

Aislamiento de bacterias nativas con potencial en la promoción del crecimiento de maíz criollo mexicano (*Zea mays* L.)

Isolation of native bacteria with Mexican native maize (*Zea mays* L.) growth promoting potential

Monica Guadalupe Sánchez-Ceja¹, Pedro Damián Loeza-Lara¹, Santos Carballar-Hernández¹, Rafael Jiménez-Mejía¹, Ricardo Ivan Medina-Estrada^{1*}✉

¹ Licenciatura en Genómica Alimentaria, Av. Universidad # 3000. Lomas de La Universidad, C.P: 59103. Sahuayo, Michoacán, México.

RESUMEN

El maíz criollo (*Zea mays* L.) es un alimento emblemático para México, ya que representa un factor importante en cuanto a economía local, cultura y biodiversidad. Las técnicas biotecnológicas donde se emplean bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), son una alternativa sostenible al uso de insumos agrícolas químicos para la producción de maíz, sin embargo, es importante destacar que, lo ideal es utilizar BPCV nativas del suelo y/o cultivo donde se pretenden aplicar, ya que esto asegura la adaptación de las BPCV y garantiza la colonización de la rizosfera, mejorando los rendimientos productivos del cultivo. Por lo cual, el objetivo del presente trabajo, fue aislar bacterias nativas de suelos cultivados con maíz criollo mexicano y demostrar su potencial biotecnológico como BPCV en maíz. Se tomaron muestras de suelo cultivado con maíz criollo mexicano, del municipio de Jiquilpan, Michoacán, México y se lograron obtener 40 aislados, de los cuales 18 indujeron la germinación de las semillas de maíz en más del 90 %. Además, cuatro aislados mostraron incrementos del 20 al 30 % en la longitud total del brote y aumentos del 25 hasta el 100 % en el peso seco total de las plantas. Los mecanismos asociados a la promoción del crecimiento del maíz fueron los de, solubilización de fosfatos, producción de ácido indol acético y de sideróforos, así como el antagonismo contra hongos fitopatógenos (*Penicillium*, *Rhizopus*, *Fusarium* y *Colletotrichum*). Por lo cual, concluimos que las BPCV nativas aisladas en el presente estudio, tienen potencial biotecnológico para su uso en maíz criollo mexicano de la región.

Palabras clave: Producción de maíz; Rizobacterias nativas; Biotecnología microbiana.

ABSTRACT

Mexican native maize (*Zea mays* L.) is an emblematic food for Mexico, as it represents an important factor in terms of local economy, culture and biodiversity. Biotechnological techniques using plant growth-promoting bacteria (PGPB) are a sustainable alternative to the use of chemical agricultural inputs for corn production; however, it is important to emphasize that the ideal is to use native PGPB into the soil and/or crop where they are to be applied, since this ensures the PGPB adaptation and guarantees the colonization of the

rhizosphere, improving crop yields. Therefore, the objective of the present work was to isolate native bacteria from soils cultivated with Mexican native maize and to demonstrate their biotechnological potential as PGPB in corn. Soil samples were taken from the municipality of Jiquilpan, Michoacán, Mexico and 40 isolates were obtained, of which 18 showed more than 90% germination of maize seeds. In addition, four isolates showed increases of 20 to 30 % in total shoot length and increases of 25 to 100 % in total plant dry weight. The mechanisms associated with maize growth promotion were phosphate solubilization, indole acetic acid and siderophore production, as well as antagonism against phytopathogenic fungi (*Penicillium*, *Rhizopus*, *Fusarium* and *Colletotrichum*). Therefore, we conclude that the native PGPB isolated in the present study have biotechnological potential for use in Mexican native maize in the region.

Keywords: Maize production; Native rizobacteria; Microbial biotechnology.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cereales más importantes en el mundo, ya que representa el 38.1 % de la producción total de los granos (Imade y Babalola, 2021). México ocupa el 4° lugar en producción de maíz a nivel mundial, siendo este grano un insumo fundamental para la industria agroalimentaria en el país. Aunado a ello, en México se han registrado entre 59 y 62 variedades de maíz (de las aproximadamente 300 reportadas en América Latina), por tal motivo, desde el 2012 se denominó a México como centro de origen y diversidad genética del maíz (Diario Oficial de la Federación, 2012; García *et al.*, 2018).

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 químicos sintéticos, acelerando la degradación de los suelos

*Autor para correspondencia: Ricardo Ivan Medina-Estrada
 Correo electrónico: rimedina@ucemich.edu.mx

Recibido: 08 de agosto de 2023

Aceptado: 13 de diciembre de 2023

Publicado: 14 de diciembre de 2023

ocasionando la perturbación de la rizosfera. Los monocultivos propician la susceptibilidad de la planta a plagas y enfermedades y merman su crecimiento y desarrollo (Tofiño Rivera *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2021; Korenblum *et al.*, 2022). Lo anterior, ha influido en el incremento de los costos de producción, impactando severamente en la economía de los productores (Olanrewaju y Babalola, 2019; Velasco-Jiménez *et al.*, 2020).

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 (BPCV), las cuales 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). Las BPCV 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 y Khalifa, 2022).

En función de su lugar de aislamiento, podemos clasificar a las BPCV en dos grandes 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 BPCV nativas, es decir, las que se aíslan del mismo suelo o planta en la que se aplican. Estas BPCV 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; Amezcua-Aviles *et al.*, 2021). Al respecto, se ha descrito que las BPCV nativas, se asocian con las raíces de las plantas y con otros microorganismos, como los hongos micorrizicos arbusculares, lo cual propicia una simbiosis que resulta exitosa para todos los involucrados y se logra un efecto positivo a largo plazo, ya que se logra la prevención y/o recuperación gradual de suelos degradados (Schlemper *et al.*, 2018; Armada *et al.*, 2018; Thiergart *et al.*, 2019). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue asilar BPCV nativas de suelos de la región Ciénega de Michoacán, México, que sean efectivas en la promoción del crecimiento del maíz criollo mexicano (*Zea mays* L).

MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla 1. Análisis de suelo.

Table 1. Soil analysis.

pH	C.E. (dS m ⁻¹)	M.O. (%)	N (mg kg ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)	Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	Textura
7.15	0.2	4.03	17.5	22.13	26.9	35.3	37.8	Franco-Arcilloso

Área de estudio y muestreo

El muestreo se realizó en la comunidad de Abadiano, municipio de Jiquilpan, Michoacán, México. Sus coordenadas son Longitud: -102.872500 y Latitud: 19.991667, a una altura de 2,140 msnm. Esta localidad forma parte de una zona de transición, ya que termina la selva baja caducifolia y comienza el bosque de pino y encino. En el área de estudio predomina la siembra de maíz criollo de temporal, donde principalmente se utiliza la raza Celaya (Wellhausen, *et al.*, 1951), además, predominan las prácticas agrícolas convencionales (poca tecnificación del campo). La obtención de muestras se realizó durante la primavera (abril de 2020), en una parcela (Longitud -102.869117 y Latitud 20.016680) donde se siembra maíz de temporal y también se usa como potrero de pastoreo para ganado bovino. Con una barrena para muestreo de suelos de 2.5 cm de diámetro, se tomaron 5 muestras simples superficiales al azar (0 a 20 cm de profundidad) y se mezclaron para obtener una muestra compuesta. La muestra compuesta se llevó al Laboratorio de Biotecnología de la Licenciatura en Genómica Alimentaria (LGA) de la Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo (UCEMICH), para realizar el aislamiento y los ensayos respectivos. El análisis de suelo se realizó en el Departamento de Suelos del Laboratorio Central Universitario de la Universidad Autónoma de Chapingo (Tabla 1).

