BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIÓLOGO
INSTITUTO DE CIENCIAS
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS MICROBIOLÓGICAS
LABORATORIO MICROBIOLOGÍA DE SUELOS

CONTROL BIÓLOGICO EN SORGO (*Sorghum bicolor* L. Moench) CON BACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR)

TESIS

QUE OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIÓLOGO

PRESENTA:

MARÍA MAGDALENA REYES CHAPERO

DIRECCIÓN DE LA TESIS

Directora de Tesis: DRA. LUCÍA LOPÉZ REYES

Codirector: M. en C. MOISÉS GRACIANO CARCAÑO MONTIEL

Asesora interna: M.C. PATRICIA GUADALUPE SUAREZ ALBORES

Facultad de Ciencias Químicas BUAP

JUNIO DE 2023

AGRADECIMIENTOS

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por permitirme realizar mis estudios universitarios y brindarme los conocimientos para mi formación.

Al Laboratorio de Microbiología de Suelos del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas ICUAP-BUAP por permitirme realizar este proyecto de tesis dentro de sus instalaciones.

Agradezco a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrados VIEP y BiofertiBuap y BiofosfoBuap por el financiamiento otorgado para la realización de este proyecto.

Mi total agradecimiento a mi directora de Tesis la Dra. Lucia López Reyes y mi co-director el M.C. Moisés Graciano Carcaño Montiel por el conocimiento compartido, el apoyo y orientación otorgado, para la realización de mi proyecto de tesis.

A mi Maestra M.C. Patricia Guadalupe Suárez Albores por apoyarme y orientarme en cada una de las etapas para mi proyecto de tesis.

Expreso mi agradecimiento a D.E.D Claudy Lorena Villagrán Padilla, M.S.P. María de la Cruz Meneses Sánchez y M.C. Armando Tapia Hernández por ser parte de mi comité revisor de tesis.

A la Bióloga Leticia Gómez Velázquez por el apoyo y asesoría técnica brindada en cada una de las etapas de este proyecto de tesis y a la doctora Lupita por su apoyo brindado en esta tesis.

A los compañeros del Laboratorio de Microbiología de Suelos del ICUAP-BUAP que hicieron de mi estancia una grata experiencia y por su apoyo y conocimiento compartido en cada una de las etapas de este proyecto a Anayely, Mary, Adrían, Héctor, Luis Martín, Linda, Jorge, Vianey, Luisa, Dulce, Lupita y Araceli. En especial a mi entrañable amigo y colega Emmanuel Garrido por ser esa luz de esperanza que hizo de mis días una gran experiencia.

A mis amigos de la Universidad Andrea, Karina, Nayda, Paola, Alma, Marco, Juan, Erwin, Vivian, Erika, Daniela y demás compañeros que compartieron momentos y experiencias.

Pero en especial a mis padres P. Eugenio Reyes Eustaquio y Margarita Chapero Rivera por darme el apoyo económico, emocional y por todo su esfuerzo para brindarme la oportunidad de estudiar una licenciatura, eternamente agradecida por todo su apoyo, comprensión y amor.

También agradezco a mis hermanos Alicia, Eduardo, Rosy, Itzel y Omar; a mis sobrinos Betty, Carlitos, Santy y Emma por todo su apoyo y por alentarme a seguir con mis estudios, así mismo por su gran participación en este proyecto de Tesis.

INDICE GENERAL

1. RESUMEN 1

2. INTRODUCCIÓN 3

3. MARCO TEORICO 5

3.2. HISTORIA DEL SORGO 5

3.2. TAXONOMÍA 6

3.3. PROPIEDADES NUTRITIVAS 6

3.4. VARIEDADES DEL SORGO 8

3.5. FISIOLOGÍA DE LA PLANTA DE SORGO 9

3.6. ESTADOS FISIOLÓGICOS DE LA PLANTA DE SORGO 10

3.7. PRACTICAS AGRONÓMICAS 12

3.8. PRODUCCIÓN DE SORGO EN MÉXICO 13

3.9. ENFERMEDADES FÚNGICAS DEL CULTIVO DE SORGO 14

3.9.1. Enfermedades fúngicas de la planta 15

3.9.2. Enfermedades fúngicas del grano 16

3.10. SUELO Y MICROORGANISMOS 17

3.11. CONTROL BIOLÓGICO 18

3.12. PGPR COMO AGENTES DE BIOCONTROL 18

3.13. MECANISMOS DE ACCIÓN DIRECTA 19

3.14. MECANISMO DE ACCIÓN INDIRECTA 20

3.15. *BACILLUS* COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO 21

3.16. *SERRATIA* COMO AGENTE DE BIOCONTROL 22

4. MARCO DE REFERENCIA 22

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 24

6. JUSTIFICACIÓN 25

9. OBJETIVOS 27

9.2. OBJETIVO GENERAL 27

9.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 27

10. DESCRIPCIÓN ZONA DE ESTUDIO 28
10.1. LOCALIZACIÓN 28
10.2. FISIOGRAFÍA. 29
11. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN 30
11.1. TIPO DE ESTUDIO. 30
11.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA. 30
11.3. SEDE Y LUGAR DE ESTUDIO. 30
11.4. PERIODO DE MUESTREO. 31
11.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN. 31
11.6. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN 31
11.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA INFORMACIÓN 31
11.8. RECURSOS HUMANOS. 32
11.9. RECURSOS MATERIALES. 32
11.10. RECURSOS FINANCIEROS 32
12. MATERIALES Y METODOS. 33
12.1. EXPERIMENTOS EN LABORATORIO. 33
12.1.1. Ensayo de Compatibilidad entre bacterias 33
12.1.2. Prueba de sanidad y germinación de la semilla. 33
12.1.3. Conteo de células viables en los cultivos bacterianos usados en cámara húmeda 35
12.1.4. Identificación de hongos con la técnica de microcultivo. 36
12.1.5. Evaluación de inocuidad de las bacterias de control biológico 37
12.2. EXPERIMENTO EN CAMPO 37
12.2.1. Preparación del terreno 37
12.2.2. Diseño del experimento 37
12.2.3. Inoculante bacteriano (*Serratia*) para aplicación en la siembra 39
12.2.4. Conteo de células viables del cultivo bacteriano para aplicación en siembra. 39
12.2.5. Siembra de sorgo en campo abierto 40
12.2.6. Análisis microbiológico de suelo 40

12.2.7. Conteo de células viables del suelo de estudio 40
12.2.8. Inoculante bacteriano para aplicación foliar 41
12.2.9. Conteo de células viables de inoculo bacteriano de aplicación foliar 41
12.2.10. Aplicación foliar de tratamientos en campo 42
12.2.11. Evaluación de tratamientos 43
12.2.12. Aislamiento de hongos a partir de las plantas de sorgo 44
13. DIAGRAMA DE TRABAJO 45
14. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 46
14.1. FASE DE LABORATORIO 46
14.1.1. Ensayo de Compatibilidad entre bacterias 46
14.1.2 Prueba de sanidad y germinación de las semillas de sorgo 47
14.1.3 Aislamiento e identificación de hongos a partir de las semillas de sorgo 51
14.1.4 Descripción macroscópica y microscópica de los hongos aislados de semillas 53
14.1.5 Conteo de células viables en inoculantes bacterianos 55
14.1.6. Análisis microbiológico del suelo de estudio 57
14.1.7. Inocuidad de las bacterias utilizadas como control biológico 58
14.2. FASE DE CAMPO 60
14.2.6. Metodología de muestreo 60
14.2.7. Evaluación de los tratamientos aplicados en campo 61
14.2.8. Evaluación de severidad 66
14.2.9. Aislamiento e identificación de hongos a partir de la planta de plantas de sorgo. 69
14.2.10. Descripción macroscópica y microscópica de los hongos aislados de los tallos 69
14.2.11. Descripción macroscópica y microscópica de los hongos aislados de las hojas 75
15. CONCLUSIONES 80
16. BIBLIOGRAFÍA 81

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de acción directa mediados por PGPR (Figueiredo *et al*., 2016) 20

Figura 2. Mecanismos de acción indirecta mediados por PGPR (Figueiredo *et al*., 2016) 21

Figura 3. Localización del municipio de Huaquechula, Puebla. INEGI (2023). 28

Figura 4. Diagrama de trabajo para análisis de sanidad y germinación de la semilla. 35

Figura 5. Microcultivo para identificación de hongos 36

Figura 6. Croquis del experimento en campo, diseño de bloques completamente al azar. Los colores y números corresponden a un tratamiento indicados en el Cuadro 5. 38

Figura 7. Análisis de sanidad de la semilla con diferentes tratamientos en la variedad Asgrow-Ambar. .. 50

Figura 8. *Alternaria* sp. a) Morfología macroscópica. b) Morfología microscópica, conidios de forma ovoide septados a 100x. 53

Figura 9. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. (b) morfología microscópica de microconidios aislados a 100x 54

Figura 10. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. (b) morfología microscópica de microconidios aislados a 100x 54

Figura 11. *Rhizopus* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscopia de esporangios esporulados a 100X. 55

Figura 12. Daño en los tallos de la planta de sorgo causado por hongos fitopatógenos. 60

Figura 13. Daño foliar en hojas de sorgo causado por hongos fitopatógenos. 61

Figura 14. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscopica microconidios de forma elipsoidales aislados a 100X. 69

Figura 15. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscopica macroconidios agrupados a 100X. 70

Figura 16. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscópica macroconidios en forma de medialuna a 100X. 70

Figura 17. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscópica macroconidios en forma de medialuna a 100X. 71

Figura 18. *Bipolaris* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscópica conidios geniculados a 100X. 71

Figura 19. Hongo no identificado 1. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica, hifas hialinas no septadas a 100X. 72

Figura 20. Hongo no identificado 2. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica, hifas septadas y hialinas a 100X. 72

Figura 21. Hongo no identificado 3. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica, hifas septadas y hialinas a 100X. 73

Figura 22. *Alternaria* sp. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica conidios de forma ovoide septados en cadena y de coloración marrón obscuro a 100X. 75

Figura 23. *Alternaria* sp. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica conidios de forma ovoide septados y de coloración marrón obscuro a 100X. 76

Figura 24. *Exserohilum* sp. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica macroconidios fusiformes a 100X 76

Figura 25. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. b) Morfología microscópica microconidios agrupados y en cadena sobre monofiálides a 100X. 77

Figura 26. Hongo no identificado 4. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica hifas hialinas septadas a 100X. 77

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Taxonomía del sorgo (*Sorghum bicolor*)..... 6

Cuadro 2. Propiedades Nutritivas del sorgo 7

Cuadro 3. Principales variedades de sorgo 8

Cuadro 4. Etapas fisiológicas del grano de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) 11

Cuadro 5. Tratamientos aplicados en campo 39

Cuadro 6. Relación del grado de infección y el porcentaje de severidad foliar..... 43

Cuadro 7. Compatibilidad entre bacterias 47

Cuadro 8. Evaluación de sanidad de las semillas de sorgo..... 48

Cuadro 9. Presencia de hongos en semillas de sorgo en los diferentes tratamientos en laboratorio 52

Cuadro 10. Conteo de UFC de microorganismos por gramo de suelo..... 58

Cuadro 11. Prueba de inocuidad de las bacterias utilizadas como agentes de control biológico en plantas de sorgo. 59

Cuadro 12. Evaluación de variables agronómicas en plantas de sorgo. 64

Cuadro 13. Rendimiento del grano de sorgo con fertilización química, biofertilizantes y bacterias de control biológico 66

Cuadro 14. Evaluación de la severidad de enfermedades fúngicas en plantas de sorgo en experimento de campo..... 68

1. RESUMEN

El sorgo es un cereal que pertenece a la familia de las gramíneas, un cultivo originario de África. En el territorio mexicano presenta buena adaptabilidad en zonas con clima semi-árido, el uso principal de este grano es para las dietas del sector pecuario. La planta de sorgo y el grano presentan susceptibilidad a enfermedades fúngicas por los altos contenidos de azúcares que posee la planta. Las enfermedades fúngicas son un factor que perjudica los rendimientos de la cosecha del grano y por ende el daño a la economía del agricultor. Además, la inocuidad de la semilla se ve afectada por la presencia de patógenos fúngicos, lo que repercute en la salud del agricultor al aplicar una gran cantidad de fungicidas químicos para contrarrestar los efectos de las enfermedades. El objetivo de este estudio fue aislar e identificar los hongos patógenos en las plantas y semillas de sorgo y evaluar el uso de Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (Plant Growt Promoting Rhizobacteria, PGPR) como agentes de control biológico que ayuden a mantener la salud en el cultivo de sorgo. Se realizó pruebas de germinación y sanidad de las semillas para la variedad híbrido Asgrow-Ámbar en cámaras húmedas, se determinó el efecto antagónico de las bacterias del género *Bacillus* y *Serratia* contra hongos presentes en las semillas de sorgo, para ello se emplearon 6 tratamientos en cámara húmeda con 3 repeticiones cada uno. Se aislaron, purificaron e identificaron cuatro hongos por la técnica de microcultivo de los géneros *Alternaria* sp., (2 cepas) *Fusarium* sp. y *Rhizopus* sp. El género bacteriano más eficiente contra el desarrollo de hongos fitopatógenos en la semilla fue *Serratia*, con dos especies de *Serratia proteomaculans* (BUAP-PIR, BUAP-P35) y *Serratia grimessi* (BUAP-P5S). Finalmente, se realizó la validación de control biológico en condiciones de campo en el predio nombrado Contzingo ubicado en el municipio de Huaquechula, Puebla. En evaluación de campo se aplicaron 11 tratamientos con 5 repeticiones cada uno, en un diseño experimental por bloques completamente al azar. En 6 de los tratamientos contenían a las bacterias empleadas como agentes de control biológico que consistió en una mezcla de bacterias del género *Serratia* (BUAP-PIR, BUAP-P35, BUAP-P5S). Los parámetros evaluados en campo fueron altura de la planta, altura de la panoja, área foliar, grosor del tallo e incidencia y severidad de enfermedades en la planta de sorgo. Los datos se analizaron por el método de análisis de varianza y para diferenciar entre los tratamientos se aplicó una

comparación de medias con la prueba de Tukey a P=0.05 de significancia, de acuerdo con el programa Statistics. En planta de sorgo provenientes de los experimentos de campo, se encontró en hojas a los hongos, (2 cepas) *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Exserohilum* sp. y uno no fue identificado. Del tallo se encontró a *Bipolaris* sp., (4 cepas) *Fusarium* sp. y tres no fueron identificados.

Los resultados demuestran que las bacterias del género *Serratia* en combinación con el antifúngico Mefenoxan, reducen la infección por hongos en las semillas de sorgo (2.67 %). En condiciones de campo las bacterias empleadas como agentes de control biológico, demostraron tener una diferencia estadísticamente significativa en la severidad de las plantas, los tratamientos que contenían a las bacterias de control biológico lograron disminuir la severidad en las plantas en un 62.50% y la aplicación de biofertilizantes y bacterias de control biológico demostraron tener un efecto benéfico en las plantas pues dieron resultados estadísticamente significativos con respecto al tratamiento control para las variables altura de la planta, grosor del tallo, altura de la panoja y área foliar, además demostraron tener un buen efecto en el rendimiento del grano pues los tratamientos inoculados con biofertilizantes y bacterias de control biológico incrementaron el rendimiento del grano en un 324% y 337%.

2. INTRODUCCIÓN

Los recursos naturales como el aire, agua, suelo, la energía, los nutrientes y las radiaciones solares son factores de gran importancia para el desarrollo de la agricultura. La agricultura es una actividad que pertenece al sector primario y es un recurso de gran importancia para la subsistencia del ser humano, ya que mediante esta se consiguen una gran diversidad de alimentos para consumo humano y animal, además juega un papel importante en la economía, debido a que una parte de la producción agrícola es para consumo directo del campesino y otra parte es proporcionada para la industria.

México es un país que cuenta con una gran diversidad de ambientes, suelos y climas que lo hace un país en el cual se puedan cultivar diversos granos, cereales, hortalizas, verduras etc., los principales cultivos sembrados en el territorio mexicano son: maíz blanco, frijol, maíz amarillo, sorgo y trigo (INEGI., 2019).

El Sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) pertenece a la familia de las gramíneas es un cultivo que se adapta a suelos con limitada fertilidad y en regiones semiáridas por lo que, presenta una adaptación a la sequía, el calor y la salinidad (Colazo y Garay, 2012).

Además, ocupa el quinto lugar a nivel mundial en producción dentro de los cereales, donde los países más productores de este grano son: Estados Unidos. Nigeria, México, India y Sudán (Astoreca *et al*., 2019).

Sus principales usos en América son destinados para la alimentación del ganado tipo vacuno, porcino y aves de corral, mientras que en África es utilizado para el consumo humano. Y en otros países se emplea para almidonería y la industrial alcoholera (Chuck *et al*., 2011). Además, es un cultivo de fácil adaptación, sin embargo, existen factores que contribuyen a la baja producción, por ejemplo: mala preparación del suelo, descuido de la soca que se convierte en un foco de plagas y enfermedades, uso de semillas desadaptadas, falta de un plan de adecuación de fertilización y una alta contaminación de suelos por uso de plaguicidas químicos (Carrasco *et al*., 2011).

La adaptabilidad del sorgo lo predisponen a ser un cultivo que tenga ataques de diferentes organismos como bacterias, hongos, virus, parásitos y plagas, que afectan al rendimiento del cultivo y el grano, lo que causa así bajas en la producción y afecta la calidad del grano para

su consumo y por ende su comercialización (Astoreca *et al*., 2019). Por lo que son factores que se deben tomar en cuenta para tener una mejor producción de sorgo y una mejor calidad del grano, el control sobre plagas y enfermedades del sorgo ayuda a disminuir los efectos negativos sobre el grano y la producción (Carrasco *et al*., 2011)

El empleo de fertilizantes químicos, pesticidas y herbicidas químicos en los cultivos ha causado graves problemas en la nutrición del suelo y contribuyen a la concentración de gases del tipo efecto invernadero. Además, el uso inadecuado de agroquímicos representa un riesgo de salud pública y genera altos costos de producción. Por ello es necesario el empleo de nuevas alternativas que ayuden a combatir estos problemas y sobre todo que ayuden a la mejora del cultivo.

