



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO

---



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Impacto de rizobacterias nativas en el rendimiento y contenido de  
vitaminas y minerales del cultivo de maíz criollo en condiciones de  
temporal**

Tesis que presenta:

**I.B.Q. Viviana Melgoza Esparza**

Para obtener el grado de:

**Maestra en Ciencias en Biología Experimental**

Director de tesis:

**D.C. Alfonso Luna Cruz**

Morelia, Michoacán

Noviembre, 2025



El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Manejo de Plagas del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la asesoría del D. C. Alfonso Luna Cruz, con el apoyo de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) a través de la beca número 1237922.



## Agradecimientos

**Al Dr. Alfonso:** Gracias por su dedicación y compromiso con la investigación y la ciencia, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo y la realización de un proyecto tan importante, valoro y agradezco su esfuerzo para que todo esto fuera posible. Todas las veces que me dio un consejo y estuvo ahí para mí, para ayudarme a crecer profesionalmente.

**Al Dr. Josué:** Por su acompañamiento durante el desarrollo de mi proyecto y por estar siempre disponible para resolver mis dudas en el laboratorio. Le agradezco por compartir un poco de su gran conocimiento conmigo.

**A mis sinodales:** El D.C. Eduardo Valencia Cantero, el D.C. Homero Reyes de la Cruz y la D.C. Lourdes Iveth Macías Rodríguez por sus valiosos comentarios y observaciones que fueron útiles para aportar mejoras a mi trabajo y siempre me motivaron a tener mejores resultados.

**A mis padres:** Julissa y Humberto, por ser mi apoyo a lo largo de toda mi vida, el pilar de todas mis decisiones, logros y sobre todo mi motivación para cumplir todas mis metas. Quiero agradecerles todo su esfuerzo ya que sin ustedes no estaría donde estoy. Son mi ejemplo a seguir y este logro se los dedico a ustedes.

**A mi hermana:** Carolina, por ser mi compañera de vida, gracias por el lazo que formaste conmigo porque eso me ayudó a no perderme nunca en el camino, me siento bendecida de tenerte. Te agradezco por darme un hombro para llorar y un espacio para reír juntas. Mis logros son tus logros.

**A Rafael:** Por ser mi soporte emocional en todo momento. Gracias por siempre hacerme ver las cosas de las que soy capaz y ayudarme a creer en mí. Valoro enormemente tus ganas de verme crecer profesional y personalmente, gracias por acompañarme a cumplir mis sueños.

**A mis compañeros de maestría:** Agradecimientos especiales a Javi, porque estuvimos a la par del trabajo y el esfuerzo durante toda la maestría, a Yuri y Blanca, porque, aunque compartimos poco tiempo juntas descubrí que son grandes amigas, y a Paty, por compartirme muchos de sus conocimientos adquiridos para facilitarme el trabajo en campo y laboratorio.

**Impacto de rizobacterias nativas en el rendimiento y  
contenido de vitaminas y minerales del cultivo de maíz  
criollo en condiciones de temporal**

# Índice

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Resumen .....                                                                                                                                | i  |
| Abstract .....                                                                                                                               | ii |
| 1. Introducción.....                                                                                                                         | 1  |
| 2. Antecedentes .....                                                                                                                        | 4  |
| 2.1 Importancia del cultivo de maíz .....                                                                                                    | 4  |
| 2.2 Aporte nutricional del maíz .....                                                                                                        | 6  |
| 2.3 Papel de las PGPR en el aumento del contenido nutricional de granos.....                                                                 | 8  |
| 2.4 Maíz de temporal .....                                                                                                                   | 13 |
| 2.5 Etapas fenológicas del maíz .....                                                                                                        | 14 |
| 2.6 Comercialización de fertilizantes inorgánicos .....                                                                                      | 18 |
| 2.7 Impacto ecológico de la agricultura convencional .....                                                                                   | 20 |
| 2.8 Agricultura sostenible .....                                                                                                             | 21 |
| 2.9 Uso de microorganismos como estrategia para la agricultura sostenible .....                                                              | 21 |
| 2.10 Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR).....                                                                            | 22 |
| 2.10.1 Fijación Biológica de Nitrógeno .....                                                                                                 | 24 |
| 2.10.2 Solubilización de fosfatos .....                                                                                                      | 26 |
| 2.10.3 Solubilización de calcio .....                                                                                                        | 28 |
| 2.11 Uso de PGPR en maíz.....                                                                                                                | 29 |
| 2.12 Uso y comercialización de inoculantes .....                                                                                             | 31 |
| 3. Justificación .....                                                                                                                       | 33 |
| 4. Hipótesis .....                                                                                                                           | 33 |
| 5. Objetivos.....                                                                                                                            | 33 |
| 6. Materiales y métodos .....                                                                                                                | 34 |
| 6.1 Localización del experimento en campo.....                                                                                               | 34 |
| 6.2 Aislamiento, caracterización y selección de bacterias promotoras del crecimiento                                                         | 34 |
| 6.2.1 Aislamiento de rizobacterias .....                                                                                                     | 34 |
| 6.2.2 Conservación de aislados .....                                                                                                         | 35 |
| 6.2.3 Identificación de características asociadas a la promoción del crecimiento vegetal                                                     | 35 |
| 6.2.4 Evaluación de la fijación biológica de nitrógeno .....                                                                                 | 36 |
| 6.2.5 Determinación de la actividad solubilizadora de fosfatos y calcio .....                                                                | 37 |
| 6.2.6 Evaluación de las rizobacterias en el desarrollo de parámetros vegetales en maíz criollo en la etapa inicial del crecimiento (V3)..... | 38 |

|       |                                                                                                                                                                     |    |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6.3   | Evaluación del potencial de las rizobacterias sobre el rendimiento y contenido de vitaminas y minerales del grano del maíz criollo en condiciones de temporal ..... | 39 |
| 6.3.1 | Establecimiento de parcela .....                                                                                                                                    | 39 |
| 6.3.2 | Diseño experimental .....                                                                                                                                           | 39 |
| 6.3.3 | Manejo de cultivo en campo .....                                                                                                                                    | 41 |
| 6.3.4 | Medición de variables fenológicas en planta .....                                                                                                                   | 42 |
| 6.4   | Análisis de vitaminas y minerales en muestras de maíz criollo .....                                                                                                 | 42 |
| 6.4.1 | Análisis de vitaminas .....                                                                                                                                         | 42 |
| 6.5   | Análisis estadístico .....                                                                                                                                          | 45 |
| 7.    | Resultados y discusión .....                                                                                                                                        | 45 |
| 7.1   | Resultados del aislamiento .....                                                                                                                                    | 45 |
| 7.2   | Caracterización de los aislados.....                                                                                                                                | 46 |
| 7.2.1 | Tinción de Gram.....                                                                                                                                                | 46 |
| 7.2.2 | Evaluación de los mecanismos de promoción del crecimiento vegetal.....                                                                                              | 47 |
| 7.2.3 | Fijación Biológica de Nitrógeno .....                                                                                                                               | 49 |
| 7.2.4 | Solubilización de fosfatos y calcio .....                                                                                                                           | 51 |
| 7.3   | Efecto de la inoculación de PGPR nativas en semillas de maíz criollo en etapa vegetativa V3 (invernadero).....                                                      | 55 |
| 7.4   | Efecto de la inoculación de PGPR nativas en parámetros vegetales en plantas de maíz criollo hasta cosecha.....                                                      | 60 |
| 7.5   | Efecto de la inoculación de PGPR nativas sobre el sistema radicular de las plantas de maíz criollo hasta cosecha .....                                              | 64 |
| 7.6   | Efecto de la inoculación de PGPR nativas en biomasa fresca y seca en plantas de maíz criollo hasta cosecha.....                                                     | 68 |
| 7.7   | Efecto de la inoculación de PGPR nativas en la mazorca y grano del maíz criollo                                                                                     | 71 |
| 7.8   | Respuesta de la inoculación de PGPR nativas en el rendimiento del cultivo de maíz criollo                                                                           | 77 |
| 7.9   | Análisis de la calidad y contenido de vitaminas y minerales de los granos de maíz criollo tras la inoculación con PGPR nativa .....                                 | 83 |
| 8.    | Resumen de resultados.....                                                                                                                                          | 91 |
| 9.    | Conclusiones .....                                                                                                                                                  | 91 |
|       | Referencias.....                                                                                                                                                    | 93 |

## Resumen

El maíz criollo (*Zea mays* L.) es un cultivo clave en México por su impacto en la economía, la cultura y la biodiversidad. La inoculación con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) es una alternativa sustentable a la fertilización química, especialmente cuando se emplean microorganismos nativos, lo que optimiza su adaptación y colonización de la rizosfera, mejorando el rendimiento del cultivo. Este estudio caracterizó microorganismos nativos de la rizosfera del maíz criollo en parcelas de Ocampo, Michoacán, con el objetivo de mejorar su calidad nutricional. Se aislaron 80 microorganismos de suelo rizosférico y se realizaron pruebas de fijación biológica de nitrógeno (FBN) y solubilización de fosfatos (SFos) y calcio (SCa), donde destacaron los aislados B10, B16, B44, B55, C17 y M3. En la prueba de FBN, B10 sobresalió con 30  $\mu\text{g NH}_4/\text{mL}$ ; mientras que en las otras pruebas de solubilización, B44 mostró los mejores resultados con 85  $\mu\text{g KH}_2\text{PO}_4/\text{mL}$  y 320  $\mu\text{g CaCO}_3/\text{mL}$ . Mediante identificación molecular, se determinó que los aislados correspondían a diferentes géneros bacterianos: B10 (*Streptomyces* sp.), C17 (*Paenibacillus*), M3 (*Kitasatospora* sp.), B16 (*Bacillus subtilis*), B44 (*Lysinibacillus* sp.) y B55 (*Exiguobacterium profundum*). Se realizó una fase de experimentación en invernadero, donde la inoculación con estos microorganismos mejoró variables fenológicas en las primeras etapas del maíz. B10, B16, B44 y C17 destacaron en peso fresco y seco, longitud de planta, tallo y raíz, así como en el número de raíces. Posteriormente, los microorganismos se probaron en campo con distintos tratamientos para evaluar su impacto en el crecimiento y calidad nutricional del maíz; B10 y B44 demostraron el mayor efecto positivo. Además, se realizaron análisis de vitaminas y minerales de los granos de maíz obtenidos en cada tratamiento, dando como resultado un aumento en el contenido nutricional por parte de los tratamientos con aislados bacterianos, concluyendo que el uso de PGPRs nativas tiene un potencial biotecnológico y ambientalmente amigable para su uso en maíz criollo mexicano de la región.

Palabras clave: maíz criollo, PGPR, nativos, vitaminas, minerales.

## Abstract

Native Maize (*Zea mays* L.) is a key crop in Mexico due to its economic, cultural, and biodiversity impact. Inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) represents a sustainable alternative to chemical fertilization, particularly when native microorganisms are utilized, thereby enhancing their adaptation and colonization of the rhizosphere and ultimately improving crop yield. This study characterized native microorganisms from the rhizosphere of native maize in Ocampo, Michoacán, with the aim of enhancing its nutritional quality. A total of 80 microorganisms were isolated from rhizospheric soil and subjected to biological nitrogen fixation (BNF) and phosphate (SFos) and calcium (SCa) solubilization assays, where isolates B10, C17, M3, B16, B44, and B55 showed notable results. In the BNF test, B10 exhibited the highest performance with 30  $\mu\text{g}$   $\text{NH}_4/\text{mL}$ , whereas in the other solubilization assays, B44 demonstrated the best results with 85  $\mu\text{g}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{mL}$  and 320  $\mu\text{g}$   $\text{CaCO}_3/\text{mL}$ . Molecular identification revealed the isolates belonged to different bacterial genera: B10 (*Streptomyces* sp.), B16 (*Bacillus subtilis*), B44 (*Lysinibacillus* sp.), B55 (*Exiguobacterium profundum*), C17 (*Paenibacillus* sp.), and M3 (*Kitasatospora* sp.). A greenhouse experiment was conducted, demonstrating that inoculation with these microorganisms improved phenological variables in the early stages of maize development. B10, B16, B44, and C17 notably increased fresh and dry weight, plant height, stem and root length, and root number. Subsequently, field trials with different treatments assessed their impact on maize growth and nutritional quality; B10 and B44 exhibited the most significant positive effects. Additionally, vitamin and mineral analyses of maize grains obtained from each treatment were performed, resulting in an increase in nutritional content in the treatments with bacterial isolates. This suggests that native PGPRs present biotechnological and environmentally friendly potential for use in native Mexican maize from the region.

Key words: native maize, PGPR, native, vitamins, minerals.

## 1. Introducción

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta gramínea originaria de Mesoamérica. Su domesticación se inició hace aproximadamente doce mil años en el eje neovolcánico de México. México, país identificado como centro de origen, diversidad y domesticación del maíz (Matsuoka et al., 2002; Kato et al., 2009; Diario Oficial de la Federación, 2012). En América Latina existen 300 razas de maíz aproximadamente (Wellhausen et al., 1951; Vigouroux et al., 2008), de las cuales en México se encuentran entre 59 y 62 (Ortega, 1985), esto como resultado de la selección que realizaron poblaciones indígenas durante unos 10,000 años y, recientemente, grupos mestizos que las han domesticado adaptándolas a climas, suelos, plagas y a diferentes usos dando como resultado lo que hoy conocemos como “maíz criollo” (Diario Oficial de la Federación, 2012). Se denomina maíz criollo o nativo a las variedades autóctonas que se han desarrollado de manera “tradicional”, es decir, gracias a una continua selección de los agricultores durante generaciones que se remonta hasta la época prehispánica (Muñoz, 2021). Las razas criollas de maíz están ligadas a lugares específicos, donde se han adaptado a un terreno y clima particulares, y son más comunes en áreas rurales del país (CONABIO, 2022).

En México, el maíz se consume en varias formas: en elote, tamales, bebidas fermentadas, principalmente en forma de tortilla, con un consumo per cápita de 100 kg de maíz al año. La tortilla es un alimento de forma circular aplanada de 10 a 30 cm de diámetro y 0.2 a 0.6 cm de grosor, se elabora a partir de diferentes tipos de maíz cocido con hidróxido de calcio; proceso conocido como nixtamalización que hace más biodisponible los nutrientes (González-Cortés et al., 2016). Cruz y Verdelet (2007) indican que la tortilla se considera un alimento de primera necesidad para el 94% de la población mexicana, principalmente en las zonas rurales, donde su consumo per cápita es de 328 g diarios y provee el 70% del total de calorías, cerca del 50% de la proteína y 49% del calcio.

Nuestro país se posiciona en el séptimo lugar como productor de maíz a nivel global (SADER, 2024), pero en el tercero como importador del mismo cereal para cubrir la demanda interna (SIAP, 2020). Según datos de la Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) y de los Censos Económicos 2019 del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), 61.8% de 69 mil 124 unidades de producción muestreadas cultiva semillas criollas, las cuales, además de estar adaptadas a las condiciones climáticas y tecnológicas de los

productores, poseen características que les permiten responder a los gustos alimenticios de poblaciones y culturas muy específicas. La diversidad genética de los maíces criollos se mantiene principalmente con el uso de este cereal en la alimentación básica de las comunidades rurales e indígenas; los cuales, a la vez, son promotores naturales de la conservación y generación de estos. Sin embargo, Vidal-Martínez et al., (2010) mencionan que los maíces nativos como polos fitogenéticos de biodiversidad se ven amenazados de forma creciente por factores socioeconómicos, políticos, comerciales, bióticos y abióticos. En el año 2009, la SAGARPA a través de la Subsecretaría de Desarrollo Rural de la Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural (SDRDGADS), estableció que la selección de maíces criollos permite desarrollar variedades adaptadas a las condiciones naturales y socioeconómicas de los productores, prácticamente con los mismos recursos de una explotación comercial, pero con la ventaja de obtener un rendimiento gradualmente mayor en relación a la variedad original, sin perder la diversidad genética en este importante cultivo, básico para la seguridad y soberanía alimentaria del país. En áreas de temporal en donde las lluvias son insuficientes y mal distribuidas, como es el caso del estado de Michoacán, las semillas de las variedades criollas normalmente son obtenidas por el productor después de la cosecha, realizando la selección con base a características morfológicas tales como: tamaño y forma de la mazorca, color del grano, olote delgado, entre otros. Sin embargo, por falta de conocimiento, no toman en cuenta uno de los criterios más importantes como es la composición nutricional. La calidad del grano de maíz está asociada tanto con su constitución física, que determina la textura y dureza, como con su composición química, que define el valor nutrimental y las propiedades tecnológicas. Los mercados son cada vez más exigentes y se interesan por el contenido de proteínas, aminoácidos, almidón, aceites y demás componentes (Bavera, 2006); es por esto que las condiciones nutricionales de las plantas se proporcionan a través de la aplicación de soluciones nutritivas con los elementos químicos de forma equilibrada, si uno solo de los nutrientes es escaso, el crecimiento de la planta es limitado, afectando el rendimiento (López-Marín, 2017).

Para el ciclo otoño-invierno 2022-2023, la superficie sembrada de maíz blanco en México fue de 1 millón 157 mil 911 hectáreas. La producción obtenida fue de ocho millones 575 mil 072 toneladas, destacan Sinaloa, Veracruz, Sonora y Tamaulipas con una participación del 89.1% (SADER, 2024). En los últimos 40 años, la capacidad de producción de maíz se ha

incrementado debido al desarrollo e implementación de tecnologías y al incremento de tierras destinadas para cultivo, ya que las necesidades de abastecimiento paralelamente fueron en aumento a causa del crecimiento exponencial de la población y constante demanda de granos por parte del sector pecuario, siendo este último el mayor demandante de maíz (Ranum et al., 2014; Molina, 2021). El proceso de tecnificación se reflejó en el establecimiento de monocultivos de maíz y el uso indiscriminado de insumos inorgánicos, acelerando la degradación de los suelos y ocasionando la perturbación de la rizosfera (Tofiño Rivera et al., 2020). Lo anterior ha influido en el incremento de los costos de producción, impactando severamente en la economía de los productores (Olanrewaju & Babalola, 2019). El uso irracional de estos productos se refleja en un incremento significativo (entre el 10 y 25 %) de los costos de producción (Salgado & Núñez, 2012), aunado a problemas de contaminación de agua, suelo y de un desequilibrio en las funciones de los microorganismos rizosféricos involucrados en el crecimiento, desarrollo y nutrición de las plantas, lo cual pone en riesgo una productividad sostenible (Lenka et al., 2016). Este escenario ha propiciado la búsqueda de estrategias que permitan incrementar la producción del maíz a bajo costo y con menor impacto ambiental (Velasco-Jiménez et al., 2020).

Una alternativa para lograrlo, ha sido la aplicación de microorganismos nativos benéficos, como las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés “*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*”), las cuales constituyen del 2 al 5% de las bacterias rizosféricas (Prasad et al., 2019) y tienen la capacidad de estimular el crecimiento de las plantas a través de mecanismos como la fijación biológica de nitrógeno atmosférico, solubilización de minerales, producción de compuestos reguladores del crecimiento y de la inmunidad de las plantas, además de presentar actividad antagónica contra hongos y bacterias fitopatógenas (Vejan et al., 2016; Haskett et al., 2021). Pueden colonizar la rizósfera o la superficie de la raíz donde expresan sus propiedades benéficas, que incluyen aumentos en la tasa de germinación de las semillas y la productividad, el crecimiento de las raíces y el área foliar, el peso de brotes y raíces, el contenido de clorofila y/o la tolerancia a las condiciones climáticas adversas como la sequía, mediante diversos mecanismos directos e indirectos. Las PGPR aplicadas como biofertilizantes pueden suplir, en cierta proporción, el uso de fertilizantes químicos esenciales para el maíz, por lo que prometen ser una estrategia

sustentable para abastecer la demanda mundial de granos (Grageda-Cabrera et al., 2012; Higdon et al., 2020; Haskett et al., 2021; Al-Tammar & Khalifa, 2022).

En función del lugar de aislamiento, es posible clasificar a las PGPR en dos grupos, las bacterias exógenas, es decir, microorganismos aislados de suelos o plantas diferentes a los que posteriormente son aplicados de manera experimental o a nivel comercial; y las PGPR nativas, es decir, las que se aíslan del mismo suelo o planta en la que se aplican. Estas PGPR nativas, presentan mejores respuestas de adaptación y de colonización de la rizosfera, ya que presentan los mecanismos de adaptación particulares a las condiciones bióticas y abióticas del lugar (García et al., 2017; Pérez-Rodríguez et al., 2020; Amezquita-Aviles et al., 2021). Al respecto, se ha descrito que las PGPR nativas, se asocian con las raíces de las plantas y con otros microorganismos, lo cual propicia una simbiosis que resulta exitosa para todos los involucrados y se logra un efecto positivo a largo plazo (Schlemper et al., 2018; Armanda et al., 2018; Thiergart et al., 2019). Por lo anterior, el objetivo del estudio fue aislar PGPR nativas de suelos del municipio de Ocampo, Michoacán, México, que sean efectivas en la promoción del crecimiento del maíz criollo, así como para aumentar el rendimiento y el contenido de vitaminas y minerales del grano.

## **2. Antecedentes**

### **2.1 Importancia del cultivo de maíz**

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta con una alta tasa de actividad fotosintética, teniendo el más alto potencial para la producción de carbohidratos por unidad de superficie por día. Fue el primer cereal sometido a rápidas e importantes transformaciones tecnológicas en su forma de cultivo, tal como ha sucedido con la aparición de los híbridos. El éxito en los avances tecnológicos del cultivo de maíz estimuló una revolución agrícola generalizada en muchas partes del mundo. Es el primer cereal con mayor rendimiento de grano por hectárea y el segundo, después del arroz, en producción total. Es considerado de gran importancia económica a nivel mundial, ya sea como alimento humano (uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen), como alimento para el ganado o como fuente de un gran número de productos industriales (Maizar, 2015).

En México, centro de origen, domesticación y diversificación del maíz, existen 59 razas de acuerdo con la clasificación más reciente basada en características morfológicas e isoenzimáticas (Sánchez et al., 2000). Esta diversidad es producto de milenarias prácticas agrícolas vinculadas al conocimiento tradicional de los pueblos indígenas de México, principales custodios y mejoradores del germoplasma nativo (Mera-Ovando & Mapes-Sánchez, 2009). Desde el punto de vista alimentario, político, económico y social, el maíz es el cultivo más importante del país (SIAP, 2020). Basta con decir que el consumo per cápita de maíz en México es aproximadamente 200% mayor que el de Estados Unidos de América (Statista Research Department, 2022). El censo reporta que, en 2022, había 4.6 millones de unidades de producción agropecuaria, la mayoría correspondió a pequeños(as) productores(as), pues 56.0 % tenía una superficie sembrada de hasta dos hectáreas. Del total de superficie sembrada, 73.2 % fue de temporal y 26.8 % fue de riego. Entre octubre de 2021 y septiembre de 2022, 2.4 millones de unidades produjeron 21.9 millones de toneladas de maíz grano blanco. De estas, cuatro millones de toneladas fueron para autoconsumo de la familia, para semilla o para alimento de animales (INEGI, 2022). De la superficie total sembrada con maíz, la mayor parte es de temporal (SIAP, 2020), fundamentalmente a cargo de más de 2 millones de productores a pequeña escala, quienes lo siembran sobre todo para autoconsumo (Mera-Ovando & Mapes-Sánchez, 2009). Más de la mitad de la producción nacional de maíz proviene de este sistema, el cual también es conocido como de subsistencia porque contribuye significativamente a la seguridad alimentaria de los estratos rurales más pobres (Turrent et al., 2012). Es aquí en donde los maíces nativos se seleccionan, producen, conservan, diversifican y domestican de acuerdo con las necesidades de las poblaciones locales (Turrent et al., 2010).

Por su parte, los maíces mejorados (híbridos) son los que satisfacen en buena medida las necesidades de la agroindustria mexicana, y ocupan tan solo 30 % de la superficie total sembrada con maíz (SIAP, 2020). Se producen principalmente bajo sistemas de riego en el noroeste de México, en donde se registra un uso notable de agroquímicos.

En términos de rendimiento, las variedades mejoradas han mostrado ser notablemente superiores a las nativas, pero los pequeños productores suelen preferir sus variedades locales. Esto se debe a ciertas ventajas que se han identificado en las razas nativas, que en su mayoría

se siembran en los terrenos edafo-climáticamente más limitativos (Turrent et al., 2012). De hecho, se han reportado razas que pueden sobrevivir donde las variedades mejoradas no tienen oportunidad (Vázquez-Carrillo et al., 2010). Entre las ventajas de estos maíces destacan las siguientes: mejor manejo del riesgo agrícola, adaptación a las condiciones climáticas locales, estabilidad a la variabilidad climática, costos más bajos de los insumos necesarios para su producción, y muy importante, aptitud para la elaboración de preparaciones culinarias tradicionales (Guillén-Pérez et al., 2002; Turiján-Altamirano et al., 2012; Turrent et al., 2012).

Por todo lo anterior, la protección, caracterización y conservación del germoplasma nativo, así como los saberes y conocimientos tradicionales asociados son acciones impostergables, sobre todo ante las evidencias de que existen de pérdida y extinción de algunas poblaciones (Lazos & Chauvet, 2011; Ortega-Paczka, 2003; Ortega-Corona et al., 2011), situación que podría agudizarse ante los efectos del cambio climático (Bellon et al., 2011).

## **2.2 Aporte nutricional del maíz**

El maíz es uno de los componentes más importantes de la alimentación de los mexicanos y su variabilidad está asociada con una gama de ambientes y grupos socioculturales que, en conjunto, contribuyen al proceso evolutivo de la especie y a la integración de razas o poblaciones con características específicas de adaptación agroecológica, usos y composición de grano (Sánchez et al., 2015). En México se tienen reportadas 59 razas de maíces criollos con una diversidad extensa de recursos genéticos de maíz y que son cultivados en diferentes regiones del país (Uriarte-Aceves et al., 2018). Las poblaciones nativas de maíz, al ser conservadas y seleccionadas continuamente por los agricultores, generan ventajas adaptativas a micronichos ecológicos particulares, formas de cultivo y consumo, estas poblaciones nativas son importantes reservorios de genes de resistencia a plagas y enfermedades, tolerancia a estrés hídrico, salinidad y altas temperaturas. Además, se han detectado áreas potenciales para la introducción de maíces biofortificados de acuerdo con los Índices de Priorización para Biofortificación (IPB) para combatir la deficiencia de micronutrientes en niños y mujeres embarazadas en distintos estados del territorio nacional como Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Puebla e Hidalgo (Ramírez-Jaspeado et al., 2018).

Las poblaciones nativas de maíz son una fuente importante de carbohidratos, proteína, minerales, fibra y compuestos antioxidantes (carotenoides, antocianinas, flavonoides y polifenoles) de gran importancia para la nutrición y salud humana. Los granos de maíz se caracterizan por contener vitaminas (A, B1, B2, B5, B6, C, E y K1) y aminoácidos esenciales (triptófano, treonina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, valina e histidina) (Edelma y Colt, 2016), antioxidantes (luteína y zeaxantina), carbohidratos, proteínas, grasa (Zandi et al., 2017), almidón, aceite, celulosa y lignina, azúcar soluble, entre otros compuestos (Yang et al., 2018). Además, contienen diferentes minerales esenciales como Ca (calcio), Co (cobalto), Se (selenio), Zn (zinc), Cu (cobre), Fe (hierro), Mn (manganeso), Mo (molibdeno), Mg (magnesio), K (potasio), Na (sodio), Ba (bario) y Al (aluminio) (Jaradat y Goldstein, 2018) y, se sabe que el contenido nutrimental constituye una parte importante en la calidad de la semilla.

En un estudio realizado por Chí-Sánchez et al., (2021) se obtuvo el contenido mineral de distintos maíces criollos usados principalmente en el estado de Yucatán, en donde obtuvieron resultados del contenido de minerales como el fósforo (6.95-56.66 mg/kg), siendo éste un resultado desfavorable comparado con lo que obtuvieron Jaradat y Goldstein (2018), los cuales estudiaron 13 genotipos de maíces comerciales de EUA y criollos de Centro América y Sudamérica en las cuales el contenido de fósforo fue en un rango de 4505.7 a 2556 mg/kg. El potasio presentó valores que van en un rango desde 982.72 hasta 3693.36 mg/kg, la concentración de calcio tuvo valores que fueron desde 38 a 127.68 mg/kg. Respecto al contenido de magnesio, sodio y manganeso se obtuvieron valores que iban desde 253.58-831.94 mg/kg, 619.79-1831.12 mg/kg y 1.7-9.35 mg/kg. Por otro lado, en 2015, Sánchez y colaboradores realizaron una caracterización química y nutricional de variedades de maíz de alta calidad de proteína desarrolladas en Yucatán, así como la comparación con sus predecesores criollos, en el cual llegaron a la conclusión de que, para algunos minerales, los predecesores criollos tienen una mayor concentración y que, a pesar de que los híbridos tienen un mayor contenido de proteína (ya que para eso estaban destinados), tienen igual o, incluso, menor concentración de algunos de estos minerales estudiados, tal como se observa en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Contenido de minerales (mg/kg) de las variedades de maíz híbrido Chichén Itzá y Sac Béh y sus predecesores criollos.

| <b>Muestra</b>                | <b>Ca</b>              | <b>Fe</b>             | <b>K</b>                       | <b>Mg</b>                     | <b>Na</b>             | <b>P</b>                       |
|-------------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------------|-------------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Predecesor<br>Chichén<br>Itzá | 88±5.1 <sup>a</sup>    | 36.5±0.3 <sup>b</sup> | 2,557.4±81<br>.2 <sup>a</sup>  | 1,009.9±40<br>.7 <sup>a</sup> | 350.6±16 <sup>b</sup> | 3,375.6±80<br>.4 <sup>a</sup>  |
| Predecesor<br>Sac Béh         | 99.6±24.9 <sup>a</sup> | 51.5±5.1 <sup>a</sup> | 2,993.5±29<br>1.7 <sup>a</sup> | 1,062±16.1<br>a               | 545.5±31.3<br>a       | 3,527.2±3.<br>4 <sup>a</sup>   |
| Híbrido<br>Chichén<br>Itzá    | 102.9±25.2<br>a        | 40.4±3 <sup>b</sup>   | 2,616.1±88<br>.5 <sup>a</sup>  | 1,081.1±36<br>.8 <sup>a</sup> | 415.1±64 <sup>b</sup> | 3,370.9±15<br>9.6 <sup>a</sup> |
| Híbrido<br>Sac Béh            | 94.5±5.5 <sup>a</sup>  | 42.8±6.7 <sup>b</sup> | 2,687.8±27<br>4.7 <sup>a</sup> | 1,039.4±33<br>.2 <sup>a</sup> | 372.2±40.2<br>b       | 3,349±123.<br>9 <sup>a</sup>   |

### 2.3 Papel de las PGPR en el aumento del contenido nutricional de granos

Aunque los cultivos de cereales pueden servir como constituyentes de una dieta nutritiva, la desnutrición es un fenómeno generalizado entre la población rural de muchas zonas de México. Actualmente, la desnutrición y las bajas tallas son el principal problema, sobretodo en los estados del sur de México; aproximadamente a los 12 años los niños se estancan en una desnutrición crónica, razón por la cual es importante realizar distintas estrategias para aumentar el contenido de vitaminas y minerales en granos consumidos por la población en zonas y grupos más vulnerables (Martínez-Mendoza et al., 2023). Las principales problemáticas son la deficiencia de energía, la falta de proteínas y la escasez de suministro de micronutrientes por parte de estos cultivos; esto implica una urgente necesidad de descubrir nuevas tecnologías agrícolas para obtener rendimientos suficientes con cultivos de buena calidad y que no comprometan los recursos naturales globalmente limitados, como los fertilizantes (Kumar et al., 2014).

El maíz aporta vitaminas, almidón, fibra, proteínas y azúcar; 100 g de granos de maíz contienen 361 calorías (Ahmad et al., 2022). Sin embargo, la utilización desequilibrada de fertilizantes químicos, el mínimo uso de fertilizantes orgánicos y abonos naturales, la menor

incorporación de residuos vegetales y el rendimiento exhaustivo del maíz en la década anterior han causado insuficiencias de micronutrientes en el suelo (Bashir et al., 2021). Los microorganismos, en combinación con fertilizantes químicos y orgánicos, están aumentando la absorción de micronutrientes, lo que resulta en una mayor concentración de micronutrientes en granos y frutos. Las necesidades de nitrógeno del maíz están aumentando con el fin de obtener mayores rendimientos de maíz. La aplicación equilibrada de nitrógeno junto con otros macro y micronutrientes es importante para lograr un rendimiento y calidad eficientes del grano (Ahmad et al., 2022). El uso de PGPR con mecanismos de bioaumentación y disponibilización de nutrientes en el suelo ha sido de gran ayuda para aumentar los nutrientes en los granos de algunos cultivos; la calidad de la avena, por ejemplo, respecto al rendimiento de grano, la clorofila y el contenido de proteínas, mejoraron cuando se asociaron PGPR con raíces (Tawfiq y Ahmad, 2014). Las PGPR pueden mejorar la absorción y la biofortificación de macro (N y P) y micronutrientes (Fe, Zn y Cu) en los granos de cereales, mediante la solubilización de nutrientes, producción de sideróforos y de exopolisacáridos (Jalal et al., 2021; Shahane y Shivay, 2022). La biofortificación mediante PGPR ha ganado popularidad para mejorar el contenido de distintos micronutrientes en los cultivos de cereales. Por ejemplo, Gopalakrishnan et al. (2016) revelaron las especies de los géneros *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Bacillus*, *Enterobacter* y *Acinetobacter* como candidatos potenciales para la biofortificación y el biocontrol en plantas. Estos microorganismos también pueden incorporar micronutrientes dentro de tejidos vegetales comestibles mediante la solubilización de sus fuentes autóctonas insolubles presentes en el suelo (Khalid et al., 2015; Gopalakrishnan et al., 2016).

La utilización de PGPR para la biofortificación no solo nos ayuda a gestionar el problema de la desnutrición entre la población, sino que también mejora el rendimiento de los cereales, la fertilidad del suelo y la biodiversidad (Jalal et al., 2022). La comunidad microbiana del suelo es un polo sólido para evaluar la riqueza del suelo y dirige la accesibilidad de nutrientes para las plantas cosechadas. Cualquier cambio en la comunidad microbiana puede influir en la absorción de nutrientes por parte de estas (Nuttall et al., 2017). Es por eso que, en 2022, Ahmad y colaboradores realizaron un estudio con el fin de observar el papel de las PGPR en la biofortificación de granos de maíz en tratamientos con inoculaciones bacterianas solas, en co-inoculación y en consorcio, tanto en experimento en maceta como en campo; ellos

descubrieron que la aplicación del consorcio microbiano triple (ZM27+ZM63+S10) con bacterias de los géneros *Bacillus subtilis* ZM63, *Bacillus aryabhattai*. ZM31 y *Bacillus aryabhattai*. S10, se establece como la estrategia más eficaz, generando las mejoras significativas y máximas en la bioacumulación de tres macronutrientes esenciales, nitrógeno, fósforo y potasio, en los granos del maíz. Este resultado sugiere la existencia de efectos sinérgicos o complementarios entre las cepas que potencian la nutrición vegetal. Además, este consorcio se confirma como la estrategia de inoculación más eficaz para la biofortificación de micronutrientes, generando las mejoras máximas tanto en hierro (18%) como en zinc (15%) en los granos de maíz. Los resultados demuestran una tendencia consistente donde las aplicaciones microbianas combinadas, particularmente el consorcio, superan en eficacia a los tratamientos individuales en la mejora de la nutrición vegetal.

En el año 2014, Kumar y colaboradores realizaron un estudio donde obtuvieron PGPR de distintos cultivos en donde el objetivo fue aumentar el crecimiento, rendimiento y contenido de micronutrientes en granos de trigo; realizaron un consorcio con cepas de bacterias de los géneros *A. chlorophenolicus*, *Enterobacter* sp. y *B. megaterium*, estas cepas fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfato y, a su vez, producen ácido indolacético (AIA) lograron que aumentaran parámetros vegetales y de rendimiento, al mismo tiempo que estos tratamientos mostraron un máximo de absorción de nutrientes y contenido de macronutrientes en condiciones de invernadero como el nitrógeno (N) y el fósforo (P) del 127% y del 155%, respectivamente, respecto al control sin inocular; y micronutrientes como cobre (Cu), zinc (Zn), manganeso (Mn) y hierro (Fe) en los granos de trigo de los cuales absorbieron respectivamente el 83%, 59%, 104% y 50%, respecto al control sin inocular; mientras que en el experimento en campo la adquisición de N fue de un 60% mayor que el control sin inocular y para el P fue de casi el 70%, respecto a todos los demás micronutrientes mencionados anteriormente la adquisición fue del 99%, 63%, 95% y 43%, respectivamente. Sin embargo, también los tratamientos inoculados con 1 o 2 cepas bacterianas tuvieron mejores resultados que los no inoculados.

Por otro lado, dada la gran importancia de las vitaminas para la salud y la dieta humana y animal, numerosas revisiones en la última década han resumido con gran detalle muchas de sus características, vías metabólicas de biosíntesis y de degradación, y mecanismos

moleculares implicados con ellas (Palacios et al., 2014). Las vitaminas son micronutrientes esenciales sintetizados por numerosas plantas y bacterias fotosintéticas, pero no por los animales (Survase et al., 2006). Debido a que las vitaminas son cofactores necesarios en diversas rutas metabólicas y sirven como antioxidantes, necesitan ser provistas a aquellos organismos que no las producen. En las interacciones entre planta-microbio, específicamente, las vitaminas pueden influenciar la proliferación de PGPR dentro y alrededor del sistema de raíces, son provenientes de los exudados radiculares o provenientes de las bacterias u hongos rizosféricos. Algunas de las vitaminas exudadas por las raíces de las plantas no son enteramente sintetizadas por ellas, pero sí producidas por los microbios, las cuales las plantas absorbieron y tiempo después fueron exudadas. Debido a la ocurrencia común de producción microbiana de vitaminas en la rizosfera y la asimilación de vitaminas sintetizadas por microbios por las plantas, parece que las vitaminas tienen un papel en el desarrollo de las plantas y en las interacciones de la rizosfera (Baya et al., 1981). Existen algunas especies de plantas que no pueden producir algunas vitaminas que son esenciales para su metabolismo, por lo tanto, una solución teórica para que estas plantas obtengan estas vitaminas es manteniendo interacciones con PGPR en un ambiente rizosférico que pueda hacer de estas vitaminas disponibles, estableciendo una interacción mutua. La hipótesis que lidera todos los estudios sobre la participación de las vitaminas en la interacción planta-PGPR se basa en el supuesto de que vitaminas tan complicadas y, a veces, difíciles de producir no se habrían sintetizado a menos que participaran en importantes mecanismos celulares, ya sea en cada uno de los socios (planta o PGPR) o durante su interacción. Al menos se conocen 11 vitaminas que son producidas por PGPR en relación con sus interacciones con las plantas, donde el grupo de vitaminas B es el más estudiado (Burgess et al., 2009). A continuación, se presenta el Cuadro 2 con los posibles mecanismos propuestos para cada una de estas vitaminas.

**Cuadro 2.** Posibles roles sugeridos de las vitaminas en la relación mutualista entre plantas y PGPR.

| <b>Vitamina</b> | <b>Función</b>                                                                                  |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ácido ascórbico | Reacción de defensa de la planta<br>Antioxidante                                                |
| Tiamina         | Cofactor en metabolismo celular<br>Síntesis de fitohormonas<br>Reacción de defensa de la planta |

---

|             |                                                                                                                                                                                                         |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|             | Antioxidante<br>Promoción del crecimiento vegetal                                                                                                                                                       |
| Riboflavina | Cofactor en metabolismo celular<br>Reacción de defensa de la planta<br>Antioxidante<br>Promoción del crecimiento vegetal<br>Quorum sensing<br>Moléculas de señalización<br>Mitigación del estrés salino |
| Niacina     | Reacción de defensa de la planta<br>Antioxidante<br>Mitigación del estrés salino                                                                                                                        |
| Piridoxina  | Cofactor en metabolismo celular<br>Reacción de defensa de la planta<br>Antioxidante                                                                                                                     |

---

Además, existen diferentes estudios que indican que, en cultivos *in vitro*, la composición del medio (N, P o microelementos), combinada con parámetros ambientales (como el pH y la temperatura) determina qué vitaminas son producidas y en qué cantidades. Debido a que las vitaminas desempeñan un papel importante en la fisiología de las plantas y algas fotosintéticas y a que la biosíntesis de algunas vitaminas es muy compleja, es una gran ventaja para plantas para asociarse con microorganismos que pueden producir vitaminas para ellas (Palacios et al., 2014).

Casi todos los organismos fotosintéticos producen sus propias vitaminas, sin embargo, muchas especies tienen estrategias que les permiten sobrevivir sin sintetizar vitaminas. Debido a que las vitaminas desempeñan un papel importante en la fisiología de las plantas y que la biosíntesis de algunas vitaminas es muy compleja, es una gran ventaja para las plantas el asociarse con microorganismos que pueden producir vitaminas para ellas. Los efectos de las fitohormonas combinados con las vitaminas están relacionados con la influencia beneficiosa de las PGPR en función de las interacciones PGPR-planta. Por ejemplo, Revillas et al., (2000) propusieron que, debido a que las aplicaciones exógenas de vitaminas B afectan las funciones celulares de las plantas, la producción de estas vitaminas por PGPB, como *Azotobacter* spp., es un mecanismo que explica los efectos positivos de estas bacterias en las

plantas y sus interacciones con otros microorganismos de la rizosfera. En otro estudio, se observó que agregar vitaminas al medio vegetal aumentó la fijación biológica de nitrógeno en trébol por la cepa 267 de *Pseudomonas* sp. (Deryło y Skorupska 1993).

Se ha observado también que los plaguicidas utilizados en la agricultura afectan la producción de vitaminas por parte de las PGPR. Por ejemplo, el efecto del diazinón en las células de *Azospirillum brasilense* cultivadas en un medio químicamente definido no tuvo ningún impacto negativo en *A. brasilense*, pero el profenofos redujo significativamente la fijación de nitrógeno, los niveles intracelulares de ATP, producción de ácido pantoténico, tiamina, niacina y el crecimiento de las células (Gómez et al. 1999). Un estudio anterior demostró la existencia de una posible relación entre la liberación de vitaminas y la capacidad de solubilizar fosfatos por las PGPR. Entre los aislados de la rizósfera y el rizoplaneo que producen cobalamina, riboflavina y/o niacina, los aislados solubilizaron fosfato; por lo tanto, la producción de estas vitaminas por aislados de la rizósfera se correlacionó con su capacidad de solubilizar fosfatos (Baya et al., 1981).