Obtención de aislados bacterianos

Para el procesamiento de las muestras en el laboratorio, se tomaron 10 g de suelo y se realizaron diluciones seriadas en agua peptonada estéril (1, 0.1 y 0.01). Se inocularon 200 µL de cada dilución por duplicado en cajas Petri (100 mm) con agar Luria Bertani (LB- 15 g de peptona de caseína, 5 g de NaCl, 5 g de extracto de levadura y 15 g de agar bacteriológico). Posteriormente, se incubaron a 37 °C durante 24 h (Mau *et al.*, 2011). Pasado el tiempo de incubación, se seleccionaron las cajas en donde hubo crecimiento bacteriano y se procedió a realizar la purificación de los aislados con base en sus características macroscópicas (tamaño, forma, borde, elevación, textura y color). Estos aislados se subcultivaron con palillos de dientes estériles, tomando una colonia y estriándola en una caja Petri (100 mm) con agar LB. Finalmente, se purificaron 40 aislados, a los cuales se les realizó la tinción de Gram (Casasola-Bado, 2022) y se les asignó un código de identificación. Finalmente, se criopreservaron en glicerol a - 20 °C, para integrarlos al cepario del Laboratorio de Biotecnología-LGA-UCEMICH.

Ensayos de germinación y vigor *in vitro*

Se utilizaron semillas de maíz criollo mexicano, las cuales fueron donadas por el productor y dueño de la parcela muestreada y corresponden al ciclo de producción anterior (2019) que resguarda en bodega para utilizar en el ciclo

de producción siguiente. Las semillas se esterilizaron en campana de flujo laminar utilizando cloro al 3 % (5 min), etanol al 70 % (5 min) y agua destilada estéril (tres lavados de 30 s c/u); se dejaron secar y, posteriormente, se llevaron a cabo las pruebas de germinación siguiendo la metodología reportada por Guillen-de la Cruz *et al.* (2018), con algunas modificaciones. Se colocaron 5 semillas por caja Petri (100 mm) con agar-agar (0.9 %) y se adicionaron 20 μ L, sobre cada semilla, del aislado previamente crecido a 37 °C en agitación a 1,200 rpm durante 18 h y a una concentración final de 1×10^6 UFC/mL. Las cajas se incubaron a 28 °C y se mantuvieron en oscuridad durante 5 días. Para este ensayo se inocularon un total de 15 semillas por aislado (40 aislados) y se estableció un control de semillas sin inoculación, solamente colocadas en agar-agar. Para obtener el porcentaje de germinación, se aplicó la ecuación 1.

$$G = \frac{\text{total de semillas germinadas}}{\text{total de semillas}} \times 100.$$

Ecuación 1. Porcentaje de germinación (Guillen-de la Cruz *et al.*, 2018).

Como un primer indicador de promoción del crecimiento vegetal (Constantino *et al.*, 2011), se seleccionaron los aislados que, pasado el tiempo de incubación, indujeron un porcentaje de germinación \geq al 90 %, quedándonos con 18 de los 40 aislados. Para la evaluación de vigor, se procedió a realizar la misma metodología que para los ensayos de germinación, con la diferencia en el periodo de incubación, que se llevó hasta los 8 días. Las variables evaluadas para vigor fueron longitud del brote y de la raíz (incluido el tamaño total) y, peso seco del brote y de la raíz (incluido el peso total). Para estos ensayos, se estableció un diseño experimental completamente al azar con 19 condiciones (18 aislados y un control de semillas sin inoculación solamente colocada en agar-agar) y 15 repeticiones, para un total de 285 unidades experimentales.

Pruebas *in vivo* sobre la promoción del crecimiento en maíz criollo mexicano

Para las pruebas *in vivo*, se utilizó la metodología reportada por Parra-Cota *et al.* (2014) con modificaciones. Se utilizaron macetas de plástico de 0.25 L, con suelo proveniente de la zona de muestreo, previamente esterilizado (Análisis de suelo en Tabla 1), donde se sembraron tres semillas de maíz criollo por maceta (previamente desinfectadas) y se adicionó el inóculo bacteriano ajustado a una concentración final de 1×10^6 UFC/mL. Las plantas se mantuvieron con riego (agua corriente) cada tercer día. Para estos ensayos, se estableció un diseño experimental completamente al azar con 19 condiciones (18 aislados y un control de semillas sin inoculación) y 12 repeticiones, para un total de 228 unidades experimentales. Después de 14 d se evaluaron los parámetros de longitud foliar, longitud de raíz primaria, así como el peso seco foliar y de la raíz.

Mecanismos de promoción del crecimiento vegetal

Se realizaron distintos ensayos para determinar los mecanismos de promoción del crecimiento vegetal más comunes, tanto directos como indirectos. Es importante destacar, que estos ensayos se realizaron solamente en los aislados que mostraron un porcentaje de germinación \geq al 90 % sobre las semillas de maíz criollo mexicano.

Producción de ácido indolacético (AIA)

Para determinar la producción de AIA (una auxina) en los aislados, se usó el método colorimétrico reportado por Sachdev *et al.* (2009). Primero, se realizó una curva de calibración a partir de una solución de AIA (Sigma®) (0, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 ppm), y se mezcló con el reactivo de Salkowski (150 mL de H_2SO_4 , 250 mL de H_2O destilada y 7.5 mL de $FeCl_3$ 0.5 M), el cual permite la oxidación de compuestos indólicos, produciendo una coloración rosa cuando la respuesta es positiva. Por otro lado, las bacterias cultivadas en caldo LB (37 °C en agitación a 120 rpm durante 18 h), se centrifugaron a 4,500 rpm durante 10 min, luego se transfirieron 500 μ L de sobrenadante a un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL para mezclarlo con 250 μ L del reactivo de Salkowski. Después de 20 min de incubación en oscuridad, se tomaron 100 μ L de la mezcla por triplicado y se colocaron en una microplaca de 96 pocillos para ser leídas en el espectrofotómetro a 530 nm. El nivel de producción de AIA se calculó con base en la curva de calibración de AIA y se analizaron los datos de tres experimentos independientes por triplicado.

Solubilización de fosfatos

Para estos ensayos se utilizó el agar Pikovskaya (PVK) (Nautiyal, 1999), utilizando como fuente de fosfatos $Ca_3(PO_4)_2$ (Fosfato tricálcico). Se inocularon los aislados, previamente cultivados en caldo LB e incubados a 37 °C en agitación a 120 rpm durante 18 h, en cajas Petri (60 mm) con el agar PVK y se dejaron incubando durante 7 días a 28 °C. Pasado el tiempo de incubación, se observó la formación de halos transparentes alrededor de las colonias bacterianas que solubilizan fosfatos y se determinó el índice de solubilización de fosfato (ISP), con base en la ecuación 2. En estos ensayos se realizaron tres réplicas independientes.

$$ISF \text{ ó } IPS = \frac{\text{Diámetro del halo} + \text{Diámetro de la colonia}}{\text{Diámetro de la colonia}}$$

Ecuación 2. Utilizada para calcular el índice de solubilización de fosfato (ISF) y/o, el índice de producción de sideróforos (IPS) (Cisneros *et al.*, 2017).

Producción de sideróforos

La prueba de producción de sideróforos se realizó utilizando el medio cromo azul S (CAS) (Schwyn y Neilands, 1987). El agar CAS se vertió en cajas Petri de 60 mm y se inocularon los aislados bacterianos, previamente crecidos en caldo LB e incubados a 37 °C en agitación a 120 rpm durante 18 h. Los aislados inoculados sobre el medio CAS, se incubaron a 37 °C durante 48 h y la producción de sideróforos se reportó como

positiva cuando el aislado generó un halo color naranja en las UFCs. El índice de producción de sideróforos (IPS) se calculó utilizando la ecuación 2. En estos ensayos se realizaron tres réplicas independientes.