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal PGPR por sus siglas en ingles son microorganismos que se emplean para mejorar la fertilidad en los cultivos y también tienen la característica de funcionar como agentes de control biológico, lo que ayuda a reducir el efecto nocivo de microorganismos patógenos con bacterias de la rizosfera del suelo (Sharma *et al.*, 2020).

3. MARCO TEORICO

3.2. Historia del sorgo

La domesticación del sorgo se realizó alrededor del año 3000 a. c., al noreste de África entre Etiopia y Sudán, su cultivo en otros países se adjudica al movimiento de personas que eran esclavizadas, diversificando así las semillas en diferentes continentes (Pérez *et al*., 2010).

En Estados Unidos el cultivo de sorgo se introdujo a mediados del siglo XIX, las semillas provenían de distintas partes como: Sudáfrica, Egipto, India, China y Australia, los propósitos por el cual fue introducido fue con los fines de experimentación y difusión agrícola. Por lo que la introducción de la semilla a Estados Unidos originó que la semillas se modificaran y se adaptaran a nuevas condiciones geológicas, así como también el uso y las necesidades del cultivo (Nuñez, 2020).

En México la introducción del cultivo de sorgo se dio entre los años 1940 a 1950 ya que México pasaba por una crisis en sus cultivos debido a las sequias que se presentaban, el Gobierno Federal decidió emplear investigaciones sobre el cultivo de sorgo, realizando trabajos en el Centro de Investigaciones Agronómicas del Noreste en la Ciudad de Obregón Sonora, la Campana en Ciudad Aldama, Chihuahua y Apodaca Nuevo León, empleando variedades texanas y africanas que provenían de los Estados Unidos. Para el año 1956 se dio a conocer que las variedades texanas, se adaptaban a las condiciones agroecológicas de Bajío Mexicano y presentaban cantidades suficientes de forraje para el ganado (Nuñez, 2020). Existen diferentes tipos de sorgo, en los que se encuentran por su grano (sorgo granifero), su savia azucarada (sorgo dulce), forraje (sorgo forrajero) (Prabhakar *et al.*, 2022). Su importancia radica en que este cereal puede ser sustituto de otros cereales como el maíz y trigo, ya sea para alimentación de los animales y o consumo humano; en cuestión de agricultura es un cultivo que genera gran cantidad de rastrojo, mejorando así la fertilidad suelo (Pérez *et al*., 2010).

3.2. Taxonomía

El sorgo fue descrito por primera vez por Linneo en 1753 con el nombre de Holcus. En 1794 Moench separó el género *Sorghum* del género Holcus. En 1805, Person sugirió el nombre *Sorghum vulgare* para *Holcus sorghum* (L.). En 1961, Clayton propuso el nombre *Sorghum bicolor* (L.) Moench como el nombre propio para el sorgo cultivado y atribuir todo el sorgo al nombre actualmente utilizado (Cuadro 1) (Hariprasanna y Patil., 2015).

Cuadro 1. Taxonomía del sorgo (*Sorghum bicolor*)

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Subclase	Commelinidae
Orden	Cyperales
Familia	Poaceae
Subfamilia	Panicoideae
Tribu	Andropogoneae
Sub-tribu	Sorghinae
Género	Sorghum
Especie	*Sorghum bicolor*

Fuente: Hariprasanna y Patil, (2015).

3.3. Propiedades nutritivas

El grano de sorgo tiene una composición de macronutrientes similares al maíz y el trigo, proporcionando principalmente carbohidratos, proteínas y grasas. En el grano es predominante el almidón que se encuentra en el endospermo, mientras que en el germen se encuentra la mayor parte de la grasa. Contiene un porcentaje mayor de grasa en comparación de otros cereales como el arroz, trigo y yuca. Los carbohidratos complejos presentes en el grano se digieren de manera lenta proporcionando saciedad. Además de que contiene

micronutrientes como el hierro y zinc que son componentes necesarios para el crecimiento de cualquier individuo, así mismo es una excelente fuente de vitaminas siendo rico en tiamina, riboflavina y niacina. La composición de nutrientes del grano de sorgo se menciona en el Cuadro 2, esto para una porción de 100 gramos (USDA, 2016).

Cuadro 2. Propiedades Nutritivas del sorgo

Componente	Cantidad	Unidad
Agua	12.40	g
Energía	339	Kcal
Proteína	10.62	g
Lípidos totales	3.46	g
Cenizas	1.47	g
Carbohidratos	72.09	g
Fibra dietética	6.7	g
*Azúcares Totales	2.63	g
Calcio	13	mg
Hierro	3.36	mg
Fosforo	289	mg
Potasio	363	mg
Sodio	2	mg
Zinc	1.67	mg
Cobre	0.284	mg
Manganeso	1.605	mg
Selenio	12.2	µg
Tiamina	0.332	mg
Riboflavina	0.092	mg
Niacina	3.688	mg
Ácidos grasos saturados totales	0.610	g
Ácidos grasos monoinsaturados	1.131	g
Ácidos grasos poliinsaturados	1.558	g
**Aminoácidos	11.203	g

Fuente: USDA, (2018). *Sacarosa, Glucosa, Fructuosa, Lactosa, Maltosa, Galactosa. **aminoácidos: Triptófano 0.124 g, Treonina 0.346 g, Isoleucina 0.433 g, Leucina 1.491 g, Lisina 0.229 g, Metionina 0.169 g, Cistina 0.127 g, Fenilalanina 0.564, Tirosina 0.321 g, Valina 0.561 g, Arginina 0.355 g, Histidina 0.246 g, Alamina 1.033 g, Ácido aspártico 0.743 g, Ácido glutámico 2.439 g, Glicina 0.346 g, Prolina 0.852 g, Serina 0.462 g.

3.4. Variedades del sorgo

El *Sorghum bicolor* es la raza domesticada que proviene del progenitor salvaje *S. bicolor* subsp. *Verticilliflorum*, posteriormente se originaron otras razas cultivadas, esto se debió a un proceso evolutivo acompañado de una hibridación intraespecífica e introgresiva entre razas de sorgo y sus parientes. A diferencia de otros cereales que se cultivan principalmente para la producción de granos, el sorgo se cultiva de varias maneras, ya sea para alimentación humana, forraje, fibra y combustible (Wu *et al*., 2022). En el mercado se pueden encontrar diferentes variedades comerciales de semilla de sorgo que se caracterizan principalmente por su tipo (Cuadro 3). Los tipos de sorgo deben tener características que ayuden a potenciar la productividad, la calidad de los productos y la utilización diversificada de los productos.

Cuadro 3. Principales variedades de sorgo

Variedad	Características
Sudán	Sorgo tradicional, son adaptados al pastoreo directo con una gran cantidad de forraje y capacidad de rebrote.
Fotosensitivos	Es un sorgo mejorado en el cual su característica principal es la de retraso de la floración hasta 120 días y algunos no florecen. Con buena aptitud para el pastoreo directo y generan mayor volumen de forraje.
Azucarados	Lo que se caracteriza de este sorgo es la abundante cantidad de azúcares solubles en los tallos y los granos, aptos para el pastoreo directo.
Graniferos	Sorgos con alto potencial para la producción de grano, casi no se aprovechan para el pastoreo directo. Con buena aptitud para ensilar.
Híbridos	Estos sorgos llevan incorporados el gen Nervadura Marrón (BMR), contienen un bajo contenido de lignina en forraje, con aceptable producción de grano y buena digestibilidad,

Fuente: Colazo y Garay, (2012).

3.5. Fisiología de la planta de sorgo

La planta del sorgo es una hierba recta y robusta, su altura está entre los 3 y 4 metros de altura y cuenta con un sistema de raíces fibrosas (Lim., 2013).

Raíz. Las raíces del sorgo son adventicias y fibrosas, se dividen en dos sistemas, primario y secundario, en el estado de germinación aparece por primera vez una raíz embrionaria. Las raíces primarias tienen un crecimiento limitado y su función es sustituida por el sistema secundario, el desarrollo de las raíces secundarias que se dan a partir del primer nodo se desarrolla en el extenso sistema de raíces (Hariprasanna *et al.,* 2015).

Tallo. Su tallo se forma por una serie de nudos y entrenudos alternos, su corteza es dura y una médula blanda, contiene haces vasculares que se extiende por todo su tallo, pero su mayor concentración se encuentra más cerca de la zona periférica, los haces centrales se ramifican en las nervaduras centrales de las hojas y los haces periféricos se ramifican para formar la nervadura central (Hariprasanna et al., 2015).

Hojas. Las hojas de la plántula de sorgo se pueden concentrar cerca de la base o bien se encuentran distribuidas alternándose al lado opuesto con nervadura paralela. Su hoja se forma de una vaina y una lámina, la vaina de la hoja se cubre de una floración cerosa, el limbo de la hoja es largo, estrecho y puntiagudo. La nervadura central es prominente, verdosa o blanca, plana o conclave en la superficie y convexa en la inferior (Hariprasanna *et al.*, 2015).

Panoja. Las panojas del sorgo son erectas, densas o laxas, miden entre 10-25 cm de largo, su forma puede ser piramidal u oval (Lim., 2013), dependiendo de la variedad y la zona en la que se siembre el cultivo. El raquis el eje central de la panícula puede estar oculto por las ramas densas de la panícula o bien pueda estar expuesto (Hariprasanna *et al*., 2015).

Semillas. El grano de sorgo es un fruto seco (Cariópside) que suele estar envuelto por glumas que forman parte de las inflorescencias del sorgo, la forma del grano es ovalada o redonda, de 4 a 8 mm de diámetro, pero varia en su tamaño, forma y color de acuerdo con la especie cultivada. El pericarpio es la capa más externa de la semilla y está formado por el epicarpio, hipodermis, mesocarpio y el endocarpio. La testa se sitúa debajo del endocarpio encerrando así al endospermo. La pigmentación del pericarpio y la testa es de color marrón oscuro y

marrón rojizo. La composición de la semilla es de 82% endospermo, 12% embrión y tegumento 5-6% (Hariprasanna *et al*., 2015).

3.6. Estados fisiológicos de la planta de sorgo

El estudio de la fisiología de la planta de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) es de vital importancia para comprender el proceso del crecimiento y su desarrollo, así mismo para comprender los diversos factores que pueden afectar el crecimiento y desarrollo correcto de la planta. El crecimiento de la planta del sorgo se puede medir mediante la escala propuesta por Vanderlip & Reeves, donde se proponen 10 estados para el desarrollo de la planta, tomando aspectos como: germinación, aparición de hojas, el desarrollo de estructuras reproductivas y el desarrollo y crecimiento del grano, dichas etapas se pueden observar en el cuadro 4 (Colazo & Garay, 2012).

Cuadro 4. Etapas fisiológicas del grano de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench)

Etapa	Características
0	La planta atraviesa la superficie del suelo, ocurre en los 10 primeros días posteriores a la siembra, la planta requiere de humedad y calor.
1	Etapa de crecimiento vegetativo, la planta tiene desarrollada 3 hojas, ocurre de en los 10 y 20 días posteriores a la siembra.
2	Se distinguen cinco hojas completamente expandidas, la planta entra en un estado de crecimiento rápido ocurre en 20 y 25 días posteriores a la siembra.
3	Diferenciación del punto de crecimiento, el ápice de crecimiento cambia de vegetativo a reproductivo, la planta alcanza su crecimiento máximo y tiene de 7 a 10 hojas, ocurre en 30 y 40 días posteriores a la siembra.
4	Hoja bandera visible, rápida elongación del tallo aumento del área foliar, existe un desarrollo de la panoja, ocurren en los 40 a 50 días posteriores a la siembra.
5	Etapa de arranque, las hojas se encuentran totalmente expandidas, la panoja está totalmente desarrollada dentro de la hoja bandera, el pedúnculo comienza a alargarse, esta etapa ocurre en los días 50 a 60 posteriores a la siembra.
6	Media floración, el pedúnculo crece extendiendo la panoja y comienza la formación del grano. Ocurre en los días 60 a 70 posteriores a la emergencia
7	Masa blanda, desarrollo del grano pastoso, acumula la mitad de su peso seco, el tallo pierde peso debido a un proceso de removilización, si existe un estrés en la planta puede causar efectos en el peso del grano. Ocurre en los 70 a 80 días posteriores de la siembra
8	Masa dura, el grano alcanza el 75 % de su peso seco final, la absorción de nutrientes es casi completa, el tallo deja de perder peso. Ocurre en los días 80-90. Ocurre en los 80-90 días posteriores a la siembre
9	Madurez fisiológica, el grano alcanza su peso máximo. Ocurre en los 90-100 días posteriores a la siembra.

Fuente: Colazo y Garay, (2012).

3.7. Practicas agronómicas

Las prácticas agronómicas son un conjunto de técnicas empleadas en la agricultura para la producción de cultivos, en las que se comprende diferentes actividades previas a la siembra y que se basan en el conocimiento científico y práctico, las practicas varían dependiendo el tipo de cultivo que se quiera sembrar y la región en la que se esté sembrando. Para el cultivo de sorgo las principales prácticas que requiere el suelo son:

Preparación del terreno. Para el cultivo de sorgo se debe realizar un barbecho al suelo con una profundidad de aproximadamente 25 centímetros, esto con la finalidad de aflojar el suelo, enterrar los residuos de la cosecha anterior que funciona como abono natural y retirar hierbas del suelo (INIFAP, 1997).

Rastreo. Para aquellos terrenos en los que tengan un tipo de suelo arcilloso y con abundante maleza, es recomendable dar dos pasos de la rastra (INIFAP, 1997).

Época de siembra. La siembra del cultivo de sorgo se comprende desde los primeros días del mes de junio hasta el 15 de julio, tomando en cuenta que son fechas proximales al inicio del temporal (INIFAP, 1997).

Método de siembra. La siembra se realiza en surcos que tengan 70 cm de separación, la semilla es colocada en el suelo mediante la técnica a chorrillo ralo y se tapa con una capa de 3 a 4 cm del suelo (INIFAP, 1997).

Fertilización. El cultivo de sorgo requiere de una fertilización de 80-40-00 dichas cantidades corresponden a 80 de nitrógeno (N), 40 de fosforo (P) y 00 de potasio (K), esta fórmula se complementa con 390 kg de sulfato de amonio más 200 kg de superfosfato de calcio simple para hectárea. La fertilización química se fracciona en dos partes, la primera aplicación se realiza en el momento de la siembra aplicando 195 kg de sulfato de amonio y se mezcla con 200 kg de superfosfato de calcio simple. A los 30 días posteriores a la siembra se realiza la segunda aplicación de fertilizante, agregando 195 kg de sulfato de amonio, ambas aplicaciones de fertilizantes se realizan mediante la técnica de a chorrillo y se cubre con una capa de suelo de unos 3 a 5 cm de profundidad (INIFAP, 1997).

Control de malezas. El control de malezas se debe realizar para mantener al cultivo libre de malezas durante los primeros 40 días después de la emergencia. el control de malezas se

realiza de manera manual o químicamente con productos como la Atrazina 50. Se realizan aplicaciones preemergentes y postemergentes. Las aplicaciones preemergentes se aplican inmediatamente después de la siembra antes de la nacencia del cultivo y maleza y las aplicaciones postemergentes se realizan hasta dos semanas posteriores de la emergencia del cultivo (INIFAP, 1997).

Cosecha. La cosecha del grano se realiza cuando la planta haya alcanzado su madures y el grano se pueda desprender fácilmente de las glumas. La cosecha se realiza de forma manual o con maquinaria especializada (INIFAP, 1997).

3.8. Producción de sorgo en México

México es un país con una gran biodiversidad, en donde las regiones que integran el territorio mexicano cuentan con diferentes tipos de clima, tipos de suelo, sistemas de riego, cuencas hídricas, flora, fauna, etc., lo que lo hacen ser un país diverso para la agricultura.

El sorgo es un cereal que ocupa el cuarto lugar en producción a nivel nacional, para el año 2020 en México se sembró una superficie de 1, 073,685.44 hectáreas (h) y se obtuvo una producción de 2, 577, 216.97 toneladas (T) de sorgo (SIAP., 2020).

Los estados que mayormente producen el grano de sorgo son: Tamaulipas, Guanajuato, Sinaloa, San Luis Potosí, Michoacán, Nayarit, Morelos, Jalisco, Campeche y Puebla (SIAP., 2020).

En el Anuario Estadístico de la Producción Agrícola se registró para la entidad federativa Puebla que se sembraron 19, 205.50 h de sorgo y una superficie cosechada de 19, 205.50 h, la producción obtenida fue de 78, 445.68 (T) con un rendimiento de 4.08 toneladas por hectárea ($T\ h^{-1}$), ocupando así el lugar número 10 dentro de los principales estados productores de sorgo a nivel nacional (SIAP, 2020). Puebla se integra por 217 municipios en donde, su economía se basa principalmente en la agricultura. Los municipios de Tepexco, Huaquechula, Atzitzihuacán, Acteopan, Chiautla, Tlapanalá, Izúcar de Matamoros, Cohuecan, Chietla y Jolalpan son los principales productores de grano de sorgo a nivel estatal (SIAP, 2020).

El municipio de Huaquechula para el año 2020 tuvo una superficie sembrada de 2,350 (h), con una superficie cosechada de 2,350 (h), una producción de 10,128.50 (T) y un rendimiento de 4.31 (T h^{-1}) (SIAP, 2020).

3.9. Enfermedades fúngicas del cultivo de sorgo

El sorgo es un cultivo que ha tomado relevancia a nivel mundial, debido a que es empleado como alimento para los animales principalmente, pero también se utiliza para consumo humano por su bajo contenido en gluten o bien en la industria por sus contenidos de azúcares, pero su producción se ve amenazada por plagas y parásitos, pero sobre todo por enfermedades del tipo fúngicas que afectan la producción reduciendo los rendimientos, afectando la calidad y la inocuidad del grano teniendo como resultado pérdidas económicas (Astoreca *et al*., 2019).