## **2.4 Maíz de temporal**

El conocimiento local de los campesinos sobre su ambiente ha sido reconocido como un recurso valioso, que puede contribuir a la agricultura moderna en la configuración de sistemas más resilientes y sostenibles (Šūmane et al., 2018). La interacción compleja entre las comunidades locales y su ambiente ha dado como resultado un conocimiento etnoecológico local, que ha permitido a los grupos originarios subsistir y adaptarse a una gama de climas. El maíz, en México, más que un cultivo que alimenta al pueblo es un elemento central que nutre la cultura de cientos de generaciones; su importancia no sólo radica en que es la base de su dieta, sino el manifiesto de sus mitos, leyendas e, incluso, la génesis de la humanidad (Hellin et al., 2013). Las prácticas de manejo de los campesinos, además de la polinización cruzada entre parcelas contiguas, han contribuido a la adaptación local del maíz, cuya siembra abarca desde el clima tropical a nivel del mar, las zonas montañosas con altitudes de 3000 msnm (metros sobre el nivel del mar) y hasta el semiárido (Perales & Golicher, 2014). En la selección de semillas, los campesinos se basan en factores cuantitativos y cualitativos, como el tamaño de la mazorca y el grano, la altura de la planta, el rendimiento, la resistencia a heladas, al viento, al déficit hídrico (Bennetzen & Hake,

2009), la facilidad al desgrane, el color, el sabor y la consistencia. Estas prácticas han permitido que las razas locales evolucionen a lo largo del tiempo, adaptándose a su entorno y manejo local (Mercer & Perales, 2019).

El conocimiento de los campesinos acerca del funcionamiento del sistema milpa, permite definir un plan con respecto a qué tipo de grano, dónde y cuánto sembrar, con el fin de reducir o dispersar los riesgos de una mala cosecha. En este sentido, la milpa es el agrosistema más extendido y arraigado en Mesoamérica, en el que se busca ahorrar, a través de la agricultura, tanta agua y energía como sea posible (Murray-Tortarolo et al., 2018). En este sistema predominan los productores a pequeña escala (superficie menor a 5 ha), donde siembran principalmente razas locales y aproximadamente el 25% de la producción de maíz es para autoconsumo (SIAP, 2018).

Si bien se ha destacado el conocimiento de los campesinos sobre el cultivo de maíz, se debe resaltar que el clima, al igual que otros factores, se encuentra en un cambio constante, por lo que el conocimiento debe considerar esta dinámica. El clima no es un factor estático; de manera cíclica ocurren anomalías y sus impactos pueden ser imperceptibles, moderados o catastróficos. Las fluctuaciones que generan estas anomalías se denominan variabilidad climática y, aunque es inevitable, es posible mitigar los impactos. Conocer el clima y su variación es el primer mecanismo de adaptación, especialmente en la agricultura de subsistencia (Romero-Contreras et al., 2023).

## **2.5 Etapas fenológicas del maíz**

La fenología es el estudio de los fenómenos biológicos recurrentes en el ciclo de vida de un organismo, que están influenciados por factores climáticos, como la temperatura, la luz, la humedad y otros elementos ambientales. En el caso del maíz, la fenología se refiere a las distintas etapas de su ciclo de vida, que van desde la germinación hasta la cosecha. Comprender la fenología del maíz es crucial para la planificación y el manejo adecuado del cultivo, ya que cada fase tiene necesidades específicas de agua, nutrientes, temperatura y manejo agronómico (Martínez et al., 2021).

### **2.5.1 Germinación**

La germinación marca el inicio del ciclo del maíz. En esta etapa la semilla absorbe agua, lo que activa su crecimiento. El embrión dentro de la semilla comienza a desarrollarse, emergiendo la radícula, que se convierte en la raíz principal. Luego, el coleóptilo emerge del suelo, protegiendo las primeras hojas verdaderas del maíz. Este proceso es fundamental para establecer un sistema radicular fuerte y saludable (Martínez et al., 2021).

### **2.5.2 Desarrollo de la plántula**

Después de la germinación el maíz entra en la etapa de plántula. Aquí las primeras hojas verdaderas aparecen y la planta comienza a fotosintetizar. En esta fase el crecimiento inicial del sistema radicular continúa, lo que es esencial para la absorción de nutrientes y agua. El manejo adecuado de nutrientes y la protección contra plagas y enfermedades es crucial en este punto para asegurar un desarrollo saludable (Martínez et al., 2021).

### **2.5.3 Crecimiento vegetativo**

Durante el crecimiento vegetativo, el maíz experimenta un rápido aumento en altura y masa foliar. Las plantas desarrollan más hojas, incrementando su capacidad fotosintética. Esta fase establece la estructura de la planta, incluyendo el tallo y las raíces secundarias. El manejo de nutrientes, riego y control de malezas son esenciales para evitar limitaciones en el crecimiento y asegurar una planta robusta (Martínez et al., 2021).

### **2.5.4 Desarrollo reproductivo**

El desarrollo reproductivo comienza con la aparición de la panoja, seguida de la emisión de los estigmas o “pelos” de las mazorcas. La polinización ocurre cuando el polen de la panoja fecunda los estigmas, lo que es crucial para el llenado de los granos. Las condiciones ambientales, como la temperatura y la humedad, son fundamentales para el éxito de la polinización y la fecundación de los granos (Martínez et al., 2021).

### **2.5.5 Llenado de granos**

Después de la polinización el maíz entra en la fase de llenado de granos. Durante esta etapa los nutrientes y azúcares se trasladan desde las hojas y el tallo hacia los granos en desarrollo. Es esencial manejar adecuadamente el riego y los fertilizantes para asegurar un buen llenado

de los granos. Esta fase determina en gran medida el rendimiento final del cultivo (Martínez et al., 2021).

#### **2.5.6 Madurez fisiológica**

La madurez fisiológica indica que los granos han alcanzado su máximo desarrollo y contenido de humedad óptimo para la cosecha. En esta etapa los granos se endurecen y su color cambia, señalando que están listos para ser cosechados. Conocer esta fase permite planificar la cosecha en el momento adecuado, minimizando pérdidas y optimizando la calidad del grano (Martínez et al., 2021).

#### **2.5.7 Escala extendida BBCH para el maíz**

Las siglas BBCH de la escala extendida del maíz (y otros cultivos) provienen de los nombres de las instituciones alemanas y la industria que participaron en su desarrollo: Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt y CHemische Industrie.

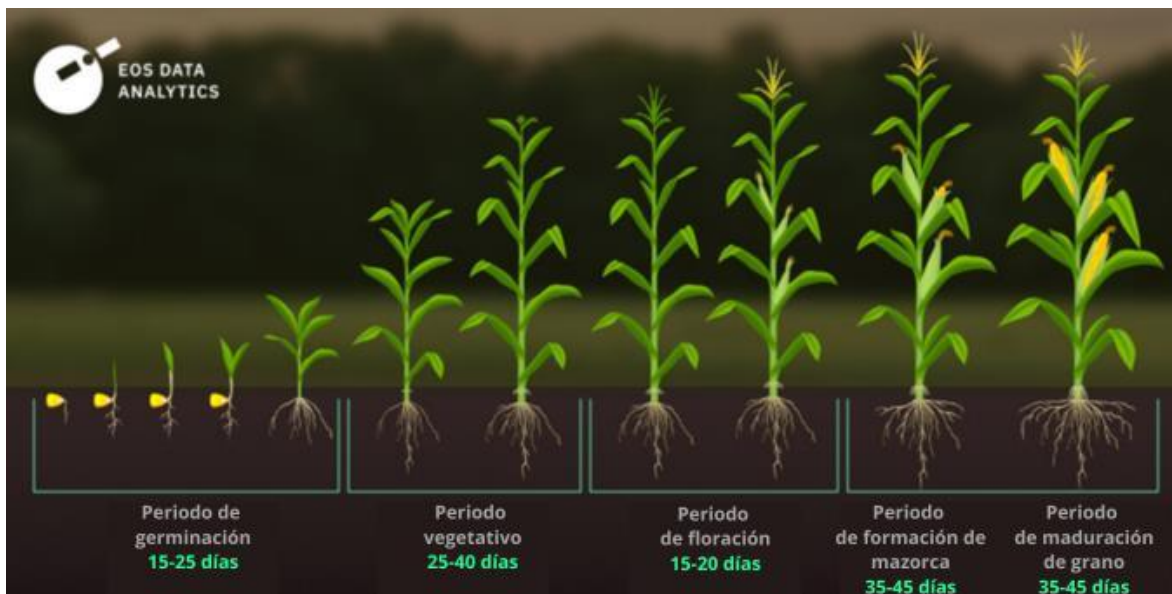
La escala en sí misma es un sistema de codificación decimal que describe las etapas fenológicas o estadios de crecimiento de las plantas de manera estandarizada y precisa. Es una herramienta esencial para describir de manera detallada las etapas de desarrollo del maíz. Esta escala permite a los agricultores y técnicos agronómicos identificar con precisión el estado fenológico del cultivo y tomar decisiones informadas sobre el manejo agronómico.

- 0: Germinación
  - 00: Grano seco
  - 01: Comienzo de la imbibición del grano
  - 03: Fin de la imbibición del grano
  - 05: Radícula fuera del grano
  - 07: Coleóptilo fuera del grano
  - 09: Emergencia: Coleóptilo sale de la superficie del suelo
- 1: Desarrollo de las hojas
  - 10: Primera hoja verdadera desplegada
  - 11: Primera hoja verdadera con la lígula visible
  - 12: Segunda hoja verdadera con la lígula visible
  - 13: Tercera hoja verdadera con la lígula visible

- ...
- 19: Novena o más hojas verdaderas con la lígula visible
- 2: Formación de brotes laterales
  - 21: Primer brote lateral visible
  - 22: Segundo brote lateral visible
  - ...
  - 29: Noveno brote lateral visible
- 3: Elongación del tallo (desarrollo de hojas en la roseta)
  - 30: Comienzo del alargamiento del tallo
  - 31: Primer nudo detectable
  - 32: Segundo nudo detectable
  - 33: Tercer nudo detectable
  - ...
  - 39: Nueve o más nudos detectables
- 4: Desarrollo de órganos reproductivos
  - 41: Formación de la panoja: inicio
  - 45: Formación de la panoja: mitad
  - 49: Formación de la panoja: fin
- 5: Aparición de la inflorescencia (panoja visible)
  - 51: Panoja visible fuera de las hojas superiores
  - 55: Panoja completamente visible
  - 59: Panoja completamente desplegada y visible
- 6: Floración (antesis)
  - 61: Comienzo de la antesis: los primeros estigmas son visibles en la mazorca
  - 65: Floración intermedia: 50% de las plantas muestran estigmas
  - 69: Fin de la floración: estigmas secos
- 7: Desarrollo del fruto
  - 71: Comienzo del llenado de grano: granos acuosos
  - 73: Lechoso temprano: granos lechosos
  - 75: Lechoso intermedio: granos lechosos
  - 77: Lechoso tardío: granos pastosos

- 79: Pasta temprana: granos pastosos con contenido de agua decreciente
- 8: Maduración del fruto
  - 81: Pasta intermedia: contenido de agua decreciente en los granos
  - 83: Pasta tardía: granos pastosos duros
  - 85: Maduración fisiológica: granos duros con contenido de agua decreciente
  - 87: Maduración final: granos duros con bajo contenido de agua
- 9: Senescencia
  - 91: Comienzo de la senescencia: hojas inferiores comienzan a amarillear
  - 93: Senescencia intermedia: hojas amarillas en la mayor parte de la planta
  - 95: Senescencia avanzada: hojas muertas en la mayor parte de la planta
  - 97: Planta completamente seca
  - 99: Granos secos, aptos para cosecha

Conocer las etapas de desarrollo del maíz según la escala BBCH permite un manejo preciso y eficiente del cultivo, facilitando la toma de decisiones en cada fase específica (Guzmán, 2017).

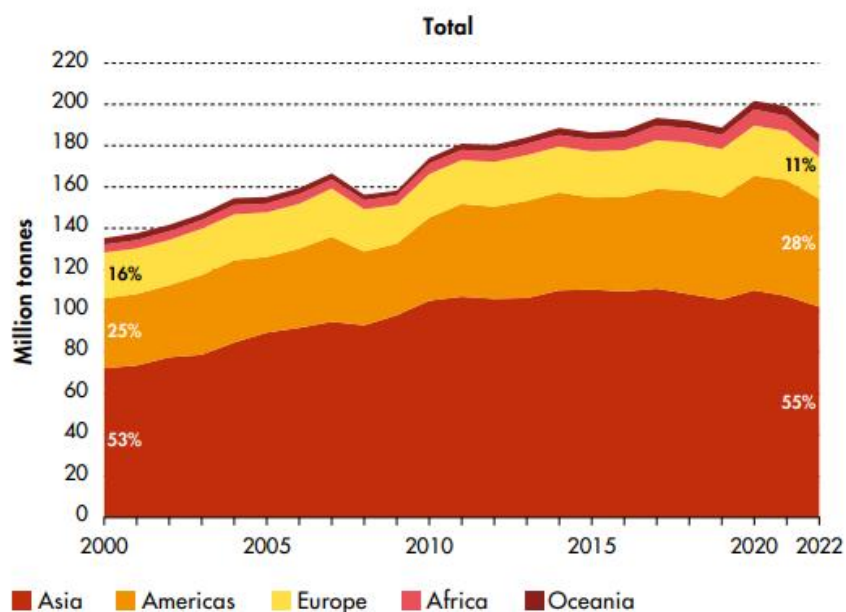


**Figura 1.** Etapas fenológicas del maíz (Kogut, 2024).

## 2.6 Comercialización de fertilizantes inorgánicos

La aplicación de fertilizantes es indispensable para compensar la disminución de la productividad del suelo y obtener altos rendimientos en la producción de alimentos. Es así,

que, en 1950, se originó la llamada Revolución Verde, un modelo tecnológico de agricultura basado en el alto uso de fertilizantes de síntesis química, como solución a la pérdida de fertilidad de suelos explotados y se adoptó en los campos agrícolas como una propuesta para erradicar la hambruna mundial que se pronosticaba (Martinez-Centeno & Huerta-Sobalvarro, 2018). La revolución verde dio lugar a lo que conocemos como agricultura convencional. Las técnicas agrícolas convencionales, sobre todo en campo abierto y los sistemas de agricultura protegida con suelo natural, implican el uso intensivo de fertilizantes inorgánicos para incrementar la producción por unidad de superficie (Khan et al., 2018). La división estadística de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAOSTAT] (2024), reporta una tendencia creciente del uso de fertilizantes nitrogenados y fosfatados en México desde el 2000 al 2022, con 50 millones de toneladas, es decir, con un aumento del 37% (Fig. 2). Para el año 2022, se estimó la aplicación de 108 millones de toneladas de fertilizantes nitrogenados (58% del total de fertilizantes inorgánicos) y 42 millones de toneladas de fertilizantes fosfatados (23% del total de fertilizantes inorgánicos).



**Figura 2.** Utilización de fertilizantes inorgánicos por región desde el año 2000 hasta el año 2022 (FAO, 2023).

El uso de fertilizantes inorgánicos en México ha cambiado a lo largo de los últimos 20 años: para el año 2000, se usaron 1 342 000 toneladas de fertilizante nitrogenado, mientras que en el 2022 se usaron 994 300 toneladas; por su parte, los fertilizantes fosfatados se usaron 315

000 toneladas en el 2000 y 372 700 en el año 2022. Por otro lado, en México, el deterioro de la superficie va en aumento y el daño por los fertilizantes inorgánicos es uno de los factores de mayor importancia en la pérdida del espesor de los suelos cultivables; los efectos de los fertilizantes acumulados irán cambiando las características del terreno y, a la larga, puede producir una disminución de la calidad o capacidad del suelo para soportar un ecosistema (Montero, 2024); para el año 2000, la superficie de suelo cultivable por persona era de 0.26 ha, para finales del año 2022 este número disminuyó a 0.17 ha (FAOSTAT, 2024). La agricultura global enfrenta un máximo histórico en los precios de fertilizantes. Por un lado, la pandemia del COVID-19 originó el cierre de fábricas y la disminución en la producción de fertilizantes; además, provocó aumentos en los costos de transporte internacional a lo que se suma el incremento en el precio de gas natural como energético para su producción (FAO, 2022<sup>a</sup>). Para octubre de 2021, se reportó un incremento del 79%, 74% y 48% en los precios de urea, fosfato diamónico y fosfato monoamónico, respectivamente, en el mercado nacional, según datos del Grupo Consultor de Mercados Agrícolas [GCMA] (2021) y, para el 2022, el incremento fue de hasta 300% para la urea y 200% para fertilizantes fosfatados, poniendo en riesgo las cosechas futuras a nivel mundial (FAO, 2022<sup>b</sup>).

## **2.7 Impacto ecológico de la agricultura convencional**

Los fertilizantes, principalmente fosfatados y nitrogenados, son esenciales para el sistema alimentario mundial. Sin embargo, el ecosistema global está recibiendo niveles elevados de fertilizantes debido al arrastre por agua o volatilización cuando superan la tasa de absorción de los cultivos (FAO, 2002). En el año 2023, Aguirre Calero y colaboradores estudiaron lixiviados de fertilizaciones sencillas N-P-K, los cuales representan un riesgo al generar impactos negativos sobre el medio, afectando directamente al suelo y a aguas subterráneas; ellos lograron identificar que el nitrógeno se encontraba en un rango de 15 – 56% del total contenido del lixiviado, mientras que para el fósforo se encontraron rangos desde 0.154 – 6.376 mg/kg de lixiviado. La lixiviación del suelo puede causar pérdidas significativas de fertilizante, especialmente el nitrógeno. Según la FAO, la eficiencia de uso del nitrógeno global promedio es solo del 50 %, lo que significa que la mitad del fertilizante aplicado se pierde y ponen en riesgo una productividad sostenible al generar problemas graves, no solo a la salud humana, sino también a la base de su propio futuro a través de la degradación del suelo, limitando su potencial agrícola, así como ejerciendo presión sobre los recursos

naturales (Basu et al., 2021). La agricultura es una de las principales causas del cambio climático y, al mismo tiempo, se vuelve vulnerable a su impacto (Anderson, 2019). Produce alteraciones en el suelo como erosión, acidificación, acumulación de metales pesados, compactación, pérdida de materia orgánica, salinización, encharcamiento, etc. (Savci, 2012). Además, es considerada una fuente importante de emisiones de gases que contribuyen al efecto invernadero como óxido nitroso, amoníaco, metano y dióxido de carbono, aportando alrededor del 10-12% del total de estos gases (Lenka et al., 2016), así como el principal productor de aguas residuales que se descargan en los mantos acuíferos (FAO, 2018).

## **2.8 Agricultura sostenible**

En los últimos años, la producción agrícola ha disminuido (Hakim et al., 2021) y ha colocado a la agricultura moderna frente a un gran desafío para garantizar la seguridad alimentaria bajo la presión del crecimiento poblacional, aunado a un clima global cambiante y a la disponibilidad limitada de tierras para uso agrícola (Busby et al., 2017). Dado que los recursos naturales son limitados, el uso continuo de fertilizantes y agua necesarios para cubrir los requerimientos nutricionales futuros, no son sostenibles (Ray, 2020). Por tanto, existe la necesidad de adoptar prácticas agrícolas enfocadas en el uso eficiente de recursos y el uso mínimo de fertilizantes para mantener la sostenibilidad ambiental y el equilibrio ecológico (Kalyanasundaram et al., 2021). Esta modalidad agrícola hace referencia a la llamada agricultura sostenible, la cual propone un modo de producción que asegure el manejo responsable, la preservación de la biodiversidad, así como la disponibilidad de los recursos a largo plazo, no solo garantizando la seguridad alimentaria, sino también proporcionando alimentos de alta calidad nutricional e inocua (Abubakar & Attanda, 2013). En este respecto, la integración de bacterias que habitan la rizósfera a los sistemas agrícolas representa una estrategia efectiva para mejorar la eficiencia en el uso de nutrientes aplicados en los cultivos en una producción agrícola sostenible (Hakim et al., 2021).

## **2.9 Uso de microorganismos como estrategia para la agricultura sostenible**

Hiltner, en 2004, introdujo el término “rizósfera” para describir la parte del suelo adyacente a las raíces en una distancia de 1-3 mm (Zhang et al., 2015), donde los diversos compuestos liberados por el sistema radicular de las plantas desencadenan una serie de reacciones físicas y químicas relacionadas directamente con la densidad microbiana (Yadav et al., 2015). La

cantidad y la composición de los exudados radiculares dependen de factores como la especie, el estado fisiológico y/o del desarrollo de la planta, así como de las características fisicoquímicas del suelo (Dessaux et al., 2016), creando un entorno bioquímico característico del huésped y dando lugar al establecimiento de comunidades microbianas específicas (Kumar & Dubey, 2020). Por consiguiente, la composición funcional de las comunidades rizobacterianas cambia con la diversidad de las plantas y, a su vez, la actividad microbiana puede generar cambios en su perfil metabólico de secreción, afectando nuevamente la estructura microbiana (Eisenhauer et al., 2017). Por tanto, el papel de la rizósfera es fundamental y tiene un gran impacto en la productividad de los suelos y en la salud de las plantas (Yadav *et al.*, 2015) al proporcionar un nicho donde tienen lugar interacciones planta-microorganismo importantes para el ecosistema (Hassan et al., 2019). La rizósfera alberga hasta  $10^{11}$  células microbianas por gramo de raíz y alrededor de 30,000 especies en general (Bhattarai et al., 2015) que establecen interacciones tanto positivas o negativas con las plantas (Sharma et al., 2021). Las bacterias son el grupo de mayor densidad, se les encuentra en un rango aproximado de  $9 \times 10^7$  células por gramo de suelo (Santoyo et al., 2021). La porción de bacterias del microbioma rizosférico y con un efecto positivo sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, son referidas como Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal o PGPR (Subrahmanyam *et al.*, 2020).

## **2.10 Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR)**

El término PGPR se utilizó por primera vez por Kloepper & Schroth (1978). El mismo autor argumenta que, para que una bacteria sea considerada PGPR, debe cumplir tres características (i) debe ser capaz de colonizar la superficie de la raíz (ii) debe sobrevivir y multiplicarse en microhábitats en competencia eficaz y (iii) debe estimular el crecimiento vegetal. La presencia de PGPR en la rizósfera mejora el porcentaje de germinación y el vigor de las semillas (Rudolph et al., 2015), influyen en el desarrollo de las raíces (Verbon & Liberman, 2016), restauran la calidad y la fertilidad de suelos contaminados (Kaur, 2021), brindan protección contra microorganismos fitopatógenos y frente a condiciones de estrés ambiental (Kumar et al., 2019), además de ayudar a disminuir la dependencia global de químicos agrícolas que desestabilizan los agroecosistemas (Laslo & Mara, 2019).

Gran parte de los nutrientes aplicados en la agricultura no son aprovechados por la planta, generando un exceso acumulado en el suelo en formas mínimamente biodisponibles (Jacoby et al., 2017), lo cual demuestra la necesidad de hacer eficiente el uso de fertilizantes. En este proceso, las comunidades bacterianas del suelo juegan un papel fundamental en el mantenimiento de la fertilidad (Kumar et al., 2017), ya sea participando en las transformaciones de nutrientes en formas biológicamente asimilables o estimulando el desarrollo del sistema radicular, lo cual conduce a una mayor superficie y a un aumento de pelos radiculares, mejorando así la adquisición de nutrientes (Calvo et al., 2016). En este contexto, existe una investigación extensa en torno a los mecanismos que emplean las bacterias para promover el crecimiento, tales como la fijación de nitrógeno (FBN), la solubilización de calcio (SCa) y la solubilización de fosfatos (SFos) acumulados en el suelo.

En un estudio realizado por Di Salvo et al., (2018), donde se utilizaron dos cepas de PGPR (*Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens*) además de 3 distintos regímenes de nitrógeno (0, 90 y 180 kg/ha) aplicados al suelo se observó que la utilización de PGPR dio como resultado un aumento en el rendimiento de granos de maíz; la inoculación por sí sola únicamente modificó el número de microorganismos microaerófilos fijadores de nitrógeno en la etapa reproductiva del cultivo, mientras que la fertilización inorgánica por sí sola modificó la cantidad de éstos, además de microorganismos celulolíticos y nitrificadores. Se observaron también distintos cambios fisiológicos en el tallo, hojas, raíces y mazorca del maíz. Los tratamientos de 90N y 180N aumentaron el rendimiento de grano en un 26 y 38%, respectivamente, en comparación con el control sin inocular. Respecto a los efectos de la inoculación éstos dependieron del tipo de inoculación, aunque la inoculación aumentó el rendimiento de grano en comparación con las plantas control, tal como se muestra en el cuadro 3.

**Cuadro 3.** Respuesta agronómica del maíz a la fertilización con nitrógeno y la inoculación con PGPR.

| Dosis de nitrógeno (kg/ha) | Rendimiento de grano (kg/ha) |
|----------------------------|------------------------------|
| 0                          | 8700 ± 414 c                 |
| 90                         | 10 941 ± 324 b               |
| 180                        | 12 048 ± 513 a               |

| Tratamientos con inoculación |                 |
|------------------------------|-----------------|
| Control                      | 10 051 ± 1438 c |
| Comercial                    | 10 588 ± 1379 b |
| 40 M                         | 10 540 ± 1452 b |
| 42 M                         | 10 603 ± 1482 b |
| 40 M + 42 M                  | 11 033 ± 1549 a |

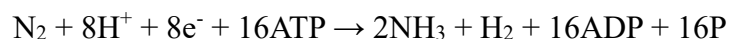
En 2021, Zulueta-Rodríguez et al., realizaron un experimento en campo con el cultivo de maíz utilizando la inoculación o coinoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), rizobacterias (*Azospirillum brasilense*, Ab) y dosis reducida de fertilizante inorgánico (FI) donde los tratamientos fueron T1: (Manejo tradicional del productor, MT), T2: (inoculación de los HMA), T3: (inoculación de Ab), T4: (coinoculación de HMA + Ab), T5: (inoculación de HMA + 50% FI), T6: (inoculación de Ab+50% FI y T7: (coinoculación de HMA + Ab + 50% FI). Las variables registradas fueron altura de la planta (cm), largo y ancho de la hoja bandera (cm), diámetro del tallo (mm), porcentaje de colonización micorrízica arbuscular, unidades formadoras de colonias (UFC) y producción total de granos de maíz (kg). En resultados se observó que hubo diferencias significativas para las variables altura, largo y ancho de la hoja bandera, con incrementos de 75.59, 75.43 y 28.68% en el tratamiento HMA + Ab + 50% FI respecto a las plantas-testigo. En diámetro del tallo y peso del grano el tratamiento que promovió incrementos de 44.73%, 74.21% y una mayor presencia de UFC mL-1 fue Ab+50% FI. La interacción entre HMA y Ab presentó un mayor porcentaje de colonización micorrízica (62.7%) en forma comparativa entre los demás tratamientos. Los mejores resultados se presentaron en la mayoría de las variables evaluadas donde estos microorganismos interactuaron en dosis reducida de fertilización (HMA + Ab + 50% FI). Si bien, en este estudio no se trabajó con HMA, es una referencia del efecto que tienen las bacterias junto con un régimen establecido de fertilización inorgánica sobre el cultivo de maíz.

### 2.10.1 Fijación Biológica de Nitrógeno

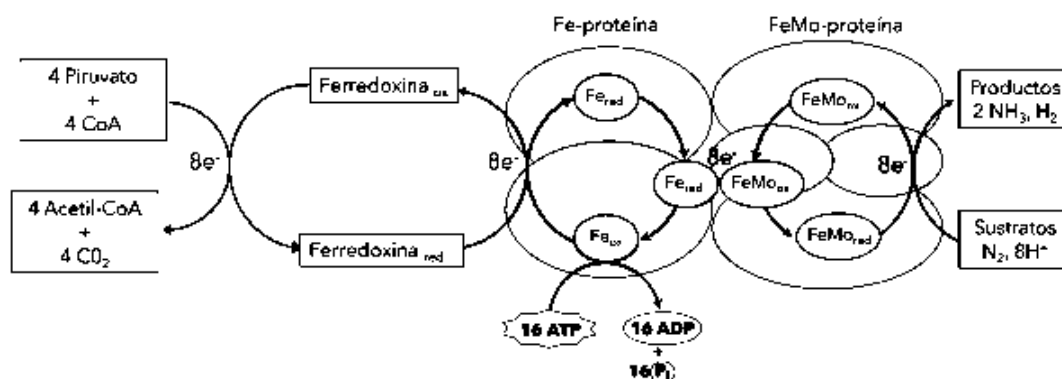
El nitrógeno es considerado el nutriente más importante para lograr altos rendimientos en la agricultura (Erisman et al., 2013). El aire de la atmósfera está constituido en un 78% de N<sub>2</sub>,

sin embargo, esta forma no es asimilable para las especies vegetales, puesto que los organismos eucariotas tienen la capacidad de asimilar únicamente especies de nitrógeno oxidado o reducido, como nitratos, nitritos, amonio o amoníaco (Burén & Rubio, 2017). La presencia de estas formas en los campos de producción agrícola procede de la materia orgánica: nitratos aportados por la lluvia, abonos verdes o de fertilizantes comerciales (Navarro & Navarro, 2003). Sin embargo, los cultivos absorben en promedio el 50% del nitrógeno aplicado mientras que el resto se pierde en procesos de desnitrificación, lixiviación o volatilización, así como su fijación sobre las arcillas (Zhang et al., 2015). El  $N_2$  atmosférico puede ser convertido a formas utilizables para las plantas mediante el proceso de Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) (Jacoby et al., 2017), donde es reducido a amonio en una reacción catalizada por un complejo enzimático de nitrogenasa presente en bacterias denominadas diazotróficas (Bhat et al., 2015).

El complejo de nitrogenasa contiene molibdeno unido al cofactor del sitio activo, por lo que puede ser referida como Molibdeno (Mo) nitrogenasa (Burén et al., 2017). Está compuesta por dos subunidades de metaloproteínas: el Componente I o dinitrogenasa y el Componente II o dinitrogenasa reductasa. La dinitrogenasa está formada por los productos génicos *nifD* y *nifK*, consiste en un tetrámero formado por dos copias de dos subunidades distintas, que contiene hierro y molibdeno, por lo que también se denomina Fe-Mo proteína. Por su parte, la dinitrogenasa reductasa está codificada por el gen *nifH*, el cual es un homodímero formado por dos subunidades idénticas con un único centro redox del tipo 4Fe-4S, por lo que también es llamado Fe-proteína (Mahmud et al., 2020; Sharma et al., 2021). La Fe-proteína se reduce al recibir los electrones procedentes de los glúcidos, que luego son transferidos a la Fe-Mo proteína, quien interacciona con el  $N_2$  como sustrato reducible generando amoníaco que será rápidamente protonado a amonio y será incorporado, en primer lugar, en los aminoácidos, principalmente glutamato y glutamina, y posteriormente en otras biomoléculas que contienen nitrógeno (Bhat et al., 2015) (Fig. 3). La energía de activación de la fijación de nitrógeno es extremadamente alta, debido a la estabilidad del triple enlace del nitrógeno molecular, por lo cual, requiere de energía suministrada por el ATP producido en la fosforilación oxidativa acoplada a la cadena transportadora de electrones (Nelson & Cox, 2009). El resultado de la reducción neta de nitrógeno molecular a amoníaco se explica generalmente por la siguiente ecuación:



Además, la Fe-proteína es extremadamente sensible al oxígeno, de tal manera que los organismos fijadores poseen mecanismos que les permite bajar las concentraciones de éste a fin de mantener la funcionalidad enzimática (Burén & Rubio, 2017; Wang et al., 2017).



**Figura 3.** Esquema de la enzima nitrogenasa y el proceso de fijación biológica de nitrógeno (Bahaguna and Singh, 2011).

La fijación biológica de nitrógeno ocurre cuando la dinitrogenasa reductasa o Fe-proteína se reduce al recibir electrones procedentes de la oxidación de la ferredoxina, quien, a su vez, recibe electrones del piruvato. Por cada electrón procedente del piruvato, son necesarios 2ATP. La Fe-Mo proteína del complejo nitrogenasa se reduce por transferencia de electrones procedentes de la Fe-proteína y se combina con los sustratos reducibles, es decir, N<sub>2</sub> y otros sustratos para, finalmente, producir dos moléculas de NH<sub>3</sub> que son liberados por la enzima e incorporados a los aminoácidos (Taiz & Zeiger, 2003).

### 2.10.2 Solubilización de fosfatos

El fosfato es el segundo elemento más importante en la nutrición vegetal (Navarro & Navarro, 2003). Es un constituyente importante de los ácidos nucleicos, las enzimas y los fosfolípidos. Además, participa en procesos como la fotosíntesis, la biosíntesis macromolecular y la respiración, influyendo en el desarrollo radicular, el crecimiento y fortalecimiento del tallo, la formación de flores y semillas y en la resistencia de las plantas contra enfermedades (Sharma et al., 2013). Un suministro adecuado de fósforo en las primeras fases de desarrollo vegetal, ayuda al establecimiento de primordios de las partes reproductivas (Satyaprakash et al., 2017).

El suelo contiene aproximadamente 0.05% de fósforo distribuido como fósforo soluble, fósforo orgánico y fósforo asociado a partículas minerales (Restrepo-Franco et al., 2015). Únicamente el fósforo soluble es considerado disponible para las plantas, quienes lo absorben como ortofosfatos, cuyas formas iónicas son dependientes del pH (Kalayu, 2019). Las plantas absorben principalmente el fosfato cuando se encuentra como  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , este ion es predominante cuando el suelo tiene un pH entre 4.0 y 6.0; a pH entre 6.5 y 7.5, el fósforo está presente como  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y  $\text{HPO}_4^{2-}$ , también puede ser absorbido por la planta, pero en menor proporción. Cuando el pH se encuentra entre 8.0 y 10.0, el ion  $\text{HPO}_4^{2-}$  es dominante, pero es rápidamente fijado en forma de fosfatos de calcio o magnesio, altamente insolubles, mientras que a pH mayor a 10.0 solamente el fosfato de sodio está disponible para la planta. Por otro lado, cuando el pH es inferior a 3.0, el fósforo está presente como  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , una forma extremadamente reactiva propensa a la fijación por óxidos e hidróxidos libres de hierro y aluminio (Arai, & Sparks, 2007; Khan et al., 2009b; Patiño-Torres et al., 2014). Además, las superficies cargadas positivamente de las arcillas por la presencia de minerales como hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ), aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ) y calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), atraen los iones ortofosfato de la disolución, que se adsorben a grupos funcionales superficiales, intercambiándose con grupos hidronio e hidróxido (Restrepo-Franco et al., 2015). Debido a la reactividad de las formas asimilables, el fósforo disponible representa el 0.1% del contenido de fósforo total en el suelo (Alori et al., 2017), haciendo necesaria la aplicación de fertilizantes químicos para complementar los niveles requeridos (Sharma et al., 2013). Sin embargo, se estima que del 10 – 20% del fósforo exógeno es aprovechado por las plantas, el resto se convierte rápidamente en compuestos insolubles (Zineb et al., 2019) pudiendo ser transformados a formas solubles por acción microbiana (Chuang et al., 2007).

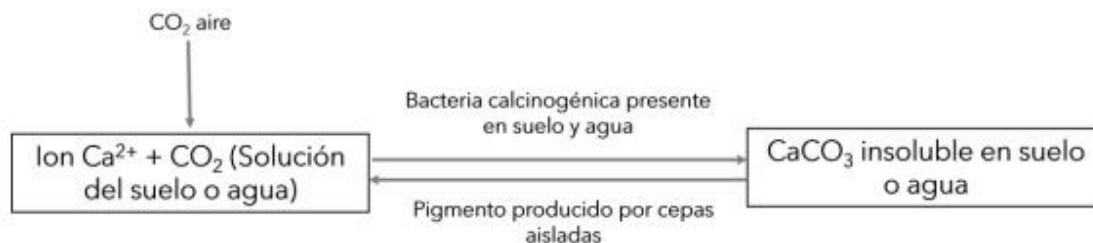
Las bacterias solubilizadoras de fosfato constituyen entre el 1 y el 50% de la comunidad microbiana del suelo (Khan et al., 2009a). Llevan a cabo la solubilización de fosfato adoptando distintas estrategias para su transformación y movilización, principalmente la producción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y la extrusión de protones (Khan et al., 2009b).

Los grupos carboxilo e hidroxilo de los ácidos orgánicos secretados por las bacterias quelan los cationes  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Al}^{3+}$  unidos al fosfato, convirtiéndolo en formas solubles y compiten

con el fosfato por los sitios de adsorción en el suelo (Kalayu, 2019). Por otro lado, en suelos alcalinos, la liberación de ácidos orgánicos conduce a la disminución del pH (Mohamed et al., 2018), dando como resultado la acidificación de las células microbianas y el entorno, por lo que los iones fosfato se liberan mediante la sustitución de  $H^+$  por  $Ca^{2+}$  (Alori et al., 2017; Khan et al., 2014) y pueden ser absorbidos por las plantas.

### **2.10.3 Solubilización de calcio**

El calcio es un nutriente vegetal absorbido por las plantas como catión divalente  $Ca^{2+}$ . Juega un papel importante como componente de la pared celular y en el desarrollo de nuevas raíces, pelos radiculares y meristemos apicales. Además, estimula el vigor de las plantas, la viabilidad del polen, así como el contenido proteico de granos y semillas (Castellanos, 2011). Se encuentra formando parte de compuestos como el sulfato de calcio, el fosfato de calcio y el carbonato de calcio, procedentes de rocas, minerales y fertilizantes añadidos por el hombre. Todos estos compuestos van liberando calcio lentamente por efecto de la meteorización y son transformados a formas más solubles. El calcio liberado tiene varios destinos: la pérdida por lixiviación, ser absorbido por los organismos del suelo, ser adsorbido por el complejo coloidal o precipitando nuevamente como compuestos cálcicos, razones por las cuales disminuyen las cantidades de calcio disponible (Navarro & Navarro, 2003). Los iones de hidrógeno y, probablemente también los agentes quelantes en el suelo pueden dar lugar a la meteorización de los minerales que contienen calcio al intercambiarse en los sitios de unión a los coloides (Mengel et al., 2001). Esto fue comprobado por Rana y colaboradores en 2015, quienes observaron que los compuestos ácidos secretados por las bacterias, específicamente ácido oxálico y ácido cítrico, pudieron solubilizar el carbonato de calcio en condiciones in vitro. Además, mostraron una gran correlación entre la solubilización del mineral con la producción del pigmento piocianina, producido por especies de *Pseudomonas* spp., al mantener el equilibrio entre los iones de  $Ca^{2+}$  solubles y los iones de  $Ca^{2+}$  insolubles como se muestra en la Fig. 4.



**Figura 4.** Equilibrio entre los iones de calcio en la solución del agua o del suelo ejercido por bacterias.

Las bacterias calcinogénicas presentes en suelo y agua pueden convertir el  $\text{CO}_2$  en  $\text{CaCO}_3$  insoluble en presencia del ion  $\text{Ca}^{2+}$ . El átomo de nitrógeno que contiene la piocinanina, tiene un efecto quelante para los iones  $\text{Ca}^{2+}$ , actuando como agente amortiguador manteniendo la condición de equilibrio en la reacción (Rana et al., 2015).

### 2.11 Uso de PGPR en maíz

El maíz (*Zea mays* L.), que es miembro de la familia *Poaceae*, es una de las especies de cereales más importantes del mundo y sirve como alimento básico para muchas poblaciones (Rouf Shah et al., 2016). El maíz es una de las tres especies de cultivos más importantes del mundo, ya que proporciona casi la mitad de la energía diaria a los organismos de África y América (FAOSTAT Food Balancesheets, 2020). La demanda de maíz en respuesta al crecimiento de la población requerirá aumentos marcados en la producción, la sustentabilidad y la resiliencia de los sistemas agrícolas basados en el maíz (Shiferaw et al., 2011).

Para mantener los aumentos en la productividad del maíz, será necesario un aumento en la cantidad de fertilizantes, lo que resultará tanto en un aumento en los costos de producción como en un mayor impacto negativo en el medio ambiente. Muchos efectos beneficiosos de las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas en el crecimiento y el rendimiento de los cultivos han sido bien documentados. En 2017, Breedts y algunos colaboradores encontraron un aumento en el rendimiento que osciló entre el 24 y el 34% utilizando *Paenibacillus alvei*, *B. safensis*, *B. pumilus* y *Brevundimonas vesicularis*. Cassán y colaboradores evaluaron el efecto de la mezcla de *A. brasilense* con *Bradyrhizobium japonicum* y verificaron el aumento de la tasa de germinación de las semillas y el desarrollo temprano. Kuan et al. (2016) informaron que las PGPR pueden proporcionar una alternativa biológica para fijar el  $\text{N}_2$  atmosférico y retrasar la removilización del N en la planta de maíz

para aumentar el rendimiento de los cultivos, basándose en el entendimiento de que la removilización del N de la planta está directamente relacionada con su senescencia, promoviendo una espiga alta de hasta el 30.9% con un aporte reducido de N de fertilizante. Las respuestas de los cultivos a la inoculación son complejas debido a que están definidas por las interacciones planta-microorganismo, muchas de ellas aún desconocidas. Por lo tanto, es necesario mejorar el conocimiento sobre la ecología microbiana de la rizosfera de los cultivos bajo diferentes prácticas agrícolas.

El uso de PGPR es una forma potencial de disminuir el impacto ambiental negativo resultante del uso continuo de fertilizantes, pesticidas y herbicidas químicos (dos Santos et al., 2020). El uso de los fertilizantes químicos en la producción de cultivos proporciona un aumento promedio del rendimiento de aproximadamente el 50% en comparación con la producción sin su uso; sin embargo, las prácticas de fertilización química ignoran el potencial biológico de las raíces o la rizosfera al aumentar la movilización y adquisición de nutrientes y aumentar las interacciones entre las plantas y los microorganismos rizosféricos (Meena et al., 2017). Muchos estudios han demostrado la capacidad de los microorganismos promotores del crecimiento de las plantas para aumentar el estado nutricional de las plantas y reducir el uso de plaguicidas (Aloo et al., 2019).

Hay dos tipos de mecanismo utilizados por las PGPR para promover el crecimiento de las plantas. Cada mecanismo contiene varios parámetros relacionados con el crecimiento de las plantas. El mecanismo directo contiene los parámetros de producción de fitohormonas (Cassán et al., 2009) como las auxinas (Khalid et al., 2004<sup>b</sup>); sideróforos (Yu et al., 2019); solubilización de fósforo (Krey et al., 2013), o fijación biológica de nitrógeno (Riggs et al., 2001). El mecanismo indirecto está relacionado con el biocontrol, mediante actividad antagónica frente a microorganismos fitopatógenos induciendo respuestas de resistencia sistémica de las plantas, interfiriendo en los sistemas de detección de quórum bacteriano (QS), etc. (Bashan y Holguín, 1997; Ahmad et al., 2016).