Pruebas de antagonismo sobre hongos fitopatógenos

Los ensayos de antagonismo se realizaron utilizando cepas de hongos fitopatógenos como, *Fusarium sp.* AUC-TZ-2, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium sambucinum* y cepas de *Colletotrichum nymphaeae* y *Colletotrichum siamense* (Robles-Yerena *et al.*, 2022; Jiménez-Mejía *et al.*, 2023), así una cepa de *Penicillium expansum*, y una de *Rhizopus stolonifer* (Chavez-Díaz *et al.*, 2019; Morales-Cedeño *et al.*, 2021), todos identificados a nivel molecular. Los hongos se mantuvieron en medio agar dextrosa y papa (PDA Bioxon®) y se dejaron crecer por 5 días a 28 ± 2.0 °C. Se desarrolló la técnica de enfrentamiento dual en cajas Petri de 100 mm con medio PDA, para lo cual se inoculó la bacteria (a 1 cm de distancia del hongo) en dos de los flancos del lugar donde se inoculó el hongo (crecimiento influenciado). Como control, se crecieron los hongos sin inoculación de la bacteria, a los cuales se midió el diámetro de la colonia (crecimiento libre). La ecuación 3 se utilizó para calcular el porcentaje de inhibición correspondiente. En estos ensayos se realizaron tres réplicas independientes para cada hongo.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Crecimiento libre} - \text{Crecimiento influenciado}}{\text{Crecimiento libre}} \times 100$$

Ecuación 3. Determinación del porcentaje de inhibición de hongos (Modificada de Robles-Yerena *et al.*, 2022).

Análisis estadístico

Los datos muestran las medias de las réplicas experimentales \pm la desviación estándar. Para cada variable de crecimiento vegetal se realizó un ANOVA ($p \leq 0.05$) y las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey para determinar la significancia respecto al control ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento de bacterias y pruebas de germinación y vigor en maíz criollo

Se lograron aislar y purificar 40 microorganismos con diferentes características macroscópicas. Al respecto, la proporción de microorganismos aislados se encuentra dentro de los rangos reportados en otros trabajos en los cuales, a partir de suelos cultivados con arroz, se aislaron e identificaron 42 bacterias (Florez-Márquez *et al.*, 2017) y en suelos donde se cultiva plátano (*Musa paradisiaca*), pastos (no se especifican variedades) y maíz, se aislaron 55 microorganismos (Lara-Mantilla *et al.*, 2007). La diversidad de microorganismos encontrados en la rizosfera está directamente relacionada con el manejo agrícola que se les da a las tierras de cultivo, ya que el uso excesivo de agroquímicos reduce significativamente la presencia de microorganismos benéficos en el suelo. El tipo de manejo agrícola (poca tecnificación), combinado con el

manejo pecuario (incorporación de estiércol bovino) que se le da a la zona de muestreo para este estudio, pudiera estar evitando la degradación de los suelos y por ello encontramos diversidad de microorganismos. Por otra parte, en el presente estudio se identificaron 18 aislados que indujeron un porcentaje de germinación \geq al 90 %, lo cual coincide con lo reportado por Rojas-Badía *et al.* (2020) quienes, al inocular semillas de maíz con diferentes cepas promotoras del crecimiento vegetal, observaron un porcentaje de germinación superior al 95 %. Al respecto, García-Lemos *et al.* (2020) mencionan que el AIA es un inductor de la germinación de semillas, lo cual se relaciona con los altos porcentajes de germinación, ya que 14 de los 18 aislados producen AIA (Tabla 4). Por otra parte, las BPCV con características endófitas, pueden colonizar las semillas y promover la germinación como mecanismo para realizar una transmisión o diseminación vertical de bacterias endófitas (Thomas y Sahu, 2021).

En la Tabla 2, solamente se plasmaron los resultados de las pruebas de vigor (*in vitro*), de los aislados que mostraron inducir una germinación \geq al 90 %; y se observó que algunos aislaron promovieron un incremento en los parámetros de peso seco del brote (27.77 % de los aislados), peso seco de la raíz (5.5 % de los aislados) y en peso seco total (27.22 % de los aislados). Los incrementos en los parámetros de peso seco se suelen atribuir a cambios en el potencial osmótico de las plantas, lo cual puede mejorar la absorción de agua y nutrientes (Layne-Garsaball *et al.*, 2007). Por otra parte, el incremento del peso seco se asocia a la biomasa producida durante la correspondiente etapa fenológica de la planta y suele ser un factor determinante en la sanidad de la planta (Marquina *et al.*, 2018; Verbon y Liberman, 2016). Adicionalmente, en el presente estudio se observó que solo algunos aislados incrementaron los parámetros evaluados (S1-1, peso seco total; S2-3, peso seco del brote y peso seco total; S3 APS, peso seco de la raíz y peso seco total; S5-1, peso seco total; S7 APS, peso seco del brote) en las pruebas de promoción del crecimiento *in vitro* (vigor) de maíz (Tabla 2). En este sentido, Layne-Garsaball *et al.* (2007) mencionan que, las características genéticas de la semilla y el tiempo de almacenamiento pueden influenciar el vigor de la mismas, además, las bacterias promotoras del crecimiento vegetal tienen diversos mecanismos para ello (solubilización de fosfatos, producción de ácido indol acético y de sideróforos, y antagonismo contra hongos fitopatógenos), los cuales pueden actuar a diferentes niveles y en función de la interacción y la etapa fenológica de la planta (De Araujo *et al.*, 2012; Rowe *et al.*, 2018).

Promoción del crecimiento vegetal *in vivo*

Contrario a lo observado en los ensayos *in vitro*, en esta etapa se observó que diversos aislados mostraron una estimulación del crecimiento en diferentes parámetros (Tabla 3). El 83% de los aislados mostraron datos significativamente mayores, comparados contra el control, en al menos dos, de los seis parámetros evaluados, observando diversidad en la estimulación de las plantas, por parte de las bacterias, es decir, mientras algunas incrementan el peso seco de la raíz

Tabla 2. Efecto *in vitro* de los aislados con un porcentaje de germinación \geq al 90 %, sobre semillas de maíz criollo mexicano (*Zea mays* L.). Los valores están expresados como el promedio \pm la desviación estándar. *Indica disminución estadísticamente significativa respecto al control y, **representa estimulación estadísticamente significativa respecto al control ($p \leq 0.05$).

Table 2. *In vitro* effect of isolates with a germination percentage \geq 90 % on seeds of Mexican native corn (*Zea mays* L.). Values are expressed as the average \pm standard deviation. *Indicates statistically significant decrease compared with the control and **represents statistically significant stimulation compared with the control ($p \leq 0.05$).