Las enfermedades fúngicas se desarrollan bajo las condiciones ambientales en las que se encuentre el cultivo, la variedad de sorgo que se esté sembrando, las prácticas agrícolas empleadas y la interacción con diversos factores que propicien al desarrollo de enfermedades (Pérez *et al.* 2010).

La presencia de hongos en granos de sorgo no solo afecta su valor nutricional y comercial, sino que también representa un riesgo para la salud de los consumidores, debido a que algunos de los hongos que afectan a este cultivo pueden llegar a producir micotoxinas. Los granos de sorgo contaminados con micotoxinas ponen en peligro la salud humana y animal y también a la economía de los países ya que lleva una importante reducción tanto cuantitativa como cualitativa en el sector agrícola (Astoreca *et a*l., 2019).

Los hongos se pueden encontrar interna o externamente en los tejidos vegetales asociados al suelo, los tallos, las hojas y la panícula, afectando principalmente el crecimiento y productividad de plantas enteras (Astoreca *et al*., 2019).

3.9.1. Enfermedades fúngicas de la planta

El sorgo es un cultivo alimentario importante dentro de la agricultura tradicional, al menos el 41 % de la superficie mundial se encuentra en producción de este cereal, pero el cultivo tiende a sufrir rendimientos bajos debido a estreses bióticos, el sorgo tiene una inusual variedad de enfermedades que limitan su producción, las enfermedades que son consideradas las más destructivas para este cereal son las de tipo fúngicas ya que provocan grandes pérdidas en los rendimientos en términos de cantidad y calidad de los granos (Sharma *et al*., 2015).

Antracnosis.

Es una enfermedad que afecta principalmente a los cereales y gramíneas, causada por el género *Colletotrichum.* La antracnosis en sorgo (*Sorghum bicolor*) es causada por el hongo *Colletotrichum graminicola*, este patógeno es capaz de infectar el tallo, follaje, la panícula y el grano, repercutiendo principalmente en la cantidad y calidad del grano y rastrojo (Little *et al* 2011).

Tizón de la Hoja.

Es una enfermedad foliar, causada por *Exserohilum turcicum*, los síntomas que presentan las plantas ante esta enfermedad son: lesiones necróticas, elípticas y alargadas de color marrón claro y con márgenes rojizos y oscuros. Esta enfermedad produce disminuciones de rendimiento ya que reduce la superficie fotosintética activa y el efecto se nota en la calidad de los granos (Nieto, 1989).

Roya.

Enfermedad ocasionada por *Puccinia purpurea cooke*, produce principalmente la reducción de la calidad de forraje y el rendimiento del grano. Afecta principalmente a plantas jóvenes. Las plantas presentan síntomas entre los 1.5 y 3 meses posteriores al estado de emergencia y la principal característica que presentan son pinturas elípticas con coloración purpura, rojo, anaranjado o marrón. *P. purpurea* es un organismo biotrofico sus esporas no son viables por mucho tiempo en ausencia de un hospedaje vivo (Velázquez, 2019).

Podredumbre del tallo.

La podredumbre del tallo es causada por hongos del género *Fusarium*, esta es una patología que causa graves daños a la planta de sorgo. La forma en que infecta este patógeno a la planta es atacando al tejido cortical y avanza al interior del sistema radicular alcanzando así al tallo. Esta enfermedad afecta los haces vasculares de la planta dificultando así la absorción de nutrientes y agua, la sintomatología que se presenta ante esta enfermedad son manchas de coloración pardo-rojizas alargadas (Gálvez *et al*., 2012),

3.9.2. Enfermedades fúngicas del grano

La producción de sorgo a nivel mundial se ve afectada por diversos factores bióticos y abióticos, una de las restricciones bióticas más importantes y destructivas para este cultivo es la contaminación por hongos en las semillas, pues la presencia de estos agentes patógenos reduce el rendimiento del grano y la calidad debido a que varias especies de hongos asociados a la semilla producen micotoxinas que causan problemas en la salud de los animales y el hombre (Mohammed *et al*., 2015).

Moho del grano.

El grano de sorgo está sujeto a enfermedades infecciosas y se ve afectado seriamente por varios hongos fitopatógenos que causan la enfermedad en el grano denominadas mohos del grano, la infección por hongos en las semillas depende de la humedad ambiental y ocurre principalmente en la etapa de floración (Chandrashekar y Satyanarayana, 2006).

Los mohos del grano, afecta a las semillas dando como resultado una disminución del tamaño y por ende se obtienen bajos rendimientos en la cosecha, además de que la inocuidad del grano es afectada y el consumo de granos contaminados arriesga la salud de los consumidores.

El complejo moho del grano está compuesto por más de 40 géneros capaces de infectar y colonizar el grano, no todas las especies tienen la misma importancia, los géneros más comunes se encuentran *Alternaria, Aspergillus, Bipolaris, Cladosporium, Colletotrichum*,

Curvularia, Drechslera, Epicoccum, Exserohilum, Fusarium, Nigrospora, Olpitrichum, Penicillium, Phoma, Rhizopus y *Trichoderma* (Little *et al.*, 2012)

Ergot

Es una enfermedad ocasionada por *Claviceps sorghi, C. sorghicola* y *C. africana*. El ergot, es el resultado de una infección especifica de la flor ya que el hongo solo infecta a los ovarios no fecundados, estableciendo una competencia entre el grano y el hongo, siendo el hongo quien va a infectar el ovario. El hongo penetra, en el momento de la floración, en los ovarios de las flores que no han sido fecundadas. El hongo desde el ovario infectado produce un mielado o exudado azucarado que contiene conidios. El hongo se dispersa mediante el viento, agua y por algunos insectos (Velázquez, 2020).

3.10. Suelo y microorganismos

La producción vegetal requiere de factores como: suelo, clima, agua, nutrientes un buen manejo del cultivo entre otros, para realizar una buena cosecha y calidad del producto.

El suelo es un recurso viviente que condiciona la producción de los alimentos, la importancia del suelo no solo radica para la agricultura, sino que toda la vida del planeta depende de él, pues en él se llevan a cabo los principales ciclos biogeoquímicos que le dan vida al planeta (García, 2011).

El suelo cuenta con una gran biodiversidad donde sus principales componentes son los microrganismos. La importancia de estos microrganismos es la transformación de componentes orgánicos e inorgánicos presentes en el suelo por medio de reacciones bioquímicas. Los microrganismos que se encuentran presentes interactúan con las raíces de las plantas en la interfaz raíz-suelo. El suelo, raíz y microrganismos forman un conjunto de interacciones, creando así un ambiente conocido como rizosfera (Pedraza *et al*., 2010).

La rizosfera fue descrita por primera vez en 1904 por Hiltner y es una fina capa del suelo que rodea a las raíces de las plantas y el volumen del suelo que es ocupado por estas, el suelo rizosferico es la parte más cercana con las raíces, teniendo contacto con los exudados de estas (Osorio Vega, 2009).

La rizosfera establece un punto importante en la respuesta del cultivo, ya que en ella se concentra una gran actividad metabólica con un intercambio de nutrientes entre la atmosfera y el suelo y es mediada por la acción e interacción de plantas y microorganismos del suelo (Pedraza *et al*., 2010).

3.11. Control biológico

El control biológico hace referencia al empleo de microorganismos introducidos o residentes, su finalidad es minimizar las actividades y la población de uno o más patógenos de la planta. La característica principal del control biológico es la reducción de la actividad dañina de los agentes patógenos que provocan enfermedades en las plantas. El control biológico forma parte de una nueva alternativa para el manejo de enfermedades, permitiendo su manejo sin perturbar la flora y la fauna, así mismo proporcionan un incremento de la fertilidad del suelo (Tariq *et al*., 2020).

Dentro del suelo residen bacterias que estimulan a mejorar el crecimiento y rendimiento de las plantas dichas bacterias se denominan Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) (Dey *et al*., 2014). Las PGPR, fueron definidas por primera vez por Joseph Kloepper y Milton Schroth, quienes las definieron como comunidades bacterianas que ejercen efectos benéficos en las plantas tras su colonización en raíces después de la inoculación en semillas (Reddy, 2012).

Las PGPR se definen por 3 características intrínsecas: deben colonizar la raíz, sobrevivir y multiplicarse en microhábitats asociados a la superficie de la raíz en competencia con la microbiota nativa y deben promover el crecimiento de las plantas, además poseen la capacidad de ejercer un biocontrol.

3.12. PGPR como agentes de biocontrol

Un agente de biocontrol es aquel que se utiliza en contra de un patógeno para controlar las enfermedades en una planta, pero en el suelo se encuentran más de un patógeno en contra de

estas, por lo que una combinación de diferentes agentes de control biológico suele ser más efectiva para suprimir las enfermedades de una planta (Basit *et al.*, 2021).

Las enfermedades son un factor muy importante que afecta al desarrollo correcto de las plantas, por lo que es requerido utilizar nuevas alternativas que ayuden a proteger a las plantas en contra de los patógenos que afecten su desarrollo. Las PGPR influyen en el crecimiento de las plantas mediante mecanismos de acción directa e indirecta. Los mecanismos de acción directa aportan la biofertilización fijando el nitrógeno atmosférico, la solubilización de minerales y la producción de fitohormonas. Mientras que los mecanismos de acción indirecta contribuyen con el biocontrol mediante la producción de metabolitos antifúngicos, antibacterianos, producción de sideróforos y resistencia sistema que ayudan a suprimir los efectos nocivos de los patógenos. (Basit *et al.*, 2021).

3.13. Mecanismos de acción directa

Dentro de los mecanismos directos encontramos que facilitan el crecimiento de las plantas ya que ayudan a mejorar la absorción de macro y micronutrientes, así como también modulando la liberación de diferentes hormonas que se encuentran involucrados en el aumento de la longitud de la raíz (Chaudhary *et al*., 2021)

Dentro de estos mecanismos podemos encontrar: aquellos que ayudan como biofertilizantes fijando los macroelementos y secreción de hormonas (Figura 1).

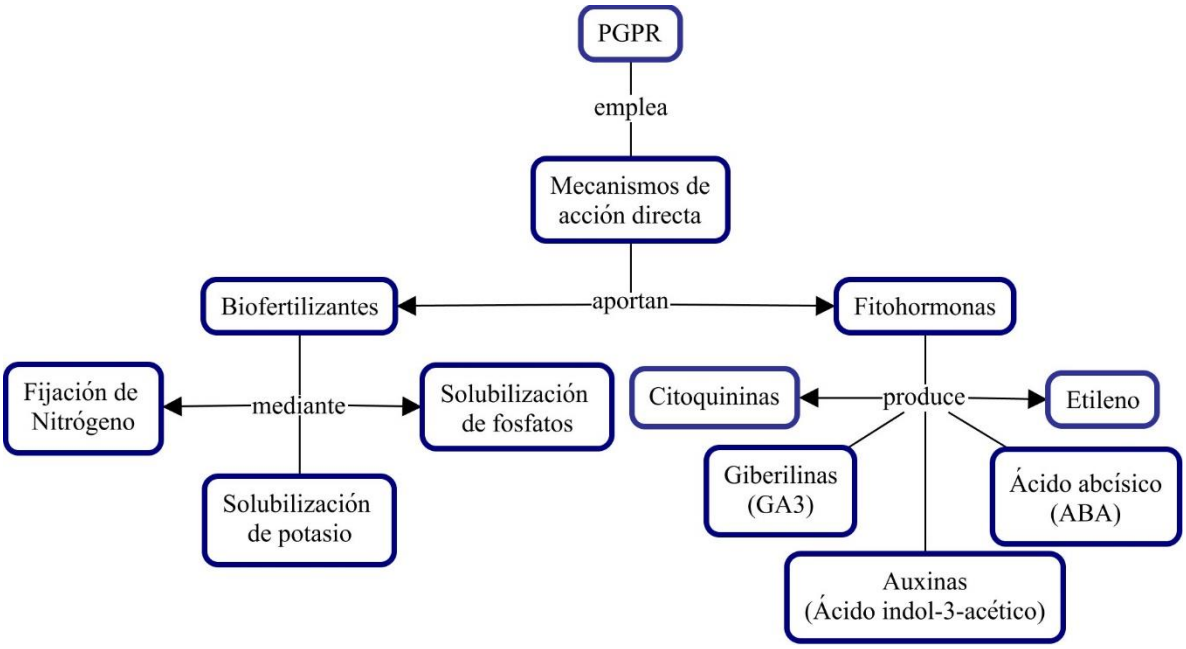


Figura 1. Mecanismos de acción directa mediados por PGPR (Figueiredo *et al*., 2016)

3.14. Mecanismo de acción indirecta

Los mecanismos de acción indirectos consisten principalmente en la capacidad de suprimir los patógenos de las plantas y reducir la presión de la enfermedad. Una de las características de las PGPR es su capacidad que tiene para activar las defensas de las plantas contra el estrés abiótico y biótico provocando cambios físicos y químicos (Carlson *et al*., 2020).

Las PGPR tienen una variedad de mecanismos por los cuales logra el control de las enfermedades de las plantas, de los más utilizados se encuentran la competencia y producción de metabolitos (antibióticos, sideróforos, HCN, enzimas) pero también inducen dos tipos de resistencia la inducida (ISR) y la adquirida (SAR), siendo este proceso una activación de las defensas químicas y físicas de las planta mediante un inductor que puede ser de naturaleza químico o un microorganismo (Fig. 2) (Dey *et al.*, 2019).

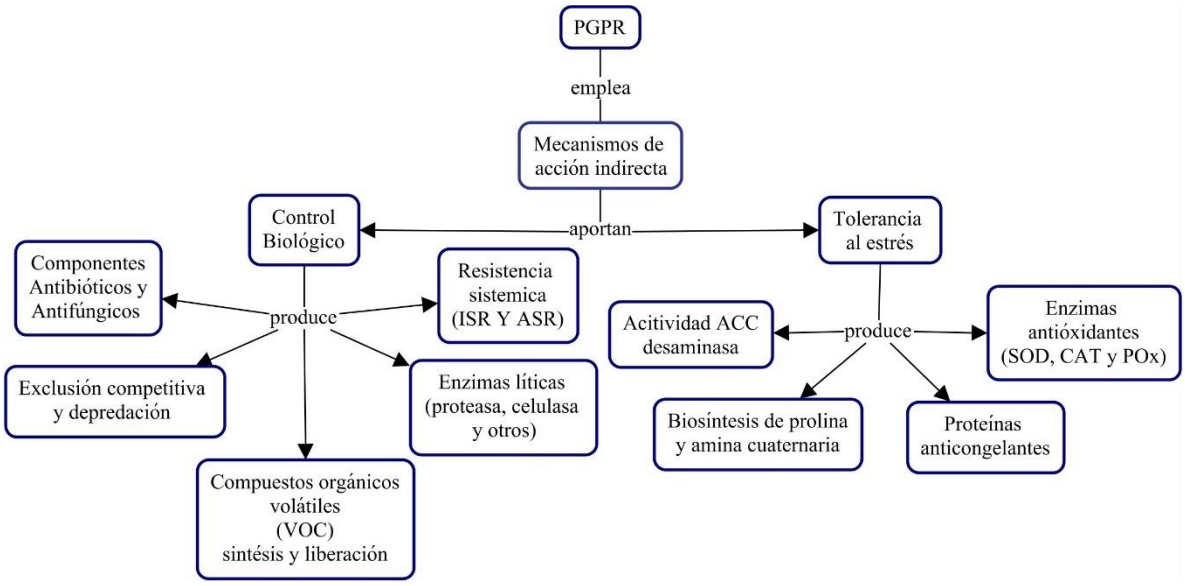


Figura 2. Mecanismos de acción indirecta mediados por PGPR (Figueiredo *et al.*, 2016)

3.15. *Bacillus* como agente de control biológico

El nombre de *Bacillus* fue establecido en el año de 1872 por Ferdinand Cohn, se agruparon por su característica de crecer en filamentos. En 1876 Cohn y Koch identificaron dos de las tres especies reconocidas actualmente de este género *B. subtilis, B. anthracis*, por la caracterización de cepas productoras de esporas resistentes al calor. El género está caracterizado por tener una forma de bacilo dentro del grupo de los Gram Positivos, son aerobios estrictos o anaerobios facultativos.

Es un género muy utilizado en el biocontrol ya que se sabe que suprime el crecimiento de varios hongos como *Fusarium, Rhizoctonia, y Esclerotinia*. Su principal propiedad es la liberación de antibióticos antifúngicos, que se han caracterizado como antibióticos peptídicos, en las que se incluyen micosubtilinas, bacilomicinas, surfactinas, fungistatinas y subsporinas. *Bacillus* también produce otros metabolitos que lo caracterizan como agente de biocontrol, en estos metabolitos se incluyen fitoalexinas, quitinasas, y otras enzimas que degradan la pared celular, también produce compuestos volátiles que le confieren a la planta resistencia ante al ataque de hongos, bacterias y nematodos patógenos (Reddy, 2014).

3.16. *Serratia* como agente de biocontrol

En 1823, Bartolomeo Bitzio un farmacéutico de Padua Italia describió a *Serratia marcescens* su característica notable es la producción de un pigmento rojo llamado prodigiosina (Soenens e Imperial, 2020).

Son bacterias que pertenece a la familia Enterobacteriaceae Gram Negativas con forma de bastón. Tiene muchos hábitats, encontrándose en agua, suelo, plantas, vertebrados y humanos, son especies biológica y ecológicamente diversas, encontrando aquellas que son benéficas para las plantas, hasta especies patógenas que causan daño al humano (Soenens e Imperial, 2020).

Para *Serratia* se ha estudiado que promueve el crecimiento vegetal al inducir resistencia contra patógenos de las plantas, produce sustancias antagónicas y permite la solubilización de fosfatos. *Serratia* sp., ha sido aislado de la rizosfera del trigo, avena, pepino, fresa, colza y papa. ciertas cepas bacteriana tienen la capacidad de inhibir enfermedades de las plantas en ambientes naturales y se emplean como remplazo del control químico (Kshetri *et al*., 2019)

Las bacterias quitinoliticas como agentes de biocontrol exhiben una actividad antagónica potencial contra hongos patógenos al degradar la quitina de las paredes celulares fúngicas. *Serratia marcescens* ha sido reconocida por tener capacidad para producir múltiples enzimas quitinasas que tienen la capacidad de degradar la quitina de las paredes celulares de los hongos y de los exoesqueletos de los insectos (Kshetri *et al*., 2019).

