 México mantendrá su producción y consumo de maíz blanco estable, sin embargo, el maíz amarillo, necesitará de 18 millones de toneladas para satisfacer su consumo, lo cual representa el 40% de la necesidad actual.

Tabla 2 Distribución de siembra, producción, consumo e importaciones del maíz blanco y amarillo en el 2023.

	Distribución (%)	Producción (MMt)	Consumo (MMt)	Importaciones (MMt)
Blanco	82.9	24.56	23.67	1.066
Amarillo	10.3	3.55	14.84	12.95

MMt: Millones de toneladas

Actualmente, en México, la modalidad de temporal es predominante en la siembra de maíz. De acuerdo con datos del FIRA (2023), este sistema representó el 75.9% de la superficie cultivada, caracterizándose por su baja tecnificación. Esta situación evidencia un amplio margen de mejora, especialmente ante la tendencia a la baja en la superficie sembrada de maíz. Como se observa en la Figura 1, desde 1970 el área destinada a este cultivo ha registrado un decrecimiento constante (SIAP 2023).

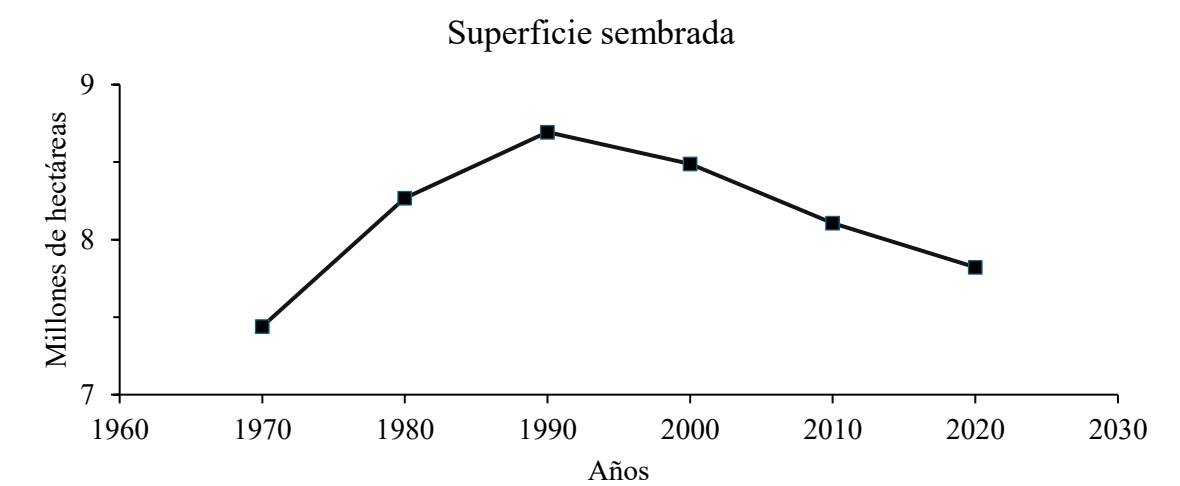


Figura 1 Superficie sembrada de todas las variedades de maíz en México en el periodo 1970-2020.

2.3. Variedades de maíz

Existen diversas formas de clasificar al maíz, desde taxonómicas diversificando en las distintas razas (Carrera-Valtierra, *et al.*, 2011) hasta concepciones referentes a la comercialización como el maíz blanco y amarillo (SAGARPA, 2017), sin embargo, este trabajo se concentrará en la clasificación respecto a su origen; criollos e híbridos.

2.3.1. Criollos

El maíz criollo o nativo se define como una variedad de maíz seleccionada de manera tradicional, es cultivado mediante prácticas cotidianas en un entorno local. Al finalizar cada ciclo agrícola, se lleva a cabo una selección cuidadosa de las semillas, considerando aspectos como el tamaño, la coloración, la resistencia a plagas y enfermedades, así como el vigor de las plantas (Huchin-Poot, *et al.*, 2007). Este proceso de selección, realizado por los campesinos, ha dado lugar a una amplia diversidad genética en los maíces criollos.

Esta diversidad genética se mantiene principalmente gracias al papel fundamental del maíz en la alimentación básica de las comunidades rurales e indígenas, quienes, a su vez, actúan como promotores naturales de la conservación y generación de la biodiversidad *in situ*.

2.3.2. Híbridos

El maíz híbrido es el producto de la cruce controlada entre dos o más variedades diferentes de maíz, con el objetivo de combinar características de las líneas parentales, normalmente, mayor producción, resistencia o calidad (Nafziger, 2016).

El proceso para producir un maíz híbrido comienza con el desarrollo de líneas parentales, con las características específicas, como rendimiento, resistencia o adaptabilidad. Se autofecundan hasta obtener líneas homocigotas. Estas líneas obtenidas se denominan líneas puras o “padres” de estas, se selecciona cual será el padre y la madre respecto a sus características. De esta forma, el “padre” polinizara a la “madre”. Para evitar que la madre se autopolinice, se cortan sus espigas masculinas y se cubre la flor femenina con el objetivo de que solo el polen del padre sea el que fecunde. Las mazorcas obtenidas por la madre son semillas híbridas, pero aún no son la línea final, pues se debe de continuar con el cruce por al menos tres generaciones más con el objetivo de homogenizar las características deseadas (Poehlman, 2003 y Flores, 2001).

Por su parte el reglamento para la calificación de semillas maíz (*Zea mays*) (SNICS, 2021) Clasifica al maíz híbrido en tres tipos:

Híbrido simple: Primera generación resultante del cruzamiento entre dos líneas parentales.

Híbrido doble: Resultante del cruzamiento de dos híbridos simples.

Híbrido trilineal: Siendo el resultado del cruzamiento de un híbrido simple con una línea parental pura.

2.3.3 Importancia de las variedades

Afirmar que una variedad de maíz es superior a otra constituiría un enfoque simplista, dado que la coexistencia del maíz híbrido y el criollo responde a necesidades y contextos distintos. La problemática real surge cuando se ignoran las capacidades particulares de cada tipo y se proclama la superioridad de una sobre la otra, no solo en el discurso, sino también en la distribución a nivel nacional. Aunque no existe un organismo que precise con detalle la producción desagregada entre híbrido y criollo, la investigadora Gladys Iliana Cassab López (Cassab, *et al.*, 2023) señala que, en términos de superficie, el maíz criollo ocupa aproximadamente el 70%, frente a un 30% correspondiente al híbrido. No obstante, este último porcentaje se concentra en los agricultores de mayor escala.

Por otra parte, al maíz híbrido se le atribuye un mayor rendimiento por hectárea (Tadeo-Robledo *et al.*, 2015). Sin embargo, este indicador no depende exclusivamente del tipo de semilla, sino que está sujeto a múltiples factores, como las características del suelo, las condiciones climáticas y la disponibilidad de riego (Borroel *et al.*, 2018). En una primera instancia, podría parecer que el maíz criollo queda en desventaja frente al híbrido debido a sus menores rendimientos productivos.

No obstante, el maíz criollo posee cualidades distintivas que le confieren un valor singular. En primer lugar, destaca su relevancia cultural, dado que México es centro de origen de este grano, el cual ha estado ligado a civilizaciones anteriores incluso a las prehispánicas. En segundo término, la diversidad de razas de maíz criollo permite adaptaciones específicas a distintos ambientes, pues no es lo mismo cultivar en zonas como Toluca, a más de 2000 metros sobre el nivel del mar, que en regiones costeras a nivel del mar. Como tercera característica, y de gran relevancia económica, el maíz criollo presenta un valor nutricional superior, ya que, a diferencia de los híbridos, seleccionados principalmente para incrementar la producción y con mayor contenido de almidón, los criollos suelen contener niveles más altos de proteína (Vidal M. *et al.*, 2008; Robles-Jiménez *et al.*, 2021).

Si bien en teoría ambas variedades podrían complementarse en un modelo de equilibrio, en la práctica el maíz criollo se encuentra en situación de vulnerabilidad. La introducción masiva del híbrido, impulsada por su mayor rentabilidad y rendimiento, ha desplazado progresivamente a las variedades nativas. Por ello, es imperativo implementar estrategias que permitan salvaguardar la diversidad genética y cultural del maíz criollo, sin desconocer la importancia del híbrido en la producción agrícola a gran escala. La coexistencia de ambas

variedades, cada una con sus respectivas aportaciones, resulta fundamental para un sistema agroalimentario sostenible y resiliente.

2.4. Ciclo vegetativo del maíz

El ciclo vegetativo del maíz es la descripción general sobre el crecimiento del maíz, desde la semilla hasta la muerte de la planta como se observa en la Figura 2, se divide en dos etapas; vegetativa y reproductiva.

Emergencia (VE): Cuando la plántula emerge de la semilla.

Primera hoja a N hojas (V1 a VN): Crecimiento de la parte aérea de la planta, se cuenta conforme se formen hojas en el tallo, siendo la primera a V1, la segunda a V2 y en subsecuencia.

Inicio etapa reproductiva (R0): La planta alcanza su máxima altura y comienza la formación de las espigas y flores femeninas.

Reproductiva 1 a reproductiva 6 (R1 a R6): La planta es por completo desarrollada, a partir de R1 comienza la generación del fruto o mazorca hasta R6 donde la planta se ha secado (Ciampitti, *et al.* 2016).

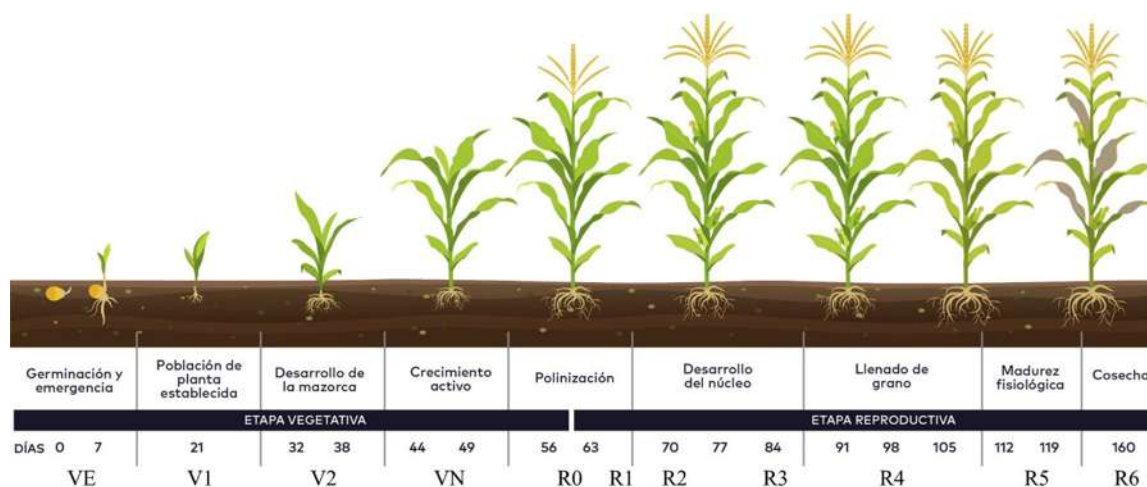


Figura 2 Etapas fenológicas del maíz. Tomada y modificada de Porres, 2022

2.5. Requerimiento nutricional del maíz

Cada variedad de maíz mantiene necesidades diferentes, sin embargo, en términos generales, Ciampitti, I, *et al.* (2010) y Pachecho-Sangerman, *et al.* (2022) engloban los nutrientes necesarios para el maíz en macro y micronutrientes

Macronutrientes

Nitrógeno (N): El nitrógeno es esencial para el crecimiento vegetativo y la producción de las hojas, influye en la formación de proteínas y clorofila.

Fósforo (P): Participa en los procesos energéticos y en el desarrollo radicular.

Potasio (K): Regula la apertura y cierre de los estomas, síntesis de proteínas y resistencia a enfermedades.

Calcio (Ca): Fortalece las paredes celulares y mejora la integridad de la planta.

Magnesio (Mg): Componente central de la clorofila es esencial para la fotosíntesis.

Azufre (S): Participa en la formación de aminoácidos y proteínas.

Micronutrientes

Hierro (Fe): Participa en la síntesis de clorofila y procesos enzimáticos.

Zinc (Zn): Importante para la síntesis de auxinas y desarrollo radicular

Manganeso (Mn): Involucrado en la fotosíntesis y activación de enzimas

De acuerdo con Deras (2006) los requerimientos nutricionales del maíz se expresan en la **Tabla 3**.

Tabla 3 Requerimientos nutricionales del maíz para conseguir 1 tonelada de grano.

Elemento	Kg/T de grano
Nitrógeno	22
Fósforo	4
Potasio	19
Calcio	3
Magnesio	3
Azufre	4
	g/T de grano
Boro	20
Cloro	444
Cobre	12
Hierro	125
Manganeso	189
Molibdeno	1
Zinc	53

(Deras, 2006)

2.5.1. Uso de fertilizantes en México

La aplicación de fertilizantes sintéticos ha incrementado significativamente el rendimiento agrícola, aumentando su uso en América Latina y el Caribe en un 27.1% entre 2006 y 2017 (Reyes y Cortes, 2017). Sin embargo, su uso excesivo e inadecuado genera serios problemas ambientales y ecológicos (Snyder, 2009), ya que su potencial contaminante está relacionado con la eficiencia de uso por los cultivos, influenciada por factores como el tipo de fertilizante, su método de aplicación y tecnología de fabricación (García, 2009). Esto impacta negativamente en los costos económicos, el medio ambiente y la estructura social.

Impacto económico. En el cultivo de maíz, el costo de producción por hectárea entre 2011 y 2012 oscilaba entre \$9,763 y \$24,033 MXN, destinándose entre 23.3% y 25.9% a fertilización y control fitosanitario. Para el periodo 2019-2020, estos costos aumentaron a un rango de \$15,112 a \$42,007 MXN, con un 31% a 35% asignado a fertilización y control fitosanitario (FIRA, 2020). Este aumento responde al encarecimiento de insumos, fluctuaciones de mercado y servicios financieros, afectando el margen de ganancia de los productores y el poder adquisitivo de los consumidores. **Impacto ambiental.** Las prácticas agrícolas actuales deterioran suelos, agua, aire y biodiversidad, además de afectar la salud humana, animal y vegetal. El uso intensivo de fertilizantes sintéticos y compuestos tóxicos desbalancea ciclos biogeoquímicos y cadenas tróficas, reduciendo la capacidad productiva y generando resistencia en plagas, enfermedades y malezas (Mandal *et al.*, 2020). **Impacto social.** Desde 1958, el modelo agrícola ha generado polarización económica y discriminación hacia el sector rural. Mientras los grandes productores y empresas trasnacionales dominan la agricultura tecnificada, los pequeños productores enfrentan condiciones desiguales, viéndose forzados a arrendar sus tierras o trabajar bajo condiciones precarias (López-Feldman y Hernández-Cortés, 2016). Desde 1960, se ha registrado un crecimiento constante en el uso de fertilizantes sintéticos. Como se observa en la **Figura 3**, la cantidad de kilogramos aplicados por hectárea de tierra cultivable para el cultivo de maíz ha ido en aumento.

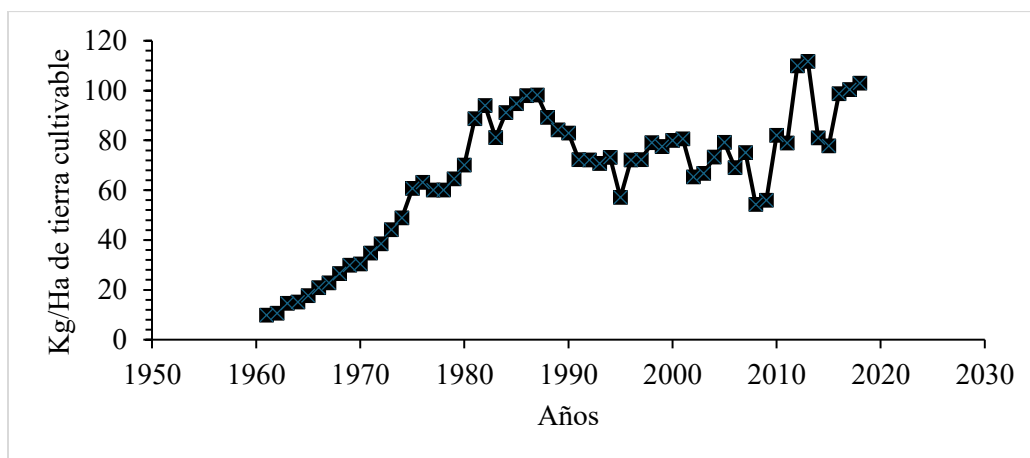


Figura 3 Tendencia del uso de fertilizantes en México para el cultivo de maíz. Periodo 1960 – 2020 (FAO 2023 e INEGI. 2019)

Aunque los sistemas agrícolas convencionales han tenido éxito en términos de productividad, han ocasionado pérdida de biodiversidad, erosión del suelo y otros impactos negativos. Los retos actuales incluyen implementar políticas agrarias que reduzcan la desigualdad económica-social, promuevan la seguridad alimentaria y fomenten métodos de producción sostenibles que preserven recursos naturales y minimicen riesgos para la salud ambiental y humana (Chávez-Díaz *et al.* 2021).

2.6. Forma de siembra actual

El maíz (*Zea mays* L.) es el cultivo más importante de México desde los puntos de vista alimentario, económico, político y social. Este grano se produce en dos ciclos agrícolas, primavera-verano y otoño-invierno, bajo diversas condiciones agroclimáticas de humedad: seco (temporal), punta de riego y riego (SIAP, 2007).

Dado que en México no existe una guía única para su siembra, cada agricultor adapta las prácticas a sus costumbres. No obstante, el proceso puede generalizarse en los siguientes pasos (Turiján, *et al.*, 2012: Cruz, O, 2017: Luna *et al.*, 2012)

Preparación del suelo

Una práctica común entre los pequeños agricultores es el barbecho, que consiste en dejar descansar el campo por al menos un año. Posteriormente, se labra el suelo mediante el roturado, volteo y desmenuzado con arado y rastra, ya sea con tractor o con animales de carga. El objetivo es remover la tierra para prepararla para la siembra. Los agricultores que dependen de las lluvias esperan a la "primera lluvia" para comenzar estos trabajos.

Siembra

A continuación, se trazan los surcos con tractor o animales. La profundidad y distancia entre estos varían según la variedad de maíz y el tipo de suelo, oscilando entre 5 y 15 cm de profundidad y 0.6 a 1 m de separación.

La siembra puede realizarse de manera mecánica —al mismo tiempo que se hacen los surcos— o de forma manual. En el caso de usar maquinaria, esta puede integrar la aplicación de fertilizantes y pesticidas. Si el proceso es manual, las semillas se colocan junto con el fertilizante y el pesticida. Finalmente, el surco se cubre; la maquinaria lo hace automáticamente, mientras que en la siembra manual se tapa de manera manual. La distancia entre semillas también depende de las variedades, con un margen de 10 a 30 cm.

Fertilización y protección del cultivo

En cuanto a los fertilizantes sintéticos, destaca el uso de abonos nitrogenados, especialmente entre agricultores con alto nivel. La dosis más utilizada es de 69-00-00 por hectárea, inferior a la recomendada por el INIFAP (2007) de 140-50-00. Esto puede deberse a que la mayoría

de los productores también aplica estiércol, una fuente importante de materia orgánica y nutrientes que contribuye a la conservación y mejora del suelo (Castaños, 2009).

La aplicación de pesticidas y herbicidas depende de cada agricultor; en algunos casos se omiten por completo. Los herbicidas, cuando se usan, pueden aplicarse desde la siembra o en cualquier momento del crecimiento.

Cosecha

Suele realizarse una segunda fertilización entre 3 y 7 semanas después de la emergencia de la planta, aunque la fecha exacta varía según el agricultor. Después de esto, no se realizan más labores hasta la cosecha, la cual puede llevarse a cabo con maquinaria que separa la mazorca del tallo o de manera manual. El momento de la cosecha varía ampliamente, de 4 a 6 meses, dependiendo del tipo de semilla y del periodo en que se desee obtener el maíz, dando así por finalizado el ciclo.

2.7. Biofertilizantes a base de PGPR

El uso masivo de fertilizantes y plaguicidas sintéticos, junto con la intensificación agrícola promovida por la Revolución Verde desde los años cuarenta, permitió un aumento significativo en la producción agrícola global. Sin embargo, estas prácticas también trajeron consecuencias negativas, como la pérdida de biodiversidad, la aparición de plagas resistentes y daños al medio ambiente. Esto ha motivado la búsqueda de alternativas más sustentables, como el uso de bioinsumos, productos biológicos que actúan como fertilizantes, plaguicidas o inductores de defensas en las plantas (Chávez-Díaz *et al.* 2021).

Los biofertilizantes pueden referirse a numerosos productos, desde micorrizas con raíces molida, hasta composta o estiércol procesado, sin embargo, la presente investigación se concentrará en los que contienen microorganismos benéficos capaces de colonizar el sistema radicular de las plantas, promoviendo su crecimiento y desarrollo al mejorar la disponibilidad y absorción de nutrientes, además de contribuir a la salud del suelo. Por su parte, las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés) son microorganismos que habitan en la rizósfera y que, mediante mecanismos directos e indirectos, estimulan el crecimiento de las plantas. Estos mecanismos incluyen la producción de ácido indolacético (AIA), fijación biológica de nitrógeno, solubilización de fosfato, antagonismo contra patógenos y producción de sideróforos (Hernández *et al.*, 2011).

Entre los principales géneros de PGPR utilizados se encuentran *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*, que destacan por su capacidad de biocontrol, solubilización de minerales, síntesis de fitohormonas y resistencia al estrés salino. Estos microorganismos han sido ampliamente estudiados en cultivos de importancia alimentaria como maíz, tomate, trigo y arroz, mostrando su eficacia en la promoción del crecimiento y el manejo sustentable de la agricultura (Posada, *et al.*, 2020).

En este contexto, investigaciones realizadas en el Campo Experimental Río Bravo del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) han demostrado la eficacia de los biofertilizantes en el cultivo de maíz en Tamaulipas. Liderados por el Dr. Martín Espinosa Ramírez, los estudios incluyen la inoculación de semillas con bacterias benéficas de los géneros *Bacillus* y *Azospirillum*, complementada con lixiviados orgánicos y fertilización sólida reducida en nitrógeno (70N-40P-00K) con gallinaza (1.5 t/ha). Los resultados indican que esta estrategia puede igualar los rendimientos obtenidos con fertilización química tradicional (140N-40P-00K), sin diferencias significativas en el desarrollo del cultivo.

Además, las parcelas tratadas con biofertilizantes mostraron un mayor índice de nutrición y verdor, en comparación con los tratamientos testigo. Esto se atribuye a las funciones de los consorcios bacterianos, como la producción de hormonas promotoras del crecimiento, la solubilización de nutrientes, el incremento del volumen radicular y la protección contra enfermedades causadas por microorganismos fitopatógenos como *Fusarium*, *Phythium*, *Rhizoctonia* y *Phytophthora* (INIFAP 2023).

En conclusión, los biofertilizantes representan una alternativa viable para reducir hasta en un 50% la dependencia de fertilizantes químicos, manteniendo rendimientos similares y con una mayor rentabilidad. Este enfoque no solo contribuye a una agricultura más sustentable, sino que también mitiga los impactos negativos de las prácticas agrícolas intensivas sobre el medio ambiente.

2.7.1. PGPR nativos y no nativos

Los PGPR pueden clasificarse en autóctonos (o nativos) y alóctonos (o exógenos). Los autóctonos son endémicos del sitio donde serán aplicados, mientras que los alóctonos provienen de otras ubicaciones. Investigaciones han demostrado que las bacterias autóctonas presentan ventajas significativas en comparación con las alóctonas debido a su adaptación a las condiciones edafoclimáticas locales y su compatibilidad con la microbiota nativa. Por ejemplo, Kaur y Reddy (2013) encontraron que 2 cepas bacterianas (*P. cypripedii* y *P. plecoglossicida*) aisladas de suelo de granjas orgánicas en Punjab, India, probadas en cultivos de maíz híbrido (DKC-9106) en Punjab, India. Mejoraron parámetros como la longitud del tallo (26%), el peso seco de raíces (22%) y el rendimiento del cultivo (18%) comparado contra el control (tratamiento sin bacterias). Dicho efecto se atribuye principalmente a la solubilización de fosfatos, generada por la producción de ácido glucónico (entre otros), principal medio para movilizar el fosfato insoluble, así mismo la producción de las enzimas fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina y fitasa.

En contraste, las bacterias alóctonas pueden enfrentar dificultades al integrarse en la microbiota nativa. Para que funcionen correctamente, no solo deben adaptarse a las condiciones locales, sino que también deben evitar competir con los microorganismos

nativos por nutrientes o nichos específicos. Estudios como el de Trabelsi y Mhamdi (2013) señalaron que la introducción de bacterias alóctonas podría generar perturbaciones transitorias en el equilibrio microbiano del suelo, lo que puede ser indeseable si se pierden especies nativas importantes. Los inoculantes microbianos (como *rizobios* o *Azospirillum*) alteran la composición y diversidad de las comunidades nativas del suelo. Estos efectos varían desde cambios transitorios hasta perturbaciones duraderas, dependiendo del tipo de microorganismo introducido y las condiciones ambientales. Por ejemplo, *Sinorhizobium meliloti* reduce γ -proteobacterias en favor de α -proteobacterias, mientras que los hongos micorrízicos favorecen bacterias como *Pseudomonas*.

No obstante, la resiliencia del ecosistema, impulsada por la diversidad y las interacciones planta-suelo-biota, podría mitigar estos efectos. Aun así, el éxito de cualquier inoculante bacteriano en campo no está garantizado, ya que depende de factores críticos como las condiciones climáticas, la microbiota nativa, la formulación del inoculante, entre muchos otros (Dutta y Podile, 2010; de los Santos-Villalobos *et al.*, 2018). Por ello, es fundamental priorizar el uso de bacterias autóctonas en programas de biofertilización, ya que estas promueven un desarrollo más sustentable al trabajar en armonía con los ecosistemas microbianos locales (Amezquita-Aviles 2021).

2.8. Aplicaciones de bioinoculantes

Como se ha observado en los temas anteriores, la fertilización de cultivos enfrenta retos significativos. Ante esto, el uso de inoculantes microbianos, tanto en formulaciones sólidas como líquidas, surge como una alternativa prometedora para mejorar la absorción de nutrientes en las plantas y aumentar la eficiencia de los fertilizantes tradicionales. Sin embargo, estas tecnologías presentan diferencias importantes en términos de producción, aplicación y eficacia.

Las inoculaciones líquidas ofrecen flexibilidad y facilidad de aplicación, especialmente en sistemas de riego o como fertilización foliar, donde la demanda de nutrientes excede la capacidad de absorción de las raíces. Estas formulaciones permiten una rápida interacción microorganismo-planta, pero enfrentan limitaciones como la menor estabilidad durante el almacenamiento y la susceptibilidad a condiciones ambientales adversas tras su aplicación en campo (Schoebiyz *et al.*, 2013).

Por otro lado, las inoculaciones sólidas, como las basadas en técnicas de encapsulación, presentan ventajas significativas en la protección y liberación controlada de los microorganismos. Métodos como la gelación iónica, la extrusión y el secado por aspersión han demostrado ser efectivos para estabilizar los microorganismos durante su almacenamiento y garantizar su funcionalidad en campo. La encapsulación con alginato de sodio es una de las técnicas más utilizadas debido a su capacidad para proteger bacterias no

formadoras de esporas, aunque su eficacia depende de factores como el tipo de cepa bacteriana y las condiciones de procesamiento (Vassilev *et al.*, 2020).

La elección entre formulaciones sólidas y líquidas debe considerar no solo la eficacia en campo, sino también el impacto en la microbiota nativa y el ecosistema del suelo. Las formulaciones líquidas pueden integrarse fácilmente con prácticas agrícolas existentes, pero las sólidas, particularmente las encapsuladas, pueden evitar alteraciones significativas en la comunidad microbiana al liberar los microorganismos de forma controlada. Esto es especialmente importante en escenarios donde los microorganismos exógenos compiten con especies autóctonas.

El estudio de Pallo (2011) evaluó la viabilidad de *Azospirillum* sp. C2-Bolívar en soportes sólidos y líquidos durante 180 días de almacenamiento, con el objetivo de identificar la formulación más eficiente para su uso como biofertilizante en cultivos de maíz. Los resultados mostraron que, excepto en el caso de la turba pura (que no mantuvo la concentración mínima requerida de 1×10^7 UFC/g), todos los soportes alcanzaron concentraciones bacterianas similares (1×10^8 UFC/g o mL).

La selección final se basó en criterios económicos: Soporte líquido óptimo: Solución de melaza al 2% (\$1.10 por 30 mL). Soporte sólido óptimo: Perlas de alginato (\$1.63 por 30 mL). Este estudio demostró que, más allá de la viabilidad microbiana, el costo de producción es un factor determinante para la escalabilidad de biofertilizantes.

En un estudio realizado por Fernández en 2024, se evaluó el efecto de *Azospirillum argentinense* y *Pseudomonas rhodesiae* en presentaciones líquidas y sólidas sobre maíz híbrido en condiciones de campo, desde su aplicación hasta la cosecha. Los resultados mostraron un incremento significativo en el vigor de las plantas en la etapa R6, así como un aumento en la producción en ambas formulaciones. Sin embargo, destacó la formulación sólida como la más efectiva, superando al inoculante líquido en términos de rendimiento y resultados.

La integración de inoculaciones líquidas y sólidas, junto con técnicas avanzadas de bioencapsulación, representa una herramienta clave para la agricultura sostenible. Mientras que las formulaciones líquidas destacan por su rapidez y facilidad de aplicación, las sólidas ofrecen mayor protección microbiana y eficacia en condiciones ambientales adversas (Fernández, 2024). La selección de la técnica más adecuada depende de factores como el tipo de cultivo, las condiciones ambientales y las características específicas del microorganismo utilizado, lo que subraya la importancia de adoptar un enfoque integrado y adaptado a cada sistema agrícola (Trabelsi y Mhamdi, 2013).

En el caso particular del maíz en Michoacán, los bioinoculantes sólidos emergen como alternativa preferencial, especialmente porque se adaptan mejor a los sistemas de fertilización sólida actualmente implementados en la región. Esto es de vital importancia ya que la maquinaria agrícola en la región ya está adaptada para el manejo de fertilizantes sólidos, por

lo que cualquier nuevo insumo que se adicione al sistema debe ser compatible con la infraestructura y prácticas ya establecidas.

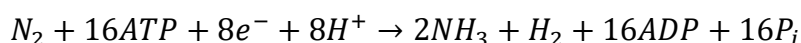
El uso de bioinoculantes como alternativa a los fertilizantes químicos requiere comprender no solo sus aplicaciones prácticas, sino también los mecanismos fisiológicos que les permiten estimular el crecimiento vegetal. Estos mecanismos de promoción, intrínsecos a las rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPR), operan a través de diversas vías metabólicas que impactan directamente en la nutrición y desarrollo de los cultivos. Entre los más relevantes para el cultivo de maíz se encuentran:

2.9. Mecanismos de promoción

2.9.1. Fijación biológica de nitrógeno

La fijación biológica de nitrógeno (FBN) es un proceso químico fundamental en el ciclo del nitrógeno, en el que el nitrógeno atmosférico (N_2) se convierte en amoníaco (NH_3), un compuesto que las plantas pueden utilizar para sintetizar aminoácidos, proteínas y otros compuestos esenciales para su crecimiento. Este proceso es llevado a cabo por ciertos microorganismos, principalmente bacterias como *Rhizobium* y *Azotobacter*, que poseen una enzima clave llamada nitrogenasa (Cheng 2008).

La nitrogenasa es la principal responsable de la conversión de N_2 a NH_3 . Esta enzima, que se encuentra en los microorganismos fijadores de nitrógeno, cataliza la ruptura del triple enlace del nitrógeno molecular (N_2) y lo reduce a amoníaco (NH_3), liberando además hidrógeno (H_2) como subproducto. La reacción química básica que ocurre en este proceso es (Tanchyk *et al.*, 2021):



El proceso de fijación es altamente dependiente de la simbiosis entre las bacterias y las plantas. Las bacterias fijadoras de nitrógeno proporcionan el amoníaco generado durante la reacción a las plantas, mientras que estas últimas ofrecen a las bacterias un ambiente adecuado y carbohidratos derivados de la fotosíntesis. Este intercambio de nutrientes es crucial para la FBN y para el crecimiento de las plantas (Fillery 2001).

En el caso del maíz, la fijación biológica de nitrógeno es especialmente importante, ya que el nitrógeno es un nutriente esencial para su desarrollo. A través de la FBN, el maíz puede obtener nitrógeno de forma eficiente, lo que reduce la dependencia de fertilizantes nitrogenados industriales y contribuye a una agricultura más sostenible (Montañez *et al.*, 2009).

Este proceso biológico, al reducir la necesidad de fertilizantes artificiales, no solo mejora la productividad agrícola, sino que también tiene un impacto positivo en la salud del suelo y en la reducción de la contaminación ambiental derivada de los fertilizantes sintéticos.

2.9.2. Solubilización de fosfatos

La solubilización de fosfato es un proceso biológico en el cual ciertos microorganismos, principalmente bacterias y hongos, convierten el fosfato insoluble en formas solubles que pueden ser absorbidas por las plantas. Este proceso es esencial para mejorar la disponibilidad de fosfato en los suelos, ya que muchas veces los fosfatos en el suelo se encuentran en formas que las plantas no pueden utilizar directamente (Rosatto-Moda *et al.*, 2014).

El fosfato en el suelo generalmente se presenta en formas insolubles, como el fosfato de calcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) o el fosfato de hierro (FePO_4). Sin embargo, a través de la acción de microorganismos solubilizadores de fosfato, como bacterias del género *Pseudomonas*, *Bacillus*, y hongos micorrícicos, estos compuestos insolubles se convierten en fosfato soluble, que las plantas pueden asimilar (Guppy *et al.*, 2005).

El proceso de solubilización de fosfato ocurre principalmente a través de dos mecanismos (Panhwar *et al.*, 2011):

Producción de ácidos orgánicos: Muchos microorganismos solubilizadores de fosfato producen ácidos orgánicos, como el ácido cítrico, que reaccionan con los fosfatos insolubles, liberando fosfatos solubles. Estos ácidos disminuyen el pH del entorno cercano a la raíz y disuelven los compuestos de fosfato, liberando el ión fosfato (PO_4^{3-}) disponible para la planta.

Liberación de enzimas: Algunos microorganismos también secretan enzimas, como la fosfatasa, que pueden liberar fosfatos orgánicos ligados a residuos orgánicos, haciéndolos accesibles para las plantas.

El proceso de solubilización de fosfato es crucial para la nutrición de las plantas, especialmente en suelos con baja disponibilidad de fosfato soluble. El fosfato es un nutriente esencial para el crecimiento de las plantas, ya que está involucrado en procesos clave como la fotosíntesis, la biosíntesis de ADN y ARN, y la transferencia de energía a través del ATP. Sin embargo, el fosfato soluble en los suelos es a menudo un factor limitante para el crecimiento vegetal, por lo que la solubilización biológica de fosfato juega un papel fundamental en la mejora de la productividad agrícola (Torres, 2016).

En el caso del maíz la solubilización de fosfato tiene un impacto directo en su rendimiento. El maíz requiere grandes cantidades de fosfato para su desarrollo, especialmente en las fases de crecimiento temprano y en la formación de granos, donde como explica la Tabla 3 se requieren de 4 kg para obtener 1 tonelada de grano. La presencia de microorganismos solubilizadores de fosfato en el suelo puede mejorar la eficiencia del uso de fertilizantes, lo que resulta en un crecimiento más vigoroso y un mejor rendimiento de las cosechas, especialmente en suelos que carecen de suficiente fosfato soluble (López-Ortega *et al.*, 2013).

2.9.3. Solubilización de calcio

La solubilización de calcio es un proceso biológico en el cual ciertos microorganismos convierten las formas insolubles de calcio presentes en el suelo en formas solubles que pueden ser utilizadas por las plantas. El calcio en el suelo generalmente se encuentra en formas insolubles, como carbonato de calcio (CaCO_3) o sulfato de calcio (CaSO_4). Aunque estas formas son abundantes en muchos suelos, no siempre están disponibles para las plantas. Microorganismos solubilizadores de calcio, como bacterias de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, y ciertos hongos micorrícicos, tienen la capacidad de liberar calcio soluble mediante diferentes mecanismos químicos y biológicos (Joe *et al.*, 2018 y Jacobs *et al.*, 2002).

Entre los principales mecanismos de solubilización de calcio se encuentran (Aliyat *et al.*, 2022):

Producción de ácidos orgánicos: Estos microorganismos secretan ácidos orgánicos, como el ácido cítrico y el ácido oxálico, que reaccionan con los compuestos insolubles de calcio. Estas reacciones forman complejos solubles o liberan iones de calcio (Ca^{2+}), que las plantas pueden absorber a través de las raíces.

Liberación de enzimas: Algunos microorganismos producen enzimas específicas que descomponen compuestos orgánicos que contienen calcio, liberando el nutriente en formas solubles.