	Longitud del brote (cm)	Longitud de raíz (cm)	Longitud total (cm)	Peso seco del brote (mg)	Peso seco de la raíz (mg)	Peso seco total (mg)
CONTROL	7.28 \pm 1.14	6.92 \pm 1.75	14.20 \pm 2.96	27.50 \pm 3.54	17.75 \pm 2.63	45.25 \pm 2.12
S1-1 APS	4.48 \pm 1.17	2.66 \pm 1.06*	7.14 \pm 2.25*	24.44 \pm 3.91	14.67 \pm 0.47	39.11 \pm 1.41
S1-1	5.43 \pm 1.32	2.80 \pm 0.59*	8.22 \pm 1.00*	25.50 \pm 2.15	8.29 \pm 0.67*	33.79 \pm 5.17*
S1-2 APS	2.42 \pm 0.69*	2.30 \pm 0.97*	4.72 \pm 0.58*	20.06 \pm 3.08	7.58 \pm 2.59*	27.64 \pm 1.32*
S1-2	5.84 \pm 1.77	3.69 \pm 1.51	9.53 \pm 3.01	13.67 \pm 1.89*	11.44 \pm 0.77*	25.11 \pm 0.94*
S1-3 APS	5.59 \pm 0.40	3.75 \pm 1.71	9.34 \pm 1.51*	28.83 \pm 3.06	13.00 \pm 5.16	41.83 \pm 6.36
S1-4 APS	5.61 \pm 0.61	3.01 \pm 0.98*	8.62 \pm 0.71*	25.94 \pm 2.80	11.71 \pm 1.97*	37.65 \pm 3.66*
S2 APS	4.09 \pm 1.37*	5.54 \pm 1.45	9.63 \pm 2.07	27.67 \pm 6.60	19.67 \pm 1.41	47.33 \pm 14.50
S2-2	4.50 \pm 1.61	2.49 \pm 0.56*	6.99 \pm 0.90*	18.75 \pm 0.35*	8.42 \pm 1.30*	27.17 \pm 3.42*
S2-3	4.30 \pm 0.72*	2.94 \pm 0.53*	7.24 \pm 0.66*	38.00 \pm 0.00**	11.08 \pm 0.59*	49.08 \pm 2.83**
S2-4	5.44 \pm 1.64	2.74 \pm 0.90*	8.19 \pm 1.45*	34.25 \pm 2.47**	7.50 \pm 2.12*	41.75 \pm 5.30
S3 APS	4.23 \pm 0.37*	2.95 \pm 0.80*	7.19 \pm 0.96*	22.17 \pm 0.71*	26.67 \pm 1.89**	48.83 \pm 2.36**
S3-6	3.17 \pm 0.70*	2.33 \pm 0.38*	5.50 \pm 1.07*	23.06 \pm 1.73	10.17 \pm 1.04*	33.22 \pm 0.24*
S4-3	4.69 \pm 0.36	2.44 \pm 0.90*	7.13 \pm 0.76*	22.21 \pm 4.04	10.11 \pm 2.83	32.32 \pm 2.83*
S5-1	5.96 \pm 1.00	3.58 \pm 0.77	9.54 \pm 1.72	37.42 \pm 5.77**	13.67 \pm 2.36	51.08 \pm 9.43**
S5-2	5.43 \pm 1.43	2.86 \pm 0.93*	8.28 \pm 0.30	19.08 \pm 4.83*	7.33 \pm 0.47*	26.42 \pm 0.71*
S6 APS	4.67 \pm 0.96	3.66 \pm 0.19*	8.33 \pm 1.01*	24.50 \pm 2.38	9.33 \pm 0.47*	33.83 \pm 0.51*
S6-2	4.48 \pm 0.19	4.68 \pm 0.84	9.17 \pm 0.90	36.25 \pm 6.01	11.00 \pm 1.00*	47.25 \pm 3.89
S7 APS	6.26 \pm 0.84	2.79 \pm 1.48*	9.05 \pm 0.79*	33.83 \pm 0.24**	12.89 \pm 1.58	46.72 \pm 0.24

Tabla 3. Efecto *in vivo* de los diferentes aislados, sobre semillas de maíz criollo mexicano (*Zea mays* L.). Los valores están expresados como el promedio \pm la desviación estándar. *Indica disminución estadísticamente significativa respecto al control y, **representa estimulación estadísticamente significativa respecto al control (p value \leq 0.05).

Table 3. *In vivo* effect of different isolates on seeds of Mexican native corn (*Zea mays* L.). Values are expressed as average \pm standard deviation. *Indicates statistically significant decrease compared with the control and **represents statistically significant stimulation compared with the control (p value \leq 0.05).

	Longitud foliar (cm)	Longitud de la raíz (cm)	Longitud total (cm)	Peso seco foliar (mg)	Peso seco de la raíz (mg)	Peso seco total (mg)
CONTROL	15.99 \pm 1.74	11.40 \pm 2.66	27.39 \pm 3.50	41.83 \pm 12.02	43.50 \pm 4.01	85.33 \pm 16.03
S1-1APS	16.27 \pm 2.38	14.26 \pm 2.13	30.54 \pm 1.67	48.56 \pm 4.76	52.33 \pm 3.77**	100.89 \pm 4.48**
S1-1	20.78 \pm 2.97**	13.02 \pm 2.62	33.80 \pm 0.23**	52.11 \pm 7.67	53.00 \pm 12.26	105.11 \pm 23.10
S1-2APS	17.83 \pm 3.86	12.44 \pm 3.87	30.26 \pm 2.41	60.67 \pm 10.37	35.50 \pm 4.48	96.17 \pm 10.37
S1-2	17.74 \pm 2.89	12.69 \pm 1.69	30.43 \pm 1.66	47.44 \pm 5.87	57.89 \pm 8.63**	105.33 \pm 3.18**
S1-3APS	15.63 \pm 2.32	12.70 \pm 1.98	28.33 \pm 1.85	30.17 \pm 3.30*	82.83 \pm 4.48**	113.00 \pm 15.20**
S1-4APS	21.85 \pm 1.42**	12.60 \pm 2.15	34.46 \pm 0.55**	55.44 \pm 7.24	87.83 \pm 12.27**	143.28 \pm 13.32**
S2APS	20.89 \pm 2.75**	10.58 \pm 2.57	31.47 \pm 3.58	54.33 \pm 1.41**	61.89 \pm 14.63**	116.22 \pm 21.21**
S2-2	22.11 \pm 3.16**	12.68 \pm 0.41	34.79 \pm 3.60**	90.83 \pm 5.89**	85.58 \pm 9.78**	176.42 \pm 15.67**
S2-3	21.41 \pm 4.41**	14.06 \pm 4.30	35.46 \pm 1.58**	53.50 \pm 12.02	73.00 \pm 2.36**	126.50 \pm 6.60**
S2-4	18.73 \pm 4.34	12.44 \pm 2.01	31.17 \pm 1.65	60.83 \pm 5.89**	57.33 \pm 9.68**	118.17 \pm 19.56**
S3APS	18.36 \pm 2.88	13.18 \pm 1.20	31.54 \pm 0.60	50.00 \pm 7.07	72.00 \pm 2.83**	122.00 \pm 10.61**
S3-6	19.41 \pm 2.37**	13.07 \pm 3.67	32.47 \pm 1.74**	60.67 \pm 11.02	47.00 \pm 12.12	107.67 \pm 4.95**
S4-3	14.77 \pm 3.08	9.88 \pm 3.21	24.65 \pm 1.36	48.58 \pm 6.24	33.92 \pm 3.99*	82.50 \pm 7.53
S5-1	17.53 \pm 3.56	11.77 \pm 3.61	29.30 \pm 3.74	37.33 \pm 0.94	30.00 \pm 9.43*	67.33 \pm 10.37
S5-2	21.45 \pm 3.13**	11.15 \pm 3.37	32.60 \pm 4.58	70.00 \pm 9.43**	82.50 \pm 20.51**	152.50 \pm 14.38**
S6APS	20.30 \pm 0.91**	11.58 \pm 3.65	31.89 \pm 2.86	66.71 \pm 6.82**	60.38 \pm 18.34	127.08 \pm 7.07**
S6-2	20.91 \pm 2.97**	13.34 \pm 3.62	34.26 \pm 1.15**	46.72 \pm 2.75	44.83 \pm 8.78	91.56 \pm 10.22
S7APS	17.94 \pm 2.12	12.62 \pm 3.02	30.56 \pm 1.46	58.58 \pm 7.35	91.11 \pm 19.39**	149.69 \pm 3.77**