Varias bacterias tienen la capacidad de producir AIA, teniendo efectos positivos sobre el peso de los brotes y de las raíces, y la absorción de nutrientes en las plantas de maíz. Además, presentan actividades como la solubilización de fosfato, o incluso otros rasgos de PGPR no evaluados que estimulan el crecimiento de las plantas (Lobo et al., 2019); también se ha

estudiado el papel bioprotector de las PGPR en los cultivos de maíz. El hongo toxigénico *Fusarium* spp. es uno de los géneros importantes asociados con el maíz, algunas PGPR como *Bacillus amyloliquefaciens* y *Microbacterium oleovorans* lograron proteger al maíz contra *Fusarium verticillioides* cuando se aplicaron en forma de recubrimientos de semillas (Pereira et al., 2011). Curiosamente, algunas especies de PGPR parecen promover el crecimiento de las plantas al actuar como biofertilizantes y como agentes de control biológico. Por ejemplo, se han observado cepas de *B. cepacia* con características de biocontrol frente a *Fusarium* spp. Al mismo tiempo, también pueden estimular el crecimiento del maíz en condiciones pobres en hierro a través de la producción de sideróforos (Bevivino et al., 1998). Algunos informes muestran que las PGPR pueden utilizar más de uno de estos mecanismos para mejorar el crecimiento de las plantas (Bashan y Holguín, 1997; Ahmad et al., 2016).

A su vez, la absorción de nutrientes por la planta es un proceso altamente regulado y, a menudo, dependiente de energía. Por ejemplo, el transporte de nutrientes a través de las membranas celulares, como la membrana plasmática de las células de la raíz, es un proceso que va en contra de un gradiente de concentración y requiere de adenosín trifosfato (ATP) u otros compuestos fosforilados de alta energía (Malhotra et al., 2018). La  $H^+$ -ATPasa es la principal bomba de protones ligada a la membrana plasmática en las plantas, esta enzima utiliza la energía del ATP para exportar protones ( $H^+$ ) fuera de la célula, creando un gradiente electroquímico, el cual es crucial porque luego se utiliza para importar nutrientes a la célula (Malhotra et al., 2018). Una vez que el nutriente ha cruzado la membrana celular, puede moverse hacia otras células a través de la vía simplástica (a través de los plasmodesmos, dentro del citoplasma) o la vía apoplástica (a través de los espacios intercelulares y paredes celulares) (Malhotra et al., 2018).

## **2.12 Uso y comercialización de inoculantes**

Los inoculantes microbianos han ganado mayor atención y han escalado en el mercado agrícola (Santos et al., 2019). El mercado global de inoculantes está creciendo en una tasa del 10% anual (Nosheen, 2021), siendo América del Norte el mayor productor y consumidor con una participación aproximada del 28% en el mercado mundial en 2017 (Mordor Intelligence, 2021). Sin embargo, el uso de la mayoría de inoculantes microbianos se limita a cultivos de cereales y granos, entre ellos trigo, maíz, cebada y arroz, de los cuales, el 79%

pertenecen a rizobios (fijadores simbióticos de nitrógeno), mientras los microorganismos solubilizadores de fosfato constituyen aproximadamente el 15% y el resto a productos micorrízicos (Owen et al., 2015). Actualmente, el Instituto de Revisión de Materiales Orgánicos (OMRI, por sus siglas en inglés), encargado de determinar los insumos permitidos para su uso en la producción agrícola y procesamiento de alimentos orgánicos, enumera 241 productos en la categoría de 'inoculantes microbianos' y 245 productos en la categoría 'productos microbianos', como fertilizantes para cultivos que ayudan a la producción y para enmiendas del suelo (OMRI, 2021). En México, la producción actual de biofertilizantes se realiza por pequeñas empresas, instituciones de educación e investigación y por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), apoyada por el gobierno federal y/o por gobiernos estatales (Grageda-Cabrera et al., 2012). Los productos a base de bacterias pertenecen principalmente al género *Bacillus* spp. y *Azospirillum* spp., según el Listado de Materias publicado en Agroquímicos de México por la revista Terralia, en 2017. En 2020, el mercado enfocado a la agricultura sostenible representó únicamente el 3% aproximado del mercado de agricultura convencional.

No obstante, la comercialización y aplicación a gran escala ha tenido serias dificultades, principalmente por problemas de promoción y distribución (Grageda-Cabrera et al., 2012). En primer lugar, es difícil comprobar la eficacia de los biofertilizantes comerciales, ya que, aunque afirman incrementos en los rendimientos, en la mayoría de los casos se desconocen los mecanismos de acción responsables de dichos efectos (Owen et al., 2015). Por otro lado, existe una evidente falta de pruebas de campo, ya que la mayoría de las investigaciones se establecen en ensayos de macetas en laboratorio en condiciones alejadas de las prácticas agronómicas reales, generando resultados inconsistentes cuando se escalan, debido a la complejidad del agroecosistema (Emmanuel & Babalola, 2020; Gamalero et al., 2022). Consecuentemente, la transferencia exitosa de inoculantes microbianos del laboratorio al campo sigue siendo un desafío (Saad et al., 2020) y, aun cuando se ha determinado el potencial de los microorganismos en ensayos *in vitro*, es necesario evaluar su desempeño e identificar sus beneficios sobre la productividad de los cultivos para promover su utilización en la práctica agrícola.

### **3. Justificación**

El maíz (*Zea mays* L.) es un cultivo clave para la seguridad alimentaria y biodiversidad en México, cuyas variedades criollas aportan distintas vitaminas y minerales esenciales para combatir deficiencias nutricionales en las comunidades rurales con vulnerabilidad por deficiencia de nutrientes.

Estudios demuestran que la inoculación con PGPR incrementa significativamente el rendimiento, el peso de grano y el contenido nutricional del mismo, al tiempo que reduce la dependencia de fertilizantes químicos, cuya aplicación excesiva ha degradado los suelos y afectado la sostenibilidad agrícola.

Por ello, el uso de PGPRs nativas, adaptadas a las condiciones locales capaces de solubilizar o fijar nutrientes, constituye una estrategia clave para mejorar la calidad nutricional del maíz de autoconsumo y contribuir al bienestar ambiental, social y económico de comunidades rurales.

### **4. Hipótesis**

El uso de rizobacterias nativas mejora el rendimiento y el contenido de vitaminas y minerales del grano de maíz criollo en condiciones de temporal en el municipio de Ocampo, Michoacán.

### **5. Objetivos**

#### General

Evaluar la inoculación de rizobacterias nativas en el municipio de Ocampo, en el rendimiento y contenido de vitaminas y minerales del grano de maíz criollo.

#### Particulares

- Caracterizar el potencial de aislados bacterianos como solubilizadores de calcio, fosfatos y fijadores de nitrógeno.
- Evaluar en campo el efecto de los aislados bacterianos en el rendimiento y contenido de vitaminas y minerales del grano de maíz criollo.

## 6. Materiales y métodos

### 6.1 Localización del experimento en campo

La estrategia experimental consistió en dos etapas, la primera se llevó a cabo en el laboratorio de Nutrición Vegetal del Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán (CIDAM), ubicado en Antigua Carretera a Pátzcuaro km. 8, s/n, C. P. 58341 Morelia, Michoacán, donde se aislaron, caracterizaron y seleccionaron rizobacterias con potencial para promover el crecimiento vegetal provenientes de un cultivo de maíz criollo de Ocampo, Michoacán. En la segunda etapa, se realizó un ensayo in vivo con el fin de evaluar las características de las bacterias asociadas con la promoción del crecimiento sobre el rendimiento y calidad nutricional del cultivo de maíz criollo establecido en una parcela perteneciente a un productor de este cultivo (Figura 5).



**Figura 5.** Parcela a cargo de productor (Sr. Efraín García) originario de Ocampo, Michoacán.

### 6.2 Aislamiento, caracterización y selección de bacterias promotoras del crecimiento

#### 6.2.1 Aislamiento de rizobacterias

Las bacterias se aislaron a partir de muestras de suelo rizosférico de un cultivo de maíz criollo proveniente de la localidad de Ocampo, Michoacán. Para el muestreo, se tomó 1 kg de suelo

del área de la rizósfera, se colocaron en bolsas herméticas de plástico y se trasladaron al laboratorio para su procesamiento. Se pesaron 10 g de la muestra y se colocaron en 90 mL de solución amortiguadora de fosfatos estéril (Gerhardt, 1994) (Anexo 2) con agitación constante a 150 rpm durante 30 minutos. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas hasta la dilución  $10^{-6}$ , se tomaron 50  $\mu$ L de las diluciones  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  y se sembraron por triplicado en Agar nutritivo (Anexo 3) y Agar Soya Trypticaseína (Anexo 4) mediante la técnica de extensión superficial en placa. Se incubaron a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 48 h revisando constantemente, se seleccionaron las colonias que presentaron diferencias en su morfología y, finalmente, se sembraron por separado en placas de agar nutritivo para obtener un cultivo puro de los aislados bacterianos.

### **6.2.2 Conservación de aislados**

Las bacterias aisladas se conservaron por congelación como parte de la colección de cepas del laboratorio y para su uso posterior. Para ello, se utilizaron 1.5 mL de caldo nutritivo con glicerol al 20% como agente crioprotector, se colocaron en tubos plásticos de microcentrífuga Eppendorf® de 2.0 mL y se llevaron a esterilización. Posteriormente, se recolectó la biomasa bacteriana de placas con 24 h de crecimiento, se mezclaron suavemente y se llevaron a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ . Para la reactivación de los aislados, se siguió el protocolo empleado por Corrales-Ramírez & Sánchez-Leal (2005), en el cual los microorganismos se reactivan en medio líquido previo a realizar la siembra en el medio sólido seleccionado para el microorganismo, con el fin de recuperar su integridad celular y su actividad enzimática (Mukamolova et al., 2003).

### **6.2.3 Identificación de características asociadas a la promoción del crecimiento vegetal**

Los aislados utilizados, con claves B10, C17, M3, B16, B44 y B55 se enviaron para su identificación mediante técnicas de biología molecular al Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo para la extracción y purificación de ADN y su posterior envío a Macrogen en donde resultaron ser de los géneros *Streptomyces* sp., *Paenibacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Bacillus subtilis*, *Lysinibacillus* sp. y *Exiguobacterium profundum*, respectivamente (Anexo 5). Estas cepas se seleccionaron con base en sus características de promoción del crecimiento, tales como la fijación de nitrógeno, y la solubilización de fosfato y calcio.

Para la identificación molecular se realizó la extracción del ADN genómico total de las cepas bacterianas puras utilizando un kit de extracción (DNeasy Blood and Tissue Kit), se amplificó la región del gen 16S rRNA utilizando cebadores universales (forward 27F y reward 1492R) para amplificar el gen. La amplificación del ADN se realizó mediante un termociclador con un programa específico de desnaturalización, hibridación y elongación. El producto de PCR amplificado y purificado se sometió a secuenciación automatizada utilizando el kit BigDye Terminator. Las secuencias crudas obtenidas se depositaron en un archivo PDF y se realizó la comparación con distintas secuencias al subirlas al NCBI Sequence Read Archive (SRA).

Para la realización de los árboles filogenéticos Las secuencias parciales o completas (según haya sido el caso) del 16S rRNA obtenidas se compararon con bases de datos de nucleótidos en GenBank en NCBI utilizando el programa BLAST, permitiéndonos identificar la especie más cercana basándonos en el porcentaje de identidad (similitud). Se seleccionan las secuencias de referencia de especies estrechamente relacionadas. Se realizó el alineamiento de múltiples secuencias utilizando el programa ClustalX, con el fin de identificar regiones homólogas y calcular las distancias evolutivas entre las cepas. El árbol filogenético se construyó basándonos en las secuencias del 16S rRNA con el método de neighbor-joining con el software bioinformático especializado MEGA versión 6.0. Finalmente, la construcción del árbol filogenético nos ayudó a confirmar si las cepas identificadas pertenecen a los géneros esperados.

#### **6.2.4 Evaluación de la fijación biológica de nitrógeno**

La capacidad de las bacterias para fijar el nitrógeno atmosférico se evaluó utilizando el medio semisólido libre de nitrógeno NFb (Dobereiner et al., 1976) modificado por Cassán et al. (2010) (Anexo 6). Para ello se tomó un inóculo bacteriano de una placa de Petri con 24 h de crecimiento y se sembró por punción en tubos de microcentrífuga Eppendorf® de 1.5 mL que contenían 1 mL del medio NFb. Finalmente se llevaron a incubación a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por siete días.

La cuantificación del nitrógeno se realizó tomando como base la metodología propuesta por Lara-Mantilla (2007): se inocularon por triplicado 200  $\mu\text{L}$  de una suspensión bacteriana previamente ajustada a 0.7 de D.O. (aproximadamente  $1 \times 10^9$  UFC/mL) en tubos que contenían 3 mL de Caldo Extracto de Suelo al 10% (Anexo 7) y se llevaron a incubación con

agitación constante de 100 rpm durante 72 h. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 6000 rpm durante 15 min y se agregaron 10 mL de KCl 2M. Se llevaron a agitación durante una hora y se dejó en reposo por una hora adicional. Seguido, se tomó el sobrenadante y se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min. La cuantificación del nitrógeno se llevó a cabo de forma indirecta al determinar la concentración del ion amonio con la técnica colorimétrica de Berthelot (Weatherburn, 1967). Para ello, se adicionaron 0.4 mL de solución alcohólica de fenol al 10%, 0.4 mL de nitroprusiato de sodio al 0.5% y 1 mL de solución oxidante (20.0 g citrato de sodio, 1.0 g de hidróxido de sodio y 1.0 mL de hipoclorito de sodio 1.5 N en 100 mL de H<sub>2</sub>O) a 10 mL de muestra. Los tubos se agitaron por un minuto y se dejaron en reposo por una hora. La cuantificación se llevó a cabo midiendo la absorbancia en espectrofotómetro de luz visible a 632,9 nm. Como blancos, se utilizaron muestras de Caldo Extracto de Suelo sin inocular, a las cuales se les determinó la concentración del ion amonio siguiendo la misma metodología. Las concentraciones de nitrógeno fijado como amonio se calcularon en una curva estándar de diluciones sucesivas de una solución de cloruro de amonio (Anexo 8).

#### **6.2.5 Determinación de la actividad solubilizadora de fosfatos y calcio**

La actividad solubilizadora de fosfatos por parte de las bacterias se determinó utilizando el medio de crecimiento de fosfato del Instituto Nacional de Investigación Botánica (NBRIP, por sus siglas en inglés) (Nautiyal, 1999), el cual contiene fosfato tricálcico insoluble como fuente de fósforo (Anexo 9), mientras que para la actividad solubilizadora de calcio se empleó el medio Pikovskaya modificado por Paguay & Vasco (2013), que contiene carbonato de calcio insoluble (Anexo 10). Las bacterias se sembraron por punción sobre el medio sólido y se incubaron a 28°C durante 14 días. La solubilización efectuada por las bacterias se manifestó por la aparición de un halo claro alrededor de la colonia, el cual se describió mediante el índice de solubilización (IS) empleando la siguiente ecuación (Edi-Premono et al., 1996):

$$\text{Índice de solubilización (IS)} = \frac{\text{Área de la colonia} + \text{Área del halo}}{\text{Área de la colonia}}$$

La cuantificación del fósforo solubilizado por las bacterias en forma de ortofosfatos se llevó a cabo siguiendo la metodología de Rodríguez-Gámez et al., (2013): se inocularon 200 µL

de la suspensión bacteriana ajustada a 0.7 de D.O. en 50 mL del medio de cultivo NBRIP contenido en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se agitaron a 150 rpm durante 7 días. Después de este tiempo, la muestra se centrifugó a 5000 rpm durante 15 min para separar la biomasa; el sobrenadante se utilizó para determinar la cuantificación mediante el método azul de fosfomolibdeno (Murphy & Riley, 1962), para lo cual, se tomaron 4 mL del sobrenadante y se adicionó 1 mL de la mezcla de reactivos que se describen en el Anexo 11. Los tubos con el analito se incubaron a temperatura ambiente durante 10 min y la cuantificación se determinó midiendo la absorbancia a 882 nm del color azul desarrollado. Los cálculos se realizaron mediante una curva estándar con diluciones sucesivas de una solución de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (Anexo 12).

La cuantificación de calcio solubilizado por actividad bacteriana a partir de carbonato de calcio se determinó mediante espectroscopía de absorción atómica. Para la preparación de las muestras, la suspensión bacteriana se ajustó a 0.7 de D.O. y se inocularon 200  $\mu\text{L}$  en 50 mL de medio líquido Pikovskaya modificado y se incubaron por 7 días. Posteriormente se filtraron al vacío con membrana de 0.4  $\mu\text{m}$  y se efectuaron las diluciones correspondientes para el análisis. Las concentraciones de calcio libre se calcularon mediante una curva estándar con diluciones sucesivas de carbonato de calcio establecida por el Laboratorio de Suelos del CIDAM A.C.

#### **6.2.6 Evaluación de las rizobacterias en el desarrollo de parámetros vegetales en maíz criollo en la etapa inicial del crecimiento (V3)**

Las semillas se desinfectaron realizando cinco lavados consecutivos con agua destilada estéril, seguidos por inmersión en hipoclorito de sodio al 3% por 15 min e inmersión en una solución de etanol al 70% durante 3 min. Finalmente, se realizaron cinco lavados con agua destilada estéril y se dejaron escurrir en condiciones de esterilidad. Las semillas se inocularon colocándolas en un matraz Erlenmeyer con 100 mL de medio YES (Anexo 13) con un inóculo de 10 mL de una solución bacteriana previamente ajustada a 0.7 de D.O. ( $1 \times 10^9$  UFC/mL, aproximadamente) y se pusieron en agitación constante a 100 rpm durante 1 h, mientras que los testigos se colocaron en agitación en medio YES estéril. Posteriormente, las semillas se depositaron en charolas de germinación de 21 cavidades con peat-moss durante 15 días (etapa vegetativa V3) con riego cada tercer día; una vez pasado este tiempo se retiraron de la

charola, se lavó el excedente de sustrato y se midieron las siguientes variables fenológicas: peso fresco (g), longitud de raíz (cm), longitud del tallo (cm), longitud de la planta (cm), número de raíces y peso seco (g). El experimento se realizó en tres semilleros y se repitió dos veces.

### **6.3 Evaluación del potencial de las rizobacterias sobre el rendimiento y contenido de vitaminas y minerales del grano del maíz criollo en condiciones de temporal**

Para determinar el potencial de las rizobacterias, se estableció un ensayo en campo, en el cual se midieron variables fenológicas durante un ciclo del cultivo. Al finalizar se cosecharon las mazorcas para determinar la calidad nutricional (vitaminas y minerales) del grano.

#### **6.3.1 Establecimiento de parcela**

La parcepa experimental se estableció en la comunidad de El Zacatonal en Ocampo, Michoacán, México, con coordenadas 19.605, -100.387, propiedad del C. Efraín García.

##### **6.3.1.1 Preparación del terreno**

Antes de la siembra se realizó un barbecho con tractor, seguido de un rastreo para mullir el suelo y dejarlo en condiciones para la siembra.

En el mes de mayo de 2024 se sembró la parcela experimental, donde previamente se hicieron surcos con un tractor a una distancia de 80 cm y se colocaron dos semillas de maíz por cada mata a 50 cm. La semilla se depositó directamente en el suelo y se cubrió con el pie.

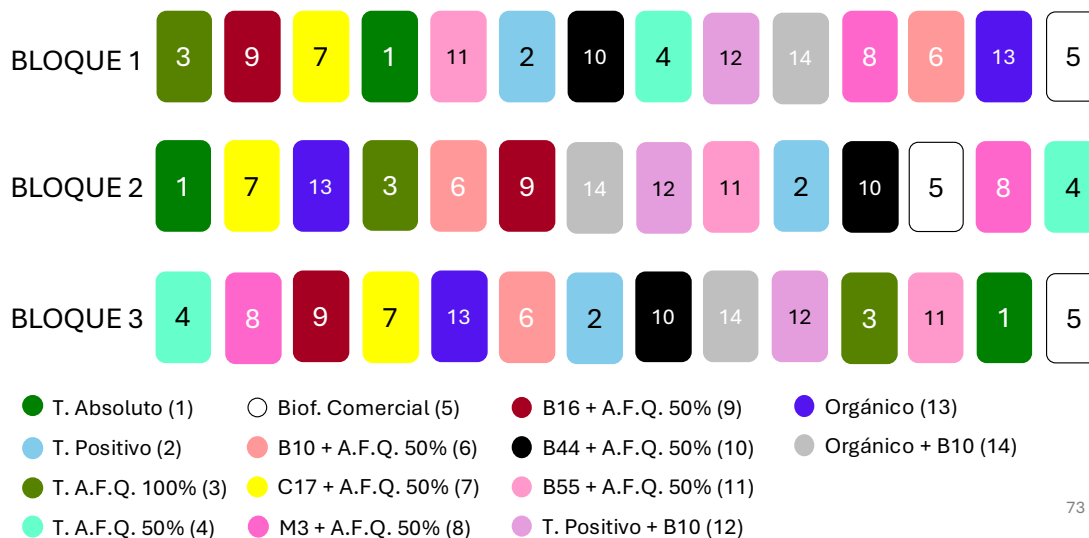
#### **6.3.2 Diseño experimental**

El arreglo experimental consistió en un diseño experimental en bloques al azar debido a que el terreno tiene una pendiente no mayor al 10%. Se estudiaron 14 tratamientos (Cuadro 4) de 3 repeticiones con 5 plantas cada una. Como parte de los tratamientos, se empleó una fertilización calculada con respecto a los análisis fisicoquímicos del suelo al 50% (A.F.Q. 50), a excepción del testigo absoluto (sin inoculación y sin fertilización), del testigo regional (fertilización de los productores) y del testigo fertilizado respecto a los análisis fisicoquímicos del suelo al 100% (A.F.Q. 100) (Anexo 14).

**Cuadro 4.** Tratamientos en parcela

| TRATAMIENTO | FUNDAMENTO                                                       | CÓDIGO      |
|-------------|------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1           | Maíz sin inoculación y sin ningún tipo de fertilización          | ABS         |
| 2           | Maíz + fertilización química de productores                      | REG         |
| 3           | Maíz + fertilización química de análisis fisicoquímicos al 100%  | A.F.Q. 100% |
| 4           | Maíz + fertilización química de análisis fisicoquímicos al 50%   | A.F.Q. 50%  |
| 5           | Maíz + bioinoculante comercial ( <i>Azotobacter</i> sp.)         | AZOTO       |
| 6           | Maíz + cepa B10 + fertilización química de A.F.Q. 50%            | B10 + AFQ   |
| 7           | Maíz + cepa C17 + fertilización química de A.F.Q. 50%            | C17 + AFQ   |
| 8           | Maíz + cepa M3 + fertilización química de A.F.Q. 50%             | M3 + AFQ    |
| 9           | Maíz + cepa B16 + fertilización química de A.F.Q. 50%            | B16 + AFQ   |
| 10          | Maíz + cepa B44 + fertilización química de A.F.Q. 50%            | B44 + AFQ   |
| 11          | Maíz + cepa B55 + fertilización química de A.F.Q. 50%            | B55 + AFQ   |
| 12          | Maíz + REG + cepa B10                                            | REG + B10   |
| 13          | Maíz + fertilización orgánica (excremento de caballo)            | ORG         |
| 14          | Maíz + fertilización orgánica (excremento de caballo) + cepa B10 | ORG + B10   |

## Diseño de Bloques al Azar



73

**Figura 6. Diseño de bloques al azar.** Ejemplificación gráfica de la manera en la que fueron distribuidos los tratamientos en la parcela en Ocampo, Michoacán.

### 6.3.3 Manejo de cultivo en campo

Se desinfectaron las semillas de maíz criollo adquiridas del ciclo anterior en el mismo lugar de la siembra. Posteriormente se sembraron en surcos previamente establecidos en la parcela a lo largo de la misma, asegurándose de que las semillas estuvieran completamente cubiertas por el suelo para su germinación.

Cada planta se inoculó en tres ocasiones a lo largo del ciclo del cultivo con 10 mL de la suspensión bacteriana correspondiente a cada tratamiento ajustada a  $1 \times 10^9$  UFC/mL, aproximadamente, distribuyendo el inóculo alrededor de la base del tallo hacia la zona radicular. Las plantas correspondientes al testigo absoluto no se inocularon, así como tampoco se les aplicó fertilizante ni el medio de cultivo en el que se inocularon las bacterias. La primera inoculación se llevó a cabo 45 días después de la siembra (dds), que corresponden a la fase de crecimiento inicial y crecimiento vegetativo (aproximadamente 6 hojas). La segunda se realizó a los 120 dds, cuando aparecieron los estigmas y la panoja; la tercera inoculación se realizó a los 200 dds, en etapa de R0 (maduración del grano de maíz).

### **6.3.4 Medición de variables fenológicas en planta**

Posterior a la 2ª. Y 3ª. Inoculación se midió la altura de la planta, el número de hojas y la circunferencia del tallo. La altura se midió con un flexómetro desde la base del tallo hasta la panoja del elote, mientras que el diámetro del tallo se midió en la base del tallo, utilizando el mismo flexómetro.

Todo esto fue realizado en campo, sin embargo, una vez cosechadas las plantas (aproximadamente 6 meses y medio después de la siembra) se depositaron en bolsas de polietileno y se trasladaron al laboratorio de Nutrición Vegetal en el CIDAM. Las bolsas fueron organizadas por tratamiento y se llevó a cabo la medición de las siguientes variables: peso fresco de la planta (g), peso de la mazorca (g), peso del grano (g), peso del olote (g), número de granos, peso de la raíz (g) y el peso de 100 granos (g). Asimismo, se realizaron análisis del grano para evaluar el contenido de vitaminas y minerales a través de los distintos tratamientos.

## **6.4 Análisis de vitaminas y minerales en muestras de maíz criollo**

### **6.4.1 Análisis de vitaminas**

La cuantificación del contenido de vitaminas hidrosolubles (Tiamina – B1, Riboflavina – B2, Niacina – B3, Piridoxina – B6, Ácido Fólico – B9 y Ácido Ascórbico – Vitamina C) en las muestras de maíz se realizó mediante Cromatografía de líquidos (HPLC-DAD-FLD).

Debido a la diferente naturaleza y estabilidad de estas vitaminas, se llevaron a cabo dos protocolos de extracción y detección ya estandarizados:

#### **6.4.1.1 Extracción y cuantificación de vitaminas del complejo B (B1, B2, B3, B6 y B9)**

Para cuantificar las vitaminas hidrosolubles B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina), B6 (piridoxina) y B9 (ácido fólico) en alimentos se utilizaron el detector FLD (Detector de fluorescencia) para B2 y B6, y el detector DAD (Diode Array Detector o Detector de Matriz de Diodos) para B1, B3, B5 y B9.

Se empleó una extracción enzimática secuencial para liberar las diferentes formas de vitaminas de la matriz del alimento. La separación se realizó mediante HPLC en fase reversa con un gradiente de elución. La detección se llevó a cabo con detectores en serie: FLD para

vitaminas fluorescentes y DAD para las que presentan absorbancia UV. Los equipos usados en esta extracción fueron: 1. HPLC-DAD: Sistema con bomba de gradiente, inyector automático, horno de columnas y detector de arreglo de diodos de la marca Agilent y 2. Columna Cromatográfica: Columna de fase reversa C18 (ej., 250 mm x 4.6 mm, 5  $\mu$ m). Se recomienda una columna de guarda del mismo material de la marca Agilent.

La metodología para las vitaminas B1 y B6 se realizó tomando una muestra representativa de las muestras de maíz, se molieron hasta obtener una harina o textura homogénea y fina para asegurar una superficie de extracción uniforme, se pesó aproximadamente 1.0 g ( $\pm$  0.001 g) de muestra en un tubo de centrifuga de fondo cónico y para realizar la hidrólisis ácida (libera la niacina y mejora la extracción general) se añadieron 20 mL de HCl 0.1 N, se llevó a homogeneizar en vórtex y se calentó en baño María a 100°C durante 15-20 minutos (tiempo reducido para minimizar la degradación de B1 y B6), se dejó enfriar a temperatura ambiente. Para la hidrólisis enzimática (libera formas fosforiladas de B1 y B6) se ajustó el pH de la mezcla a 4.5-5.0 (óptimo para Takadiastasa) usando NaOH 2.5 M y una solución de Acetato de Sodio 2.5 M, se añadieron ~50 mg de enzima Takadiastasa y se incubaron en baño María a 45-50°C durante 2-3 horas, para desnaturalizar las enzimas se calentó a 100°C durante 5 minutos y se dejó enfriar. Posteriormente, se ajustó el volumen a 50 mL con agua ultrapura y se centrifugó a 8,000 rpm durante 10 minutos. Se filtró el sobrenadante a través de un filtro de jeringa de 0.45  $\mu$ m (de Nylon) directamente a un vial para HPLC y se inyectó un volumen de 10  $\mu$ L de la solución en el sistema HPLC.

Para la extracción del ácido fólico (B9) se pesaron y transfirieron 2.0 g de muestra a un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 mL, posteriormente se añadieron 40 mL de una solución de acetato de amonio 75 mmol L<sup>-1</sup> (pH = 7) y se sonicó la mezcla durante 10 minutos para después ser agitada en una plataforma orbital durante 60 minutos. Se centrifugaron las muestras durante 15 minutos a 8,000 rpm y se filtró aprox. 1 mL del sobrenadante a través de un filtro de jeringa de 0.45  $\mu$ m directamente a un vial para HPLC y se inyectó un volumen de 10  $\mu$ L de la solución en el sistema HPLC.

Las condiciones cromatográficas de la fase móvil fueron: A: Agua con 0.1% ácido fosfórico (para control de pH y supresión de silanoles) y B: Acetonitrilo o metanol (Sasaki et al., 2020).

#### **6.4.1.2 Extracción y cuantificación del Ácido ascórbico (Vitamina C)**

Para cuantificar específicamente el ácido ascórbico (forma reducida de la vitamina C) en alimentos se utilizó Cromatografía Líquida de Alta Resolución con Detector de Arreglo de Diodos (HPLC-DAD). El ácido ascórbico se extrajo de la matriz del alimento utilizando una solución acidificada con metabisulfito, que estabilizó la vitamina previniendo su oxidación a ácido dehidroascórbico. El extracto se clarificó y se inyectó en el sistema HPLC en fase reversa. La separación se logró con una fase móvil tamponada a pH bajo, y la detección se realizó en el rango UV, donde el ácido ascórbico presenta una absorbancia característica.

Los equipos utilizados fueron un HPLC-DAD sistema con bomba, inyector automático y detector de arreglo de diodos de la marca Agilent y una columna cromatográfica: columna de fase reversa C18 (250 mm x 4.6 mm, 3.5  $\mu$ m) de la misma marca.

Para la preparación de la muestra se inició pesando 1 g de la muestra, previamente homogeneizada, y se agregaron 20 mL de ácido metafosfórico al 3% frío (4°C). Se agitó inmediatamente en vortex durante 2 minutos para suspender completamente la muestra. Posteriormente, se llevó a sonicar en baño de ultrasonido durante 15 min a 4°C. Enseguida la mezcla se centrifugó a 8,000 rpm durante 10 min a 4 °C, se recuperó el sobrenadante y se transfirió a un matraz aforado de 25 mL, se aforó con ácido metafosfórico al 3% frío. Se filtró una alícuota del extracto a través de un filtro de jeringa de Nylon de 0.45  $\mu$ m directamente a un vial ámbar para HPLC. Por último, se analizaron las muestras INMEDIATAMENTE después de la preparación (Mazurek y Jamroz, 2015). Cabe destacar que las condiciones cromatográficas fueron:

Fase móvil: 10 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 2.6

Flujo: 0.6 mL/min

Inyección: 10  $\mu$ L

Columna: Ascentis C18 250  $\times$  4.6 mm, a 30 °C

Detector: DAD a 245 nm

Tiempo de corrida: 15 min.

#### **6.4.2 Análisis de minerales**

La digestión ácida es un paso crucial en la detección de minerales según las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) en México. Este proceso implicó la disolución de una muestra en ácidos fuertes para liberar los minerales que se midieron posteriormente. Las NOM que establecen métodos de prueba para la determinación de metales, como la NOM-117-SSA1-1994, la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 y la NMX-AA-051-SCFI-2001, hacen referencia a la digestión ácida como parte del procedimiento. El análisis de minerales se realizó por el Laboratorio de Suelos del CIDAM A.C. Lo primero que se realizó fue la preparación de la

muestra, los granos fueron triturados y pulverizados para aumentar la superficie de contacto con el ácido nítrico (que es el que se usó en este caso); posteriormente la muestra se sometió al ácido a una temperatura de 200°C aproximadamente para que éste reaccione con los minerales y los disuelva. Luego de esto, la solución resultante se filtró y se analizaron los minerales en un espectrómetro de absorción atómica para determinar la concentración de los minerales de interés.

### **6.5 Análisis estadístico**

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza de una sola vía, además, una prueba post hoc de Tukey de comparación de medias para determinar diferencia significativa entre tratamientos, con un nivel de significancia  $\alpha = 0,05$ . Los cálculos se realizarán con el paquete estadístico de SAS, 2012 (Statistical Analysis System).

## **7. Resultados y discusión**

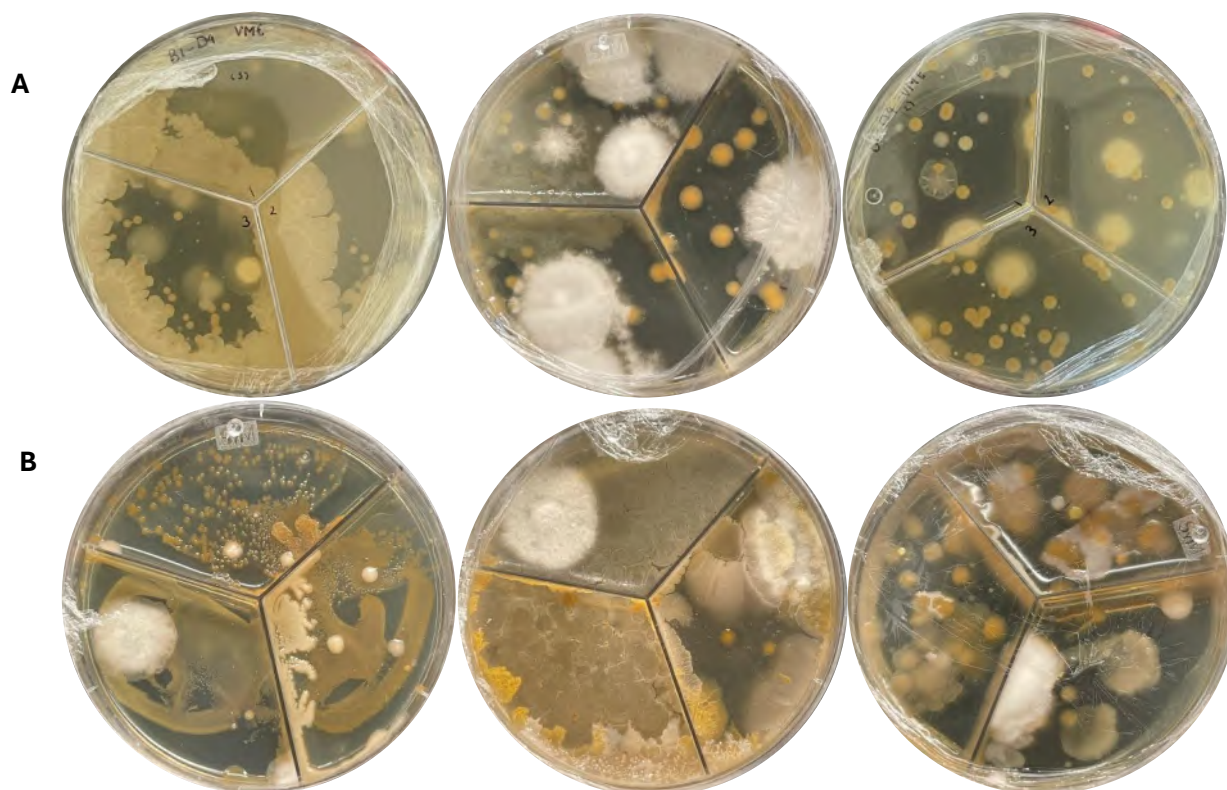
### **7.1 Resultados del aislamiento**

Con el fin de conocer la población microbiana presente en el suelo rizosférico del maíz criollo de la localidad de El Zacatonal, Ocampo, Michoacán, se recolectaron muestras de suelo del mismo cultivo. Como se mencionó en el apartado de materiales y métodos, se realizaron diluciones seriadas en una solución amortiguadora de fosfatos estéril hasta llegar a una dilución de  $10^{-6}$  (Figura 7).



**Figura 7.** Diluciones seriadas de suelo rizosférico de plantas de maíz de El Zacatonal de concentraciones  $10^{-2}$  a  $10^{-5}$ .

Posteriormente, 50  $\mu\text{L}$  de las diluciones  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  se sembraron por triplicado en cajas Petri con Agar ST. Las cajas se llevaron a incubación durante 48 h para la obtención de microorganismos y formación de colonias (Figura 8).



**Figura 8.** (A) Crecimiento de aislados por triplicado de la dilución  $10^{-5}$ . (B) Crecimiento de aislados por triplicado de la dilución  $10^{-6}$ . En las imágenes se puede observar que hay un crecimiento abundante de colonias bacterianas en la rizósfera del maíz criollo.

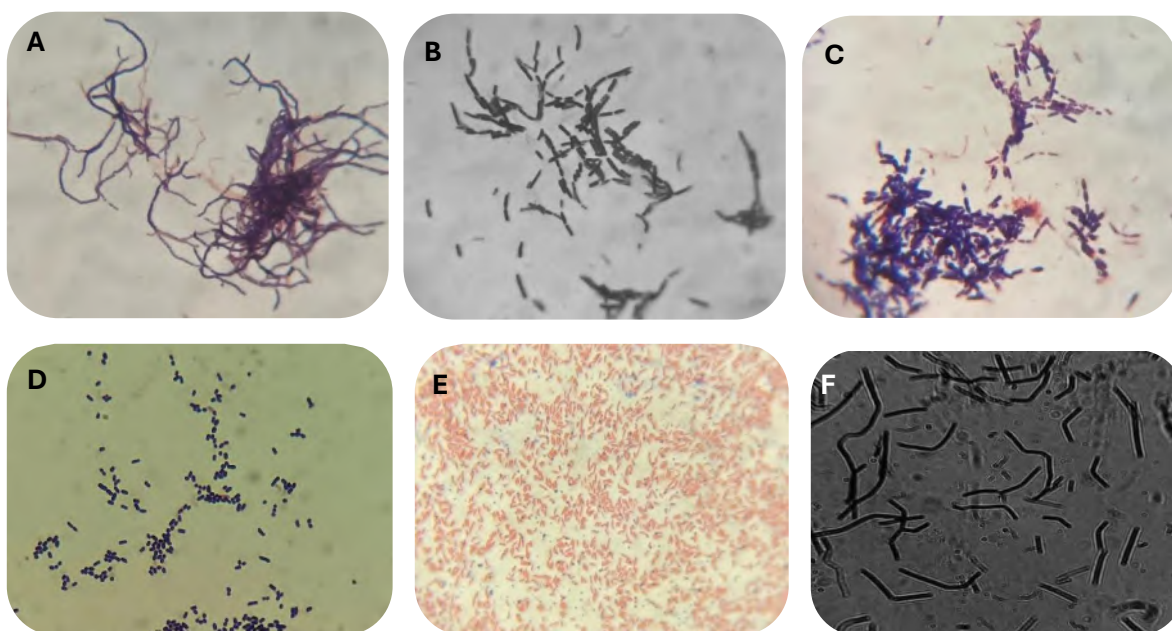
Posteriormente, se purificaron algunos de los aislados seleccionados con morfologías macroscópicamente diferentes en cajas de Petri nuevas con Agar ST para, de este cultivo, realizar las pruebas competentes a los mecanismos de promoción del crecimiento vegetal.

## 7.2 Caracterización de los aislados

### 7.2.1 Tinción de Gram

Con el fin de visualizar de forma microscópica los aislados bacterianos obtenidos a partir de muestras de suelo rizosférico de maíz criollo, para su selección y confirmar que se encontraban puros, es decir, una sola colonia bacteriana por caja Petri, se realizó una tinción

Gram de todos y cada uno de los 80 aislados obtenidos, los cuales tenían características macroscópicas distintas (color, forma, bordes, entre otras) (Figura 9).



**Figura 9.** Vista microscópica de aislados obtenidos en el laboratorio con una tinción de Gram. (A) Aislado B10, (B) Aislado B16, (C) Aislado B44, (D) Aislado B55, (E) Aislado C17, (F) Aislado M3.

En la Figura 9, se muestran las características morfológicas microscópicas de los aislados obtenidos, con un total de seis que mostraron al menos un parámetro morfológico diferente. Todos los aislados tuvieron un crecimiento moderado, en gran parte debido al medio de cultivo utilizado (Agar ST) muy enriquecido en nutrientes.

### **7.2.2 Evaluación de los mecanismos de promoción del crecimiento vegetal**

Posteriormente, se le realizaron pruebas bioquímicas a los 80 aislados obtenidos, de los cuales únicamente 18 aislados presentaron una respuesta positiva en al menos una de las pruebas realizadas. En el Cuadro 5 se muestra la anotación funcional de los mecanismos que realiza cada uno de los aislados probado en este apartado.