En el caso del maíz, la solubilización de calcio juega un papel clave en el fortalecimiento de la estructura celular y en el desarrollo saludable de raíces y hojas. El calcio también contribuye a mejorar la tolerancia del maíz frente a condiciones de estrés, como la salinidad y la acidez del suelo, que pueden afectar negativamente su crecimiento. La presencia de microorganismos solubilizadores de calcio en el suelo favorece la disponibilidad de este nutriente, optimizando el rendimiento del cultivo y reduciendo la dependencia de enmiendas químicas como el yeso agrícola o los fertilizantes de calcio (Ibarra-Galeana *et al.*, 2017).

2.9.4. Producción de auxinas

La producción de auxinas es un proceso biológico llevado a cabo por ciertos microorganismos presentes en el suelo, los cuales sintetizan estas hormonas vegetales clave para regular y promover el crecimiento y desarrollo de las plantas. Las auxinas, como el ácido indolacético (AIA), son fundamentales para diversos procesos fisiológicos, como la elongación celular, la formación de raíces adventicias, la división celular y la diferenciación tisular (Çakmakçı, *et al.*, 2020).

Los microorganismos productores de auxinas, como bacterias del género *Azospirillum*, *Pseudomonas* y *Bacillus*, tienen la capacidad de sintetizar estas hormonas a partir del triptófano (aunque no únicamente, es la ruta más común). Este proceso se lleva a cabo mediante rutas metabólicas específicas, donde el triptófano es transformado en ácido indolacético, la auxina más comúnmente producida en estos sistemas (Ali *et al.*, 2009)

Los efectos en las plantas son (Park *et al.*, 2021):

Estimulación del crecimiento radicular: Las auxinas sintetizadas por los microorganismos promueven la formación de raíces secundarias y pelos radiculares, lo que mejora significativamente la capacidad de absorción de agua y nutrientes por parte de las plantas. Este efecto es especialmente importante en suelos con limitaciones nutricionales.

Inducción de división y elongación celular: Estas hormonas regulan el alargamiento de células en los tejidos vegetales, facilitando un crecimiento equilibrado y vigoroso de la planta.

En el caso del maíz, la producción de auxinas tiene un impacto directo en el desarrollo radicular profundo, un aspecto crucial para un cultivo que requiere grandes cantidades de agua y nutrientes. Las raíces más extensas y ramificadas no solo aumentan la capacidad del maíz para explorar el suelo en busca de recursos, sino que también mejoran su resistencia a condiciones de estrés, como la sequía o la compactación del suelo. Además, la interacción con microorganismos productores de auxinas puede estimular el crecimiento temprano de plántulas, optimizando el establecimiento del cultivo y su productividad (Baig *et al.*, 2014).

2.10. Uso de PGPR en maíz

El uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) en el cultivo de maíz ha demostrado ser una estrategia prometedora para mejorar el rendimiento y la sostenibilidad en los sistemas agrícolas.

Por ejemplo, un estudio evaluó el efecto de la inoculación de 20 cepas bacterianas aisladas de la rizosfera de maíz criollo “Raúl” de manera individual, pertenecientes a los géneros *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Enterobacter*. Se aplicaron de manera líquida y se inocularon 15 µL por semilla ajustando a 0.5 con una longitud de onda de 600 nm. Se utilizaron condiciones de invernadero donde se controló la luz, riego, temperatura y humedad relativa hasta 30 días después de la inoculación, se utilizó el mismo maíz criollo “Raúl” y se utilizó suelo Ferralítico Rojo Lixiviado (caracterizado por ser bajo contenido de materia orgánica) no esterilizado. Cada tres días se adiciona solución nutritiva de Hoagland modificada para quitarle el nitrógeno. Los resultados mostraron mejoras significativas en variables como altura de planta, longitud de raíz y masa seca al compararlas contra el control sin inoculación bacteriana (Altura: 51.24 cm. Raíz: 29.60. Peso seco: 0.31 g), destacando cepas como *Stenotrophomonas* sp. INCA-FRr1 (Altura: 65.34 cm. Raíz: 38.6 cm

y 0.116 g de peso seco) y *Rhizobium* sp. INCA-FRc1 por su eficacia en promover el crecimiento del maíz (Altura: 64.9 cm. Raíz: 37.20 cm. Peso seco 0.106 g). Los autores siguieron, que, a la falta de nitrógeno, se promovió la síntesis del complejo enzimático Nitrogenasa responsable de la fijación biológica de nitrógeno y por ende el efecto observado en las plantas, sin embargo los autores resaltan que la promoción podría deberse a otros factores no analizados en el estudio, por lo que invitan a realizar un estudio más profundo (Pérez-Pérez *et al.*, 2021).

Chen *et al.* (2021) evaluaron durante tres ciclos agrícolas el efecto de 13 cepas bacterianas rizosféricas de maíz híbrido (Zheng Dan 958) proveniente del campo experimental en el condado de Lishu, provincia de Jilin, China, más *Azospirillum brasilense* Az39 aislada de la raíz de trigo en Juárez Argentina, esta utilizada como control alóctono. Se utilizaron tres regímenes de fertilización en maíz híbrido (etapa R6): Fertilización reducida en nitrógeno (120 kg N/ha, 37 kg P/ha, 56 kg K/ha), fertilización sin fósforo (240 kg N/ha, 0 kg P/ha, 56 kg K/ha) y fertilización convencional: 240 kg ha⁻¹ de N, 37 kg ha⁻¹ de P y 56 kg ha⁻¹ de K

La fertilización se realizó antes de la siembra y se utilizó otro control con la fertilización convencional pero sin bacterias. Dicho experimento se llevó a cabo en el condado de Lishu en China, con las semillas híbridas Zheng Dan 958. Se utilizó riego por aspersión, se deshierbo de manera manual y se aplicó clorotraniliprol en V8 para el control de plagas.

El bioinoculante se adiciona en líquido directamente sobre las semillas a 5 ml por kilogramo con una concentración de 2.0e+05 UFC/semilla. Se midieron parámetros de crecimiento y rendimiento de grano.

Los resultados demostraron que existe un efecto adverso al reducir la fertilización pues el control con fertilización convencional obtuvo 12.5 t/ha contra el control con fertilización reducida de N que tuvo 10.2 t/ha igual que el de fertilización reducida en P con 10.2 t/ha.

Los mejores resultados se encuentran con *Enterobacter* sp reducido en P con 12.3 t/ha y *Sphingomonas* sp. Reducido en N con 12.0 t/ha. Así mismo *Bacillus* sp y *Sinorhizobium* tuvieron rendimientos estadísticamente iguales al control con fertilización convencional, por tanto, este estudio evidencia el potencial de estas rizobacterias para sostener la productividad del maíz incluso en condiciones de fertilización reducida.

Por otra parte, Martínez *et al.* (2018) llevaron a cabo un experimento donde probaron dos bacterias, *Azospirillum brasilense* y *Chromobacterium violaceum* aisladas de suelo rizosférico de maíz criollo en San José Teacalco, Tlaxcala. El trabajo se realizó en condiciones de campo en Villaflores, Chiapas con maíz criollo proveniente de la región. Las bacterias se prepararon de manera líquida y se inocularon directamente en la semilla con una proporción de 30 mL por kilogramo de semilla, con una concentración inicial de 1.0e+07 UFC/mL.

Para la fertilización se utilizó un control con fertilización química completa de 160N-46P-30K, otro control con una reducción de nitrógeno y fósforo del 50% siendo 80N-23P-30K y un control sin bacteria y sin fertilización química. Para los tratamientos se realizó cada bacteria con la fertilización reducida y completa, así como la combinación de ambas y sus respectivas fertilizaciones, dando así nueve tratamientos.

Los resultados colocan a *A. brasilense* + 160-46-30 con el mayor rendimiento (5.97 t ha^{-1}), seguido del control con fertilización completa con 5.62 t/ha y sin diferencia estadística el control con la reducción de la fertilización con 5.57 t/ha , por su parte el control sin bacteria y fertilización química obtuvo 4.30 t/ha . Lo cual indica que el suelo contiene los suficientes nutrientes para generar rendimientos como los observados, sin embargo, al colocar la fertilización aumenta y con la bacteria tiene un incremento del 27.98%

Así mismo, el estudio aborda la importancia económica del estudio, donde se observó que el costo de fertilizar por completo más las bacterias, eran los que representaban el mayor costo con \$5,894.00 por hectárea y por su parte con la reducción de la fertilización se logró una reducción del costo a \$5,319.00 por hectárea. Sin embargo, cuando se ajusta el costo de producción y el valor de venta por el rendimiento obtenido, se observa que *A. brasilense* + 160-46-30 tiene el mayor beneficio neto con \$15,576.00 por hectárea lo que es mayor que el control con fertilización completa de \$14,106.00 por hectárea.

Para finalizar, dentro del grupo de trabajo, se realizó una investigación donde se aislaron y caracterizaron bacterias de la rizosfera de maíz del municipio de Ocampo, Michoacán. Se utilizó la misma metodología descrita en el presente trabajo y se obtuvieron 4 aislados identificados como *Bacillus subtilis* B16, *Lysinibacillus* sp. B44, *Exiguobacterium* sp. B55 y *Enterococcus* sp. B66, caracterizadas por solubilizar fosfatos, fijar nitrógeno y solubilizar calcio.

Se llevaron a campo con un régimen de fertilización reducida donde se utilizaron otros dos controles, siendo el control regional (REG) que se refiere a la fertilización utilizada por el agricultor, fertilización química completa (A.F.Q. 100) y fertilización química reducida (A.F.Q. 50) calculados a partir de las necesidades del cultivo y los nutrientes presentes en el suelo. Las bacterias se aplicaron en líquido directo en el suelo después de la siembra en una proporción de 50 mL por planta con una concentración de $1.0 \times 10^7 \text{ UFC/mL}$ y tuvieron un refuerzo en V12. Todos los tratamientos bacterianos se llevaron con la fertilización reducida A.F.Q. 50

Dentro de sus resultados se destaca el incremento del rendimiento respecto a los tres controles evaluados. REG fue el más bajo con 4.17 t/ha , seguido de A.F.Q. 50 con 4.8 t/ha , y finalmente A.F.Q. 100 con 4.27 t/ha . Por su parte B16 obtuvo, 5.25 t/ha , B44 5.49 t/ha y B55 5.52 t/ha superado estadísticamente a los tres controles. De esta forma se concluyó que las bacterias tuvieron un efecto promotor sobre el rendimiento final del grano incluso en condiciones de fertilización limitada.

Estos estudios reflejan que no existe una solución universal para el uso de PGPR en el cultivo de maíz. Cada sistema agrícola es único, y los resultados exitosos dependen de un enfoque personalizado que considere tanto las características genéticas del maíz (híbrido o criollo) como las condiciones edafoclimáticas y las prácticas de manejo agrícola.

Además, la interacción entre microorganismos y plantas es altamente dinámica y está influenciada por múltiples variables, como el pH del suelo, la disponibilidad de nutrientes y el historial de manejo agrícola. Esto resalta la necesidad de realizar evaluaciones detalladas en cada región y entorno de cultivo, con el objetivo de identificar las cepas más adecuadas y comprender las condiciones que optimizan su efectividad.

La selección cuidadosa de cepas microbianas y el entendimiento profundo de su interacción con el cultivo y el entorno son esenciales para lograr una implementación exitosa. En este contexto, es fundamental fomentar un enfoque integral que combine conocimientos microbiológicos, agronómicos y ambientales, asegurando no solo el aumento del rendimiento, sino también la sostenibilidad a largo plazo de los sistemas productivos.

3. Justificación

El maíz es un cultivo esencial en México, no solo por su importancia económica y alimentaria, sino también por su valor cultural y su rol clave en la seguridad alimentaria del país. En este contexto, garantizar su producción de manera sostenible se ha convertido en una prioridad, especialmente ante los retos que presentan el cambio climático, la degradación de suelos y la creciente demanda de alimentos.

La aplicación de bioinoculantes se ha destacado como una estrategia innovadora para mejorar el crecimiento y rendimiento del maíz, ya que aprovecha las interacciones entre microorganismos benéficos y las plantas para optimizar procesos como la fijación de nitrógeno, la solubilización de nutrientes y la producción de fitohormonas. Sin embargo, la efectividad de los bioinoculantes varía significativamente dependiendo de su formulación, de los microorganismos utilizados y de las condiciones específicas del cultivo.

En particular, las formulaciones sólidas de bioinoculantes ofrecen ventajas importantes frente a otras presentaciones, como una mayor estabilidad, una vida útil prolongada y una aplicación más sencilla, lo que las hace ideales para su uso en sistemas agrícolas diversos, sobre todo los utilizados en la industria maicera actual, que esta acoplada al uso de fertilizantes sólidos.

A pesar de los avances en el desarrollo de bioinoculantes, es necesario realizar investigaciones específicas que evalúen su desempeño en diferentes contextos agrícolas y que exploren nuevas combinaciones de microorganismos y formulaciones para maximizar su potencial. Por ello, esta investigación propone desarrollar y evaluar un bioinoculante formulado en sólido, buscando potenciar los efectos biológicos sobre el crecimiento y rendimiento del maíz. Esto no solo contribuirá al entendimiento de las interacciones planta-microorganismo en el cultivo de maíz, sino que también proporcionará herramientas prácticas para fomentar la sostenibilidad agrícola en México.

En última instancia, este trabajo responde a la necesidad de generar soluciones científicas aplicables, proponiendo que un bioinoculante formulado en sólido puede potenciar el efecto biológico en la promoción del crecimiento del maíz.

4. Hipótesis

La formulación de un bioinoculante sólido potencia el efecto biológico en la promoción del crecimiento en las distintas etapas vegetativas del maíz criollo e híbrido con reducción de la fertilización química.

5. Objetivos

Objetivo General:

Evaluar la efectividad biológica de un bioinoculante sólido en la promoción del crecimiento en las distintas etapas vegetativas del maíz criollo e híbrido con reducción de la fertilización química

Objetivos Particulares:

- Determinar la capacidad de promoción del crecimiento vegetal de aislados de suelos michoacanos.
- Evaluar la efectividad de las formulaciones sólidas en la promoción del crecimiento en distintas etapas vegetativas del maíz criollo e híbrido
- Comprobar la capacidad de promover el crecimiento de las bacterias con reducción de fertilización
- Evaluar el efecto de las bacterias promotoras en el rendimiento del maíz en Michoacán.

6. Materiales y métodos

6.1. Aislamiento de PGPR

El aislamiento de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) se realizó a partir de muestras de suelo recolectadas en parcelas de maíz ubicadas en el municipio de Nahuatzen Michoacán. Las muestras fueron resguardadas y transportadas al laboratorio para su procesamiento. Se rotularon bajo la nomenclatura de N1, N2..., Nn

En el laboratorio, se pesó 1 g de cada muestra de suelo y se disolvió en 1 mL de un buffer de fosfatos, agitando la mezcla durante 30 minutos. Posterior, se llevaron a cabo diluciones seriadas, tomando 100 μ L de la solución y diluyéndolos hasta alcanzar una concentración de $1.0E-06$ UFC/mL

De estas diluciones, se inocularon 100 μ L en placas de Petri que contenían agar soya tripticasa y agar nutritivo de la marca MCD LAB. Las placas se incubaron a 30°C durante un período de 48 horas. Una vez finalizado el tiempo de incubación, se observaron y diferenciaron las colonias presentes en las placas con base en sus características morfológicas.

Para garantizar la pureza de los microorganismos, se tomó una muestra de cada colonia diferenciada y se realizó un estriado en nuevas placas de agar. Estas placas fueron incubadas a 30°C por 48 horas. Al término del proceso, las placas contenían los microorganismos aislados, listos para estudios posteriores.

6.2. Selección de PGPR

Una vez obtenidos los microorganismos aislados, se realizaron pruebas para evaluar su capacidad de promover el crecimiento vegetal. Este proceso tuvo como objetivo identificar y seleccionar aquellos aislados con un potencial comprobado para fomentar el desarrollo de las plantas.

De inicio, las pruebas se llevaron a cabo de manera cualitativa, utilizando medios selectivos específicos para evaluar las capacidades de fijación de nitrógeno, solubilización de calcio y solubilización de fosfatos. Posterior, se realizaron análisis cuantitativos para determinar con mayor precisión los aislados con la mejor capacidad de realizar estas funciones.

6.2.1. Pruebas cualitativas

6.2.1.1. Fijación biológica de nitrógeno

La evaluación de la capacidad de fijación biológica de nitrógeno se llevó a cabo utilizando el medio libre de nitrógeno (NFb), cuya preparación se describe en la Tabla 4. Una vez preparado el medio, se depositaron 10 μ L de las soluciones bacterianas previamente cultivadas en medio soya tripticasa en las cajas que contenían NFb (Dobereiner *et al.*, 1976). Las placas inoculadas se incubaron a 30°C durante un periodo de siete días. La capacidad de fijación biológica de nitrógeno se determinó observando el cambio de color en el medio

circundante al sitio de inoculación. Un cambio de color de verde a azul alrededor del crecimiento bacteriano indicó la actividad de fijación biológica de nitrógeno por parte de las bacterias evaluadas.

Tabla 4 Medio libre de nitrógeno (NFb)

Componente	Cantidad /L
Ácido málico	5.0 g
Fosfato de potasio dibásico	0.5 g
Sulfato de magnesio	0.2 g
Cloruro de sodio	0.1 g
Hidróxido de potasio	4.5 g
Sulfato de hierro	0.56 g
Azul de bromotimol (0.5%) en KOH (1N)	2.0 mL
Agar bacteriológico	20 g
Ácido bórico	0.286 g
Sulfato de manganeso	0.235 g
Sulfato de zinc	0.024 g
Sulfato de cobre	0.008 g
Molibdato de sodio	0.2 g

Dobereiner *et al.*, 1976

6.2.1.2. Solubilización de calcio

La evaluación de la capacidad de solubilización de calcio por los microorganismos se llevó a cabo utilizando un medio modificado basado en el de Pikovskaya. En esta versión, el medio incorpora carbonato de calcio como fuente insoluble de calcio, según se describe en la Tabla 5 (Edu-Premono *et al.* 1996 y Paguay y Vasco 2013).

Previamente, las bacterias fueron cultivadas en medio soya tripticaseína. Posterior, se adicionaron 10 µL de cada solución bacteriana sobre la superficie de las cajas con el medio. El medio recién preparado tiene un aspecto opaco y sin transparencia inicial. Una respuesta positiva a la prueba se observa como la formación de un halo transparente alrededor de las colonias bacterianas, indicando la disolución del carbonato de calcio y, por lo tanto, la capacidad del microorganismo para solubilizar esta fuente de calcio (Paguay y Vasco 2013).

Tabla 5 Medio pikovskaya modificado

Componente	Cantidad por litro
Dextrosa anhidra	10 g
Carbonato de calcio	5 g
Sulfato de amonio	0.5 g
Cloruro de sodio	0.2 g
Sulfato de magnesio	0.1
Cloruro de potasio	0.2 g
Extracto de levadura	0.5 g
Sulfato de manganeso	0.1 g
Agar bacteriológico	20 g

Paguay y Vasco 2013

6.2.1.3. Solubilización de fosfato

La evaluación de la capacidad de los microorganismos para solubilizar fosfato se llevó a cabo utilizando el medio de crecimiento diseñado por el Instituto Nacional de Investigación Botánica (NBRIP). Este medio contiene fosfato tricálcico como fuente insoluble de fósforo como lo indica la Tabla 6 (Nautiyal 1999).

Previamente, los microorganismos fueron cultivados en agar soya tripticasa para garantizar su viabilidad. Posteriormente, se inocularon 10 μ L de cada cultivo bacteriano sobre la superficie del medio NBRIP.

La capacidad de solubilización de fosfato se determinó observando un cambio en la apariencia del medio. Un resultado positivo se manifestó como la formación de un halo transparente alrededor de la colonia bacteriana, lo cual indicó la disolución del fosfato tricálcico por la acción metabólica de los microorganismos.

Tabla 6 Medio NBRIP

Componente	Cantidad por litro
Dextrosa anhidra	10 g
Fosfato tricálcico	5 g
Cloruro de magnesio	5 g
Sulfato de magnesio	0.25 g
Cloruro de potasio	0.2 g
Sulfato de amonio	0.1 g
Agar bacteriológico	20 g

Nautiyal 1999

6.2.2. Pruebas cuantitativas

6.2.2.1. Fijación biológica de nitrógeno (Técnica colorimétrica de Berthelot)

La cuantificación de nitrógeno fijado por las bacterias se realizó siguiendo la metodología propuesta por Lara-Mantilla (2007). Para ello, se inocularon, por triplicado, 200 μ L de una suspensión bacteriana ajustada previamente a una densidad óptica (D.O.) de 0.7 a 600 nm (equivalente a aproximadamente 1×10^9 UFC/mL) en tubos que contenían 3 mL de caldo extracto de suelo al 10% (Tabla 7). Los tubos se incubaron a 30 °C con agitación constante a 100 rpm durante 72 horas. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 6000 rpm durante 15 minutos. A los sedimentos obtenidos se les adicionaron 10 mL de KCl 2M, y la mezcla se sometió a agitación durante una hora, seguida de un reposo de una hora adicional. El sobrenadante fue recuperado y centrifugado nuevamente a 6000 rpm durante 10 minutos. La cuantificación de nitrógeno se realizó de manera indirecta mediante la determinación de la concentración del ion amonio utilizando la técnica colorimétrica de Berthelot (Weatherburn, 1967). A 10 mL de muestra se adicionaron 0.4 mL de una solución alcohólica de fenol al 10%, 0.4 mL de nitroprusiato de sodio al 0.5%, y 1 mL de una solución oxidante compuesta por 20 g de citrato de sodio, 1 g de hidróxido de sodio y 1 mL de hipoclorito de sodio 1.5 N en 100 mL de agua destilada. Los tubos se agitaron durante un minuto y se dejaron en reposo por una hora.

La absorbancia de las muestras se midió en un espectrofotómetro de luz visible a una longitud de onda de 632.9 nm. Como control blanco, se utilizaron muestras de caldo extracto de suelo sin inocular, a las cuales se les determinó la concentración de ion amonio siguiendo la misma metodología. Finalmente, las concentraciones de nitrógeno fijado en forma de amonio se calcularon a partir de una curva estándar generada mediante diluciones sucesivas de una solución de cloruro de amonio.

Tabla 7 Caldo suelo

Componente	Cantidad por litro
Fosfato de potasio dibásico	0.4 g
Cloruro de magnesio	0.1 g
Sulfato de magnesio	0.05 g
Cloruro de hierro	0.01 g
Cloruro de calcio	0.1 g
Tryptona	1.0 g
Extracto de levadura	1.0 g
*Extracto de suelo al 10%	250 mL
* Mezclar 250 g de suelo rizosferico en 500 mL de agua destilada. Hervir por dos horas. Aforar a 500 mL. Sedimentar y tomar 25 mL del sobrenadante y aforar a 500 mL	

6.2.2.2. Solubilización de calcio

La cuantificación de calcio solubilizado por actividad bacteriana a partir de carbonato de calcio se realizó mediante la metodología descrita por Silva *et al.* 2010 con espectroscopía de absorción atómica. Para ello, las suspensiones bacterianas fueron ajustadas a una densidad óptica (D.O.) de 0.7 a 600 nm. Posteriormente, se inocularon 200 μ L de cada suspensión en 50 mL de medio líquido Pikovskaya modificado y se incubaron a 30 °C durante 7 días bajo condiciones de agitación constante.

Después del periodo de incubación, las muestras se filtraron al vacío utilizando membranas con un tamaño de poro de 0.4 μ m para eliminar cualquier partícula sólida. Las muestras filtradas se diluyeron según los requerimientos del análisis.

La concentración de calcio libre en las muestras fue determinada mediante la construcción de una curva estándar, empleando diluciones sucesivas de una solución de carbonato de calcio. Las mediciones fueron realizadas con un espectrofotómetro de absorción atómica calibrado para la detección de calcio, siguiendo los parámetros recomendados para este tipo de análisis.

6.2.2.3. Solubilización de fosfatos

La cuantificación del fósforo solubilizado por las bacterias, en forma de ortofosfatos, se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Rodríguez-Gómez *et al.*, (2013). Para ello, se prepararon suspensiones bacterianas ajustadas a una densidad óptica (D.O.) de 0.7 a 600 nm. Posteriormente, se inocularon 200 μ L de cada suspensión en 50 mL del medio de cultivo NBRIP contenido en matraces Erlenmeyer de 250 mL, los cuales se agitaron a 150 rpm y se incubaron durante 7 días a 30 °C.

Una vez transcurrido el periodo de incubación, las muestras fueron centrifugadas a 5000 rpm durante 15 minutos para separar la biomasa bacteriana del sobrenadante. El sobrenadante obtenido fue utilizado para determinar la concentración de ortofosfatos mediante el método azul de fosfomolibdeno (Murphy y Riley, 1962). Para el análisis, se tomaron 4 mL del sobrenadante y se adicionó 1 mL de una mezcla de reactivos específica (125 mL de H₂SO₄ 5N, 1.5 g de molibdato de amonio, 1.32 g de ácido ascórbico y 0.03 g de tartrato de antimonio y potasio). Los tubos fueron incubados a temperatura ambiente durante 10 minutos, permitiendo el desarrollo del color azul característico.

La cuantificación de ortofosfatos se realizó midiendo la absorbancia a 882 nm en un espectrofotómetro de luz visible. Las concentraciones de fósforo solubilizado fueron calculadas mediante una curva estándar generada a partir de diluciones sucesivas de una solución de KH₂PO₄ de 0 a 35 μ g/mL.

6.3. Preparación del bioinoculante

La metodología aplicada para los bioinoculantes líquidos y sólidos corresponde al protocolo interno del Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán (CIDAM) para el biofertilizante comercializado como “Madic”. Con la modificación de las bacterias presentes en cada inoculante.

6.3.1. Líquido

La producción del bioinoculante líquido se llevó a cabo mediante el cultivo de cada microorganismo en medio YES, compuesto por 100 g/L de sacarosa y 20 g/L de extracto de levadura. Los cultivos se incubaron bajo condiciones controladas a 30°C, con agitación constante a 120 rpm durante 48 horas.

Transcurrido el tiempo de incubación, se evaluó la viabilidad de los microorganismos mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) en medios sólidos selectivos. Con base en los resultados obtenidos, se realizaron las diluciones necesarias para ajustar las concentraciones de cada microorganismo a 1×10^8 UFC/mL, garantizando una proporción uniforme en el bioinoculante final.

6.3.2. Sólido

Para la elaboración del bioinoculante sólido, se utilizó el bioinoculante líquido previamente preparado, sin realizar ajustes en su concentración. El bioinoculante se preparó con maltodextrina (1000 g/L), fécula de maíz (500 g/L) y tierras de diatomeas (1000 g/L). Tras homogeneización, la mezcla se secó a 60°C/30 min para controlar la humedad. Siendo la maltodextrina el agente encapsulante.

Al finalizar el proceso de secado, se realizó una cuenta viable para verificar la presencia de los microorganismos en la muestra. De ser necesario, se ajustó la concentración final del bioinoculante a 1×10^8 UFC/g, asegurando así que el inoculante sólido contara con la cantidad adecuada de microorganismos para su aplicación.

6.4. Preparación de la semilla

Para la preparación de las semillas, se utilizó maíz híbrido H-318, seleccionado por su ciclo vegetal corto, y maíz criollo “Ocampo” seleccionado por ser esta variedad de la cual se obtuvieron los aislados nativos, proveniente del municipio de Ocampo, Michoacán, lugar de origen de los microorganismos aislados en el estudio. La semilla fue sometida a un proceso de desinfección para eliminar posibles contaminantes y patógenos. Inicialmente, se sumergió en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 5 minutos. Posteriormente, se enjuagó cuidadosamente con agua esterilizada hasta eliminar el olor del hipoclorito, y luego se sometió a una solución de etanol al 70% durante 5 minutos. Finalmente, las semillas fueron enjuagadas con agua destilada para garantizar la eliminación total de los desinfectantes (Pérez-Pérez *et al.*, 2021).

Una vez desinfectadas, las semillas fueron inoculadas con los microorganismos previamente preparados. Para las semillas tratadas con inoculante líquido, se dejaron remojar en el medio durante 30 minutos antes de la siembra. En el caso de las semillas tratadas con inoculante sólido, se realizaron los siguientes pasos: se sumergieron primero en una solución de sacarosa al 50% para asegurar que el inoculante sólido se adhiriera a la superficie de la semilla. Luego, se adicionó el inoculante líquido y se agitó hasta obtener una distribución uniforme del polvo sobre la semilla, asegurando que cada semilla presentara una capa homogénea de inoculante (Fernández 2024).

6.5. Siembra de la semilla

La siembra de las semillas se realizó de manera programada y diferenciada, estrictamente alineada con los objetivos de evaluación en cada etapa fenológica clave. Para garantizar la disponibilidad de plantas en el estado vegetativo específico requerido para cada muestreo: Germinación, V3 y V6.

6.5.1 Germinación y Vigor

Para la evaluación de la germinación, se colocaron 10 semillas en cajas de Petri con algodón estéril y humedecido con 20 mL de agua estéril. Se inoculó la bacteria según lo descrito en el punto anterior de la metodología. Se incubaron en oscuridad a 30°C durante 10 días. Momento en el cual se contabilizó el número de semillas germinadas. El experimento se realizó 10 veces con cada bacteria. Para la cuantificación de la germinación se utilizó la siguiente fórmula (Guillen-de laCruz, *et al.*, 2018):

$$GER = \frac{\text{No de plántulas emergidas al día 10}}{\text{Total de semillas sembradas}} * 100$$

Para el vigor se realizaron los mismos pasos descritos en germinación y se midió la longitud de la parte aérea 10 días después de la emergencia (dde) con un pie de rey y se utilizó la siguiente fórmula para su cálculo (Kharb *et al.*, 1994 y Cervantes *et al.*, 2006):

$$VIG = GER * \text{Longitud de la parte aérea en el día 10 dde}$$

6.5.2 Preparación del suelo

Se utilizó una mezcla de tierra de encino, grava y topure (2:1:1) con el objetivo de replicar condiciones de campo. Se realizó un análisis físico químico en el laboratorio de suelos del CIDAM para conocer las características del suelo, resultando en lo observado en la Tabla 8:

Tabla 8 Análisis físico químico de la mezcla de sustrato

Tipo de suelo	Franco	
Densidad aparente	0.6 g/cm ³	
Nitrógeno	13.27 mg/kg	Bajo
Azufre	39.42	Muy alto
Fósforo	3.64	Bajo
Sodio	60.27	Bajo
Potasio	184.85	Mod bajo
Magnesio	552.24	Mod alto
Micro		
Fierro	67.45	Muy alto
Zinc	3.26	Mod alto
Cobre	1.03	Medio
Manganeso	130.86	Muy alto
Boro	<0.25	Muy bajo

6.5.3 Etapa vegetativa 3 (V3)

Se preparo la semilla como previamente se describió y se procedió a sembrarse en semilleros de 21 pocillo en combinación del sustrato antes descrito. Se dejaron en condiciones ambientes dentro del invernadero del CIDAM, donde se regaron hasta capacidad de campo cada dos días. Se utilizaron 3 semilleros por cada tratamiento.

Se midieron la longitud de la parte aérea (LA) desde el inicio del tallo hasta el final de este, la longitud de la raíz (LR) desde el origen hasta el final de esta y el peso seco (PS) con la siguiente metodología: Pesado inicial, seguido de un secado en horno a 60°C por 24h y un pesado final.

6.5.4 Etapa vegetativa 6 (V6)

Para dicha etapa se realizó lo descrito para V3, tanto en preparación, como en mediciones, con la diferencia de que se sembró en recipientes de 500 mL con perforaciones para garantizar un drenaje optimo, se dejó crecer hasta que se formara la sexta hoja real y se fertilizó con base en los cálculos a continuación descritos:

6.6. Fertilización química

Para la fertilización química se utilizaron los resultados de la Tabla 8 más la tabla de absorción de nutrientes (Tabla 3). Con estas dos tablas se estableció una relación de los nutrientes necesarios contra los presentes en el suelo, adicionando únicamente los necesarios para cumplir dichos nutrientes. De esta forma, se realizaron los cálculos pertinentes para una producción meta de 10 t/ha para el maíz híbrido (según la recomendación de le etiqueta) y 4

t/ha para el maíz criollo, siendo este el promedio obtenido con anterioridad en la región descrito por los locatarios. De esta forma se obtuvieron las siguientes dosis:

Tabla 9 Fertilizaciones aplicadas a los tratamientos de invernadero (V6)

Fertilización química completa (C100)	Fertilización reducida 50% (C50)
Híbrido Rendimiento meta 10 ton/ha	
DAP (18, 46, 0) 203 kg/ha	DAP (18, 46, 0) 101.5 kg/ha
Urea (46, 0, 0) 412 kg/ha	Urea (46, 0, 0) 206 kg/ha
N = 3.19 g/planta	N = 1.595 g/planta
P = 1.334 g/planta	P = 0.667 g/planta
Criollo Rendimiento meta 4 ton/ha	
DAP 81.2 kg/ha	DAP 40.6 kg/ha
Urea 164.8 kg/ha	Urea 82.4 kg/ha
N = 1.276 g/planta	N = 0.638 g/planta
P = 0.5336 g/planta	P = 0.2668 g/planta

Se dosifico las fertilizaciones para imitar las aplicaciones usuales en campo, siendo así que de lo descrito en la Tabla 9, se adiciono la mitad en la siembra y el restante al mes de emergencia, esto para V6.

6.7. Ensayos en campo

Una vez obtenidos los resultados de las etapas VE, V3 y V6, se seleccionaron los microorganismos que mostraron mayor consistencia en promover el crecimiento en dichas etapas. Para ello, se realizó un análisis de componentes principales y se comparó cada microorganismo contra el control respectivo (prueba de Tukey, $p < 0.05$), en cada fase (VE, V3) asignando:

- +1; si el microorganismo era estadísticamente superior al control
- 0; si no había diferencia significativa,
- 1; si era estadísticamente inferior al control.

Este método permitió identificar los microorganismos con efectos positivos más consistentes a lo largo de todas las etapas evaluadas, integrando su desempeño relativo en un sistema de puntuación cuantitativa.

6.7.1. Condiciones de la parcela

Para la validación en campo, se obtuvo el consentimiento del agricultor Javier Aburto para utilizar su parcela ubicada en Santiago Undameo, Michoacán (coordenadas: 19.596077, -101.281884). En la Figura 4 se presenta una vista satelital del terreno.



Figura 4 Vista satelital del terreno en Santiago Undameo. Cuadro negro resaltando el espacio

Manejo agronómico del agricultor:

Cultivo: Maíz híbrido H-318, con una densidad de 62,500 plantas/ha (20 cm entre cada planta)

Área cultivada: $\frac{1}{4}$ de hectárea, trabajada ininterrumpidamente durante 10 años.

Método de siembra: Mecanizada (tractor), con aplicación simultánea de:

Fertilizante: DAP (18-46-00) a 100 kg/ha.

Pesticida: Malathion 4% (Dietil (dimetoxifosfinotiolto) succinato) a 25 kg/ha.

Manejo posterior:

Herbicida (2 semanas después de siembra): Faena (Glifosato, sal isopropilamina $\geq 74\%$) aplicado a 10 mL/L de agua (equivalente a 2 L/ha).

Etapas V8: Aplicación de DAP y Malathion en las mismas proporciones, mediante tractor.

Total de fertilizante utilizado: 200 kg/ha de DAP

Riego: Temporal (dependiente de lluvias).

6.7.2. Diseño de experimentos

Se realizó un bloque completamente al azar con 15 plantas con 3 repeticiones por tratamiento quedando como lo describe la Tabla 10.

Tabla 10 Tratamientos para las pruebas en campo

Código	Tratamiento
REG	Fertilización química utilizada por el agricultor (200 kg/ha de DAP)
C50	Reducción del 50 % de la fertilización regional (100 kg/ha de DAP)
B1	B1 + C50
B2	B2 + C50
B3	B3 + C50
B4	B4 + C50

De esta forma se llevó a cabo la siembra el 23 de junio de 2024 (tras la "primera lluvia", habitual entre abril y mayo) donde se inoculo la semilla conforme a la metodología descrita y se sembró con las mismas practicas del agricultor. Quedando los tratamientos como lo muestra la Figura 5

C50	B2	B1	B3	REG
REG	B1	C50	B2	B3
B3	C50	REG	B1	B2
B2	REG	B3	C50	B1
B1	B3	B2	REG	C50

Figura 5 Representación de los tratamientos en la parcela de Santiago Undameo

6.7.3. Medición de parámetros

Se cosecho manualmente 7 de noviembre de 2024 y se recolecto la planta para sus mediciones en el laboratorio de nutrición vegetal del CIDAM. Se midieron los parámetros de longitud de la parte área medida hasta la hoja bandera, peso de la raíz (PR) pesado en balanza analítica y peso seco de la planta mediante su secado en un horno a 60°C por 24 h.

Para la medición de los parámetros de rendimiento se contabilizó el número de mazorcas (NM) presentes por planta de cada tratamiento, se desgranó la mazorca de manera manual y se pesó el grano seco (60°C por 24h) y el olote para con ello obtener la relación de gramos de grano por mazorca (G/M) y la relación porcentual de gramos de grano y olote (G/O). Finalmente, para el rendimiento se utilizó el manual de determinación de rendimiento del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) publicado en el 2012.