ya el peso seco total (por ejemplo, S1-1APS), otras estimulan la longitud foliar y la longitud total (por ejemplo, S1-1). Esta característica observada en el presente estudio (de estimulación diferencial), refuerza la idea del uso de consorcios bacterianos para incrementar la producción de los cultivos, ya que, las BPCV no cuentan con todos los mecanismos de promoción del crecimiento, cada BPCV participa bajo diferentes mecanismos y en conjunto, logran una sinergia en la promoción del crecimiento de las plantas (Hu *et al.*, 2021). En el 72 % de los aislados se obtuvieron valores más altos de peso seco total de las plantas y el 33.33 % estimularon la longitud total de las plantas de maíz, con respecto al control. Se pueden destacar los aislados S1-4 APS, S2-2, S2-3 y S3-6 por estimular el crecimiento del brote e incrementar el peso seco total de las plantas de maíz, con relación al control. Al respecto, se ha reportado que el incremento en el peso seco está directamente relacionado a un correcto funcionamiento fisiológico de la planta, en el cual las BPCV son fundamentales por brindar nutrientes y factores de crecimiento para la planta (Layne-Garsaball *et al.*, 2007; Marquina *et al.*, 2018; Verbon *et al.*, 2016). Por otra parte, los datos mostrados en el presente estudio coinciden con los reportados por Rojas-Badía *et al.* (2020), quienes obtuvieron valores similares a los de este trabajo en cuanto longitud y peso seco de plantas de maíz estimuladas con BPCV. Así mismo, se ha reportado que, el uso de microorganismos estimula el crecimiento del maíz en diferentes etapas fenológicas (Huete Arrieta *et al.*, 2019; De Araujo *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2020). Curiosamente, no se demostraron diferencias estadísticamente significativas, con respecto al control, para el parámetro de longitud de la raíz, sin embargo, visualmente fue notorio el cambio en la arquitectura de las raíces tratadas con los aislados nativos S1-1APS, S1-1, S2-3, S3APS, S3-6 y S6-2 (Figura 1), donde se pudo observar un mayor número de raíces secundarias y pelos radiculares. Este efecto, coincide con lo reportado por García-de la Paz *et al.* (2022), quienes muestran que la inoculación con BPCV estimula el crecimiento radicular gracias a la asociación de las bacterias con las raíces del maíz. En el presente estudio, los cambios en la arquitectura de las raíces pudieran estar asociadas a la interacción con los microorganismos, ya que la disponibilidad de nutrientes, como el fosfato brindado a través de los mecanismos de solubilización de fosfatos, y la disponibilidad de hierro asociada a la producción de agentes quelantes, como los sideróforos (Singh *et al.*, 2020), pueden influir en un correcto crecimiento de la planta. Además, la síntesis de AIA de los aislados evaluados pudiera estar mediada por la interacción establecida con las raíces de las plantas, ya que uno de los principales exudados radiculares, el triptófano, es considerado el precursor de la biosíntesis de AIA en bacterias, siendo el AIA una de las fitohormonas más estudiadas por su promoción en el crecimiento de la planta (Montesinos, 2003).

Anotación funcional de aislados nativos sobre el maíz criollo mexicano (*Zea mays* L.)

Los 18 aislados nativos, se sometieron a las pruebas bioquímicas para la determinación de los mecanismos de promoción

del crecimiento vegetal. En la tabla 4 se muestra la anotación funcional de los 18 aislados. Al respecto, el aislado S2-3 fue el único que presentó actividad en todos los mecanismos de promoción evaluados (solubilización de fosfatos, producción de AIA y de sideróforos), además de haber sido uno de los aislados con mejores resultados sobre la promoción del crecimiento vegetal *in vivo* (Tabla 3). Por otra parte, el 50 % de los aislados mostraron dos mecanismos de promoción del crecimiento vegetal y un 38.8 % mostraron solamente un mecanismo de promoción, de los evaluados. A continuación, se describen a detalle los resultados observados en las distintas pruebas, para cada uno de los aislados.

Solubilización de fosfatos

De los 18 aislados evaluados, cinco de ellos (S1-1, S1-2 APS, S2-3, S4-3, S7 APS) mostraron la capacidad de solubilizar fosfato tricálcico, siendo este mecanismo directo de promoción del crecimiento vegetal, uno de los más reportados en diversas rizobacterias, tales como, *Azobacter*, *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Pantoea* y *Pseudomonas* (Verma

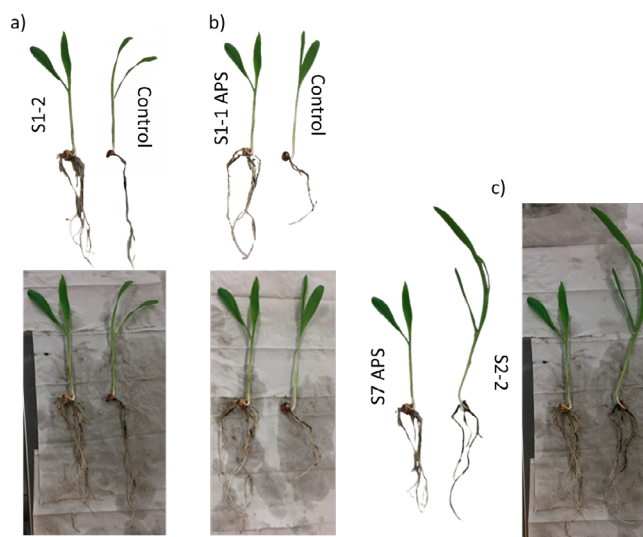


Figura 1. Efecto de los aislados nativos sobre la longitud y arquitectura foliar y radicular en maíz criollo mexicano. Se muestran imágenes representativas de las pruebas de crecimiento *in vivo*, donde se aprecia el cambio inducido por los aislados nativos, sobre la arquitectura radicular (longitud de raíz primaria, incremento en raíces secundarias y presencia de pelos radiculares), donde a) muestra el aislado nativo S2-1 comparado contra el control (imagen sin fondo y foto original), y b) muestra la imagen sin fondo y la foto original del aislado nativo S1-7 APS. Por otra parte, en c) se observa el incremento asociado al aislado nativo S2-2 con respecto al S7 APS, en cuanto a la longitud foliar y el aumento en el número de hojas (imagen sin fondo y foto original).

Figure 1. Effect of native isolates on length, leaf and root architecture, in Mexican native corn. Representative images of *in vivo* growth tests are shown. The change induced by the native isolates on the root architecture can be seen (primary root length, increase in secondary roots and presence of root hairs), a) Shows the native isolate S2-1 compared against the control (image without background and original); b) Shows image without background and original of native isolate S1-7 APS; c) the increase associated with native isolate S2-2 compared against S7 APS isolate is observed, in terms of leaf length and the increase in leaves number (image without background and original).

Tabla 4. Anotación funcional de los aislados nativos.
Table 4. Functional annotation of native isolates.

Aislados nativos	Producción de AIA (µg/mL ⁻¹)	Solubilización de fosfato	Producción de sideróforos	Antagonismo contra hongos fitopatógenos							
				<i>Penicillium expansum</i> 230	<i>Rhizopus stolonifera</i> C	<i>Fusarium sp.</i> AUC-TZ-2	<i>Fusarium proliferatum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> AUC-TZ-3	<i>Fusarium sambucinum</i> AUC-TZ-1	<i>Colletotrichum nymphaeae</i> AUC-ZM-10	<i>Colletotrichum siamense</i>
S1-1 APS	5.09	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
S1-1	3.68	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+
S1-2 APS	31.84	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
S1-2	0	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+
S1-3 APS	5.89	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+
S1-4 APS	2.88	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+
S2 APS	8.91	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
S2-2	5	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-
S2-3	21.38	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
S2-4	0	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
S3 APS	0	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+
S3-6	19.28	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+
S4-3	3.4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
S5-1	5.66	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
S5-2	23.44	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+
S6 APS	0	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+
S6-2	23.59	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S7 APS	8.67	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+

et al., 2015). Al parecer, el hecho de que este mecanismo de promoción este ampliamente distribuido en bacterias, se debe a la baja disponibilidad del nutriente y por ello, las poblaciones que habitan los suelos deben competir por él, por lo que, las BPCV han desarrollado este mecanismo de solubilización. Además, en la simbiosis planta-bacteria, la disponibilidad de fosfatos dado por las bacterias hacia las plantas, tiene como respuesta la disponibilidad de fuentes de carbono (aportadas por las plantas) esenciales para los procesos metabólicos de las bacterias. El fósforo, después del nitrógeno, es el elemento más esencial para el crecimiento de las plantas, ya que constituye aproximadamente el 0.2 % del peso seco de una planta y se ha correlacionado directamente con el incremento en la biomasa (peso seco) de plantas de maíz (Montañez *et al.*, 2012; Beltrán Pineda, 2014).