4. MARCO DE REFERENCIA

Suarez *et al*., (1984) realizaron un estudio en Santiago Ixouintla Nayarit, sobre los hongos en el grano de sorgo, para su estudio analizó 49 muestras de sorgo que estuvieran relacionadas con resistencia a los hongos. Realizaron determinaciones físicas y químicas para determinar la presencia o ausencia de testa. La identificación de los microrganismos patógenos fue por medio de la sintomatología presentada y por el aislamiento de los hongos patógenos, utilizando la técnica propuesta por Betancurt, la cual consistió en la preparación de un medio de cultivo de Agar Papa Dextrosa (PDA) con rebanadas de papa natural. Identificaron a los

principales hongos patógenos causantes del moho, encontrando a: *Curvularia*, *Fusarium* y *Penicillium*.

Vallejo (1985), realizó un estudio para determinar las plagas y enfermedades que prevalecen en el grano de sorgo durante su almacenamiento. Para su estudió utilizó 10 muestras con 50 gramos cada una, las muestras provenían del medio rural y de corporaciones privadas y oficiales del estado de Jalisco. Para la identificación de los hongos que prevalecieron en los granos almacenados, utilizó la técnica propuesta por Betancurt, elaborando un medio PDA con papa natural, dextrosa, agar y agua destilada. Los resultados sobre la presencia de hongos en granos de sorgo almacenados encontraron la prevalencia de: *Aspergillus* sp., *Penicillum* sp., *Phoma* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., y *Botritis* sp.

García y Flores (1991), realizaron un análisis micológico de granos de sorgo dulce. En su ensayo se estudiaron 44 muestras de sorgo dulce. De cada muestra se analizaron 20 semillas, las semillas se sembraron en cajas que contenían agar PDA y Malta Sal Agar (MSA). La identificación de géneros de los hongos presentes en las semillas fue por medio de las claves de Barnett y Hunter y para la identificación de las especies fueron sugeridos por especialistas de cada especie. Los resultados obtenidos en su estudio encontraron que el hongo que tuvo mayor prevalencia en las semillas fue del género *Alternaria alternata* teniendo 1575 aislamientos este hongo, encontrando que las causas que provoca este hongo fitopatógeno son tizones y manchas foliares en la planta de sorgo, además encontraron la presencia de otros hongos fitopatógenos como *Fusarium* y *Aspergillus*.

Astoreca *et al*., (2019) reportaron cinco principales micotoxinas halladas en granos de sorgo, encontrando: Aflatoxinas que es producida por 21 especies de hongos, siendo los principales *Flavi Ochraceorosei* y *Nidulantes* del género *Aspergillus*, son micotoxinas cancerígenas y mutagénicas, contamina alimentos y piensos. Zearalenona una micotoxina estrogénica no esteroide, producida por varias especies del género *Fusarium* siendo el principal productor *F. graminearum*, esta micotoxina afecta el sistema reproductor de las mujeres y el hombre. Las Fumonisinas son micotoxinas producidas el género *Fusarium*, principalmente por *F. verticillioides* y *F. proliferatum*, su importancia radica en la medicina veterinaria ya que causa edema pulmonar porcino y leucoencefalomalacia equina. Deoxinivalecol es un tricoteceno su presencia se asocia con otras micotoxinas producidas por *Fusarium*

graminearum afectando la salud humana y animal, los efectos crónicos que tiene en los animales es una disminución del consumo de alimento, llegando a afectar el sistema reproductivo de los animales. La Glicotoxina es una micotoxina producida por *Aspergillus fumigatus*, encontrada en sorgo pre- y post-fermentado su presencia puede afectar la productividad y salud humana.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El sorgo es un cultivo que es atacado por diversas enfermedades fúngicas y bacterianas durante su desarrollo, dañando al follaje, tallo, panoja y grano, a causa de esto se tiene una disminución de la absorción de nutrientes de la planta que repercute en el rendimiento del grano, generando así pérdidas económicas para el agricultor.

Las enfermedades varían de acuerdo con la zona de la siembra, las condiciones ambientales, las prácticas agrícolas empleadas, el tipo de sorgo (variedades), la interacción con diversos factores y otros agentes que propicien al desarrollo de tales enfermedades. Su presencia afecta significativamente el rendimiento del cultivo, la calidad del grano, la comercialidad y su utilización como alimento ya que en diversos estudios se señala que el control e inocuidad para el grano de sorgo es escaso, además de que varias especies fúngicas asociadas al grano son micotoxigenicas. Los granos de sorgo contaminados con micotoxinas ponen en peligro la salud humana y producción animal.

En general las enfermedades del sorgo son un problema que no recobra gran importancia para implementar un control ante dichas enfermedades, debido a que no hay un evidente impacto en la producción de sorgo y para la mayoría de los agricultores queda en una situación casual, ya que la sintomatología que presentan las plantas infectadas se confunde con daños foliares causados por factores como el clima, estrés hídrico y por la presencia de plagas. Además del ataque por enfermedades fúngicas, también se genera otra preocupación en la agricultura, por el uso excesivo agroquímicos como: fertilizantes, fungicidas, herbicidas, pesticidas e insecticidas. El uso de agroquímicos permite tener un control rápido y efectivo ante plagas, enfermedades y otros factores que afecten el cultivo, pero su uso representa un riesgo la salud pública y ambiental debido a que los productores no consideran necesaria una asesoría oportuna para la aplicación de estos, o bien sin un estudio detallado de suelo que permita observar si los controles químicos son óptimos. Además, se sabe que varios patógenos que causan enfermedades en los cultivos tienen modificaciones genéticas que les confieren resistencia a los productos químicos utilizados, lo que resulta en la aplicación de agroquímicos más agresivos para poder combatir las enfermedades y plagas o para lograr una buena fertilización.

6. JUSTIFICACIÓN

El uso de agroquímicos supone: problemas ambientales, contaminación de suelos, generación de gases efecto invernadero, contaminación de agua (migración de productos químicos en ríos subterráneos o contaminación de ríos o arroyos); problemas de suelo, y disminución de la fertilidad; erosión de suelos; problemas de salud para los agricultores, intoxicación, alergias; problemas económicos, ya que son costosos, esto conlleva que al agricultor invierta más dinero a su cultivo. Por ello es necesario emplear nuevas prácticas agrícolas que ayuden al productor a disminuir el uso de estos agroquímicos y que ayuden a mejorar el rendimiento de los cultivos sin causar daño al medio ambiente.

En el municipio de Huaquechula la mayoría de los productores se dedica a cultivar el sorgo, ya que es utilizado para alimentación de ganado principalmente y la economía de este municipio depende de la agricultura y la ganadería. Las prácticas agrícolas que han llevado a cabo son a base de la utilización de productos químicos. El incremento de enfermedades

en el cultivo representa un gran factor que aumenta la perdida de cultivo, afectando así el rendimiento del cereal, la calidad del producto provocando pérdidas económicas.

Por ello se propone el uso de control biológico con bacterias productoras de sustancias antibióticas y bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) como alternativa para combatir enfermedades y mejorar los rendimientos, así como también para ayudar a disminuir la fertilización química, ya que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal tienen la capacidad para actuar como agentes biofertilizantes y con ello lograr una mejor producción de sorgo y disminuir los costos económicos que emplean en la fertilización química y control de plagas y enfermedades.

Las bacterias del género *Bacillus* y *Serratia* empleadas en este estudio, son bacterias que han sido analizadas y estudiadas en el laboratorio de microbiología de suelos del Instituto de Ciencias ICUAP-BUAP y se han caracterizado por su poder quitinolítico, esta característica ayuda a degradar la pared celular de los hongos patógenos y con ello inhibir el crecimiento de estos.

Al emplear bacterias con poder quitinolítico se puede tener nueva alternativa para el manejo de enfermedades fúngicas, de una manera más tolerable para el medio ambiente, que no causa daño ni riesgo a la salud de los agricultores.

7. PREGUNTA CIENTIFICA

¿Cómo influye el control biológico con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) ante la presencia de enfermedades fúngicas en el cultivo de sorgo?

8. HIPOTESIS

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) influyen como agentes de control biológico ante hongos fitopatógenos en el cultivo de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) al reducir la afectación por enfermedades fúngicas en las plantas.

9. OBJETIVOS

9.2. Objetivo General

Evaluar el uso de Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (PGPR) como agentes de control biológico para mantener la salud del cultivo de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench).

9.3. Objetivos específicos

1. Determinar mediante pruebas de antagonismo la compatibilidad entre bacterias empleadas en los ensayos de control biológico.
2. Valorar la sanidad y germinación de la semilla de sorgo del híbrido Asgrow-Ámbar para conocer el grado de contaminación.
3. Aislar e identificar hongos fitopatógenos en semillas y plantas de sorgo.
4. Comparar el impacto de los tratamientos mediante variables agronómicas como grosor del tallo, altura de la planta, altura de la panoja, área foliar y rendimiento del grano.

5. Evaluar el efecto de las bacterias PGPR en el cultivo de sorgo para el control de enfermedades fúngicas

10. DESCRIPCIÓN ZONA DE ESTUDIO

10.1. Localización

Huaquechula es un municipio, que se ubica al oeste del estado de puebla, sus coordenadas con los paralelos 18° 39’ 08”, 18° 51’ 40” N y los meridianos 98º 40’ 39”, 98° 22’ 22” O, se encuentra a 1586 metros sobre el nivel del mar (msnm), representa el 0.7% de la superficie del estado de Puebla. Colinda al norte con el municipio de Atzizihuacán y Atlixco, Al sur con el municipio de Tlapanalá y Tepexco, al este con el municipio de Tepeojuma y al oeste con el municipio de Tepemaxalco (INEGI, 2010).

Figura 3. Localización del municipio de Huaquechula, Puebla. INEGI (2023).

10.2. Fisiografía.

El municipio de Huaquechula se encuentra ubicado en la provincia eje Neovolcánico y las subprovincias lagos y volcanes de Anáhuac y sierras del sur de Puebla. Con topoforma de meseta y llanura (INEGI., 2015).

El clima que se presenta en el municipio de Huaquechula es semicálido subhúmedo con lluvias en verano, teniendo temperaturas de entre 20 y 22 grados (INEGI., 2015).

Hidrografía. El municipio cuenta con la corriente de agua del rio Atila proveniente del volcán Popocatépetl, pero la presencia de agua solo se da como consecuencia de las lluvias durante el mes de junio a octubre (INEGI., 2015).

Suelo. El tipo de suelo que se encuentra en el municipio es suelo leptosol que son suelos someros y pedregosos que pueden tener roca continua o muy cercana a la superficie, suelo fluvisol estos suelos están desarrollados sobre depósitos aluviales y suelos cambisol que se caracterizan por tener la acumulación de arcillas y óxidos de hierro (INEGI., 2015).

Vegetación y agricultura. La mayor parte del territorio municipal está dedicada a la agricultura, pero al oeste del municipio se puede encontrar territorio que tienen selva y al noroeste una pequeña fracción de bosque (INEGI., 2015).

11. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

11.1. Tipo de estudio.

El estudio realizado es experimental donde se realizó la evaluación de bacterias de control biológico y promotoras del crecimiento vegetal PGPR para el control de enfermedades fúngicas en el cultivo de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) y la promoción del crecimiento en la planta.

11.2. Tamaño de la muestra.

En campo corresponde a once tratamientos con cinco repeticiones cada uno, seis de ellos inoculados con bacterias de control biológico y promotoras del crecimiento vegetal, un tratamiento con fertilización química, otro tratamiento con fungicida químico y dos con biofertilizantes (BiofertiBUAP y BiofosfoBUAP) y un tratamiento control.

11.3. Sede y lugar de estudio.

Sede: Se realizaron trabajos de investigación en el Laboratorio de Microbiología de suelos del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ubicado en Edificio IC-11, Ciudad Universitaria, Puebla, Puebla.

Lugar de estudio:

1. En el Laboratorio de Microbiología de suelos se seleccionaron las cepas que fueron más eficientes en el control biológico de hongos en semillas de sorgo.
2. Las pruebas de campo abierto se realizaron en el predio Contzingo del municipio de Huaquechula Puebla.

11.4. Periodo de Muestreo.

Julio-diciembre 2022

11.5. Criterios de Inclusión.

Para los tratamientos:

Se realizó la selección de bacterias con actividad antifúngica y promotoras del crecimiento vegetal.

11.6. Criterios de exclusión.

Para los tratamientos:

Se excluyeron aquellas bacterias que no presentaron actividad antifúngica, ni promoción del crecimiento vegetal.

11.7. Análisis estadístico de la información.

Los datos se analizaron por el método de análisis de varianza y para diferenciar entre los tratamientos se aplicó una comparación de medias con la prueba de Tukey a P=0.05 de significancia, de acuerdo con el programa Statistics.

11.8. Recursos humanos.

Miembros del cuerpo académico de Microbiología de suelos BUAP CA-99 integrado por:

- ✓ Directora de tesis: Dra. Lucia López Reyes
- ✓ Codirector de tesis: M.C. Moisés Graciano Carcaño Montiel
- ✓ Tesista becaria: María Magdalena Reyes Chapero
- ✓ Asesor interno: M.C. Patricia Guadalupe Suarez Albores
- ✓ Personal técnico especializado: Bióloga Leticia Gómez Velázquez

11.9. Recursos materiales.

Material de vidrio y plástico, equipos, medios de cultivo y reactivos que fueron suministrados por el Laboratorio de Microbiología de Suelos del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas.

11.10. Recursos financieros

Esta investigación fue financiada por el programa Institucional "BIOFERTIBUAP Y BIOFOSFOBUAP y apoyo de la Vicerrectoría de Investigación y Estudio de Posgrado (VIEP-BUAP).

12. MATERIALES Y METODOS.

12.1. Experimentos en laboratorio.

12.1.1. Ensayo de Compatibilidad entre bacterias

Se realizó un ensayo de compatibilidad entre las bacterias de control biológico y las de biofertilizantes. Se utilizaron placas de infusión de papa, las bacterias a las que se realizó esta prueba fueron 1 A, 2B (*Azopirillum brasilence*), BUAP-40 (*Acinetobacter calcoaceticus*), BUAP-35 (*Chromobacterium violaceum*), BUAP-P1R, BUAP-P3S (*Serratia proteomaculans*) y BUAP-P5S (*Serratia grimessi*), las bacterias se propagaron en medio líquido con 24 horas de crecimiento, se ajustaron a una población de 10^8 UFC mL^{-1} acuerdo con el nefelómetro de Mcfarland. Se sembró cada bacteria de forma vertical en la zona centro de la placa, donde se extendió el inoculo con 7 cm de longitud. Después de 48 horas de crecimiento, se colocaron inóculos en tres líneas a la izquierda y 3 líneas a la derecha de la línea central con una longitud de 2 cm, dejando una separación de 0.5 cm de separación con la línea central (Gómez, 2018).

12.1.2. Prueba de sanidad y germinación de la semilla.

Los organismos que transmite la semilla son propagados o transportados a través de esta, las esporas de los hongos tienden a sobrevivir dentro de la semilla o sobre ella, cuando una semilla se encuentra infectada con algún hongo patógeno produce plantas infectadas, por lo que constituyen a que un hongo patógeno se introduzca en una zona y por ende ocasione

pérdidas significativas para el agricultor. Por ello un análisis de sanidad y germinación de la semilla ayuda a conocer con qué tipo de agentes viene contaminada la semilla y los efectos que puede producir el agente patógeno en las plantas.

Cámaras húmedas

Se desinfectaron charolas de plástico con solución hipoclorito de sodio al 10% durante 5 min. Posteriormente se realizaron tres enjuagues con agua destilada estéril (5 min cada enjuague). Se eliminó el exceso de agua con gasas esterilizadas. Para cada charola se adicionaron 370 ml de Agar-PDA, se esperó a que gelificaran y se incubaron en el cuarto estufa para la prueba de esterilidad (Warham *et al*., 1996).

Análisis de Sanidad y germinación de las semillas

Se utilizó la semilla de sorgo híbrido Asgrow Ámbar, la cual venía recubierta con el fungicida Mefenoxan. Para los objetivos de este estudio se retiró el fungicida aplicando lavados con agua destilada estéril y detergente extran. Posteriormente, se realizó una desinfección de la semilla con hipoclorito de sodio al 10 %. El exceso de agua de las semillas se retiró con papel secante estéril. Una vez retirado el antifúngico a las semillas, se aplicaron tres tratamientos: el primer tratamiento, constó de colocar 100 semillas sin antifúngico en cámara húmeda; los otros dos tratamientos, consistían en la inoculación con bacterias del género *Bacillus* (*Bacillus cereus* (M3M1, M6M24) y *Paenibacillus simplex* (M5EL3)) y *Serratia* (*Serratia proteomaculans* (BUAP-P1R, BUAP-P3S) y *Serratia grimessi* (BUAP-P5S), cepas bacterianas que pertenecen a la colección de Laboratorio de Microbiología de Suelos del Instituto de Ciencias ICUAP-BUAP. Cada una de las cepas bacterianas se sembraron en caldo de Soya Tripticaseína (TSA) y se dejaron en crecimiento durante 24 horas a 180 rpm. Posteriormente, se ajustaron las bacterias a 10^8 UFC mL^{-1}, una vez que las cepas bacterianas fueron ajustadas se combinaron las cepas del mismo género utilizando 5 mL de cada cepa bacteriana. Los inóculos bacterianos se agregaron a 100 semillas y posteriormente se colocaron en cámaras húmedas. Se analizaron tres tratamientos más, estos consistían en el

análisis de las semillas con el fungicida Mefenoxan y su combinación con las cepas bacterias del género *Bacillus* y *Serratia*, utilizando 100 semillas para cada tratamiento (Figura 4). Se emplearon 3 repeticiones por tratamiento y las cámaras húmedas se incubaron a 30°C durante 7 días, tiempo necesario para el crecimiento de hongos. Las colonias fúngicas que se desarrollaron en el tratamiento de las semillas sin antifúngico se aislaron en placas de PDA para su posterior identificación.