Se comienza delimitando el área y se registra el peso de los granos pertenecientes a dicha área. Posteriormente se procede a calcular la humedad de una submuestra de 200 g, esto secando en horno a 60°C hasta peso constante. Una vez obtenido el peso seco de los 200 g, se calcula la humedad con la diferencia del peso húmedo de la submuestra y el peso seco del mismo y se divide entre el peso húmedo.

Después se calcula el rendimiento seco donde se obtiene la diferencia del peso seco de los 200g de los granos y la cantidad de humedad anterior, para dividirlo entre el área delimitada en el primer paso. Una vez con estos dos resultados, se procede a calcular el rendimiento a un 12% de humedad, que es el estándar para expresar rendimiento en maíz. Siendo que se divide el rendimiento en seco entre 0.88. Obteniendo de esta forma la siguiente formula

$$Ren (12\% de humedad) = \frac{Peso\ del\ grano\ total * Peso\ humedo\ de\ 200\ g}{Área * Peso\ seco\ de\ 200\ g * 0.88} * 10$$

6.7.4. Permanencia de los microorganismos

Adicionalmente, se evaluó la colonización bacteriana en las raíces, un parámetro clave para determinar la interacción entre las bacterias inoculadas y el sistema radicular. La metodología empleada para este análisis siguió los protocolos descritos por Barua *et al.*, (2023). Se realizó una dilución seriada en buffer de fosfatos para estabilizar las muestras. Posteriormente, se utilizó un proceso de sonicación para liberar las bacterias adheridas a la superficie de las raíces. El líquido obtenido después de la sonicación se utilizó para realizar una cuenta viable, mediante la cual se cuantificaron los microorganismos presentes en la muestra. Este procedimiento permitió estimar la cantidad de bacterias colonizando las raíces y evaluar la efectividad del bioinoculante en la colonización radicular.

Con los anteriores aislados, se procedió a calcular los índices de Simpson y Shannon. Simpson (D) (Bouza *et al.* 2005):

$$D = \sum Pi^2$$

$$Pi = \frac{ni}{N}$$

Donde:

N: Total de colonias en la caja

Ni: Total de cada morfología presente

α : Total de diferentes morfologías

La D dará un valor entre 0 y 1, donde de 0 a 0.3 se considera una baja biodiversidad, de 0.3 a 0.6 biodiversidad media y de 0.6 a 1 alta biodiversidad.

Shannon (H) (Torre-Hernández *et al.*, 2020):

$$H = - \sum P_i * \ln(P_i)$$
$$P_i = \frac{n_i}{N}$$

Donde

Donde:

N: Total de colonias en la caja

Ni: Total de cada morfología presente

Para el índice de Shannon de 0 a 1.35 es una baja biodiversidad, de 0.35 a 3.5 es una biodiversidad media y mayor a 3.5 es una alta biodiversidad.

Para determinar si los microorganismos aislados de la raíz de maíz son los mismos que los microorganismos inoculados, se llevaron a cabo una serie de pruebas bioquímicas. Estas pruebas incluyen tinción de Gram, prueba de catalasa (Bou *et al.* 2011), y la evaluación cualitativa de la capacidad de los microorganismos para fijar nitrógeno, así como para solubilizar calcio y fosfato. Además, se realizó un antibiograma para evaluar la resistencia a los antibióticos azitromicina, biotricina, gentamicina, amoxicilina, trimetoprima + sulfametoxazol (Todos los antibióticos fueron utilizados a una concentración de 1 mg/mL. March y Batros 2014).

Para llevar a cabo estas evaluaciones, se realizaron inicialmente todas las pruebas en los microorganismos originales. Luego, las mismas pruebas se repitieron en los microorganismos aislados. Los resultados obtenidos de los aislados se compararon con los obtenidos para los microorganismos originales. Este proceso permitió determinar si los microorganismos aislados eran idénticos a los originales, proporcionando una evaluación integral de su perfil bioquímico y de resistencia a antibióticos.

6.8. Análisis estadístico

El análisis estadístico se dividió en dos pruebas principales; Análisis de varianza (ANOVA) de dos vías seguido de la prueba Tukey $\alpha = 0.05$ para encontrar diferencias significativas, dicha prueba se utilizó para los grupos que cumplieran los supuestos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk $p < 0.05$) y homocedasticidad (prueba de Levene, $p < 0.05$).

Para aquellos que cumplieron normalidad, pero no homocedasticidad, un ANOVA de dos vías, utilizando la prueba robusta de Brown-Forsythe seguido de una prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$).

Desde la perspectiva metodológica, las principales diferencias entre los procedimientos estadísticos descritos radican en su tratamiento de la varianza y en los estadísticos empleados. Por un lado, el ANOVA paramétrico convencional junto con la prueba de Tukey operan bajo el supuesto de homocedasticidad, utilizando una estimación de la varianza y la distribución de rango estandarizado para todas las comparaciones múltiples. Por otro lado, el enfoque robusto del ANOVA de Brown-Forsythe con la prueba post hoc de Games-Howell prescinde del supuesto de homocedasticidad, empleando varianzas individuales por grupo y adaptando tanto el estadístico de prueba como los grados de libertad para cada comparación específica mediante la aproximación de Welch-Satterthwaite. Esta diferencia fundamental en el manejo de la varianza convierte a este último procedimiento en una alternativa más conservadora y apropiada cuando existe heterocedasticidad en los datos, garantizando la robustez de las inferencias estadísticas ante la violación de este supuesto paramétrico esencial.

Las pruebas se realizaron el software IBM SPSS Statistics y Statistica.

7. Discusión y resultados

7.1. Selección de bacterias.

Para la selección de bacterias se compararon los resultados obtenidos por el grupo de trabajo (Melgoza 2025), correspondientes a aislados de suelos maiceros en el municipio de Ocampo, con los aislados obtenidos en esta investigación en el municipio de Nahuatzen. De este último suelo se obtuvieron 14 aislados bacterianos, los cuales se nombraron como N1, N2, etc., y se procedió a realizar las pruebas cualitativas, cuyos resultados se recogen en la Tabla 11.

Se observó que, de los 14 aislados, 8 presentaron al menos una actividad de promoción del crecimiento, correspondientes a los aislados N1, N2, N4, N6, N7, N8, N9 y N10. Con base en estos resultados, se procedió a realizar las pruebas cuantitativas según la metodología descrita, para determinar de manera más precisa esta capacidad de promoción, obteniéndose los resultados expuestos en la Tabla 12.

Tabla 11 Evaluación cualitativa de la capacidad de los aislados rizosféricos de Nahuatzen como potenciales promotoras del crecimiento vegetal.

Aislado	N	P	Ca
N1	+	-	-
N2	-	+	+
N3	-	-	-
N4	-	+	+
N5	-	-	-
N6	-	-	+
N7	+	+	+
N8	+	-	-
N9	+	+	+
N10	+	-	+
N11	-	-	-
N12	-	-	-
N13	-	-	-
N14	-	-	-
<i>A. brasilense</i>	-	+	-
<i>E. coli</i>	-	-	-
<i>Burkholderia</i> sp.	-	+	+

Fijación de nitrógeno (N), solubilización de fosfatos (P) y calcio (Ca). “+” resultado positivo en el ensayo, “-” resultado negativo en el ensayo.

Los aislados de Nahuatzen demostraron capacidades significativas en la promoción del crecimiento vegetal. Se destacó el aislado N8 en fijación de nitrógeno (10.8 mg/mL), aunque fue estadísticamente inferior al control positivo, un caso similar al del aislado N7, que presentó el mejor resultado en solubilización de fosfatos (5.91 mg/mL) y también fue inferior

al control. Por su parte, en la solubilización de calcio la mayoría de los aislados con esta actividad fueron superiores al control, destacando el aislado N2 como el mayor solubilizador (502.57 mg/mL).

Tabla 12 Evaluación cuantitativa de la capacidad de los aislados rizosféricos de Nahuatzen como potenciales promotoras del crecimiento vegetal

Aislado	N (mg/mL de NH ₄)	P (mg/mL)	Ca (mg/mL)
N1	1.6±0.02F	NA	NA
N2	NA	3.10±0.09C	502.57±15.08 A
N4	NA	0.78±0.03D	296.76±11.87C
N6	NA	NA	71.66±0.72D
N7	6.1±0.18C	5.91±0.18B	308.13±9.24C
N8	10.8±0.32B	NA	NA
N9	3.2±0.16E	3.07±0.15C	483.07±24.15AB
N10	4.6±0.23D	NA	452.87±22.64B
<i>A. brasilense</i>	97.3±3.89A	NA	NA
<i>E. coli</i>	NA	NA	NA
<i>Burkoldelia sp.</i>	NA	82.90±2.49A	80.10±2.40D

N: Fijación de nitrógeno. P: Solubilización de fosfatos. Ca: Solubilización de calcio NA: No analizado. Análisis de varianza ANOVA de una vía y prueba post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$, $n = 3 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

Al comparar las cepas aisladas en Nahuatzen con las aisladas en Ocampo, Michoacán, por el Laboratorio de Plagas del CIDAM, se observaron diferencias significativas en su eficiencia (Tabla 13), donde los resultados de Ocampo fueron estadísticamente superiores a los aislados de Nahuatzen. Se observa que B55 fija 45.14% más que N8, siendo ambos los mejores resultados para fijación biológica de nitrógeno. Por su parte B16 solubiliza fosforo 46.53% más que N7 y B66 fija calcio 38.52% más que N2.

Tabla 13 Comparativa de los mejores resultados de los aislados de Nahuatzen contra los de Ocampo

Prueba	Aislado	Nahuatzen	Bacteria	Ocampo
Nitrógeno	N8	10.8±0.32B	<i>Exiguobacterium</i> sp. B55	19.69± 0.35A
Fosfato	N7	5.91±0.18B	<i>Bacillus subtilis</i> B16	12.7± 0.07A
Calcio	N2	502.57±15.08B	<i>Enterococcus</i> sp. B66	817.55±23.60A

Análisis de varianza ANOVA de una vía y prueba post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$, $n = 3 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

De esta manera, para continuar los ensayos, se seleccionaron los aislados B16, B55 y B66, a los que se añadió el aislado *Lysinibacillus* sp. B44 por realizar las tres actividades promotoras simultáneamente (N: 18.59 ± 0.11 , P: 2.66 ± 0.02 y Ca: 316.22 ± 1.83).

Asimismo, se utilizaron como contraste bacterias previamente caracterizadas en el Laboratorio de Nutrición Vegetal del CIDAM, seleccionadas por sus capacidades de promoción del crecimiento vegetal para la elaboración de un bioinoculante comercial: *Pseudomonas putida* ACJ-14 (ACJ), *Azospirillum* sp. INP45 (AZO), *Azotobacter* sp. BKY (BKY) y *Paenibacillus polymyxa* LAD-07 (LAD). De este modo, como se muestra en la Tabla 14, se trabajó con un total de ocho bacterias: cuatro aisladas del suelo de Ocampo y cuatro cepas de colección. Todas las bacterias presentan actividades promotoras del crecimiento.

La selección final de un consorcio compuesto por las cuatro cepas de Ocampo y las cuatro cepas de colección se fundamenta en la búsqueda de una solución robusta y complementaria. Si bien los aislados de Nahuatzen mostraron capacidades promisorias, particularmente en la solubilización de calcio, la superioridad estadística consistente de las cepas de Ocampo en las actividades cuantificadas las posiciona como los candidatos más sólidos para un inoculante dirigido a incrementar el rendimiento. La inclusión de la cepa *Lysinibacillus* sp. B44 es estratégica, ya su capacidad para realizar las tres actividades promotoras simultáneamente sugiere un potencial de mayor estabilidad y eficacia en campo. Al combinar estos aislados nativos de alto desempeño con cepas de colección ampliamente validadas, como *Pseudomonas putida* ACJ-14, se conforma un grupo diverso que podría exhibir efectos sinérgicos, mitigando así la limitante de eficiencia individual y aumentando la probabilidad de éxito en diversas condiciones ambientales.

Tabla 14 Bacterias seleccionadas para las pruebas en invernadero y su capacidad de promoción de crecimiento

Bacteria	Identificación	Actividad promotora
B16	<i>Bacillus subtilis</i> B16	Solubilizador de fosfato
B44	<i>Lysinibacillus</i> sp. B44	Realiza las tres
B55	<i>Exiguobacterium</i> sp. B55	Fijadora de nitrógeno
B66	<i>Enterococcus</i> sp. B66	Solubilizadora de calcio
ACJ	<i>Pseudomonas putida</i> ACJ-14	Solubilizadora de fosfato
LAD	<i>Paenibacillus polymyxa</i> LAD-07	Realiza las tres actividades
BKY	<i>Azotobacter</i> sp. BKY	Fijadora de nitrógeno
AZO	<i>Azospirillum</i> sp. INP45	Fijadora de nitrógeno

7.2. Efecto de las formulaciones sólidas y líquidas en la germinación y vigor de maíz criollo e híbrido

Maíz criollo

El efecto en la germinación (Fig. 6) para el maíz criollo con aplicaciones sólidas fue muy positivo, ya que los ocho tratamientos superaron al control (78.94%), lo que indica que, sin distinción, las bacterias aumentaron significativamente la germinación. Caso contrario ocurrió en el grupo líquido, donde ningún tratamiento fue estadísticamente superior al control; solo B44 y B55 fueron iguales, mientras que el resto resultó inferior, lo que sugiere que la adición de estas bacterias en esta formulación puede ser perjudicial. En este sentido, se concluye que el tipo de aplicación tiene un efecto determinante en la germinación, ya que, aun tratándose de la misma bacteria, los resultados varían como se observa en la gráfica.

Entre las formulaciones sólidas, ACJ y LAD alcanzaron la máxima eficacia con un 98% de germinación, lo que representa una mejora del 19.06% respecto al control, mientras que el peor tratamiento fue BKY con 89.83%. Por el contrario, las aplicaciones líquidas mostraron menor eficacia: B44 (80.95%) y B55 (78.57%) fueron las únicas bacterias estadísticamente iguales al control, y el peor resultado correspondió a ACJ con 62.75%.

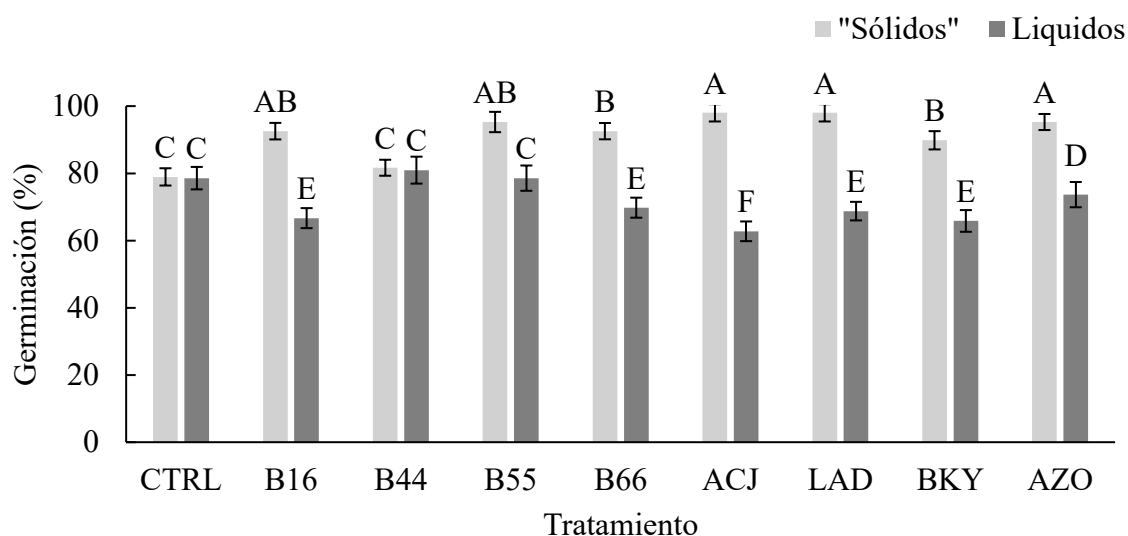


Figura 6 Efectos de las diferentes bacterias y aplicaciones en la germinación del maíz criollo. Análisis de varianza ANOVA de dos vía y prueba post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$, $n = 10 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

Respecto al vigor (Fig. 7), se observa que los tratamientos con mayor germinación no necesariamente presentaron el mayor vigor. No obstante, en el grupo sólido todos los tratamientos superaron al control (215.76), lo que indica que no solo favorecen la germinación, sino también el crecimiento inicial de la planta. Cabe recordar que el vigor representa la relación entre la germinación y la longitud de la planta (raíz más parte aérea)

en los primeros diez días después de la emergencia. Por su parte, el grupo líquido mostró un mejor comportamiento en vigor que en germinación, ya que cinco tratamientos superaron al control y solo tres estuvieron por debajo.

En las aplicaciones sólidas, B55 registró el mayor vigor con 327.09, mientras que ACJ tuvo el menor del grupo con 286.16. En los líquidos, B44 presentó el valor más alto de todos con 327.57, y ACJ fue el peor tratamiento con 117.38. La combinación de germinación y vigor refleja el efecto de las bacterias en las etapas tempranas de crecimiento, donde tratamientos como B55-S y LAD-S muestran altos índices en ambos parámetros. Por otro lado, los líquidos con baja germinación, pero alto vigor indican que, una vez establecida la planta, la bacteria ejerce un efecto positivo, aunque a costa de la germinación.

Los índices de Pearson que comparan germinación con vigor indican una correlación positiva fuerte (0.8311) para el grupo líquido y una correlación media (0.6625) para el sólido, lo que sugiere que, a mayor germinación, mayor vigor, o viceversa. Esta tendencia se mantiene al comparar los grupos autóctonos, e incluso se intensifica (0.9748 para sólidos y 0.9366 para líquidos). Por su parte, el grupo alóctono sólido presenta una correlación negativa débil (-0.1300), mientras que el líquido muestra una correlación positiva fuerte (0.8502). Esto indica que existe un efecto relacionado tanto con el origen como con la formulación, con excepción del grupo alóctono sólido, que no presenta relación entre vigor y germinación.

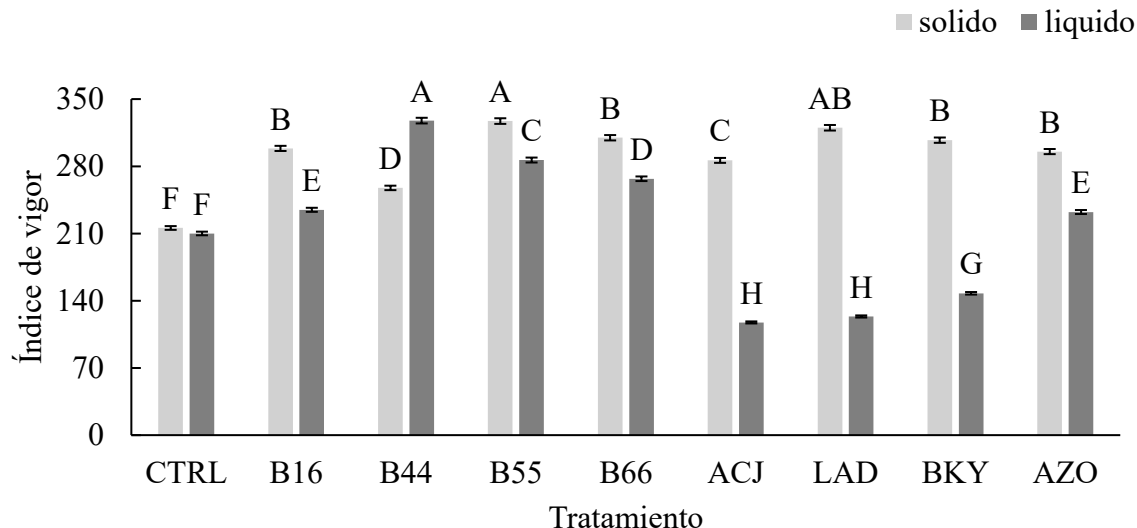


Figura 7 Efectos de las diferentes bacterias y aplicaciones en el vigor del maíz criollo. . Análisis de varianza ANOVA de una dos y prueba post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$, $n = 10 \pm$ DE). Letras distintas representan diferencias significativas

De esta forma, se concluye que tanto la formulación como el origen influyen en la germinación, siendo la formulación sólida la que mantiene un efecto mayor y constante,

independientemente de la bacteria, a diferencia de las aplicaciones líquidas, que mostraron disminuciones en la germinación. En cuanto al vigor, este se incrementó en casi todas las formulaciones, aunque las aplicaciones líquidas fueron las más afectadas, con tres valores por debajo del control. Todo esto indica que, para la germinación, las aplicaciones sólidas autóctonas son las más efectivas, tanto en germinación como en vigor.

Maíz híbrido

La germinación en el maíz híbrido (Fig. 8) presentó un control de 82.22%. En las aplicaciones sólidas, dos tratamientos fueron superiores al control, mientras que el resto mostró una significancia estadística igual. Por su parte, las aplicaciones líquidas registraron tres tratamientos superiores, pero los restantes fueron inferiores al control. En este maíz se observa un efecto general mejorado, aunque se mantiene la ventaja del grupo sólido, ya que, si bien no mostró resultados tan marcados como en el criollo, tampoco presentó los efectos negativos del grupo líquido. Por lo tanto, aunque algunos tratamientos líquidos superaron al control, como grupo, los sólidos demostraron mayor consistencia.

Entre las aplicaciones sólidas, ACJ presentó la mayor germinación con 95.55%, mientras que el menor resultado correspondió a B16 con 71.11%. En el grupo líquido, ACJ, LAD y BKY también alcanzaron 95.55%; sin embargo, B55 y B66 mostraron el menor efecto con 33.33%. Así se corrobora que las aplicaciones sólidas mantienen una constancia en su efecto superior a las aplicaciones líquidas.

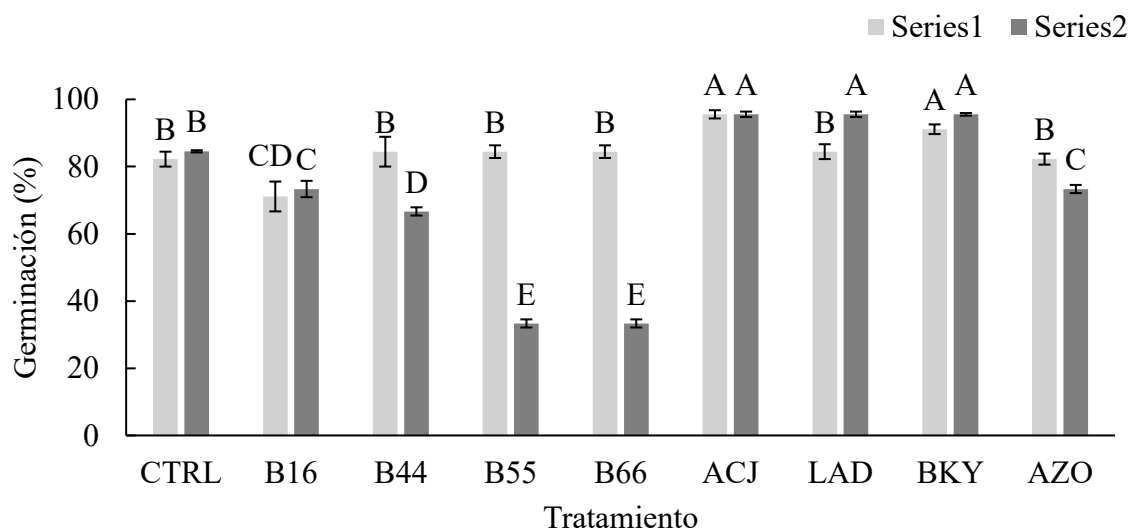


Figura 8 Efectos de las diferentes bacterias y aplicaciones en la germinación del maíz híbrido. Análisis de varianza ANOVA de dos vías y prueba post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$, $n = 10 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

Respecto al vigor (Fig. 9), el grupo sólido presentó siete tratamientos por encima del control y uno por debajo. En contraste, todos los tratamientos líquidos estuvieron por debajo del control, lo que indica que, en este caso, el grupo líquido influyó negativamente en el crecimiento temprano de la planta, reduciendo su vigor.

En el grupo sólido, B55 registró el mayor vigor con 409.088, mientras que B16 fue el peor con 211.90. Por su parte, en los líquidos, B16 mostró el mejor resultado con 246.87, y el peor fue 100.65, valor inferior al control (301.89). Con esto se ratifica el efecto negativo de las aplicaciones líquidas.

En los índices de Pearson se observa una fuerte correlación entre germinación y vigor para las aplicaciones sólidas y líquidas, con 0.8253 y 0.8727, respectivamente. Los grupos autóctonos sólidos y líquidos presentaron correlaciones de 0.9752 y 0.9947, mientras que los grupos alóctonos sólidos y líquidos mostraron valores de 0.9888 y 0.1826, respectivamente. Esto indica una fuerte correlación en la mayoría de los grupos, con excepción del alóctono líquido, que presentó una correlación débil.

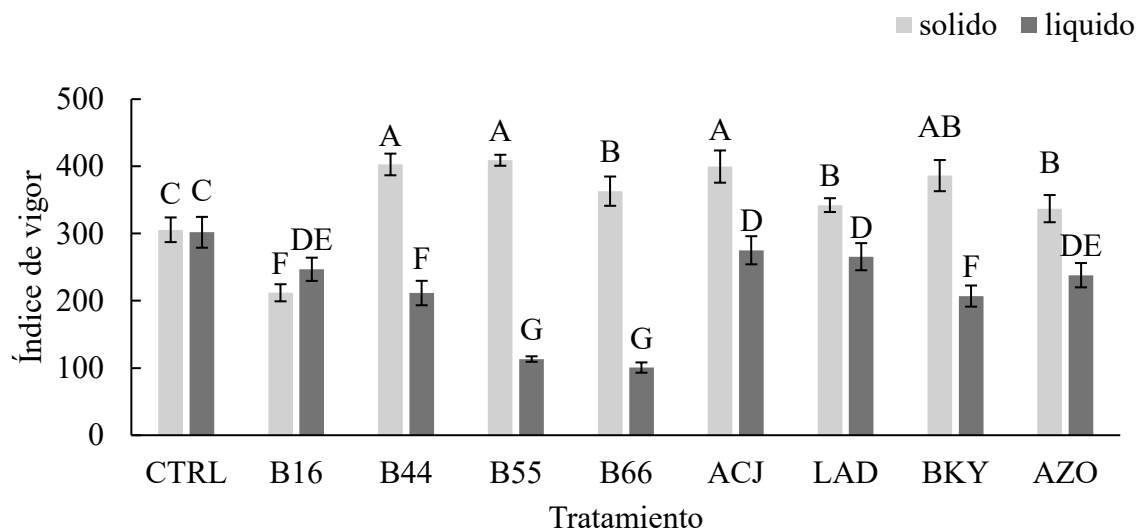


Figura 9 Efecto de las bacterias y las aplicaciones en el vigor del maíz híbrido. Análisis de varianza ANOVA de dos vías y prueba post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$, $n = 10 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

De esta forma, al igual que en el maíz criollo, se observa una tendencia de mayor efecto en los tratamientos sólidos, los cuales incrementan el vigor y la germinación, a diferencia de los líquidos, que incluso resultaron inferiores a sus controles.

Los resultados de germinación y vigor observados en ambas variedades de maíz pueden explicarse mediante los mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del

crecimiento (PGPR). Estos microorganismos participan en la activación temprana del metabolismo de las semillas mediante la producción de fitohormonas como giberelinas que estimulan la germinación, la movilización de reservas energéticas, la reducción de la sensibilidad al ácido abscísico y el estímulo de la división celular del meristemo radical (Chen *et al.*, 2021). Estos mecanismos coinciden con lo reportado por Sánchez-Ceja *et al.* (2023), quienes demostraron que las PGPR mejoran la germinación y el establecimiento temprano de plántulas, mientras que Wahab *et al.* (2024) destacan su papel en la mejora de la absorción de nutrientes en etapas iniciales.

Sin embargo, el efecto contrastante entre formulaciones observado en este estudio - especialmente el menor desempeño de los líquidos- encuentra explicación en el fenómeno de fitotoxicidad por excedentes metabólicos. Las formulaciones líquidas favorecen la acumulación de compuestos como ácidos orgánicos que modifican el pH del suelo alterando actividades enzimáticas clave como las α -amilasas, así como compuestos fenólicos que generan estrés oxidativo en tejidos (Zhang *et al.*, 2021). Igualmente crítico resulta el desbalance hormonal, donde altas concentraciones de auxinas, giberelinas o citocininas inducen la síntesis de etileno (Knoester *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 2022), afectando negativamente la germinación.

Esta explicación resulta coherente con los resultados donde, si bien existen reportes exitosos de aplicaciones líquidas como el 100% de germinación con *Serratia marcescens* (Amogou *et al.*, 2018) o 98.33% con *Azospirillum lipoferum* (Noumavo *et al.*, 2013), los incrementos relativos frente al control fueron modestos (6.25% y 16.66%, respectivamente). En contraste, este estudio logró mejoras superiores del 19.06% (ACJ/LAD, sólido) y 13.3% (BKY, líquido), superando incluso el 1.34% documentado para *Burkholderia gladioli* (dos Santos *et al.*, 2022). Siendo todos estudios en maíz híbrido.

Estas comparativas permiten establecer que: la formulación sólida optimiza la interacción bacteria-planta, dosificando adecuadamente los metabolitos y evitando efectos fitotóxicos, lo que explica su consistencia en ambas variedades. La especificidad de cepa (ejemplificada por ACJ, efectiva en híbrido y criollo) es tan relevante como el método de aplicación. El marcado efecto negativo en líquidos -especialmente en híbrido con tratamientos de 33.33% de germinación- confirma los riesgos de fitotoxicidad en esta formulación, respaldando la superioridad documentada de los sólidos para un manejo confiable en etapas tempranas.

7.3. Efecto de las formulaciones sólidas y líquidas en la etapa vegetativa tres (V3) en maíz criollo e híbrido

A continuación, se presentan los resultados del análisis de las diferentes comunidades bacterianas en la etapa fenológica V3 para las variedades de maíz híbrido y criollo. Esta fase, definida por la formación de las tres primeras hojas verdaderas, es un período crítico para el monitoreo temprano. En V3, la planta manifiesta las condiciones previas a las que fue

sometida: se observa el impacto del manejo en V1, donde un déficit de agua o nutrientes pudo haber limitado el desarrollo del sistema radicular, y de V2, donde la falta de luz o nutrientes pudo afectar la formación del primer tallo, precursor de la mazorca, siendo un indicador para el rendimiento futuro (Ciampitti, *et al.* 2016).

Maíz criollo

Longitud de la raíz

Como se puede observar en la Figura 10, de los tratamientos sólidos, cuatro de ellos (25%) mostraron una longitud radicular estadísticamente superior al control, mientras que el restante fue igual. Por otro lado, entre las aplicaciones líquidas, dos tratamientos fueron superiores al control (12.5%), cinco fueron equivalentes (31.25%) y uno resultó inferior (6.25%). En consecuencia, las formulaciones sólidas mostraron mayores efectos significativos en comparación a las líquidas.

En cuanto a los valores específicos, en las aplicaciones sólidas el tratamiento AZO registró la mayor longitud (16.97 cm), y B66 la menor (10.77 cm). Para las aplicaciones líquidas, B16 obtuvo el mejor resultado (16.96 cm), y LAD el menor de todos los tratamientos (6.62 cm). Así, el rango absoluto de longitud radicular varió desde 6.62 cm (LAD líquido) hasta 16.97 cm (AZO sólido). Por lo tanto, si bien ambas formulaciones pueden alcanzar efectividades máximas similares, las aplicaciones líquidas presentan una mayor variabilidad.

De los seis tratamientos bacterianos que superaron al control (AZO-S, B16-S, BKY-S, ACJ-S, B55-L y B44-L), cuatro correspondieron a formulaciones sólidas y dos a líquidas. Estos fueron capaces de incrementar la longitud de la raíz hasta en un 47.95% (AZO sólido), lo que indica un efecto promotor del crecimiento más notable en las aplicaciones sólidas en comparación con las líquidas.

Respecto a las actividades promotoras de las cepas superiores al control, no se identificó un patrón claro que asociara una función específica con la eficacia. AZO, BKY y B55 solo realizan fijación de nitrógeno, ACJ solo solubiliza fosfato, mientras que B16 y B44 realizan ambas actividades. Cabe destacar que LAD, el único tratamiento inferior al control que también realiza las tres actividades. En definitiva, la efectividad de una cepa no parece estar determinada por la posesión de una o múltiples actividades promotoras de crecimiento conocidas *in vitro*.

El análisis de correlación de Pearson reveló una relación negativa débil (-0.1344) entre las longitudes radiculares promovidas por las formulaciones sólidas versus las líquidas, lo que sugiere que el efecto de una bacteria no es predictivo de su desempeño en la otra formulación. Sin embargo, al analizar por origen, las bacterias alóctonas mostraron una correlación positiva muy fuerte (0.9394). Por el contrario, las bacterias autóctonas presentaron una correlación negativa débil (-0.1407). En conclusión, no existe una relación directa general

entre el desempeño de las aplicaciones líquidas y sólidas, pero sí se encuentra una correlación positiva muy fuerte dentro del grupo de bacterias alóctonas.

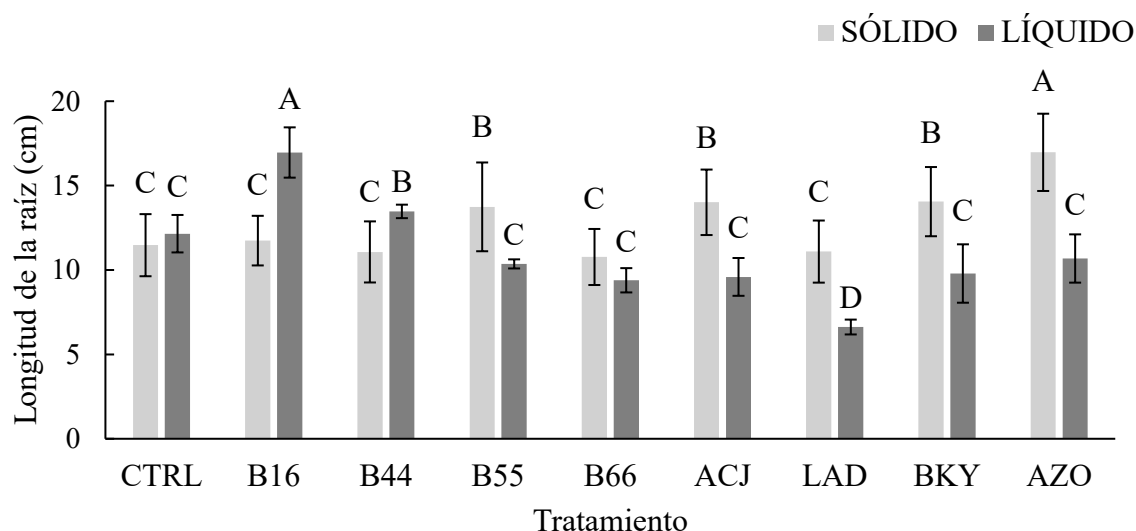


Figura 10 Efecto de las bacterias y aplicaciones en la longitud de la raíz de maíz criollo en V3. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

Para la longitud de la raíz se concluye que las formulaciones sólidas demostraron ser la aplicación más efectiva para promover el crecimiento, sin embargo, no se puede catalogar como inferiores a las aplicaciones líquidas. Así mismo, no se puede atribuir un efecto al tipo de actividad promotora del crecimiento evaluada in vitro y finalmente la respuesta consistente de las bacterias alóctonas en ambas formulaciones las coloca como el grupo más confiable para elongar la raíz.

Longitud de la parte área

A diferencia de lo observado en la raíz, el efecto positivo sobre la parte aérea fue universal para todas las bacterias y formulaciones probadas ya que todos los tratamientos bacterianos resultaron estadísticamente superiores al control como le muestra la Figura 11. En las aplicaciones sólidas, B66 registró la mayor longitud (15.93 cm), mientras que AZO presentó el valor más bajo (11.72 cm). Para las formulaciones líquidas, B66 fue nuevamente el tratamiento más destacado (25.54 cm), siendo B44 el de menor longitud (13.58 cm). El rango absoluto de este parámetro varió desde 11.72 cm (AZO sólido) hasta 25.54 cm (B66 líquido), lo que representa un incremento máximo del 133.88% con respecto al control. Si bien todas

las bacterias promueven el crecimiento, en esta ocasión, los picos máximos se encuentran en las aplicaciones líquidas, demostrando mayor efecto en este parámetro específico.

Dado que todas las cepas ejercieron un efecto significativamente positivo sobre la longitud aérea, una vez más es imposible atribuir la eficacia a una bacteria en particular o a una actividad promotora específica (como la fijación de nitrógeno o la solubilización de fosfatos). Por lo tanto, se corrobora que el efecto promotor en la parte aérea es una respuesta no ligada, sin que un mecanismo único parezca dominar el resultado.

El análisis de correlación de Pearson mostró una relación positiva débil (0.2307) entre el desempeño de las aplicaciones líquidas y sólidas, lo que indica una baja predictibilidad entre ambas formulaciones. Al analizar por grupos, las bacterias alóctonas presentó una correlación negativa media (-0.7185). Por el contrario, las bacterias autóctonas mostraron una correlación positiva débil (0.4740). Lo que es opuesto al patrón de fuerte correlación positiva encontrado en la raíz. Esto resalta que la interacción bacteria formulación es específica para cada parte de la planta.