Producción de ácido indol acético (AIA)

De los 18 aislados evaluados, 15 mostraron una producción nativa de AIA, con rangos de producción desde los 3.5 µg/mL⁻¹ hasta los 31.84 µg/mL⁻¹, destacando el aislado S1-2APS como el mayor productor de AIA nativo (31.84 µg/mL⁻¹). No obstante, tres aislados no mostraron producción nativa de AIA (Cuadro 1). Dentro de las diversas vías de biosíntesis de AIA, las vías IPyA e IAM son las más estudiadas en bacterias (Zhang *et al.*, 2019), incluso, existen reportes de rutas no dependientes de triptófano de las cuales los mecanismos aún no están elucidados. Datos reportados por Marag y Suman (2018), muestran una producción diferencial de AIA en los distintos aislados bacterianos, los cuales van desde la no producción, pasando por rangos de 6.6 hasta los 202.7 µg/mL⁻¹, cabe resaltar que en los ensayos de producción de AIA, adicionan triptófano al medio de cultivo bacteriano, como

inductor de la biosíntesis de AIA en bacterias con rutas dependientes de triptófano. Por otro lado, estudios realizados en cepas de *B. cereus*, muestran que estos microorganismos son capaces de sintetizar triptófano (Barceló-Antemate, 2016). Con esta información se puede sugerir que, los aislados evaluados en el presente estudio pueden tener rutas independientes de triptófano o en su defecto, algunos de ellos podrían estar sintetizando el aminoácido triptófano y éste servir como precursor para la biosíntesis de AIA. El AIA está asociado a la estimulación de la división celular, elongación, diferenciación y tropismo de las plantas, por lo que se considera una de las auxinas más importantes para el desarrollo vegetal, sin embargo, en concentraciones elevadas puede reprimir los procesos antes mencionados, siendo este un mecanismo (sobre producción de AIA) utilizado por algunas bacterias fitopatógenas (Mano y Nemoto, 2012; Kawaguchi y Syono, 1996).

Producción de sideróforos

El 50 % de los 18 aislados nativos dieron positivo a la prueba de producción de sideróforos en el agar CAS, donde se observó una conversión al color naranja. Este mecanismo de promoción está asociado a la quelación del hierro (Fe⁺) por parte de los sideróforos, estas biomoléculas presentan una alta afinidad al Fe³⁺ para secuestrarlo y reducirlo a Fe²⁺, una forma más soluble y aprovechable para las plantas (Tortora *et al.*, 2011). Además, se les ha atribuido un papel importante como un mecanismo antagónico para bacterias y hongos fitopatógenos, ya que las bacterias productoras de sideróforos pueden secuestrar el Fe⁺ disponible en la rizósfera y limitar su acceso para otros microorganismos. Además, existen reportes sobre la activación del sistema de resistencia

inducida de las plantas (Marag y Suman, 2018). En resumen, la actividad siderófora puede propiciar la disponibilidad de nutrientes para la planta y fungir como un mecanismo de biocontrol.

Antagonismo contra hongos fitopatógenos

Los 18 aislados se confrontaron contra ocho hongos fitopatógenos de interés agrícola. Se demostró que, el 100 % de los aislados muestran actividad antagónica contra, al menos, uno de los hongos fitopatógenos, destacando los aislados S1-1 APS y S6-2 por presentar antagonismo contra todos los hongos evaluados. Los hongos del género *Fusarium* son de interés agrícola por las pérdidas económicas que causan al infectar a los cultivos, además de ser uno de los hongos fitopatógenos de mayor distribución en cultivos agrícolas (Figueroa *et al.*, 2010). En el presente estudio se demostró la actividad antagónica de los aislados nativos contra cepas de *Fusarium*, lo cual coincide con lo reportado por León Mendoza (2014), quienes prueban el potencial antagónico de bacterias aisladas de la rizósfera de cultivos de maíz contra *Fusarium verticilloides*. En el presente trabajo, se observó que el 66.6 % de los aislados presentó efecto antagónico contra, al menos, un hongo del género *Fusarium*. Sin embargo, se observó que *F. proliferatum* fue el más resistente al efecto antagónico de los aislados nativos, ya que solo S1-1 APS y S6-2 mostraron actividad antagónica. Los hongos *Colletotrichum siamense* y *Rhizopus stolonifer* fueron inhibidos por el 72 % de los aislados. Uno de los mecanismos de promoción del crecimiento vegetal indirectos, es la actividad de biocontrol por parte de las BPCV, ya que este mecanismo propicia la sanidad de la planta y le brinda condiciones para destinar su energía al crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales (Marag y Suman, 2018). En este sentido, la actividad antagónica de las bacterias se debe a la necesidad de competir por un nicho ecológico y lograr la asociación con las raíces de las plantas, por lo cual, es necesario que utilicen mecanismos para competir en la rizósfera, como la producción de sideróforos, de antibióticos o de enzimas líticas, así como la inducción de la resistencia sistémica en la planta (Pérez-y-Terrón *et al.*, 2014). Además del género *Fusarium*, existen otros hongos que están asociados a enfermedades, como los causantes de la pudrición de la mazorca y tallo (por géneros de *Penicillium* y *Fusarium*) y la antracnosis (por géneros de *Colletotrichum*). Además, los granos pueden verse contaminados por hongos del género *Penicillium* y *Rhizopus*, lo que se asocia a la contaminación de alimentos por micotoxinas (Rabie *et al.*, 1985; Vandicke *et al.*, 2021; Wen *et al.*, 2021; Belisário *et al.*, 2022). Por lo cual, la identificación de bacterias con actividad antagónica frente a hongos, representa una alternativa al uso de fungicidas sintéticos.

CONCLUSIONES

En el presente estudio demostramos la actividad sobre la promoción del crecimiento de plantas de maíz criollo mexicano, de aislados nativos del Municipio de Jiquilpan, Michoacán. De los 40 aislados obtenidos en el muestreo de suelo,

identificamos 18 que promueven más del 90 % de la germinación en las semillas de maíz. Además, los aislados S1-4 APS, S2-2, S2-3 y S3-6 destacaron por mostrar incrementos del 20 al 30 % en la longitud del brote, y del 25 hasta el 100 % de aumento en el peso seco total de las plantas de maíz. Estos aislados presentaron diferentes mecanismos de promoción del crecimiento vegetal, directos como la producción de AIA (S1-4 APS, S2-2, S2-3 y S3-6), solubilización de fosfato (S2-3) y producción de sideróforos (S2-2 y S2-3) e indirectos, como el antagonismo contra hongos del género *Penicillium* (S2-3), *Rhizopus* (S1-4 APS, S2-2, S2-3 y S3-6), *Fusarium* y *Colletotrichum* (S1-4, S2-2, S2-3 y S3-6). La presentación por parte de los aislados, de diferentes mecanismos de promoción y los buenos parámetros de crecimiento observados en el maíz, deja abierta la posibilidad de estudiar su efecto promotor como consorcio nativo, el cual pudiera incrementar, aún más, la germinación y el desarrollo de las plantas de maíz criollo mexicano de la región. Estos hallazgos son fundamentales para generar estrategias biotecnológicas acorde a las necesidades particulares de cada región y cultivo. Por lo anterior, es necesario continuar con estudios que robustezcan la información y nos ayuden a seleccionar bacterias con un alto potencial para su aplicación biotecnológica en el maíz.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaramos, no tener conflicto de intereses con la presente publicación.