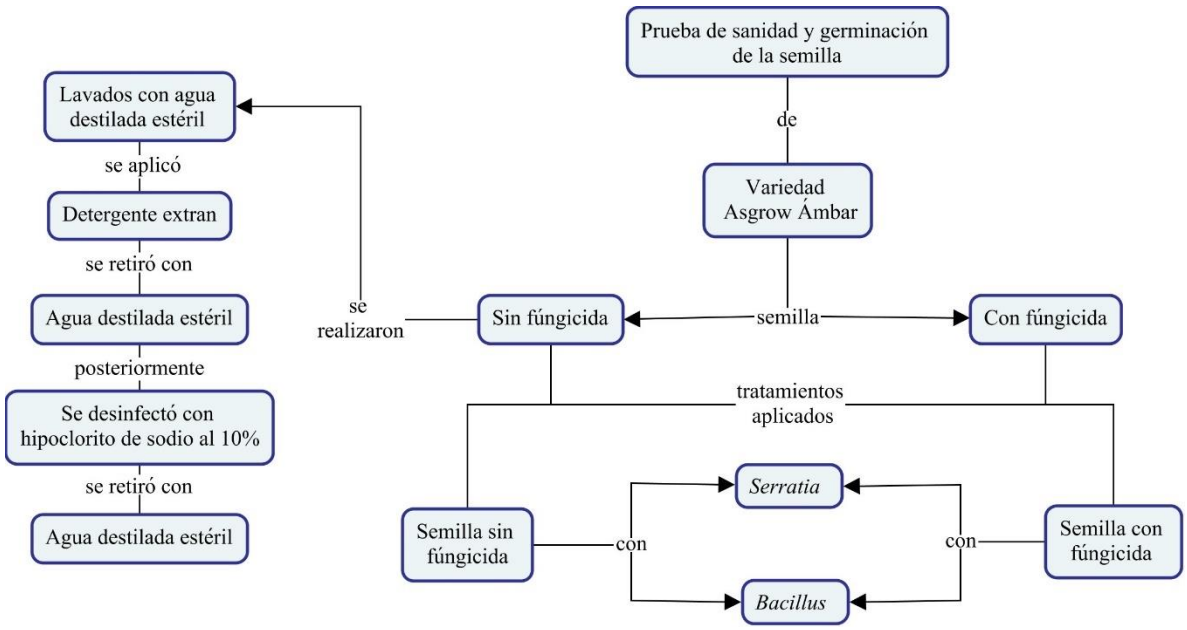


Figura 4. Diagrama de trabajo para análisis de sanidad y germinación de la semilla.

12.1.3. Conteo de células viables en los cultivos bacterianos usados en cámara húmeda

Se determinó el número de unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC mL^{-1}) de los géneros bacterianos *Bacillus* (M3M1, M6M24 *Bacillus cereus*, M5EL3, *Paenibacillus simplex*) y *Serratia* (BUAP-P1R, VUAP-P3S *Serratia proteomaculans* y BUAP-P5S *Serratia grimessi*). Las cepas bacterianas de ambos géneros fueron calibradas a 10^8 UFC mL^{-1}. Para ello se sembró en Agar de Soya Tripticaseína (TSA), por el método de extensión en placa y por duplicado. Las placas se incubaron a 32° C durante 48 horas, realizando conteo de las UFC a las 48 horas (Sanz, 1997).

12.1.4. Identificación de hongos con la técnica de microcultivo.

Se preparó y esterilizó cajas Petri con divisiones, portaobjetos, cubreobjetos y glicerina al 10%, posteriormente sobre la división que tiene la caja Petri se colocó un portaobjetos y en cada uno de los cuadrantes se agregó 4 mL de glicerina al 10 %, formando así una cámara húmeda (Figura 5). Se cortaron bloques de Agar Papa Dextrosa (PDA) de tamaño de 1 cm por 1 cm. Se colocó un bloque de agar sobre el portaobjetos, enseguida se tomó muestra con un asa de punta y se inoculó en cada uno de los lados del bloque del agar PDA, una vez inoculado el bloque de PDA se colocó un portaobjetos sobre el bloque de PDA presionando ligeramente. Los microcultivos se incubaron a 32°C durante 8 días. Al concluir el periodo de incubación, se retiró el cubreobjetos para teñirlo con azul de metileno y se colocó en un portaobjetos nuevo esterilizado, se retiró el bloque de PDA con el crecimiento del hongo y el portaobjetos que tenía el bloque se tiño con una gota de azul de metileno y se le colocó un cubreobjetos nuevo y esterilizado, los cubreobjetos se sellaron con barniz en los extremos para prevenir la deshidratación de las preparaciones. la identificación de las estructuras fúngicas se realizó con observaciones en el microscopio ZEISS en los objetivos de 40 x y 100x (Sanz, 1997).

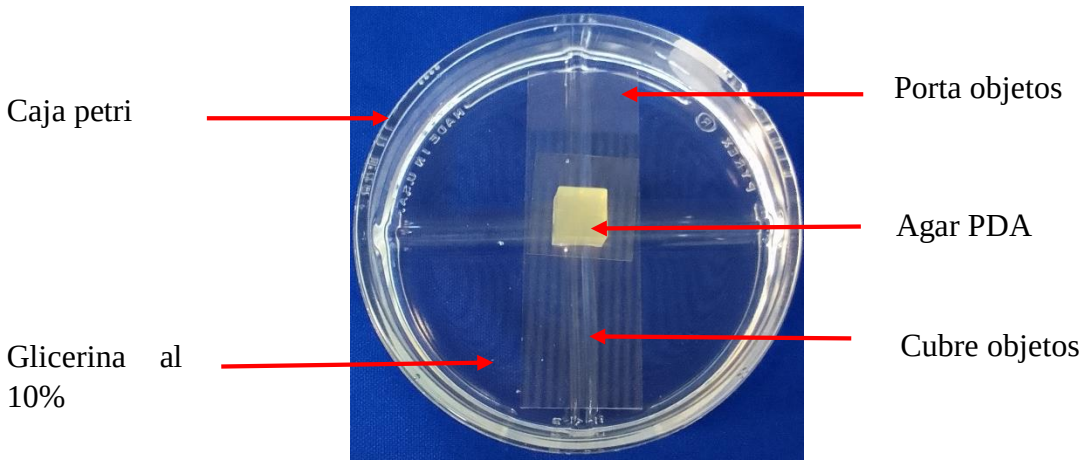


Figura 5. Microcultivo para identificación de hongos

12.1.5. Evaluación de inocuidad de las bacterias de control biológico

Se colocaron 10 µL de las bacterias utilizadas como agentes de control biológico BUAP-P1R, BUAP-P3S (*Serratia proteomaculans*) y BUAP-P5S (*Serratia grimessi*) con un asa calibrada y esterilizada, sobre la superficie de una placa de agar gelosa sangre, para evaluar si las bacterias utilizadas como agentes de control biológico tienen la capacidad de hemolizar los eritrocitos, la bacteria utilizada como referencia fue *E. coli*, La placa se dejó en incubación durante 24 horas a 32°C, posteriormente se realizó lectura y se evaluó la existencia de hemolisis causada por las bacterias (Adimpong *et al*., 2012).

12.2. Experimento en campo

12.2.1. Preparación del terreno

El terreno de estudio está ubicado en el predio Contzingo del Municipio de Huaquechula, antes de la siembra se preparó el terreno con un barbecho a una profundidad de 80 cm realizado 15 días antes de la siembra, con la finalidad de aflojar la tierra, enterrar los residuos de la cosecha anterior y retirar malezas.

12.2.2. Diseño del experimento

El experimento en campo para evaluar los tratamientos con actividad de control biológico ante las enfermedades fitopatógenas en el cultivo de sorgo durante el ciclo agrícola verano-invierno 2022, se establecieron 55 unidades experimentales para ser estudiadas en el municipio de Huaquechula, Puebla. El diseño experimental en campo fue de bloques completamente al azar, teniendo 11 tratamientos con 5 repeticiones cada tratamiento (Figura 6). El tamaño de las parcelas de estudió fue 4 m x 3.20 m de ancho, con 4 surcos cada parcela, de la parcela la zona de estudio fueron los 2 surcos centrales con 2 m cada surco. La distancia entre bloques fue de 1 m y la distancia entre parcelas de 70 cm, teniendo un total de 1, 250 m^2. los tratamientos aplicados fueron los que se muestran en el cuadro 5.

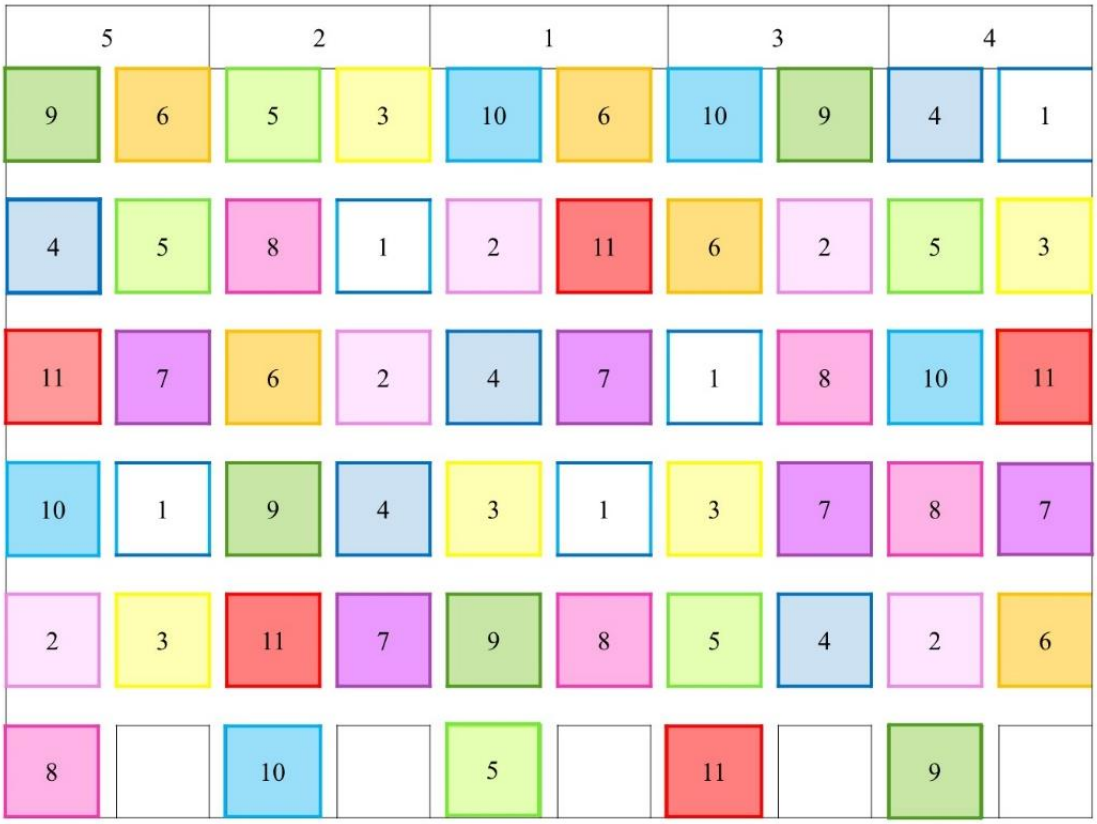


Figura 6. Croquis del experimento en campo, diseño de bloques completamente al azar. Los colores y números corresponden a un tratamiento indicados en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Tratamientos aplicados en campo

Tratamiento	Nombre
1	Control
2	Fertilización Química 100% (UREA y DAP)
3	Fungicida Químico (Clorotalonil)
4	Biofertilizante (BiofertiBUAP y BiofosfoBUAP)
5	Biofertilizante + fungicida químico
6	Control biológico *Serratia* (BUAP-P1R, BUAP-P3S *Serratia proteomaculans* y BUAP-P5S *Serratia grimessi*)
7	Control biológico + biofertilizante
8	Control biológico + fertilización química 50%
9	Control biológico + fungicida químico
10	Control biológico + biofertilizante + Fungicida Químico
11	Control Biológico + Fertilización Química 50 % + fungicida químico

12.2.3. Inoculante bacteriano (*Serratia*) para aplicación en la siembra

Las cepas bacterianas de (BUAP-P1R, BUAP-P3S *Serratia proteomaculans* y BUAP-P5S *Serratia grimessi*) se propagaron en de caldo de Soya Tripticaseina se incubaron a 32 °C durante 48 horas en agitación a 180 rpm, con una población equivalente a 10^8 UFC mL^{-1} (Gutiérrez *et al*., 2023).

12.2.4. Conteo de células viables del cultivo bacteriano para aplicación en siembra.

Se determinó el número de unidades formadoras de colonias por mililitro de inoculante (UFC mL^{-1}) bacteriano que contenía a las bacterias BUAP-P1R, BUAP-P3S (*Serratia proteomaculans*) y BUAP-P5S (*Serratia grimessi*), BiofertiBUAP y BiofosfoBUAP, las muestras se ajustaron a una población de 10^8 UFC mL^{-1}, posteriormente se realizaron diluciones en base 10, se sembraron 100 microlitros de cada muestra, en agar TSA para las

bacterias del género *Serratia*, en Rojo Congo para las bacterias de BiofertiBUAP y en medio Goldstein para las bacterias de BiofosfoBUAP por el método de extensión en placa, utilizando una varilla de vidrio doblada y estéril. Las placas se incubaron a 32° C durante 48 horas y se realizó la lectura de las UFC mL^{-1}.

12.2.5. Siembra de sorgo en campo abierto

La siembra se realizó en el mes de Julio de manera manual con la técnica de a chorrillo. En una bolsa de plástico se colocó aproximadamente 2000 semillas para cado uno de los tratamientos, teniendo un total de 11 bolsas. Para los tratamientos control (T1), fertilización química (T2) y fungicida químico (T3) no se aplicó nada en el momento de la siembra, la semilla fue sembrada tal cual venía, los tratamientos con biofertilizantes (BiofosfoBUAP y BiofertiBUAP) se inocularon agregando 40 mL de cada biofertilizante, para los 6 tratamientos que llevan el control biológico se les agregó 40 mL de Inoculante bacteriano (BUAP-P1R, BUAP-P3S *Serratia proteomaculans* y BUAP-P5S *Serratia grimessi*). para los tratamientos que llevaban tanto biofertilizantes como control biológico también se les agregó 40 mL de cada uno respectivamente. Todos los tratamientos se dejaron en reposo durante 30 minutos para que interactuara la semilla con los inoculantes. Con un azadón se fueron formando una línea sobre el surco con una profundidad de 3 cm, se colocó la semilla con los respectivos tratamientos y se tapó con el suelo de estudio.

12.2.6. Análisis microbiológico de suelo

Se analizó el suelo donde se llevó a cabo el experimento en campo, mediante el muestreo cinco de oros, para ello se recolectó suelo de cinco puntos diferentes, las muestras se mezclaron para su posterior análisis microbiológico.

12.2.7. Conteo de células viables del suelo de estudio

De la muestra de suelo se tomó un gramo y se realizaron diluciones seriadas base diez para determinar el número de unidades formadoras de colonias UFC, se realizó por método de

extensión en placa en medio de cultivo TSA, PDA con estreptomicina y agar CZAPEK utilizando una varilla de vidrio doblada y estéril.

12.2.8. Inoculante bacteriano para aplicación foliar

Se preparó inoculo bacteriano de las cepas BUAP-P1R, BUAP-P3S (*Serratia proteomaculans*) y BUAP-P5S (*Serratia grimessi*), cada bacteria se propagó en 500 mL de caldo de Soya Tripticaseína y se dejó en incubación por 48 horas a 32°C con movimiento constante.

Las bacterias 1A-2B (*Azospirillum brasilense*) del biofertilizante BiofertiBUAP se inocularon en 900 ml de caldo NFB y las bacterias BUAP-40 (*Acinetobacter calcoaceticus*), BUAP-35 (*Chromobacterium violaceum*) que conforman el biofertilizante BiofosBUAP se inocularon en 900 ml de caldo nutritivo, se incubaron durante 48 horas con movimiento constante.

12.2.9. Conteo de células viables de inoculo bacteriano de aplicación foliar

Se determinó el número de unidades formadoras de colonias por mililitro para los inóculos bacterianos de control biológico (*Serratia*), BiofertiBUAP y BiofosfoBUAP empleados en la aplicación foliar en campo, se ajustaron a una población de 10^8 UFC, posteriormente se realizaron diluciones seriadas base 10, se tomaron 100 microlitros de cada muestra y se sembraron en los medios agar TSA para las bacterias de control biológico (*Serratia*), en Rojo Congo para las bacterias de BiofertiBuap y medio Goldstein para las bacterias de BiofosfoBUAP por el método de dilución en placa con una varilla de vidrio doblada y esterilizada, se dejaron en incubación durante 48 horas a 32°C y posteriormente se realizó la lectura de las UFC para cada inoculo bacteriano.

12.2.10. Aplicación foliar de tratamientos en campo

Se realizó una aplicación foliar de todos los tratamientos a las plantas sembradas en el municipio de Huaquechula Puebla. La aplicación foliar de los tratamientos se realizó de manera manual.

Los inóculos de las bacterias de control biológico (BUAP-P1R, BUAP-P3S *Serratia proteomaculans* y BUAP-P5S *Serratia grimessi*), BiofertiBUAP y BiofosfoBUAP se diluyeron en relación 1:10, colocando 1800 mL de agua purificada y 200 ml de inoculo bacteriano en una garrafa. Del fungicida químico se preparó 2 L de agua y se agregó 0.78 gr de clorotalonil. El fertilizante químico aplicado fueron UREA y Fosfato Diamonico (DAP)con la dosis 80-40-00.