**Cuadro 5.** Anotación funcional de los mecanismos de acción y morfología de los aislados nativos de maíz criollo.

| <b>Aislado</b> | <b>FBN</b> | <b>SFos</b> | <b>SCa</b> | <b>Morfología</b> | <b>Gram</b> |
|----------------|------------|-------------|------------|-------------------|-------------|
| B10            | +          | -           | -          | Actinos           | +           |
| B12            | -          | +           | +          | Bacilos           | -           |
| B13            | -          | +           | +          | Bacilos           | +           |
| B14            | +          | -           | -          | Bacilos           | +           |
| B16            | +          | +           | +          | Bacilos           | +           |
| B22            | -          | +           | +          | Cocos             | -           |
| B24            | -          | -           | +          | Cocos             | +           |
| B43            | +          | +           | -          | Bacilos           | -           |
| B44            | +          | +           | +          | Bacilos           | +           |
| B45            | +          | +           | -          | Cocos             | +           |
| B52            | +          | -           | -          | Cocos             | -           |
| B53            | -          | -           | +          | Bacilos           | -           |
| B54            | +          | -           | -          | Bacilos           | +           |
| B55            | +          | -           | -          | Bacilos           | +           |
| B56            | +          | +           | -          | Cocos             | +           |
| B60            | +          | +           | -          | Bacilos           | -           |
| B64            | +          | +           | -          | Cocos             | -           |
| C17            | -          | +           | +          | Bacilos           | +           |
| M3             | +          | -           | -          | Actinos           | +           |

FBN: Fijación biológica de nitrógeno, SFos: Solubilización de fosfatos, SCa: Solubilización de calcio y Gram: Tinción de gram

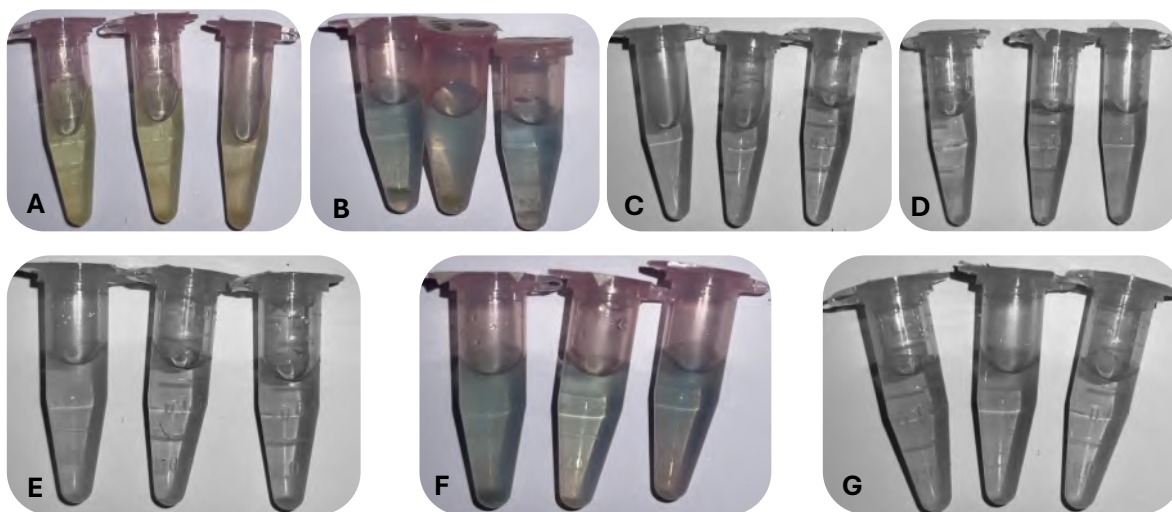
### 7.2.3 Fijación Biológica de Nitrógeno

Para determinar la capacidad de las bacterias de fijar nitrógeno atmosférico, y debido a la importancia en el desarrollo de los cultivos, los microorganismos con potencial efecto promotor se inocularon en tubos con medio de cultivo NfB (Anexo 4) libre de nitrógeno. Las siembras se realizaron por triplicado y una respuesta positiva a la fijación biológica de nitrógeno fue el cambio de color del medio de verde a azul.

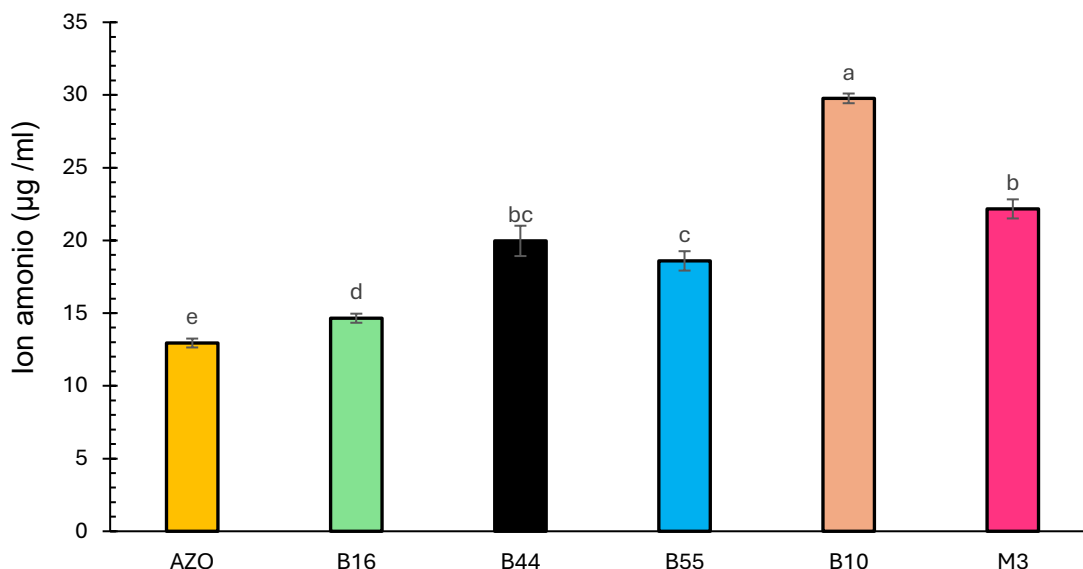
De los 18 aislados a los que se les realizó la prueba, 13 dieron positivo para fijación biológica de nitrógeno atmosférico (Cuadro 5). Los aislados fueron capaces de crecer en el medio semisólido libre de nitrógeno (Figura 10A), el cual se colocó en tubos de microcentrífuga a un 75% de su capacidad para generar el ambiente reducido de oxígeno. En un principio, la consistencia semisólida del medio permite a las bacterias el comienzo de su multiplicación y, cuando se limita la concentración de oxígeno disuelto en el medio, se establecen en la superficie donde encuentran el oxígeno en concentración necesaria para llevar a cabo la respiración sin comprometer la estabilidad de la enzima nitrogenasa sensible a oxígeno (Baldani *et al.*, 2014). Se observó el establecimiento de las colonias bacterianas en la superficie del medio, además del cambio de coloración de este (Figura 10). Este viraje de color se debe a la presencia del indicador de pH azul de bromotimol, el cual es amarillo en condiciones ácidas y cambia a azul por el incremento de pH generado por los productos del proceso de fijación, por tanto, este cambio es considerado positivo a la fijación de nitrógeno (Kuan *et al.*, 2016).

La cuantificación del nitrógeno fijado en forma del ion amonio se llevó a cabo mediante la reacción de Berthelot, en la cual el amonio de la muestra reacciona con el hipoclorito en condiciones alcalinas debido a la adición de hidróxido de sodio para formar monoclaramina, quien, a su vez, reacciona con el fenol dando lugar al indofenol, en una reacción catalizada por nitroprusiato de sodio (Kimble *et al.*, 2006). El indofenol confiere una coloración azul, la cual es medida espectrofotométricamente y cuya absorbancia es proporcional a la concentración de amonio. En la Figura 11 se presentan los valores promedio de tres repeticiones obtenidos de la reacción de Berthelot de las bacterias evaluadas, calculadas a partir de una curva de calibración de cloruro de amonio. Se utilizó *Azospirillum baldanorium* Az39 como control positivo a la reacción, puesto que se ha descrito como uno de los

principales géneros fijadores de nitrógeno (Zaidi et al., 2017). A partir de *A. baldanorium* Az39 se cuantificaron 12.94  $\mu\text{g/mL}$  de amonio, valor que, de los 13 aislados probados, cinco lo superaron ya que el aislado B10 fijó un total de 29.76  $\mu\text{g/mL}$  de amonio, siendo éste el que mayor concentración tuvo, seguido de M3 que fijó 22.16  $\mu\text{g/mL}$ , B44 fijó 19.96  $\mu\text{g/mL}$ , B55 fijó 18.59  $\mu\text{g/mL}$  y B16 fijó 14.65  $\mu\text{g/mL}$ , lo que demostró la presencia del complejo enzimático nitrogenasa en estos microorganismos. Además del género *Azospirillum* spp. como fijador de nitrógeno, se han reportado otros géneros de bacterias rizosféricas con el mecanismo para llevar a cabo el proceso de fijación. Se ha destacado la importancia de especies de *Azotobacter* spp. (Aasfar et al., 2021), principalmente *A. chroococum*, *A. beijerinckii*, *A. vinelandii* y *A. lipoferum* (Sharma, 2021). Así como *Burkholderia* spp. (Bahulikar et al., 2014), *Acetobacter* spp. y *Gluconacetobacter* spp. (Gupta et al., 2015).



**Figura 10.** Fijación biológica de nitrógeno in vitro por aislados nativos. Prueba cualitativa en medio NfB semisólido libre de nitrógeno. (A) Medio sin inocular, (B) Control positivo: *Azospirillum baldanorium*, (C) Aislado B10, (D) Aislado B16, (E) Aislado B44, (F) Aislado B55 y (G) Aislado M3.



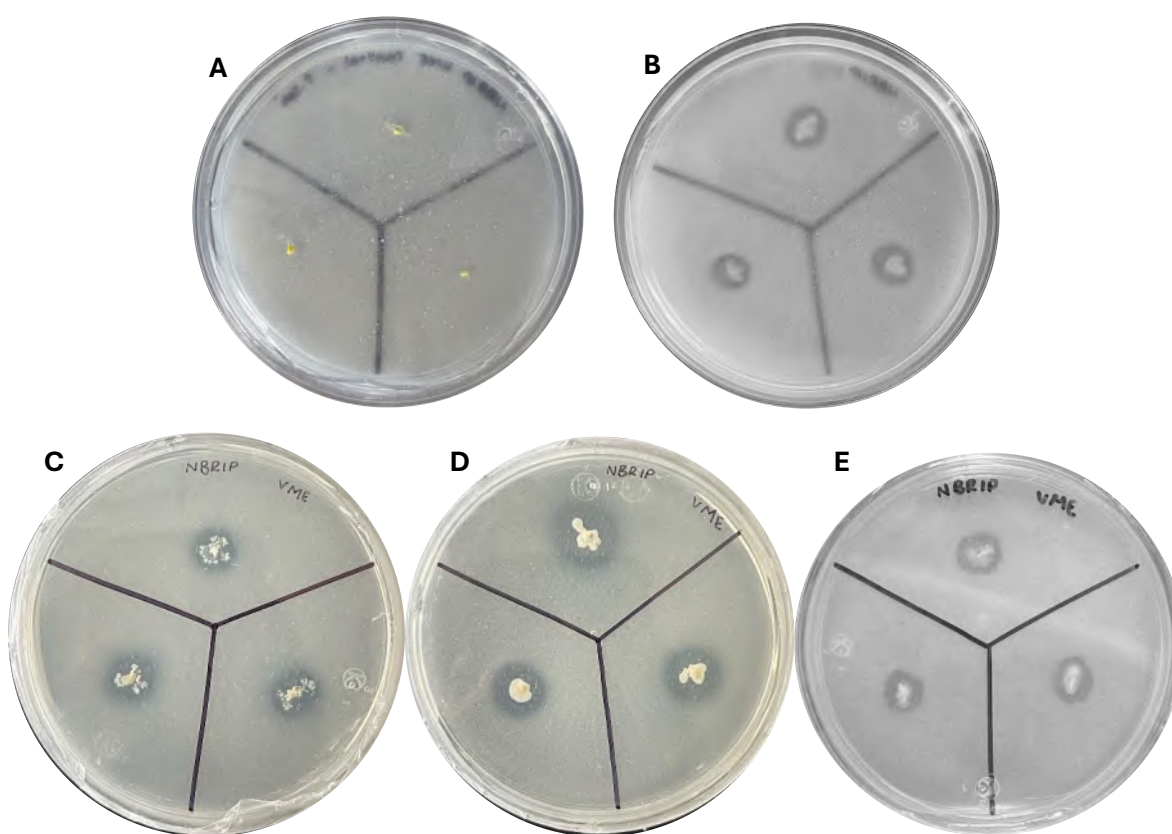
**Figura 11.** Fijación biológica de nitrógeno por aislados nativos. Cuantificación del ion amonio por la reacción de Berthelot. Cada tratamiento se realizó por triplicado. Las barras representan la media  $\pm$  del error estándar. Las letras corresponden a las medias con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Test de Tukey.

Estos datos concuerdan con nuestros resultados de fijación biológica de nitrógeno, al determinar la efectividad en el proceso de fijación biológica de nitrógeno por bacterias aisladas de maíz criollo, por lo tanto, su uso puede representar una fuente segura y sostenible de este elemento, contribuyendo a la disminución de la dependencia de nitrógeno inorgánico, así como la disminución de energía necesaria para su producción (Mahmud et al., 2020), ya que se estima un aporte de hasta el 65% de este elemento a los sistemas de cultivo a través de la fijación biológica de nitrógeno (Kuan et al., 2016).

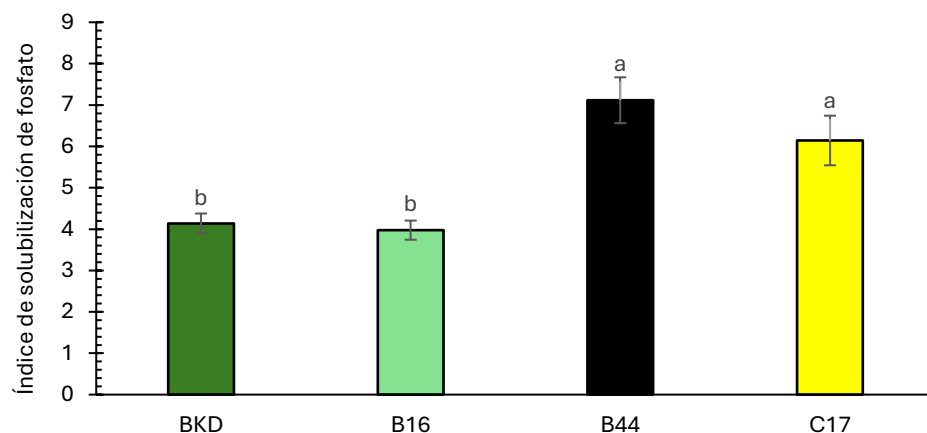
#### 7.2.4 Solubilización de fosfatos y calcio

Por otro lado, los aislados mostraron capacidad para solubilizar fosfato y calcio de una fuente insoluble, de los 18 aislados que presentaron mecanismos de promoción del crecimiento vegetal, once dieron positivo a la prueba de solubilización de fosfatos y únicamente ocho para la prueba de solubilización de calcio (Cuadro 5). Cualitativamente, la actividad solubilizadora de fosfato de las bacterias evaluadas se observó por la aparición de una zona clara alrededor de la colonia (Fig. 12). En este caso, presentaron un índice de solubilización de fosfato entre 3.97 y 7.11 (Fig. 13). En 2017, Pande et al., reportaron ocho cepas con un índice de solubilización que osciló de 1.77 a 4.88, identificadas como *Burkholderia cepacea*,

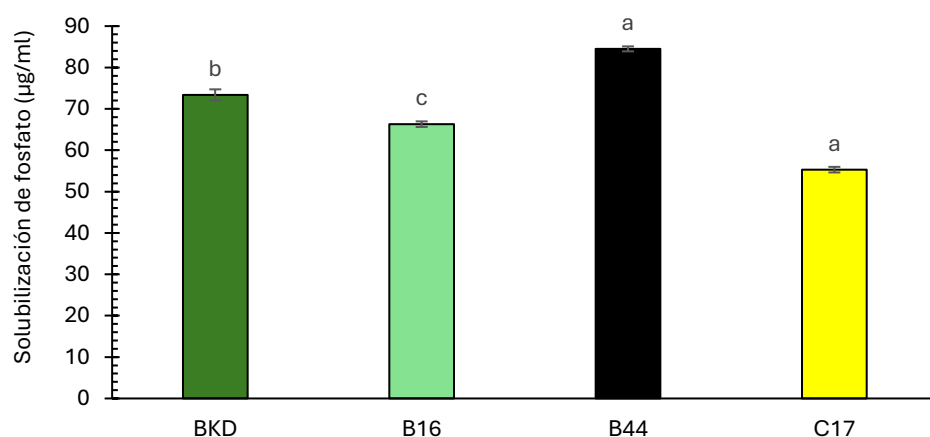
una de las principales bacterias caracterizadas como solubilizadoras de fosfato y en un estudio en macetas y en campo, indujeron un aumento significativo en el crecimiento del maíz dulce, así como la productividad del grano, con lo cual, al obtener índices de solubilización similares e incluso mayores, respalda nuestro propósito para ser probadas en planta. Se cuantificó una concentración de fosfato solubilizado en forma de ortofosfatos en un rango de 55.3 a 84.5  $\mu\text{g/mL}$  (Fig. 14). El aislado C17 fue el que presentó el menor valor de solubilización con 55.3  $\mu\text{g/mL}$ , mientras que los aislados B16 y B44 presentaron valores de 66.3 y 84.5  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente.



**Figura 12.** Solubilización de fosfatos *in vitro* por los aislados nativos de maíz criollo. (A) Control negativo: *E. Coli*, (B) Control positivo: *Burkholderia* sp., (C) Aislado B16, (D) Aislado B44 y (E) Aislado C17.

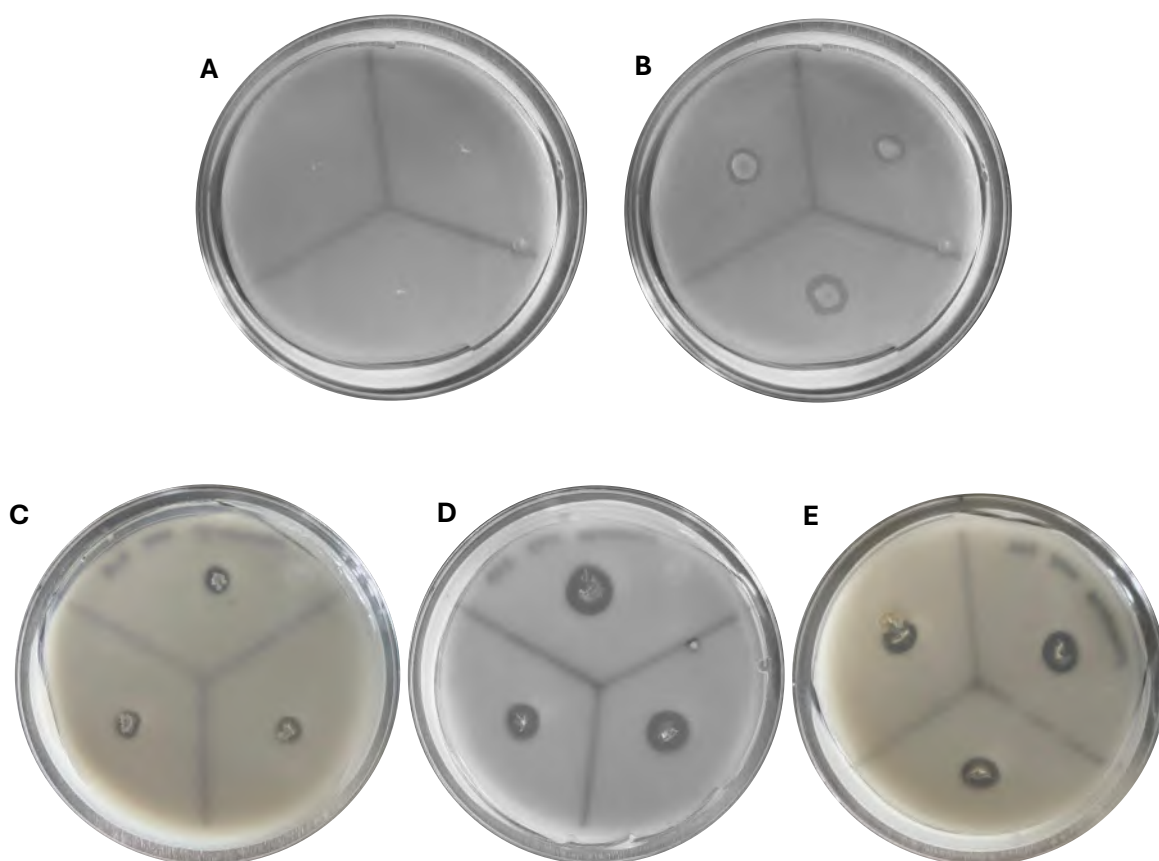


**Figura 13.** Índices de solubilización de fosfato por los aislados nativos de maíz criollo. Cada prueba se realizó por triplicado. Las barras representan la media  $\pm$  del error estándar. Las letras corresponden a las medias con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Test de Tukey.

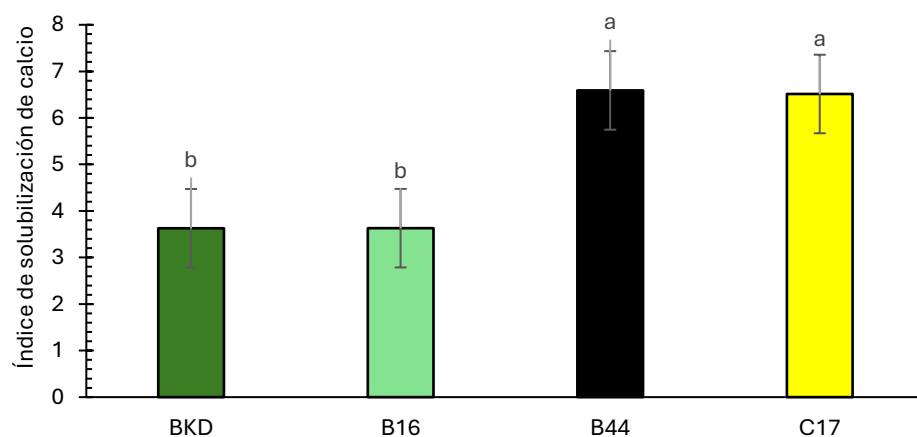


**Figura 14.** Cuantificación de fosfato como ortofosfatos por el método de azul de fosfomolibdeno. Cada prueba se realizó por triplicado. Las barras representan la media  $\pm$  del error estándar. Las letras corresponden a las medias con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Test de Tukey.

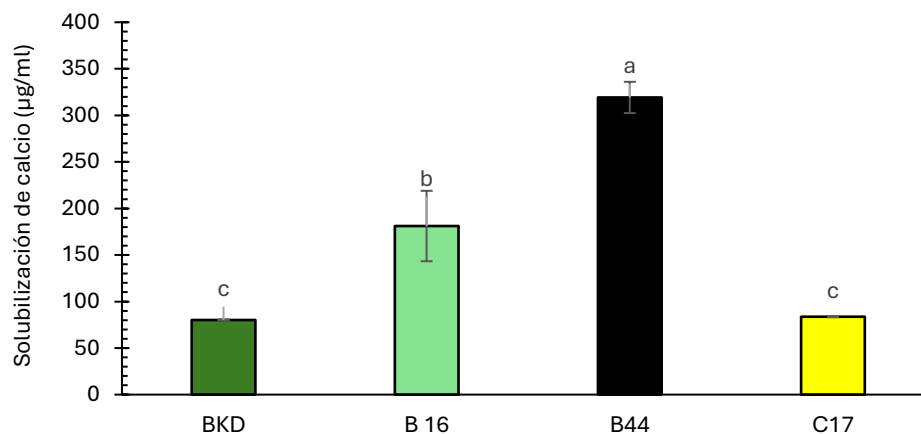
Respecto a la solubilización de calcio y, como se mencionó anteriormente, ocho de los 18 aislados presentaron halos de solubilización (Fig. 15) y se determinaron índices entre 3.53 y 6.59, el índice mayor correspondiente al aislado B44 (Fig. 16). El análisis cuantitativo fue consistente a estos resultados, dado que el mismo aislado presentó el mayor valor, con 319.22  $\mu\text{g/mL}$  de calcio solubilizado (Fig. 17). Para el caso de calcio no se encuentran reportes en la literatura de la solubilización empleando la fuente de carbonato de calcio, puesto que los ensayos realizados emplean como compuesto insoluble los fosfatos de calcio y no los carbonatos.



**Figura 15.** Solubilización de calcio *in vitro* por los aislados nativos de maíz criollo. (A) Control negativo: *E. Coli*, (B) Control positivo: *Burkholderia* sp., (C) Aislado B16, (D) Aislado B44 y (E) Aislado C17.



**Figura 16.** Índices de solubilización de calcio por los aislados nativos de maíz criollo. Cada prueba se realizó por triplicado. Las barras representan la media  $\pm$  del error estándar. Las letras corresponden a las medias con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Test de Tukey.



**Figura 17.** Cuantificación de calcio solubilizado calculado por espectrometría de masa atómica. Cada prueba se realizó por triplicado. Las barras representan la media  $\pm$  del error estándar. Las letras corresponden a las medias con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Test de Tukey.

El fósforo es uno de los elementos más importantes para lograr altos rendimientos en los cultivos. Sin embargo, el fósforo inorgánico en suelo representa una fracción mínima debido a la formación de compuestos insolubles (Alori et al., 2017). Por otro lado, la deficiencia de calcio es rara en la naturaleza, sin embargo, se pueden producir limitaciones de este elemento debido a la capacidad de reacción con los iones fosfato del suelo, formando precipitados generalmente insolubles (White & Broadley, 2003), representando uno de los principales problemas en los suelos alcalinos. La solubilización de fosfato a través de la producción de ácidos orgánicos es uno de los mecanismos más importantes de las bacterias promotoras del crecimiento (Khan et al., 2014). Además, se ha catalogado a las PGPR como los principales productores de ácidos orgánicos responsables de la solubilización de fosfato tricálcico y fosfatos de roca (Vyas et al., 2009), por lo tanto, su aplicación mejora la disponibilidad de fosfato y calcio para la planta, como una práctica agrícola sostenible.

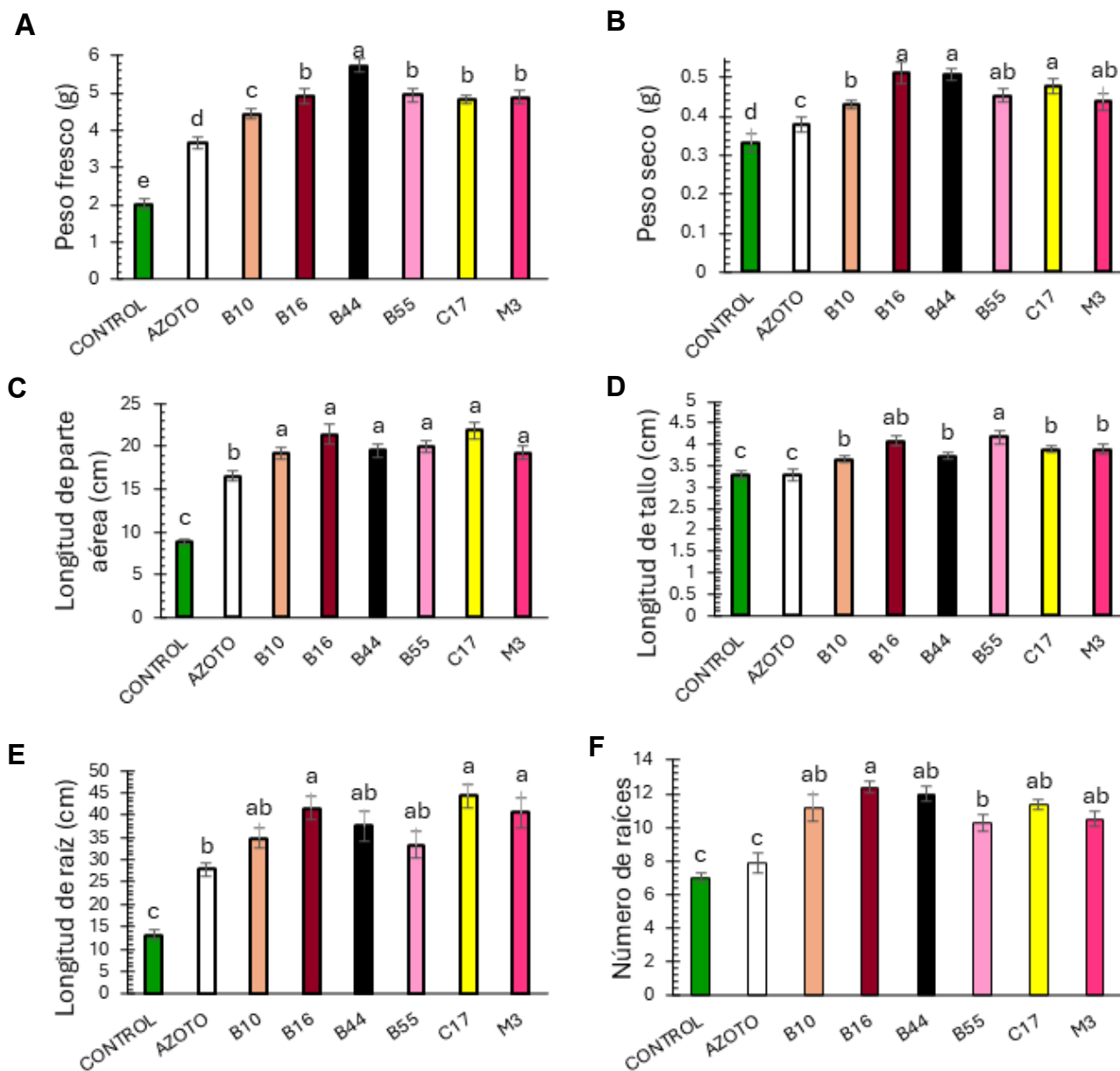
### **7.3 Efecto de la inoculación de PGPR nativas en semillas de maíz criollo en etapa vegetativa V3 (invernadero)**

Desde hace algunos años, se han adaptado métodos de crecimiento *in vitro* para estudiar la interacción ente plantas y microorganismos, caracterizados por realizarse a microescala en condiciones estériles y en condiciones ambientales optimizadas con respecto a factores tanto

físicos como nutricionales, con el fin de conocer a detalle los mecanismos de funcionamiento y respuestas adaptativas (Pierik, 1990). Sin embargo, para una aplicación exitosa, también se deben considerar diversos aspectos del ambiente cuando la planta está en condiciones naturales (Wu et al., 2009). Por esta razón, se llevó a cabo un análisis preliminar del efecto de las bacterias sobre el sistema radicular y aéreo de plántulas en las condiciones comúnmente utilizadas en el proceso de germinación, el cual incluye la siembra de la semilla desinfectada en sustrato no estéril en una bandeja de germinación, su exposición a luz solar natural y riego intermitente. Previo a esto se realizaron pruebas de germinación con semillas en cajas Petri con algodón y, al no observar efectos inhibitorios por la inoculación de las bacterias sobre la germinación de semilla de maíz, se realizó su inmersión en suspensión bacteriana previa a la siembra en Peat moss. Pasados 15 días correspondientes a la etapa vegetativa V3 de desarrollo inicial del ciclo de maíz, se retiraron las plantas del sustrato, se lavaron las raíces y se cuantificaron los parámetros vegetativos: peso fresco (g), longitud de raíz principal (cm), longitud de planta (cm), longitud de tallo (cm), número de raíces y peso seco (g). A continuación, en la Figura 18, se observa una fotografía de los resultados en planta, donde se puede apreciar visiblemente que los tratamientos con inoculación bacteriana tuvieron una mejora en longitud de raíces, número de raíces laterales y tamaño del tallo. Previo a esto, se muestra el Cuadro 6 con los tratamientos utilizados en este experimento para un mejor entendimiento de las figuras posteriormente mostradas.

**Cuadro 6.** Tratamientos en invernadero.

| Tratamiento | Descripción                                            | Etiqueta |
|-------------|--------------------------------------------------------|----------|
| T1          | Control sin inoculación                                | Control  |
| T2          | Biofertilizante comercial<br>( <i>Azotobacter</i> sp.) | Azoto    |
| T3          | Aislado B10                                            | B10      |
| T4          | Aislado B16                                            | B16      |
| T5          | Aislado B44                                            | B44      |
| T6          | Aislado B55                                            | B55      |
| T7          | Aislado C17                                            | C17      |



y nutrientes.

**Figura 19.** Evaluación de los parámetros vegetativos en plantas de maíz criollo con los tratamientos control y con inóculos bacterianos. (A) Peso fresco, (B) peso seco, (C) longitud de planta, (D) longitud de tallo, (E) longitud de raíz y (F) número de raíces.  $n=22$ .  $r=3$ . Las barras representan la media  $\pm$  del error estándar. Las letras corresponden a las medias con diferencias significativas ( $p<0.05$ ). Test de Tukey.

Los resultados, en todas las gráficas, demuestran diferencias significativas ( $p<0.05$ , ANOVA + Tukey) entre tratamientos, evidenciando que ciertas intervenciones (en este caso, inoculación bacteriana) promueven un mayor crecimiento vegetal. En la Figura 19A, se observan los resultados del parámetro vegetativo “peso fresco”, en donde el tratamiento

CONTROL (no inoculación) tuvo el menor valor con un promedio de 2.022 g, en comparación con B44 que tuvo el mejor resultado con un valor de 5.735 g, teniendo diferencia significativa entre ambos valores, se puede observar también que AZOTO mejora el peso fresco de la planta al menos el doble que el control, sin embargo, el uso de aislados nativos tuvo mejor respuesta con las plántulas jóvenes en general que un biofertilizante comercial; además, en la Figura 19B, en donde se muestran los resultados del parámetro vegetativo “peso seco”, si bien nuevamente existe una diferencia significativa entre el tratamiento Control (0.34 g) y algunos de los aislados destacados como B16, B44 y C17, con valores de 0.512, 0.508 y 0.477 g, respectivamente; estas dos figuras están relacionadas, ya que, si un tratamiento aumenta el peso fresco pero no el seco, esto podría indicar una mayor acumulación de agua en lugar de un aumento en la biomasa estructural. En cambio, correlaciones positivas en ambos parámetros sugieren un verdadero efecto promotor del crecimiento, lo cual es interesante y se observa en estas gráficas, todos y cada uno de los tratamientos con inoculación bacteriana tuvieron una mejor respuesta en ambos parámetros en comparación con los respectivos controles.

En las Figuras 19C y 19D, se aprecian los resultados gráficos de los parámetros longitud de planta y longitud de tallo, respectivamente; lo que se presenta en la primera figura mencionada es que el tratamiento con el valor promedio más bajo fue el CONTROL con apenas 8.85 cm de longitud de la planta completa (desde la semilla hasta la última hoja naciente), en comparación con los mejores tratamientos que fueron los inoculados con los aislados B16 y C17, con valores promedio de 21.38 y 21.91 cm, respectivamente; respecto a los demás tratamientos se percibe que el tratamiento con el biofertilizante comercial AZOTO tuvo una mejoría respecto al control, además de diferencia significativa incluso con el tratamiento inoculado con el valor promedio de longitud de planta más bajo, cabe mencionar, que entre estos tratamientos no hubo diferencia significativa. En la segunda figura mencionada se observa que los tratamientos con mejor resultado de longitud de tallo fueron B16 y B55 con valores promedio de 4.07 y 4.17 cm, teniendo diferencia significativa con ambos controles (CONTROL sin inocular y biofertilizante comercial AZOTO), cuyos valores promedio fueron 3.28 y 3.27 cm, respectivamente; en lo que abarca a los demás tratamientos con inoculación tuvieron diferencia significativa únicamente con el tratamiento B55, con el

tratamiento B16 no hubo diferencia significativa, así como tampoco entre ellos, sin embargo, tuvieron mejores resultados con diferencia significativa con los controles también.

Por último, en las Figuras 19E y 19F se presentan los resultados de los parámetros longitud de raíz y número de raíces, respectivamente; en la primer figura mencionada se observa que los tratamientos B16, C17 y M3 tuvieron los mejores valores promedio: 41.58, 44.28 y 40.58 cm de raíz principal, respectivamente; por otro lado, el tratamiento con el menor valor fue el CONTROL sin inocular con un promedio de 13.12 cm de raíz principal, el tratamiento AZOTO mejoró este resultado aumentándolo a un valor de 27.8, sin embargo, tuvo diferencia significativa con los tratamientos inoculados mencionados anteriormente; respecto a los demás tratamientos (B10, B44 y B55) no tuvieron diferencia significativa entre ellos, respecto a los mejores tratamientos inoculados ni respecto al control comercial, pero sí con el control sin inocular. En el caso del número de raíces, B10 fue el tratamiento con mayor número con 12.36, seguido de B44 con 12 raíces, CONTROL y AZOTO fueron los de menor número de raíces con 7 y 7.8, respectivamente, los demás tratamientos mejoraron respecto a los controles, pero no hubo diferencia significativa entre ellos.

Cabe recordar que los aislados realizan por lo menos uno de los tres mecanismos de promoción probados en este experimento (FBN, SFos y SCa), es sabido que el nitrógeno (N) es uno de los elementos más importantes para el crecimiento de las plantas y es indispensable para la síntesis de distintas moléculas esenciales (ácidos nucleicos, aminoácidos, proteínas, etc.) dentro de la planta; alrededor del 1-5% de la materia seca total de la planta está compuesta por N (Hawkesford et al., 2012), las funciones de éste elemento son de tipo estructural y osmótico, su función como agente osmótico permite retener el agua en las vacuolas (proceso de osmorregulación) (McIntyre, 1997), dado que el N es uno de los elementos mayormente absorbidos, desempeña un papel esencial en la asimilación y transferencia a órganos en crecimiento (Fathi y Zeidali, 2021). La presencia de este elemento siempre incrementa el crecimiento y desarrollo al proveer el agua requerida; además, la abundancia de este estimula la producción de nuevas hojas desde el meristemo terminal del tallo y las yemas laterales de las hojas más viejas; en última instancia, aumenta el rendimiento de las partes aéreas (Fathi, 2020). Por otro lado, el fósforo (P) es también vital para el crecimiento vegetal y la productividad de la planta; su concentración en planta va del 0.05 –

0.5% del total del peso seco; desempeña un papel importante en una serie de procesos celulares incluido el mantenimiento de las estructuras de membrana, la síntesis de biomoléculas y la formación de moléculas de alta energía, también ayuda en la división celular, activación o inactivación de enzimas y metabolismo de carbohidratos (Razaq et al., 2017). A nivel planta, estimula la germinación de las semillas, desarrollo de raíces, fortalece el tallo, favorece la formación de flores y semillas, aumenta el rendimiento de los cultivos, así como también la calidad de estos, además, la disponibilidad de P incrementa la capacidad de fijación de N. Y, por último, el Calcio (Ca) es un macronutriente esencial en las plantas, el cual se encuentra en concentraciones de 0.1 a 5% en la materia seca de la planta (White and Broadley, 2003), exhibe entonces una doble función, tanto como un componente estructural de paredes celulares y membranas y como segundo mensajero intracelular, por lo cual, su absorción, distribución y almacenamiento en la planta entonces deben ser estrictamente regulados con el fin de completar ambas tareas, es un componente esencial de la pared celular, el cual contribuye a su estabilidad y rigidez, tiene un papel importante en la división y elongación celular ya que influye en el movimiento del agua en las células; se ha observado que interviene también en la permeabilidad de las membranas celulares, regulando el transporte de otros nutrientes y activando ciertas enzimas vegetales, además de que es crucial para el desarrollo del sistema radicular, tallos, hojas y frutos. En conjunto, estos nutrientes mejoran la capacidad fotosintética, la absorción de recursos y la resistencia estructural, lo que incrementa la biomasa total de la planta (González et al., 2020, Juárez-Rossette et al., 2019).

#### **7.4 Efecto de la inoculación de PGPR nativas en parámetros vegetales en plantas de maíz criollo hasta cosecha**

El consumo equilibrado de nutrientes es importante en todas las etapas de crecimiento vegetal. En el caso del maíz, el rendimiento está determinado principalmente por el número de granos logrados por unidad de superficie, el cual se da en función de la tasa de crecimiento del cultivo alrededor del periodo de floración. Por lo tanto, para alcanzar altos rendimientos, el cultivo debe lograr un óptimo estado fisiológico en floración: cobertura total del suelo y alta eficiencia de conversión de radiación interceptada en biomasa. La adecuada disponibilidad de nutrientes, especialmente a partir del momento en que los nutrientes son requeridos en mayores cantidades (aproximadamente 5-6 hojas desarrolladas, es decir 30

dds), asegura un buen desarrollo y crecimiento foliar y una alta eficiencia de conversión de la radiación interceptada. Los nutrientes disponibles en el suelo generalmente limitan la producción de maíz, siendo necesario conocer los requerimientos del cultivo y la oferta del suelo para determinar las necesidades de fertilización. En el Cuadro 7, se presenta el requerimiento (cantidad total de nutriente absorbida por el cultivo) y la extracción (cantidad total de nutriente que remueve el sistema agrícola (grano, raíz, fruto)) de los nutrientes esenciales para producir una tonelada de grano de maíz. Debe tenerse en cuenta que esta información resulta de numerosas referencias nacionales e internacionales y que existe una marcada variabilidad según el ambiente y manejo del cultivo (Chindicue et al., 2019). Un cultivo de maíz de 12000 kg/ha de rendimiento necesita absorber aproximadamente 264, 48 y 48 kg/ha de nitrógeno (N), fósforo (P) y azufre (S), respectivamente (García, 2005).

**Cuadro 7.** Requerimientos y extracción en grano de nutrientes para producir una tonelada de grano de maíz.

| <b>Nutriente</b> | <b>Requerimiento</b> | <b>Extracción</b> |
|------------------|----------------------|-------------------|
|                  | kg/t                 |                   |
| Nitrógeno        | 22                   | 14.5              |
| Fósforo          | 4                    | 3.0               |
| Potasio          | 19                   | 4.0               |
| Calcio           | 3                    | 0.2               |
| Magnesio         | 3                    | 0.8               |
| Azufre           | 4                    | 1.8               |
|                  | g/t                  |                   |
| Boro             | 20                   | 5                 |
| Cloro            | 444                  | 27                |
| Cobre            | 13                   | 4                 |
| Hierro           | 125                  | 45                |
| Manganeso        | 189                  | 32                |
| Molibdeno        | 1                    | 1                 |
| Zinc             | 53                   | 27                |

En el caso del maíz, la mayor acumulación de biomasa y nutrientes se da en las etapas (según la BBCH) de floración (1-16 a 2) y de Reproducción (7-71 a 8-83), siendo los picos más altos en V10-V14 y R2-R4; lo anterior cobra relevancia debido a que se ha identificado, que los máximos consumos nutrimentales coinciden con estos periodos. Sin embargo, la tasa de asimilación depende del impacto del riego, las fuentes de fertilizantes y los niveles de

fertilidad en el suelo (Bender, 2012). Así pues, si uno sólo de los nutrientes es escaso, el crecimiento de la planta es limitado y se reduce el rendimiento del cultivo, lo cual propicia a la aplicación excesiva de fertilizantes para evitar la disminución en la producción por deficiencia (López-Marín, 2017).

En este contexto, uno de los principales objetivos de este estudio es lograr la reducción en la aplicación de fertilizantes químicos (específicamente nitrogenados y fosfatados) mediante el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal. Al determinar actividades relacionadas con el aumento en la disponibilidad de nutrientes por parte de las bacterias aisladas, la cantidad de fertilizantes N, P y Ca se redujo en un 50%. La nutrición reducida se aplicó con y sin las cepas bacterianas. Posteriormente, se evaluaron la altura, la circunferencia del tallo y el número de hojas para el monitoreo del crecimiento. Las diferencias significativas se observaron incluso al momento de la cosecha de las plantas, posterior al periodo crítico de consumo de nutrientes según Bodale et al., (2020), por tanto, únicamente se presentan los datos correspondientes a la etapa R6.