REFERENCIAS

- Al-Tammar, F.K. y Khalifa, A.Y. Z. 2022. Plant growth promoting bacteria drive food security. *Brazilian Journal of Biology*, 82, e267257.
- Amezquita-Aviles, C.F., Coronel-Acosta, C.B., de los Santos-Villalobos, S., Santoyo, G. y Parra-Cota, F.I. 2021. Characterization of native plant growth-promoting bacteria (PGPB) and their effect on the development of maize (*Zea mays* L.). *Biotecnia*, 24(1): 15-22.
- Armada, E., Leite, M.F.A., Medina, A., Azcón, R., y Kuramae, E.E. 2018. Native bacteria promote plant growth under drought stress condition without impacting the rhizomicrobiome. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(7).
- Belisário, R., Robertson, A.E., y Vaillancourt, L.J. 2022. Maize Anthracnose Stalk Rot in the Genomic Era. *Plant Disease*, 106(9), 2281-2298.
- Beltrán Pineda, M.E. 2014. Phosphate solubilization as a microbial strategy for promoting plant growth. *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria*, 15(1):101-113.
- Barceló-Antemate, D. 2016. Rutas de síntesis completas de aminoácidos en aislados de *Bacillus cereus* de una comunidad microbiana de Cuatrociénegas, Coahuila con fenotipo de auxotrofías. Tesis de maestría. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV).
- Casasola-Bado M.J. 2022. Importance of a correct Gram stain in identifying bacteria. *Revista del Colegio de Microbiología, Química y Clínica de Costa Rica*, 27(2): 89-98.
- Cisneros R, C.A., Sánchez de P, M. y Menjivar F, J.C. 2017. Identification of phosphate solubilizing bacteria in a Andisol of Colombian coffee region. *Revista Colombiana de Biotecnia*, 19(1): 21-28.

- Chavez-Díaz, I.F., Mena-Violante, H.G., Hernandez-Lauzardo, A.N., Oyoque-Salcedo, G., Oregel-Zamudio, E. y Angoa-Perez, M.V. 2019. Postharvest control of *Rhizopus stolonifer* on black Berry (*Rubus fruticosus*) by blackberry native crop bacteria. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 51(2): 306-317.
- Constantino, M., Gómez, R., Álvarez, J.D., Pat, J.M. y Espín, E.G. 2011. Efecto de la inoculación de *Azotobacter chroococcum* y *Glomus intraradices* en el crecimiento y nutrición de plántulas de papaya en fase de vivero. *Agronomía Costarricense*, 35(1): 15-31.
- De Araujo, F.F., Souza, E.C., Guerreiro, R.T., Guaberto, L.M. y De Araujo, A.S.F. 2012. Diversity and growth-promoting activities of *Bacillus* sp. in maize. *Revista Caatinga*, 25(1): 1-7.
- Diario Oficial de la Federación. 2012. Acuerdo por el que se determinan centros de origen y centros de diversidad genética del maíz. [Consultado 15 mayo 2023] 2012. Disponible en: <http://www.dof.gob.mx>
- Figueroa, M., Rodríguez, R., Guerrero, B., González, M. y Pons, J. 2010. Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz de maíz en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28, 124-134.
- Florez-Márquez, J.D., Leal-Medina, G.I., Ardila-Leal, L.D. y Cárdenas-Caro, D.M. 2017. Isolation and characterization of rhizobacteria associated with rice crops (*Oryza sativa* L.) in Norte de Santander (Colombia). *Agrociencia*, 51(4): 373-391.
- García, J. E., Maroniche, G., Creus, C., Suárez-Rodríguez, R., Ramírez-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.
- García-de la Paz, N.C., Gallegos-Robles, M.A., González-Salas, U., Rodríguez-Sifuentes, L., Mendoza-Renata, S.S. y Sánchez-Lucio, R. 2022. Potencial de *Bacillus* nativos de la Comarca Lagunera como biofertilizante en la producción de maíz forrajero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 28, 253-261.
- García-Lemos, A.M., Großkinsky, D.K., Saleem Akhtar, S., Nicolaisen, M.H., Roitsch, T., Nybroe, O., y Veierskov, B. 2020. Identification of root-associated bacteria that influence plant physiology, increase seed germination, or promote growth of the christmas tree species *Abies nordmanniana*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 566613.
- García Ruiz, M. T., Knapp, A. N., y García-Ruiz, H. 2018. Profile of genetically modified plants authorized in Mexico. *Biotechnology in Agriculture and the Food Chain*, 9(3): 152-168.
- Grageda-Cabrera, O.A., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J.J. y Vera-Nuñez, J.A. 2012. Impact of biofertilizers in agriculture. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6): 1261-1274.
- Guillen-de la Cruz, P., Velázquez-Morales, R., de la Cruz-Lázaro, E., Márquez-Quiroz, C. y Osorio-Osorio, R. 2018. Seed germination and vigor of landrace maize populations with different proportion of vitreous endosperm. *Chilean Journal Agricultural & Animal Science*, 34(2): 108-117.
- Haskett, T.L., Tkacz, A., y Poole, P.S. 2021. Engineering rhizobacteria for sustainable agriculture. *The International Society for Microbial Ecology Journal*, 15(4): 949-964.
- 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.
- Hu, J., Yang, T., Friman, V.P., Kowalchuk, G.A., Hautier, Y., Li, M., Wei, Z., Xu, Y., Shen, Q., y Jousset, A. 2021. Introduction of probiotic bacterial consortia promotes plant growth via impacts on the resident rhizosphere microbiome. *Proceedings Biological Sciences*, 288(1960), 20211396.
- Huete Arrieta, Y.R., Torres Domínguez, J. y Domínguez Palacio, D. 2019. Morphological behavior of maize inoculated with *Azotobacter chroococcum* at reduced dosage of nitrogen fertilizer. *Avances*, 21(2): 1-9.
- Imade, E.E., y Babalola, O.O. 2021. Biotechnological utilization: the role of *Zea mays* rhizospheric bacteria in ecosystem sustainability. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(11): 4487-4500.
- Jiménez-Mejía, R., Corona-Márquez, M., Zepeda-García, J.G., Rodríguez-Cárdenas, C., Santoyo, G., Morales-Cedeño, L.R., Medina-Estrada, R.I., Sánchez-Ceja, M. y Loeza-Lara, P.D. 2023. Sodium octanoate-functionalized chitosan coating reduces dry rot caused by *Fusarium Sambucinum* (AUC-TZ-1) in potato minitubers in storage. *Potato Research*, 09615.
- Kawaguchi, M., y Syono, K. 1996. The excessive production of indole-3-acetic acid and its significance in studies of the biosynthesis of this regulator of plant growth and development. *Plant & Cell Physiology*, 37(8): 1043-1048.
- Korenblum, E., Massalha, H., y Aharoni, A. 2022. Plant-microbe interactions in the rhizosphere via a circular metabolic economy. *The Plant Cell*, 34(9): 3168-3182.
- Lara-Mantilla, C., Villalba-Anaya, M. y Oviedo-Zumaqué, L.E. 2007. Non-symbiotic bacterial diazotrophs from agricultural crops of San Carlos. Córdoba, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 9(2): 6-14.
- Layne-Garsaball, J.A., Méndez Natera, J.R. y Mayz-Figueroa, J. 2007. Seedling growth from three seed sizes of two corn (*Zea mays* L.) cultivars sowed in sand and watered with three osmoticant solutions of sucrose. *IDESIA (Chile)*, 25(1): 21-36.
- León Mendoza, L.H. 2014. Determination of plant growth promoting potential of enterobacteriaceae isolated from the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.). *Scientia Agropecuaria*, 5(2014): 177-185.
- Mano, Y., y Nemoto, K. 2012. The pathway of auxin biosynthesis in plants. *Journal of Experimental Botany*, 63(8), 2853-2872.
- Marag, P.S. y Suman, A. 2018. Growth stage and tissue specific colonization of endophytic bacteria having plant growth promoting traits in hybrid and composite maize (*Zea mays* L.). *Microbiological Research*, 214(2018): 101-113.
- Marquina, M.E., Ramírez, Y. y Castro, Y. 2018. Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón *Capsicum annum* L. var. Cacique Gigante. *Bioagro*, 30(1): 3-16.
- Mau, S., Vega, K. y Sánchez, M. 2011. Isolating soil bacteria and their potential use in systems for wastewater treatment. *Tropical Journal of Environmental Sciences*, 42(2): 45-52.
- 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.
- Montañez, A., Blanco, A.R., Barlocco, C., Beracochea, M. y Sicardi, M. 2012. Characterization of cultivable putative endophytic plant growth promoting bacteria associated with maize cultivars (*Zea mays* L.) and their inoculation effects *in vitro*. *Applied Soil Ecology*, 58, 21-28.
- Montesinos, E. 2003. Plant-associated microorganisms: A view from the scope of microbiology. *International Microbiology*, 6, 221-223.