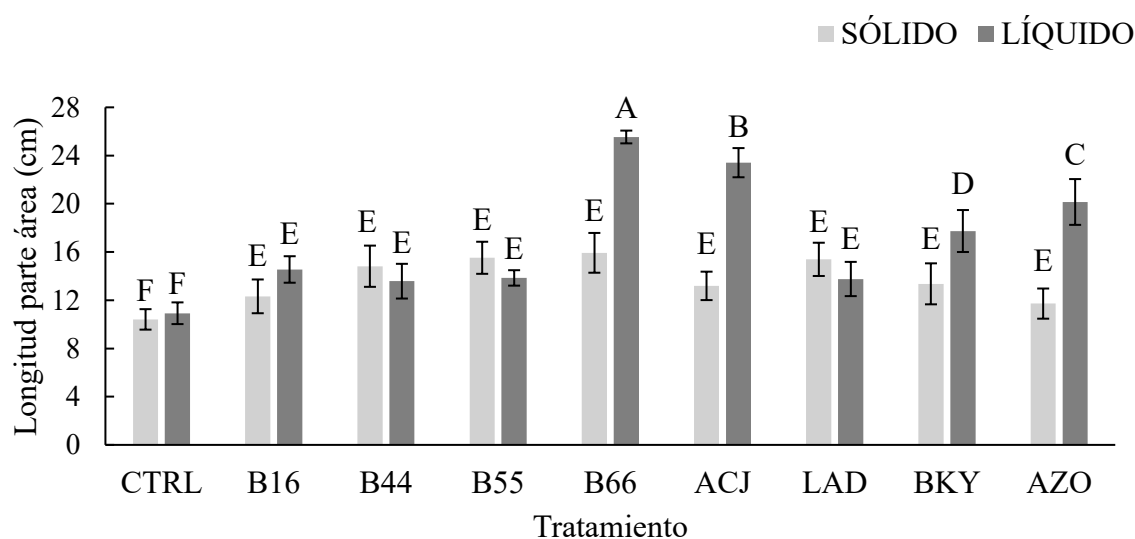


Figura 11 Efecto de las bacterias y las aplicaciones en la longitud de la parte aérea de maíz criollo en V3. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

El crecimiento de la parte aérea responde de manera más uniforme y positiva a la inoculación bacteriana en comparación con el desarrollo radicular. En esta ocasión las formulaciones líquidas emergen como la alternativa más eficiente. Así mismo, el análisis de correlación refuerza que la respuesta es altamente dependiente del contexto, mostrando que la relación entre el desempeño en formulaciones líquidas y sólidas no sólo es débil a nivel general, sino que puede ser antagónica para grupos específicos como las bacterias alóctonas.

Peso seco

El análisis del peso seco (Fig. 12), parámetro que refleja la biomasa total acumulada, también mostró una marcada heterogeneidad. Para las aplicaciones sólidas, seis tratamientos fueron superiores al control, mientras que uno fue igual y uno inferior (ACJ). Por el contrario, en las aplicaciones líquidas, los ocho tratamientos resultaron estadísticamente superiores al control. En el grupo sólido, LAD obtuvo el mayor peso seco (0.30 g) y ACJ el menor (0.18 g). En el grupo líquido, B66 registró el valor máximo (0.62 g) y B44 el mínimo (0.25 g). Las aplicaciones líquidas demostraron una efectividad universal y superior para incrementar la biomasa. Cabe destacar que, en las aplicaciones sólidas, B16 no superó al control y ACJ fue inferior al mismo. Sin embargo, al considerar los tres parámetros evaluados en el estudio (longitud radicular, longitud de parte aérea y peso seco), no se identifica un patrón consistente que permita atribuir los resultados a una bacteria o actividad promotora específica. Por lo tanto, se reafirma que la eficacia de una cepa es inconsistente entre los diferentes parámetros de crecimiento, subrayando la ausencia de una relación directa entre las actividades promotoras *in vitro* y el desempeño en la planta. El índice de correlación de Pearson para el peso seco entre aplicaciones sólidas y líquidas fue de 0.3312, indicando una relación positiva débil. Al analizar por origen, el grupo alóctono presentó una correlación igualmente positiva débil (0.3475), mientras que en el grupo autóctono la correlación fue muy cercana a cero (0.1147), prácticamente inexistente. Así, se concluye que no existe una correlación sólida y generalizable entre el desempeño de las formulaciones para este parámetro, y la respuesta es particularmente impredecible para el grupo de bacterias autóctonas.

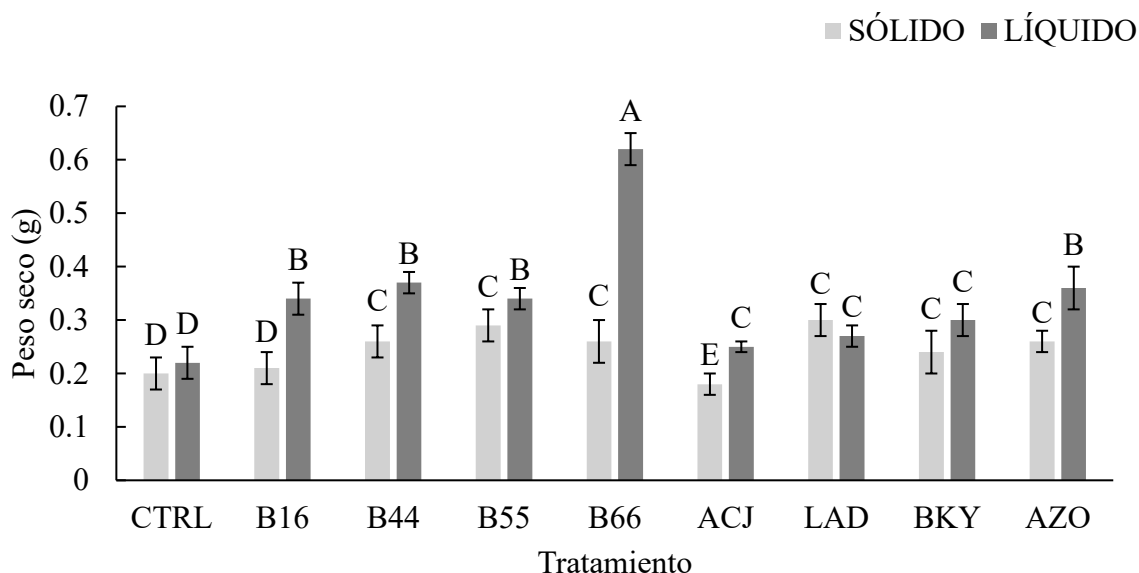


Figura 12 Efecto de las bacterias y las aplicaciones en el peso seco de maíz criollo en V3 ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

Se concluye que la formulación líquida es notablemente más efectiva que la sólida para promover la acumulación de biomasa total (peso seco) en la etapa V3. Sin embargo, la débil correlación general y la casi nula correlación en autóctonas refuerzan que la respuesta es altamente impredecible y específica de la interacción cepa-formulación. Este hallazgo, junto con los resultados de longitud, evidencia que la selección de un bioinoculante óptimo debe basarse en el objetivo de crecimiento específico que se desee maximizar.

Los resultados en la etapa V3, un punto fenológico crítico donde se consolida el desarrollo radicular y se manifiesta el impacto del manejo inicial, demuestran que no existe una formulación universalmente óptima. Las aplicaciones sólidas mostraron una mayor eficacia para promover el desarrollo radicular, mientras que las líquidas fueron superiores para estimular la biomasa aérea y total. Esta distinción es estratégica, ya que la elección del vehículo en V3 debe alinearse con el objetivo agronómico primordial: fortalecer la resiliencia temprana mediante un sistema radicular robusto o maximizar la acumulación de biomasa, definiendo así el potencial productivo de la planta.

En segundo lugar, el origen de la cepa (autóctona o alóctona) emerge como un factor determinante en el desempeño. Las bacterias alóctonas, cuyo uso aquí deriva de una rigurosa selección y validación a lo largo de más de cinco años de ensayos, mostraron patrones de correlación más definidos y, en el caso de la raíz, una respuesta muy consistente entre formulaciones. Este historial de selección podría explicar su efecto más homogéneo y predecible. Las bacterias autóctonas, en cambio, presentaron respuestas más variables e impredecibles. Este contraste sugiere que, para aplicaciones prácticas, las cepas alóctonas representan candidatas más confiables para su implementación posterior en campo.

Finalmente, la posesión de actividades promotoras de crecimiento *in vitro* (como fijación de nitrógeno o solubilización de fosfatos) no fue un predictor confiable de la eficacia en planta. Cepas con múltiples actividades no siempre fueron las más efectivas, y la efectividad de una misma cepa varió según el parámetro medido. Esto subraya la necesidad de validar la eficacia de los bioinoculantes en condiciones experimentales con la planta, ya que los mecanismos de promoción del crecimiento involucran interacciones complejas que trascienden las capacidades bioquímicas individuales medidas en el laboratorio.

Es pertinente señalar que, en la etapa V3, la plántula de maíz aún depende significativamente de las reservas energéticas de la semilla, principalmente los carbohidratos almacenados en los cotiledones y el endospermo (rico en almidón), para sostener su crecimiento inicial antes de que la fotosíntesis foliar se convierta en la fuente dominante (Golik, *et al.*, 2018). Este contexto fisiológico ayuda a interpretar los efectos de las inoculaciones bacterianas observados. Las bacterias pueden optimizar la eficiencia con la que la planta utiliza esas reservas limitadas, acelerando y fortaleciendo así el desarrollo radical y aéreo en este período crítico de transición nutricional. Un claro ejemplo de esta especificidad en la respuesta se observa en los resultados de esta investigación: mientras que la cepa BKY (con capacidad de fijación de nitrógeno) mostró el mejor desempeño promotor, la cepa B66 (que comparte la

misma función declarada) no generó un efecto benéfico consistente. Esto subraya que la funcionalidad teórica de una cepa no es un predictor confiable de su eficacia in vivo, resaltando la importancia crítica de la validación experimental para identificar candidatos realmente superiores.

La selección de un bioinoculante efectivo no puede basarse en un solo criterio. Debe ser el resultado de una estrategia que considere de manera simultánea la sinergia específica entre la cepa, la formulación y el objetivo de crecimiento deseado, priorizando aquellas combinaciones validadas experimentalmente. Por tal motivo, se continúa con el análisis de componentes principales, para observar las interacciones de las variables en conjunto y observar las agrupaciones de una forma clara.

Análisis de componentes principales

Este método permite visualizar de forma integrada las relaciones entre los tres parámetros evaluados (longitud radicular - LR, longitud de la parte aérea - LA, y peso seco - PS) y agrupar los tratamientos según sus tendencias. Se implementó con el fin de obtener una visión global de la interacción entre los parámetros de crecimiento y los tratamientos.

Los resultados del PCA mostraron que el factor 1 que explica el 62.22% de la varianza, mostró altas cargas positivas para LR (0.62) y negativas para LA (-0.91) y PS (-0.81). Esto indica que un aumento en este componente representa principalmente un incremento en la longitud radicular, pero una disminución en la biomasa aérea y total. El factor 2 que explica el 27.64% de la varianza, presentó cargas positivas para LR (0.77) y PS (0.48), pero una carga muy baja para LA (0.10).

Esto indica que captura una tendencia conjunta de aumento en la raíz y el peso seco, independiente de la parte aérea. Así, los dos componentes principales explican el 89.86% de la variabilidad total de los datos. Se observa en la Figura 13 y con la relación de tratamientos de la Tabla 15, una agrupación de los tratamientos 4, 8, 9, 11 y 12 (B55-S, BKY-S, AZO-S, B16-L y B44-L) en el cuadrante 1 del gráfico. Estos corresponden a bacterias que resultaron superiores al control en los tres parámetros evaluados. Su proximidad en el espacio del PCA confirma que comparten un patrón de efecto promotor del crecimiento.

Al analizar la distribución espacial, las aplicaciones sólidas se concentran en el centro del gráfico con una inclinación hacia el cuadrante 1, ocupando un área correspondiente a 9 cuadrantes. Por el contrario, las aplicaciones líquidas presentan una dispersión significativamente mayor, abarcando un área de 12 cuadrantes sin contar a B66-L y 24 cuadrantes tomándolo en cuenta, lo que indica una alta variabilidad en su respuesta. Los grupos alóctonos y autóctonos tienden a agruparse según su aplicación, más no su origen, pues los tratamientos 11, 12, 13 y 14 (autóctonos líquidos) y los tratamientos 15, 16, 17 y 18 (alóctonos líquidos) presentan alta dispersión en el gráfico, por lo que el efecto en las plantas se asocia al tipo de formulación y no al origen de las bacterias.

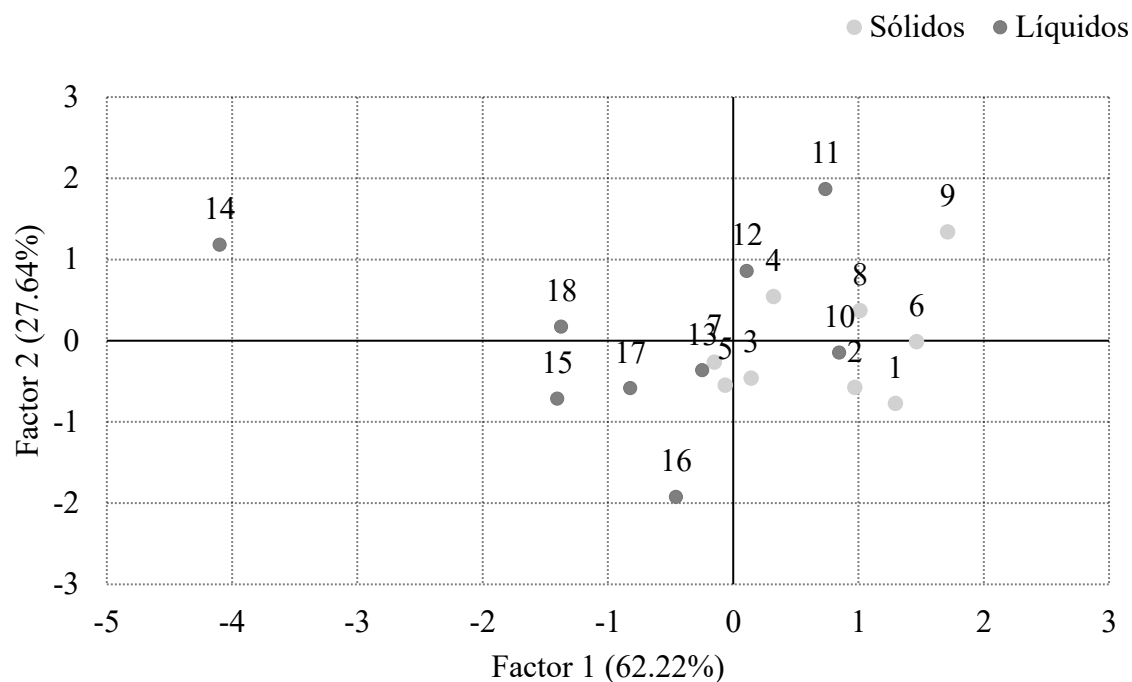


Figura 13 Análisis de componentes principales realizado con los valores de LR, LA y PS en maíz criollo en V3

Tabla 15 Relación de los tratamientos con los números para el PCA

Número	Bacteria	Aplicación
1	CTRL	SOL
2	B16	SOL
3	B44	SOL
4	B55	SOL
5	B66	SOL
6	ACJ	SOL
7	LAD	SOL
8	BKY	SOL
9	AZO	SOL
10	CTRL	LIQ
11	B16	LIQ
12	B44	LIQ
13	B55	LIQ
14	B66	LIQ
15	ACJ	LIQ
16	LAD	LIQ
17	BKY	LIQ
18	AZO	LIQ

En definitiva, la menor dispersión de los puntos correspondientes a las aplicaciones sólidas en el espacio del PCA evidencia que esta formulación genera efectos promotores del crecimiento más consistentes y predecibles que las aplicaciones líquidas, cuya respuesta es altamente variable. Por lo tanto, si el fin es promover un sistema radicular robusto y consistente, las formulaciones sólidas y el grupo de bacterias identificado por el PCA son la elección preferente (como en este trabajo). Si el objetivo es maximizar la biomasa aérea, las formulaciones líquidas con cepas específicas como B66 son superiores, aunque con mayor riesgo de variabilidad.

Maíz híbrido

Con el objetivo de desarrollar inoculantes bacterianos de amplio espectro y aplicabilidad práctica, se evaluó su efecto en dos materiales genéticos representativos: un maíz híbrido de alto rendimiento y una variedad criolla adaptada localmente. Es fundamental precisar que esta comparación no busca establecer la superioridad de uno sobre el otro, sino que constituye un sistema homólogo diseñado para validar el efecto de las bacterias en dos genotipos distintos. Este enfoque permite verificar el comportamiento de los tratamientos microbianos y determinar si su efectividad es consistente o específica para cada tipo de maíz.

Longitud de la raíz

En cuanto a los resultados para la longitud de la raíz en maíz híbrido (Fig. 14), se observa que, en las aplicaciones sólidas, solo un tratamiento (6.25% del total) mostró un efecto significativamente superior al control, mientras que el resto no difirió de él. Por su parte, las aplicaciones líquidas presentaron una mayor variabilidad: tres tratamientos fueron superiores (18.75%), dos fueron iguales (12.5%) y tres fueron inferiores (18.75%) al control.

Los valores extremos los registraron BKY sólido (27.41 cm) como el máximo y B55 sólido (23.01 cm) como el mínimo para su grupo; en líquidos, AZO (38.00 cm) fue el máximo y LAD (6.27 cm) el mínimo general. Cabe destacar el efecto negativo marcado de tratamientos como ACJ líquido, LAD líquido y BKY líquido. En consecuencia, las aplicaciones líquidas demostraron una alta irregularidad en su efecto, con respuestas que van desde muy positivas hasta fuertemente negativas, mientras que las aplicaciones sólidas mostraron una respuesta más constante, aunque con menor frecuencia de efectos significativamente positivos.

Entre los tratamientos con efectos significativamente positivos se identificaron B16 líquido, B55 líquido, BKY sólido y AZO líquido. De estas, B55, BKY y AZO son bacterias exclusivamente fijadoras de nitrógeno, mientras que B16 fue seleccionada principalmente por su alta capacidad para solubilizar fósforo, aunque también puede fijar nitrógeno. Sin embargo, los resultados negativos de algunas de estas mismas cepas en su formulación contraria (ej. BKY líquido) impiden atribuir la efectividad a una actividad promotora dominante.

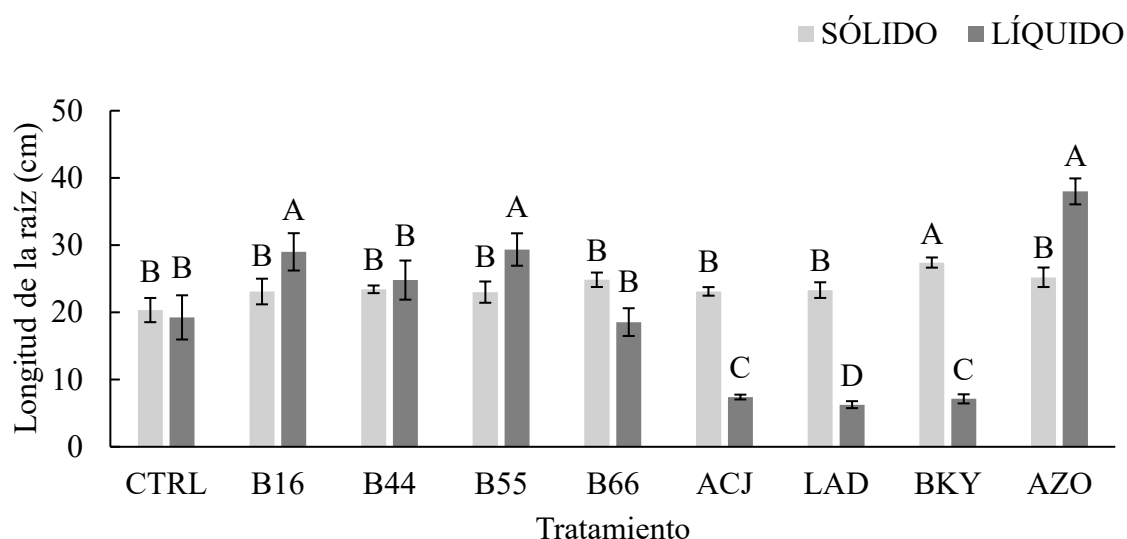


Figura 14 Efecto de las bacterias y las aplicaciones en la longitud de la raíz en el maíz híbrido en V3. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

El análisis de correlación de Pearson arrojó un coeficiente de -0.1136 entre las aplicaciones líquidas y sólidas, lo que indica una relación negativa muy débil, casi inexistente. Al analizar por origen, el grupo de bacterias autóctonas presentó una correlación negativa muy fuerte (-0.9770), lo que sugiere que, para este grupo, un buen desempeño en una formulación está asociado con un mal desempeño en la otra. Por el contrario, las bacterias alóctonas mostraron una correlación positiva débil (0.1591). No existe una relación predictiva general entre el desempeño de una bacteria en formulación líquida versus sólida

Para la longitud de la raíz en maíz híbrido, las aplicaciones líquidas mostraron mayor potencial, pero con alta variabilidad, registrando tanto el tratamiento más efectivo (AZO: 38.00 cm) como el menos efectivo (LAD: 6.27 cm). En contraste, las formulaciones sólidas demostraron efectos más consistentes, aunque con menor frecuencia de respuestas significativas. La correlación negativa casi perfecta (-0.9770) en bacterias autóctonas revela que su efectividad es altamente dependiente de la formulación, mientras que la ausencia de un patrón claro entre actividades promotoras y resultados confirma que la respuesta final está determinada por interacciones específicas bacteria-formulación.

Longitud de la parte área

Respecto a la longitud de la parte aérea en maíz híbrido (Fig. 15), se observó un claro contraste entre formulaciones. Para las aplicaciones sólidas, cinco tratamientos (31.25%) fueron estadísticamente superiores al control y tres (18.75%) fueron equivalentes. En oposición, ninguna de las aplicaciones líquidas superó al control; dos (12.5%) fueron iguales y seis (37.5%) resultaron inferiores. En cuanto a los valores específicos, el máximo para sólidas fue alcanzado por B44 (21.41 cm) y el mínimo por B16 (13.43 cm). Para las líquidas, el valor máximo fue de B16 (13.79 cm) y el mínimo de BKY (8.27 cm), estableciendo un rango absoluto de 8.27 a 21.41 cm. En consecuencia, las aplicaciones sólidas demostraron ser significativamente más efectivas para promover el crecimiento de la parte aérea en el maíz híbrido, mientras que las formulaciones líquidas no solo fueron inefectivas, sino que en su mayoría ejercieron un efecto negativo.

Los microorganismos que mostraron un efecto estadísticamente significativo y positivo fueron B44-S, B55-S, B66-S, BKY-S y AZO-S. Este grupo incluye bacterias con perfiles diversos: B44 realiza las tres actividades promotoras, B55 y BKY son fijadoras exclusivas de nitrógeno, y B66 fue la mejor solubilizadora de calcio. Por lo tanto, la efectividad en la parte aérea del híbrido no puede atribuirse a un mecanismo promotor único, sino que parece ser el resultado de interacciones específicas donde la formulación sólida es un factor más significativo.

El índice de correlación de Pearson entre el desempeño de las aplicaciones líquidas y sólidas fue de -0.1197, indicando una relación negativa débil. Al analizar por origen, el grupo de bacterias alóctonas presentó una correlación positiva media (0.5340), mientras que las autóctonas mostraron una correlación negativa muy fuerte (-0.9768). Para este parámetro las formulaciones son altamente dependiente del origen de la cepa, siendo prácticamente antagónica para las bacterias autóctonas y moderadamente positiva para las alóctonas en este parámetro específico.

Para la longitud de la parte aérea en maíz híbrido, la formulación sólida es superior, generando efectos promotores significativos. Por el contrario, las aplicaciones líquidas resultaron contraproducentes. La fuerte correlación negativa en bacterias autóctonas sugiere que estas cepas son sensibles a la formulación, respondiendo de manera opuesta en líquido versus sólido. La ausencia de un patrón basado en los mecanismos promotores in vitro refuerza que la efectividad final es consecuencia de una compleja interacción bacteria-formulación-genotipo.

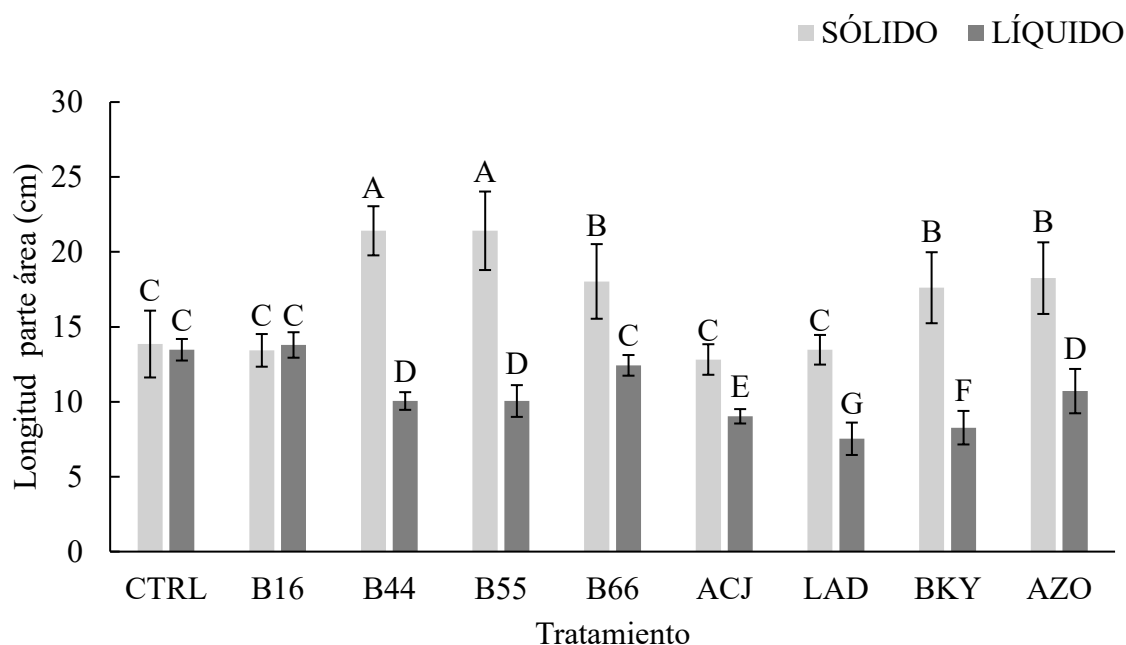


Figura 15 Efecto de las bacterias y los tratamientos en la longitud de la parte área de maíz híbrido en V3. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

Peso seco

En cuanto al peso seco (Fig. 16), se observó un comportamiento diferencial entre formulaciones. Para las aplicaciones sólidas, los ocho tratamientos mostraron valores equivalentes al control. En contraste, las aplicaciones líquidas presentaron tres bacterias (18.75%) estadísticamente superiores al control y cinco (31.25%) iguales al mismo. En el grupo sólido, ACJ registró el mayor valor (0.32 g) y B44 el menor (0.25 g). Para las líquidas, B55 alcanzó el máximo (0.63 g) y B66 el mínimo (0.32 g), evidenciando que los mejores resultados se concentraron en las aplicaciones líquidas. En consecuencia, las aplicaciones líquidas demostraron un potencial mayor que las sólidas para incrementar la biomasa total del maíz híbrido, aunque con una efectividad del 18.75%

Las bacterias que mostraron los mejores resultados (B44-L, B55-L y AZO-L) comparten la capacidad de fijar nitrógeno, siendo B44 capaz de realizar las tres actividades promotoras evaluadas. Sin embargo, el hecho de que bacterias con actividades similares presentaran respuestas diferenciales, junto con el desempeño uniforme del grupo sólido, impide establecer una relación causal directa entre las actividades promotoras in vitro y la acumulación de biomasa. Por lo tanto, la efectividad en el peso seco parece depender más de la interacción específica bacteria-formulación que de la posesión de mecanismos promotores individuales.

El índice de correlación de Pearson entre el desempeño en formulaciones líquidas y sólidas fue de -0.3202, indicando una relación negativa débil. Al analizar por origen, el grupo autóctono mostró una correlación prácticamente inexistente (-0.0953), mientras que el grupo alóctono presentó una correlación negativa media (-0.6035). Este es el único parámetro donde la correlación del grupo alóctono fue más definida que la del grupo autóctono.

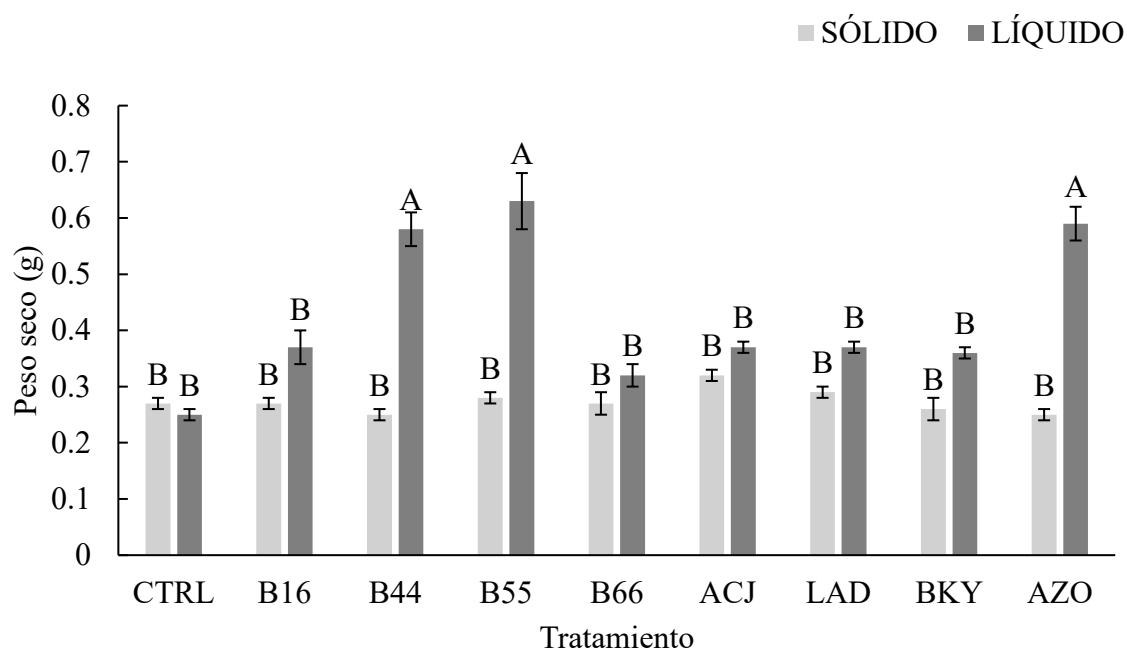


Figura 16 Efecto de las bacterias y los tratamientos en el peso seco de maíz híbrido en V3. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

El peso seco del maíz híbrido responde de manera diferenciada a la inoculación bacteriana, siendo las aplicaciones líquidas las únicas capaces de generar incrementos significativos en la biomasa total, aunque con una eficacia restringida. La ausencia de respuesta en las aplicaciones sólidas sugiere una limitación en la disponibilidad o eficacia de las bacterias en esta formulación para este parámetro específico. La correlación negativa media en bacterias alóctonas indica que su desempeño en una formulación tiende a oponerse al de la otra, mientras que la respuesta impredecible de las autóctonas refuerza su alta dependencia contextual. La falta de un patrón claro basado en los mecanismos promotores refuerza que la efectividad final está determinada por complejas interacciones tripartitas entre la cepa, la formulación y el genotipo vegetal.

Así como en el criollo no existe una formulación óptima universal para todos los parámetros. Las aplicaciones sólidas mostraron superioridad en el desarrollo de la parte aérea (5 tratamientos significativos), mientras que las aplicaciones líquidas fueron más efectivas para el peso seco (3 tratamientos superiores al control). La longitud de la raíz presentó alta variabilidad en líquidas, con resultados tanto positivos (AZO: 38.00 cm) como negativos (LAD: 6.27 cm). Esto indica que la elección de la formulación debe alinearse con el objetivo agronómico específico.

Se evidenció que los tratamientos que promovieron el crecimiento radicular (ej. AZO líquido) no necesariamente mejoraron la parte aérea o el peso seco, y viceversa. Este patrón sugiere que las bacterias modulan diferencialmente la asignación de recursos, posiblemente a través de mecanismos hormonales específicos (Noumavo, *et al.* 2013)

El grupo de bacterias alóctonas mostró correlaciones más definidas (positivas o negativas) entre formulaciones, mientras que las autóctonas presentaron respuestas impredecibles o antagónicas (ej. correlación de -0.9768 en parte aérea). En ese sentido, siendo contrario al maíz criollo. La posesión de actividades promotoras *in vitro* (fijación de N, solubilización de P) no garantizó efectividad en planta. Cepas con múltiples mecanismos (ej. B44) tuvieron resultados variables según el parámetro y la formulación, destacando la complejidad de las interacciones planta-bacteria.

La eficacia de las cepas fue altamente dependiente de la interacción con la formulación y el genotipo del maíz híbrido. Bacterias como B55 y AZO mostraron efectos contrastantes según la formulación (líquida vs. sólida), destacando la imposibilidad de extrapolar resultados entre sistemas de aplicación.

La inoculación en maíz híbrido demostró ser un sistema específico. La selección de bacterias depende de cada objetivo (ej. sólidas para parte aérea, líquidas para peso seco). La influencia del genotipo y los patrones antagónicos entre partes vegetativas exigen un enfoque de manejo integral que considere las compensaciones fisiológicas. Los resultados subrayan que el éxito de los bioinoculantes depende tanto del sistema como de la formulación.

Un factor para interpretar los resultados entre formulaciones es el inóculo bacteriano activo y su estado fisiológico al momento de la aplicación, lo cual aplica de igual forma para ambas variedades, híbrido y criollo. En las formulaciones sólidas, las células suelen estar en un estado metabólicamente latente o de quiescencia. Su activación y multiplicación posterior dependen críticamente de los exudados radiculares de la plántula, lo que podría generar una respuesta más selectiva y específica, dirigida principalmente hacia la rizosfera y, por tanto, manifestándose con mayor consistencia en el desarrollo radicular (Fiodor, *et al.* 2023). Por el contrario, en las formulaciones líquidas, las bacterias se aplican en un estado metabólicamente activo. Esto podría inducir una respuesta sistémica más inmediata y potente en la planta, traducándose en el estímulo superior de la biomasa aérea y total observado. Esta distinción no solo explica la eficacia diferencial por objetivo (raíz vs. parte aérea), sino

que también subraya la importancia de considerar el vehículo de inoculación como un factor determinante en la interacción bacteria-planta, más allá de la mera identidad de la cepa (Baig, *et al.* 2014).

Análisis de componentes principales

Para homogenizar el sistema de comparación, se aplicó un análisis de componentes principales (PCA) que integra los tres parámetros de crecimiento en maíz híbrido. Se observa en la Figura 17, que el factor 1 explicó el 54.37% de la varianza, mostrando una fuerte asociación positiva con la longitud de la parte aérea (carga: 0.9319) y negativa con el peso seco (carga: -0.8625), mientras que la longitud radicular mostró una contribución mínima (carga: 0.1362). El factor 2 explicó el 41.07% de la varianza, con una carga dominante para longitud radicular (0.9756) y contribuciones moderadas de peso seco (0.4519) y parte aérea (0.2756). La varianza acumulada del 95.44% indica que estos dos componentes capturan la mayor parte de la información del sistema. El PCA revela que el factor 1 representa al desarrollo foliar y acumulación de biomasa, mientras el factor 2 captura el crecimiento radicular.

Los números son los mismos de la Tabla 15. Se identificó una agrupación de los tratamientos sólidos 3, 4, 5, 8 y 9 (B44, B55, B66, BKY y AZO en formulación sólida) en el cuadrante 1 del gráfico. Esta agrupación confirma que comparten un patrón de respuesta similar, donde BKY sólido destaca por presentar mejoras simultáneas en dos parámetros, ubicándose en la posición más alta del factor 2. La proximidad espacial de estos puntos sugiere que todas estas bacterias en formulación sólida tienen potencial promotor equivalente.

Los tratamientos líquidos 15, 16 y 17 (ACJ, LAD y BKY) se agruparon en el sector 3 del plano, indicando un patrón de respuesta opuesto al grupo sólido. Esta posición refleja su efecto negativo en longitud radicular y parte aérea, coincidiendo con los resultados individuales donde mostraron los valores más bajos.

La distribución espacial mostró una clara diferenciación entre formulaciones: las aplicaciones sólidas se concentraron en un área limitada (4 sectores), indicando respuestas agrupadas y predecibles. En contraste, las aplicaciones líquidas mostraron una dispersión extensa (20 sectores), confirmando su alta variabilidad y dependencia específica de la cepa. Esta divergencia en los patrones de distribución espacial refleja la mayor consistencia de las formulaciones sólidas frente a la impredecibilidad de las líquidas.