Para el tratamiento control solo se le aplicó agua purificada en toda la planta hasta que quedara bien cubierta, la aplicación se realizó en todas las parcelas. Para el tratamiento 2 que consistió en fertilización química al 100% se agregaron los fertilizantes químicos Fosfato Diamonico (DAP) y UREA de manera solida en el suelo de planta. Para el tratamiento 3 fungicida químico se le aplicó el fungicida químico clorotalonil previamente diluido de manera foliar cubriendo todas las hojas de la planta. En el tratamiento 4 que consistió en la aplicación de Biofertilizantes se agregaron 500 mL de BiofertiBUAP y 500 mL de BiofosfoBUAP previamente diluidos y se aplicaron de manera foliar. El tratamiento 5 de Biofertilizante con Fungicida químico se realizó la combinación de 250 mL de BiofertiBUAP, 250 mL de BiofosfoBUAP y 500 mL de clorotalonil y se aplicaron de manera foliar. El tratamiento 6 de control biológico con las bacterias del género *Serratia* (BUAP-P1R, BUAP-P3S *Serratia proteomaculans* y BUAP-P5S *Serratia grimessi*) se realizó la aplicación foliar de las 3 bacterias previamente diluidas. En el tratamiento 7 se realizó una combinación de 500 mL del inoculo bacteriano con bacterias del género *Serratia*, 250 mL de BiofertiBUAP y 250 mL de BiofosfoBUAP. Para el tratamiento 8 que fue de control biológico más fertilización química al 50 % se le aplicó el inoculo bacteriano con bacterias del género *Serratia* de manera foliar y la fertilización química se realizó en el suelo de la planta agregando Fosfato Diamonico (DAP) y UREA. En el tratamiento 9 de control biológico con fungicida químico para su combinación se agregaron 500 mL de inoculo con bacterias del género *Serratia* y 500 mL de fungicida químico y se aplicó de manera foliar. El

tratamiento 10 que consistió en una combinación de control biológico más biofertilizante más fungicida químico se colocaron 250 mL de cada solución en un atomizador y se procedió aplicarlo de manera foliar. El tratamiento 11 de control biológico más fungicida y fertilización química al 50%, se combinó el fungicida químico Clorotalonil y el inoculo bacteriano de control biológico con *Serratia*, mezclando 500 mL de cada uno y la fertilización química se realizó en el suelo de planta con DAP y UREA.

12.2.11. Evaluación de tratamientos

Se registró el daño foliar de 2 hojas por planta, evaluando un total de 15 plantas por tratamiento. La severidad de daño se midió empleando una escala con base en la escala propuesta por Thakur *et al*., (2007) para enfermedades foliares en sorgo, la evaluación se realizó comparativamente empleando intervalos de 0, 25, 50, 75 y 100 por ciento (Cuadro 6). Para determinar el índice de severidad se empleó la siguiente fórmula (Chiang & Bock, 2021).

$$\%\, IS = \frac{\sum(frecuencia\ de\ la\ clase\ x\ grado\ de\ infección)}{(numero\ total\ de\ observaciones)x(indice\ maximo\ de\ enfermedad)}\ x100$$

Cuadro 6. Relación del grado de infección y el porcentaje de severidad foliar

Grado de infección	Severidad (%)
1	0
2	25
3	50
4	75
5	100

Basado en la escala de Rust Scoring Guide.

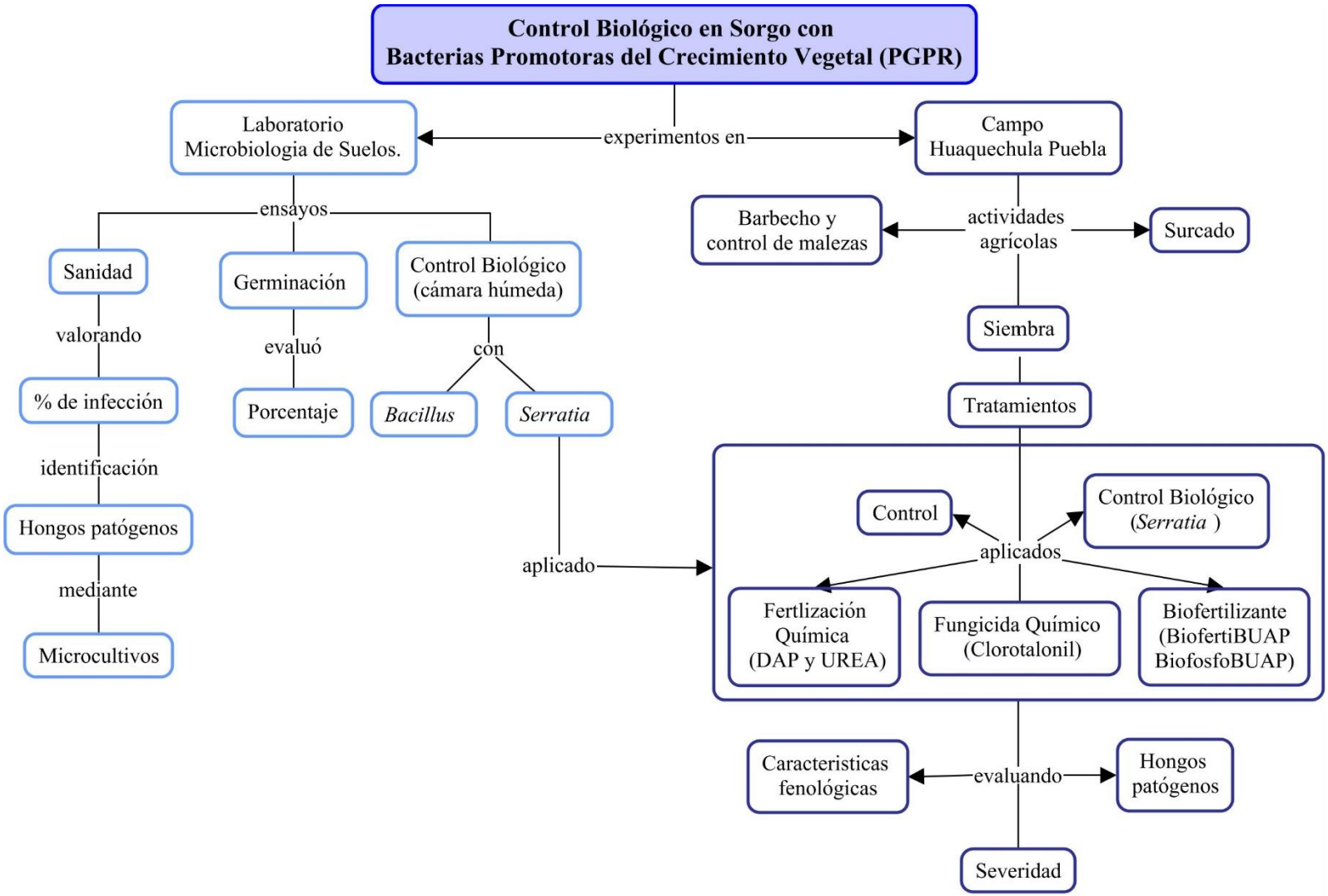
Se realizó el análisis de varianza y la comparación de medias entre tratamientos con la prueba de la diferencia mínima significativa con un nivel de confianza del 95%, también se evaluó el grosor del tallo, altura de la planta, altura de la panoja, área foliar y rendimiento del grano mediante un análisis de varianza con la prueba de Tukey (P= 0.05).

12.2.12. Aislamiento de hongos a partir de las plantas de sorgo

De las hojas de la planta de sorgo que presentaban daño causado por hongos fitopatógenos, se colocaron en cámara húmeda estéril en placas de agar PDA, se incubaron a 32°C durante 5 días hasta observar el crecimiento de hongos, de los cuales se sembraron en agar PDA para su purificación y su posterior identificación.

Los tallos que también presentaban daño por hongos fitopatógenos se sometieron a cámaras húmedas con agar PDA y se incubaron a 32°C durante 5 días hasta observar crecimiento de hongos y posteriormente se sembraron en agar PDA para su purificación e identificación.

13. DIAGRAMA DE TRABAJO



14. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

14.1. Fase de Laboratorio

14.1.1. Ensayo de Compatibilidad entre bacterias

El suelo es un habitad complejo donde ocurren un gran número de interacciones microbianas, las poblaciones microbianas se encuentran asociadas a las raíces de las plantas en la zona rizosférica, formando microambientes en las que estas poblaciones son capaces de ejercer efectos sobre el crecimiento vegetal por su producción de fitohormonas, disolución y mineralización de fosfatos, fijación asimbiótica del nitrógeno atmosférico, producción de sideróforos y antibióticos (Reyes *et al*., 2008).

Se realizaron pruebas de antagonismo entre las bacterias que se emplearon en el experimento, evaluando a las bacterias BUAP-P1R, BUAP-P3S (*Serratia proteomaculans*) y BUAP-P5S (*Serratia grimessi*), bacterias que se emplearon como agentes de control biológico y a las bacterias empleadas en los Biofertilizantes, BiofertiBuap que contiene *Azospirillum brasilense* y BiofosfoBuap que contiene a las bacterias *Acinetobacter calcoaceticus* y *Chromobacterium violaceum.*

En la prueba realizada se encontró que las bacterias no mostraron un antagonismo entre ellas, observándose una compatibilidad entre las bacterias empleadas en el experimento en laboratorio y campo, las bacterias mostraron tener una interacción entre sí, se observó que la bacteria B35 (*Chromobacterium Violaceum*) no presentó crecimiento en ninguno de los ensayos de antagonismo realizados y se le adjudica a un error durante la ejecución de la técnica (Cuadro 7).

La coexistencia entre bacterias benéficas permite tener una mayor eficacia del biocontrol, ya que cada una de las bacterias tiene diferentes mecanismos de acción, por lo que la que la combinación de diferentes especies bacterianas ayuda a tener mecanismos complementarios, un ejemplo de esta compatibilidad entre bacterias es *Azospirillum brasilense* que es una bacteria ampliamente estudiada como bacterias promotoras del crecimiento vegetal ya que es una bacteria que ayuda en los cultivos agrícolas debido la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico y producir fitohormonas que ayudan al crecimiento de las plantas (Cassán *et al*.,

2020), por otra parte *Acinetobacter calcoaceticus* es una bacteria productora de fitohormonas como las giberelinas, producción de ácido-indol-3-ácetico (IAA) y ayuda a mejorar el crecimiento de las plantas porque tiene la capacidad de solubilizar el fosfato inorgánico (Kang *et al*., 2012), ambas bacterias se consideran promotoras del crecimiento vegetal y al realizar hacer una combinación entre *Azospirillum brasilense* y *Acinetobacter calcoaceticus* se forma un consorcio microbiano en el cual ayuda a mejorar el rendimiento de los cultivos (Aguilar *et al*., 2021). La interacción entre *Azospirillum brasilense* y *Acinetobacter calcoaceticus* ha sido evaluada en muchos estudios, como en el estudio realizado por Molina *et al*., (2017) quien analizó 20 cepas bacterias de los géneros *Azospirillum*, *Acinetobacter*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Paraburkholderia*, *Pseudomonas* y *Sphingomonas* encontrando que las bacterias de *Azospirillum* y *Acinetobacter* no se inhiben y pueden coexistir entre ellas.

Cuadro 7. Compatibilidad entre bacterias

	BUAP-P35	BUAP-P1R	BUAP-P5S	1A	2B	BUAP-35	BUAP-40
BUAP-P35	+	+	+	+	+	+	+
BUAP-P1R	+	+	+	+	+	+	+
BUAP-P5S	+	+	+	+	+	+	+
1A	+	+	+	+	+	+	+
2B	+	+	+	+	+	+	+
BUAP-35	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
BUAP-40	+	+	+	+	+	+	+

Signo + significa que la bacteria presentó crecimiento. NC, la bacteria no creció por cuestiones de técnica, BUAP-P3S, BUAP-P1R (*Serratia proteomaculans*), BUAP-P5S (*Serratia grimessi*), 1A, 2B (*Azospirillum brasilense*), , BUAP-35 (*Chromobacterium violaceum*), BUAP-40 (*Acinetobacter calcoaceticus*).

14.1.2 Prueba de sanidad y germinación de las semillas de sorgo.

La evaluación de sanidad de las semillas de sorgo mostró que el tratamiento sin antifúngico tuvo el 69 % de infección por hongos y un porcentaje de germinación de 91 %, mientras que el tratamiento con el fungicida que trae la semilla (mefenoxan) mostró tener una infección con hongos del 12.67%, con una germinación del 96% de las semillas, el tratamiento con bacterias del género *Serratia* (BUAP-P1R, BUAP-P3S *Serratia proteomaculans* y BUAP-P5S *Serratia grimessi*) y sin antifúngico presentó una infección de 46.33% de las semillas

con una germinación del 85.33%, mientras que las bacterias del género S*erratia* (BUAP-P1R, BUAP-P3S *Serratia proteomaculans* y BUAP-P5S *Serratia grimessi*) se combinan con el fungicida las semillas demuestran una infección del 2.67% y una germinación del 93.33%, para el tratamiento con bacterias del género *Bacillus* (M3M1 *Bacillus cereus*, M5EL3 *Paenibacillus simplex*, M6MZ4 *Bacillus simplex*) sin antifúngico se observó una infección por hongos del 62.67% con un porcentaje de germinación del 85.67% y si las bacterias del género *Bacillus* se aplican junto con el antifúngico se logra reducir la infección por hongos, ya que el 5.67% de las semillas muestra infección con hongos y con un 91% de germinación de las semillas (Cuadro 8).

Cuadro 8. Evaluación de sanidad de las semillas de sorgo

Tratamiento	Semillas germinadas %	Semillas Infectadas %	Semillas no infectadas %
Sin antifúngico	91 ± 2.65	69 ± 7.00	31 ± 7.00
Antifúngico	96 ± 3.00	12.67 ± 8.14	87.33 ± 8.14
Serratia sin antifúngico	85.33 ± 1.53	46.33 ± 1.53	53.67 ± 1.53
Serratia más antifúngico	93.33 ± 2.89	2.67 ± 0.58	97.33 ± 0.58
Bacillus sin antifúngico	85.67 ± 2.08	62.67 ± 1.53	37.33 ± 1.53
Bacillus más antifúngico	91 ± 3.46	5.67 ± 1.53	94.33 ± 1.53

BUAP-P1R (*Serratia proteomaculans*), BUAP-P3S (*Serratia proteomaculans*), BUAP-P5S (*Serratia grimessi*), M3M1 (Bacillus cereus), M5EL3 (Paenibacillus simplex), M6MZ4 (Bacillus simplex).

El tratamiento con bacterias del género *Serratia* (BUAP-P1R, BUAP-P3S *Serratia proteomaculans* y BUAP-P5S *Serratia grimessi*) en combinación con el antifúngico Mefenoxan demuestran tener un mejor control de hongos fitopatógenos en las semillas de sorgo (Figura 7). El efecto biocontrolador de las bacterias del género *Serratia* observado en este estudio se relaciona con el realizado por Gutiérrez-Flores *et al*., (2023), en donde demostraron que las bacterias *Serratia grimessi* y *Serratia proteomaculans* pueden ser utilizadas para el control de hongos fitopatógenos en *Pinus patula*. En otras investigaciones se ha demostrado que *Serratia marcescens* tiene una fuerte actividad antifúngica contra *B.*

cinérea (Someya *et al.*, 2001) además de que es una bacteria que tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de patógenos fúngicos como, *Fusarium oxysporum, Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solanii*, *Alternaria alternata* (Parani *et al*., 2011). Asimismo, *Serratia rubidaea* ha demostrado actividad antagónica ante la enfermedad antracnosis de la fresa causada por *Colletotrichum nymphaeae* (Alijani *et al*., 2022). Diferentes especies del género *Serratia* son conocidas como bacterias promotoras del crecimiento vegetal que ayudan a controlar las enfermedades en la planta por la producción de metabolitos, dentro de los metabolitos producidos por *Serratia* se encuentran la producción de antibióticos, sideróforos, HCN, enzimas que degradan la pared celular como quitinasas, además de que generan resistencia sistémica inducida (ISR) o resistencia sistémica adquirida (SAR) (Ksheri *et al*., 2019).

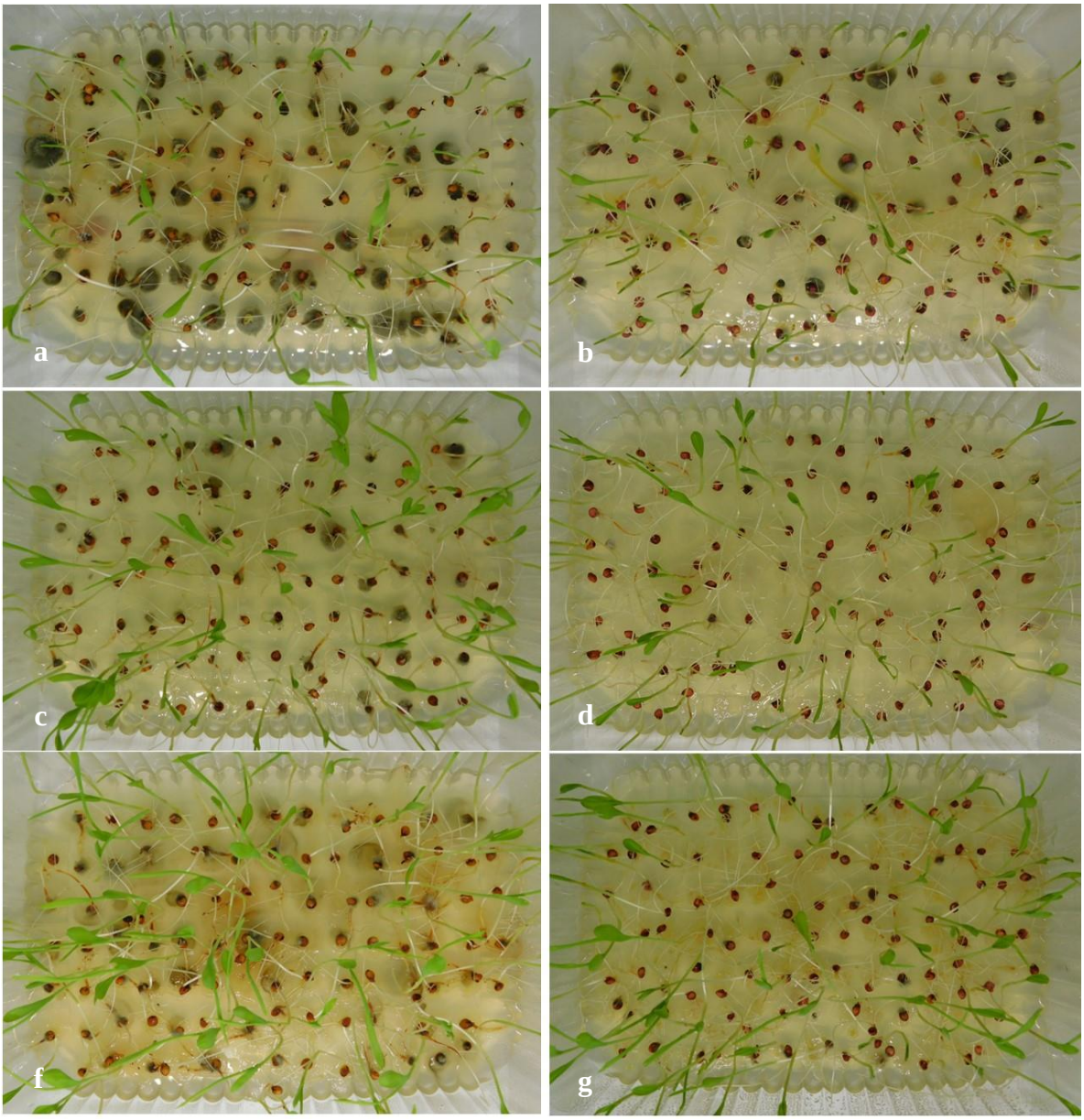


Figura 7. Análisis de sanidad de la semilla con diferentes tratamientos en la variedad Asgrow-Ambar.

a) Sin fungicida, b) Con fungicida Mefenoxan, c) Con *Serratia* sin fungicida, d) Con *Serratia* más fungicida Mefenoxan, e) Con *Bacillus* sin fungicida, f) Con *Bacillus* más fungicida Mefenoxan.