Es por esto por lo que se realizó la aplicación de fertilizantes químicos en los tratamientos correspondientes de la siguiente manera, observando que los fertilizantes reducidos en los tratamientos con el 50% fueron el nitrógeno, el fósforo y el calcio, quedando todos los demás respecto a los análisis fisicoquímicos con la fertilización al 100% y, en el regional, manejado por los productores de la región, se aplicó únicamente nitrógeno y fósforo, ningún micronutriente.

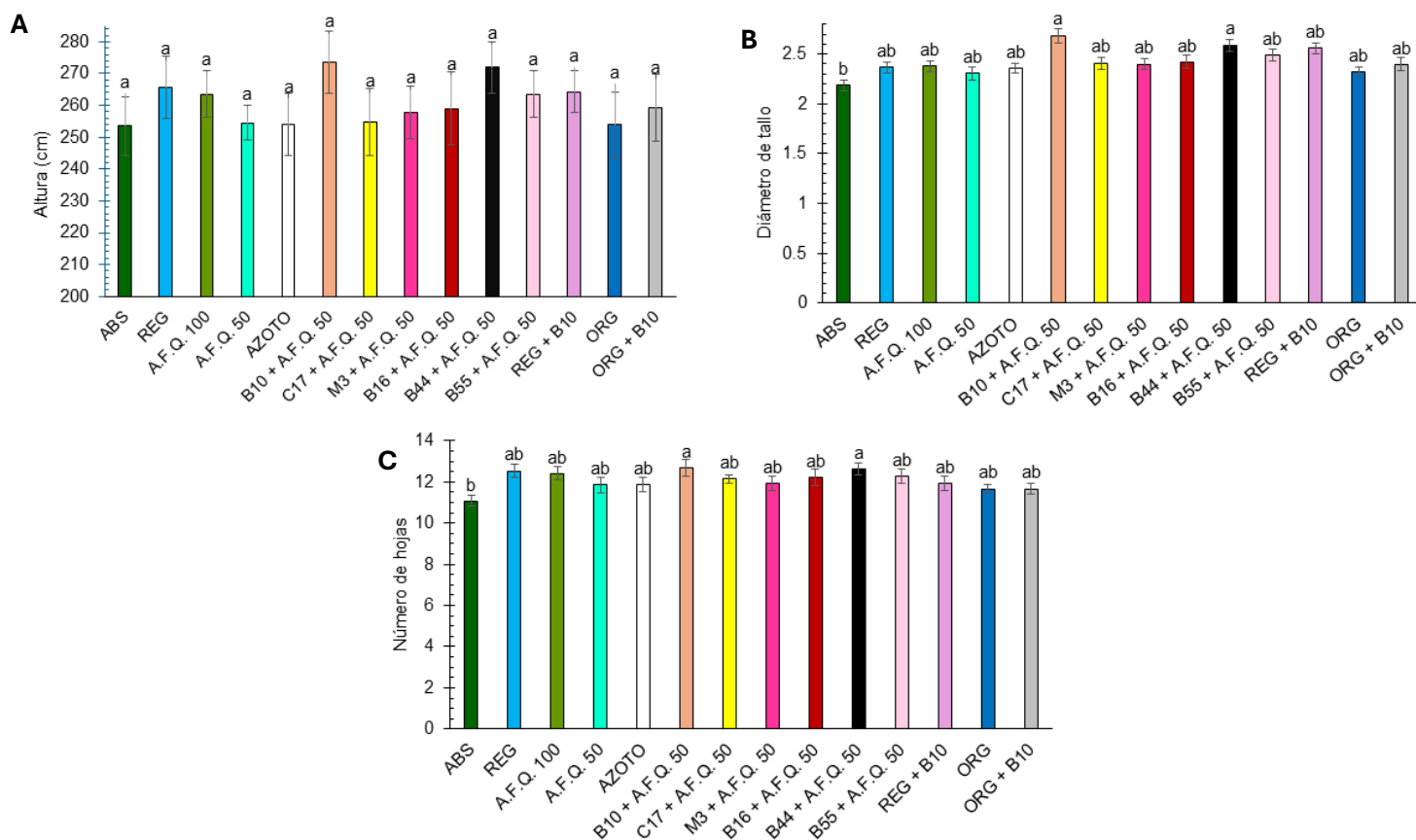
**Cuadro 8.** Fundamento de tratamientos con fertilización química.

| <b>Fertilización</b> | <b>Fórmula</b>                                  | <b>Fundamento</b>                                    |
|----------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Regional             | 122 N – 66 P                                    | Fertilización realizada por productores de la región |
| A.F.Q. 100           | 180 N – 80 P – 10 K – 2 Mg – 26 Ca – 8 Zn – 8 B | Requerimiento del cultivo (Rend. Meta = 5 t/ha)      |

|           |                                                       |                                                                            |
|-----------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| A.F.Q. 50 | <b>90 N – 40 P - 10 K – 2 Mg – 13 Ca – 8 Zn – 8 B</b> | Ahorro del 50%,<br>observar que el efecto<br>es por los<br>microorganismos |
|-----------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|

El testigo absoluto (ABS) registró la menor altura (Fig. 20A), el menor diámetro de tallo (Fig. 20B) y el menor número de hojas (Fig. 20C) respecto a los demás tratamientos con valores de 253.53 cm, 2.18 cm y 11.06 hojas, en comparación con el testigo regional (REG, fertilizado por los productores) y los testigos A.F.Q. 100 y A.F.Q. 50, cuyos parámetros medidos dieron resultados de 265.67, 263.6 cm y 254.5 cm de altura, 2.36 cm, 2.37 cm y 2.30 cm de circunferencia del tallo y 12.53, 12.4 y 11.87 hojas, respectivamente; demostrando la reducción del 50% de la fertilización química y, a su vez, la aplicación de macro y micronutrientes respecto a los análisis físicoquímicos. La inoculación con las bacterias en plantas fertilizadas con el 50% de N, P y Ca influyó positivamente sobre todos los parámetros medidos observándose su efecto desde la etapa reproductiva principalmente por los aislados B10 (*Streptomyces* sp.) y B44 (*Lysinibacillus* sp.). La inoculación con el aislado B10, indujo el mayor estímulo sobre la altura, con un promedio de 273.67, correspondiente a un 3.5% superior a REG. Además, en el parámetro de diámetro del tallo tuvo un valor promedio de 2.68 cm, aumentando el grosor en un 8.06%, lo cual es congruente puesto que esta cepa es fijadora de nitrógeno, siendo éste de gran importancia para el desarrollo y crecimiento del tallo. Por otra parte, el número de hojas aumentó gracias a la inoculación con los aislados B10 y B44 con un valor promedio de 12.65 hojas. Es importante mencionar que A.F.Q. 50 presentó niveles inferiores en gran parte de los parámetros, indicando una afectación sobre la absorción de nutrientes dada por la reducción de la fertilización química pero favorecida por la inoculación de la mayoría de los aislados al observar un crecimiento general en la planta y una mejora en los parámetros de rendimiento. Los datos obtenidos en todos los parámetros medidos tuvieron diferencias significativas con el testigo absoluto e, incluso, superaron a REG y A.F.Q. 100 (testigos con fertilización al 100%), indicando una compensación nutricional en plantas de maíz con fertilización reducida generada por la inoculación y participación de los aislados nativos, en donde se podría decir que muy probablemente su presencia haya facilitado la disponibilidad de macronutrientes

importantes en estas etapas debido a su capacidad para fijar nitrógeno y solubilizar minerales que estimularon la elongación del tallo de la planta, ayudaron a mejorar la arquitectura de la raíz y, por tanto, aumentó la superficie de adquisición de nutrientes. Consistentemente, las bacterias con mayor capacidad para realizar las actividades mencionadas anteriormente presentaron un efecto mejorado sobre el crecimiento de la planta del maíz y su rendimiento.



**Figura 20.** Resultados gráficos de parámetros vegetativos en plantas de maíz criollo. (A) Altura de la planta, (B) Circunferencia del tallo, (C) Número de hojas. Las barras representan la media del error estándar. Las letras corresponden a las medidas con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Test de Tukey.

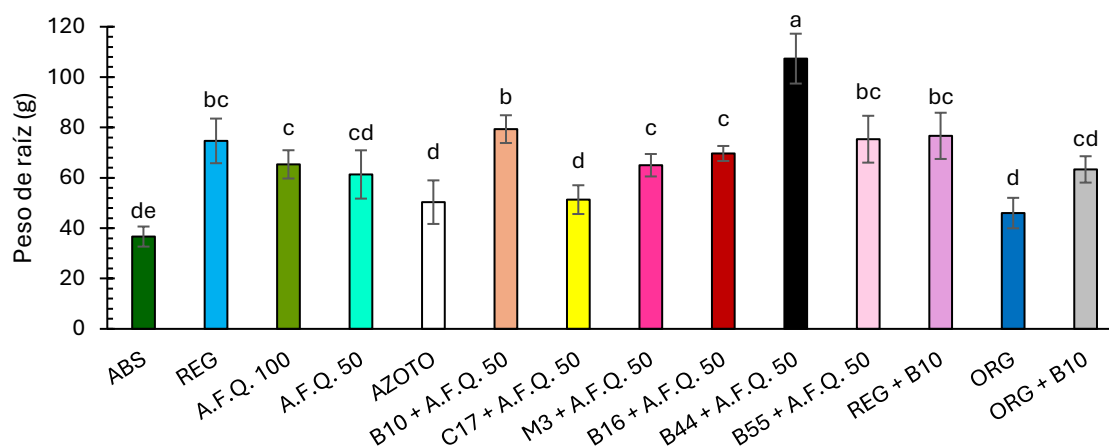
### 7.5 Efecto de la inoculación de PGPR nativas sobre el sistema radicular de las plantas de maíz criollo hasta cosecha

Al final del ciclo de cultivo se evaluó el efecto de los aislados sobre el sistema de raíces cuantificando el peso seco de este (Fig. 21). La disminución en la concentración de nutrientes afectó de forma significativa el peso de la raíz y, además, la inoculación con los aislados dio lugar a una mejora en la misma.

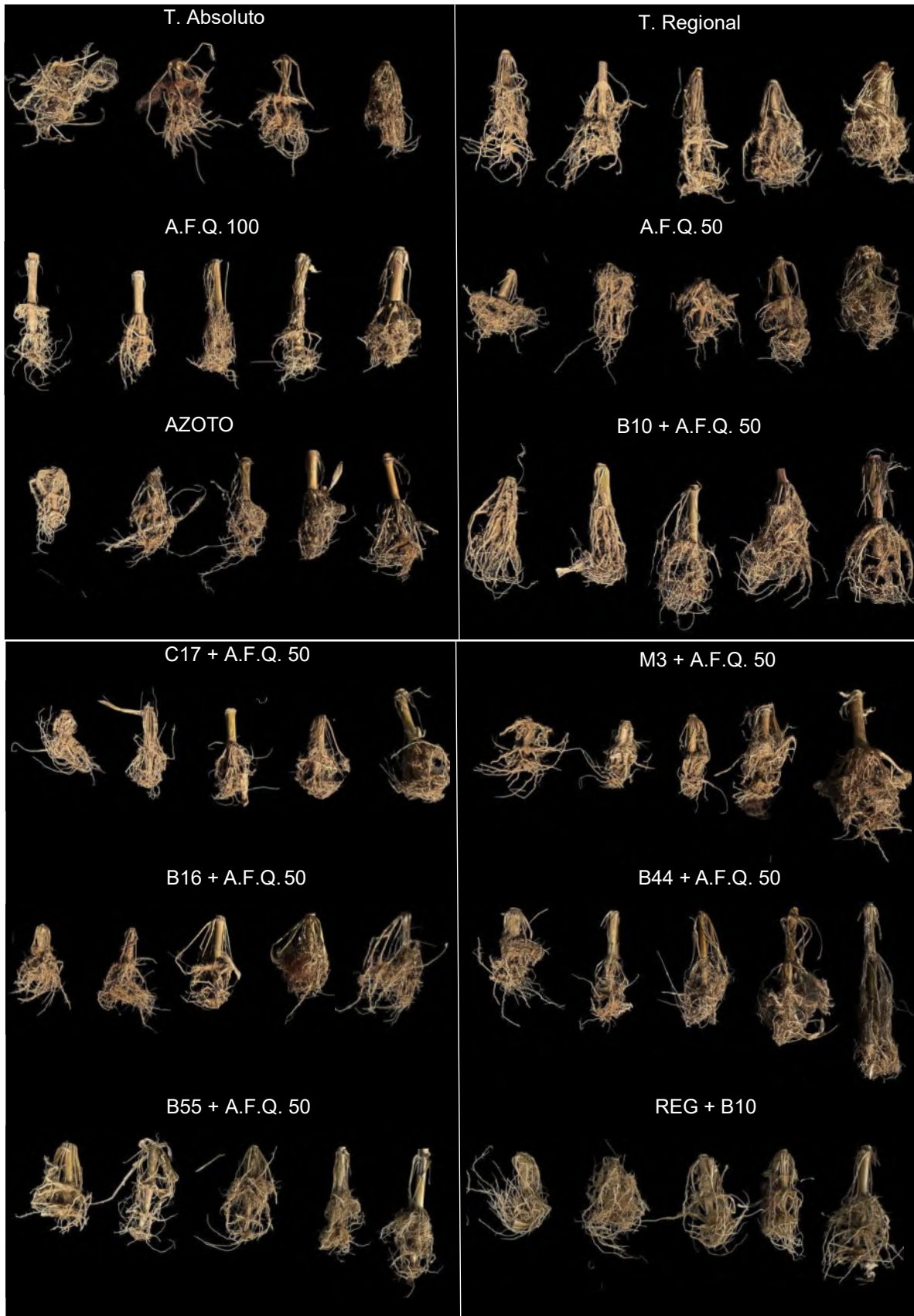
Un valor alto de peso radicular significa una mayor absorción de agua y nutrientes ya que, entre más grande sea el sistema de raíces, mayor superficie tendrá la planta para captar agua y nutrientes del suelo favoreciendo su crecimiento, tiene también un mejor anclaje y una mayor estabilidad debido a que le brinda firmeza a la planta en terrenos con mucho viento, proporciona una mayor tolerancia al estrés hídrico ya que llegan a superficies más profundas y puede acceder a reservas de agua que no están disponibles para raíces más superficiales ayudándola a sobrevivir en condiciones de sequía y, por último, mejora la simbiosis con más microorganismos beneficiosos mejorando su nutrición (Freschet et al., 2021); los tratamientos destacados fueron B10+A.F.Q.50 con un valor de 79.3 g y B44+A.F.Q.50 con 107.33 g, estando muy por encima de los controles con fertilización química REG y A.F.Q. 100 que obtuvieron valores de 74.66 g y 65.33 g, respectivamente, los tratamientos destacados tienen la capacidad de fijar nitrógeno el cual tiene un papel importante en elongación de tallo y raíz. Además, los demás tratamientos inoculados de igual forma tuvieron una mejora estadísticamente significativa por sobre los tratamientos control. Trabajos previos han informado que la deficiencia nutricional bajo ciertas condiciones impulsa el crecimiento de raíces como mecanismo de defensa, con el fin de lograr una mayor absorción (De Bang, et al., 2020). De este modo, se explica el peso similar entre los tratamientos ABS y A.F.Q. 50 y, a su vez, permite atribuir la mejora observada en el sistema radicular a la efectividad de las bacterias. Tal es el caso de Mahwish et al., (2015), quienes evaluaron el efecto de PGPR del género *Bacillus* spp. en maíz, en combinación con dosis reducidas de fertilizante; los tratamientos incluyeron un control sin inocular ni fertilizar, fertilizante NP a la mitad de la dosis recomendada (1/2NP), fertilizante NP a dosis completa (full NP), y diferentes cepas de *Bacillus* spp. inoculadas junto con la dosis 1/2NP, se midieron varios parámetros de crecimiento, incluyendo la longitud de la raíz y el peso seco de la raíz: los resultados mostraron que la inoculación con cepas de *Bacillus* spp. más la dosis 1/2NP del fertilizante resultó en características de crecimiento significativamente mayores en comparación con el tratamiento de solo 1/2NP y, más importante aún, el tratamiento que combinó la cepa HJR3 de *Bacillus* sp. con 1/2NP del fertilizante logró parámetros de crecimiento de la planta (incluyendo la longitud y el peso seco de la raíz) equivalentes al tratamiento de fertilizante NP a dosis completa. Esto demuestra que la combinación del bioinoculante con una dosis reducida de fertilizante químico puede ser tan efectiva o incluso

superior para el crecimiento de la raíz del maíz que la fertilización química sola a dosis completa.

Por su parte, en las Figuras 21 y 22 se observa la comparación estadística y real de los sistemas radiculares de las plantas en diferentes tratamientos.



**Figura 21.** Efecto de la inoculación de los aislados sobre la raíz del maíz criollo al final del ciclo de cultivo. Las barras representan la media del error estándar. Las letras corresponden a las medias con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). Test de Tukey.





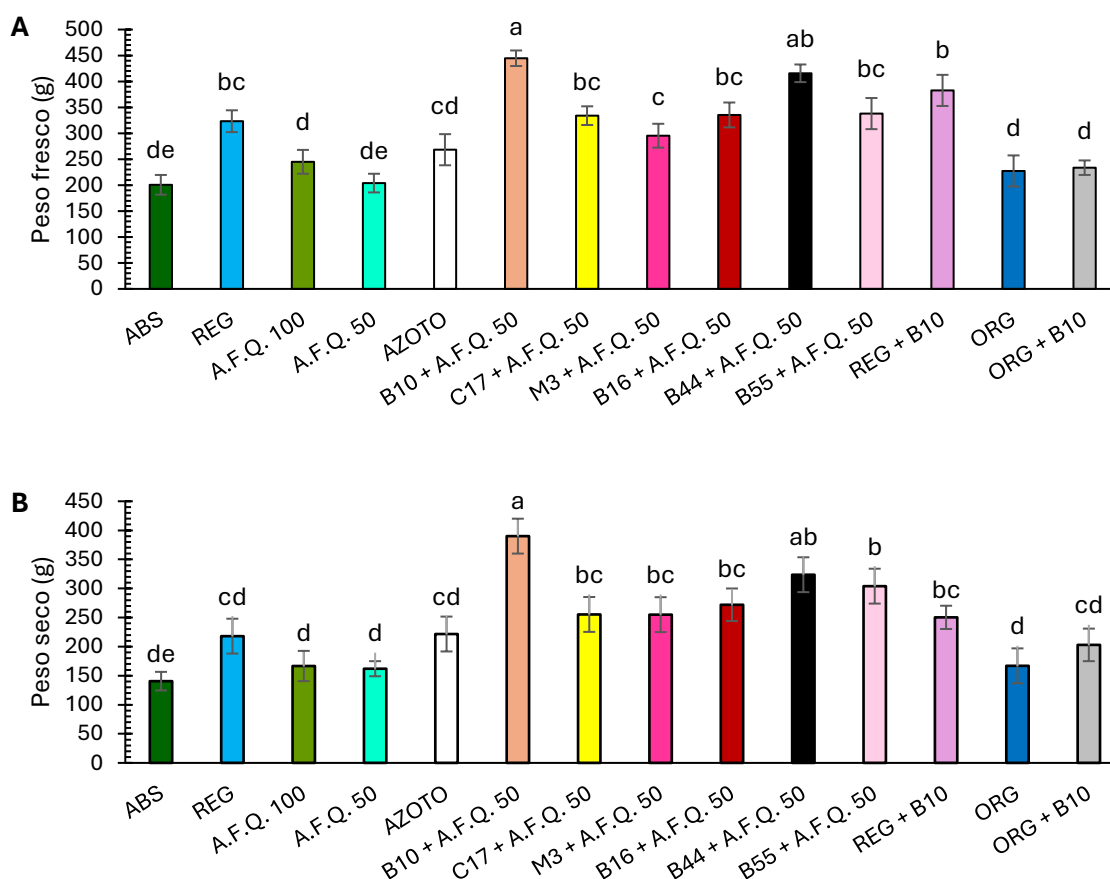
**Figura 22.** Efecto de la inoculación de PGPR sobre el sistema radicular de plantas de maíz criollo (cosecha).

Las PGPR son importantes promotoras del crecimiento vegetal, dadas sus habilidades para colonizar la rizósfera, fijar nitrógeno, solubilizar minerales, entre otros mecanismos de promoción (Roquigny et al., 2017). Su uso se ha evaluado exitosamente en cultivos como jitomate, trigo, sorgo, etc. (Rodríguez et al., 2020). No obstante, la capacidad de una especie para promover el crecimiento de las plantas depende ampliamente de factores específicos, tanto de la especie vegetal como de las condiciones del cultivo porque afectan la diversidad y actividades de la comunidad microbiana (Tabassum et al., 2017). En lo que a esto respecta, autores como Shameer y Prasad (2018), señalan esta especificidad como una limitante para la aplicación de bioinoculantes, es decir, no pueden ser aplicados de forma generalizada. Además, estudios previos demuestran la existencia de una amplia variabilidad genética y, por tanto, funcional entre cepas dentro de una misma especie bacteriana (Loper et al., 2012). Por tal motivo, es importante su evaluación directa en algún cultivo de interés para poder ser utilizadas.

### **7.6 Efecto de la inoculación de PGPR nativas en biomasa fresca y seca en plantas de maíz criollo hasta cosecha**

En la Figura 23A, se presentan los resultados para el parámetro vegetal peso fresco, el cual se mide principalmente para evaluar el contenido de agua presente en la planta; y es útil para evaluar los resultados de rendimiento del producto; por otra parte, en la Figura 23B se muestran los resultados del parámetro vegetal peso seco, el cual se encuentra en estrecha correlación con el parámetro mencionado anteriormente debido a que éstos proporcionan una medida precisa de biomasa eliminando las fluctuaciones causadas por el contenido de agua y, como se ha mencionado anteriormente, la biomasa completa de la planta puede estar relacionada directamente con el desempeño de la misma como respuesta a la capacidad fotosintética, nutrición, condiciones ambientales y más. Destacan en peso fresco los

tratamientos B10+A.F.Q.50, B44+A.F.Q.50 y REG+B10 sus valores promedio fueron 444.67 g, 415.67 g y 382.67 g, respectivamente, estando por encima de REG y A.F.Q. 100 que tuvieron valores de apenas 323.33 g y 245 g, lo cual significa que las plantas inoculadas tuvieron mejor hidratación y captación de agua; en comparación con los resultados de peso seco donde destacaron B10+A.F.Q.50, B44+A.F.Q.50 y B55+A.F.Q.50 con resultados promedio de 390.06 g, 323.67 g y 304 g, respectivamente; como se observa, los tres tratamientos mencionados sobrepasan los niveles de biomasa de REG y A.F.Q. 100 (218 y 166.67 g) con una diferencia significativa, además, todos los demás tratamientos inoculados mejoraron dichos valores que, aunque no fue con diferencia significativa, siguen siendo una buena alternativa como bioinoculantes para aumentar la biomasa vegetal.



**Figura 23.** Efecto de la inoculación de los aislados sobre el peso fresco y peso seco de las plantas de maíz criollo al final del ciclo de cultivo. (A) Peso fresco, (B) Peso seco. Las barras representan la media del error estándar. Las letras corresponden a las medidas con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Test de Tukey.

Las PGPR actúan de diversas maneras para aumentar la biomasa de la planta, tanto fresca como seca, a través de mecanismos directos e indirectos; el efecto en la biomasa es el resultado de múltiples mecanismos que pueden funcionar simultánea o secuencialmente (Martínez-Viveros et al., 2010); una de ellas es la mejora en la adquisición y disponibilidad de nutrientes, al hacer a los nutrientes más disponibles o facilitar su absorción las plantas tienen los elementos necesarios para construir más tejido vegetal, lo que se traduce en un mayor contenido de biomasa, el nitrógeno, un macronutriente esencial, es esencial para la síntesis de proteínas y clorofila, los cuales son componentes clave de la biomasa y el cual permite un mayor crecimiento aéreo y radicular; el fósforo se ha relacionado también con el incremento en la biomasa. La mejora de la absorción de agua está también directamente relacionada con el contenido de biomasa (especialmente fresca); una mejor hidratación es fundamental para la expansión celular y la turgencia, componentes clave del peso fresco de la biomasa y, por último, la estimulación de la germinación y el vigor temprano; un inicio de crecimiento más rápido y robusto permite a la planta establecerse mejor y acumular biomasa más eficazmente desde las primeras etapas. Tal es el caso de Criollo et al., 2012, cuya investigación evaluó el efecto de la inoculación con PGPR del género *Stenotrophomonas* sp. (cepa 4K) y *Pseudomonas* sp. (cepa 5B) en pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), en combinación con una dosis reducida de nitrógeno. Los tratamientos incluyeron un control químico (TQ) con una dosis completa de nitrógeno (100 kg ha<sup>-1</sup> en forma de urea) y fertilización según análisis de suelo, y tratamientos bacterianos (TB1 y TB2) con inoculación de cepas 4K o 5B, respectivamente, más la dosis reducida de nitrógeno (50% N) y se midieron variables como peso fresco y seco de la parte aérea y radicular en diferentes momentos (100 y 130 dds); los tratamientos TB1 y TB2 presentaron diferencias significativas con respecto al control no inoculado (TA). Más relevante aún, a los 100 dds, los tratamientos TB1 y TB2 mostraron valores similares en el peso fresco de la parte aérea al tratamiento químico (TQ), y superaron al testigo absoluto (sin fertilizante ni inoculante) en más del 80%. En cuanto al peso seco radicular y la longitud de la parte aérea, la respuesta se vio favorecida cuando se inocularon las cepas 4K y 5B, aumentando los valores en más del 50% y 25% respectivamente en comparación con los tratamientos TQ (control químico) y TA.

### **7.7 Efecto de la inoculación de PGPR nativas en la mazorca y grano del maíz criollo**

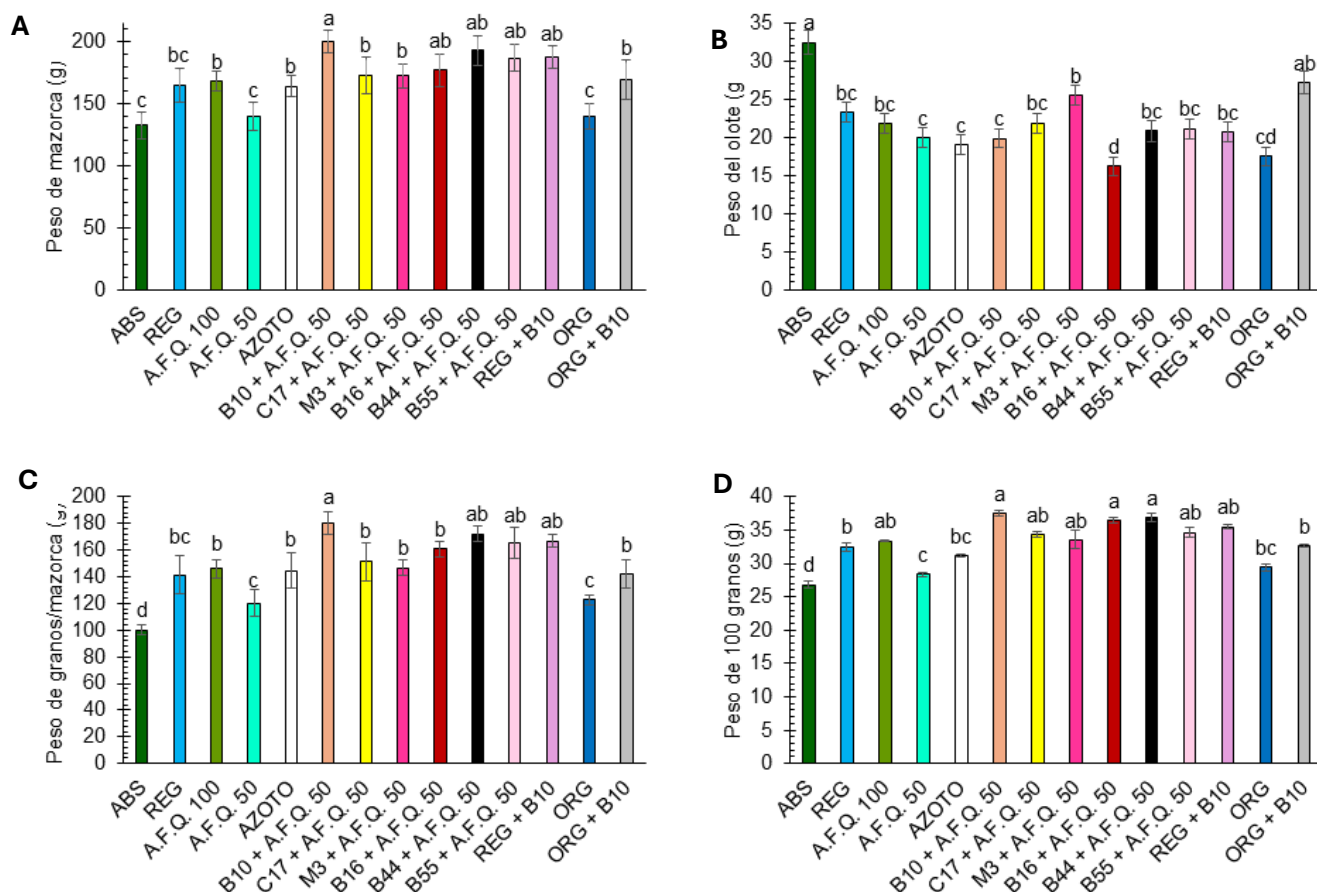
La nutrición correcta es esencial para el desarrollo de una planta durante todo el ciclo de vida, de modo que un desequilibrio puede afectar tanto el crecimiento vegetativo como el reproductivo, en términos de rendimiento y calidad (Bodale et al., 2021). La calidad de una mazorca en maíz criollo se determina por una combinación de características morfológicas y componentes nutricionales del grano que contiene; los productores tradicionales y algunos estudios científicos realizados en maíz criollo han considerado diferentes aspectos históricamente y aún en la actualidad al seleccionar su semilla basándose en criterios como: 1) tamaño de la mazorca, 2) forma de la mazorca, 3) color del grano (pueden variar e incluir blanco, amarillo, rojo, morado, anaranjado con rojo, vino, anaranjado, blanco con amarillo, azul, entre otros, la coloración se asocia con la presencia de compuestos como flavonoides, carotenoides y antocianinas), 4) olote delgado, 5) tamaño del grano. A menudo, los productores tradicionales no toman en cuenta la composición nutricional o distintos parámetros físicos al seleccionar las semillas es por esto que los estudios científicos complementan los criterios tradicionales con mediciones más detalladas y análisis de laboratorio para evaluar la calidad de la mazorca criolla (principalmente enfocándose en el grano que contiene): 1) peso de la mazorca, 2) peso del olote, 3) peso de grano, 4) peso de 100 granos y, por otro lado, 1) contenido de minerales o 2) contenido de vitaminas (los cuales varían entre regiones y razas de maíz). Y, por último, aunque no es un componente inherente de una mazorca individual, el rendimiento por hectárea es el factor clave para evaluar la productividad y el valor de una variedad de maíz criollo, y los estudios suelen medirlo para comparar el desempeño de diferentes razas o tratamientos. La capacidad de las variedades criollas para mantener rendimientos estables en condiciones edáficas y climáticas limitadas también es una ventaja reconocida (González-Cortés et al., 2016, Chi-Sánchez et al., 2021).

A lo largo de los años, se ha estudiado ampliamente el papel de los microorganismos sobre el crecimiento vegetal, realizando investigaciones en modelos vegetales in vitro o evaluando su efecto sobre el crecimiento de las plantas, no obstante, cuando el objetivo es la optimización en la aplicación de fertilizantes, es necesario realizar un análisis que muestre los efectos directos sobre la producción, ya que, en algunos casos, las deficiencias nutricionales se manifiestan en el estado fisiológico de los frutos o en la productividad. En

esta investigación se evaluó el peso de mazorca, el peso del olote, el peso de, únicamente, los granos de cada mazorca, el peso de 100 granos y su rendimiento final en toneladas por hectárea para determinar los efectos directos de la inoculación bacteriana sobre las mazorcas de maíz criollo a diferentes dosis de fertilización con diferentes tratamientos biológicos y orgánicos (Chi-Sánchez et al., 2021).

Los parámetros mencionados anteriormente son criterios tradicionales de selección y evaluarlos permite cuantificar y comparar sus características; además, están directamente relacionados con el rendimiento y la productividad, medir estos parámetros puede estimar el potencial de producción de una raza o genotipo bajo cierto tipo de condiciones (González-Cortés et al., 2016) y ayudan a evaluar el desempeño bajo diferentes manejos agronómicos (como la aplicación de bioinoculantes y fertilizantes químicos).

A continuación, se presentan las figuras con las mediciones de cada uno de los parámetros:



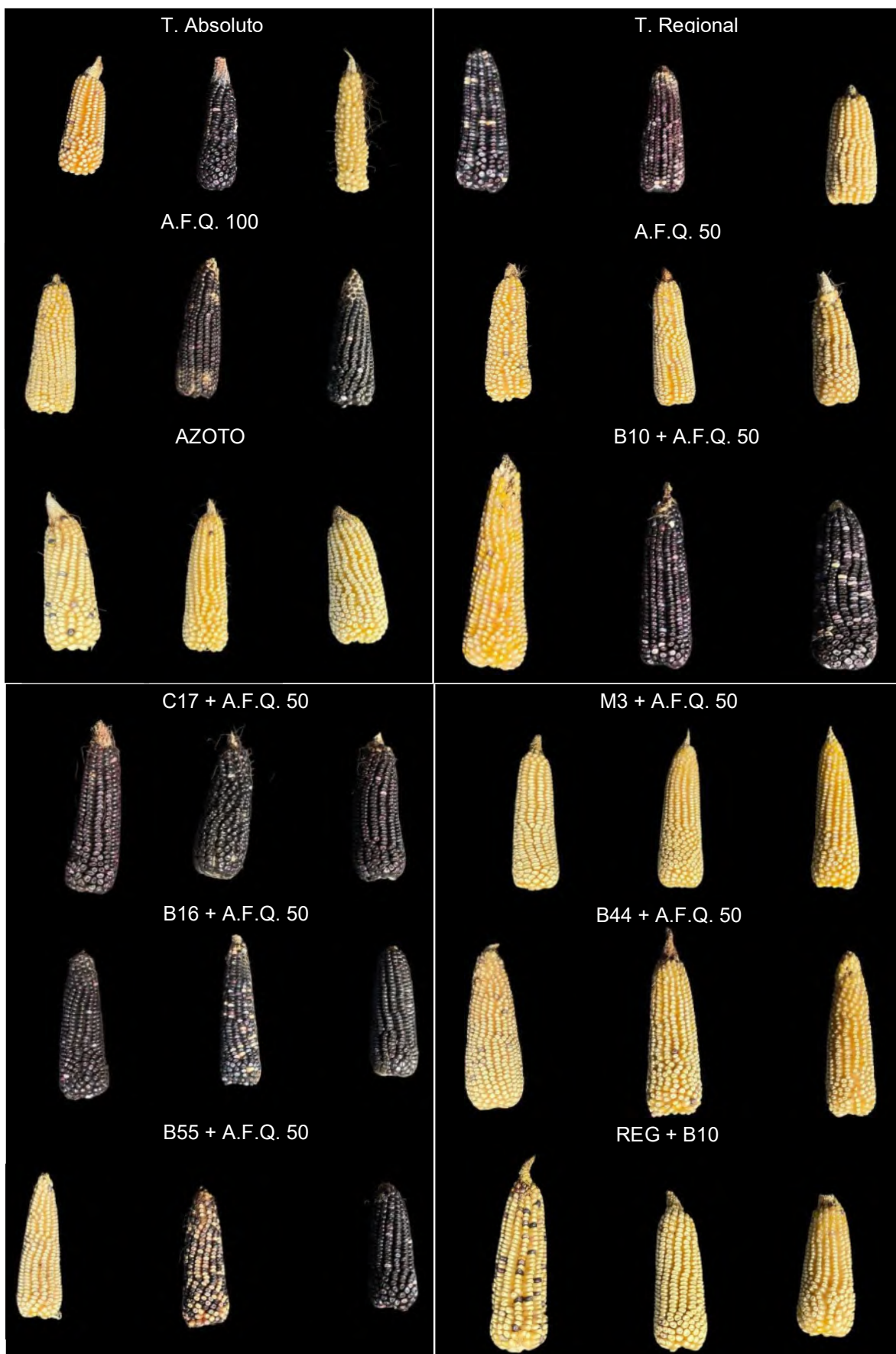
**Figura 24.** Efecto de las bacterias nativas en la mazorca del maíz criollo. (A) Peso de mazorca, (B) Peso del olote, (C) Peso de grano y (D) Peso de 100 granos. Las barras representan la media del error estándar. Las letras corresponden a las medidas con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Test de Tukey.

En la Figura 24A, se observan los promedios del peso de mazorca por tratamiento, en donde los tratamientos destacados fueron B10+A.F.Q.50, B44+A.F.Q.50, B55+A.F.Q.50 y REG+B10 con pesos promedio de 200.06, 192.93, 186.73 y 187.6 g, respectivamente, de los cuales únicamente B10+A.F.Q.50 presentó una diferencia significativa respecto a los controles REG y A.F.Q. 100 (164.86 y 167.67 g), sin embargo, todos los demás tratamientos superaron el peso promedio de los mismos, lo cual se considera bueno en términos de reducción de fertilización química, además de que B10+A.F.Q.50 aumentó en un 50% el peso respecto al control ABS con un peso promedio de 132.6 g. En el caso del peso del olote (Fig. 24B) el cual ayuda a estimar (junto con los parámetros de peso de mazorca y grano) cómo se reparte la biomasa entre las partes estructurales y productivas de la mazorca; esto se considera útil para verificar si un tratamiento favorece la eficiencia de asignación de recursos hacia la

producción de grano (que es lo más deseable) debido a que el tener granos grandes y pesados significa un mayor rendimiento productivo y, por lo tanto, un mayor valor comercial y, directamente proporcional, un olote delgado o ligero evidencia que hubo un menor gasto de recursos en estructura y mayor eficiencia en la conversión de biomasa al grano (López-Montañez et al., 2024). Es por esto que el estudio de peso de mazorca y peso de olote están directamente relacionados y, como ejemplo, en el caso de ABS, el cual es el menor promedio de mazorca, tiene un peso muy alto de olote, dando a entender que la asignación de recursos fue mayor para el soporte que para el fruto y sucedió a la inversa para B16, el cual fue el tratamiento menor promedio de peso de olote, tratamiento en el que se evidencia una buena repartición de biomasa; los tratamientos destacados fueron B16+A.F.Q.50 (inoculado con la bacteria (*Bacillus subtilis* B16)) y ORG con promedios de 16.2 y 17.46 g, los cuales tuvieron menores resultados (que, en este caso, es mejor) respecto a los tratamientos control ABS con 32.46 g, REG con 23.26 g, A.F.Q. 100 con 21.8 g, A.F.Q. 50 con 19.93 e, incluso, a pesar de que el bioinoculante comercial (AZOTO+A.F.Q.50) mejoró respecto a ABS, los tratamientos con las bacterias nativas fueron iguales o mejores que éstos. Otro de los parámetros medidos que se relaciona bastante con los dos anteriores es el peso de grano, podría decirse que es el indicador más importante cuando se busca evaluar el efecto de varios tratamientos sobre el rendimiento de un cultivo, como lo es en este caso; el peso de grano refleja directamente cuánto producto útil se obtiene por cada mazorca y es lo que más interesa debido a que es la parte comestible, base de productos procesados y la fuente de semillas para la siguiente generación de plantas. En este caso, evaluamos el peso del grano para poder identificar cuál tratamiento promueve una mayor acumulación de biomasa en los granos y entender la respuesta fisiológica del maíz a los distintos manejos agronómicos utilizados. En la figura 24C se observa que, nuevamente, los tratamientos B10+A.F.Q.50, B16+A.F.Q.50 y B44+A.F.Q.50 fueron los más destacados con promedios que van desde los 165 hasta los 180 g, siendo mejores que REG, con un promedio de 141.6 que, el tratamiento comparativo directo es REG+B10 el cual mejoró en un 17% el peso respecto al regional, concluyendo así que las bacterias nativas tienen una mejora en parámetros de rendimiento en comparación con la fertilización química individual. Y, por último, se midió el peso de 100 granos, el cual es indicador del tamaño y la densidad de los granos (granos más llenos = granos más pesados), esto indica qué tan bien se nutrieron los granos y evidencia una mayor eficiencia

fisiológica y una mejor asimilación de nutrientes durante la etapa de llenado de grano (PGPR mejoraron absorción de N y P) por lo que va directamente relacionado también a los parámetros de rendimiento y mazorca ya mencionados; en este caso, no hay muchas diferencias significativas entre los tratamientos inoculados y los tratamientos de fertilización química al 100% a excepción de B10+A.F.Q.50, B16+A.F.Q.50 y B44+A.F.Q.50 que tuvieron promedios de 37.53, 36.5 y 36.86 g, respectivamente, los cuales tuvieron diferencia significativa con REG (32.5 g) pero no con A.F.Q. 100 (33.36 g), así como tampoco la tuvieron los tratamientos C17+A.F.Q.50, M3+A.F.Q.50, B55+A.F.Q.50 y REG+B10 sin embargo, sí hubo una mejoría (34.36, 33.53 34.66 y 35.5 g, respectivamente). Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Singh *et al.*, en el año de 2024, quienes estudiaron los efectos de PGPR como *Pseudomona fluorescens*, *P. putida*, *Azospirillum lipoferum* y *Bacillus subtilis* en tres genotipos diferentes de maíz sin ningún tipo de fertilización y cuyo trabajo destaca que el objetivo final en todos los cultivos de grano es la productividad; ellos observaron resultados de un incremento de hasta 53% en el peso de la mazorca en los tres genotipos inoculados respecto al control y lo mismo sucedió para el peso de granos y peso de 100 granos.