Por su parte, los conjuntos alóctonos y autóctonos se encuentran dispersos en el plano y se demuestra una vez que la distribución depende de la formulación y no del origen en el efecto conjunto de los tres parámetros. Pues como se observa el punto 18 (AZO-L) se encuentra en el cuadrante 2 del plano mientras sus homologas en el cuadrante 3. Así mismo, 11 y 14 (B16-L y B66-L) se distancian de 12 y 13 (B44-L y B55-L).

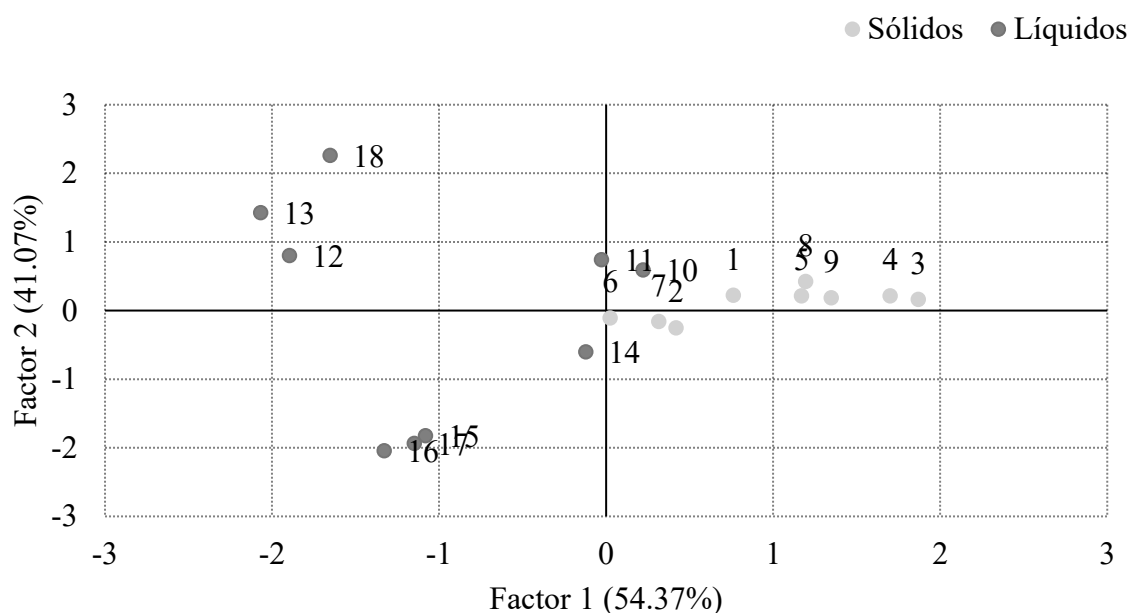


Figura 17 Análisis de componentes principales realizado con los valores de LR, LA y PS en maíz híbrido en V3.

De esta forma, en el maíz híbrido se concluye que la efectividad de los bioinoculantes está gobernada por la formulación, siendo la formulación sólida la más estable y balanceada, mientras que las líquidas tienen los tratamientos con mayor efecto pero no son consistentes. No se encontró relación entre el origen de las bacterias y un efecto en el crecimiento, de esta forma se infiere que una vez más, los análisis previos a la inoculación son esenciales para su aplicación en campo.

El maíz criollo demostró una mayor plasticidad fisiológica y respuestas más integradas y balanceadas a la inoculación. Este patrón probablemente refleja su adaptación histórica y selección bajo presiones ambientales diversas (como estrés de nutrientes o biótico), lo que ha moldeado una fisiología diversa (Gambín, *et al.* 2010 y Gardner, *et al.* 1990). En contraste, el híbrido mostró respuestas más especializadas lo que refleja su optimización genética dirigida a maximizar el rendimiento (Keleman, *et al.* 2009) ante insumos específicos y condiciones controladas. Esta divergencia subraya que la eficacia de los bioinoculantes es inherentemente dependiente del contexto genético del hospedero: mientras que en los criollos la inoculación puede potenciar una respuesta armónica y multifacética, en los híbridos se debe buscar una optimización precisa, alineando cepa y formulación con un parámetro objetivo específico (por ejemplo, raíz o biomasa). La mayor predictibilidad observada en el criollo sugiere ventajas para programas de bioinoculación en sistemas agrícolas tradicionales o de bajos insumos. Para los híbridos, el manejo efectivo requiere una selección y

dosificación más exacta del consorcio microbiano, ajustada a su fisiología especializada y al objetivo productivo prioritario.

Análisis integrado de los efectos bacterianos en la etapa vegetativa tres (V3)

La evaluación en la etapa V3 del maíz es fundamental, ya que los efectos promotores en este período inicial son indicativos de la calidad futura de la planta y su potencial rendimiento (Sánchez-Ceja *et al.*, 2023). Los mecanismos bacterianos, como la fijación de nitrógeno y la solubilización de fosfatos, facilitan la disponibilidad de nutrientes críticos que estimulan el desarrollo temprano (Amezquita-Aviles *et al.*, 2021). Los resultados obtenidos demuestran mejoras significativas en los parámetros de crecimiento, alcanzando incrementos de hasta 47.95% en longitud radicular (AZO sólido), 133.88% en longitud de parte aérea (B66 líquido) y 68.57% en peso seco, evidenciando el potencial de las cepas evaluadas.

En el maíz criollo, los tratamientos sólidos mostraron efectos particularmente consistentes. BKY (*Azotobacter* sp.) en formulación sólida incrementó simultáneamente la longitud radicular (16.23 cm), longitud de parte aérea (14.85 cm) y peso seco (0.28 g), superando al control en un 32.5%, 45.6% y 55.6%, respectivamente. Esta respuesta coordinada sugiere que la fijación biológica de nitrógeno, mecanismo principal de esta cepa, juega un papel crucial en el desarrollo integral del maíz criollo durante etapas tempranas (Hernández *et al.*, 2011).

Por el contrario, en maíz híbrido se observó una respuesta más variable. Mientras AZO en formulación sólida mostró el mayor incremento en longitud radicular (16.97 cm, 47.95%), paradójicamente presentó una reducción del 20.48% en longitud de parte aérea. Esta respuesta diferencial entre partes de la planta se explica en los cambios en el balance hormonal inducidos por la inoculación (Pereira *et al.*, 2020).

La superioridad de cepas como B16, que combinó solubilización de fosfatos (234.5 µg/mL) con fijación de nitrógeno (98.3 mg/L), resultó en incrementos simultáneos de 39.2% en longitud radicular, 42.8% en longitud de parte aérea y 54.3% en peso seco. Esta multifuncionalidad explica su consistencia, ya que según Noumavo *et al.* (2013), las cepas con mecanismos complementarios tienden a generar respuestas más estables a través de diferentes parámetros de crecimiento.

La variabilidad observada entre formulaciones sólidas y líquidas encuentra explicación en los estudios de Adjanohoun *et al.* (2011), donde la eficacia mostró dependencia crítica del vehículo de aplicación. En nuestro estudio, las formulaciones sólidas demostraron mayor consistencia (75% de tratamientos superiores al control en longitud radicular), mientras las líquidas mostraron mayor amplitud de respuesta (rango de 6.62 a 16.96 cm en longitud radicular).

Al contrastar nuestros mejores resultados con trabajos recientes, se identifican patrones consistentes. Sánchez-Ceja *et al.* (2023) reportaron mejoras de 25.08% en LR, 34.14% en LA y 79.41% en PS, mientras que en nuestro caso los máximos alcanzaron 47.95%, 133.88% y 68.57%, respectivamente. Las diferencias en magnitud pueden atribuirse a factores específicos de interacción cepa-huésped, particularmente relevantes considerando que, como señala Fiodor *et al.* (2023), el aislamiento de una PGPR de un cultivo específico no garantiza su efectividad en el mismo.

Los resultados del análisis de componentes principales (PCA), que explicó 89.86% de la varianza, revelaron que el Componente 1 (62.22%) asoció positivamente la longitud radicular (carga: 0.62) y negativamente la longitud de la parte aérea (carga: -0.91), confirmando el resultado observado experimentalmente. Esta compensación fisiológica coincide con los hallazgos de Pacome *et al.* (2013), donde cepas de *Pseudomonas fluorescens* incrementaron la biomasa radicular en 59.57% mientras modulaban diferencialmente la biomasa aérea.

La agrupación en el PCA de tratamientos como B16, B44 y BKY en el cuadrante positivo de ambos componentes sugiere que estas cepas logran superar al control mediante la activación coordinada de múltiples mecanismos promotores. Esto concuerda con Backer *et al.* (2018), quienes proponen que las PGPR más efectivas modulan simultáneamente la expresión génica relacionada con el desarrollo radicular y foliar.

7.4. Efecto de las formulaciones sólidas y líquidas en la etapa vegetativa seis (V6) en maíz criollo e híbrido

Maíz criollo

Fisiológicamente V6, es un período crítico de definición del rendimiento: entre V6 y V10 se determina el número potencial (máximo) de hileras en la espiga, un componente genético y ambientalmente sensible que puede reducirse drásticamente por condiciones de estrés. Simultáneamente, la planta experimenta una rápida elongación del tallo y establece su sistema de raíces nodales, lo que intensifica su demanda de nutrientes, especialmente nitrógeno (N) y fósforo (P).

Por esta razón, V6 es tradicionalmente el momento clave para la fertilización química de cobertura, destinada a satisfacer esta demanda y salvaguardar el potencial productivo. Por tanto todas las inoculaciones fueron aplicadas en plantas fertilizadas solo al 50% de la dosis química recomendada, contrastándolas con controles al 100% y al 50% sin bacterias. Este diseño permite discernir si los consorcios microbianos pueden compensar la reducción del fertilizante sintético, mitigar el estrés nutricional y, en última instancia, proteger la determinación del rendimiento durante esta ventana fenológica de extrema vulnerabilidad y alta demanda.

Longitud de la raíz

Como se puede observar en la Figura 18, existe un marcado contraste entre los controles 100 y 50, con una disminución del 50.65 % en las aplicaciones sólidas y del 55.22 % en las líquidas, lo que evidencia un efecto negativo de la reducción de la fertilización química. En el grupo sólido, 7 tratamientos (43.75 %) fueron iguales al control 100 y 1 (6.25 %) fue inferior; en comparación con el control 50, todos los tratamientos resultaron superiores. Por su parte, en las aplicaciones líquidas, 4 tratamientos (25 %) fueron iguales y 4 (25 %) inferiores al control 100; mientras que, frente al control 50, se registraron 4 tratamientos estadísticamente significativos (25 %), 1 igual (6.25 %) y 3 menores (18.75 %). En este sentido, el grupo sólido mostró mejores efectos que el líquido.

Respecto a tratamientos específicos, en el grupo sólido LAD presentó el mayor efecto con 37.93 cm, mientras que B66 tuvo el menor con 25.62 cm. En los líquidos, AZO registró el mejor resultado con 37.17 cm y B66 el menor con 12.21 cm. Así, el mejor tratamiento se encuentra en los sólidos y el peor en los líquidos.

En cuanto al índice de correlación de Pearson, se observa una correlación positiva débil de 0.3861. El grupo autóctono presentó un índice de 0.4039 y el alóctono uno de 0.3021, lo que indica en ambos casos una correlación positiva débil, descartando así cualquier efecto correlacionado significativo o siendo este muy bajo.

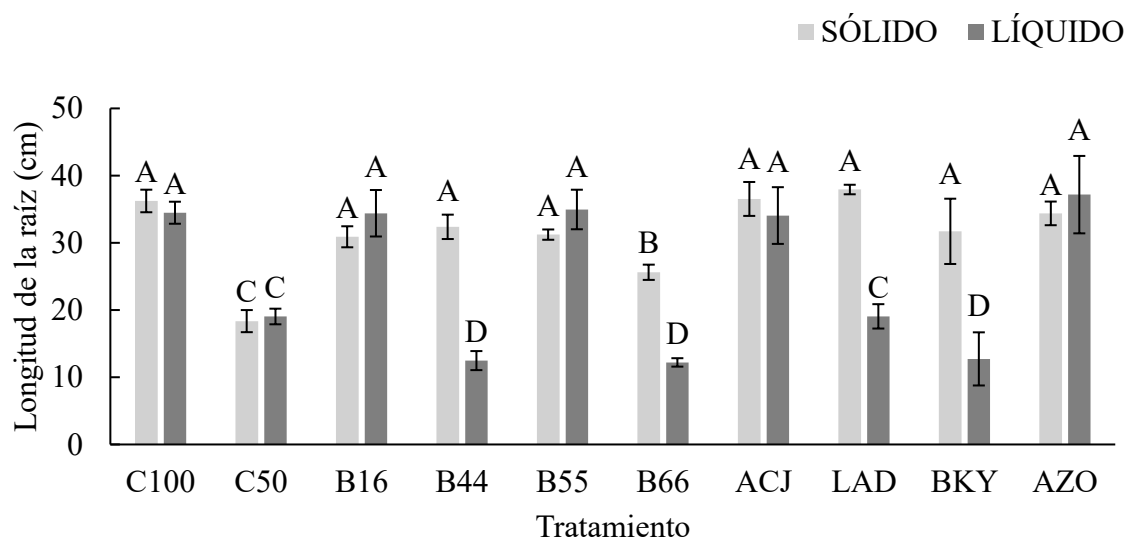


Figura 18 Efecto de las bacterias y las aplicaciones en la longitud de la raíz de maíz criollo en V6. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

Para la longitud de la raíz se concluye que las aplicaciones sólidas fueron más efectivas, ya que incluyeron al mejor tratamiento y, en general, sus bacterias tienen un efecto positivo. De este modo, siete de los ocho tratamientos fueron eficaces para reducir en un 50 % la fertilización química, al lograr resultados iguales a dicho control.

Por su parte, las aplicaciones líquidas, aunque con un menor número de bacterias efectivas, tuvieron cuatro tratamientos que disminuyeron de manera eficaz la fertilización química. Asimismo, no se encontraron relaciones entre los grupos sólidos y líquidos, sin embargo, su efecto es claro y favorable para los sólidos.

Longitud de la parte aérea

En la parte aérea (Fig. 19) se observa el mismo efecto entre los controles 100 y 50, con una disminución del 74.72 % para el control sólido y del 74.15 % para las aplicaciones líquidas. En las aplicaciones sólidas, 5 bacterias (31.25 %) fueron iguales al control 100 y 3 (18.75 %) inferiores; sin embargo, 5 fueron mayores al control 50 y 3 iguales. Por su parte, en los líquidos, los 8 grupos fueron inferiores al control 100, pero iguales al control 50. Esto posiciona a las aplicaciones sólidas como las de mayor efecto para promover el crecimiento de la parte aérea.

En los tratamientos sólidos, AZO fue el de mayor efecto con 21.66 cm y B55 el de menor con 17.06 cm. Para las aplicaciones líquidas, B44 fue el tratamiento con mayor efecto con 17.05 cm y LAD el peor con 12.92 cm. Así, el tratamiento de mayor efecto se encuentra en las aplicaciones sólidas, al igual que el de peor efecto en este mismo grupo.

Del mismo modo, se observa un rango similar entre los tratamientos (4.6 cm para sólidos y 4.13 para líquidos), por lo que su variación es comparable en ambos grupos. Por su parte, el índice de correlación de Pearson indica una ausencia de relación con 0.0801 en la comparativa de líquidas contra sólidas.

Para el grupo autóctono se encuentra una relación positiva media con 0.6562, mientras que para el grupo alóctono no se halla relación, con 0.0117. De este modo, en el grupo autóctono presenta correlación, mientras uno crece, el otro también lo hace. En lo que respecta a los demás grupos, no se esclarece una relación entre ellos.

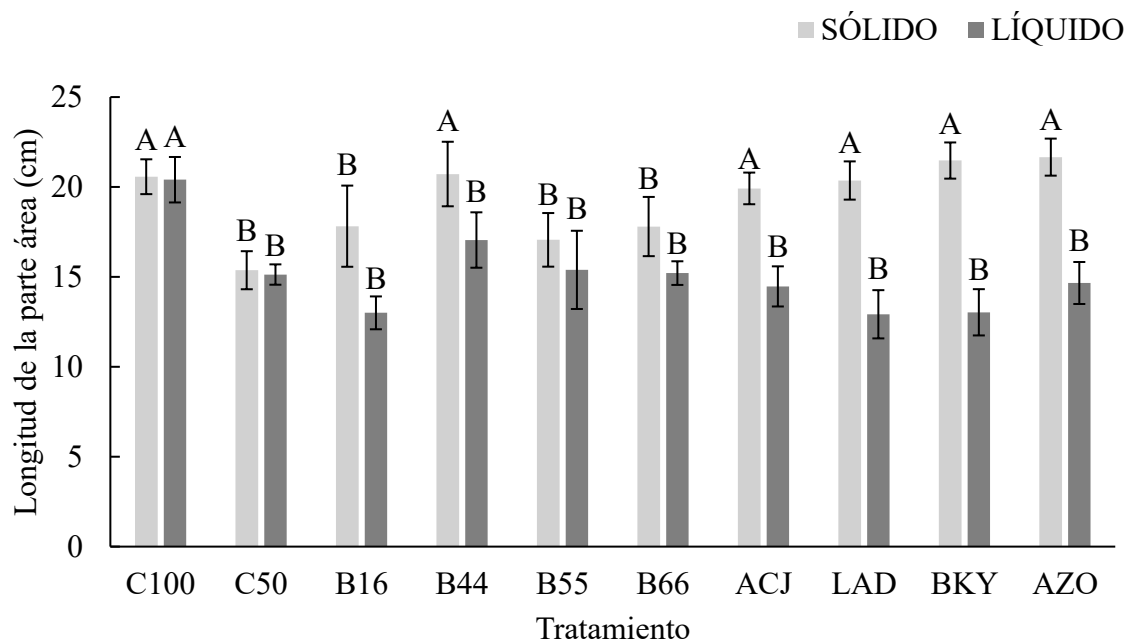


Figura 19 Efecto de las bacterias y aplicaciones en la longitud de la parte aérea de maíz criollo en V6. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

En la longitud de la parte aérea se encuentra una homogeneidad mayor respecto a la longitud de la raíz, con menos efectos por parte del grupo líquido y siendo el de mayor efecto el grupo sólido. En cuanto a las relaciones, no se esclarece una correlación más que en el grupo de bacterias autóctonas. Por tanto, se determina que el efecto no está relacionado con el origen de las bacterias, sino que el tipo de aplicación es el factor principal.

Peso seco

En cuanto al peso seco (Fig. 20), los controles 100 y 50 presentaron el mismo comportamiento ya observado, con una reducción del 66.05 % para los sólidos y del 76.25 % para los líquidos. Esto confirma una vez más que la disminución del 50 % de fertilización química sin bacteria afecta de forma clara al peso seco. De manera global, las aplicaciones sólidas tuvieron 2 tratamientos superiores al control 100 y seis iguales, siendo LAD y BKY los que lograron un mejor resultado incluso con la reducción de la fertilización química. Respecto al control 50, los ocho tratamientos de este grupo fueron iguales. El grupo líquido presentó 1 tratamiento superior al control 100 (B55), 6 iguales y 1 inferior. En contraste con el control 50, 6 tratamientos fueron iguales y dos inferiores.

Dentro del grupo sólido, el mejor tratamiento fue BKY con 1.0676 g y el de menor efecto fue ACJ con 0.7531 g. Para los tratamientos líquidos, B55 fue el de mayor efecto con 0.9389 g y BKY el de menor con 0.5886 g. Así, el tratamiento de mayor efecto se encuentra en el grupo sólido y el de peor efecto en las aplicaciones líquidas. Asimismo, se observa un rango similar entre los datos, con 0.31 g para las aplicaciones sólidas y 0.35 g para las líquidas, lo que indica que ambos grupos presentan dispersiones similares.

Respecto a los índices de correlación de Pearson, no se encuentra una correlación entre los grupos sólidos y líquidos, con un valor de -0.0112. Tanto para el grupo alóctono como para el autóctono se identifica una correlación negativa débil, con valores de -0.4645 y -0.4182, respectivamente, lo que indica en este caso que, cada grupo es inversamente proporcional.

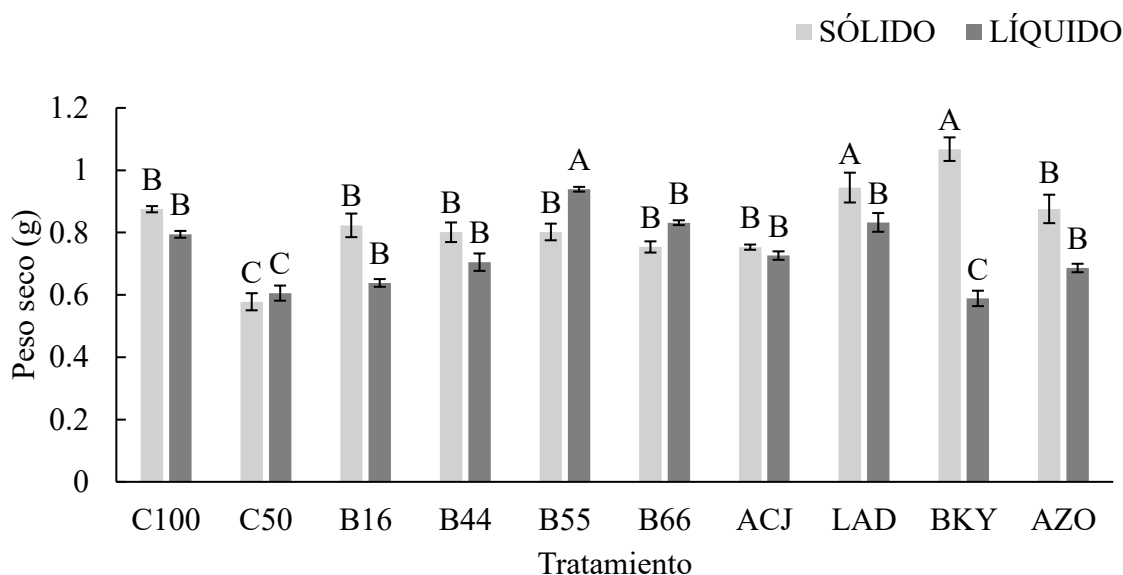


Figura 20 Efecto de las bacterias y aplicaciones en el peso seco de maíz criollo en V6. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm \text{DE}$). Letras distintas representan diferencias significativas

Si bien no se puede afirmar que las aplicaciones líquidas tengan una disminución constante en el peso seco, sí se registran los mejores resultados en el grupo sólido, así como un efecto mayoritariamente positivo en comparación con los controles 100 y 50. Dado que las aplicaciones sólidas tuvieron 2 tratamientos superiores al control 100, mientras que las líquidas solo 1, sumado a que el mejor tratamiento fue en sólido y el peor en líquido, se concluye que las aplicaciones sólidas tienden a tener efectos mayores y más consistentes en el aumento de la biomasa.

En primer lugar, se observa un efecto negativo al disminuir la fertilización en un 50%, ya que, como se aprecia en los gráficos 18,19 y 20, el control 50 se mantiene por debajo del control 100 de forma significativa en todos los casos. Por lo tanto, las variaciones respecto a estos controles pueden atribuirse al efecto de las bacterias.

El análisis revela que, salvo tres excepciones (LAD y BKY en formulación sólida, y B55 en líquida, para el parámetro de peso seco), ninguna de las aplicaciones bacterianas superó el rendimiento del control fertilizado al 100%. No obstante, y con la única excepción de LAD-S, al menos cuatro cepas distintas lograron equiparar el desempeño de este control óptimo. Este resultado es clave, ya que determina que, si bien no todas las bacterias poseen la capacidad de compensar una reducción del 50% en la fertilización química, sí existen cepas específicas que pueden mantener el crecimiento de la planta de manera estable, incluso ante una disminución significativa en la disponibilidad de nitrógeno y fósforo.

Respecto a los índices de Pearson, no se identificó un patrón de correlación consistente entre el desempeño de los tratamientos en formulación sólida y líquida. Esto significa que la respuesta de una cepa específica en una formulación no permite predecir su comportamiento en la otra. Cada bacteria responde de forma distinta según el vehículo de aplicación, lo que confirma que no existe una formulación universalmente superior. Por lo tanto, la elección entre sólido y líquido no puede generalizarse y requiere un análisis específico por cepa para determinar la forma de aplicación más adecuada a cada objetivo agronómico.

En cuanto a los grupos, tampoco se reveló una consistencia entre las bacterias alóctonas y autóctonas. Si bien las autóctonas parecen mostrar una correlación más constante, sus índices no indican con claridad una mejora asociada al grupo. Por lo tanto, se concluye nuevamente que el efecto no depende del origen o la formulación, sino que cada bacteria actúa de forma independiente, aunque se observa una tendencia favorable hacia las formulaciones sólidas-autóctonas para el maíz criollo en la etapa V6.

Con el fin de integrar de manera más eficiente y consistente los parámetros evaluados para tomar la mejor decisión de aplicación en campo, se realizó un análisis de componentes principales.

Como se explicó con anterioridad, este método permite integrar de manera efectiva los tres parámetros evaluados en esta investigación y agrupar los tratamientos según sus tendencias. En la Figura 21, el factor 1, que explica el 63.97% de la varianza, presenta los valores LR: -0.7149, LA: -0.8393 y PS: -0.8388, por lo que un valor negativo en el eje X indica un aumento conjunto en los tres parámetros evaluados. Por su parte, el factor 2 tiene los valores LR: 0.6991, LA: -0.2964 y PS: -0.2993, por lo que este eje está dominado por la longitud de la raíz; un aumento en este eje representa una mejora en la longitud radicular y un efecto negativo ligero en la parte aérea y el peso seco. Así, los tratamientos de mayor consistencia se encuentran en el sector 2 del plano (negativo en X y positivo en Y), pero más cercanos al eje X.

Se observa una agrupación de los tratamientos 1, 8, 10 y 11 (C100-S, LAD-S, AZO-S y C100-L. Según la relación de la Tabla 16). En el cuadrante dos, donde 1 y 11 son los controles con fertilización química completa. Las bacterias LAD y AZO presentan efectos similares a este control, por lo que se identifican como las de mayor consistencia y los tratamientos que mejor se comportaron en el maíz criollo, igualando o incluso superando al control, como LAD en peso seco (con un aumento del 7%).

En cuanto a las aplicaciones sólidas, se encuentra dispersión en sus puntos; sin embargo, exceptuando al punto 2 (C50, el control sin bacteria) y al 9 (BKY-S), las demás bacterias presentan un comportamiento similar, agrupadas en 6 cuadrantes. Caso contrario ocurre con las aplicaciones líquidas, que, si bien tienen resultados con efectos muy buenos como el tratamiento 15 (B55-L) —ubicado cerca de los controles con fertilización completa y con un aumento del 18.22% en peso seco respecto al control 100—, el grupo en general tiende a no mostrar una relación clara, siendo variable, pues posee un rango de 20 cuadrantes de dispersión. Por lo tanto, se observa una vez más que el grupo sólido, si bien no es superior en todos sus tratamientos, en la suma de las tres variables analizadas tiene un efecto más consistente y menos variable en comparación con las aplicaciones líquidas.

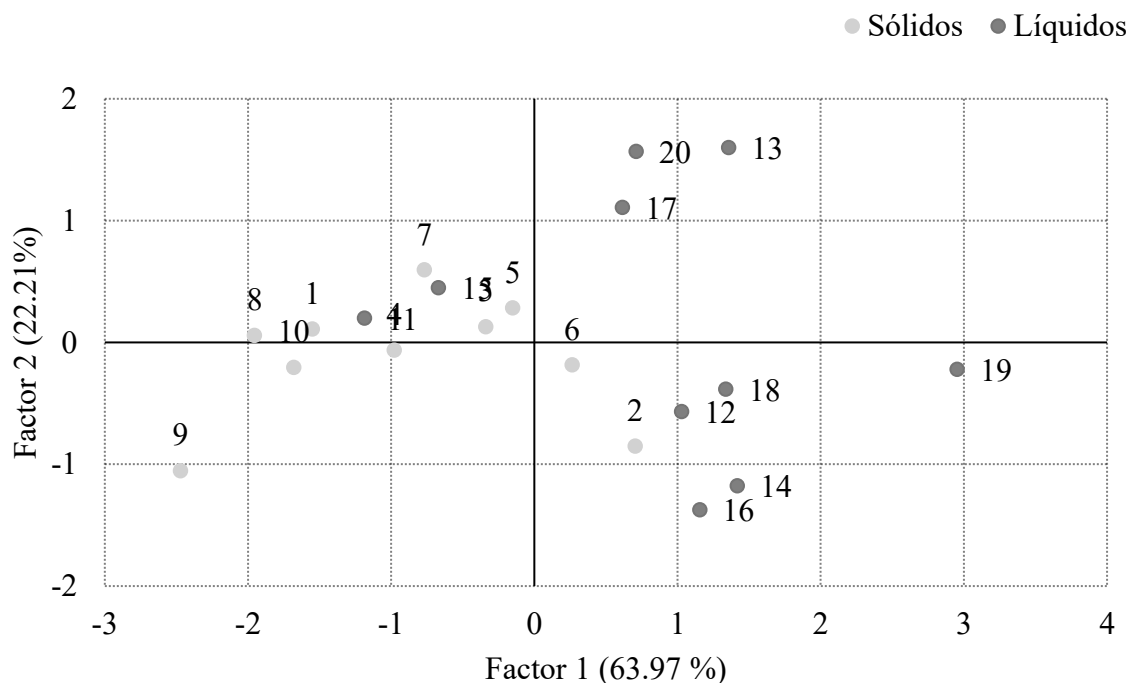


Figura 21 Análisis de componentes principales realizado con los valores de LR, LA y PS en maíz criollo en V6

Tabla 16 Relación de los tratamientos y los números para el PCA en maíz criollo en V6

Número	Bacteria	Aplicación
1	C100	SOL
2	C50	SOL
3	B16	SOL
4	B44	SOL
5	B55	SOL
6	B66	SOL
7	ACJ	SOL
8	LAD	SOL
9	BKY	SOL
10	AZO	SOL
11	C100	LIQ
12	C50	LIQ
13	B16	LIQ
14	B44	LIQ
15	B55	LIQ
16	B66	LIQ
17	ACJ	LIQ
18	LAD	LIQ
19	BKY	LIQ
20	AZO	LIQ

El análisis de la dispersión de los tratamientos no revela un patrón de agrupamiento consistente atribuible al origen de la cepa o al tipo de formulación. Si bien se observa que los tratamientos de bacterias autóctonas en formulación sólida (3, 4, 5, 6) tienden a ubicarse cercanos entre sí, este comportamiento no se replica en los demás grupos. Los tratamientos alóctonos sólidos (7, 8, 9, 10) muestran una mayor dispersión, y ninguno de los grupos en formulación líquida (autóctonos: 13-16; alóctonos: 17-20) presenta una cercanía evidente. En conjunto, estos resultados indican que la respuesta a la inoculación es altamente específica y no está determinada de manera general por una sola variable (origen o formulación).

Aquí se destaca la importancia de realizar pruebas como el PCA, ya que los índices de Pearson en cada prueba no fueron definitivos, mostrando entre relaciones débiles y nulas para los distintos grupos. Sin embargo, mediante este análisis se identifica, no por Pearson sino por tendencia, que el grupo sólido actúa de manera más estable que el líquido. Asimismo, se descarta una relación consistente entre los grupos alóctonos y autóctonos, ya que, de existir, estos deberían mostrar el mismo comportamiento o al menos agruparse en los mismos cuadrantes. Por lo tanto, la mayor variabilidad en el efecto se atribuye al método de aplicación y no al origen de las bacterias.

Maíz híbrido

El diseño experimental que incluye dos tipos de maíz responde a una premisa metodológica: evaluar la amplitud de respuesta y la consistencia de los tratamientos bacterianos en sistemas genéticos contrastantes. Esta comparativa no busca establecer una jerarquía de superioridad entre materiales, sino que opera como un modelo de validación dual. Al exponer los mismos consorcios microbianos a fisiologías distintas, una optimizada para rendimiento en condiciones controladas (híbrido) y otra moldeada por adaptación y resiliencia local (criollo), se puede discernir si los efectos promotores observados son específicos de un genotipo o, por el contrario, exhiben un carácter más robusto y generalizable.

Longitud de la raíz

Respecto a la longitud de la raíz (Fig. 22) en maíz híbrido, se observó que el control 100 fue superior al control 50, lo que confirma que la reducción del 50% en la fertilización química tiene un efecto negativo en este parámetro, con disminuciones del 21.56% para la aplicación sólida y del 37.21% para la líquida. Este es el único caso en el que los controles presentaron diferencias significativas según la prueba de Games-Howell.

En las aplicaciones sólidas, ningún tratamiento superó al control 100, aunque tres (18.75%) fueron estadísticamente iguales, lo que constituye un resultado relevante dado que estos tratamientos operaron con una fertilización reducida en un 50%. Los cinco tratamientos restantes (31.25%) fueron inferiores al control 100. Al compararlos con el control 50, tres tratamientos (18.75%) fueron superiores, cinco (31.25%) iguales y ninguno inferior. Esto indica que, en su peor escenario, las aplicaciones sólidas no presentan un efecto adverso adicional, ya que su desempeño equivale al del control con fertilización reducida.

Por su parte, las aplicaciones líquidas mostraron cuatro tratamientos iguales al control 100 (25%) y cuatro inferiores. Frente al control 50, la distribución fue de cuatro tratamientos superiores (25%), uno igual (6.25%) y tres inferiores (18.75%). Este último dato es particularmente significativo, ya que tres bacterias líquidas tuvieron un efecto incluso más perjudicial que la sola reducción de fertilizantes. En conjunto, estos resultados reflejan que las aplicaciones sólidas presentan un efecto más favorable sobre la longitud de la raíz.

En el análisis por tratamientos específicos, en el grupo sólido destaca AZO con 37.28 cm, que representó un incremento del 10.97% respecto al control 100, mientras que B55, con 24.28 cm, mostró una disminución del 27.73%. En los líquidos, AZO fue también el mejor tratamiento con 37.33 cm, el mejor resultado global, registrando un 19.03% de aumento, mientras que B66 fue el de menor rendimiento con 11.79 cm y una disminución del 62.40%. Estos resultados corroboran que, si bien el grupo sólido es más consistente, las aplicaciones líquidas no pueden descartarse totalmente, ya que en este caso AZO-L fue el tratamiento más efectivo. Los análisis de correlación de Pearson indicaron una relación nula entre los grupos

sólidos y líquidos (0.0211). El grupo autóctono mostró una correlación negativa débil (-0.2100), al igual que el grupo alóctono (-0.1313), lo que sugiere la ausencia de una relación consistente entre el origen de las bacterias o el tipo de aplicación con el efecto observado.

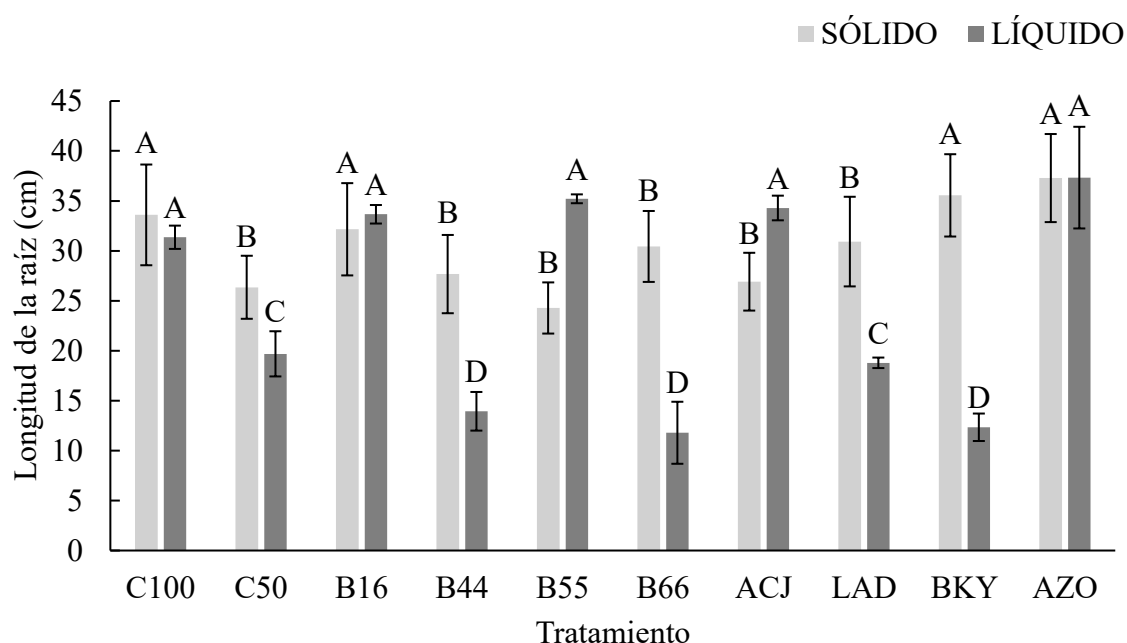


Figura 22 Efecto de las bacterias y aplicaciones en la longitud de la raíz de maíz híbrido en V6. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

Al igual que en el maíz criollo, el grupo sólido demostró mayor consistencia para promover el crecimiento de la raíz en el híbrido. No obstante, tratamientos líquidos como B16, B55 y especialmente AZO impiden descartar por completo a esta formulación, lo que refuerza la necesidad de realizar estudios previos específicos para cada planta. Cabe destacar que tratamientos como AZO y BKY en sólido lograron compensar de manera efectiva la reducción de la fertilización química.