14.1.3 Aislamiento e identificación de hongos a partir de las semillas de sorgo

Se aislaron cuatro hongos a partir de semillas de sorgo del híbrido Asgrow Ámbar, los hongos aislados se identificaron morfológicamente y corresponden a los siguientes géneros: *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp. El aislamiento de estos hongos se relaciona con el estudio realizado por Naqvi *et al*., (2013), en el cual estudió los hongos transmitidos por semillas de sorgo, registrando el porcentaje de germinación de las semillas, el porcentaje de frecuencia de patógenos y los principales hongos transmitidos por semillas, los hongos aislados e identificados en las semillas de sorgo fueron del género *Alternaria, Aspergillus, Fusarium, Helminthosporium, Mucor, Penicillium* y *Rhizopus*.

Se observó que el hongo que tuvo mayor presencia en las semillas fue *Alternaria* sp., con 67.33%, 12 %, 46%, 2.33 % para los respectivos tratamientos (Cuadro 9). *Alternaria* sp., se asocia a diversas enfermedades de las semillas y manchas foliares en las gramíneas. Se han aislado varias especies del género *Alternaria* en tejidos del sorgo, en las que se encuentran cariópsides, tallos y hojas causando principalmente la descomposición post cosecha y la importancia de este género es la producción de compuestos tóxicos como las dibenzo-a-pironas que son metabolitos secundarios tóxicos (Yassin *et al*., 2010).

En este estudio también se aisló y se identificó macroscópicamente y microscópicamente a dos hongos correspondientes al género *Fusarium* sp., un hongo presentaba colonias macroscópicas de color rosa y la otra cepa desarrolló colonias de color blanco en medio PDA, el hongo con colonias rosas estuvo presente en todos los tratamientos con un porcentaje del 0.33%, mientras que la otra cepa con colonias de color blanco se presentó en los tratamientos sin antifúngico y con antifúngico con un porcentaje del 0.33% para ambos tratamientos y en el resto de los tratamientos se inhibió el crecimiento de este hongo. (Cuadro 9.). La identificación de este hongo es de gran importancia debido a que en varios estudios se ha identificado que los hongos del género *Fusarium* llegan a producir micotoxinas que pueden causar efectos negativos en la salud de los consumidores. Sharma *et al*., (2011), realizó un estudio sobre el moho del grano en semillas de sorgo, en donde logro identificar a las cepas *Fusarium thapsinum, F. porliferatum, F.andiyazi, F. equiseti* y *F. sacchari*. Los hongos que más se encuentran asociados con el moho del grano en sorgo son las cepas de *F. proliferatum*, *F. andiyazi* y *F. sacchari*. Astoreca *et al*., (2019) realizó un examen sobre la aparición de

micoflora y micotoxinas en el sorgo, en el cual señala a los hongos de diversos géneros que se asocian con la contaminación de los granos de sorgo recolectados de diferentes países, indicando principalmente a los hongos micotoxigénicos y las micotoxinas que producen. Las principales micotoxinas que se encuentra asociadas a los granos de sorgo se encuentran: la fumonisina producida por varias especies del género *Fusarium*, principalmente *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *Fusarium equiseti* es productor de tricoteceno tipo A, *Fusarium semitectum* productor de zearalenona y *F. graminearum* produce tricoteceno tipo B. En el caso de *Aspergillus flavus* es productor de aflatoxinas.

Rhizopus sp., también se identificó macroscópica y microscópicamente en las semillas de sorgo, la presencia de este hongo fue de 1.0 % para el tratamiento control y para el resto de los tratamientos estudiados *Rhizopus* tuvo el 0.0 % de presencia en las semillas. *Rhizopus* se encuentra con frecuencia en los granos de sorgo, causando deterioro de la semilla y disminuyendo la capacidad de germinación de la semilla (Yassin *et al*., 2010).

Cuadro 9. Presencia de hongos en semillas de sorgo en los diferentes tratamientos en laboratorio

Tratamiento	*Alternaria* sp. %	*Fusarium* sp. %	*Fusarium* sp. %	*Rhizopus* sp. %
Sin antifúngico	67.33	0.33	0.33	1.00
Antifungico	12.00	0.33	0.33	0.00
Serratia sin antifúngico	46.00	0.33	0.00	0.00
Serratia antifungico	2.33	0.33	0.00	0.00
Bacillus sin antifúngico	62.33	0.33	0.00	0.00
Bacillus antifúngico	5.33	0.33	0.00	0.00

14.1.4 Descripción macroscópica y microscópica de los hongos aislados de semillas

Alternaria sp.: las colonias presentan un crecimiento algodonoso de color blanca grisáceo inicial y posteriormente se observa una superficie de coloración verde oliva oscura (Figura 8a). La morfología microscópica que presenta el crecimiento de hifas septadas, desarrolla conidios con forma ovoide septados longitudinal y transversalmente (Figura 8b) (Rivas & Mühlhauser, 2014).

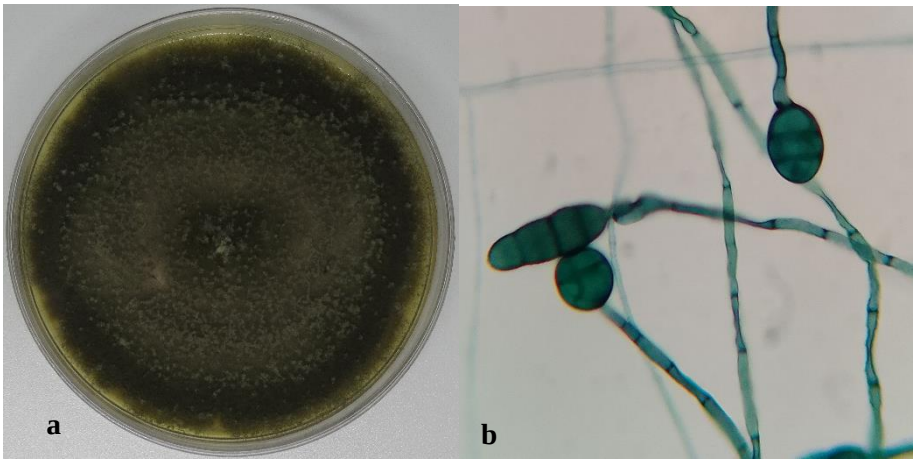


Figura 8. *Alternaria* sp. a) Morfología macroscópica. b) Morfología microscópica, conidios de forma ovoide septados a 100x.

Fusarium sp.: Presenta colonias filamentosas de color blanco inicialmente que posteriormente se observa una coloración rosa (Figura 9a). Microscópicamente presenta microconidios de forma elipsoide, presenta micelio hialino y septado (Figura 9b) (Tapia & Amaro, 2014).

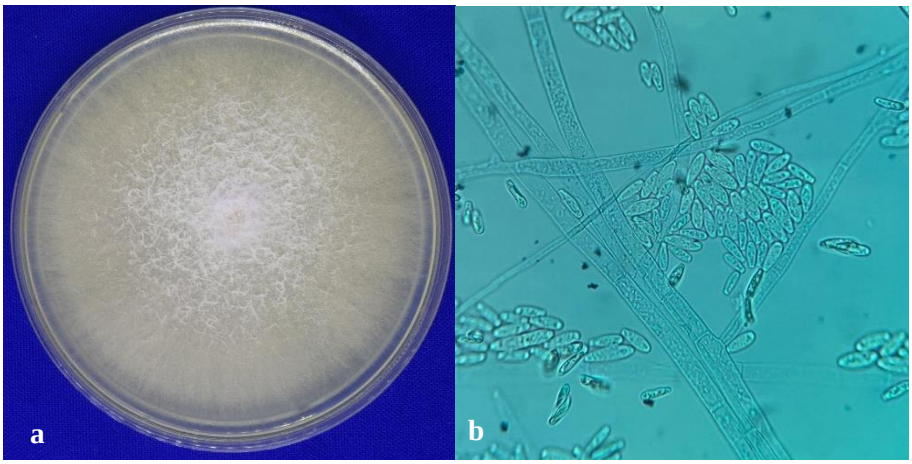


Figura 9. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. (b) morfología microscópica de microconidios aislados a 100x

Fusarium sp.: Presenta colonias de color blanco a crema, con micelio aéreo y con bordes ramificados e irregulares (Figura 10a). Microscópicamente presenta microconidios aglomerados en cabezas falsas sobre monofiálides, y conidios en forma de cadena (Figura 10 b) (Tapia et al., 2014).

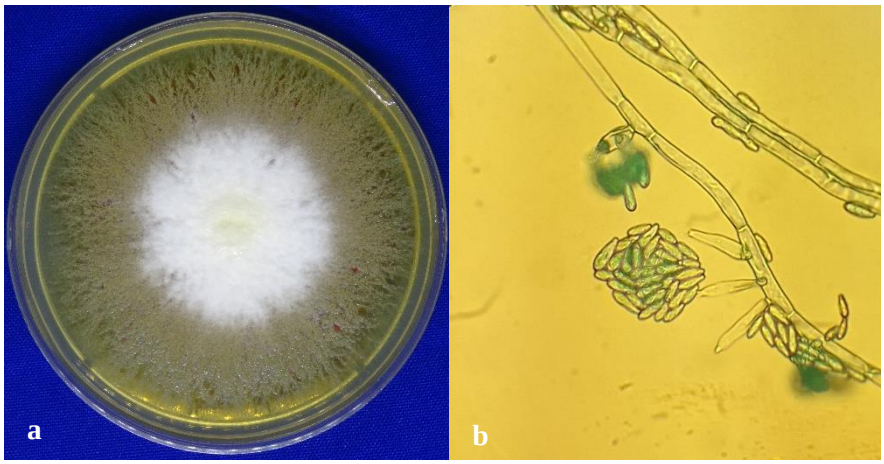


Figura 10. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. (b) morfología microscópica de microconidios aislados a 100x

Rhizopus sp.: las colonias presentan un crecimiento rápido y cubren totalmente la superficie del agar con un crecimiento denso algodonoso que al principio es blanco y posteriormente se vuelve gris con la esporulación (Figura 11a). Microscópicamente desarrolla esporangióforos

y esporangios multiesporulados y globosos, las esporangiosporas son globosas a ovoides unicelulares hialinas (Figura 11b) (Pitt y Hocking., 2009).

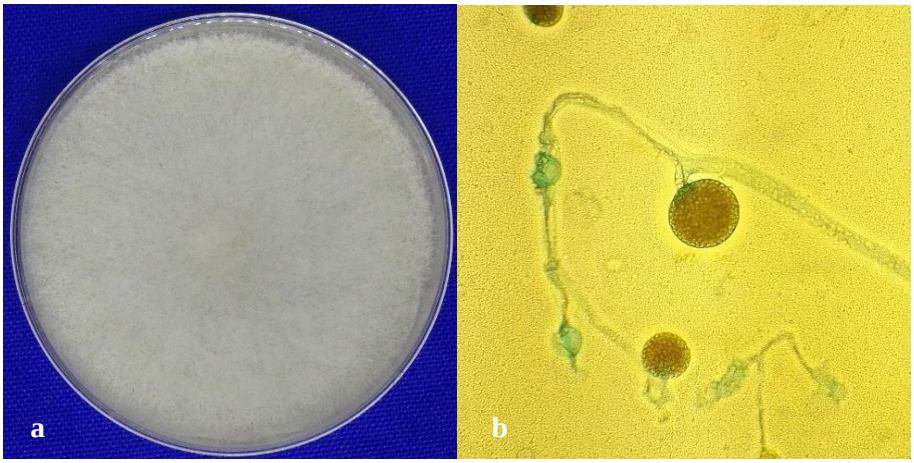


Figura 11. *Rhizopus* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscopia de esporangios esporulados a 100X.

14.1.5 Conteo de células viables en inoculantes bacterianos

Inoculantes bacterianos para cámara húmeda.

En el cultivo bacteriano del género *Serratia* que contenía a las bacterias BUAP-P1R, BUAP-P3S (*Serratia proteomaculans*) y BUAP-P5S (*Serratia grimessi*), se determinó que por mL de inoculante bacteriano contenía $1.4x10^{9}$ UFC mL^{-1}.

Mientras que para el cultivo bacteriano del género *Bacillus* que contenía a las bacterias M6MZ4, MEM1 (*Bacillus cereus*), M5EL3 (*Paenibacillus simplex*), se determinó que en un mL de inoculante bacteriano contenía $1.0x10^{7}$ UFC mL^{-1}.

Inoculantes bacterianos para siembra de semilla de sorgo y aplicación foliar

Para el cultivo bacteriano del Género *Serratia* con las cepas bacterias BUAP-P1R, BUAP-P3S (*Serratia proteomaculans*) y BUAP-P5S (*Serratia grimessi*), inoculado en las semillas para la siembra en campo se determinó que por mL de inoculante contenía $5.2x10^{9}$ UFC ml^{-}

[1]. Mientras que, aplicado de manera foliar en un mL de inoculante contenía $7.5x10^8$ UFC mL^{-1}.

El biofertilizante de la marca BiofertiBUAP contiene a las bacterias 1A, 2B (*Azospirillum brasilense*), aplicado en la siembra en campo se comprobó que en un mL contenía $4.8x10^8$ UFC mL^{-1}. Para el inoculo aplicado de manera foliar en un mL contenía $7.2x10^8$ UFC mL^{-1}.

Para el biofertilizante de la marca BiofosfoBUAP que contiene a las cepas BUAP-35 (*Chromobacterium violaceum*) y BUAP-40 (*Acinetobacter coalcoaceticus*), aplicado en la siembra en campo se observó que por cada ml de inoculante contenía $1.7x10^9$ UFC mL^{-1}. Para aplicación foliar, en un mL de inoculante contenía $2.0x10^9$ UFC mL^{-1}.

En los datos obtenidos de las unidades formadoras de colonias de los inoculantes bacterianos del género *Serratia* se observa que en los 3 inóculos para las respectivas evaluaciones tanto en laboratorio como en campo, se obtuvieron concentraciones de $1.4x10^9$ UFC mL^{-1} para su evaluación en cámara húmeda, mientras que para la aplicación en la siembra se inocularon $5.2x10^9$ UFC mL^{-1} y $7.5x10^8$ UFC mL^{-1} para la aplicación foliar en campo, por lo que las unidades formadoras de colonias inoculadas en semillas y en hojas de las planta de sorgo son suficientes para poder ejercer un control biológico, ya que las concentraciones requeridas para reducir las enfermedades fúngicas en las semillas y plantas es con concentraciones de $10^{7,}$ 10^8, 10^9 UFC mL^{-1} sin causar efectos adversos en los cultivos (Khoa *et al*. 2016).

Las unidades formadoras de colonias para el inoculo de *Bacillus* empleados en cámaras húmedas se obtuvo $1.0x10^7$ UFC $mL^{-}1$. Para los inóculos de *Bacillus* spp., se ha encontrado que es un buen agente de control biológico ante enfermedades fúngicas y se ha reportado que reduce la infección por *Fusarium graminearum* que provoca la pudrición del tallo, en las semillas de maíz, la concentración que logró disminuir la infección en semillas fue de 10^8 UFC mL^{-1} (Cheng *et al*., 2019), por lo que la concentración empleada en este estudio se encontraba ligeramente por debajo de la concentración recomendada.

El biofertilizante de la marca Biofertibuap contiene a las cepas de *A. brasilense* y en este estudio se obtuvo una concentración de $4.8x10^8$ UFC mL^{-1}del inoculo aplicado en la siembra y de $7.2x10^8$ UFC mL^{-1} aplicado de manera foliar, en los estudios realizados se ha encontrado que los biofertilizantes que contienen a *Azospirillum brasilense* ejercen un buen efecto en los

cultivos en concentraciones de 10^5 y 10^6 UFC mL^{-1}, pero que claramente depende de acuerdo con el cultivo en el que se aplique pues para el cultivo de maíz se requiere de una concentración de 10^7 UFC mL^{-1} y para el cultivo de tomate se requiere de una concentración de 10^8 UFC mL^{-1} y en concentraciones elevadas de 10^9 y 10^{10} UFC mL^{-1} pueden inhibir el efecto en los cultivos (Gonzáles *et al*. 2013), por lo tanto las concentraciones que se aplicaron a las semillas y plantas de sorgo en la fase de campo fueron suficientes para poder ejercer un efecto de biofertilización.