A continuación, se presentan figuras con la evidencia de las mazorcas (representativas) obtenidas en cada uno de los tratamientos,





**Figura 25.** Efecto de la inoculación de PGPR sobre las mazorcas de maíz criollo (cosecha).

La Figura 25 ilustra las diferencias encontradas entre los tratamientos. El tratamiento con mazorcas más pequeñas y dañadas (granos incompletos hasta la punta, ligeramente deformes y desordenados) es el Testigo absoluto, lo cual se debe principalmente a la nutrición insuficiente que afectó el crecimiento reproductivo, así como la calidad del fruto y granos; se percibe una diferencia con el Testigo regional, que se encuentra al costado derecho del primero mencionado; el cual es bastante parecido a A.F.Q. 100, sin embargo, el tamaño de las mazorcas disminuye en el tratamiento A.F.Q. 50, esto debido a la reducción en la fertilización. A continuación se observa una mejora con el bioinoculante comercial AZOTO+A.F.Q.50 y todos los tratamientos que siguen de este son los bioinoculantes obtenidos en el laboratorio, entre los que destacan B10+A.F.Q.50, M3+A.F.Q.50 y B44+A.F.Q.50 aumentando la longitud y el grosor (a simple vista) de la mazorca presentada; por otra parte, el tratamiento de fertilización regional + B10 (REG + B10) presentó mejoras respecto al testigo regional, evidenciando el trabajo realizado por la PGPR inoculada en este tratamiento y, por último, se presentan los tratamientos de ORG (fertilización orgánica) y ORG + B10 (fertilización orgánica + B10) en donde se presenta una clara mejora con respecto al tratamiento sin la bacteria evidenciando, nuevamente, el trabajo realizado por esta.

### **7.8 Respuesta de la inoculación de PGPR nativas en el rendimiento del cultivo de maíz criollo**

Acorde a los resultados obtenidos en la medición de parámetros vegetales, la inoculación de las PGPR nativas aumentó los parámetros morfológicos en las plantas fertilizadas respecto a A.F.Q. 50, confirmando su capacidad para promover el crecimiento vegetal. Además, las

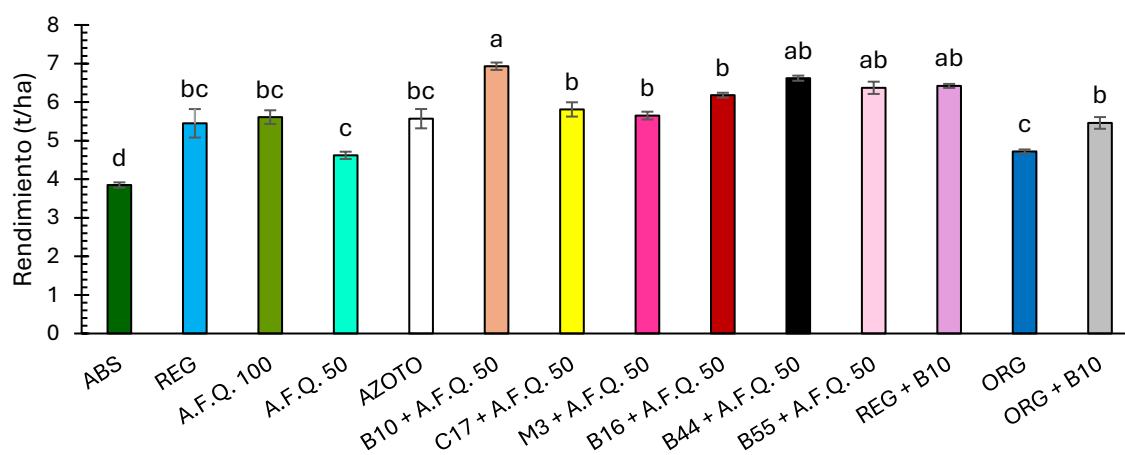
mazorcas cosechadas incrementaron su longitud y grosor, así como también el peso de esta, del grano y de 100 granos.

En la práctica agrícola, obtener un buen rendimiento es el objetivo principal de los productores. Autores como Aini et al., (2019), señalan una relación directamente proporcional entre la concentración de nutrientes durante el desarrollo vegetativo y el rendimiento del cultivo. Sin embargo, la concentración de estos nutrientes debe ser equilibrada, ya que las dosis excesivas provocan repercusiones en la producción, así como Ciampitti et al., (2010), quienes estudiaron los cambios en el maíz a través de distintas dosis nulas, reducidas o completas de fertilizantes químicos (sin el uso de bioinoculantes), evaluando un tratamiento testigo, NP (nitrógeno y fósforo), NS (nitrógeno y azufre), PS (fósforo y azufre) y NPS (nitrógeno, fósforo y azufre). Ellos observaron que la aplicación balanceada de NPS incrementaba los rendimientos del cultivo en comparación con las aplicaciones desbalanceadas o sin nutrientes, deduciendo que la planta destinó la energía en el crecimiento vegetativo, haciendo menor el crecimiento reproductivo. De manera que, para lograr la reducción en la aplicación de fertilizantes en un sistema agrícola, es necesario analizar las variables durante todo el ciclo de cultivo para descartar alguna afectación relacionada con la deficiencia de nutrientes.

El requerimiento de nutrientes del cultivo de maíz es un factor crucial para su desarrollo y rendimiento, y varía según distintos factores como el genotipo, el ambiente y las prácticas de manejo agrícola. Los nutrientes se clasifican en macronutrientes (requeridos en grandes cantidades) y micronutrientes (requeridos en menores cantidades) (Martínez, 2022). El nitrógeno es el nutriente más demandado y de mayor importancia; el fósforo es el segundo macronutriente más importante; el potasio es el segundo nutriente de mayor extracción por el cultivo de maíz; el azufre es esencial para optimizar el rendimiento del maíz y la deficiencia de cualquiera de estos nutrientes afecta severamente su crecimiento y rendimiento (Zaidi et al., 2017), tal y como se observó en el testigo absoluto y A.F.Q. 50, puesto que la nula o media aplicación de los nutrientes se manifestó en la producción de mazorcas, produciendo 30 y 20%, respectivamente, menos fruto que REG y A.F.Q. 100 (los tratamientos con fertilización completa). De igual forma, la deficiencia se compensó con la actividad de las bacterias debido a que en este proyecto la inoculación con las PGPR generó un incremento

en el rendimiento del maíz en condiciones reducidas de fertilizante químico e, incluso, superaron la producción generada por los tratamientos convencionales de fertilización. La inoculación con los aislados B10+A.F.Q.50 y B44+A.F.Q.50 presentó un incremento comparado con el testigo regional del 27 y 21%, respectivamente. Es importante destacar que estas pruebas mostraron gran actividad en las pruebas de laboratorio e invernadero. En general, todos los tratamientos inoculados tuvieron una mejora (aunque no en todos fue significativa), a excepción de ORG+B10. En el caso de ABS, el rendimiento calculado fue de 3.85 t/h; siendo éste el de menor promedio, en seguida se encuentran los tratamientos A.F.Q. 50, ORG y ORG+B10 con rendimientos promedio de 4.62, 4.72 y 5.46 t/ha, respectivamente, esto podría estar asociado a la reducción del fertilizante en el caso de A.F.Q. 100, aunado a esto, la fertilización orgánica pudo no haber hecho mucho efecto en la planta en ORG y, en el caso de ORG+B10 la bacteria pudo hacer un buen papel al aumentar respecto a ORG e, incluso, llegar a tener el mismo rendimiento que una fertilización química al 100% aunque no superó a los tratamientos inoculados y con fertilización reducida. A continuación, se centran los tratamientos REG, A.F.Q. 100 y AZOTO+A.F.Q.50 con valores promedio de 5.45, 5.61 y 5.57 t/ha en los cuales el efecto de REG fue completamente del fertilizante químico, sin embargo, sabemos que muchas veces es contraproducente el exceso de fertilizantes y la tasa de absorción de nutrientes del maíz llegó hasta un punto crítico en donde ya no pudo absorber más; en el caso de A.F.Q. 100, si bien hubo una mejora respecto a REG gracias a los micronutrientes aplicados respecto a las necesidades del suelo, nuevamente no hubo mejora respecto a los tratamientos inoculados y, a pesar de que AZOTO+A.F.Q.50 sea un bioinoculante comercial, la bacteria en este caso pudo no haber sobrevivido o haberse adaptado a las condiciones del lugar. Por último, se presentan los tratamientos inoculados (ya sea con fertilización química reducida o completa) en donde tenemos M3+A.F.Q.50 con 5.65 t/ha, C17+A.F.Q.50 con 5.81 t/ha, B55+A.F.Q.50 con 6.37 t/ha, REG+B10 con 6.42 t/ha, B16+A.F.Q.50 con 6.18 t/ha, B44+A.F.Q.50 con 6.62 t/ha y, en primer lugar, B10+A.F.Q.50 con 6.93 t/ha el cual, respecto a ABS aumentó un 80% el rendimiento. Las plantas inoculadas con esta y la cepa B44+A.F.Q.50 mostraron un crecimiento mejorado desde las condiciones de invernadero, además de que generaron el mayor volumen radicular en ambas condiciones lo cual fue evidenciado en términos de rendimiento y calidad de la mazorca.

Según el estudio realizado por Oteino et al., (2015), este proyecto y sus resultados sugieren que la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfatos permite la reducción hasta del 50% en la aplicación de este elemento sin generar una reducción significativa en el rendimiento. Se demostró que las PGPR nativas con características asociadas a la promoción del crecimiento de plantas, incluidos los mecanismos estudiados, permite la disminución del 50% en la tasa de aplicación, no sólo de fósforo, sino también de nitrógeno y calcio, generando un notable incremento en el rendimiento del maíz criollo.



**Figura 26.** Efecto de la inoculación de PGPR nativas sobre el rendimiento de maíz criollo bajo distintos tipos de fertilización. Se representa la media de 15 repeticiones. Las barras representan la media del error estándar. Las letras corresponden a las medias con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Test de Tukey.

**Cuadro 9.** Efecto de la inoculación de PGPR nativas sobre el rendimiento de maíz criollo bajo distintos tipos de fertilización.

| TRATAMIENTO     | t/ha |
|-----------------|------|
| ABS             | 3.8  |
| REG             | 5.4  |
| A.F.Q. 100      | 5.6  |
| A.F.Q. 50       | 4.6  |
| AZOTO           | 5.5  |
| B10 + A.F.Q. 50 | 6.9  |
| C17 + A.F.Q. 50 | 5.8  |
| M3 + A.F.Q. 50  | 5.6  |

|                        |     |
|------------------------|-----|
| <b>B16 + A.F.Q. 50</b> | 6.1 |
| <b>B44 + A.F.Q. 50</b> | 6.6 |
| <b>B55 + A.F.Q. 50</b> | 6.3 |
| <b>REG + B10</b>       | 6.4 |
| <b>ORG</b>             | 4.7 |
| <b>ORG + B10</b>       | 5.4 |

\*Se consideró una humedad del grano del 12%, una sola mazorca por planta, una densidad poblacional de 50,000 plantas/ha, espacio entre surcos de 80 cm y entre mata de 50 cm, dos plantas por mata.

Tal es el caso de un estudio publicado por Galindo et al., (2024), el cual proyecta que es posible reducir las tasas de aplicación en nitrógeno y fósforo en, al menos, un 30% usando consorcios microbianos con *Azospirillum brasilense* y *Bacillus subtilis* aumentando el rendimiento del maíz en un 5.2%. O, de igual forma, el estudio realizado por Breedts et al., (2017) donde realizaron un experimento durante 3 años en campo en diferentes tipos de suelo con inoculaciones con bacterias como *Lysinibacillus sphaericus*, *Paenibacillus alvei* y *Bacillus safensis*, las cuales aumentaron significativamente el rendimiento del maíz en el campo entre un 24 a un 34%. En el mismo contexto, esta investigación mostró resultados destacables, puesto que la inoculación con PGPR nativas permitió la reducción del 50% de macronutrientes (nitrógeno, fósforo y calcio) sin afectar el rendimiento. También se reportó la capacidad de las distintas bacterias aquí presentadas para promover el crecimiento de la planta, junto con un mayor peso de raíz, atribuyéndolo a la capacidad de algunas para fijar nitrógeno y solubilizar minerales.

La participación de las bacterias en el incremento del rendimiento ha sido relacionada con varias actividades diferentes; Narendra et al; (2015), mencionan que los efectos positivos de las PGPR se deben a una mayor captación de nutrientes al momento de facilitar su disponibilidad a través de la solubilización de minerales y fijación biológica de nitrógeno. Específicamente, se ha relacionado la absorción mejorada de fósforo y su participación en el proceso de floración, lo que podría proporcionar un mayor número de frutos por planta o, probablemente, por su papel en el desarrollo radicular (Coutinho-Edson et al., 2014). Narendra et al., (2015) también mencionan que el crecimiento y productividad de las plantas podría atribuirse a la capacidad de las PGPR de colonizar y sobrevivir en las raíces.

En este caso, la promoción del crecimiento y el rendimiento mejorado gracias a la inoculación con las PGPR nativas en plantas de maíz fertilizadas bajo una dosis reducida de nutrientes, se le podría atribuir a una mayor absorción de nutrientes y un mejor estado nutricional en la planta, debido a la capacidad de las bacterias para fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos y solubilizar calcio, tal como se observó en las variables medidas anteriormente. Además, y aparentemente, las bacterias lograron sobrevivir hasta por 30 días en la rizósfera de las plantas de maíz, brindándoles ventaja en la competencia contra otros microorganismos del suelo.

Los altos precios de fertilizantes químicos que enfrenta la agricultura a nivel mundial reflejan el impacto de su escasez y, a la vez, se prevé un aumento en la demanda de estos debido a la adopción de nuevas técnicas para minimizar el costo en los sistemas de producción. Pese al gran potencial que los microorganismos del suelo han demostrado en la agricultura, aún falta demasiado para lograr el éxito deseado respecto a ellos y aún se requieren esfuerzos de parte de la comunidad científica para explorar e identificar cepas específicas para los efectos requeridos (Nosheen, 2021). Debido a la variabilidad funcional de las PGPR es necesario una valoración exhaustiva de las cepas para determinar su efecto en un sistema en específico ya que, gran parte de la diversidad de estas permanece aún sin explorar (Verma et al., 2018). El desarrollo de los bioinoculantes generalmente empieza con la detección y selección *in vitro* de una colección de cepas aisladas con base en sus funciones microbianas específicas relacionadas con la promoción del crecimiento de las plantas (Finkel et al., 2017); es decir, identificando las características fisiológicas que emplean para realizar la promoción de crecimiento, tales como la capacidad de fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos o producir hormonas, entre otras (Vivanco-Calixto et al., 2016), seguido de pruebas en invernadero y, finalmente, pruebas en campo (Compant et al., 2019). Por lo tanto, esta investigación proporciona información directa sobre la ventaja de la inoculación con PGPR nativas aisladas de cultivos de maíz criollo en Ocampo, Michoacán sobre el mismo cultivo de maíz criollo. Según Biel et al., (2021), los inoculantes microbianos no pueden reemplazar a los fertilizantes químicos, pero se pueden utilizar para complementar y reducir, en cierta proporción, su tasa de aplicación. En este caso, fue posible optimizar la concentración de nitrógeno, fósforo y calcio hasta en un 50% manteniendo, e incluso superando el rendimiento y parámetros de calidad.

### **7.9 Análisis de la calidad y contenido de vitaminas y minerales de los granos de maíz criollo tras la inoculación con PGPR nativa**

La buena calidad nutricional en los frutos del maíz criollo es de gran importancia por distintas razones que abarcan la salud humana, la seguridad alimentaria, la economía rural y la conservación de la biodiversidad (González-Cortés et al., 2017). El maíz es un cereal central en la alimentación y cultura de Centroamérica y México, siendo la base de la dieta mexicana y un elemento estratégico para la soberanía y seguridad alimentaria. Se consume principalmente en forma de tortilla, la cual es un alimento de primera necesidad para el 94% de la población, aportando hasta el 70% de calorías, cerca del 50% de las proteínas y el 49% del calcio diarios en zonas rurales (González-Cortés et al., 2017). Una buena calidad nutricional asegura que este alimento básico satisfaga los requerimientos dietéticos (Chí-Sánchez et al., 2021). Además, los programas de gobierno en México buscan la autosuficiencia alimentaria y aumentar la producción interna de granos básicos como el maíz. Aumentar la oferta de maíz con buena calidad contribuye a generar empleos e ingresos para las comunidades rurales y a impulsar la seguridad alimentaria del país (Reyes-Santiago et al., 2007; Espinoza, 2023).

El maíz criollo aporta importantes macronutrientes como almidón, proteínas y grasas, así como nutrientes vitales; contiene vitaminas (A, B1, B2, B5, B6, C, E, K1), aminoácidos esenciales (triptófano, treonina, isoleucina, metionina, fenilalanina, valina e histidina) y es fuente de minerales importantes como fósforo (P), potasio (K), azufre (S), calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), manganeso (Mn), hierro (Fe), entre otros (González-Cortés et al., 2017, Chí-Sánchez et al., 2021, Jaradat & Goldstein, 2018).

Es por esto que se realizaron análisis para observar el contenido de vitaminas y minerales en las semillas del maíz criollo para cada uno de los tratamientos; las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Alimentos del CIDAM A.C. para el análisis de vitaminas y en el Laboratorio de Suelos para el análisis de minerales, los resultados presentados a continuación fueron los obtenidos.

**Cuadro 10.** Valores obtenidos del análisis de vitaminas de los tratamientos realizados en campo en semillas de maíz criollo.

| Muestra                | mg/100g                            |                             |                              |                             |                                |                                        |
|------------------------|------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|----------------------------------------|
|                        | Vitamina C<br>(Ácido<br>ascórbico) | Vitamina<br>B1<br>(Tiamina) | Vitamina B2<br>(Riboflavina) | Vitamina<br>B3<br>(Niacina) | Vitamina<br>B6<br>(Piridoxina) | Vitamina B9<br>(Ác. Fólico)<br>µg/100g |
| <b>ABS</b>             | 0.241                              | 1.193                       | 0.316                        | 3.386                       | 0.022                          | 20                                     |
| <b>REG</b>             | 0.25                               | 0.865                       | 0.171                        | 3.593                       | 0.021                          | 20.2                                   |
| <b>A.F.Q. 100</b>      | 0.248                              | 0.791                       | 0.206                        | 3.272                       | 0.017                          | 22                                     |
| <b>A.F.Q. 50</b>       | 0.216                              | 1.261                       | 0.223                        | 3.57                        | 0.018                          | 21.3                                   |
| <b>AZOTO</b>           | 0.27                               | 1.352                       | 0.241                        | 3.646                       | 0.017                          | 23.9                                   |
| <b>B10 + A.F.Q. 50</b> | 0.24                               | 1.772                       | 0.265                        | 3.639                       | 0.013                          | 21.2                                   |
| <b>C17 + A.F.Q. 50</b> | 0.204                              | 1.237                       | 0.291                        | 3.88                        | 0.017                          | 22.4                                   |
| <b>M3 + A.F.Q. 50</b>  | 0.233                              | 1.125                       | 0.323                        | 3.826                       | 0.015                          | 21.5                                   |
| <b>B16 + A.F.Q. 50</b> | 0.199                              | 1.027                       | 0.384                        | 3.929                       | 0.014                          | 21.5                                   |
| <b>B44 + A.F.Q. 50</b> | 0.242                              | 1.05                        | 0.357                        | 3.681                       | 0.03                           | 21.6                                   |
| <b>B55 + A.F.Q. 50</b> | 0.189                              | 1.269                       | 0.413                        | 3.956                       | 0.034                          | 22.3                                   |
| <b>REG + B10</b>       | 0.19                               | 2.365                       | 0.621                        | 4.657                       | 0.109                          | 26.4                                   |
| <b>ORG</b>             | 0.192                              | 1.29                        | 0.511                        | 3.85                        | 0.024                          | 23.2                                   |
| <b>ORG + B10</b>       | 0.2                                | 1.497                       | 0.473                        | 4.456                       | 0.019                          | 22.1                                   |

De acuerdo con los resultados de los análisis, se aprecian las concentraciones de vitamina C, vitamina B1, B2, B3, B6 y B9 (Cuadro 10). La vitamina C es importante principalmente por su función antioxidante, no mejora en general con PGPR nativas, incluso, la concentración baja en todos los tratamientos en comparación con los controles, únicamente AZOTO fue capaz de mejorar esta concentración yendo de 0.25 y 0.248 mg/100g (en REG y A.F.Q. 100) a 0.27. Siguiendo con la vitamina B1 (tiamina), la cual es importante por su función clave en el metabolismo energético; todos los tratamientos con PGPR tienen valores más altos que REG (0.865), incluso ABS tuvo una mejor respuesta, sin embargo, REG+B10 y B10+A.F.Q.50 destacan con valores de 2.365 y 1.772 mg/100g. En el caso de la vitamina B2 (riboflavina), la cual tiene un papel clave en el proceso de respiración celular y cuyos valores fueron mejores con la inoculación principalmente en los tratamientos B55+A.F.Q.50 (0.413), REG+B10 (0.621) y ORG+B10 (0.473 mg/100g). Por su parte, la vitamina B3 (niacina), que tiene funciones celulares y digestivas, mejoró con todos los tratamientos inoculados con

PGPR (B10+A.F.Q.50 – REG + B10 y ORG+B10); REG+B10 y ORG+B10 lideran la lista con valores de 4.657 y 4.456 mg/100g. La vitamina B6, importante en el metabolismo de aminoácidos, tuvo una ligera mejora en los tratamientos B44+A.F.Q.50 – REG+B10, destacando B55+A.F.Q.50 (0.034 mg/100 g) y REG+B10 (0.109 mg/100 g) en comparación con ABS-AZOTO+A.F.Q.50 que presentaron valores de entre 0.017 a 0.022 mg/100g. Por último, se analizó la cantidad de vitamina B9 (ácido fólico), la cual se ha observado que emplea un papel importante en la formación del ADN y división celular, mejora en todos los tratamientos con PGPR en comparación con REG (20.2 µg/100g), siendo C17+A.F.Q.50 (22.4 µg/100g) y REG+B10 (26.4 µg/100g) los más sobresalientes.

Los tratamientos con inoculación con PGPR (B10+A.F.Q.50 - REG+B10 y ORG + B10) muestran una mejora significativa en el contenido de vitaminas del complejo B (B1, B2, B3, B6 y B9) en comparación con los tratamientos sin inoculación (ABS – A.F.Q. 50) y, en algunos casos, que la inoculación con el bioinoculante comercial *Azotobacter* sp. y el manejo orgánico combinado (ORG). La inoculación, especialmente en combinación con manejo tradicional (REG+B10) u orgánico (ORG+B10), mejora significativamente la calidad nutricional del grano.

Por otra parte, se presentan los valores obtenidos en el análisis de contenido de minerales e granos de maíz criollo.

**Cuadro 11.** Valores obtenidos del análisis de minerales de los tratamientos realizados en campo en semillas de maíz criollo.

| Muestra                 | mg/kg  |          |        |          |        |       |       |           | ppm<br>(mg/kg) |
|-------------------------|--------|----------|--------|----------|--------|-------|-------|-----------|----------------|
|                         | Sodio  | Potasio  | Calcio | Magnesio | Hierro | Zinc  | Cobre | Manganeso | Fósforo        |
| <b>ABS</b>              | 91.36  | 1,877.91 | 61.74  | 457.62   | 5.67   | 27.22 | 1.3   | 0.09      | 19.42          |
| <b>REG</b>              | 71.8   | 1,489.49 | 91.06  | 362.81   | 5.82   | 28.42 | 1.92  | 0.23      | 13.92          |
| <b>A.F.Q. 100</b>       | 124.37 | 2,888.39 | 106.52 | 701.13   | 3.71   | 21.36 | 1.74  | 0.39      | 24.67          |
| <b>A.F.Q. 50</b>        | 100.54 | 3,274.36 | 99.34  | 686.94   | 5.39   | 19.96 | 2.38  | 1.21      | 23.26          |
| <b>AZOTO</b>            | 81.72  | 2,853.93 | 110.97 | 617.64   | 3.63   | 16.76 | 1.55  | 0.78      | 26.46          |
| <b>B10 + A.F.Q. 50%</b> | 181.08 | 3,425.84 | 177.57 | 991.54   | 15.29  | 4.02  | 1.93  | 2.07      | 23.36          |
| <b>C17 + A.F.Q. 50%</b> | 187.05 | 3,353.64 | 165.47 | 1,010.53 | 12.29  | 12.29 | 17.55 | 0.87      | 21.69          |
| <b>M3 + A.F.Q. 50%</b>  | 202.31 | 3,064.27 | 181.33 | 780.18   | 5.45   | 23.19 | 2.14  | 0.64      | 21.21          |
| <b>B16 + A.F.Q. 50%</b> | 143.89 | 2,700.29 | 94.8   | 726.06   | 11.8   | 13    | 1.76  | 0.34      | 21.21          |
| <b>B44 + A.F.Q. 50%</b> | 230.03 | 3,361.51 | 145.82 | 945.2    | 3.74   | 13.73 | 1.82  | 0.37      | 28.97          |

|                         |        |          |        |        |       |       |       |      |       |
|-------------------------|--------|----------|--------|--------|-------|-------|-------|------|-------|
| <b>B55 + A.F.Q. 50%</b> | 287.48 | 3,255.17 | 174.66 | 842.47 | 15.8  | 1.91  | 22.61 | 0.43 | 26.94 |
| <b>REG + B10</b>        | 285.54 | 2,486.39 | 138.66 | 701.78 | 14.52 | 12.98 | 1.73  | 2.14 | 28.97 |
| <b>ORG</b>              | 41.53  | 3,059.16 | 83.78  | 689.46 | 15.54 | 21.38 | 1.84  | 0.12 | 23.12 |
| <b>ORG + B10</b>        | 242.5  | 3,261.82 | 160.06 | 793.09 | 22.52 | 21.61 | 1.88  | 0.19 | 23.48 |

Como se mencionó anteriormente, en el Cuadro 11, se presentan los resultados de los valores de minerales obtenidos en las semillas de maíz criollo de los distintos tratamientos; comenzando con el sodio el cual tiene un papel clave en la regulación osmótica y el equilibrio iónico, podemos observar que todos los tratamientos con inoculación (B10+A.F.Q.50 – REG+B10 y ORG+B10) superan a los 5 controles (ABS - AZOTO+A.F.Q.50), a excepción de T13 que se quedó muy por debajo de estos valores; los valores más altos fueron para B55 y REG+B10 con 287.48 y 285.54 mg/kg. El potasio, importante en fotosíntesis y transporte de nutrientes, tuvo valores altos en todos los tratamientos con PGPR, especialmente B10+A.F.Q.50 (3,425.84) y B44+A.F.Q.50 (3,361.51 mg/kg). En el caso del calcio, cuyo papel se centra en la integridad y rigidez de las paredes celulares, se observó una mejora importante en B10+A.F.Q.50 (177.57), C17+A.F.Q.50 (165.47), M3+A.F.Q.50 (181.33) y B55+A.F.Q.50 (174.66 mg/kg) respecto a controles, sin embargo, en el caso de B16+A.F.Q.50 fue más bajo que REG y A.F.Q. 100. Para el magnesio, de gran importancia debido a su parte en la clorofila y el metabolismo enzimático, todos los tratamientos con PGPR superan al control REG (362.81 mg/kg), específicamente B10+A.F.Q.50 y C17+A.F.Q.50 son los más altos con valores de 991.54 y 1010.53 mg/kg, respectivamente. El hierro, es de suma importancia en el transporte de electrones y oxígeno, se observa que los controles ABS - AZOTO+A.F.Q.50 tienen valores bajos de 3.6 a 5.8 mg/kg, por lo que B10+A.F.Q.50 – REG+B10 y ORG+B10 muestran incrementos fuertes donde ORG+B10 tiene el mayor valor con 22.52 mg/kg. El zinc, presente en algunos activadores enzimáticos, tiende a reducirse con algunos tratamientos de inoculación, salvo M3+A.F.Q.50 y ORG+B10, aunque en general los valores fueron bajos y realmente ninguno mejora respecto a los controles. Se sabe que el cobre, es un cofactor enzimático y se observó que los tratamientos con inoculación bacteriana tuvieron valores similares o ligeramente mayores que los controles; sin embargo, C17+A.F.Q.50 con un valor de 17.55 y B55+A.F.Q.50 con un valor de 22.61 mg/kg sobresalen de entre los demás. El manganeso entra en el proceso de la fotosíntesis y cubre papeles de actividad enzimática, en general y para este mineral, ABS,

REG y A.F.Q. 100 tienen niveles muy bajos (0.09-0.39 mg/kg), B10+A.F.Q.50 – REG+B10 superaron estos valores, siendo B10 (2.07) y REG+B10 (2.14 mg/kg) los más altos, se observó una mejora clara con la inoculación. Por último, sabemos que el fósforo es de gran importancia para la energía (ATP) y la elongación de raíces, B44+A.F.Q.50 y REG+B10 tuvieron los valores más altos (28.97 mg/kg en ambos), siendo el control REG (13.92 mg/kg) el tratamiento más bajo. Los tratamientos con inoculación de semillas (B10+A.F.Q.50 – REG+B10 y ORG+B10) mejoran de manera significativa el contenido mineral del grano en comparación con los controles sin inoculación o con inoculación comercial (ABS - AZOTO+A.F.Q.50 y ORG).

Dentro de la bibliografía existe evidencia clara de que las PGPR pueden aumentar el contenido nutricional (vitaminas, minerales y otros compuestos) en las semillas de maíz y algunos otros frutos después de la inoculación en campo y al final del ciclo de cultivo o después de la cosecha. Un estudio realizado en el año 2024 por Ahmed *et al.*, demostró un aumento sustancial en el contenido de hierro y zinc en respuesta a la inoculación de especies de *Bacillus* spp. y *Paenibacillus* spp. en maíz. Otro estudio realizado por de la Osa et al., (2021) menciona también que la inoculación con una cepa de *Pseudomonas* sp. mejoró notablemente el estado nutricional de las plantas de tomate. Se observaron aumentos significativos en el contenido de potasio, fósforo y magnesio en los tejidos de la planta, lo que indudablemente se refleja en la calidad del fruto. Castillo-Aguilar et al., (2021) llevó a cabo un estudio con pimientos (*Capsicum annuum* L.) en donde demostraron que diferentes cepas de PGPR (*Bacillus megaterium*, etc.) aumentaron el contenido de nitrógeno, fósforo, potasio, hierro y zinc en los frutos de pimiento, mejorando la calidad nutricional del cultivo. Respecto al aumento de vitaminas, esta área de investigación es relativamente más novedosa y, hasta el momento, se ha observado que los efectos no son siempre directos, sino que frecuentemente son resultado de un mejor estado fisiológico de la planta y de la estimulación de distintas rutas metabólicas; tal es el caso de Pii et al., (2018), que estudiaron la inoculación de *Azotobacter* spp. y *Azospirillum* spp. y se dieron cuenta de que, además de mejorar el rendimiento, también incrementó significativamente el contenido de ácido ascórbico (Vitamina C) y compuestos fenólicos antioxidantes en los frutos de fresa. Y, también, el estudio realizado por Dasgan et al., (2023), que descubrieron que la aplicación de PGPR en cultivos de lechuga resultó en un aumento en el contenido de carotenoides totales

(precursores de la Vitamina A) y tocoferoles (Vitamina E) en las hojas de esta. El rol de las vitaminas en las interacciones planta-PGPR es un área menos conocida que otros mecanismos (como la fijación de nitrógeno o la producción de auxinas). Sin embargo, se postula que la participación de las vitaminas en estas interacciones es un componente crucial de la relación mutualista. La hipótesis central se basa en que, debido a que algunas especies de plantas no pueden producir todas las vitaminas esenciales para su metabolismo, la solución teórica es mantener interacciones con PGPR en la rizosfera que puedan hacer que estas vitaminas estén disponibles. Las vitaminas producidas por los microorganismos son asimiladas por las plantas. De hecho, algunas vitaminas exudadas por las raíces de las plantas no son enteramente sintetizadas por la planta, sino que son vitaminas producidas por microbios, absorbidas y luego exudadas por las raíces. Se ha reportado la producción de vitaminas del grupo B (tiamina, riboflavina, piridoxina, cobalamina, biotina, ácido pantoténico, niacina) por diversos géneros de PGPR, incluyendo *Pseudomonas fluorescens* y *Azotobacter* spp.; un estudio propuso que la promoción del crecimiento de trébol nodulado se atribuyó a la secreción de vitaminas B por *P. fluorescens*, en las leguminosas (*Phaseolus mungo*), se encontró que los nódulos radicales contienen altas cantidades de ácido ascórbico (Vitamina C), y el *Rhizobium* asociado podía producir ácido ascórbico *in vitro* en altas cantidades, lo que sugiere que la planta hospedera podría inducir al simbionte a producir exceso de ácido ascórbico cuando es necesario para su propio beneficio (Palacios et al., 2014).

Las PGPR tienen la capacidad de incrementar la absorción de nutrientes como Ca, K, Fe, Cu, Mn y Zn a través de mecanismos como la bomba de protones ATPasa y la producción de ácidos orgánicos que disminuyen el pH del suelo en la rizósfera, facilitando la disponibilidad de nutrientes (Orona & Leos, 2020), lo que sugiere un potencial de acumulación de estos minerales en las partes comestibles. Estas bacterias mejoran el contenido nutricional en frutos y semillas a través de mecanismos directos e indirectos que ayudan a optimizar la fisiología de la planta y la disponibilidad de nutrientes en la rizósfera; es importante destacar que muchas PGPR actúan mediante múltiples mecanismos de acción de manera simultánea o secuencial, lo cual contribuye a la consistencia y robustez de sus efectos beneficiosos (Martínez-Viveros et al., 2010). En la fijación biológica de nitrógeno, el nitrógeno atmosférico (N<sub>2</sub>) es convertido en amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), una forma de nitrógeno asimilable por las

plantas, el cual es un componente esencial en proteínas y ácidos nucleicos; las PGPR contribuyen directamente a un mayor contenido de proteínas en granos y frutos (Adesemoye et al., 2008). En el caso del fósforo, gran parte del mismo se encuentra en formas insolubles para las plantas y las bacterias pueden transformarlo en formas asimilables ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  o  $\text{HPO}_4^{2-}$ ), esto se logra principalmente a través de la producción de ácidos orgánicos (cítrico, láctico, glucónico, succínico, oxálico, málico), que acidifican la rizósfera y liberan fosfatos y cationes asociados, o enzimas como la fitasa (Orona & Leos, 2020), el P es vital para la fotosíntesis, la transferencia de energía y la división celular y su mayor biodisponibilidad se correlaciona con el incremento de biomasa en la planta. Al producir sideróforos (compuestos de bajo peso molecular (PM) con alta afinidad por el hierro férrico ( $\text{Fe}_3^+$ ), estos lo quelan y lo reducen a  $\text{Fe}_2^+$ , una forma más soluble para las plantas y un mejor suministro de éste se traduce en un mayor contenido mineral en granos. La producción de hormonas como auxinas ayudan a elongar y aumentar el número de raíces laterales y pelos radiculares; con un sistema radicular más extenso mejora la absorción de agua y nutrientes, lo que se refleja directamente en el contenido mineral del fruto; o las giberelinas que contribuyen a la elongación del tallo, altura de planta, floración y, específicamente, la formación de frutos, lo que se vincula con la producción y el contenido nutricional de estos (Orona & Leos, 2020).

Es bien sabido que la inoculación con PGPR nativas influye positivamente en los cultivos de diversas maneras tanto directas como indirectas, a menudo a través de la modificación y el enriquecimiento de la comunidad microbiana rizosférica (Singh et al., 2024), regula la cantidad y la estructura de la comunidad bacteriana (en este caso, en la rizósfera del maíz), lo que podría ser un mecanismo indirecto adicional para mejorar el crecimiento y el rendimiento del maíz (Chen et al., 2021<sup>a</sup>).

Lo ideal es utilizar PGPR nativas del suelo y/o cultivo donde se pretenden aplicar, ya que esto asegura la adaptación de estas y garantiza la colonización de la rizósfera, mejorando rendimiento (Sánchez-Ceja et al., 2023); estas bacterias muestran mejores respuestas de adaptación y colonización de la rizósfera porque poseen mecanismos de adaptación específicos a las condiciones bióticas y abióticas del lugar (Mawish et al., 2015) y su utilización en la elaboración de bioinoculantes tiene mayor posibilidad de efectividad en el campo, por estar adaptadas a las condiciones del suelo de cada región.

De igual forma, los fertilizantes químicos también cambian el microbioma del suelo y, de hecho, su uso excesivo y continuo tiene un impacto negativo significativo en la composición y las funciones de la microbiota del suelo (Grageda-Cabrera et al., 2012). Pueden afectar la estructura de la comunidad bacteriana del suelo y reducir su diversidad y riqueza, destruyendo la microflora y fauna natural del suelo incluyendo bacterias, hongos y otros microorganismos beneficiosos, así como limitar las interacciones bióticas entre microorganismos o reducir sus funciones enzimáticas, las cuales son importantes para los ciclos biogeoquímicos; muchos de ellos conducen a alteraciones del pH y la CE (conductividad eléctrica) del suelo, especialmente cuando la aplicación es excesiva o a largo plazo y sin una guía adecuada (Martínez, 2022).

En este caso, la promoción del crecimiento y el rendimiento mejorado por medio de la inoculación con bacterias nativas en plantas de maíz criollo fertilizadas bajo un régimen reducido de nutrientes se podría atribuir a una mayor absorción de nutrientes y un mejor estado nutricional, debido a su capacidad mostrada para fijar nitrógeno, solubilizar fosfato y solubilizar calcio tal como se observó en el desarrollo del sistema radicular mejorado y distintos parámetros de rendimiento.

Los altos precios de insumos agrícolas que enfrenta la agricultura global reflejan el impacto de su escasez y, al mismo tiempo, se prevé un aumento en la demanda de inoculantes debido a la adopción de nuevas técnicas para minimizar el costo en los sistemas de producción. Pese al potencial demostrado de los microorganismos en la agricultura, aún falta por lograr el éxito deseado y aún se requieren esfuerzos en la investigación para explorar e identificar cepas específicas para tales efectos (Nosheen, 2021). Debido a la variabilidad funcional de las cepas nativas es necesario una valoración exhaustiva de estas para determinar su efecto en este sistema en particular. Existe una gran diversidad de bacterias nativas que permanecen sin explorar (Loper et al., 2012). Esta investigación brinda información directa sobre la ventaja de la inoculación con cepas nativas del maíz criollo en campo. Se sabe que los inoculantes microbianos no pueden reemplazar a los fertilizantes químicos, sin embargo, se pueden utilizar para complementar y reducir considerablemente la tasa de aplicación. En este caso, fue posible optimizar la concentración de N, P y Ca hasta en un 50%, manteniendo e, incluso, superando el rendimiento y distintos parámetros.

## 8. Resumen de resultados

Con base en los resultados analizados anteriormente y el hallazgo general de este estudio, podemos decir que los microorganismos aislados de la rizósfera del maíz criollo son capaces de fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos y calcio, dentro de los cuales el mejor fijador de nitrógeno fue la cepa B10 con casi 30  $\mu\text{g/mL}$  de  $\text{NH}_4$  en el medio, mientras que el mejor solubilizador de fosfatos y calcio fue la cepa B44 con 84.5  $\mu\text{g/mL}$  de fosfato solubilizado en forma de ortofosfatos y 319.223  $\mu\text{g/mL}$  de calcio solubilizado, respectivamente. En la fase de invernadero hasta etapa V3 (escala BBCH de 1-13), la cepa B16 mejoró 4/6 parámetros siendo estos a) peso seco (0.5 g), b) longitud de planta (21 cm), c) longitud de tallo (4 cm) y d) longitud de raíz (42 cm), mientras que la cepa B44 mejoró 3/6, a) peso fresco (6 g), b) peso seco (0.5 g) y c) número de raíces (12 por planta). En el experimento en campo, el tratamiento B10+A.F.Q.50 fue la más destacada mejorando parámetros como a) peso fresco (445 g), b) peso seco (390 g), c) peso de mazorca (200 g), d) peso de grano (180 g) y e) un rendimiento de 6.9 t/ha; por otro lado, el tratamiento B44+A.F.Q.50 logró una mejora también en parámetros como a) peso fresco (416 g), b) peso seco (323 g), c) peso de mazorca (193 g), d) peso de grano (172 g) y un rendimiento de 6.6 t/ha. Por último, en el estudio del contenido de vitaminas y minerales el tratamiento B44+A.F.Q.50 aumentó en todas las vitaminas y el tratamiento REG+B10 destacó en vitamina B1, B3, B6 (aumentó 5 veces) y B9 (aumentó el 30%); respecto a los minerales, el tratamiento M3+A.F.Q.50 mejoró todos los minerales y el B10+A.F.Q.50 al menos 7/9 minerales con al menos el doble del valor control (REG).

## 9. Conclusiones

La inoculación con cepas nativas aisladas del cultivo de maíz criollo de la localidad de Ocampo, Michoacán, permitió reducir en un 50% la aplicación de nitrógeno, fósforo y calcio en campo en condiciones de temporal, incrementando el rendimiento de grano hasta en un 40% y manteniendo e, incluso, superando los parámetros vegetales y demás parámetros de rendimiento que las plantas fertilizadas con la dosis usada convencionalmente y respecto a los análisis físicoquímicos, con lo cual se demostró su capacidad para usarse como una herramienta alternativa factible en la optimización de fertilizantes químicos, representando un ahorro en el costo total de los fertilizantes químicos, además de una reducción

considerable de elementos químicos perjudiciales para el ambiente. También, se demuestra que las PGPR pueden aumentar el contenido de minerales en el grano de maíz además de compuestos nutricionales cruciales como las vitaminas.