- Morales-Cedeño, L.R., de los Santos-Villalobos, S. y Santoyo, G. 2021. Functional and genomic analysis of *Rouxiiella bandensis* SER3 as a novel biocontrol agent of fungal pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1-14.
- Nautiyal, C.S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170(1): 265-270.
- Olanrewaju, O.S., y Babalola, O.O. 2019. *Streptomyces*: implications and interactions in plant growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(3): 1179-1188.
- Parra-Cota, F.I., Peña-Cabriales, J.J., de Los Santos-Villalobos, S., Martínez-Gallardo, N.A., y Délano-Frier, J.P. 2014. *Burkholderia ambifaria* and *B. caribensis* promote growth and increase yield in grain amaranth (*Amaranthus cruentus* and *A. hypochondriacus*) by improving plant nitrogen uptake. *PloS One*, 9(2), e88094.
- Pereira, S.I.A., Abreu, D., Moreira, H., Vega, A., y Castro, P.M.L. 2020. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and nutrient use efficiency in maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. *Heliyon*, 6(10), e05106.
- 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.
- Pérez-y-Terrón, R., Gonzalez-Montfort, T.S. y Muñoz-Rojas, J. 2014. Antagonismo microbiano asociado a cepas bacterianas provenientes de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y maíz (*Zea mays*). *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(3): 53-60.
- Rabie, C.J., Lübben, A., Schipper, M.A.A., van Heerden, F.R. y Fincham, J.E. 1985. Toxigenicity of *Rhizopus* species. *International Journal of Food Microbiology*, 1(5):263-270.
- 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.
- Robles-Yerena, L., Rodríguez-Mendoza, J., Santoyo, G., Ochoa-Alvarado, X.I., Medina-Estrada, R.I., Jiménez-Mejía, R. y Loeza-Lara, P.D. 2022. Phylogenetic identification of fungi isolated from strawberry and papaya fruits and their susceptibility to fatty acids. *The Canadian Journal of Plant and Pathology*, 20(8): 44-57.
- Rojas-Badía, M., Bello-González, M.A., Ríos-Rocajull, Y.R. y Rodríguez-Sánchez, J. 2020. Plant growth promotion of commercial vegetable crops by *Bacillus* strains. *Acta Agronómica*, 69(1): 54-60.
- Rowe, S.L., Norman, J.S. y Friesen, M.L. 2018. Coercion in the evolution of plant-microbe communication: A perspective. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(8): 789-794.
- Sachdev, D.P., Chaudhari, H.G., Kasture, V.M., Dhavale, D.D., y Chopade, B.A. 2009. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing *Klebsiella pneumoniae* strains from rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum*) and their effect on plant growth. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47(12): 993-1000.
- Schlemper, T.R., van Veen, J.A., y Kuramae, E.E. 2018. Co-variation of bacterial and fungal communities in different sorghum cultivars and growth stages is soil dependent. *Microbial ecology*, 76(1): 205-214.
- Schwyn, B., y Neilands, J.B. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160(1): 47-56.
- Singh, A., Kumar, M., Verma, S., Choudhary, P. y Chakdar, H. 2020. Plant microbiome: Trends and prospects for sustainable agriculture. *Plant Microbe Symbiosis*, 129-151.
- Thiergart, T., Zgadaj, R., Bozsóki, Z., Garrido-Oter, R., Radutoiu, S., y Schulze-Lefert, P. 2019. *Lotus japonicus* symbiosis genes impact microbial interactions between symbionts and multitasking commensal communities. *mBio*, 10(5), e01833-19.
- Tofiño Rivera, A.P., Carbone 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.
- Thomas, P., y Sahu, P.K. 2021. Vertical transmission of diverse cultivation-recalcitrant endophytic bacteria elucidated using watermelon seed embryos. *Frontiers in Microbiology*, 12, 635810.
- Tortora, M.L., Díaz-Ricci, J.C., y Pedraza, R.O. 2011. *Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*. *Archives Microbiology*, 193, 275-286.
- Vandicke, J., De Visschere, K., Ameye, M., Croubels, S., De Saeger, S., Audenaert, K. y Haesaert, G. 2021. Multi-Mycotoxin Contamination of Maize Silages in Flanders, Belgium: Monitoring Mycotoxin Levels from Seed to Feed. *Toxins*, 13(3), 202.
- 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 (Basel, Switzerland)*, 21(5), 573.
- 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.
- Verbon, E.H. y Liberman, L.M. 2016. Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development. *Trends in Plant Science*, 21(3): 218-229.
- Verma, P., Yadav, A.N., Khannam, K.S., Panjiar, N., Kumar, S., Saxena, A.K. y Suman, A. 2015. Assessment of genetic diversity and plant growth promoting attributes of psychrotolerant bacteria allied with wheat (*Triticum aestivum*) from the northern hills zone of India. *Annals of Microbiology*, 65, 1885-1899.
- Wellhausen, E.J., Roberts, E., Hernández, X. y Mangelsdorf, P.C. 1951. Razas de maíz en México. Su origen, características y distribución. Folleto Técnico No. 5. Oficina de Estudios Especiales. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D.F. 236 p.
- Wen, J., Shen, Y., Xing, Y., Wang, Z., Han, S., Li, S., Yang, C., Hao, D. y Zhang, Y. 2021. QTL Mapping of Fusarium Ear Rot Resistance in Maize. *Plant Disease*, 105(3): 558-565.
- Zhang, P., Jin, T., Kumar Sahu, S., Xu, J., Shi, Q., Liu, H., y Wang, Y. 2019. The distribution of tryptophan-dependent indole-3-acetic acid synthesis pathways in bacteria unraveled by large-scale genomic analysis. *Molecules*, 24(7): 1411.
- Zhao, Y., Fu, W., Hu, C., Chen, G., Xiao, Z., Chen, Y., Wang, Z., y Cheng, H. 2021. Variation of rhizosphere microbial community in continuous mono-maize seed production. *Scientific reports*, 11(1); 1544.