Longitud de la parte aérea

Respecto a la longitud de la parte aérea (Fig. 23), se observa un cambio en el panorama. En este parámetro, ninguna de las aplicaciones sólidas superó o igualó al control 100, sino que se comportaron de manera similar al control 50, por lo que no ejercieron un efecto significativo en este aspecto. Por su parte, las aplicaciones líquidas mostraron un mejor desempeño que las sólidas, aunque tampoco alcanzaron al control 100; de estos tratamientos,

6 (37.5%) fueron superiores al control 50 y 2 (12.5%) iguales a este. En términos generales, las bacterias no lograron compensar efectivamente la reducción del 50% en la fertilización química para la parte aérea. No obstante, al observar una mejora respecto al control 50, se infiere que podrían permitir una disminución, aunque inferior al 50% establecido en el ensayo.

Dentro del grupo sólido, destaca AZO con 12.13 cm, que representa una reducción del 37.56% respecto al control 100, mientras que el peor tratamiento fue BKY con 10.4 cm y una disminución del 46.44%. En los tratamientos líquidos, se registró el mejor resultado general con 16.74 cm, que equivale a una reducción del 16.96% respecto al control 100; el peor tratamiento fue LAD con 12.96 cm, que implica una disminución del 35.91%. Si bien los tratamientos sólidos presentan un rango menor entre sus valores —lo que indica consistencia, aunque con resultados bajos—, los líquidos muestran un rango más amplio, con mejores resultados, pero mayor variabilidad, lo que refuerza la tendencia observada en todos los parámetros: los sólidos son más consistentes.

Los índices de correlación de Pearson indican una alta correlación positiva (0.8071) entre los grupos, lo que sugiere que un aumento en uno corresponde a un aumento en el otro. Sin embargo, al analizar por origen, el grupo alóctono presenta una correlación positiva débil (0.2638), al igual que el grupo autóctono (0.1245). Esto indica que la mayor correlación se da por el tipo de aplicación y no por el origen de las bacterias.

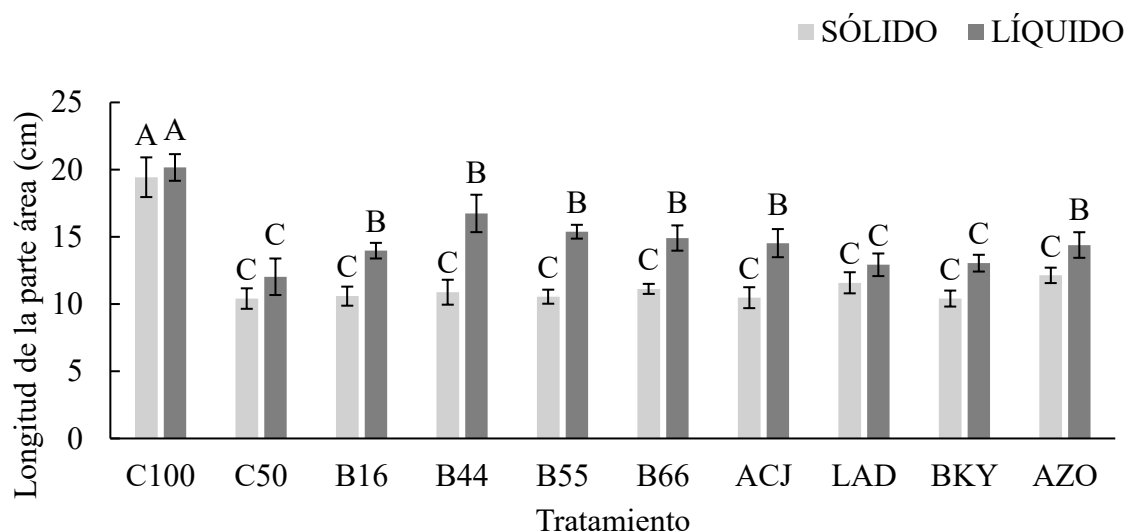


Figura 23 Efecto de las bacterias y aplicaciones en la longitud de la parte aérea en maíz híbrido en V6. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

En conclusión, para la longitud de la parte aérea se observa un resultado más favorable en el grupo líquido. No obstante, a pesar de ser el mejor, ningún tratamiento logró superar o igualar al control 100, por lo que no se consideran efectivos para una reducción del 50% en la fertilización química. Cabe destacar el comportamiento del grupo sólido, que mostró una alta consistencia entre sus resultados, aunque esto también podría atribuirse a la ausencia de efecto, ya que su desempeño fue equivalente al control 50. Por lo tanto, para este parámetro, la adición de bacterias en formulación sólida no representó una ventaja significativa.

Peso seco

Respecto al peso seco en el maíz híbrido (Fig. 24), se observa un comportamiento ambivalente entre los tratamientos. En primer lugar, los controles 100 y 50 son consistentes con lo observado previamente, mostrando el efecto negativo de la reducción de la fertilización química, con una disminución del 18.72% para las aplicaciones sólidas y del 15.09% para las líquidas.

En las aplicaciones sólidas, tres tratamientos (18.75%) fueron iguales al control 100 y cinco (31.25%) inferiores. Sin embargo, al compararlos con el control 50, tres (18.75%) resultaron superiores y cinco (31.25%) iguales. Por su parte, el grupo líquido presentó una distribución similar frente al control 100, con tres tratamientos iguales y cinco inferiores, aunque su comportamiento frente al control 50 fue diferente: tres superiores, cuatro iguales y uno inferior. De esto se concluye que, en general, el grupo sólido presenta resultados con un efecto más favorable en comparación con los líquidos.

En cuanto a los tratamientos específicos, en el grupo sólido destaca B44 con 0.8446 g, que representa una reducción del 5.19% respecto al control 100, mientras que AZO fue el de menor rendimiento con 0.6886 g, un 22.70% inferior al control. En el grupo líquido, B55 obtuvo el mejor resultado global con 0.9133 g, superando en un 10.72% al control 100, mientras que BKY registró el peor desempeño general con 0.5736 g, una disminución del 30.45%. Esto confirma una vez más el mayor rango de variación en las aplicaciones líquidas, lo que refleja una mayor inconsistencia en este grupo.

En los análisis de correlación de Pearson, se encontró una correlación positiva media (0.5640) entre los grupos. El grupo autóctono presentó igualmente una correlación positiva media (0.5556), mientras que las bacterias alóctonas mostraron una relación negativa débil (-0.1559). Esto indica que el grupo autóctono explica el comportamiento de manera similar al tipo de aplicación, lo que sugiere que tanto el origen de las bacterias como la forma de aplicación influyen en la acumulación de biomasa en el maíz híbrido.

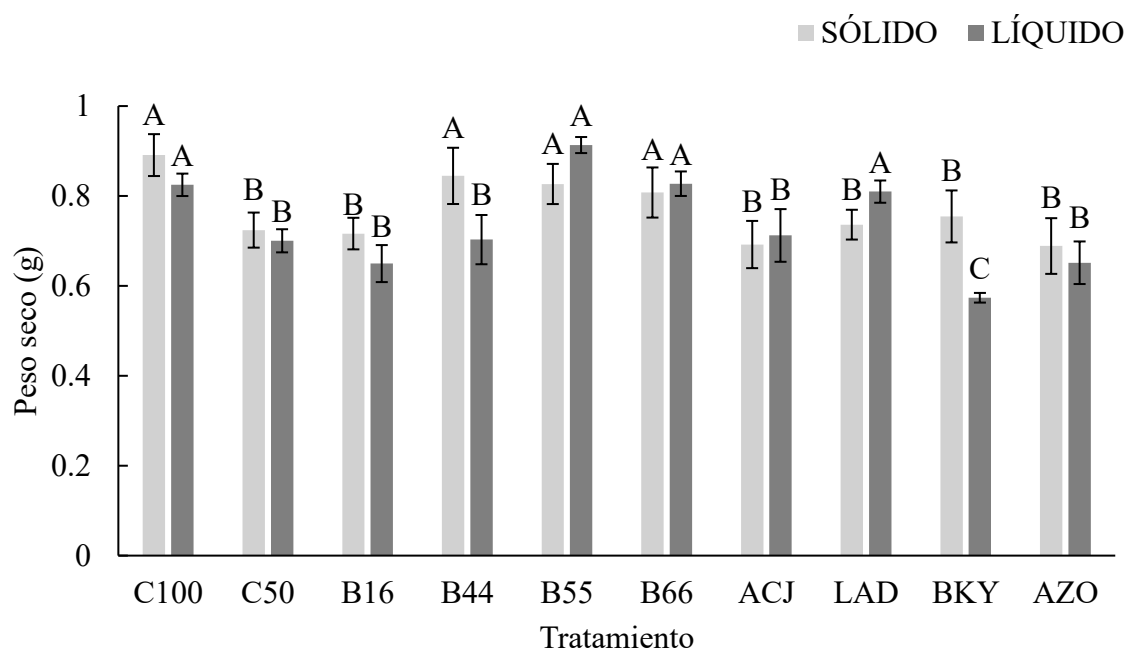


Figura 24 Efecto de las bacterias y aplicaciones en el peso seco de maíz híbrido en V6. ANOVA de dos vías de Brown-Forsythe y prueba post hoc de Games-Howell ($\alpha = 0.05$, $n = 21 \pm DE$). Letras distintas representan diferencias significativas

Análisis de componentes principales

Los resultados de integrar los tres parámetros en el PCA se observan la Figura 25. Los puntos presentes son los mismos descritos en la Tabla 16. En este caso, el factor 1 explica el 54% de la varianza y el factor 2 el 34.18%. El factor 1 presenta los valores LR: -0.7149, LA: -0.8393 y PS: -0.8388, lo que indica que representa la relación conjunta de los parámetros; así, una posición más negativa en el eje X del plano significa un mayor valor en las tres variables. Por su parte, el factor 2, con los valores LR: 0.6991, LA: -0.2964 y PS: -0.2993, está dominado principalmente por la longitud de la raíz, mostrando un efecto ligeramente negativo en la parte aérea y el peso seco conforme aumenta en el eje Y. Por lo tanto, en este gráfico, los mejores tratamientos se ubicarán en coordenadas negativas en X y positivas en Y.

De acuerdo con lo anterior, se observa que los controles 100 (puntos 1 y 11) representan los mejores resultados. Los tratamientos más cercanos a estos controles son los puntos 3, 7, 9, 10 y 13 (B16-S, ACJ-S, BKY-S y B16-L), los cuales constituyen los mejores desempeños al conjugar favorablemente los tres parámetros. Este hallazgo es consistente con los gráficos presentados en la sección anterior.

Asimismo, se identifica un agrupamiento de los tratamientos sólidos, los cuales se concentran en 6 cuadrantes contiguos. Por el contrario, las aplicaciones líquidas se encuentran distribuidas en prácticamente todo el plano, lo que ratifica la conclusión previa sobre la mayor consistencia de las formulaciones sólidas en contraste con la alta variabilidad de las líquidas. En cuanto al origen de las bacterias, los tratamientos autóctonos 3, 4, 5 y 6 (sólidos) se ubican cercanos entre sí, pero no así los tratamientos 13, 14, 15 y 16 (líquidos), lo que descarta un comportamiento agrupado para el conjunto de autóctonas. Situación similar se observa en las alóctonas: los tratamientos 7, 8, 9 y 10 (sólidos) forman un grupo, mientras que los tratamientos 17, 18, 19 y 20 (líquidos) aparecen dispersos, lo que confirma nuevamente que la consistencia depende más del tipo de aplicación que del origen.

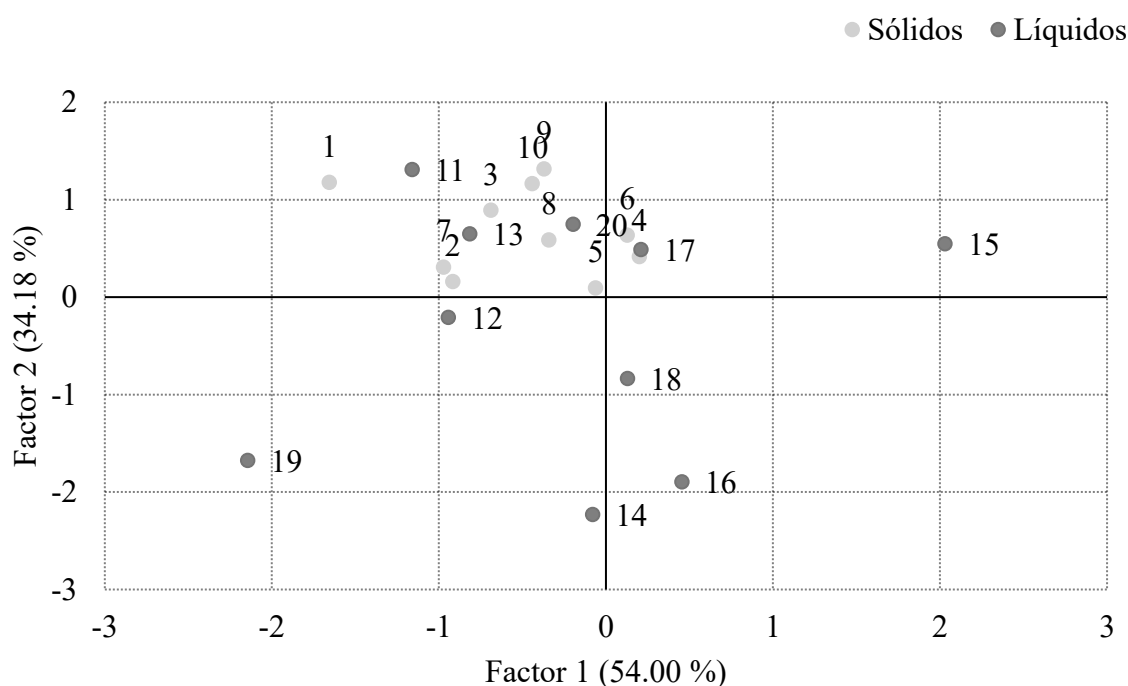


Figura 25 Análisis de componentes principales realizado con los valores de LR, LA y PS en maíz híbrido en V6

Con base en lo anterior, se establece un mayor efecto de los tratamientos sólidos, los cuales demuestran un resultado más consistente en el conjunto de los tres parámetros evaluados. Si bien las aplicaciones líquidas incluyen algunas bacterias con efectos similares, estas son minoría. Por lo tanto, las aplicaciones sólidas se consolidan una vez más como la alternativa más recomendable para su uso en maíz híbrido.

Al integrar los resultados de ambas variedades en la etapa V6, se corrobora que la formulación sólida demostró una notable superioridad en consistencia sobre la líquida, tanto en maíz criollo como híbrido. Esta tendencia se evidenció en la capacidad de los tratamientos sólidos para agruparse en sectores específicos del análisis de componentes principales (PCA), reflejando un efecto conjunto más estable y predecible en los tres parámetros evaluados. Si bien en el híbrido se registraron tratamientos líquidos excepcionales como AZO-L en longitud de raíz y B55-L en peso seco, su comportamiento fue altamente variable, confirmando que la principal ventaja de los sólidos reside en su confiabilidad y no necesariamente en su potencia máxima. Respecto al origen de las bacterias, no se estableció un patrón definitorio, ya que tanto autóctonas como alóctonas mostraron resultados efectivos en ambas formulaciones; sin embargo, se observó una tendencia sutil en la que las cepas autóctonas en formulación sólida (ej. LAD, AZO) mostraron una ligera propensión a lograr los mejores resultados en criollo, mientras que en híbrido esta ventaja no fue exclusiva. Un hallazgo transversal fue la marcada sensibilidad del maíz híbrido a la reducción de fertilizantes, mostrando disminuciones más drásticas en sus controles 50, lo que sugiere una mayor dependencia inicial de la fertilización química en comparación con el criollo. En conclusión, la formulación sólida se consolida como la opción más robusta para un manejo confiable con fertilización reducida en ambas variedades, mientras que el origen bacteriano y la variedad vegetal modularían efectos específicos, pero secundarios frente al factor de la formulación.

La etapa vegetativa V6 se considera un periodo indicativo de la calidad futura de la planta (Sánchez-Ceja *et al.*, 2023). En este estudio, los efectos de los tratamientos en V6 fueron discretos en ambas formulaciones y variedades, un comportamiento que puede atribuirse a la transición fenológica entre V6 y V8, donde el maíz prioriza la acumulación de nutrientes sobre el crecimiento longitudinal como preparación para el desarrollo acelerado en etapas posteriores como V12 (Taiz y Zeiger, 2023).

El mecanismo de acción subyacente puede explicarse por el papel de las rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas (PGPR), las cuales mejoran la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Two Reis *et al.*, 2024), coincidiendo con el aumento en biomasa y peso seco observado. Este hallazgo es respaldado por Adesemoye *et al.* (2008), quienes demostraron que las PGPR pueden reducir hasta en un 50% la necesidad de fertilizantes químicos sin afectar negativamente el rendimiento del maíz.

Investigaciones previas en condiciones de fertilización reducida respaldan la viabilidad de esta estrategia. Gholami *et al.* (2009) reportaron, con una reducción del 50% en la fertilización nitrogenada, mejoras del 18.63% en longitud de parte aérea y del 110% en peso seco respecto a un control con fertilización completa. De manera similar, Amogou *et al.* (2018) observaron en suelos con limitación de fósforo incrementos del 53.72% en biomasa seca, 37.32% en altura y 108.71% en longitud de raíz.

Los resultados de este estudio, donde el tratamiento LAD mostró incrementos del 15% en longitud de raíz, 0.83% en longitud de parte aérea y 12% en peso seco, son más modestos en comparación. Una explicación clave para esta discrepancia reside en que los estudios citados evaluaron limitaciones individuales de nitrógeno o fósforo, respectivamente, mientras que el presente trabajo redujo la aplicación de ambos nutrientes de manera simultánea, lo que representa un estrés nutricional más severo para la planta. En consecuencia, y con base en el conjunto de resultados obtenidos en las etapas VE, V3 y V6, se procedió a realizar un nuevo análisis para seleccionar los tratamientos más promisorios y evaluarlos en condiciones de campo.

7.5. Efecto integral en el desarrollo del maíz.

Maíz criollo

El presente trabajo tuvo como objetivo identificar microorganismos que, sin modificar las condiciones de campo de los agricultores, presentaran un efecto integral en el desarrollo del maíz. Si bien se identificaron bacterias con desempeños destacados en parámetros específicos, se priorizó la selección de aquellas con un efecto consistente en todos los aspectos evaluados. Para ello, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) que integró los valores de germinación (GER), vigor (VIG), longitud de raíz en V3 y V6 (LRV3, LRV6), longitud de parte aérea en V3 y V6 (LAV3, LAV6) y peso seco en V3 y V6 (PSV3, PSV6).

Para interpretar las relaciones entre las variables de crecimiento evaluadas (desde germinación hasta V6) y la respuesta a los diferentes tratamientos bacterianos, se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA):

Figura 26: Este gráfico ilustra cómo se relacionan las variables originales con los nuevos ejes o componentes principales (Factores 1 y 2). La posición y dirección de los vectores indican su contribución a cada factor. Se presenta la matriz de correlaciones entre variables y factores. Esta figura confirma que el Factor 1 está principalmente dominado por Germinación (GER) y Área Foliar en V6 (LAV6) (con correlaciones de -0.87 para ambas), mientras que el Factor 2 lo está por Peso Seco en V3 (PSV3) y Vigor (VIG) (con correlaciones de -0.76 y -0.67, respectivamente). En términos prácticos, una disminución en el Factor 1 está asociada a un aumento conjunto en la mayoría de las variables de crecimiento tardío (V6), y una disminución en el Factor 2 se relaciona con un incremento en las variables de establecimiento temprano (VIG, GER) y biomasa en V3.

Figura 27: Esta figura amplía el análisis al incluir el Factor 3. Aquí se observa un patrón clave: las variables VIG, GER, LRV6 y LAV6 se agrupan cerca del origen del Factor 3. Indica que estas variables no están fuertemente influenciadas por la dinámica capturada en el tercer componente principal. Su agrupación sugiere que responden de manera similar a los tratamientos, independientemente de la variabilidad explicada por este factor adicional.

Figura 28. Finalmente, este gráfico responde a la pregunta central: ¿Cómo se agrupan o separan los distintos tratamientos bacterianos en el espacio definido por los componentes

principales? Al proyectar las puntuaciones de cada tratamiento (sólido/líquido, autóctono/alóctono) en los mismos ejes de las Figuras 26 y 27, podemos visualizar si tratamientos con características similares inducen respuestas fisiológicas afines en las plantas de maíz.

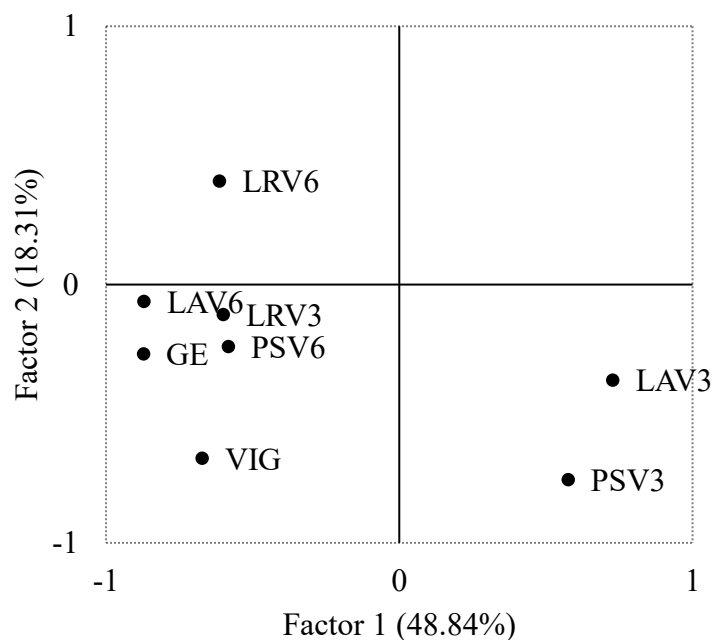


Figura 26 Análisis de componentes principales de todas las variables para maíz criollo.
Factor 1 y 2

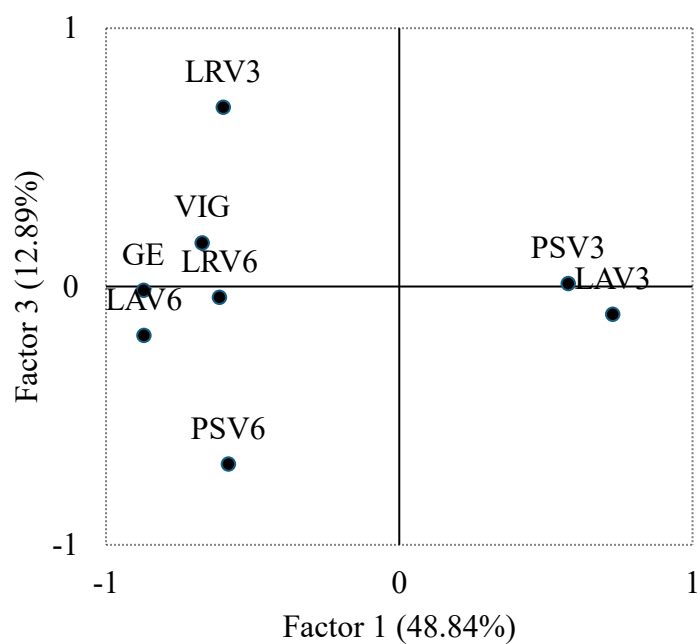


Figura 27 Análisis de componentes principales de todas las variables para maíz criollo.
Factor 1 y 3

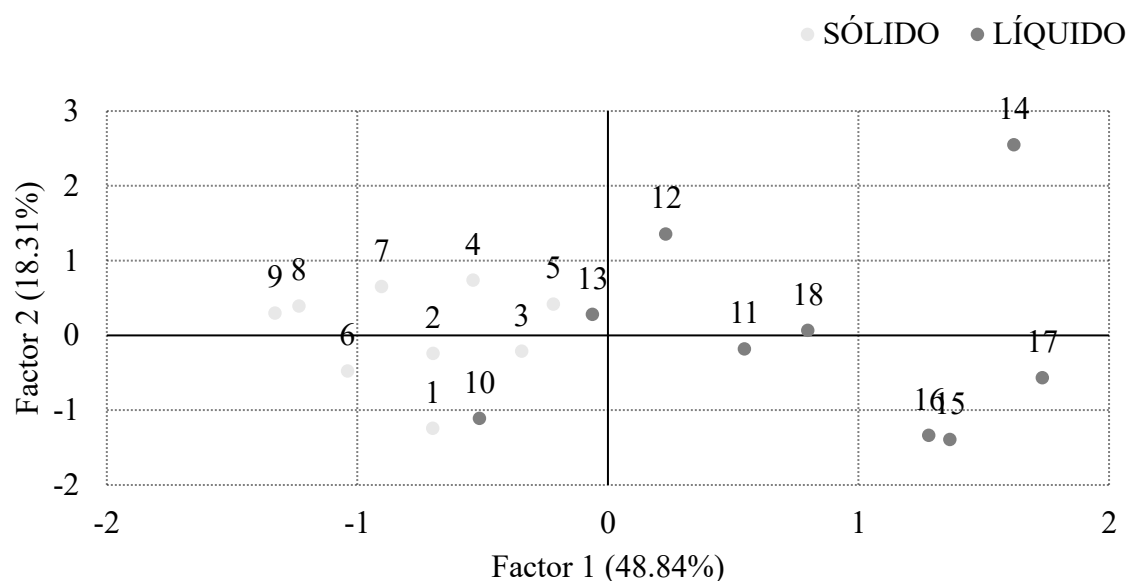


Figura 28 Análisis de componentes principales realizado con todas las variables para maíz criollo. Factor 1 y 2

Con base en los componentes principales identificados, se establecieron criterios para seleccionar los tratamientos con el perfil promotor más integral. Se buscaron bacterias ubicadas hacia el extremo negativo del Factor 1 (asociado a un mayor crecimiento en V6), cercanas al origen del Factor 2 (para un buen establecimiento temprano) y también cercanas al origen del Factor 3 (lo que indica un efecto balanceado sin comprometer variables específicas). La Figura 29 aplica estos filtros de manera visual, identificando que todos los tratamientos en formulación sólida (puntos 1 al 9) cumplen con este perfil balanceado.

Para priorizar entre estas opciones y evaluar la consistencia a lo largo del ciclo, se analizaron los resultados por etapa. La Tabla 17 (sólidos) confirma que, si bien todos promueven el crecimiento, la cepa BKY fue la más consistente en ambas etapas (V3 y V6), seguida por LAD y AZO. En marcado contraste, la Tabla 18 (líquidos) revela una efectividad más específica, donde solo B55 mostró un efecto promotor claro y consistente.

En conclusión, mientras la formulación sólida ofrece un efecto promotor generalizado y balanceado, siendo BKY la opción más robusta, la formulación líquida requiere una selección precisa de cepa, destacando B55 como la más efectiva en este vehículo.

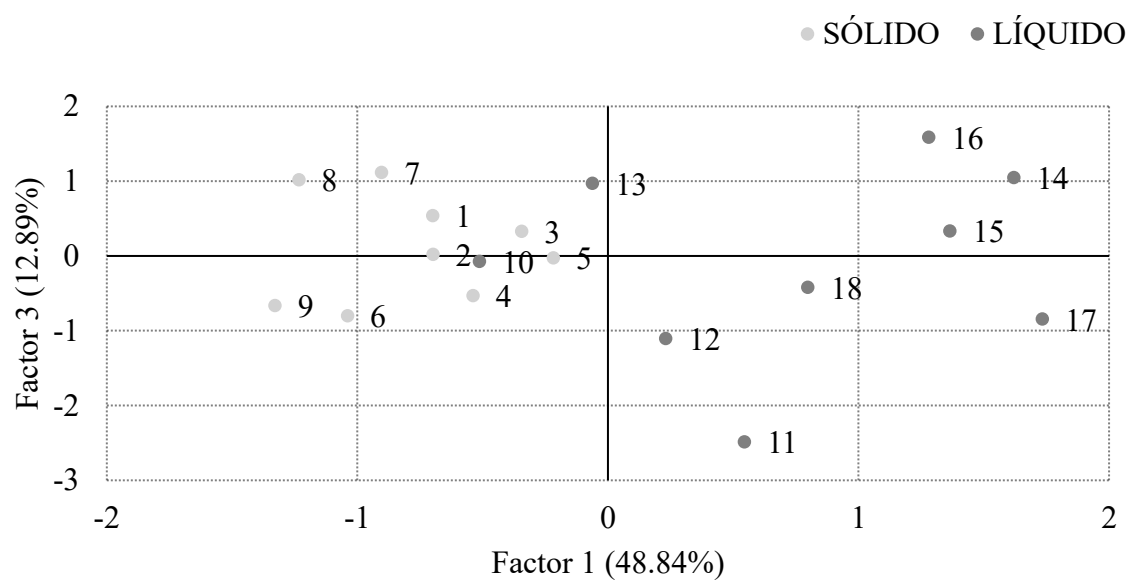


Figura 29 Análisis de componentes principales realizado con todas las variables para maíz criollo. Factor 1 y 3

Tabla 17 Distribución de las diferencias significativas en las variables de maíz criollo aplicaciones sólidas

TRA	APL	GE	VIG	LRV3	LAV3	PSV3	LRV6	LAV6	PSV6
B16	SOL	1	1	0	1	0	0	-1	0
B44	SOL	0	1	0	1	1	0	0	0
B55	SOL	1	1	1	1	1	0	-1	0
B66	SOL	1	1	0	1	1	-1	-1	0
ACJ	SOL	1	1	1	1	-1	0	0	0
LAD	SOL	1	1	0	1	1	0	0	1
BKY	SOL	1	1	1	1	1	0	0	1
AZO	SOL	1	1	1	1	1	0	0	0

1 (verde) cuando es estadísticamente superior al control, 0 (amarillo) cuando es estadísticamente igual al control y -1 (rojo) cuando es estadísticamente inferior al control.

Tabla 18 Distribución de las diferencias significativas en las variables de maíz criollo aplicaciones líquidas

TRA	APL	GE	VIG	LRV3	LAV3	PSV3	LRV6	LAV6	PSV6
B16	LIQ	-1	1	1	1	1	0	-1	0
B44	LIQ	0	1	1	1	1	-1	-1	0
B55	LIQ	0	1	0	1	1	0	-1	1
B66	LIQ	-1	1	0	1	1	-1	-1	0
ACJ	LIQ	-1	-1	0	1	1	0	-1	0
LAD	LIQ	-1	-1	-1	1	1	-1	-1	0
BKY	LIQ	-1	-1	0	1	1	-1	-1	-1
AZO	LIQ	-1	1	0	1	1	0	-1	0

1 (verde) cuando es estadísticamente superior al control, 0 (amarillo) cuando es estadísticamente igual al control y -1 (rojo) cuando es estadísticamente inferior al control.

Cabe resaltar que el grupo sólido demostró superioridad sobre el líquido, no solo en la tabla de resultados donde los mejores tratamientos corresponden a esta formulación, sino también en el PCA, donde los sólidos se agruparon en los cuadrantes asociados a los mayores efectos. Esto, junto con toda la evidencia previamente presentada, concluye de manera robusta que el grupo sólido fue el más efectivo a lo largo del estudio.

Es fundamental destacar la relevancia de la formulación sólida en el contexto de los objetivos planteados. Como se mencionó inicialmente, una meta central de este trabajo fue desarrollar una tecnología que pudiera integrarse sin modificar las prácticas de cultivo establecidas, las cuales se basan principalmente en la fertilización granulada y el riego temporal. Al confirmar la superior eficacia del bioinoculante en forma sólida, se facilita una adopción directa por parte del agricultor, ya que el producto puede aplicarse de manera análoga a los fertilizantes convencionales. De esta forma, no solo se logra una reducción del 50% en la fertilización química, sino que se mantienen e incluso se superan los parámetros de crecimiento del cultivo. Adicionalmente, este estudio contribuye al validar el potencial de cepas bacterianas nativas que, si bien fueron aisladas de cultivos de maíz, no habían sido caracterizadas ni evaluadas experimentalmente con anterioridad, ampliando así el espectro de microorganismos promisorios para la agricultura sostenible.

Maíz híbrido

Para el maíz híbrido, el análisis de componentes principales (PCA) presentó un escenario distinto al observado en el criollo, siendo menos claro en su interpretación. En la Figura 30, el factor 1 explicó el 38.45% de la varianza y el factor 2 el 23.99%. Un incremento en el eje X (factor 1) representa un aumento en los valores de GER, VIG, LRV3, LAV3, LRV6 y PSV6, estando este eje dominado por el VIG (0.9244). Por su parte, un incremento en el factor 2 (eje Y) es favorable para GER, LRV3, PSV3 y LRV6, mientras que un decremento lo es para LAV3, LAV6 y PSV6; el VIG se ubicó cerca del origen. De esta forma, las bacterias

ubicadas en las coordenadas de 1 a 3 en X y de -1 a 1 en Y son las que presentan un crecimiento más uniforme en los parámetros.

El factor 3, que explica el 14.90% de la varianza, como se observa en la Figura 31, expresa que un aumento en este eje afecta positivamente a GER, LRV3, PSV3 y LRV6, mientras que un decremento beneficia a LAV3, LAV6 y PSV6; el VIG se mantuvo en el origen. Este eje está principalmente influenciado por PSV6 (-0.7306), por lo que se buscaron bacterias ubicadas entre -0.5 y 0.5 en el factor 3.

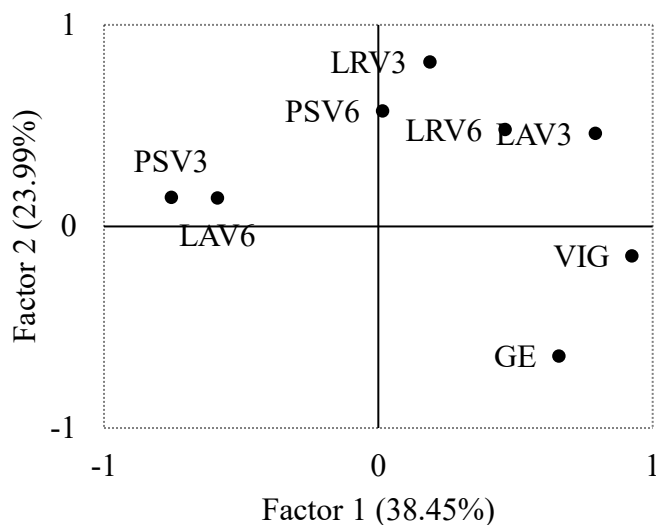


Figura 30 Análisis de componentes principales de todas las variables para maíz híbrido.
Factor 1 y 2

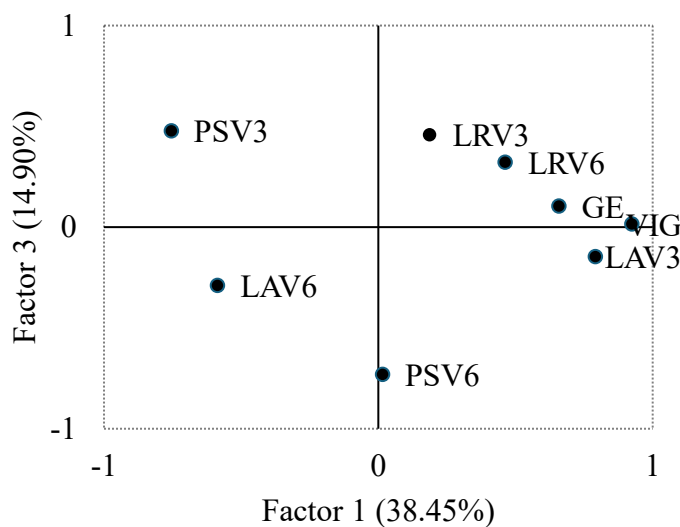


Figura 31 Análisis de componentes principales de todas las variables para maíz híbrido.
Factor 1 y 3

Siendo así que, las bacterias de 2 a 9 se encuentran dentro de los rango establecidos como lo muestra la Figura 32. Siendo todas estas aplicaciones sólidas. Las bacterias de 2 a 9 de la Figura 33 son nuevamente las que sobresalen, confirmando que las aplicaciones sólidas son las más eficientes. Así mismo, en ambas figuras se observa una distribución dispersa para las aplicaciones sólidas. Así mismo, se observa que los grupos autóctonos y alóctonos no presentan agrupación, por lo que una vez más, la agrupación es por el método de aplicación y no por el origen.