## Referencias

- Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., and Kadmiri, M. I. (2021). Nitrogen fixing *Azotobacter* species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628379>
- Abubakar, M. and Attanda, M. L. (2013). The concept of sustainable agriculture: Challenges and prospects. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 53(1), 012001. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/53/1/012001>
- Adesemoye, A. O., Torbert, H. A., and Kloepper, J. W. (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>
- Aguirre Calero, D. M. y Zambrano Ganchozo, A. Y. (2023). *Análisis comparativo de lixiviación de fertilizantes de fuentes de liberación simple (n-p-k) y fuentes de liberación controlada en suelos agrícolas del cantón La Concordia provincia Santo Domingo de los Tsáchilas* [Tesis de pregrado]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. <https://dspace.esPOCH.edu.ec/items/feb1c787-6fa2-4754-ae67-e241bdf2995>
- Ahmad, F., Ahmad, I., Aqil, F., Ahmed Wani, A., and Sousche, Y. S. (2006). Plant growth promoting potential of free-living diazotrophs and other rhizobacteria isolated from Northern Indian soil. *Biotechnology Journal*, 1(10), 1112–1123. <https://doi.org/10.1002/biot.200600132>
- Ahmad, M., Hussain, A., Dar, A., Luqman, M., Ditta, A., Iqbal, Z., ... and Sabagh, A. E. (2023). Combating iron and zinc malnutrition through mineral biofortification in maize through plant growth promoting *Bacillus* and *Paenibacillus* species. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1094551. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1094551>
- Ahmed, A., Sultan, T., Qadir, G., Afzal, O., Ahmed, M., Shah, S., Asif, M., Ali, S., and Zeeshan, M. (2020). Impact assessment of plant growth promoting rhizobacteria on growth and nutrient uptake of maize (*Zea mays*). *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 33(2), 234-246.
- Aini, N., Yamika, W. S., and Pahlevi, R. W. (2019). The effect of nutrient concentration and inoculation of PGPR and AMF on the yield and fruit quality of hydroponic cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. *cerasiforme*). *Journal of Applied Horticulture*, 21(2), 116-122.
- Aloo, B. N., Makumba, B. A., and Mbega, E. R. (2019). The potential of Bacilli rhizobacteria for sustainable crop production and environmental sustainability. *Microbiological Research*, 219, 26–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.011>
- Alori, E. T., Glick, B. R., and Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 8, 971. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>
- Al-Tammar, F. K. and Khalifa, A. Y. Z. (2022). Plant growth promoting bacteria drive food security. *Brazilian Journal of Biology*, 82, e267257. DOI: 10.1590/1519-6984.267257
- Amezquita-Aviles, C. F., Coronel-Acosta, C. B., de los Santos-Villalobos, S., Santoyo, G. and Parra-Cota, F. I. (2021). Characterization of native plant growth-promoting bacteria (PGPB) and their effect on the development of maize (*Zea mays* L.). *Biotechnia*, 24(1), 15-22. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v24i1.1395>
- Anderson, T. (2019). Agricultura climáticamente inteligente. In A. Kothari, A. Salleh, A. Escobar, F. Demaria, y A. Acosta (Eds.), *Pluriverso: Un diccionario del posdesarrollo* (pp. 85-88). Icaria Editorial.
- Arai, Y. and Sparks, D. L. (2007). Dynamics of the phosphate reaction in soils and soil components: a multiscale approach. *Advances in Agronomy*, 94, 135–179. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(06\)94003-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(06)94003-6)
- Bahuguna, R., & Singh, M. P. (2011). Physiology of nitrogen fixation in legumes under elevated CO<sub>2</sub>. En A. K. Singh & B. D. Sharma (Eds.), *Advances in Plant Physiology* (pp. 123-145). Springer.

- Baldani, J. I., Reis, V. M., Videira, S. S., Boddey, L. H., and Baldani, V. L. D. (2014). The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. *Plant and Soil*, 384(1-2), 413–431. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2186-6>
- Bashan, Y., and Holguin, G. (1997). Azospirillum-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, 43, 103–121. <https://doi.org/10.1139/m97-015>
- Bashir, S., Basit, A., Abbas, R. N., Naeem, S., Bashir, S., Ahmed, N., Alotaibi, S. S., El-Shehawi, A. M., Zuberi, H., Tariq, M. R., Al-Huqail, A. A., Al-Harbi, M. S., Alghanem, S. M. S., Alzahrani, O. R., Al-Doss, A. A., Alqarawi, A. A., and Abd\_Allah, E. F. (2021). Combined application of zinc-lysine chelate and zinc-solubilizing bacteria improves yield and grain biofortification of maize (*Zea mays* L.). *PLOS ONE*, 16(7), e0254647. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254647>
- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., and Enshasy, H. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, 13(3), 1140. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
- Bavera, G. A. (2006). *Recopilación para el curso de Producción Bovina de Carne* [Apuntes de curso]. Facultad de Veterinaria, Universidad Nacional del Río Cuarto. Recuperado de <https://www.studocu.com/es-ar/document/universidad-nacional-de-rio-cuarto/vacunos-para-carne/2006-bavera-equivalencias-ganaderas/29297903>
- Baya, A. M., Boethling, R. S., and Ramos-Cormenzana, A. (1981). Vitamin production in relation to phosphate solubilization by soil bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 13(6), 527–531.
- Bhat, T. A., Ahmad, D., Ganai, A., and Khan, O. A. (2015). Nitrogen fixing biofertilizers, mechanism and growth promotion: A review. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 9(2), 1675-1690.
- Bhattarai, A., Bhattarai, B., and Pandey, S. (2015). Variation of soil microbial population in different soil horizons. *Journal of Microbiology & Experimentation*, 2(2), 75-78. <https://doi.org/10.15406/jmen.2015.02.00044>
- Bellon, M. R., Hodson, D., and Hellin, J. (2011). Assessing the vulnerability of traditional maize seed systems in Mexico to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 13432-13437. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103373108>
- Bender, R. (2012). *Nutrient uptake and partitioning in high-yielding corn* [Tesis de maestría, University of Illinois at Urbana-Champaign]. IDEALS. <https://www.ideals.illinois.edu/items/35570>
- Bennetzen, J. y Hake, S. (Eds.). (2009). *Handbook of maize: Its biology*. Springer.
- Bevivino, A., Sarrocco, S., Dalmastri, C., Tabacchioni, S., Cantale, C., and Chiarini, L. (1998). Characterization of a free-living maize-rhizosphere population of Burkholderia cepacia: Effect of seed treatment on disease suppression and growth promotion of maize. *FEMS Microbiology Ecology*, 27, 225–237. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(98\)00069-5](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(98)00069-5)
- Biel, C., Camprubí, A., Lovato, P. E., and Calvet, C. (2021). On-farm reduced irrigation and fertilizer doses, and arbuscular mycorrhizal fungal inoculation improve water productivity in tomato production. *Scientia Horticulturae*, 288, 110337. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110337>
- Breidt, G., Labuschagne, N., and Coutinho, T. A. (2017). Seed treatment with selected plant growth-promoting rhizobacteria increases maize yield in the field. *Annals of Applied Biology*, 171, 229–236. <https://doi.org/10.1111/aab.12366>
- Bodale, I., Mihalache, G., Achitei, V., Teliban, G.-C., Cazacu, A., and Stoleru, V. (2021). Evaluation of the nutrients uptake by tomato plants in different phenological stages using an electrical conductivity technique. *Agriculture*, 11(4), 292. <https://doi.org/10.3390/agriculture11040292>
- Burchi, G., Chessa, S., Gambineri, F., Kocian, A., Massa, D., Milazzo, P., ... and Ruggeri, A. (2018).

- Information technology controlled greenhouse: A system architecture. En *2018 IEEE IoT Vertical and Topical Summit on Agriculture (Tuscany)* (pp. 1-6). IEEE. <https://doi.org/10.1109/IOT-TUSCANY.2018.8373044>
- Burén, S., and Rubio, L. M. (2017). State of the art in eukaryotic nitrogenase engineering. *FEMS Microbiology Letters*, 365(2), fnx274. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx274>
- Burgess, C. M., Smid, E. J., and van Sinderen, D. (2009). Bacterial vitamin B2, B11 and B12 overproduction: An overview. *International Journal of Food Microbiology*, 133(1-2), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.04.012>
- Busby, P. E., Soman, C., Wagner, M. R., Friesen, M. L., Kremer, J., Bennett, A., Morsy, M., Eisen, J. A., Leach, J. E., and Dangl, J. L. (2017). Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. *PLOS Biology*, 15(3), e2001793. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001793>
- Calvo, P., Watts, D. B., Kloepper, J. W., and Torbert, H. A. (2016). Effect of microbial-based inoculants on nutrient concentrations and early root morphology of corn (*Zea mays*). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 180(1), 56-70. <https://doi.org/10.1002/jpln.201500616>
- Cassán, F., Perrig, D., Sgroi, V., Masciarelli, O., Penna, C., and Luna, V. (2009). Azospirillum brasilense Az39 and Bradyrhizobium japonicum E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of Soil Biology*, 45, 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.08.005>
- Castellanos, J. (2009). *Manual de producción de maíz*. INTAGRI, S. C. Recuperado de: <https://www.intagri.com/articulos/cereales/manual-de-produccion-de-maiz>
- Castillo-Aguilar, C. de la C., Córdova-Gaspar, A., Carrillo-Castañeda, G., Ortiz-García, C. F., Coh-Méndez, D., and Chiquini-Medina, R. A. (2021). Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on the growth of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agro Productividad*. <https://doi.org/10.32854/agrop.v14i11.1690>
- Chen, L., Li, K., Shang, J., Wu, Y., Chen, T., Wanyan, Y., Wang, E., Tian, C., Chen, W., Chen, W., Mi, G., and 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, 1075-1088. <https://doi.org/10.1007/s00374-021-01598-6>
- Chen, L., Hao, Z., Li, K., Sha, Y., Wang, E., Sui, X., Mi, G., Tian, C., and Chen, W. (2021). Effects of growth-promoting rhizobacteria on maize growth and rhizosphere microbial community under conservation tillage in Northeast China. *Microbial Biotechnology*, 14(2), 535-550. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13693>
- Chindicue, A., Banguero, A., Miranda Vega, E., Rosero Galvis, H., Mina, J. A., Marín, J., Filigrana, L., Montero, L. U., Nieto, O. E., y Lopez Quiceno, O. L. (2019). *Evaluación del desarrollo y producción de maíz (Zea mays)*. Maíz blanco Ica V-156 y el híbrido pioneer p3966wh. Finca del crucero en el corregimiento La Tupia – Pradera [Tesis de licenciatura, Centro Agropecuario Buga].
- Chi-Sánchez, F. A., Alvarado-López, C. J., Cristóbal-Alejo, J., González-Moreno, A., y Reyes-Ramírez, A. (2021). Contenido mineral de maíces criollos de Yucatán: análisis mediante  $\mu$ -Fluorescencia de Rayos X. *Terra Latinoamericana*, 39, e454. <https://doi.org/10.40.18845/tl.v39i0.4546>
- Chuang, C., Kuo, Y. L., Chao, C., and Chao, W. (2007). Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. *Biology and Fertility of Soils*, 43, 575-584. <https://doi.org/10.1007/s00374-006-0140-3>
- Ciampitti, I., Boxler, M., y Garcia, F. (2010). Nutrición de maíz: requerimientos y absorción de nutrientes. *Informaciones Agronómicas del Cono Sur*, 4, pp. 14-18. International Plant Nutrition Institute.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (2022). Razas de maíz de México. *Biodiversidad Mexicana*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/aliamentos/maices/razas-de-maiz>

- Compant, S., Samad, A., Faist, H., and Sessitsch, A. (2019). A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of Advanced Research*, 19, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.004>
- Corrales-Ramírez, L. C., y Sánchez-Leal, L. C. (2005). Evaluación de la congelación para conservación de especies autóctonas bacterianas. *Nova*, 3(4), 21–29. <https://doi.org/10.22490/24629448.333>
- Coutinho-Edson, L. M., Orioli, J., Valdeci, S., Coutinho, N., André, M. y Cardoso, S. S. (2014). Nutrición, producción y calidad de frutos de tomate para procesamiento en función de la fertilización con fósforo y nitrógeno. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 18(2), 40–46. <https://doi.org/10.2477/vol18iss2pp40-46>
- Criollo, P. J., Obando, M., Sánchez, L. M., y Bonilla, R. (2012). Efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a *Pennisetum clandestinum* en el altiplano cundiboyacense. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 13(2), 189–195. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol13\\_num2\\_art:237](https://doi.org/10.21930/rcta.vol13_num2_art:237)
- Cruz, H. E. y Verdelet, G. I. (2007). Tortillas de maíz: una tradición muy nutritiva. *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana*, 20(3), 1–3.
- Dasgan, H. Y., Yilmaz, D., Zikaria, K., Ikiz, B., and Gruda, N. S. (2023). Enhancing the yield, quality and antioxidant content of lettuce through innovative and eco-friendly biofertilizer practices in hydroponics. *Horticulturae*, 9(12), 1274. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9121274>
- De Bang, T. C., Husted, S., Laursen, K. H., Persson, D. P., and Schjoerring, J. K. (2020). The molecular-physiological functions of mineral macronutrients and their consequences for deficiency symptoms in plants. *New Phytologist*, 229(5), 2446–2469. <https://doi.org/10.1111/nph.17074>
- de la Osa, C., Rodríguez-Carvajal, M. Á., Gandullo, J., Aranda, C., Megías, M., Ollero, F. J., López-Baena, F. J., and Monreal, J. A. (2021). Plant growth-promoting rhizobacteria modulate the concentration of bioactive compounds in tomato fruits. *Separations*, 8(11), 223. <https://doi.org/10.3390/separations8110223>
- Deryło, M., and Skorupska, A. (1993). Enhancement of symbiotic nitrogen fixation by vitamin-secreting fluorescent *Pseudomonas*. *Plant and Soil*, 154(2), 211–217. <https://doi.org/10.1007/BF00012525>
- Dessaux, Y., Grandclément, C., and Faure, D. (2016). Engineering the rhizosphere. *Trends in Plant Science*, 21(3), 266–278. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.002>
- Di Salvo, L. P., Cellucci, G. C., Carlino, M. E., and García de Salamone, I. E. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation and nitrogen fertilization increase maize (*Zea mays* L.) grain yield and modified rhizosphere microbial communities. *Applied Soil Ecology*, 126, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.02.010>
- Dobereiner, J., Marriel, I. E., and 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 Santos, R. M., Diaz, P. A. E., Lobo, L. L. B., and Rigobelo, E. C. (2020). Use of plant growth-promoting rhizobacteria in maize and sugarcane: Characteristics and applications. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 136. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00136>
- Edelman, M., and Colt, M. (2016). Nutrient value of leaf vs. seed. *Frontiers in Chemistry*, 4, 32. <https://doi.org/10.3389/fchem.2016.00032>
- Edi-Premono, M., Moawad, M. A., and 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.
- Eisenhauer, N., Lanoue, A., Strecker, T., Scheu, S., Steinauer, K., Thakur, M. P., and Mommer, L. (2017). Root biomass and exudates link plant diversity with soil bacterial and fungal biomass. *Scientific Reports*, 7(1), 44641. <https://doi.org/10.1038/srep44641>
- Emmanuel, O. C., and Babalola, O. O. (2020). Productivity and quality of horticultural crops through co-inoculation of arbuscular mycorrhizal

- fungi and plant growth promoting bacteria. *Microbiological Research*, 239, 126569. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126569>
- Erismán, J. W., Galloway, J. N., Seitzinger, S., Bleeker, A., Dise, N. B., Petrescu, A. M. R., Leach, A. M., and de Vries, W. (2013). Consequences of human modification of the global nitrogen cycle. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621), 20130116. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0116>
- Espinoza, N. G. Z. (2023). Producción de maíz: Evidencia de Sinaloa, México. *International Journal of Professional Business Review*, 8(9), e03558. <https://doi.org/10.26668/businessreview/2023.v8i9.3558>
- Fathi, A. (2020). *Tillage systems and use of chemical fertilizers (N.P.K) interaction on soil properties and maize quantitative and qualitative traits* [Tesis de maestría, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch]. Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/385978740\\_Tillage\\_systems\\_and\\_use\\_of\\_chemical\\_fertilizers\\_NPK\\_Interaction\\_on\\_soil\\_properties\\_and\\_maize\\_quantitative\\_and\\_qualitative\\_traits](https://www.researchgate.net/publication/385978740_Tillage_systems_and_use_of_chemical_fertilizers_NPK_Interaction_on_soil_properties_and_maize_quantitative_and_qualitative_traits)
- Fathi, A., and Zeidali, E. (2021). Conservation tillage and nitrogen fertilizer: a review of corn growth, yield, and weed management. *Central Asian Journal of Plant Science Innovation*, 1(3), 121–142. [https://www.cajpsi.com/article\\_137559.html](https://www.cajpsi.com/article_137559.html)
- FAO. (2002). Perspectivas para el medio ambiente. En \*Agricultura mundial: Hacia los años 2015/2030\*. <http://www.fao.org/3/y3557s/y3557s11.htm>
- FAO. (2022). *El mercado mundial de fertilizantes: Balance de la situación de un mercado en dificultades*. <https://www.fao.org/3/ni280es/ni280es.pdf>
- FAO. (2022). Surging food prices: FAO calls for import financing facility for poorer nations at G20 meeting [Comunicado de prensa]. <https://www.fao.org/newsroom/detail/surging-food-prices-fao-calls-for-import-financing-facility-for-poorer-nations-at-g20-meeting/en>
- Finkel, O. M., Castrillo, G., Herrera Paredes, S., Salas González, I., and Dangl, J. L. (2017). Understanding and exploiting plant beneficial microbes. *Current Opinion in Plant Biology*, 38, 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.018>
- Finch-Savage, W. E., and Bassel, G. W. (2015). Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*, 67(3), 567–591. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv490>
- Freschet, G. T., Pagès, L., Iversen, C. M., Comas, L. H., Rewald, B., Roumet, C., Klimešová, J., Zadworny, M., Poorter, H., Postma, J. A., Adams, T. S., Bagniewska-Zadworna, A., Bengough, A. G., Blancaflor, E. B., Brunner, I., Cornelissen, J. H. C., Garnier, E., Gessler, A., ... McCormack, M. L. (2021). A starting guide to root ecology: strengthening ecological concepts and standardising root classification, sampling, processing and trait measurements. *New Phytologist*, 232(3), 973–1122. <https://doi.org/10.1111/nph.17572>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). *Food balance sheets*. FAOSTAT. Retrieved April 24, 2020, from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). *Production, trade and agricultural use of inorganic fertilizers (2000–2021)*. FAOSTAT. [https://www.fao.org/statistics/highlights-archive/highlights-detail/inorganic-fertilizers-\(2000-2021\)/en](https://www.fao.org/statistics/highlights-archive/highlights-detail/inorganic-fertilizers-(2000-2021)/en)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2024). *Inorganic fertilizers* [Conjunto de datos]. FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RFN>
- Galindo, F. S., Pagliari, P. H., da Silva, E. C., Rodrigues, W. A., Fernandes, G. C., Biagini, A. L. C., Baratella, E. B., de C. Pereira, N. R., and Teixeira Filho, M. C. M. (2024). Impact of nitrogen fertilizer sustainability on corn crop yield: the role of beneficial microbial inoculation interactions. *BMC Plant Biology*, 24, 268. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-04971-3>
- Gamalero, E., Bona, E., and Glick, B. (2022). Current techniques to study beneficial plant-microbe interactions. *Microorganisms*, 10(7),

1380. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071380>
- García, J. E., Maroniche, G., Creus, C., Suárez-Rodríguez, R., Ramirez-Trujillo, J. A., y Groppa, M. D. (2017). In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. *Microbiological Research*, 202, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.04.007>
- García, O. F. (2005). *Criterios para el manejo de la fertilización del cultivo de maíz* [Material de conferencia]. INPOFOS/PPI/PPIC Conosur. Recuperado de: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglefindmkaj/https://www.profertil.com.ar/wp-content/uploads/2020/08/nutricion-en-el-cultivo-de-maiz-ipni-f-garcia-2005.pdf>
- Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Wood, W. A., and Krieg, N. R. (1994). *Methods for general and molecular bacteriology*. American Society for Microbiology.
- Gómez, F., Martínez-Toledo, M. V., Salmerón, V., Rodelas, B., and González-López, J. (1999). Influence of the insecticides profenofos and diazinon on the microbial activities of *Azospirillum brasilense*. *Chemosphere*, 39(6), 945–957. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00033-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00033-0)
- González-Cortés, N., Silos-Espino, H., Estrada Cabral, J. C., Chávez-Muñoz, J. A., y Tejero Jiménez, L. (2016). Características y propiedades del maíz (*Zea mays* L.) criollo cultivado en Aguascalientes, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(3), 669–680. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342016000300669&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000300669&lng=es&tlng=es)
- González, M., Ríos, D., Peña Rojas, K., García, E., Acevedo, M., Cartes, E., y Sánchez Olate, M. (2020). Efecto de la concentración de fósforo y calcio sobre atributos morfo-fisiológicos y potencial de crecimiento radical en plantas de *Aextoxicon punctatum* producidas a raíz cubierta en la etapa de endurecimiento. *Bosque*, 41(2), 137–146. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002020000200137>
- Gopalakrishnan, S., Vadlamudi, S., Samineni, S., Kumar, C. V. S. (2016). Plant growth-promotion and biofortification of chickpea and pigeonpea through inoculation of biocontrol potential bacteria, isolated from organic soils. *Springerplus* 5, 1882. doi: 10.1186/s40064-016-3590-6
- Grageda-Cabrera, O. A., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J. J., y Vera-Núñez, J. A. (2012). Impact of biofertilizers in agriculture. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6), 1261–1274. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i6.1447>
- Guillén-Pérez, L. A., Sánchez-Quintanar, C., Mercado-Domenech, S., y Navarro-Garza, H. (2002). Análisis de atribución causal en el uso de semilla criolla y semilla mejorada de maíz. *Agrociencia*, 36, 377–387. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00972>
- Gupta, G., Parihar, S. S., Kumar, N., Kumar, S., and Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 7(2), 96–102. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>
- Guzmán Buñay, D. A. (2017). *Etapas fenológicas del maíz (Zea mays L.) var. tusilla bajo las condiciones climáticas del cantón Cumandá, provincia de Chimborazo* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. Recuperado de: <https://redi.cedia.edu.ec/document/225058>
- Hakim, S., Naqqash, T., Nawaz, M. S., Laraib, I., Siddique, M. J., Zia, R., Mirza, M. S., and Imran, A. (2021). Rhizosphere engineering with plant growth-promoting microorganisms for agriculture and ecological sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 617157. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.617157>
- Haskett, T. L., Tkacz, A., y Poole, P. S. (2021). Engineering rhizobacteria for sustainable agriculture. *The ISME Journal*, 15(4), 949–964. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00835-4>
- Hassan, M. K., McInroy, J. A., and Kloepper, J. W. (2019). The interactions of rhizodeposits with plant growth-promoting rhizobacteria in the rhizosphere: A review. *Agriculture*, 9(7), 142. <https://doi.org/10.3390/agriculture9070142>

- Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Møller, I. S., and White, P. (2012). Functions of macronutrients. In P. Marschner (Ed.), *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (pp. 135-189). Academic Press.
- Hellin, J., Keleman, A., Lopez, D., Donnet, L., y Flores, D. (2013). The importance of niche markets: A case study of blue and pozole-making maize in Mexico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(6), pp. 315-328. DOI:[10.35196/rfm.2013.3-S3-A.315](https://doi.org/10.35196/rfm.2013.3-S3-A.315)
- Higdon, S. M., Pozzo, T., Tibbett, E. J., Chiu, C., Jeannotte, R., Weimer, B. C., y Bennett, A. B. (2020). Diazotrophic bacteria from maize exhibit multifaceted plant growth promotion traits in multiple hosts. *PLOS ONE*, 15(9), e0239081. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239081>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2019). *Encuesta Nacional Agropecuaria 2019* (ENA 2019). <https://www.inegi.org.mx/programas/ena/2019/>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2024). *Resultados adicionales del Censo Agropecuario 2022* [Boletín de prensa]. [https://www.inegi.org.mx/contenidos/sala\\_de\\_prensa/boletines/2024/CA\\_Adic/CA\\_Adic2024.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/sala_de_prensa/boletines/2024/CA_Adic/CA_Adic2024.pdf)
- Organic Materials Review Institute. (2021). *OMRI products list for Mexico* [PDF file]. <https://www.omri.org/es/lista-mexico>
- Jacoby, R., Peukert, M., Succurro, A., Koprivova, A., and Kopriva, S. (2017). The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition—current knowledge and future directions. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1617. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01617>
- Jalal, A., Galindo, F. S., Boleta, E. H. M., Oliveira, C. E. D. S., Reis, A. R. D., Nogueira, T. A. R., Moraes, M. F., Moreira, A., Mortinho, E. S., and Teixeira Filho, M. C. M. (2021). Common bean yield and zinc use efficiency in association with diazotrophic bacteria co-inoculations. *Agronomy*, 11(5), 959. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050959>
- Jaradat, A. A., and Goldstein, W. (2018). Diversity of maize kernels from a breeding program for protein quality III: Ionome profiling. *Agronomy*, 8(2), 9. <https://doi.org/10.3390/agronomy8020009>
- Juárez-Rosete, C. R., Aguilar-Castillo, J. A., Aburto-González, C. A., y Alejo-Santiago, G. (2019). Producción de biomasa, requerimiento nutrimental de nitrógeno, fósforo y potasio, y concentración de la solución nutritiva en orégano. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 25(1), 17-28. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2018.02.006>
- Kalayu, G. (2019). Phosphate solubilizing microorganisms: Promising approach as biofertilizers. *International Journal of Agronomy*, 2019, 4917256. <https://doi.org/10.1155/2019/4917256>
- Kalyanasundaram, G. T., Syed, N., and Subburamu, K. (2021). Recent developments in plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture. In V. K. Gupta and M. A. Treichel (Eds.), *Recent developments in applied microbiology and biochemistry* (pp. 181–192). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821406-0.00017-5>
- Kato Yamakake, T. A., Mapes, C., Mera, L. M., Serratos, J. A., y Bye, R. (2009). *Origen y diversificación del maíz: Una revisión analítica*. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Kaur, J. (2021). PGPR in management of soil toxicity. In V. Kumar, R. Prasad, & M. Kumar (Eds.), *Rhizobiont in bioremediation of hazardous waste* (pp. 317–344). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-0602-1\\_14](https://doi.org/10.1007/978-981-16-0602-1_14)
- Khalid, A., Tahir, S., Arshad, M., and Zahir, Z. A. (2004). Relative efficiency of rhizobacteria for auxin biosynthesis in rhizosphere and non-rhizosphere soils. *Australian Journal of Soil Research*, 42, 921–926. <https://doi.org/10.1071/SR04019>
- Khalid, S., Asghar, H. N., Akhtar, M. J., Aslam, A., and Zahir, Z. A. (2015). Biofortification of iron in chickpea by plant growth promoting rhizobacteria. *Pakistan Journal of Botany*, 47(3), 1191–1194.
- Khan, A. A., Jilani, G., Akhtar, M. S., Naqvi, S. M. S., and Rasheed, M. (2009). Phosphorus solubilizing

- bacteria: occurrence, mechanisms, and their role in crop production. *Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 1(1), 48–58. [http://www.uaar.edu.pk/jabs/files/jabs\\_1\\_1\\_6.pdf](http://www.uaar.edu.pk/jabs/files/jabs_1_1_6.pdf)
- Khan, M. S., Zaidi, A., and Wani, P. A. (2009). Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture: A review. In E. Lichtfouse, M. Navarrete, P. Debaeke, S. Véronique, & C. Alberola (Eds.), *Sustainable agriculture* (pp. 551–570). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8\\_34](https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_34)
- Khan, M. S., Zaidi, A., and Ahmad, E. (2014). Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. In M. S. Khan, A. Zaidi, and J. Musarrat (Eds.), *Phosphate solubilizing microorganisms* (pp. 31–62). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-08216-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-08216-5_2)
- Khan, M. N., Mobin, M., Abbas, Z. K., and Alamri, S. A. (2018). Fertilizers and their contaminants in soils, surface and groundwater. En D. A. Dellasala & M. I. Goldstein (Eds.), *Encyclopedia of the Anthropocene* (pp. 225–240). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.09888-2>
- Kimble, K. W., Walker, J. P., Finegold, D. N., & Asher, S. A. (2006). Progress toward the development of a point-of-care photonic crystal ammonia sensor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(4), 678–685. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0453-y>
- Kloepper, J., and Schroth, M. (1978). Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. En *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria* (pp. 879–882). Institut National de la Recherche Agronomique.
- Kogut, P. (2024). Growing corn: How to plant, care, & harvest fruitfully. *EOS Data Analytics*. <https://eos.com/blog/how-to-grow-corn/>
- Krey, T., Vassilev, N., Baum, C., and Eichler-Löbermann, B. (2013). Effects of long-term phosphorus application and plant-growth promoting rhizobacteria on maize phosphorus nutrition under field conditions. *European Journal of Soil Biology*, 55, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.12.007>
- Kuan, K. B., Othman, R., Abdul Rahim, K., and Shamsuddin, Z. H. (2016). Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of maize under greenhouse conditions. *PLOS ONE*, 11(3), e0152478. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152478>
- Kumar, A. y Dubey, A. (2020). Rhizosphere microbiome: Engineering bacterial competitiveness for enhancing crop production. *Journal of Advanced Research*, 24, 337–352. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.04.014>
- Kumar, A.; Maurya, B.R.; Raghuwanshi, R. . (2014). *Isolation and characterization of PGPR and their effect on growth, yield and nutrient content in wheat (Triticum aestivum L.)*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(4), 121–128. doi:10.1016/j.bcab.2014.08.003
- Kumar, A., Patel, J. S., Meena, V. S., and Srivastava, R. (2019). Recent advances of PGPR based approaches for stress tolerance in plants for sustainable agriculture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20, 101271. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101271>
- Kumar, U., Shahid, M., Tripathi, R., Mohanty, S., Kumar, A., Bhattacharyya, P., Lal, B., Gautam, P., Raja, R., Panda, B. B., Jambhulkar, N. N., Shukla, A. K., and Kumar, A. (2017). Variation of functional diversity of soil microbial community in sub-humid tropical rice-rice cropping system under long-term organic and inorganic fertilization. *Ecological Indicators*, 73, 536–543. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.10.014>
- 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), 6–14. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/22205>
- Laslo, É., and Mara, G. (2019). Is PGPR an alternative for NPK fertilizers in sustainable agriculture? In D.

- Singh, V. Gupta, and R. Prabha (Eds.), *Microbial interventions in agriculture and environment* (pp. 53–72). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8391-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8391-5_3)
- Lazos, E. y Chauvet, M. (2011). *Análisis del contexto social y biocultural de las colectas de maíces nativos en México* (Informe de Gestión, Proyecto Global de Maíces Nativos). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. [http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo9\\_Analisis\\_Especialistas/Lazos%20y%20Chauvet%202011.pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo9_Analisis_Especialistas/Lazos%20y%20Chauvet%202011.pdf)
- Lenka, S., Rajendiran, S., Coumar, V., Dotaniya, M., and Saha, J. (2016, febrero). Impact of fertilizers use on environmental quality. [Ponencia]. National Seminar on Environmental Concern for Fertilizer Use in Future, Division of Environmental Soil Science, IARI, Nueva Delhi, India. Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/298388032\\_Impact\\_of\\_Fertilizers\\_use\\_on\\_Environmental\\_Quality](https://www.researchgate.net/publication/298388032_Impact_of_Fertilizers_use_on_Environmental_Quality)
- Lobo, L. L. B., dos Santos, R. M., and Rigobelo, E. C. (2019). Promotion of maize growth using endophytic bacteria under greenhouse and field conditions. *Australian Journal of Crop Science*, 13, 2067–2074. <https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.12.p2077>
- Loper, J. E., Hassan, K. A., Mavrodi, D. V., Davis, E. W., Lim, C. K., Shaffer, B. T., Elbourne, L., Stockwell, V. O., Hartney, S. L., Breakwell, K., Henkels, M. D., Tetu, S. G., Rangel, L. I., Kidarsa, T. A., Wilson, N. L., van de Mortel, J. E., Song, C., Blumhagen, R., Radune, D., ... and Paulsen, I. T. (2012). Comparative genomics of plant-associated *Pseudomonas* spp.: Insights into diversity and inheritance of traits involved in multitrophic interactions. *PLoS Genetics*, 8(7), e1002784. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002784>
- López-Marín, L. (2017). *Manual técnico del cultivo de tomate* (*Solanum lycopersicum*). Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-10921.pdf>
- López-Montañez, R., Calero-Rios, E., Quispe, K., Huasasquiche, L., Lastra, S., La Torre, B., and Solórzano, R. (2024). Synergy between microbial inoculants and mineral fertilization to enhance the yield and nutritional quality of maize on the Peruvian coast. *Applied Microbiology*, 4(4), 1757–1775. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4040119>
- Mahmud, K., Makaju, S., Ibrahim, R., and Missaoui, A. (2020). Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. *Plants*, 9(1), 97. <https://doi.org/10.3390/plants9010097>
- Malhotra, H., Vandana, Sharma, S., and Pandey, R. (2018). Phosphorus nutrition: Plant growth in response to deficiency and excess. En M. Hasanuzzaman, M. Fujita, H. Oku, K. Nahar, & B. Hawrylak-Nowak (Eds.), *Plant nutrients and abiotic stress tolerance* (pp. 171–190). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_7)
- Maizar - Asociación Maíz y Sorgo Argentino. (2015). *Estadísticas maíz/sorgo*. Maizar. <http://www.maizar.org.ar/estadisticas.php>
- Martínez-Centeno, A. L., y Huerta-Sobalvarro, K. K. (2018). La revolución verde. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 4(8), 1040–1052. <https://doi.org/10.5377/ribcc.v4i8.6717>
- Martínez-Mendoza, D., Colado-Velázquez, J., & Maqueo, P. A. (2023). Efecto de un programa de actividad física en la salud de adultos mayores mexicanos durante la pandemia por COVID-19. *Salud Pública de México*, 65(5) 486–494. <https://doi.org/10.21149/14799>
- Martínez Robles, J. (2022). *Factores biológicos y químicos de fertilizantes nitrogenados y fosfatados en suelos agrícolas y sus posibles estrategias de recuperación en México* [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, México.
- Martínez, S. B., Carbone, A. V., y Garbi, M. (Coords.). (2021). *Producción hortícola periurbana: Aspectos técnicos y laborales*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/120969>
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G., and Mora, M. L. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of Soil*

- Science and Plant Nutrition*, 10(3), 293–319. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162010000100006>
- Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M. M., Sánchez G., J., Buckler, E., and Doebley, J. (2002). A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 6080–6084. <https://doi.org/10.1073/pnas.052125199>
- Mazurek, A., & Jamroz, J. (2015). Precision of dehydroascorbic acid quantitation with the use of the subtraction method – Validation of HPLC–DAD method for determination of total vitamin C in food. *Food Chemistry*, 173, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.065>
- McIntyre, G. I. (1997). The role of nitrate in the osmotic and nutritional control of plant development. *Australian Journal of Plant Physiology*, 68, 107–112.
- Meena, V. S., Maurya, B. R., and Verma, J. P. (2014). Does a rhizospheric microorganism enhance K<sup>+</sup> availability in agricultural soils? *Microbiological Research*, 169, 337–347. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.003>
- Mengel, K., Kirkby, E. A., Kosegarten, H., and Appel, T. (2001). Calcium. In K. Mengel, E. A. Kirkby, H. Kosegarten, and T. Appel (Eds.), *Principles of plant nutrition* (pp. 453–479). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-010-1009-2\\_11](https://doi.org/10.1007/978-94-010-1009-2_11)
- Mera-Ovando, L. M. (2009). Aspectos socioeconómicos y culturales. In T. A. Kato, C. Mapes, L. M. Mera, J. A. Serratos, & R. A. Bye (Eds.), *Origen y diversificación del maíz: Una revisión analítica* (pp. 33–42). Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Mercer, K. y Perales, H. (2019). Structure of local adaptation across the landscape: Flowering time and fitness in Mexican maize (*Zea mays* L. subsp. *mays*) landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 66(1), 27–45. <https://doi.org/10.1007/s10722-018-0695-5>
- Mohamed, E., Farag, A., and Youssef, S. (2018). Phosphate solubilization by *Bacillus subtilis* and *Serratia marcescens* isolated from tomato plant rhizosphere. *Journal of Environmental Protection*, 9, 266–277. <https://doi.org/10.4236/jep.2018.93018>
- Molina, J. E. (2021). The green revolution as a technoscientific revolution: Artificialization of agricultural practices and its implications. *Revista Colombiana de Filosofía de la Ciencia*, 21(42), 175–204. <https://doi.org/10.18270/rcfc.v21i42.3587>
- Mordor Intelligence. (2021). \*Agricultural inoculants market - growth, trends, COVID-19 impact, and forecasts (2021 - 2026) \* [Informe de mercado]. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/agricultural-inoculants-market>
- Mukamolova, G. V., Kaprelyants, A. S., Kell, D. B., and Young, M. (2003). Adoption of the transiently non-culturable state — a bacterial survival strategy? *Advances in Microbial Physiology*, 47, 65–129. [https://doi.org/10.1016/s0065-2911\(03\)47002-1](https://doi.org/10.1016/s0065-2911(03)47002-1)
- Muñoz, R. (2021). Criollo. En *Diccionario enciclopédico de la gastronomía mexicana*. Larousse Cocina. <https://laroussecocina.mx/palabra/criollo/>
- Murphy, J., and Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31–36. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5)
- Murray-Tortarolo, G., Jaramillo, V., y Larsen, J. (2018). Food security and climate change: The case of rainfed maize production in Mexico. *Agricultural and Forest Meteorology*, 253, 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.02.011>
- Narendra, B. A., Jogaiah, S., Ito, S., Kestur Nagaraj, A., and Tran, L.-S. P. (2015). Improvement of growth, fruit weight, and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenol oxidase. *Plant Science*, 231, 62–73. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.11.006>

- Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170(1), 265–270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Navarro, G. y Navarro, S. (2003). El nitrógeno en el suelo. En *Química agrícola: El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal* (2a ed., pp. 183–215). Mundi-Prensa.
- Nelson, D. L. y Cox, M. M. (2009). Biosíntesis de aminoácidos, nucleótidos y moléculas relacionadas. En D. L. Nelson y M. M. Cox (Eds.), *Lehninger principios de bioquímica* (7a ed., pp. 851–857). Omega.
- Nosheen, S., Ajmal, I., and Song, Y. (2021). Microbes as biofertilizers, a potential approach for sustainable crop production. *Sustainability*, 13(4), 1868. <https://doi.org/10.3390/su13041868>
- Nuttall, J. G., O’Leary, G. J., Panozzo, J. F., Walker, C. K., Barlow, K. M., and Fitzgerald, G. J. (2017). Models of grain quality in wheat—a review. *Field Crops Research*, 202, 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.12.011>
- Olanrewaju, O. S., y Babalola, O. O. (2019). *Streptomyces*: Implications and interactions in plant growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(3), 1179–1188. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-09577-y>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2018). *More people, more food, worse water? A global review*. <http://www.fao.org/3/CA0146EN/ca0146en.pdf>
- Orona, C. I., y Leos, J. A. (Coords.). (2020). *Estudios sobre el manejo orgánico del suelo en el norte de México* (Reporte de Investigación No. 97). Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAAM.
- Ortega-Corona, A., Guerrero-Herrera, M. J., Cota-Agramont, O., y Preciado-Ortíz, R. E. (2011). Situación actual de los maíces nativos y sus parientes silvestres en México. In R. E. Preciado-Ortíz y S. Montes-Hernández (Eds.), *Amplitud, mejoramiento, usos y riesgos de la diversidad genética de maíz en México* (pp. 15–41). Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C.
- Ortega-Paczka, R. (2003). La diversidad del maíz en México. In G. Esteva y C. Marielle (Eds.), *Sin maíz no hay país* (pp. 123–154). Culturas Populares de México.
- Ortega, P. R. (1985). *Variedades y razas mexicanas de maíz y su evaluación en cruzamientos con líneas de clima templado como material de partida para fitomejoramiento* [Tesis doctoral]. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Oteino, N., Lally, R. D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K. J., and Dowling, D. N. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers in Microbiology*, 6, 745. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00745>
- Owen, D., Williams, A. P., Griffith, G. W., and Withers, P. J. A. (2015). Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition. *Applied Soil Ecology*, 86, 41–54. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.09.012>
- Palacios, O.A., Bashan, Y. & de-Bashan, L.E. Proven and potential involvement of vitamins in interactions of plants with plant growth-promoting bacteria—an overview. *Biol Fertil Soils* 50, 415–432 (2014). <https://doi.org/10.1007/s00374-013-0894-3>
- Paguay, L. y Vasco, E. A. (2013). *Aislamiento de bacterias solubilizadoras de calcio de la rizósfera de cultivos de alcachofa* (Cynara scolymus) ubicados en Laso-Latacunga-Cotopaxi [Tesis de pregrado]. Universidad Politécnica Salesiana, Sede Quito, Ecuador.
- Pande, A., Pandey, P., Mehra, S., Singh, M., and Kaushik, S. (2017). Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(2), 379–391. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.06.005>
- Pandey, S., and Gupta, S. (2020). Evaluation of *Pseudomonas* sp. for its multifarious plant growth promoting potential and its ability to alleviate biotic and abiotic stress in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. *Scientific Reports*, 10, 20938. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77850-0>

- Patiño-Torres, C. O. y Sanclemente-Reyes, O. E. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. *Entramado*, 10(2), 288-297. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=265433711018>
- Perales, H. y Golicher, D. (2014). Mapping the diversity of maize races in Mexico. *PLOS ONE*, 9(12), e114657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114657>
- Pereira, P., Ibáñez, F., Rosenblueth, M., Etcheverry, M., and Martínez-Romero, E. (2011). Analysis of the bacterial diversity associated with the roots of maize (*Zea mays* L.) through culture-dependent and culture-independent methods. *ISRN Ecology*, 2011, 938546. <https://doi.org/10.5402/2011/938546>
- Pérez-Rodríguez, M. M., Piccoli, P., Anzuay, M. S., Baraldi, R., Neri, L., Taurian, T., Lobato Ureche, M. A., Segura, D. M., y Cohen, A. C. (2020). Native bacteria isolated from roots and rhizosphere of *Solanum lycopersicum* L. increase tomato seedling growth under a reduced fertilization regime. *Scientific Reports*, 10(1), 15642. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72506-5>
- Pierik, R. L. M. (1990). *Cultivo in vitro de las plantas superiores* (1a ed.). Ediciones Mundi-Prensa.
- Pii, Y., Graf, H., Valentinuzzi, F., Cesco, S., and Mimmo, T. (2018). The effects of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on the growth and quality of strawberries. *Acta Horticulturae*, 1217, 231-238. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1217.29>
- Prasad, M., Srinivasan, R., Chaudhary, M., Choudhary, M., and Jat, L. K. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture. In A. K. Sharma, B. N. Johri, & S. P. Tiwari (Eds.), *PGPR amelioration in sustainable agriculture* (pp. 129–157). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815879-1.00007-0>
- Ramírez-Jaspeado, R., Palacios-Rojas, N., Funes, J., Pérez, S., y Donnet, M. L. (2018). Identificación de áreas potenciales en México para la intervención con maíz biofortificado con zinc. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41, 327-337. <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.4.327>
- Rana, G., Mandal, T., Mandal, N. K., Sakha, D., and Meikap, B. C. (2015). Calcite solubilization by bacteria: A novel method of environment pollution control. *Geomicrobiology Journal*, 32(9), 846–852. <https://doi.org/10.1080/01490451.2015.1010755>
- Ranum, P., Peña-Rosas, J. P., y Garcia-Casal, M. N. (2014). Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1312, 105-112. <https://doi.org/10.1111/nyas.12396>
- Ray, P., Lakshmanan, V., Labbé, J. L., and Craven, K. D. (2020). Microbe to microbiome: A paradigm shift in the application of microorganisms for sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 11, 622926. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.622926>
- Razaq, M., Zhang, P., Shen, H.-L., and Salahuddin. (2017). Influence of nitrogen and phosphorus on the growth and root morphology of *Acer mono*. *PLOS ONE*, 12(2), e0168950. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168950>
- Restrepo-Franco, G. M., Marulanda-Moreno, S., de la Fe-Pérez, Y., Díaz-de la Osa, A., Lucia-Baldani, V., y Hernández-Rodríguez, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 46(1), 63-76. <https://revista.cnicec.org/index.php/RevBiol/articloe/view/95>
- Revillas, J. J., Rodelas, B., Pozo, C., Martínez-Toledo, M. V., and González-López, J. (2000). Production of B-group vitamins by two *Azotobacter* strains with phenolic compounds as sole carbon source under diazotrophic and adiazotrophic conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 89(3), 486–493. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01139.x>
- Reyes Santiago, E., Bautista Mayorga, F., y García Salazar, J. A. (2022). Análisis del mercado de maíz en México desde una perspectiva de precios. *Acta Universitaria*, 32, 1–16. <https://doi.org/10.15174/au.2022.3265>