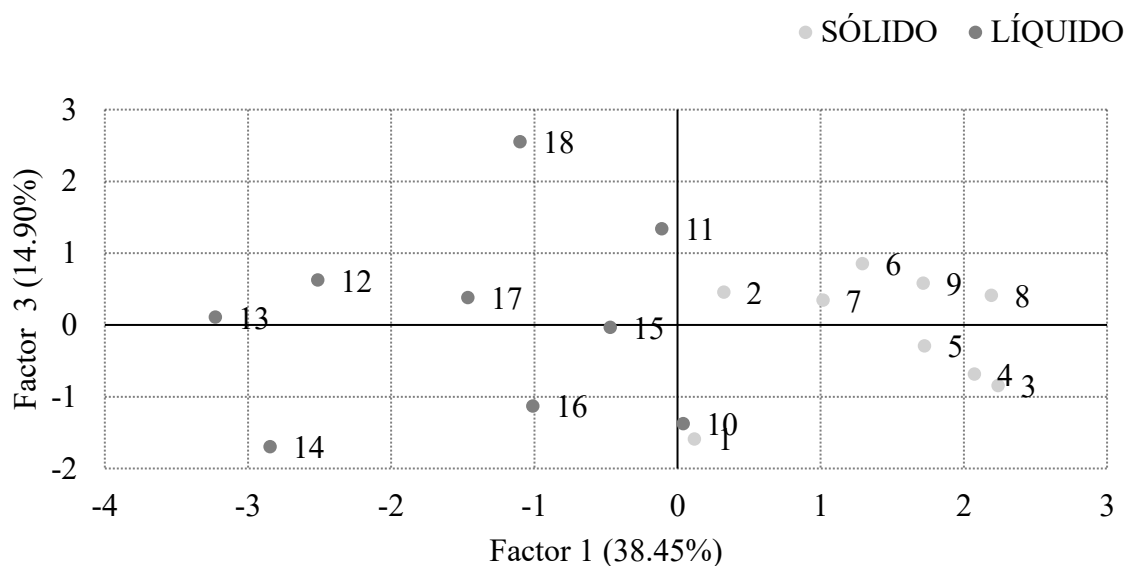


Figura 32 Análisis de componentes principales realizado con todas las variables para maíz híbrido. Factor 1 y 2

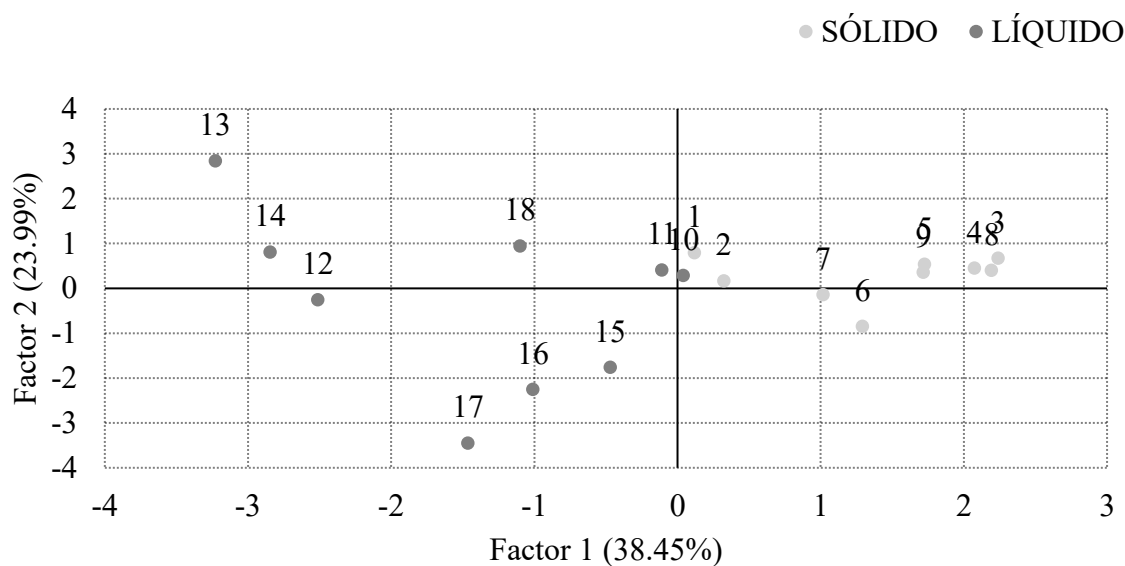


Figura 33 Análisis de componentes principales realizado con todas las variables para maíz híbrido. Factor 1 y 3

Para discriminar aún más entre las bacterias, se utilizó la Tabla 19, que asigna un valor de 1 si la bacteria supera estadísticamente al control, 0 si es igual y -1 si es inferior (utilizando solo el control 100 para V6). Esta tabla clarifica lo sugerido por el PCA, mostrando que BKYS es la bacteria con el efecto más constante, ya que incrementa cuatro parámetros, mantiene dos iguales y presenta dos por debajo del control. Asimismo, se observa un empate triple en el segundo lugar, donde B44, B55 y B66 comparten el mismo patrón de comportamiento, lo cual es coherente con su agrupación en el plano del PCA (puntos 3, 4 y 5). Así mismo, se observa en la Tabla 20 las diferencias de los tratamientos líquidos, donde contrastan al siendo su mejor bacteria B55, sin embargo, no presentan resultados similares a las aplicaciones sólidas.

Tabla 19 Distribución de las diferencias significativas en las variables de maíz híbrido aplicaciones sólidas

TRA	APL	GER	VIG	LRV3	LAV3	PSV3	LRV6	LAV6	PSV6
B16	SOL	-1	-1	0	0	0	0	-1	-1
B44	SOL	0	1	0	1	0	-1	-1	0
B55	SOL	0	1	0	1	0	-1	-1	0
B66	SOL	0	1	0	1	0	-1	-1	0
ACJ	SOL	1	1	0	0	0	-1	-1	-1
LAD	SOL	0	1	0	0	0	-1	-1	-1
BKY	SOL	1	1	1	1	0	0	-1	-1
AZO	SOL	0	1	0	1	0	0	-1	-1

1 (verde) cuando es estadísticamente superior al control, 0 (amarillo) cuando es estadísticamente igual al control y -1 (rojo) cuando es estadísticamente inferior al control.

Tabla 20 Distribución de las diferencias significativas en las variables de maíz híbrido aplicaciones líquidas

TRA	APL	GE	VIG	LRV3	LAV3	PSV3	LRV6	LAV6	PSV6
B16	LIQ	-1	-1	1	0	0	0	-1	-1
B44	LIQ	-1	-1	0	-1	1	-1	-1	-1
B55	LIQ	-1	-1	1	-1	1	0	-1	0
B66	LIQ	-1	-1	0	0	0	-1	-1	0
ACJ	LIQ	1	-1	-1	-1	0	0	-1	-1
LAD	LIQ	1	-1	-1	-1	0	-1	-1	0
BKY	LIQ	1	-1	-1	-1	0	-1	-1	-1
AZO	LIQ	-1	-1	1	-1	1	0	-1	-1

1 (verde) cuando es estadísticamente superior al control, 0 (amarillo) cuando es estadísticamente igual al control y -1 (rojo) cuando es estadísticamente inferior al control.

En conclusión, para el maíz híbrido se reafirma que las aplicaciones sólidas son superiores y más consistentes para promover el crecimiento vegetal. En este caso, no se identificó una afinidad marcada por el origen de las bacterias, ya que tanto autóctonas como alóctonas mostraron efectos variables. Sin embargo, si se observa una tendencia a que las bacterias autóctonas presentaron un comportamiento más homogéneo, con la excepción de B16. Por lo tanto, la formulación sólida se consolida una vez más como el factor más relevante para predecir el éxito del inoculante.

Los resultados en la etapa V6 confirman su carácter crítico como ventana de validación para la eficiencia de los bioinoculantes bajo un manejo nutricional reducido. Se demuestra que, si bien pocas cepas superaron el rendimiento del control fertilizado al 100%, un conjunto específico de bacterias —particularmente en formulación sólida— logró equipararlo, aun con una reducción del 50% en la fertilización química de nitrógeno y fósforo. Este hallazgo es de gran relevancia agronómica, ya que V6 es el momento en que la planta define componentes irreversibles del rendimiento, como el número potencial de hileras de la mazorca, y su demanda nutricional es máxima.

El análisis integral revela que la formulación sólida consolida su ventaja en esta etapa, mostrando la mayor consistencia y un perfil de acción balanceado que favorece tanto el desarrollo radicular como la acumulación de biomasa, lo cual es fundamental para sostener el crecimiento acelerado de V6. En contraste, las formulaciones líquidas mostraron una efectividad más variable y dependiente de la cepa específica.

Sin embargo, la efectividad no fue un atributo exclusivo de los sólidos. En etapas fenológicas específicas donde se requiere una respuesta rápida, como la etapa V3 en el maíz híbrido, las formulaciones líquidas demostraron un potencial notable. Cepas como B66 y ACJ, aplicadas en este vehículo, ejercieron un efecto significativo y rápido en parámetros clave como la longitud radical y el peso seco. Esto sugiere que las formulaciones líquidas, al presentar los microorganismos en un estado metabólicamente activo y disponible de inmediato, pueden desencadenar una estimulación temprana más intensa. Esta observación encuentra respaldo en estudios como el de Fernández et al. (2024), quienes reportan que la rápida liberación y disponibilidad de componentes en las formulaciones líquidas las hace particularmente idóneas para intervenciones en fases iniciales del desarrollo vegetal.

En síntesis, estos resultados conjuntos delinean un principio agronómico claro: no existe una formulación universalmente superior. La elección óptima debe surgir de un balance estratégico entre la consistencia y persistencia que ofrecen los sólidos y la rapidez de acción característica de los líquidos. La decisión final debe, por tanto, considerar de manera integral las condiciones específicas del cultivo, las propiedades del suelo y, de manera crítica, la etapa fenológica en la que se busca intervenir, para así seleccionar el vehículo que mejor se alinee con el objetivo fisiológico y productivo deseado.

7.6. Selección de bacterias para los ensayos en campo

La selección final de cepas se realizó considerando tres criterios fundamentales:

1) los resultados de eficacia obtenidos en invernadero para el maíz híbrido. Que fue maíz utilizado en el sitio de estudio según lo establecido en la metodología, y cuyos tratamientos más prometedores fueron identificados mediante el análisis de componentes principales (PCA) y validados en la Tabla 19; 2) el objetivo práctico de integrar la tecnología a las prácticas actuales del agricultor, quien predominantemente utiliza fertilizantes sólidos; y 3) la necesidad estratégica de incluir distintos mecanismos de acción para el análisis, lo que implicó seleccionar al menos una bacteria representativa de cada grupo (alóctona y autóctona) e intencionalmente incorporar cepas que no mostraron efectos óptimos, con el fin de contar con un contraste interno que permitiera una evaluación más robusta y discriminante de los tratamientos.

Con base en el primer criterio, y descartando las formulaciones líquidas por su menor eficacia general y efectos perjudiciales consistentemente demostrados, se priorizaron los tratamientos sólidos. Entre estos, la cepa BKY fue seleccionada por ser la de mejor desempeño integral en las pruebas de invernadero, demostrando una superioridad estadística frente al control en parámetros clave como germinación, vigor, longitud de raíz y parte aérea en V3, además de igualar al control 100 en longitud de raíz en V6. Este perfil de promoción balanceada, sumado a su mecanismo de acción como bacteria fijadora de nitrógeno, la posicionó como el candidato microbiológico más sólido y confiable para la siguiente fase de evaluación.

Para establecer un contraste dentro del experimento y evaluar el efecto de diferentes mecanismos de acción, se incluyó la cepa ACJ. Esta cepa, cuyo desempeño en invernadero fue moderado, siendo superior al control solo en germinación y vigor, presenta un perfil metabólico diferenciado, pues actúa como bacteria solubilizadora de fósforo, a diferencia de la capacidad de fijación de nitrógeno de BKY.

Finalmente basado en los criterios para la realización del ensayo, se optó por no incluir los tratamientos sólidos de menor rendimiento (LAD y B16) como medida de precaución para salvaguardar la productividad del cultivo. En su lugar, se seleccionaron las cepas autóctonas B44 y B66, las cuales mostraron un desempeño favorable en invernadero y poseen mecanismos de acción de interés (realización de las tres actividades promotoras de crecimiento y fijación de calcio, respectivamente) Siendo las bacterias seleccionadas las presentes en la Tabla 21.

Tabla 21 Selección de bacterias para las pruebas en Santiago Undameo

Bacteria	Identificación	Actividad promotora del crecimiento
B44	<i>Lysinibacillus</i> sp.	Realiza las tres
B66	<i>Enterococcus</i> sp.	Fijadora de nitrógeno y solubilizadora de calcio
ACJ	<i>Pseudomonas putida</i> ACJ-14	Solubilización de fosfato
BKY	<i>Azotobacter</i> sp. BKY	Fijadora de nitrógeno

7.7. Evaluación de los tratamientos en condiciones de campo

Efecto de los tratamientos en el crecimiento

Una vez seleccionadas las bacterias y concluido el ciclo agrícola según lo descrito en la metodología, se obtuvieron los siguientes resultados en la planta. Cabe recordar que en esta ocasión, el control REG se refiere a la fertilización química convencional del agricultor y el C50 a la disminución del 50% de dicha fertilización REG.

En los parámetros de crecimiento vegetativo, los controles REG y C50 solo tuvieron diferencia significativa en la longitud de la parte aérea, con 2.53 m y 2.23 m respectivamente. Esto implica que la disminución de la fertilización tuvo un efecto solamente en la altura de la planta, mas no en el peso de la raíz o el peso seco de la planta. En ese sentido, se observa que el tratamiento BKY destacó por presentar la mejor respuesta en todos los parámetros analizados, mostrando una mejora del 18.4% en el peso de la raíz (PRR12), un 2.37% en la longitud de la parte aérea (LAR12) y un 18.4% en el peso seco (PSR12) en comparación con el control regional. Cabe destacar que todos los tratamientos incluían solo el 50% de la fertilización química utilizada en el control regional, lo que evidencia que BKY no solo promovió el crecimiento de la planta, sino que también redujo eficientemente la dependencia de fertilizantes químicos en campo.

Como se observa en la Tabla 22, el tratamiento ACJ alcanzó valores equivalentes al control regional, lo que valida su eficacia. En contraste, B66 y B44 mostraron resultados desfavorables, especialmente en el peso de la raíz, donde registraron valores inferiores incluso al control al 50% sin bacteria (B44: 85.83 g; B66: 94.82 g). Asimismo, en el peso seco, ambos tratamientos quedaron por debajo del control al 50% (B44: 156.06 g; B66: 172.4 g). Se puede observar que los tratamientos B44 y B66 presentaron resultados similares, asemejándose a lo visto en invernadero, donde dichas bacterias se comportaban y se agrupaban igual en el PCA. Por su parte, ACJ no fue un reflejo del invernadero, pues en dichos estudios fue de los peores tratamientos, mientras que BKY mantiene su hegemonía

como la mejor bacteria. Por lo tanto, no se puede concluir que los resultados vistos en invernadero sean siempre traducibles al impacto en las variantes medidas en campo.

Tabla 22 Efecto de las bacterias en aplicación sólida sobre parámetros de crecimiento (R12) en plantas de maíz híbrido en Santiago Undameo

Tratamiento	Peso de la raíz (g)	Longitud parte área (m)	Peso seco (g)
REG	116.32±7.71B	2.53±0.08A	211.49±14.02B
C50	117.8±6.78B	2.23±0.09B	214.18±12.34B
B44	85.83±6.22C	2.54±0.14A	156.06±11.32C
B66	94.82±7.08C	2.73±0.21A	172.4±12.88C
ACJ	128.35±7.48AB	2.5±0.2A	233.37±13.6AB
BKY	137.73±8.82A	2.59±0.07A	250.42±16.03A

Análisis de varianza ANOVA de una vía y prueba post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$, $n = 15 \pm$ DE). Letras distintas representan diferencias significativas

7.8. Efecto de los tratamientos en el rendimiento

El efecto observado en los parámetros de crecimiento cambia cuando se analizan los parámetros de rendimiento. Como se observa en la Tabla 23, se evidenciaron diferencias sustanciales entre los tratamientos. La comparación entre el control regional y el control C50 reveló claramente el impacto de la reducción en la fertilización. El control regional superó consistentemente al control C50 en todos los parámetros evaluados, destacando especialmente en el rendimiento (REN), donde mostró una ventaja de 3.94 t/ha respecto al control con fertilización reducida. Estos resultados demuestran una disociación importante entre los parámetros vegetativos y los reproductivos: mientras que las diferencias en crecimiento fueron menos evidentes, el rendimiento final del grano sí se vio significativamente afectado por la disminución en la fertilización. Este fenómeno sugiere que, aunque el maíz híbrido pueda mantener un desarrollo vegetativo aparentemente normal con menor fertilización (Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2022), su capacidad productiva final se ve comprometida cuando no recibe los nutrientes suficientes; dicho en otras palabras, la planta prioriza el crecimiento de la parte vegetativa por sobre la del fruto.

Tabla 23 Efecto de las bacterias en aplicación sólida sobre parámetros de rendimiento en maíz híbrido en Santiago Undameo

Tratamiento	Número mazorcas	Peso seco gramos/mazorca	Relación grano/olote (%)	Rendimiento (ton/ha)
REG	1.5±0.13B	157.22±1.48A	60.08±5.98A	9.25±1.01B
C50	1.17±0.098C	121.43±1.1C	48.85±5.98C	5.31±0.07D
B44	1.83±0.187AB	97.27±1.01D	61.49±6.91A	7.22±0.97C
B66	1.83±0.165AB	92.69±0.87D	56.97±4.59B	7.89±0.68C
ACJ	2.17±0.2A	81.82±0.98E	46.87±5.12C	6.12±1.08D
BKY	2.17±0.28A	143.85±1.56B	62.12±7.18A	12.20±1.24A

Análisis de varianza ANOVA de una vía y prueba post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$, $n = 15 \pm$ DE). Letras distintas representan diferencias significativas

Por parte de los tratamientos, BKY fue superior en el peso seco de los granos por mazorca (G/M) con 143.85 g, aunque ligeramente inferior al control regional (157.22 g). Sin embargo, estadísticamente no hubo diferencias significativas en la relación grano/olote (G/O) donde BKY es 60.08% superior al control regional. Un aspecto clave fue el número de mazorcas (NM), donde BKY superó al control regional con 2.17 mazorcas por planta, contra el 1.5 del regional, lo que se tradujo en un mayor rendimiento por hectárea (BKY: 12.20 ton/ha vs. control regional: 9.25 ton/ha). Por su parte, B44 y B55 tuvieron un resultado medio en rendimiento, mientras que ACJ se comportó igual a la reducción de la fertilización química. Ningún otro tratamiento superó al control regional, aunque sí al control al 50%, lo que sugiere que, para esas cepas, la reducción de fertilización no debería ser tan drástica. Estos resultados validan el uso de biofertilizantes como alternativa para disminuir la fertilización química, destacando que BKY mejoró tanto el crecimiento como el rendimiento.

Análisis de componentes principales

Con el fin de integrar los resultados de campo y mantener la tónica, se realizó el PCA correspondiente con los datos de peso de raíz (PR), longitud de la parte aérea (LA), peso seco (PS), número de mazorcas (NM), relación gramos de grano por mazorca (G/M), relación de peso de granos por olote (G/O) y rendimiento (REN). En la Figura 34, el factor 1 explica el 41.70% de la varianza y se ve dominado por PR y PS con -0.9779 cada uno; un decremento en este factor implica un aumento en REN, G/M, PR y NM, mientras que con un aumento se favorece G/O y LA. Por su parte, el factor 2 explica el 36.69% de la varianza, donde el eje se ve dominado por la relación de granos por olote con 0.9444. Para este factor, un aumento positivo implica un aumento en el REN, G/M, G/O y LA, mientras que su segmento negativo se asocia con PR y NM. Por lo tanto, el sector dos del plano representa una mejora integral en los parámetros medidos, sobre todo el rendimiento.

En este sentido, se observa a BKY y al control REG presentes en el sector 2, por lo que dichos tratamientos son los que integran de una forma constante un efecto positivo en la planta, cosa

que ya se había observado al analizar los parámetros individualmente. Así mismo, se observa que B44 y B55 actúan de forma similar al estar agrupados en el sector 1 del plano, aumentando los parámetros de planta, más no el rendimiento. En el peor de los casos se encuentra ACJ, que presenta aumentos para los parámetros de planta, pero tiene el peor de todos los rendimientos.

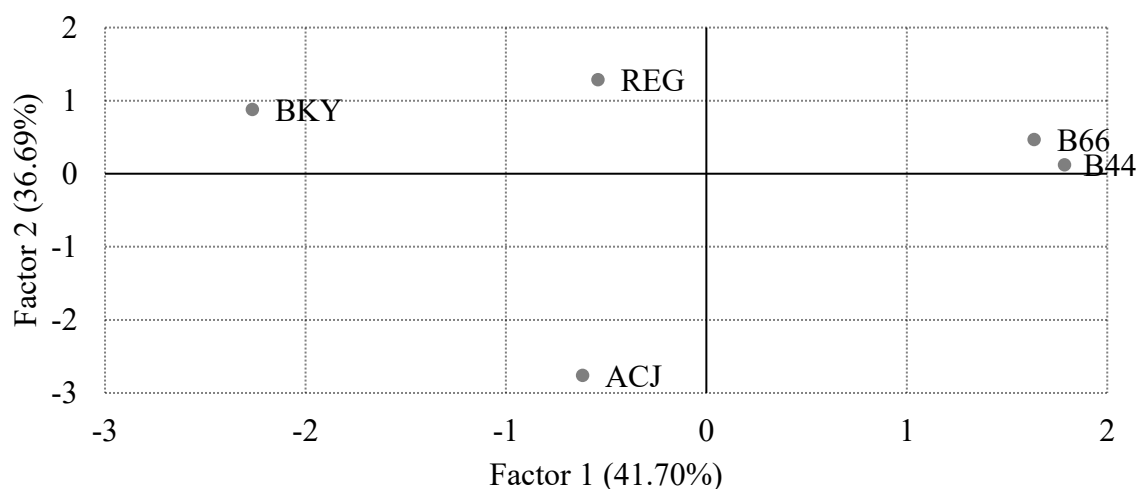


Figura 34 Análisis de componentes principales realizado con las variables PR, LA, PS, NM, G/M, G/O y REN en maíz híbrido en Santiago Undameo

De esta forma, se puede ratificar la eficacia de BKY, ya que además de aportar a los parámetros de la planta, esto se ve reflejado en el grano, ya que aumenta el número de mazorcas, su peso y todo esto con el 50% menos de fertilización. Además, se integra de manera amigable con el proceso del agricultor, ya que solo se requirieron dos aplicaciones para obtener dichos resultados, contrastando contra las recomendaciones comerciales, donde se requiere de aplicaciones quincenales o mensuales.

Sin embargo, no todos los resultados fueron positivos. Aunque B44 y B66 presentaron aumentos respecto al control C50, no lograron superar al control regional, lo que implica que, en sentido estricto, para el agricultor, una disminución respecto a lo que siempre ha hecho, y no solo se vio en el rendimiento, pues estos tratamientos también disminuyeron el tamaño de la raíz y el peso seco. Otro caso similar fue ACJ, que si bien no tuvo efectos negativos en la planta, su rendimiento fue el más bajo. Cabe resaltar que dichas bacterias fueron seleccionadas para contrastar contra la mejor en las pruebas de invernadero, que fue BKY. Por su parte, B44 y B66 fueron seleccionadas como las mejores del grupo autóctono; sin embargo, desde invernadero se veía un efecto moderado y ACJ estaba por debajo de los tratamientos antes dichos, por lo que se puede observar que, al menos grosso modo, las bacterias respondieron de manera similar a como lo hicieron en pruebas de invernadero.

Para determinar si existe una relación entre los parámetros y sus efectos, se realizó un PCA con todos los factores de invernadero y los de campo. Cabe resaltar que, si bien no es comparable en el sentido estricto de la experimentación, aunque en invernadero se intentó replicar las prácticas agrícolas, los sistemas difieren en varios factores, la comparativa resulta enriquecedora con el fin de observar si efectivamente, aun con los cambios en el sistema, existen correlaciones.

En la Figura 35, los factores 1 (42.11% de la varianza) y 2 (27.70% de la varianza) del PCA revelan patrones de correlación entre las variables de crecimiento y el rendimiento (REN). Es importante aclarar que el PCA muestra asociaciones, no relaciones causa-efecto. En este análisis, se observa que REN se agrupa con LAR6, LRV6 y G/M en el espacio factorial. Esto indica una fuerte correlación positiva entre estas variables en el conjunto de datos estudiado: cuando los valores de LAR6, LRV6 o G/M fueron altos, el rendimiento también tendió a ser alto. Por lo tanto, en el contexto de este estudio, conocer los valores de LAR6 podría servir para predecir el REN, dada su estrecha asociación.

Por otro lado, LRV3 y VIG muestran una correlación negativa con el rendimiento en este modelo; es decir, en los datos observados, mayores valores de LRV3 y VIG se asociaron con un menor REN. Asimismo, variables como PSV6, G/O, LAR12 y LAV3 se orientan hacia el eje negativo del Factor 1, mientras que PRR12, PSV3, GER y NM lo hacen hacia el positivo del Factor 2, indicando que también presentan una relación (positiva o negativa) con la variabilidad del rendimiento capturada por estos componentes.

En resumen, dentro del marco de este estudio, los únicos parámetros que mostraron una correlación negativa consistente con el rendimiento fueron LRV3 y VIG. El resto de las variables analizadas se asocian de diversas formas con la variación del REN, siendo el grupo formado por LAR6, LRV6 y G/M el que presenta la correlación positiva más marcada.

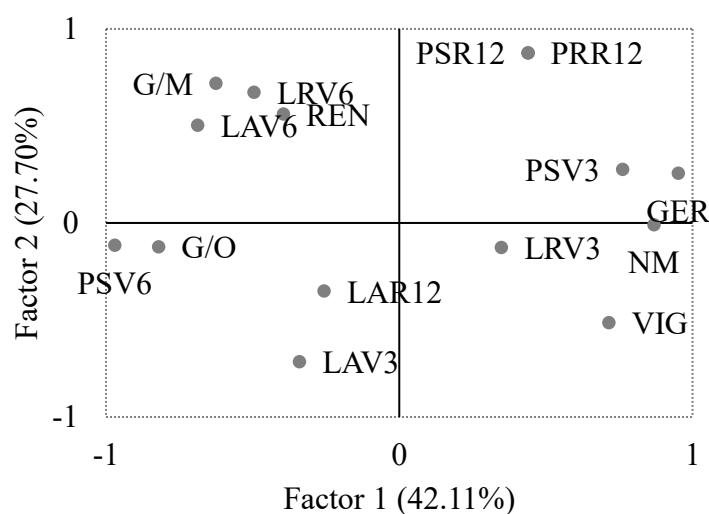


Figura 35 Análisis de componentes principales de todas las variables (VE, V3, V6 y R12) para maíz híbrido. Factor 1 y 2

Al incorporar el tercer factor, que explica un 24.04% adicional de la varianza, el análisis en la Figura 36 revela una estructura más completa de las relaciones entre variables. En este espacio tridimensional, se observa que PSV6, LAR6 y PSV3 se aíslan en el lado positivo del eje del Factor 3, contrapuestos a la agrupación principal donde se encuentra el Rendimiento (REN) junto a la mayoría de las demás variables. Esta disposición indica que la variabilidad capturada por este tercer componente está dominada por una dinámica independiente y específica de estos tres parámetros (peso seco y área radical en V6, y peso seco en V3).

La importancia de incluir este tercer factor radica en que, al hacerlo, se logra explicar de manera conjunta más del 90% de la varianza total ($42.11\% + 27.70\% + 24.04\% = 93.85\%$). Esto significa que el modelo con los tres factores captura casi toda la información estructurada en los datos. Por lo tanto, no se trata de elegir entre los factores 1 y 2 o 1 y 3, sino de reconocer que cada uno aporta una dimensión distinta e importante para entender el sistema. El Factor 1 y el Factor 2 ya mostraban la fuerte correlación positiva entre REN, LAR6 y LRV6, así como la correlación negativa con LRV3 y VIG. El Factor 3 añade una capa de comprensión al identificar que PSV6, LAR6 y PSV3 varían de una manera que no está sincronizada con el patrón general de rendimiento y las otras variables.

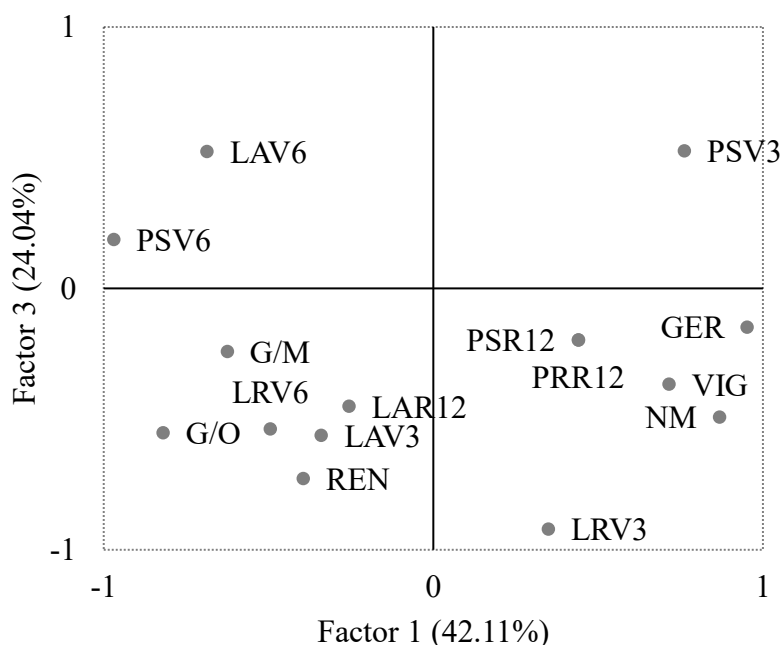


Figura 36 Análisis de componentes principales de todas las variables (VE, V3, V6 y R12) para maíz híbrido. Factor 1 y 3

Para observar de mejor manera dicho efecto, se realizó la Tabla 24, donde se muestra una tabla que coloca -1 si el grupo fue estadísticamente menor al control, 0 si es igual y 1 si fue mayor, así como un código de color. Siendo así, BKY presenta solo valores por debajo del control en los parámetros de LAV6, PSV6 y G/M, que como se observó en los PCA, LAV6 y PSV6 estaban agrupados lejos del rendimiento. Así mismo, se observa que mantuvieron su mismo orden de efecto, pues anteriormente se colocó a BKY como la mejor, B44 y B66 como intermedias y ACJ como la de peor efecto dentro del grupo de los sólidos, por lo que existe cierta tendencia a comportarse de igual forma.

Tabla 24 Distribución de las diferencias significativas en las variables de maíz híbrido aplicaciones sólidas en todas las etapas evaluadas

TR A	GE R	VI G	LR V3	LA V3	PS V3	LR V6	LA V6	PS V6	PR R12	LA R12	PS R12	NM	G/ M	G/ O	RE N
B44	0	1	0	1	0	-1	-1	0	-1	0	-1	1	-1	0	-1
B66	0	1	0	1	0	-1	-1	0	-1	0	-1	1	-1	-1	-1
AC J	1	1	0	0	0	-1	-1	-1	0	0	0	1	-1	-1	-1
BK Y	1	1	1	1	0	0	-1	-1	1	0	1	1	-1	0	1

1 (verde) cuando es estadísticamente superior al control, 0 (amarillo) cuando es estadísticamente igual al control y -1 (rojo) cuando es estadísticamente inferior al control.

Es indispensable tomar las comparativas con cuidado, pues el hecho de encontrar dichos resultados no significa que siempre se vayan a igualar; sin embargo, sienta un precedente entre las relaciones invernadero-campo, pues en esta investigación se encontró una relación entre los resultados obtenidos en ambos espacios. Así, BKY, al ser la mejor aplicación en invernadero, pasó a ser la mejor en campo.

Este fenómeno concuerda con lo establecido en la literatura, donde se demuestra que el maíz híbrido, por su diseño genético, mantiene un crecimiento notablemente estable incluso bajo condiciones de fertilización reducida (Martínez-Gutiérrez *et al.*, 2022), lo que hace especialmente relevantes aquellas modificaciones que logran alterar significativamente sus parámetros de desarrollo. Chen (2020) reportó hallazgos consistentes con los resultados expuestos, donde cepas de *Azospirillum* en sus mejores tratamientos mostraron un aumento en la planta de peso seco radical de 1.66 g y una longitud de tallo de 121 cm, valores comparables al testigo con fertilización completa (1.56 g y 119 cm), demostrando que es posible reducir el nitrógeno hasta un 50% sin afectar significativamente el rendimiento, ya que solo disminuyó de 12.5 a 12 ton/ha en su mejor tratamiento. En la misma línea, Martínez *et al.* (2017) observaron que la altura de las plantas con bioinoculantes (2.22 m) fue estadísticamente equivalente al testigo con fertilización completa (2.32 m), logrando incluso

un incremento del 6.22% en rendimiento (5.97 vs 5.62 ton/ha). Sin embargo, a diferencia de estos estudios donde los bioinoculantes igualaron al testigo, en la presente investigación el tratamiento BKY no solo igualó, sino que superó en un 33% al control regional (Tabla 23), demostrando un avance significativo en la eficiencia biofertilizante. Estos resultados, junto con los reportes previos, refuerzan el potencial de los bioinoculantes como alternativa sostenible.

7.9. Efecto de los tratamientos en la microdiversidad de la rizosfera de maíz (*Zea mays*) en condiciones de campo en Santiago Undameo

Si bien no fue el objetivo central del presente trabajo, este apartado busca establecer un análisis exploratorio inicial sobre el efecto de la inoculación con PGPR en las comunidades bacterianas nativas de la rizósfera, un aspecto crucial que, hasta la fecha, ha sido escasamente descrito a fondo en la literatura especializada. Comprender esta interacción es fundamental para predecir la estabilidad ecológica y la sostenibilidad a largo plazo de las aplicaciones microbiológicas en sistemas agrícolas.

Con este propósito, los análisis microbiológicos realizados en la rizósfera de maíz bajo diferentes esquemas de manejo revelaron diferencias significativas en la estructura de las comunidades microbianas, destacando el impacto de la fertilización química y la inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR), como se muestra en la Figura 37.

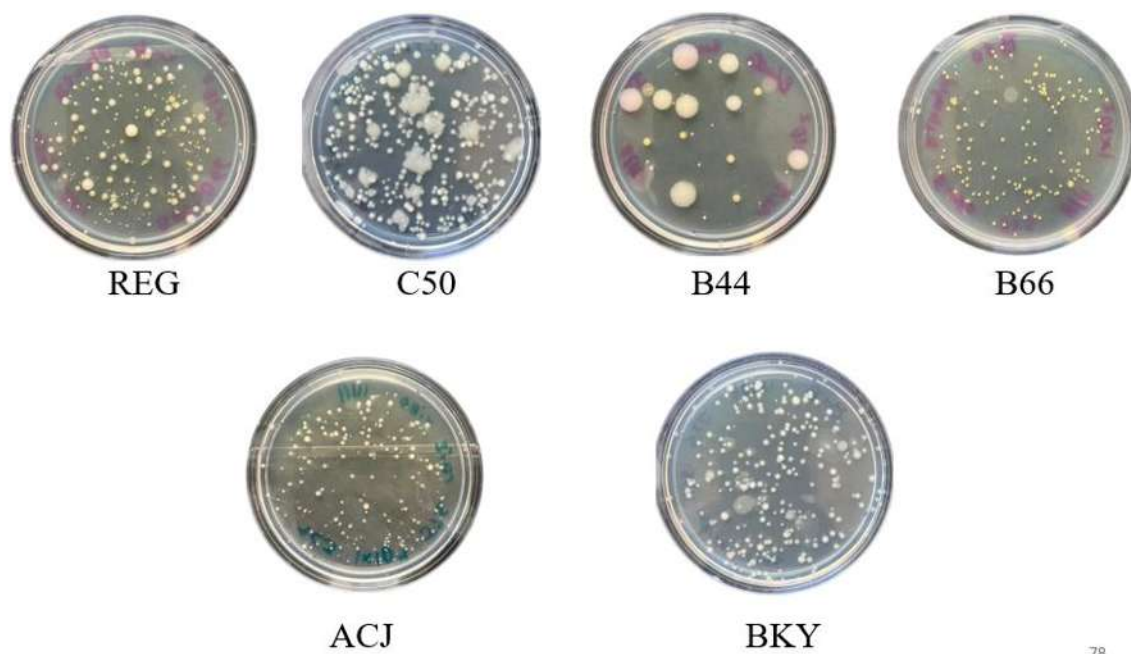


Figura 37 Aislados representativos de la microdiversidad de los diferentes tratamientos en Santiago Undameo

El tratamiento C50 demostró una mayor diversidad microbiana (Shannon = 1.50) en comparación con REG (Shannon = 1.08), respaldado por una mayor riqueza de aislados (7 vs. 4) y una menor dominancia (Simpson = 0.31 vs. 0.36). Esto sugiere que la reducción del 50% en fertilización química, favorece un equilibrio microbiano más saludable, mitigando los efectos inhibitorios de los agroquímicos sobre la biodiversidad del suelo. Aunque ambos tratamientos presentaron abundancias microbianas similares (UFC $\sim 1.2\text{--}1.3 \times 10^7$), la comunidad en C50 fue superior como lo muestra su mayor número aislados (Tabla 25).

La inoculación con PGPR generó respuestas heterogéneas en comparación con el control REG: B44 y BKY exhibieron alta dominancia (Simpson = 0.68 y 0.63) y baja diversidad (Shannon = 0.61 y 0.64), indicando que las cepas inoculadas suprimieron la microbiota nativa, posiblemente por competencia agresiva.