- Riggs, P. J., Chelius, M. K., Iniguez, A. L., Kaeppler, S. M., and Triplett, E. W. (2001). Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. *Functional Plant Biology*, 28, 829–836. <https://doi.org/10.1071/PP01045>
- Rodríguez-Gámez, O., Aguilera-Rodríguez, I., y Pérez-Silva, R. M. (2013). Adecuación de un micrométodo colorimétrico para la cuantificación de fósforo soluble en cultivos microbianos. *Revista Cubana de Química*, 25(1), 3–8. <https://cubanaquimica.uo.edu.cu/index.php/cq/article/view/803>
- Rodríguez, M., Torres, M., Blanco, L., Bejar, V., Sampedro, I., and Llamas, I. (2020). Plant growth promoting activity and quorum quenching-mediated biocontrol of bacterial phytopathogens by *Pseudomonas segetis* strain P6. *Scientific Reports*, 10, 2741. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61084-1>
- Romero Contreras, A. T., Becerril-Piña, R., Díaz-Delgado, C., Mastachi-Loza, C. A., Vilchis-Francés, A., y Arévalo-Mejía, R. (2023). Maíz de temporal: ¿es suficiente el conocimiento etnoecológico para afrontar la variabilidad climática? *Economía, sociedad y territorio*, 23(71), 185-215. <https://doi.org/10.22136/est20231892>
- Rouf Shah, T., Prasad, K., and Kumar, P. (2016). Maize - A potential source of human nutrition and health: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1166995. <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1166995>
- Roquigny, R., Novinscak, A., Biessy, A., and Filion, M. (2017). Pseudomonadaceae: From biocontrol to plant growth promotion. In S. Mehnaz (Ed.), *Rhizotrophs: Plant growth promotion to bioremediation* (Vol. 2, pp. 45-63). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-4862-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-10-4862-3_3)
- Rudolph, N., Labuschagne, N., and Aveling, T. A. S. (2015). The effect of plant growth promoting rhizobacteria on seed germination and seedling growth of maize. *Seed Science and Technology*, 43(3), 507–518. <https://doi.org/10.15258/sst.2015.43.3.04>
- Saad, M. M., Eida, A. A., and Hirt, H. (2020). Tailoring plant-associated microbial inoculants in agriculture: A roadmap for successful application. *Journal of Experimental Botany*, 71(13), 3878–3901. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa111>
- Salgado, G. S. y Núñez, E. (2012). *Manejo de fertilizantes químicos y orgánicos* (Biblioteca Básica para la Agricultura). Colegio de Postgraduados.
- Sánchez-Ceja, M. G., Loeza-Lara, P. D., Carballar-Hernández, S., Jiménez-Mejía, R., y Medina-Estrada, R. I. (2024). Aislamiento de bacterias nativas con potencial en la promoción del crecimiento de maíz criollo mexicano (*Zea mays* L.). *Biotecnia*, 26, e2125. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v26i1.2125>
- Sánchez, J. J., Goodman, M. M., and Stuber, C. W. (2000). Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany*, 54, 43-59. <https://doi.org/10.1007/BF02866599>
- Santos, M. S., Nogueira, M. A., and Hungria, M. (2019). Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present, and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Express*, 9(1), 205. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0>
- Santoyo, G., Guzmán-Guzmán, P., Parra-Cota, F. I., de los Santos-Villalobos, S., Orozco-Mosqueda, M. d. C., and Glick, B. R. (2021). Plant growth stimulation by microbial consortia. *Agronomy*, 11(2), 219. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020219>
- Sasaki, K., Hatate, H., & Tanaka, R. (2020). Determination of 13 vitamin b and the related compounds using HPLC with UV detection and application to food supplements. *Chromatographia*, 83(7), 839-851. <https://doi.org/10.1007/s10337-020-03902-2>
- Satyaprakash, M., Nikitha, T., Reddi, E. U. B., Sadhana, B., and Vani, S. S. (2017). Phosphorus and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 2133–2144. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2017.604.251>
- Savci, S. (2012). An agricultural pollutant: Chemical fertilizer. *International Journal of Environmental*

- Science and Development*, 3(1), 73-80. <https://doi.org/10.7763/IJESD.2012.V3.191>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2024). *Aumenta producción de maíz 12.7 por ciento en cuatro años* [Comunicado de prensa]. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/aumenta-produccion-de-maiz-12-7-por-ciento-en-cuatro-anos>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2012). *Acuerdo por el que se determinan centros de origen y centros de diversidad genética del maíz*. Diario Oficial de la Federación. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5284154&fecha=07/12/2012](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5284154&fecha=07/12/2012)
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2020). *Avance de siembras y cosechas: Resumen nacional por estado, ciclo otoño-invierno, temporal* [Conjunto de datos]. [http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/ResumenProducto.do](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do)
- Shahane, A. A., and Shivay, Y. S. (2022). Agronomic biofortification of crops: Current research status and future needs. *Indian Journal of Fertilisers*, 18(2), 164–179.
- Shameer, S., and Prasad, T. N. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, 84, 603–615. <https://doi.org/10.1007/s10725-017-0365-1>
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., and Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2, 587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- Sharma, L., Shukla, S. K., Jaiswal, V. P., Gaur, A., Pathak, A. D., Sharma, K. K., and Singh, S. K. (2021). Importance of PGPRs in the rhizosphere. In M. Nath, D. Bhatt, P. Bhargava, & D. K. Choudhary (Eds.), *Microbial metatranscriptomics belowground* (pp. 141–161). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-9758-9\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-15-9758-9_7)
- Shiferaw, B., Prasanna, B. M., Hellin, J., and Banziger, M. (2011). Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. *Food Security*, 3, 307–327. <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0140-5>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP]. (2018). \*Atlas agroalimentario 2012-2018: La transformación productiva del campo mexicano\*. [https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018)
- Singh, S., Roychowdhury, R., Mukherjee, A., Kaur, H., Kaur, R., Jagota, N., Sandhu, S., Kumar, V., Gupta, M., Ahn, Y., Meshram, V., and Sharma, A. (2024). Impact of species-specific plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on maize (*Zea mays*) phenotypic and biochemical diversity. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.04.28.591576>
- Statista Research Department. (2022). *Consumo anual per cápita de algunos granos y cereales en México en 2022*. Statista. <https://es.statista.com/estadisticas/592154/consumo-aparente-de-los-principales-cultivos-basicos-en-mexico/>
- Subrahmanyam, G., Kumar, A., Sandilya, S. P., Chutia, M., and Yadav, A. N. (2020). Diversity, plant growth promoting attributes, and agricultural applications of rhizospheric microbes. In A. N. Yadav, J. Singh, A. A. Rastegari, & N. Yadav (Eds.), *Plant microbiomes for sustainable agriculture* (pp. 1–52). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-38453-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-38453-1_1)
- Šūmane, S., Kunda, I., Knickel, K., Strauss, A., Tisenkopfs, T., de los Ríos, I., Rivera, M., Chebach, T., and Ashkenazy, A. (2018). Local and farmer's knowledge matters! How integrating informal and formal knowledge enhances sustainable and resilient agriculture. *Journal of Rural Studies*, 59, 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2017.01.020>
- Survase, S. A., Bajaj, I. B., & Singhal, R. S. (2006). Biotechnological production of vitamins. *Food Technology and Biotechnology*, 44(3), 381–396. <https://doi.org/10.17113/ftb.44.3.06.0012>
- Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M. S., Shahid, N., and Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future

- prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, 121, 102–117. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.09.030>
- Taiz, L., and Zeiger, E. (2003). Assimilation of mineral nutrients. En *Plant Physiology* (3a ed., pp. 259–282). Sinauer Associates.
- Terralia. (2017). *Agroquímicos de México*. Terralia. [https://www.terralia.com/agroquimicos\\_de\\_mexico/composition\\_index](https://www.terralia.com/agroquimicos_de_mexico/composition_index)
- Tofiño Rivera, A. P., Carbono Murgas, R. E., Melo Ríos, A. E., y Merini, L. J. (2020). Efecto del glifosato sobre la microbiota, calidad del suelo y cultivo de frijol biofortificado en el departamento del Cesa, Colombia. *Revista Argentina de Microbiología*, 25(1), 61–71. <https://doi.org/10.24215/18517939e021>
- Taiz, L., and Zeiger, E. (2003). Assimilation of mineral nutrients. En *Plant Physiology* (3a ed., pp. 259–282). Sinauer Associates.
- Tawfiq, S. I., and Ahmad, K. R. (2014). The role of intercropping wheat with legumes (chickpea or pea) in improving the yield and land equivalent ratio in rain fed regions. *Journal of Zankoy Sulaimani - Part A*, 16(1), 33–45. <https://doi.org/10.17656/jzs.10308>
- Torres-Solórzano, P., Reyes-De la Cruz, H., Altamirano-Hernández, J., Macías-Rodríguez, L., Campos-García, J., and Luna-Cruz, A. (2025). Inoculation with *Pseudomonas* spp. in *Solanum lycopersicum* increases yield and fruit quality under nutrient shortage conditions. *PeerJ*, 13, e19796. <https://doi.org/10.7717/peerj.19796>
- Turiján-Altamirano, T., Damián-Huato, M. A., Ramírez-Valverde, B., Juárez-Sánchez, J. P., y Estrella-Chulím, N. (2012). Manejo tradicional e innovación tecnológica en cultivo de maíz en San José Chiapa, Puebla. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3, 1085–1110. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i5.1440>
- Turrent-Fernández, A., Cortés-Flores, J. I., Espinosa-Calderón, A., Mejía-Andrade, H., y Serratos-Hernández, J. A. (2010). ¿Es ventajosa para México la tecnología actual de maíz transgénico? *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1, 631–646. <https://doi.org/10.29312/remexca.v1i4.1145>
- Turrent-Fernández, A., Wise, T. A., and Garvey, E. (2012). *Factibilidad de alcanzar el potencial productivo de maíz de México* (Mexican Rural Development Research Report No. 24). Tufts University. <https://sites.tufts.edu/gdae/files/2019/10/12-03WiseMexMaiz.pdf>
- Universidad Nacional Autónoma de México. (2024, septiembre 5). *El deterioro de los suelos cultivables va en aumento* [Boletín de prensa]. Centro de Ciencias de la Atmósfera. <https://www.atmosfera.unam.mx/noticias/boletin-600-deterioro-suelos-cultivables/>
- Vázquez-Carrillo, M. G., Pérez-Camarillo, J. P., Hernández-Casillas, J. M., Marrufo-Díaz, M. L., y Martínez-Ruiz, E. (2010). Calidad de grano y de tortillas de maíces criollos del altiplano y valle del mezquital, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 33, 49–56. <https://doi.org/10.35196/rfm.2010.1.49>
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., y Nasrullah Boyce, A. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—A review. *Molecules*, 21(5), 573. <https://doi.org/10.3390/molecules21050573>
- Velasco-Jiménez, A., Acevedo-Hernández, O., Aarland, R. C., y Rodríguez-Sahagún, A. (2020). Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 333–345. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.567>
- Verbon, E. H., and Liberman, L. M. (2016). Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development. *Trends in Plant Science*, 21(3), 218–229. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.013>
- Verma, M., Mishra, J., and Arora, N. K. (2019). Plant growth-promoting rhizobacteria: Diversity and applications. In R. Sobti, N. Arora, & R. Kothari (Eds.), *Environmental biotechnology: For sustainable future* (pp. 129–157). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-7284-0\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7284-0_6)
- Vidal-Martínez, V. A., Herrera, F. B., Coutiño-Estrada, J. J., Sánchez-González, J., Ron-Parra, A., Ortega-Corona, A., y Guerrero-Herrera, M. de J. (2010). Identificación y localización de una especie de *Tripsacum* spp. en Nayarit, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 33(4), 27–30. <https://doi.org/10.35196/rfm.2010.4.27>

- Uriarte-Aceves, P. M., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Gutierrez-Dorado, R., Reyes-Moreno, C., and Milán-Noris, E. M. (2018). In vitro digestion properties of native isolated starches from Mexican blue maize (*Zea mays* L.) landrace. \*LWT - Food Science and Technology\*, 93\*, 384-389. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.015>
- Vigouroux, Y., Glaubitz, J. C., Matsuoka, Y., Goodman, M. M., Sánchez, G. J., and Doebley, J. (2008). Population structure and genetic diversity of New World maize races assessed by DNA microsatellites. *American Journal of Botany*, 95(10), 1240-1253. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800097>
- Vivanco-Calixto, R., Molina-Romero, D., Morales-García, Y. E., Quintero-Hernández, V., Munive-Hernández, J. A., Baez-Rogelio, A., y Muñoz-Rojas, J. (2016). Reto agrobiotecnológico: inoculantes bacterianos de segunda generación. *Alianzas y Tendencias BUAP*, 1(1), 1-10. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5069043>
- Wang, D., Xu, A., Elmerich, C., and Ma, L. Z. (2017). Biofilm formation enables free-living nitrogen-fixing rhizobacteria to fix nitrogen under aerobic conditions. *The ISME Journal*, 11, 1602-1613. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.30>
- Weatherburn, M. W. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39(8), 971-974. <https://doi.org/10.1021/ac60252a045>
- Wellhausen, E. J., Roberts, L. M., y Hernandez, E. X. (1951). Razas de maíz en México: Su origen, características y distribución. In J. Dutch, P. Muench, J. P. de Pina, & F. Insunza (Comps.), *Xolocotzia* (1a ed., Vol. 2, pp. 609-732). Tipografía, Diseño y Edición S.A. de C.V.
- White, P. J., and Broadley, M. R. (2003). Calcium in plants. *Annals of Botany*, 92(4), 487-511. <https://doi.org/10.1093/aob/mcgl64>
- Wu, C. H., Bernard, S. M., Andersen, G. L., and Chen, W. (2009). Developing microbe-plant interactions for applications in plant-growth promotion and disease control, production of useful compounds, remediation, and carbon sequestration. *Microbial Biotechnology*, 2(4), 428-440. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00109.x>
- Xia, Y., Xu, Y., Li, J., Zhang, C., and Fan, S. (2019). Recent advances in emerging techniques for nondestructive detection of seed viability: A review. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 1, e2019. <https://doi.org/10.1016/j.aiia.2019.05.001>
- Yadav, B. K., Akhtar, M. S., & Panwar, J. (2015). Rhizospheric plant-microbe interactions: Key factors to soil fertility and plant nutrition. In N. Arora (Ed.), *Plant microbes symbiosis: Applied facets* (pp. 127-145). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2068-8\\_6](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2068-8_6)
- Yu, H., Ling, N., Wang, T., Zhu, C., Wang, Y., Wang, S., Gao, Q., Liu, X., Zhao, J., Wang, Z., Li, H., Wang, Y., Qiu, L., Wang, C., Wang, J., Li, Y., Li, F., Ma, L., and Zhao, Y. (2019). Responses of soil biological traits and bacterial communities to nitrogen fertilization mediate maize yields across three soil types. *Soil and Tillage Research*, 185, 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.still.2018.08.017>
- Zahid, M., Abbasi, M. K., Hameed, S., and Rahim, N. (2015). Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (*Zea mays* L.). *Frontiers in Microbiology*, 6, 207. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00207>
- Zaidi, A., Khan, M. S., Saif, S., Rizvi, A., Ahmed, B., & Shahid, M. (2017). Role of nitrogen-fixing plant growth-promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. In A. Zaidi & M. Khan (Eds.), *Microbial strategies for vegetable production* (pp. 49-79). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-54401-4\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-54401-4_3)
- Zandi, P., Mozdzeń, K., Basu, S. K., González-Valdivia, N. A., & Cetzal-Ix, W. (2017). Effect of different cadmium nitrate concentrations on sweet maize (*Zea mays* L. cv. Landmark). En S. K. Basu, P. Zandi, & S. K. Chalaras (Eds.), *Environment at crossroads: Challenges, dynamics and solutions* (pp. 207-214). Haghshenas Publication.
- Zhang, X., Davidson, E. A., Mauzerall, D. L., Searchinger, T. D., Dumas, P., & Shen, Y. (2015). Managing nitrogen for sustainable

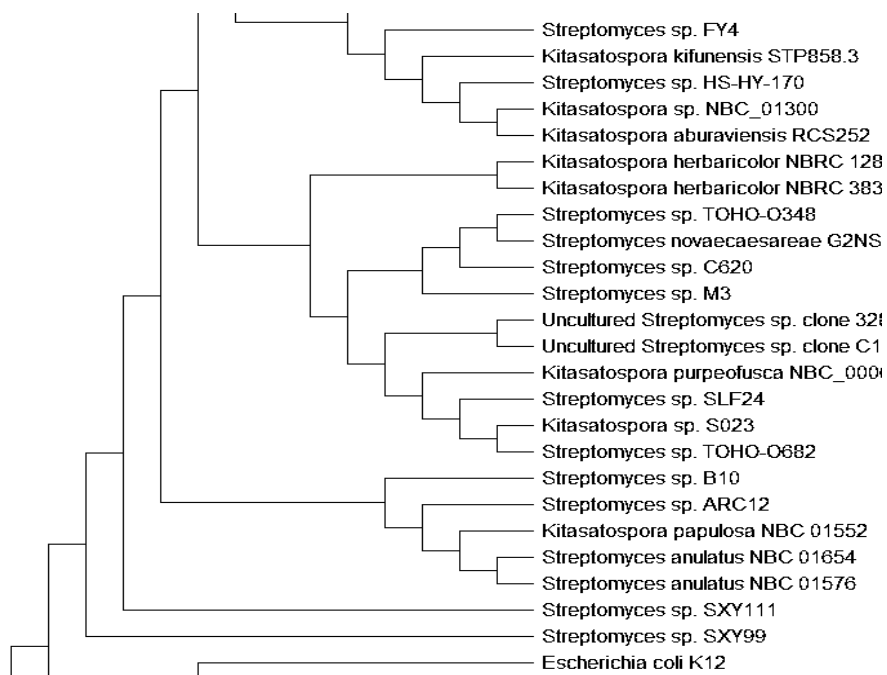
development. *Nature*, 528, 51–59. <https://doi.org/10.1038/nature15743>

Zineb, A. B., Trabelsi, D., Ayachi, I., Barhoumi, F., Aroca, R., & Mhamdi, R. (2019). Inoculation with elite strains of phosphate-solubilizing bacteria enhances the effectiveness of fertilization with rock

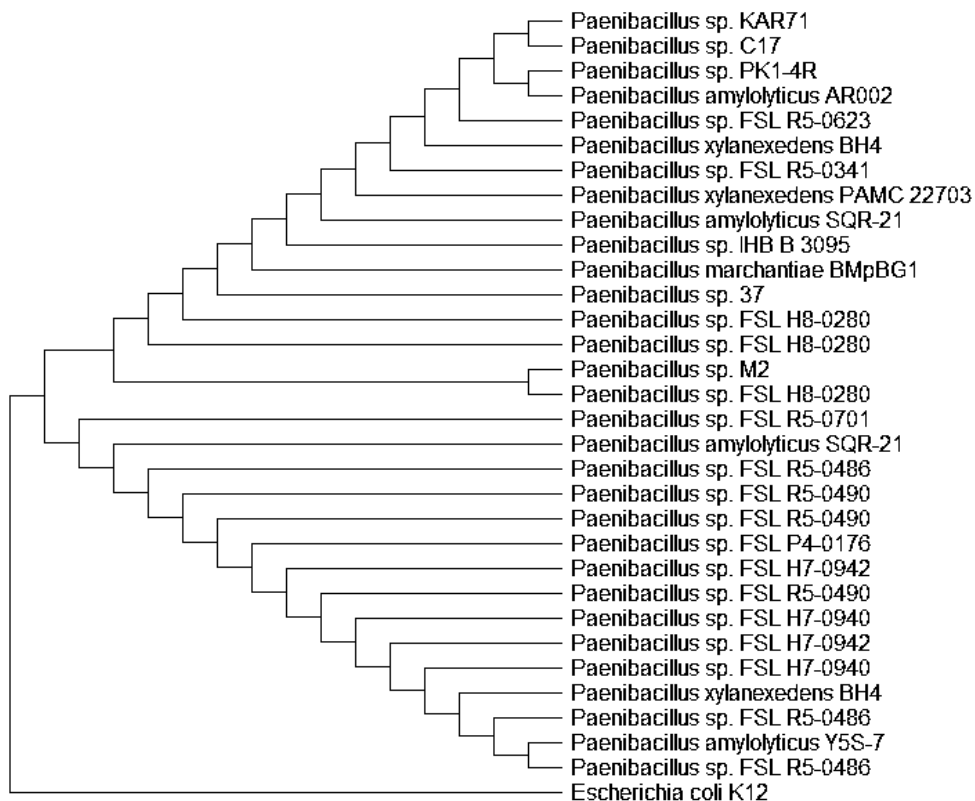
phosphates. *Geomicrobiology Journal*, 37(1), 22–30. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1658826>

## Anexos

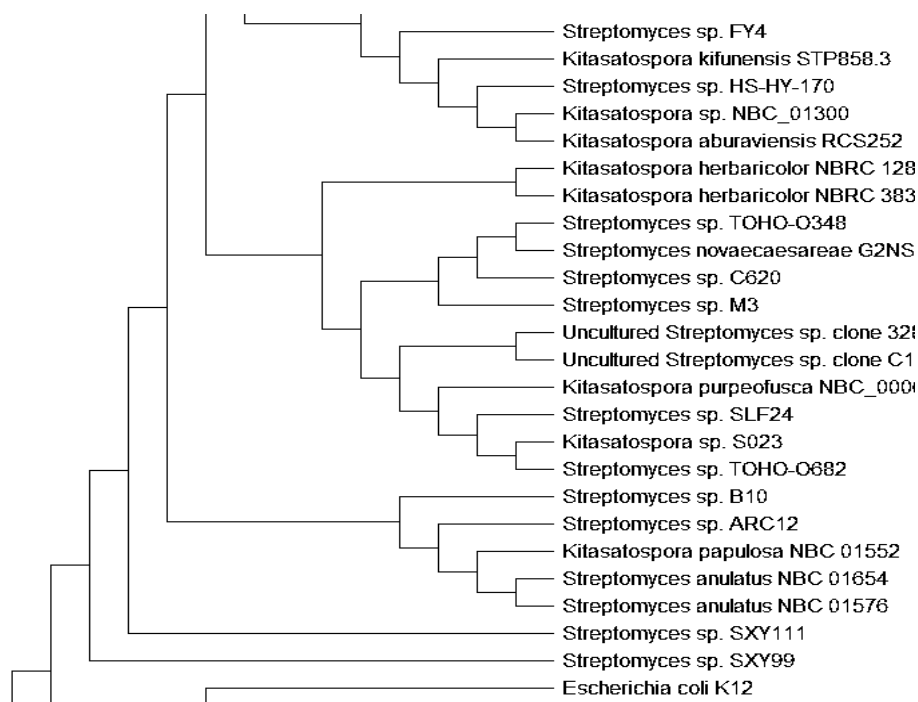
### Anexo 1. Árbol filogenético B10 (*Streptomyces* sp. B10)



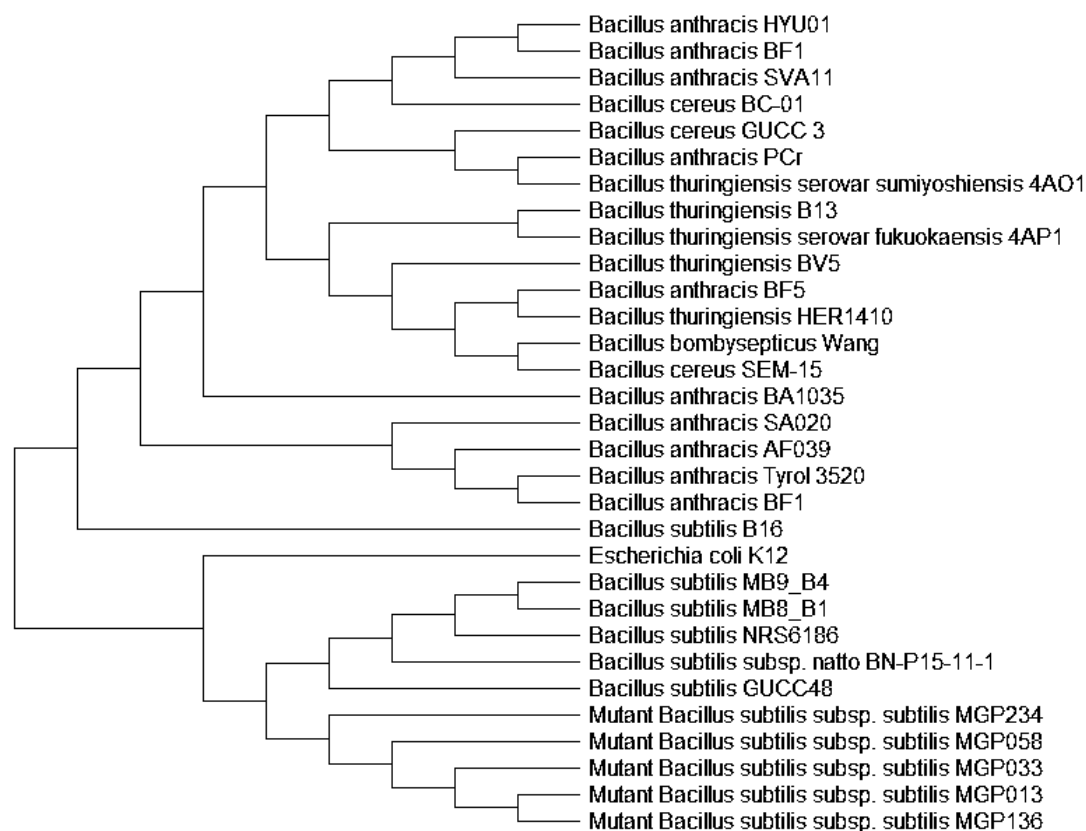
### Árbol filogenético C17 (*Paenibacillus* sp. C17)



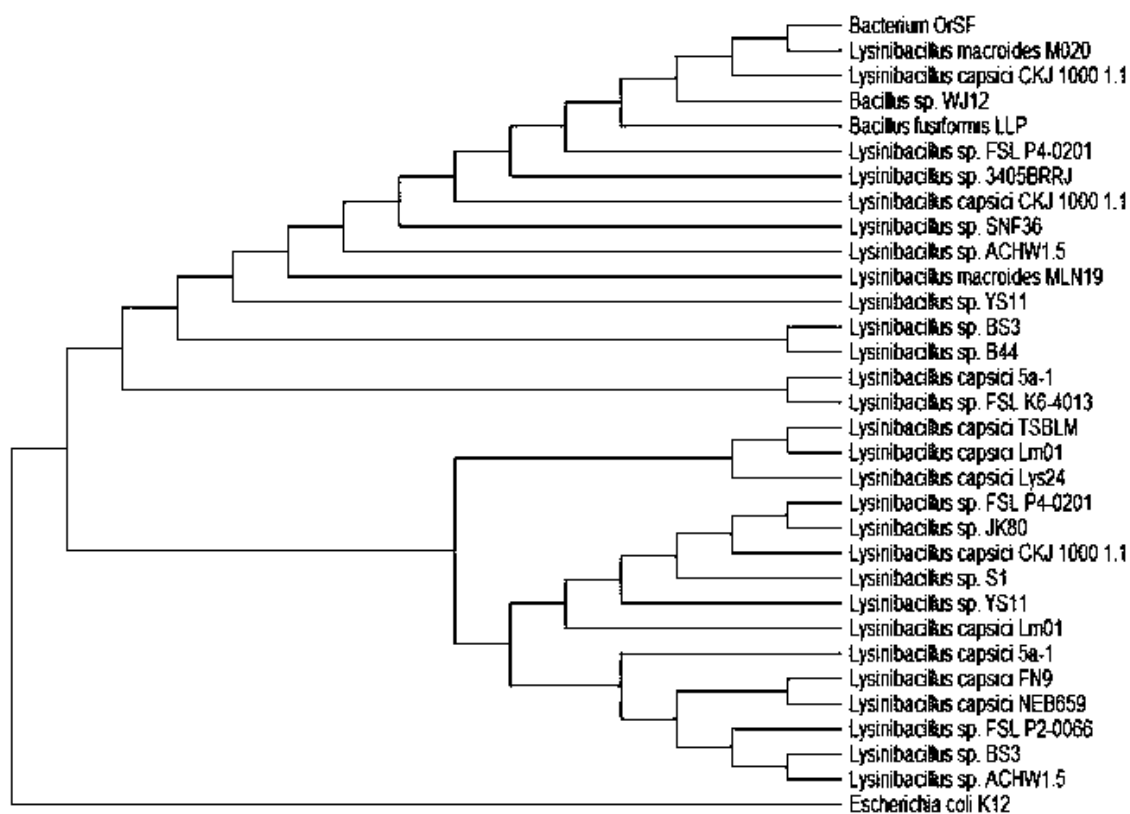
Árbol filogenético M3 (*Kitasatospora* sp. M3)



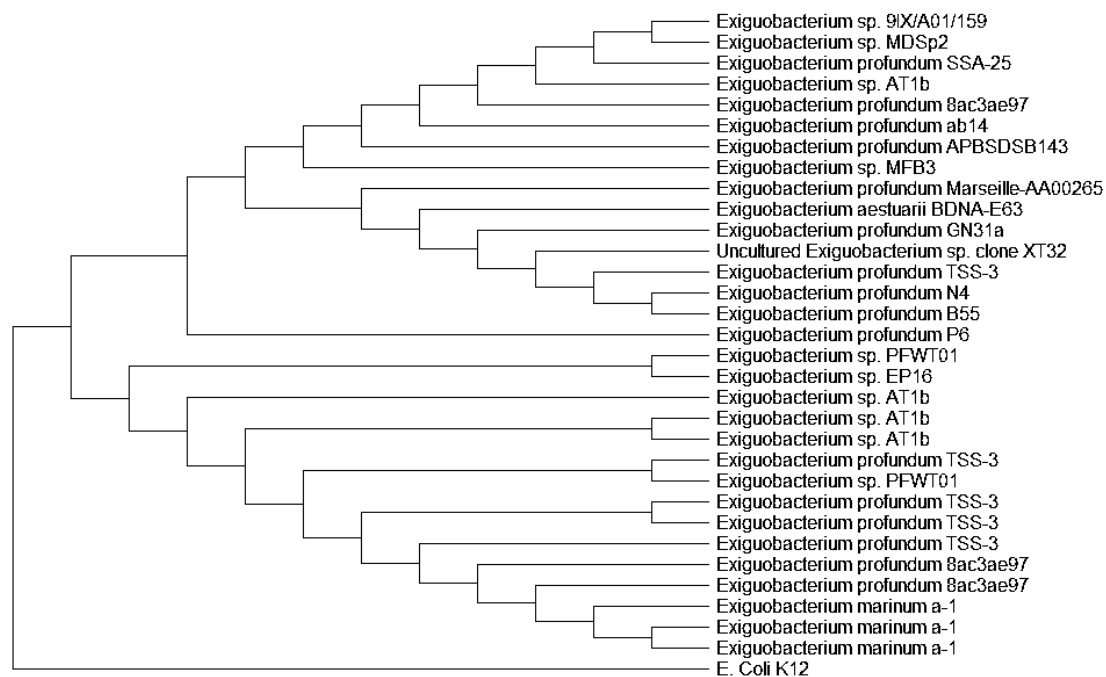
Árbol filogenético B16 (*Bacillus subtilis* B16)



### Árbol filogenético B44 (*Lysinibacillus* sp. B44)



### Árbol filogenético B55 (*Exiguobacterium profundum* B55)



## **Anexo 2. Solución amortiguadora de fosfatos**

| <b>Componente</b>    | <b>Cantidad / L</b> |
|----------------------|---------------------|
| Extracto de levadura | 2.5 g               |
| Triptona             | 5.0 g               |
| D – glucosa          | 1.0 g               |
| Agar bacteriológico  | 15.0 g              |

pH final:  $7.0 \pm 0.1$

## **Anexo 3. Agar Nutritivo**

| <b>Componente</b>   | <b>Cantidad / L</b> |
|---------------------|---------------------|
| Peptona             | 5.0 g               |
| Extracto de carne   | 3.0 g               |
| Agar bacteriológico | 15.0 g              |

pH final:  $6.8 \pm 0.2$

## **Anexo 4. Agar Soya Trypticaseína**

| <b>Componente</b>   | <b>Cantidad / L</b> |
|---------------------|---------------------|
| Peptona de caseína  | 15.0 g              |
| Peptona de soya     | 5.0 g               |
| Cloruro de sodio    | 5.0 g               |
| Agar bacteriológico | 15.0 g              |

pH final:  $7.3 \pm 0.2$

#### **Anexo 5. Medio semisólido Nfb**

| <b>Componente</b>                    | <b>Cantidad / L</b> |
|--------------------------------------|---------------------|
| 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                    | .56 g               |
| Azul de bromotimol al 0.5% en KOH 1N | 2.0 mL              |
| *Solución de micronutrientes         | 2.0 mL              |
| Agar bacteriológico                  | 2.0 g               |
| pH final: $7.0 \pm 0.2$              |                     |

| <b>*Solución de micronutrientes</b> | <b>Cantidad / 200 mL</b> |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 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                    |

#### **Anexo 6. Caldo Extracto Suelo**

| <b>Componente</b>           | <b>Cantidad / L</b> |
|-----------------------------|---------------------|
| Fosfato de potasio dibásico | 0.4 g               |
| Cloruro de magnesio         | 0.1 g               |
| Sulfato de magnesio         | 0.05 g              |

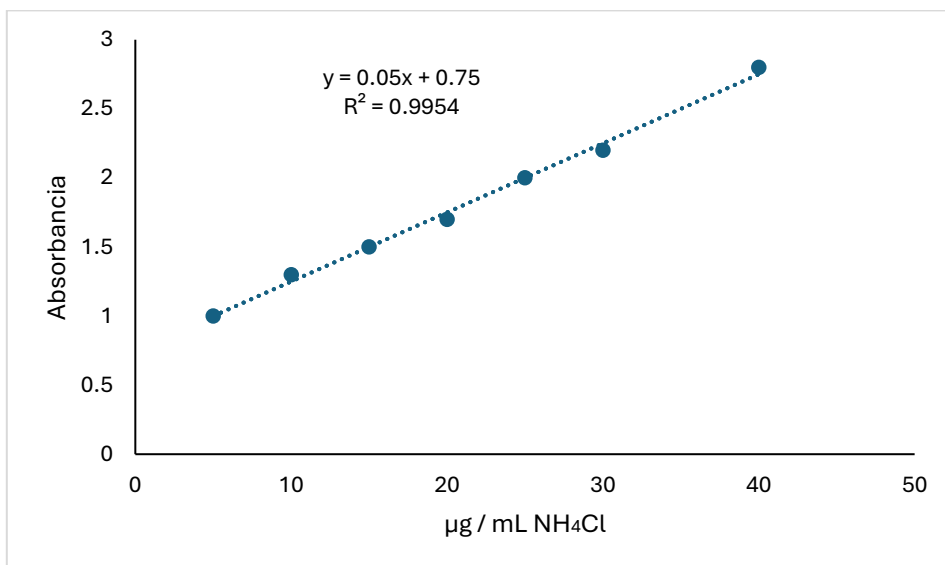
|                           |        |
|---------------------------|--------|
| Cloruro de hierro         | 0.01 g |
| Cloruro de calcio         | 0.1 g  |
| Triptona                  | 1 g    |
| Extracto de levadura      | 1 g    |
| *Extracto de suelo al 10% | 250 mL |

pH final:  $7.3 \pm 0.2$

\*Extracto de suelo al 10%

Mezclar 250.0 g de suelo rizosférico con 500.0 mL de agua destilada y hervir por dos horas. Posteriormente, completar a 500.0 mL con agua destilada, dejar sedimentar el suelo y filtrar el sobrenadante. Tomar 25.0 mL del filtrado y aforar a 500.0 mL con agua destilada.

#### Anexo 7. Curva de calibración de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ).



#### Anexo 8. Medio del Instituto Nacional de Investigación Botánica (NBRIP).

| Componente         | Cantidad / L |
|--------------------|--------------|
| 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 | 14.0 g |

**Anexo 9. Medio Pikovskaya modificado para solubilización de calcio.**

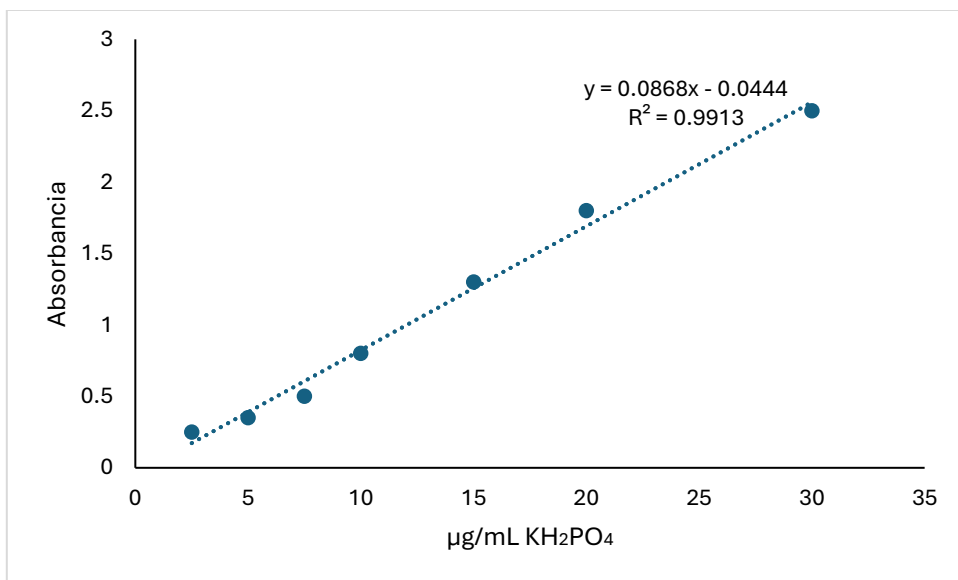
| <b>Componente</b>    | <b>Cantidad / L</b> |
|----------------------|---------------------|
| Dextrosa anhidra     | 10 g                |
| Carbonato de calcio  | 5 g                 |
| Sulfato de amonio    | 0.5 g               |
| Cloruro de sodio     | 0.2 g               |
| Sulfato de magnesio  | 0.1 g               |
| Cloruro de potasio   | 0.2 g               |
| Extracto de levadura | 0.5 g               |
| Sulfato de manganeso | 0.1 g               |
| Agar bacteriológico  | 15.0 g              |

**Anexo 10. Reactivos del método azul de fosfomolibdeno**

| <b>Componente</b>            | <b>Preparación</b>                                                                            |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ácido sulfúrico (5 N)        | 70 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a una pureza de 98.08% en 500 mL de agua destilada    |
| Molibdato de amonio (1% p/v) | Disolver 20 g de molibdato en 500 mL de agua destilada. Almacenar en frasco de vidrio ámbar.  |
| Ácido ascórbico (0.1 M)      | Disolver 1.32 g de ácido ascórbico en 75 mL de agua destilada. Mantener en oscuridad y a 4°C. |

|                                           |                                                                                                                                                                            |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tartrato de antimonio y potasio (1 mg/mL) | Disolver 0.2743 g de tartrato de antimonio y potasio en 100 mL de agua estilada.                                                                                           |
| Mezcla de reactivos                       | Mezclar 125 mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 N, 37.5 mL de molibdato de amonio, 75 mL de ácido ascórbico y 12.5 mL de la solución de tartrato de antimonio y potasio |

#### Anexo 11. Curva de calibración de fosfato monopotásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)



#### Anexo 12. Medio de cultivo YES

| Componente           | Cantidad / L |
|----------------------|--------------|
| Extracto de levadura | 20 g         |
| Sacarosa             | 100 g        |

#### Anexo 13. Preparación de la fertilización al 100% y al 50%

|            |                                                 |                                                                   |
|------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| A.F.Q. 100 | 180 N – 80 P – 10 K – 2 Mg – 26 Ca – 8 Zn – 8 B | Requerimiento del cultivo<br>(Rend. Meta = 5 t/ha)                |
| A.F.Q. 50  | 90 N – 40 P – 10 K – 2 Mg – 13 Ca – 8 Zn – 8 B  | Ahorro del 50%, observar que el efecto es por los microorganismos |

# 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                              | Impacto de rizobacterias nativas en el rendimiento y contenido de vitaminas y minerales del cultivo de maíz criollo en condiciones de temporal |                                 |
|                                                 | Nombre                                                                                                                                         | Correo electrónico              |
| Autor/es                                        | Viviana Melgoza Esparza                                                                                                                        | 1919816b@umich.mx               |
| Director                                        | Alfonso Luna Cruz                                                                                                                              | alfonso.luna@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     | Sí          | Utilización del software ChatGPT y Notebook LM para organizar las ideas de la discusión de algunos apartados. |

# 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     | Sí          | Utilización del software Notebook LM para obtener información rápida de distintos artículos científicos. |
| Formateo de las referencias bibliográficas | Sí          | Utilización del software DeepSeek para transformar las citas bibliográficas en formato APA 7a. Edición.  |
| Generación de contenido multimedia         | No          |                                                                                                          |
| Otro                                       |             |                                                                                                          |

| Datos del solicitante |                                              |
|-----------------------|----------------------------------------------|
| Nombre y firma        | Viviana Melgoza Esparza                      |
| Lugar y fecha         | Morelia, Michoacán. 18 de noviembre de 2025. |

# Viviana Melgoza Esparza

## Impacto de rizobacterias nativas en el rendimiento y contenido de vitaminas y minerales del cultivo de maíz criollo ...

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

### Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:531178567

Fecha de entrega

21 nov 2025, 7:16 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

21 nov 2025, 7:27 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

Impacto de rizobacterias nativas en el rendimiento y contenido de vitaminas y minerales del cult....pdf

Tamaño del archivo

3.4 MB

125 páginas

41.937 palabras

227.184 caracteres

# 17% 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

- 16%  Fuentes de Internet
- 9%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

## Marcas de integridad

### N.º de alertas de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**  
249 caracteres sospechosos en N.º de páginas  
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.
-  **Texto oculto**  
107 caracteres sospechosos en N.º de páginas  
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

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.