B66, en contraste, mostró la menor dominancia (Simpson = 0.29) y una diversidad aceptable (Shannon = 1.29), similar a REG pero con mayor uniformidad. Esto sugiere que B66 actuó sin desplazar a los microbios nativos. ACJ presentó un perfil intermedio (Simpson = 0.52, Shannon = 0.80), con menor diversidad que REG.

En general, las PGPR no mejoraron la diversidad frente a REG, excepto B66, que igualó su desempeño. Sin embargo, B44/BKY alteraron negativamente la microbiota, aumentando la dominancia.

Al comparar los tratamientos con PGPR contra C50 se observó que: Ninguna PGPR superó a C50 en diversidad. Incluso B66, la más equilibrada, tuvo menor riqueza (4 vs. 7 taxones). B44, ACJ Y BKY redujeron drásticamente la diversidad (Shannon < 0.8) y aumentaron la dominancia, evidenciando un efecto inhibitorio sobre la microbiota benéfica. La alta UFC en BKY (5.20×10^7) sugiere que su cepa PGPR prosperó, pero a expensas de la biodiversidad.

La reducción de fertilizantes químicos (C50) es la estrategia más efectiva para preservar la diversidad microbiana del suelo. Las PGPR no son universalmente beneficiosas: Su impacto depende de la cepa. Mientras B66 fue compatible con la microbiota, otras (B44/BKY) demostraron efectos negativos. La dominancia microbiana (ej: B44) podría comprometer la sostenibilidad del suelo, incluso si aumenta la UFC.

Algunas PGPR (B44, BKY) alteraron negativamente la diversidad, aumentando la dominancia y reduciendo la riqueza de taxones, lo que sugiere competencia agresiva con la microbiota nativa. En contraste, B66 mostró un perfil equilibrado, similar a lo observado por Yang *et al.* (2017), donde la rizosfera mantuvo alta diversidad (Shannon = 5.330–6.228) en etapas avanzadas de crecimiento.

Tabla 25 Comunidad bacteriana en la rizosfera de los aislados de maíz

	UFC del suelo	No aislados	Simpson	Shannon
REG	1.22E+07	4	0.36	1.08
C50	1.30E+07	7	0.31	1.5
B44	1.62E+07	4	0.68	0.61
B66	2.49E+07	4	0.29	1.29
ACJ	1.77E+06	3	0.52	0.8
BKY	5.20E+07	3	0.63	0.64

Cabe resaltar, que los resultados obtenidos en el presente estudio representan solo a los aislados que pueden crecer en los medios seleccionados, siendo así, que los índices deben interpretarse con dicha limitación. Así mismo, al carecer de un estudio genómico, los índices y mediciones presentes se vuelven cualitativas y se limitan a la precepción del experimentador. Sin embargo y con las limitaciones esclarecidas, la experimentación presente permite observar tendencias.

Como lo observado por Torre-Hernández *et al.* (2020) (Shannon = 5.23–6.31), que si bien tiene diferentes condiciones del suelo y metodologías de muestreo mantiene una tendencia de reducción de diversidad con ciertas PGPR.

7.10. Aislados de los tratamientos en la de la rizosfera de maíz (*Zea mays*) en condiciones de campo en Santiago Undameo

Los análisis realizados en la rizósfera de maíz revelaron no solo diferencias en la estructura de las comunidades microbianas, sino también la capacidad de persistencia y colonización de las cepas inoculadas. Este resultado es relevante considerando el esquema de aplicación: los bioinoculantes se aplicaron por primera vez al momento de la siembra (Día 0) y recibieron un único refuerzo en la etapa V8, aproximadamente un mes y medio después. El muestreo de suelo para este análisis microbiológico se realizó mucho más tarde, en la etapa R6 (madurez fisiológica), coincidiendo con las evaluaciones finales de planta y rendimiento. Esto significa que, con solo dos aplicaciones, las bacterias introducidas no solo lograron establecerse en la rizósfera, sino que mantuvieron una presencia detectable hasta el final del ciclo del cultivo, demostrando una capacidad significativa de prevalencia en condiciones de campo.

Como muestra la Tabla 26, los aislamientos B44-2, B66-2, ACJ-2 y BKY-1 demostraron perfiles bioquímicos y de resistencia a antibióticos idénticos a las cepas originalmente inoculadas según las cinco pruebas bioquímicas realizadas (tinción de Gram, catalasa, fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos y calcio) y los patrones de resistencia a cinco

antibióticos. Esta coincidencia fenotípica sugiere que las bacterias inoculadas lograron establecerse y sobrevivir en las condiciones de campo.

Tabla 26 Identificación bioquímica y antibiograma de aislados de la rizosfera de maíz en Santiago Undameo.

	GRA	CAT	NIT	FOS	CAL	AZI	BIO	GEN	AMO	T+S	Código
B44	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0111110011
B66	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1110110000
ACJ	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0101111011
BKY	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0110011011
B44-1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0010100000
B44-2	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0111110011
B44-3	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0000110010
B44-4	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1000111011
B66 1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0001111111
B66 2	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1110110000
B66 3	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1011011111
B66 4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1000000011
ACJ 1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0101110111
ACJ 2	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0101111011
BKY 1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0110011011
BKY 2	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1000111111
BKY 3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0000100000

GRA: gram, CAT: catalaza, NIT: fijación de nitrógeno, FOS: solubilización de fosfatos, CAL: solubilización de calcio, AZI: azitromicina, BIO: biotricina, GEN: gentamicina, AMO: amoxicilina y T+S: trimetoprima+sulfametoxazol. Todos los antibióticos están a 1mg/mL. 1 cuando la prueba es positiva. 0 cuando la prueba es negativa.

Estos aislamientos mostraron densidades poblacionales significativas al momento del muestreo: B44-2 (1.32×10^7 UFC/mL), B66-2 (7.80×10^7 UFC/mL), ACJ-2 (1.00×10^5 UFC/mL) y BKY-1 (1.00×10^7 UFC/mL). La capacidad de estas cepas para mantener poblaciones elevadas (especialmente B66-2 y BKY-1, que conservaron entre el 10-78% de la concentración inicial) sin requerir aplicaciones continuas sugiere una exitosa adaptación al entorno rizosférico.

Si bien los resultados fenotípicos son altamente sugerentes, se propone complementar estos hallazgos con análisis moleculares (como secuenciación del gen 16S rDNA o técnicas de fingerprinting genético) para confirmar definitivamente la identidad de las cepas a nivel genético.

Diferencias en persistencia entre cepas:

La variabilidad observada en las UFC finales entre B66-2 y ACJ-2 sugiere que la capacidad de persistencia es cepa-dependiente. Factores como la producción de sideróforos, solubilización de fosfatos o resistencia a antibióticos naturales del suelo podrían explicar estas diferencias. La cepa B66-2 emerge como particularmente prometedora, mostrando no solo alta persistencia (7.80×10^7 UFC/mL) sino también compatibilidad con la microbiota nativa, como se evidenció en los análisis de diversidad microbiana.

A pesar de los cambios observados en la rizosfera, los resultados indican que estos no afectaron negativamente el rendimiento del cultivo. El tratamiento con BKY mostró valores de diversidad microbiana relativamente bajos, sin embargo, recordemos que solo se cuantifica las bacterias cultivables (Índice de Simpson: 0.63; Shannon: 0.64). Junto con una disminución en la concentración bacteriana de $1.0E+08$ a $1.0E+07$ UFC/mL. Sin embargo, estas modificaciones en la comunidad microbiana no se tradujeron en efectos perjudiciales para el desarrollo vegetal. Por el contrario, BKY demostró un impacto positivo consistente: incrementó el peso radicular (+16.91% frente al control 50; +18.4% versus control 100), mejoró la altura de la planta (+16.14% y +2.37% respectivamente) y aumentó el peso seco (+16.92% y +18.4%). Lo más destacable fue su efecto sobre el rendimiento final, que superó en un 33% al control regional, confirmando que, a pesar de alterar la composición de la rizosfera, BKY mantuvo y mejoró la productividad del cultivo.

La inoculación con PGPR puede enriquecer o suprimir grupos microbianos específicos. La capacidad de las PGPR para colonizar la rizosfera (Santoyo *et al.*, 2021) se evidenció en la persistencia de cepas como B66-2 y BKY-1. Sin embargo, la alta UFC no siempre se correlacionó con beneficios para la biodiversidad, como en el caso de BKY-1, que mostró un efecto inhibitorio.

7.11. Limitaciones y perspectivas futuras

Aunque los resultados son prometedores, es importante destacar que la efectividad de las PGPR puede variar según las condiciones del suelo, el clima y las prácticas de manejo. Por lo tanto, se recomienda realizar estudios adicionales en diferentes condiciones agroecológicas para validar estos resultados. Además, sería interesante explorar el efecto de las PGPR en etapas posteriores del desarrollo del maíz, como la floración y la formación de granos, así como su interacción con otros microorganismos beneficiosos del suelo.

Así mismo, la utilización de diferentes bacterias respecto a las diferentes etapas fenológicas del maíz, y la utilización de consorcios bacterianos, así como la utilización de bacterias por etapas con el fin de maximizar sus efectos.

8. Conclusiones

Los resultados de este estudio demuestran que las inoculaciones sólidas presentan una eficacia igual o superior a las formulaciones líquidas, consolidándose como una alternativa viable para integrarse a los sistemas actuales de siembra de maíz. Su mayor consistencia en el desempeño las posiciona como una opción confiable para la promoción del crecimiento vegetal.

Además, se logró reducir la fertilización química en un 50% sin comprometer el desarrollo del cultivo, destacando que al menos un tratamiento (BKY sólido) superó a la fertilización completa, lo que refuerza el potencial de estas cepas para una agricultura más sostenible.

Así mismo, se determinó de manera efectiva la producción en campo, con resultados que promovieron el crecimiento aunado al aumento de la producción (BKY). Por lo cual, los bioinoculantes sólidos son una alternativa efectiva en campo que se acopla a las necesidades de los agricultores en la actualidad.

Sin embargo, los resultados también subrayan que cada interacción bacteria-planta-suelo es única, desmitificando la noción de un “bioinoculante universal”. La variabilidad observada entre las cepas, formulaciones y variedades enfatiza la necesidad de realizar estudios previos de selección y validación para cada caso particular. Solo mediante un escrutinio riguroso, se puede garantizar su adopción exitosa en producciones reales.

9. Referencias

- Adesemoye, A., Torbert, H. y Kloepper, J. (2008). Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. *Canadian Journal of Microbiology*. 54(10): 876-886. <https://doi.org/10.1139/W08-081>
- Ali, B., Sabri, A., Ljung, K. y Hasnain, S. (2009). Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum aestivum* L. *Letters in Applied Microbiology*. 48(5): 542-547. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02565.x>
- Aliyat, F., Maldani, M., El Guilli, M., Nassiri, L. y Ibjibjen, J. (2022). Phosphate-solubilizing bacteria isolated from phosphate solid sludge and their ability to solubilize three inorganic phosphate forms: Calcium, iron, and aluminum phosphates. *Microorganisms*. 10(5): 980-993. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050980>
- Amogou, O., Dagbénonbakin, G., Agbodjato, N., Noumavo, P., Salami, H., Valère, S., Ricardos, A., Sylvestre, A., Djihal, A., Adjanohoun, A. y Baba-Moussa, L. (2018). Influence of isolated PGPR rhizobacteria in Central and Northern Benin on maize germination and greenhouse growth. *American Journal of Plant Sciences*. 9(13): 2775-2793. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.913201>
- Amezquita-Aviles, C., Coronel-Acosta, C., Santos-Villalobos, S., Santoyo, G. y Parra-Cota, F. (2021). Characterization of native plant growth-promoting bacteria (PGPB) and their effect on the development of maize (*Zea mays* L.). *Biotecnia*. 24(1): 15-22. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i1.1353>
- Backer, R., Rokem, J., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S. y Smith, L. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*. 9: 1473. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
- Baig, K., Arshad, M., Khalid, A., Hussain, S., Abbas, M. y Imran, M. (2014). Improving growth and yield of maize through bioinoculants carrying auxin production and phosphate solubilizing activity. *Soil & Environment*, 33(2): 159:168. [Improving_growth_and_yield_of_maize_through_bioinoculants_carrying_auxin_production_and_phosphate_solubilizing_activity.pdf](https://www.researchgate.net/publication/266141412-Improving_growth_and_yield_of_maize_through_bioinoculants_carrying_auxin_production_and_phosphate_solubilizing_activity)
- Carrera-Valtierra, J., Parra, J., Sánchez, J., Jiménez, A., Márquez, F., Sahagún, L., Sesmas, J. y Sitt, M. (2011). Razas de maíz de Michoacán de Ocampo. Su origen, relaciones fitogeográficas y filogenéticas. Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología. Gobierno del estado de Michoacán. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/232242/Razas_de_maiz_de_michoacan.pdf

Çakmakçı, R., Mosber, G., Milton, A., Alatürk, F. y Ali, B. (2020). The effect of auxin and auxin-producing bacteria on the growth, essential oil yield, and composition in medicinal and aromatic plants. *Current in Microbiology*, 77(2). 564-577. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-01917-4>

Chávez-Díaz, I., Zelaya, L., Cruz, I., Rojas, E., Ruíz, S. y De los Santos, S. (2021). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. *Revista Mexicana de Ciencia y Agricultura*. 11(6): 1423-1436. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i6.2492>

Chen, L., Li, K., Shang, J., Wu, Y., Chen, T., Wanyan, Y. y Sui, X. (2021). Plant growth-promoting bacteria improve maize growth through reshaping the rhizobacterial community in low-nitrogen and low-phosphorus soil. *Biology and Fertility of Soils*. 57(3): 1075-1088. <https://doi.org/10.1007/s00374-021-01598-6>

Cheng, Q. (2008). Perspectives in biological nitrogen fixation research. *Journal of Integrative Plant Biology*. 7(1): 786-798. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00700.x>

Ciampitti, I., Boxler, M. y García, F. (2010). Nutrición de maíz: Requerimientos y absorción de nutrientes. *Fertilizar*. 14(1): 14-18. https://www.researchgate.net/profile/Fernando-Garcia-20/publication/284230123_Nutricion_de_Maiz_requerimientos_y_Absorcion_de_nutrientes_Informaciones_Agronomicas_del_Cono_Sur/links/5682636608ae1e63f1efc6dd/Nutricion-de-Maiz-requerimientos-y-Absorcion-de-nutrientes-Informaciones-Agronomicas-del-Cono-Sur.pdf

Ciampitti, I., Elmore, R. y Lauer, J. (2016). Corn growth and development. Infografía. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. <https://corn.agronomy.wisc.edu/Management/pdfs/Corn%20Growth%20and%20Development%20poster.pdf>

Colín-Chávez, C., Virgen-Ortiz, J., Serrano-Rubio, L., Martínez-Téllez, M. y Astier, M. (2020). Comparison of nutritional properties and bioactive compounds between industrial and artisan fresh tortillas from maize landraces. *Current Research in Food Science*. 3: 189-194. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.05.004>

Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCYT). (2023). Calidad nutricional y propiedades nutraceuticas del maíz. Infografía 01. Gobierno de México. <https://sinmaiznohaypais.org/calidad-nutricional-y-propiedades-nutraceuticas-del-maiz/>

de la Torre-Hernández, M., Salinas-Virgen, L., Aguirre-Garrido, J., Fernández-González, A., Martínez-Abarca, F., Montiel-Lugo, D. y Ramírez-Saad, H. (2020). Composition, structure, and PGPR traits of the rhizospheric bacterial communities associated with wild and

cultivated *Echinocactus platyacanthus* and *Neobuxbaumia polylopha*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1424. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01424>

de los Santos-Villalobos, S., Parra-Cota, F., Herrera-Sepúlveda, A., Valenzuela-Aragón, B. y Estrada-Mora, J. (2018). Collection of edaphic microorganisms and native endophytes to contribute to national food security. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 9(1): 191-202. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i1.858>

Deras, H. (2006). Guía técnica. El cultivo del maíz. Ministerio de agricultura y ganadería (MAG). <https://hdl.handle.net/11324/11893>

Dobereiner, J., Marriel, I. y Nery, M. (1976). Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Canadian Journal of Microbiology*, 22(10): 1464-1473. <https://doi.org/10.1139/m76-217>

dos Reis, G., Martínez-Burgos, W., Pozzan, R., Pastrana, Y., Ocán-Torres, D., de Queiroz, F., P. y Soccol, C. (2024). Comprehensive review of microbial inoculants: Agricultural applications, technology trends in patents, and regulatory frameworks. *Sustainability*, 16(19), 8720. <https://doi.org/10.3390/su16198720>

dos Santos, I., Pereira, A., de Souza, A., Cardoso, E., da Silva, F., Oliveira, J., Verdi, M. y Sobral, J. (2022). Selection and characterization of *Burkholderia* spp. for their plant-growth promoting effects and influence on maize seed germination. *Frontiers in Soil Science*, 1, 805094. <https://doi.org/10.3389/fsoil.2021.805094>

Dutta, S. y Podile, A. (2010). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): The bugs to debug the root zone. *Critical Reviews in Microbiology*, 36, 232-234.

Erenstein, O., Jaleta, M., Sonder, K., Mottaleb, K. y Prasanna, B. (2022). Global maize production, consumption and trade: Trends and R&D implications. *Food Security*, 14, 1295–1319.

Fernández, M., Dionisio, R., Ferraris, G., Pagnussat, L. y Creus, C. (2024). Enhancement of late-sown maize production with immobilized bacteria in chitosan/starch beads in different crop management conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 61(2).

Fillery, I. (2001). The fate of biologically fixed nitrogen in legume-based dryland farming systems: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(3).

Fideicomiso Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA). (2020). Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura. Sistema de costos agrícolas: resumen de costos, 1-5.

Fideicomiso Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA). (2023). Cierre de la producción agropecuario en México 2023 Maíz grano. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial.

Flores, H. (2001). Introducción a la genotécnica vegetal. Universidad Autónoma de Chapingo.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2024). FAOSTAT statistical database. Global Food Data Explorer. Our world in data. https://ourworldindata.org/explorers/global-food?tab=table&facet=none&pickerSort=asc&pickerMetric=production__tonnes&Food=Maize+%28corn%29&Metric=Production&Per+Capita=false&country=~ZAF%3BhideControls

García, M. (2009). Manejo eficiente de nutrientes en el cultivo de maíz. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Colombia, 59(1).

Gholami, A., Shahsavani, S. y Nezarat, S. (2009). The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. International Journal of Biological and Life Sciences, 3(1), 9-14.

Glickmann, E. y Dessaux, Y. (1995). A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 61(2).

González-Mancilla, A., Almaraz-Suárez, J., Ferrera-Cerrato, R., Rodríguez-Guzmán, M., Taboada-Gaytán, O., Trinidad-Santos, A., Alarcón, A. y Arteaga-Garibay, R. (2017). Caracterización y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de chile poblano (*Capsicum annuum* L.). Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 3(3).

Govaerts, B., Chávez, X., Fernández, A., Vega, D., Vázquez, O., Pérez, M., Carvajal, A., Ortega, P., López, P., Rodríguez, R., Kruseman, G., Donnet, M., Palacios-Rojas, N., Verhulst, N., Gardezabal, A., González, G., Sánchez, K. y Rosado, L. (2019). Maíz para México - Plan Estratégico 2030. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT).

Guppy, C., Menzies, P., Moody, F. y Blamey, C. (2005). Competitive sorption reactions between phosphorus and organic matter in soil: A review. Australian Journal of Soil Research, 43(1).

Huchin-Poot, E., Uicab-Brito, L. y Pantí-González, D. (2007). El maíz criollo: tesoro natural para generaciones futuras en el sureste de México. Bioagrociencias, 17(1), 80-85.

Golik, Silvina Ines; Schierenbeck, Matías; Dietz, Juan Ignacio; Fleitas, María Constanza; Maíz: Crecimiento y desarrollo del cultivo de maíz; Universidad Nacional de La Plata; 2018; 26-40

Hernández, B., Rodríguez, R., Barrios, R., Rodríguez, T. y Guerrero, Z. (2011) Análisis de la diversidad microbiana de la rizosfera de tres especies vegetales de un suelo contaminado con hidrocarburos del petróleo y su potencial rizo remediador. *Revista latinoamericana de biotecnología ambiental y algal*. 2(1)

Ibarra-Galeana, J., Castro-Martínez, C., Fierro-Coronado, R., Armenta-Bojórquez, A. y Maldonado-Mendoza, I. (2017). Characterization of phosphate-solubilizing bacteria exhibiting the potential for growth promotion and phosphorus nutrition improvement in maize (*Zea mays L.*) in calcareous soils of Sinaloa, Mexico. *Annals of Microbiology*, 67(1).

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. (INIFAP) (2023). Inoculación y fertilización orgánica líquida: una alternativa para los altos costos de la fertilización tradicional. Gobierno de México.

Jacobs, H., Boswell, G., Ritz, K., Davidson, F. y Gadd, G. (2002). Solubilization of calcium phosphate as a consequence of carbon translocation by *Rhizoctonia solani*. *FEMS Microbiology Ecology*, 40(1).

Joe, M., Deivaraj, S., Benson, A., Henry, A. y Narendrakumar, G. (2018). Soil extract calcium phosphate media for screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Agriculture and Natural Resources*, 52(3).

Kaur, G. y Reddy, M. (2013). Phosphate solubilizing rhizobacteria from an organic farm and their influence on the growth and yield of maize (*Zea mays L.*). *Journal of General and Applied Microbiology*, 59, 295-303.

Knoester, M., Pieterse, C., Bol, J. y Van, L. (1999). Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. *MPMI*, 12(8), 720-727.

Lara-Mantilla, C., Villalba-Anaya, M. y Oviedo-Zumaqué, L. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 9(2).

López-Feldman, A. y Hernández-Cortés, D. (2016). Cambio climático y agricultura, una revisión de la literatura con énfasis en América Latina. *El Trimestre Económico*, 83(332), 459-496.

López-Ortega, M., Criollo-Campos, P., Gómez-Vargas, R., Camelo-Rusinque, M., Estrada-Bonilla, G., Garrido-Rubiano, M. y Bonilla-Buitrago, R. (2013). Characterization of diazotrophic phosphate solubilizing bacteria as growth promoters of maize plants. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(2).

Mandal, A., Sarkar, B., Mandal, S., Vithanage, M., Patra, A. y Manna, M. (2020). Impact of agrochemicals on soil health. En: *Agrochemicals detection, treatment and remediation* (pp. 161-187). Butterworth-Heinemann.

Martínez-Gutiérrez, A., Zamudio-González, B., Tadeo-Robledo, M., Espinosa-Calderón, A., Cardoso-Galvao, J. y Vázquez-Carrillo, M. (2022). Rendimiento de híbridos de maíz en respuesta a la fertilización foliar con bioestimulantes. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(2), 289-301. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i2.2782>

Martínez Reyes, L., Aguilar Jiménez, C., Carcaño Montiel, M., Galdámez Galdámez, J., Gutiérrez Martínez, A., Morales Cabrera, J. y Gómez Padilla, E. (2018). Biofertilización y fertilización química en maíz (*Zea mays L.*) en Villaflores, Chiapas, México. *Siembra*, 5(1).

Mei, C., Chretien, R., Amaradasa, B., He, Y., Turner, A. y Lowman, S. (2021). Characterization of phosphate solubilizing bacterial endophytes and plant growth promotion in vitro and in greenhouse. *Microorganisms*, 9(1935). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091935>

Montañez, A., Abreu, C., Gill, P., Hardarson, G. y Sicardi, M. (2009). Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays L.*) by ¹⁵N isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. *Biology and Fertility of Soils*, 45(2).

Murphy, J. y Riley, J. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27.

Nafziger, E. (2016). Maize agronomy. En: *Encyclopedia of Food Grains* (2^a ed.). Elsevier Ltd.

Noumavo, P., Kochoni, E., Didagbé, Y., Adjanohoun, A., Allagbé, M., Sikirou, R. y Baba-Moussa, L. (2013). Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. *American Journal of Plant Sciences*, 4(5), 1013-1021. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.45125>

Pacheco-Sangerman, F., Prado-Hernández, V., Maldonado-Torres, R. y Robledo-Santoyo, E. (2022). Diagnóstico nutrimental del suelo y foliar en el cultivo de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(6).

- Paguay, L. y Vasco, E. (2013). Aislamiento de bacterias solubilizadoras de calcio de la rizósfera de cultivos de alcachofa (*Cynara scolymus*) ubicados en Laso-Latacunga-Cotopaxi. Tesis de grado. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito.
- Pallo, Y. (2011). Evaluación de soportes sólidos y líquidos, para la producción de un biofertilizante a base de *Azospirillum* spp. Aplicable al cultivo de maíz (*Zea mays* L.) Trabajo de maestría. Universidad técnica de Ambato.
- Panhwar, Q., Radziah, O., Rahman, A., Sariah, M., Razi, I. y Naher, U. (2011). Contribution of phosphate-solubilizing bacteria in phosphorus bioavailability and growth enhancement of aerobic rice. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(3).
- Park, S., Kim, A., Hong, Y., Shin, J. y Joo, S. (2021). A highly efficient auxin-producing bacterial strain and its effect on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1).
- Pérez-Cordero, A., Chamorro-Anaya, L. y Doncel-Mestra, A. (2018). Endophytes bacterial growth promoters isolated to colosoana grass, Department of Sucre, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 23(2). <https://doi.org/10.21897/rmvz.1347>
- Pérez-Pérez, R., Pérez-Martínez, S. y Almeida-Acosta, I. (2021). Efecto de la inoculación de PGPR aisladas de maíz en el crecimiento de este cultivo bajo condiciones controladas. *Cultivos Tropicales*, 42(3).
- Poehlman, J. y Allen, S. (2003). Mejoramiento genético de las cosechas (2ª ed.). Lumisa.
- Posada, A., Mejía, D., Polanco-Echeverry, D. y Cardona, J. (2020). Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): una revisión sistemática 1990-2019. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2).
- Ranum, P., Peña-Rosas, J. y Garcia-Casal, M. (2014). Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1312(1), 105-112.
- Reyes-Ortiz, G. y Cortés-Sánchez, J. (2017). Intensidad en el uso de fertilizantes en América Latina y el Caribe (2006-2012). *Bioagro*, 29(1).
- Rodríguez-Gámez, O., Aguilera-Rodríguez, I. y Pérez-Silva, R. (2013). Adecuación de un micrométodo colorimétrico para la cuantificación de fósforo soluble en cultivos microbianos. *Revista Cubana de Química*, 25(1).
- Rosatto-Moda, L., Mello-Prado, R., Castellanos-González, Reyes-Hernández, A., Caione, G. y Silva-Campos, C. (2014). Solubilizadoras de fuentes de fósforo asociadas a un compuesto orgánico enriquecido con biofertilizantes. *Agrociencias*, 48(5).
- Sánchez-Ceja, M., Loeza-Lara, P., Carballar-Hernández, S., Jiménez-Mejía, R. y Medina-Estrada, I. (2023). Aislamiento de bacterias nativas con potencial en la promoción del

crecimiento de maíz criollo mexicano (*Zea mays L.*). Biotecnia, 26(1), 83-92. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v26i1.2125>

Santoyo, G., Urtis-Flores, C., Loeza-Lara, P., Orozco-Mosqueda, M. y Glick, B. (2021). Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Biology, 10(475). <https://doi.org/10.3390/biology10060475>

Schoebitz, M., López, M. y Roldán, A. (2013). Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil–plant fertilization. A review. Agronomy for Sustainable Development, 33(4).

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2021). La riqueza de México es el maíz. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-riqueza-de-mexico-es-el-maiz?idiom=es>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2023). Maíz, cultivo de México. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-cultivo-de-mexico?idiom=es>

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2017). Maíz grano blanco y amarillo mexicano. Planeación agrícola nacional 2017-2030.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2024). SIACON: Sistema de consulta de información agropecuaria. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.

Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). (2021). Regla para la clasificación de semillas Maíz (*Zea mays L.*). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER).

Snyder, C. (2009). Eficiencia de uso del nitrógeno. Desafíos mundiales, tendencias futuras. Informaciones Agronómicas, 75(1).

Taiz, L. y Zeiger, E. (2007). Fisiología vegetal (3ª ed.). Publicacions de la Universitat Jaume I.

Tanchyk, S., Litvinov, D., Butenko, A., Litvinova, O., Pavlov, O., Babenko, A., Shpyrka, N., Onychko, V., Masyk, I. y Onychko, T. (2021). Fixed nitrogen in agriculture and its role in agroecosystems. Agronomy Research, 19(2).

Trabelsi, D. y Mhamdi, R. (2013). Microbial inoculants and their impact on soil microbial communities: A review. BioMed Research International, 2013(1), 863240.

Torres, Ó. (2016). Importancia de los fosfatos y fosfitos en la nutrición de cultivos. Acta Agrícola y Pecuaria, 2(3).

Torres-Cortés, G., Millán, V., Fernández-González, A., Aguirre-Garrido, J., Ramírez-Saad, H., Fernández-López, M. *et al.* (2012). Bacterial community in the rhizosphere of the cactus

species *Mammillaria carnea* during dry and rainy seasons assessed by deep sequencing. *Plant and Soil*, 357, 275–288. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1152-4>

Vassilev, N., Vassileva, M., Martos, V., Garcia, L., Kowalska, J., Tylkowski, B. y Malusá, E. (2020). Formulation of microbial inoculants by encapsulation in natural polysaccharides: Focus on beneficial properties of carrier additives and derivatives. *Frontiers in Plant Science*, 11(270).

Wahab, A., Bibi, H., Batool, F., Muhammad, M., Ullah, S., Zaman, W. y Abdi, G. (2024). Plant growth-promoting rhizobacteria biochemical pathways and their environmental impact: A review of sustainable farming practices. *Plant Growth Regulation*, 104(2), 637-662. <https://doi.org/10.1007/s10725-024-01218-x>

Weatherburn, M. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39(8).

Yang, Y., Wang, N., Guo, X., Zhang, Y. y Ye, B. (2017). Comparative analysis of bacterial community structure in the rhizosphere of maize by high-throughput pyrosequencing. *PLoS ONE*, 12(5), e0178425. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178425>

Zhang, X., Tong, J., Dong, M., Akhtar, K. y He, B. (2021). Isolation, identification and characterization of nitrogen fixing endophytic bacteria and their effects on cassava production. *PeerJ*, 10, 1-21. <https://doi.org/10.7717/peerj.12677>

Zhu, L., Huang, J., Lu, X. y Zhou, C. (2022). Development of plant systemic resistance by beneficial rhizobacteria: Recognition, initiation, elicitation and regulation. *Frontiers in Plant Science*, 13, 952397. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.952397>

Cassab, G., Saavedra, D., Ortiz, A. y Quintero, D. (2023) Maíz Nativo Pierde Terreno Ante Semillas Híbridas. UNAMGLOBAL. [Maíz nativo pierde terreno ante semillas híbridas - UNAM Global](#)

Tadeo-Robledo, M., Zamudio-González, B., Espinosa-Calderon, A., Turrent-Fernández, A., Cárdenas-Marcelo, L., López-López, C., Arteaga-Escamilla, I. y Valdivia-Bernal, R. (2015) Rendimiento de maíces nativos e híbridos en diferente fecha de siembra y sus unidades calor. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 6(1): 33-43

Borroel, V., Salas, L., Ramírez, M., López, J. y Anguiano, J. (2018) Rendimiento y componentes de producción de híbridos de maíz en la Comarca Lagunera. *Terra Latinoamericana*. 36:423-429. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i4.281>

Vidal M., V., Vázquez, C., Coutino, E., Ortega, C., Ramírez, D., Valdivia, B., Guerrero H., Caro, V. y Mota, A. (2008) Calidad proteica en colectas de maíces criollos de la sierra de Nayarit, México. *Revista de Fitotecnia Mexicana*. 31(3): 15-21

Robles-Jimenez, L., Rosas, D., Osorio, A., Chay-Canul, J., Palacios, R., Castelan, O. y Gonzalez-Ronquillo, M. (2021). Evaluation of Mexican native and hybrid maize (*Zea mays*) silages for sustainable milk production. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24(3), 124.

Turiján, T., Damián, M., Ramírez, B. Juárez, J. y Estrella, N. (2012) Manejo tradicional e innovación tecnológica en cultivo de maíz en San José Chiapa, Puebla. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3(6); 1085-1100

Cruz, O. (2017). El cultivo de maíz, Manual para la producción del cultivo de maíz en honduras. Dirección de Ciencias y Tecnología Agropecuario de la secretaría de Agricultura y ganadería. Tagucigalpa, Honduras.

Castaños, C. 2009. Manual agroecológico para productores y extensionistas rurales. Universidad Autónoma de Chapingo (UACH). Texcoco, Estado de México. 9-442 pp.

SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2007) Situación Actual y Perspectivas del Maíz en México 1996–2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México, D.F. 208 p.

Luna, B., Hinojosa, A., Ayala, O., Castillo, F. y Mejía, A. (2012) Perspectivas de desarrollo de la industria semillera de maíz en México. *Revista de fitotecnia mexicana*. 35(1): 1-7

Melgoza, V. (2025)

Silvia, P. y Valverde, E. (2010) Validación de la metodología analítica para cuantificar el calcio mediante la espectroscopía de absorción atómica de lámpara y su cantificación en alimentos de la canasta básica costarricense. *Tecnología en Marcha*. 23(4): 47-56

Edi-Premono, Moawad, M. A. & Vleck, P.L.G. (1996). Effect of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. *Indonesian Journal of Crop Science*, 11, 13–23.

Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS*

Kharb, R., Lather, B. y Deswal, D. (1994). Prediction of field emergence through heritability and genetic advance of vigour parameters. *Seed Sci Technol*. 22: 461:466.

Cervantes, F., García, G., Carballo-Carballo, A., Bergvinson, D., Crossa, J., Mendoza-Elos, M. y Moreno-Martínez, E. (2006). Análisis Dialéctico para caracteres de vigor de semilla y de plántula en genotipos de maíz tropical. *Agricultura técnica en México*. 32(1): 77-87

Guillen-de laCruz, P., Velázquez-Morales, R., Cruz-Lázaro, E., Márquez-Quiroz, C. y Osorio-Osorio, R. (2018). Germinación y vigor de semillas de población de maíz con diferente proporción de endospermo vítreo. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*. 34(2): 108-117

Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (2012). Manual de determinación de rendimiento. México.

March, G. y Batros, M. (2014) Antibiograma rápido en Microbiología Clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 34(1): 61-68

Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. y Valdezate, S. (2011) Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 29(8):601-608

Bouza, C. y Covarrubias, D. (2005) Estimación del índice de diversidad de simpson en m sitios de muestreo. *Revista investigación operacional.* 26(2): 187-197

Fiodor A, Ajijah N, Dziwit L and Pranaw K (2023) Biopriming of seed with plant growth-promoting bacteria for improved germination and seedling growth. *Front. Microbiol.* 14:1142966. doi: 10.3389/fmicb.2023.1142966

Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and nutrient use efficiency in maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. S.I.A. Pereira *,1, D. Abreu 1, H. Moreira, A. Vega, P.M.L. Castro y A. Gholami

Porres, V. (2022) Fertilización de acuerdo al desarrollo fenológico del cultivo. *Cambiagro*. <https://blog.cambiagro.com/buenas-practicas-agronomicas/fertilizacion-de-acuerdo-al-desarrollo-fenologico-del-cultivo/>

Gambín, B. L., & Borrás, L. (2010). Resource distribution and the trade-off between seed number and seed weight: a comparison across crop species. *Annals of Applied Biology*, 156(1), 91-102.

Gardner, F. P., McCloud, D. E., & Valle, R. (1990). Yield characteristics of ancient races of maize compared to a modern hybrid. *Agronomy Journal*, 82(5), 864-868.

Keleman, A., Rañó, H. G., & Hellin, J. (2009). Maize diversity, poverty, and market access: Lessons from Mexico. *Development in practice*, 19(2), 187-199.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Maestría en Ciencias en Biología Experimental	
Título del trabajo	Evaluación de formulaciones líquidas y sólidas de bacterias promotoras de crecimiento vegetal con fertilización reducida para su integración en el manejo agronómico del maíz	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Javier Tinoco Salazar	2353458k@umich.mx
Director	Josué Altamirano Hernández	josue.altamirano@umich.mx
Codirector		
Coordinador del programa	Mauro Manuel Martínez Pacheco	mauro.martinez.pacheco@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción

Asistencia en la redacción	Si	Utilización del software "DeepSeek" para la mejora de sintaxis y ortografía
-----------------------------------	----	---

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	No	
Traducción a otra lengua	No	
Revisión y corrección de estilo	No	
Análisis de datos	No	
Búsqueda y organización de información	Si	Utilización de "NoteBook" para obtener información de un grupo de artículos
Formateo de las referencias bibliográficas	No	
Generación de contenido multimedia	No	
Otro		

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Javier Tinoco Salazar
Lugar y fecha	Morelia Michoacán a 19 de diciembre de 2025

Javier Tinoco Salazar

Evaluación de formulaciones líquidas y sólidas de bacterias promotoras de crecimiento vegetal con fertilización reducida ...

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:542284337

Fecha de entrega

19 dic 2025, 1:24 p.m. GMT-6

Fecha de descarga

19 dic 2025, 1:28 p.m. GMT-6

Nombre del archivo

Evaluación de formulaciones líquidas y sólidas de bacterias promotoras de crecimiento vegetal c....pdf

Tamaño del archivo

1.2 MB

119 páginas

38.359 palabras

215.666 caracteres

13% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 12%  Fuentes de Internet
- 9%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.