En el biofertilizante BiofosfoBuap se emplearon a las bacterias BUAP-35 (*Chromobacterium violaceum*) y BUAP-40 (*Acinetobacter calcoaceticus*) quienes tuvieron una concentración de $1.7x10^9$ UFC mL^{-1} para el inoculo aplicado en la siembra y una concentración de $2.0x10^9$ UFC mL^{-1}, en la bibliografía se reporta que para las cepas bacterianas empleadas en este biofertilizante deben contener una concentración de 10^9 UFC ml^{-1} (Hipólito *et al*., 2017), por lo que las unidades inoculadas se encuentra dentro de los limites reportados.

14.1.6. Análisis microbiológico del suelo de estudio

Conteo de Unidades formadoras de colonias del suelo de estudio

Se cuantificaron las poblaciones microbianas en unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (UFC g^{-1}) en distintos medios de cultivo, dónde se encontraron $125.5x10^2$ UFC de hongos, $244X10^4$ UFC de bacterias mesofílicas aeróbicas y $146X10^4$ UFC de actinomicetos (Cuadro 10). La determinación de bacterias mesofílicas aerobias, actinomicetos y hongos totales en el suelo se cuantifican como UFC g^{-1}, los intervalos comunes de los recuentos biológicos en suelo se encuentran dentro de 10^3-10^5 UFC g^{-1} para las bacterias mesofílicas aerobias, 10^1-10^2 UFC g^{-1} para hongos y para actinomicetos los rangos normales son 10^2-10^4 UFC g^{-1} (Gelvez *et al*., 2020). Por lo que los resultados obtenidos en el análisis microbiológico del suelo de estudio se encontraron en rangos normales, indicando así que el suelo tiene la capacidad para funcionar en los procesos de transformación.

Cuadro 10. Conteo de UFC de microorganismos por gramo de suelo

Medio de cultivo	UFC g-1 de suelo
PDA Hongos	$125.5X10^{2}$±19.09
TSA Bacterias mesofílicas aerobias	$244X10^{4}$±5.66
CZAPECK Actinomicetos	$146X10^{4}$±18.38

Promedio de dos repeticiones seguido de su desviación estándar

14.1.7. Inocuidad de las bacterias utilizadas como control biológico

El agar gelosa sangre es un medio de cultivo suplementado con sangre bovina que permite el crecimiento de microorganismos nutricionalmente exigentes además permite la visualización de hemólisis causada por los microorganismos.

Se evaluó la capacidad de las bacterias BUAP-P1R, BUAP-P3S (*Serratia proteomaculans*) y BUAP-P5S (*Serratia grimessi*) para hemolizar los eritrocitos. *E.coli* es capaz de producir una hemólisis total de los eritrocitos por la producción de hemolisinas. El resultado obtenido en el ensayo fue negativo para la producción de hemolisis por parte de las tres cepas bacterianas pertenecientes al género *Serratia*, mientras que la bacteria utilizada como de referencia *E. coli* dio un resultado positivo para la producción de hemolisis (Cuadro 11).

Se sabe que las bacterias del género S*erratia* pueden causar infecciones en ciertas circunstancias, la mayoría de las cepas son inocuas y no llegan a causar problemas en la salud de los humanos o de los animales. Las cepas bacterianas del género *Serratia* viven en el suelo, agua y las plantas, *Serratia grimessi* habita en el agua y suelo, su patogenicidad no ha sido reportada, pero se ha aislado de especímenes humanos, *Serratia proteamaculan*s se encuentra en agua, suelo, animales, insectos y plantas, produciendo patogenicidad principalmente a insectos y plantas (Mahlen., 2011). La cepa clínicamente relevante es *Serratia marcescens*, pero también se han descrito infecciones con otras especias de *Serratia* en las que se incluyen *S. rubidaea*, *S. liquefaciens, S. grimessi* y *S. proteamaculans,* ya que muestran tener la capacidad de penetrar las células eucariotas (Tsaplina *et al*., 2015). Aunque

las cepas de *S. grimessi* y *S. proteamaculans* sean capaces de producir infecciones, la infección por estas especies es baja, tan solo el 10% de las células cultivadas son invadidas por estas bacterias (Khaitlina *et al*., 2020), por lo que la presencia de bacterias del género *Serratia* en el ambiente no implica un riesgo para la salud, muchas de estas bacterias desempeñan funciones importantes en el ambiente además de que son consideradas Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) por los diferentes mecanismos que produce a que ayudan a las plantas ante su desarrollo y protección contra plagas y enfermedades.

Cuadro 11. Prueba de inocuidad de las bacterias utilizadas como agentes de control biológico en plantas de sorgo.

Bacteria	Efecto de Hemolisis
E. coli	+
BUAP-P1R	-
BUAP-P35	-
BUAP-P5S	-

Signo + produce hemolisis. Signo – no produce hemolisis, BUAP-P1R, BUAP-P35 (*Serratia proteomaculans*), BUAP-P5S (*Serratia grimessi*)

14.2. Fase de Campo

14.2.6. Metodología de muestreo

El muestreo de plantas de sorgo para la evaluación de los respectivos tratamientos aplicados se realizó en el municipio de Huaquechula, perteneciente al estado de Puebla. Se tomaron 3 plantas por cada repetición de los tratamientos, teniendo un total de 15 plantas por tratamiento. Las plantas se recolectaron de cada una de las parcelas tomando principalmente de los dos surcos centrales de la parcela, siendo el área de estudio dos metros lineales centrales de cada surco, se tomó la muestra con la ayuda de una pala y las plantas se colocaron en una maceta con suelo del área de estudio, para que posteriormente se realizara la evaluación de los tratamientos. La evaluación consistió en medir variables agronómicas como el grosor del tallo, altura de la planta, longitud de la panoja, área foliar de las plantas y el rendimiento.

Para la evaluación de la severidad se utilizaron la hoja número 3 y la hoja número 4 de la planta, en las que se les evaluó el porcentaje de daño foliar que tenían las hojas, esto se logró evaluar con la ayuda de la escala de Rust. También se tomó muestra del daño que existía en el tallo de las plantas ya que presentaban manchas de color rojizas (Figura 12).

Figura 12. Daño en los tallos de la planta de sorgo causado por hongos fitopatógenos.

Para las hojas que presentaban lesiones, se tomaron muestras del daño foliar que presentaban las hojas, el síntoma que presentaron fue la presencia de manchas pequeñas rojas, también se observaron manchas que iban en el sentido de las nervaduras, presentaban una coloración café claro en el centro y con un margen pardo rojizo como se observa en la Figura 13.

Figura 13. Daño foliar en hojas de sorgo causado por hongos fitopatógenos.

14.2.7. Evaluación de los tratamientos aplicados en campo

Al evaluar las variables agronómicas de la planta de sorgo como la altura de la planta, grosor del tallo, longitud de la panoja y área foliar, los resultados mostraron que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos aplicados.

En la altura de la planta la mayoría de los tratamientos mostraron ser estadísticamente significativos con respecto al tratamiento control, el tratamiento que presentó tener mayor altura en las plantas, fue el tratamiento que consistía en fertilización química al 100 % (80-40-00), mientras que el tratamiento con biofertilizante (BiofertiBUAP y BiofosfoBUAP) más fungicida químico (Clorotalonil) y el tratamiento de Control Biológico con bacterias del género *Serratia* mostraron tener efecto en la altura de la planta, siendo un dato estadísticamente significativo (Cuadro 12).

En la variable del grosor del tallo, los tratamientos mostraron tener efecto significativo con respecto al tratamiento control, el tratamiento que presentó un tallo más grueso fue el tratamiento con Fertilización Química al 100 %, mientras que el tratamiento de Control Biológico con bacterias del género *Serratia* más Fertilización Química al 50% y el tratamiento que consistió en la inoculación de bacterias de Control Biológico del género *Serratia* y Biofertilizantes (BiofertiBUAP yBiofosfoBUAP) manifestaron similitud en sus resultados pero ambos tratamientos fueron estadísticamente significativos con respecto al tratamiento control y se observó que los tratamientos que estuvieron inoculados con bacterias de Control Biologico y/o Biofertilizantes ayudan a mejor el grosor del tallo por lo que se mejora la absorción de nutrientes y agua (Cuadro 12).

Para la longitud de la panoja el mejor tratamiento fue el de Fertilización química al 100 %, mientras que el tratamiento de Control Biológico más Biofertilizante más Fungicida Químico y el tratamiento de Control Biológico más Fertilización Química al 50% más Fungicida Químico mostraron tener similitud en la longitud de la panoja, pero con respecto al tratamiento control se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa, así mismo se puede observar que el tratamiento con Biofertilizantes mostró una altura mayor de la panoja que el tratamiento control, así mismo se evidencia que los tratamientos con bacterias de Control Biológico y/o Biofertilizantes ayudan a incrementar la longitud de la panoja por lo que se tiene una mayor producción de granos y por ende mayor rendimiento (Cuadro 12).

El área foliar que presentaron las plantas ante los diferentes tratamientos se observa que el tratamiento con Biofertilizantes fue el que presentó tener una mayor área foliar, seguido del tratamiento con Bacterias de Control Biológico más Fungicida químico y el tratamiento con Biofertilizantes y Fungicida Químico, estos tratamientos fueron los que presentaron mejores resultados y ser estadísticamente significativos con respecto al tratamiento control, por lo que el efecto de las Bacterias de control Biológico y/o biofertilizantes ayudan a mejorar el área foliar, por lo que representa una mayor capacidad de realizar fotosíntesis y una mayor capacidad de nutrientes (Cuadro 12).

Se observa que en los resultados obtenidos de las variables agronómicas, el tratamiento con Fertilización Química al 100% presenta mejores resultados en la mayoría de las variables en comparación con el resto de los tratamientos pero también se demuestra que la aplicación de

biofertilizantes y bacterias de control biológico ayudan a tener resultados beneficios en las variables agronómicas evaluadas, reflejaron resultados semejantes a los de la fertilización química representado así ser una alternativa buena para el agricultor y para el ambiente pues se reducen los costos en producción y se disminuye la contaminación ambiental. El efecto que lograron tener las bacterias de biofertilizantes (*Azospirillum brasilense*, *Chromobacterium violaceum* y *Acinetobacter coalcoaceticus*)y las bacterias de control biológico (*Serratia grimessi, Serratia proteomaculans*), se debe a que tienen la capacidad para promover el crecimiento vegetal de las plantas por numerosos mecanismos como: fijación de nitrógeno atmosférico, producción de sustancias reguladoras del crecimiento, solubilización de minerales y nutrientes, un mejoramiento en el sistema radical, inducción de resistencia sistémica ante patógenos y la interacción sinérgica con otros microorganismos del suelo (Loredo *et al*., 2004). Algunas bacterias como *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Gluconacetobacter* spp., *Herbaspirillum* spp., tienen efecto de biofertilizantes y la Fijación de Nitrógeno en cultivos como Maíz, Arroz, Trigo, Sorgo y Caña de azúcar (Moreno *et al*., 2018). Martínez *et al*., (2018) realizó un estudio en cultivo de Maíz en Villaflores, Chiapas, México, teniendo como objetivo principal evaluar el efecto de dos biofertilizantes en la producción de maíz, solos y combinando empleando dos fórmulas de fertilización química, las especies de bacterias que evaluaron como biofertilizantes fueron *Azospirillum brasilense* y *Chromobacterium violaceum*, en su estudio evaluaron altura de la planta, altura de la mazorca y el rendimiento del cultivo, en su análisis estadístico realizado obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para la altura de la planta y la mazorca, los resultados indicaron que el mejor tratamiento para la altura de la planta se obtuvo con la fertilización química al 100%, seguido del tratamiento con *Azospirillum brasilense* con fertilización química al 50% y en tercer lugar *Azospirillum brasilense* con fertilización química al 100% y el tratamiento que registró menor altura fue el tratamiento testigo. En la variable de altura de la mazorca el mejor tratamiento fue de fertilización química al 100% seguida de la fertilización química al 50%, en lo que respecta a los biofertilizantes observaron que el mayor crecimiento de las plantas se dio con semillas que fueron inoculadas con *Azospirillum brasilense* y se adjudica a que esta bacteria tiene la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico y producir sustancias reguladoras del crecimiento vegetal beneficiando así el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Cuadro 12. Evaluación de variables agronómicas en plantas de sorgo.

Tratamiento	Altura de la planta (cm)	Grosor de Tallo (cm)	Longitud panoja (cm)	Área foliar (cm)
Control	109.31±4.68 de	0.82±0.04 e	14.49±0.76 f	0.09±0.01 e
Fertilización Química 100%	135.02±4.74 a	1.08±0.07 a	19.48±1.05 a	0.10±0.01 d
Fungicida Químico	111.37±2.54 d	0.92±0.03 d	16.15±0.65 de	0.09±0.01 de
Biofertilizante	118.63±4.98 c	0.97±0.10 bcd	18.11±1.02 abc	0.15±0.01 a
Biofertilizante + fungicida químico	126.23±3.26 b	0.91±0.10 de	17.04±1.16 bcd	0.12±0.02 c
Control biológico *Serratia*	124.86±3.10 b	0.93±0.09 cd	16.74±1.33 cd	0.10±0.01 de
Control biológico + biofertilizante	105.18±1.28 ef	1.01±0.07 abc	17.10±1.29 bcd	0.09±0.01 de
Control biológico + fertilización química 50%	103.89±6.11 f	1.06±0.09 ab	15.24±0.86 ef	0.10±0.01 de
Control biológico + fungicida químico	116.83±4.48 c	0.93±0.05 cd	17.23±1.47 bcd	0.13±0.01 b
Control biológico + biofertilizante + Fungicida Químico	118.41±3.76 c	0.92±0.05 d	18.42±0.92 ab	0.10±0.01 de
Control Biológico + Fertilización Química 50 % + fungicida químico	118.32±4.40 c	0.94±0.05 cd	18.19±1.09 ab	0.10±0.01 de

Los valores representan la media de cinco repeticiones seguida por su desviación estándar. Letras iguales de una serie no difieren, de acuerdo con la prueba de Tukey (P=0.05).

Rendimiento de grano

Para la variable del rendimiento de grano los resultados indican que todos los tratamientos superaron significativamente al tratamiento control, los tratamientos que mostraron tener un mayor rendimiento del grano fueron el tratamiento de Control Biológico más Biofertilizante más Fungicida Químico y el tratamiento con Bacterias de Control Biológico más Fertilización química al 50% más Fungicida químico ambos tratamientos mostraron tener similitud en sus resultados teniendo una producción de 3864 y 3984 kg ha^{-1} con un incremento de 324% y 337% respectivamente, en seguida de estos tratamientos el tratamiento de Biofertilizantes también tuvo un mayor incremento el rendimiento del cultivo con una producción de 3216 kg ha^{-1} y un incremento del 253%, los tratamientos con Bacterias de

Control Biológico más fertilización química al 50% y el tratamiento de Bacterias de Control Biológico más Biofertilizantes tuvieron una producción de 3024 y 2904 kg ha^{-1}, con un incremento de 232% y 218% siendo estos los tratamientos de mejor producción, el resto de los tratamientos también presentaron diferencia estadísticamente significativa con respecto al tratamiento control (Cuadro 13).

Los resultados obtenidos en el rendimiento del grano, tras la aplicación de los diferentes tratamientos se asemejan con el experimento realizado por Diaz y Treviño, (2013), dónde realizaron un estudio para conocer la efectividad de tres bioinoculantes comerciales en combinación con la mitad de la fertilización química evaluando características y producción de sorgo, uno de los biofertilizantes estudiados fue el de Biofertibuap-Sorghum el cual se combinó con el 50% de Fertilización química y los resultados que obtuvieron con este tratamiento fue de una producción de 6910 kg h^{-1} teniendo una producción más elevada que la de la fertilización química al 100% y que el testigo, en su estudió concluyeron que Biofertibuap-Sorghum en la semilla iguala o superan a la fertilización química al 100% en sus variables evaluadas. Rangel *et al*., (2014) usaron cepas de *Azospirillum brasilense* en la producción de maíz, sorgo y trigo en México, obteniendo en sus resultados que la inoculación con este tipo de bacterias tiene una respuesta benéfica para el cultivo de sorgo, ya que el rendimiento del grano fue mayor entre 55 y 49 % más que el testigo fertilizado, teniendo una afinidad entre el cultivo de sorgo y *Azospirillum*.

Los resultados logrados en este estudio evidencian que la aplicación de biofertilizantes y bacterias de control biológico ayudan a tener una mejor producción que con la aplicación de fertilizantes químicos al 100%, por lo que el empleo de biofertilizantes y bacterias de control biológico representa una nueva alternativa para mejorar la producción y disminuir los costos para el agricultor pues al reducir la fertilización química se daña menos el ambiente y la economía del agricultor.

Cuadro 13. Rendimiento del grano de sorgo con fertilización química, biofertilizantes y bacterias de control biológico

Tratamiento	Rendimiento ($kg\ h^{-1}$)	Incremento %
Control	912±65.73 f	---
Fertilización Química 100%	2784±343.63 c	205
Fungicida Químico	1512±136.82 e	66
Biofertilizante	3216±343.63 b	253
Biofertilizante + fungicida químico	2856±310.61 c	213
Control biológico *Serratia*	1296±286.50 e	42
Control biológico + biofertilizante	2904±100.40 bc	218
Control biológico + fertilización química 50%	3024±363.98 bc	232
Control biológico + fungicida químico	2160±254.56 d	137
Control biológico + biofertilizante + Fungicida Químico	3864±214.66 a	324
Control Biológico + Fertilización Química 50 % + fungicida químico	3984±427.64 a	337

Los valores representan la media de cinco repeticiones seguida por su desviación estándar. Letras iguales no representan diferencia estadística, de acuerdo con la prueba de Tukey (P=0.05).

14.2.8. Evaluación de severidad

Se evaluó la severidad en las plantas de sorgo en condiciones de campo con respecto a los diferentes tratamientos aplicados. Se encontró que el tratamiento que constaba de Biofertilizante (BiofertiBuap y BiofosfoBuap) más fungicida químico (Clorotalonil) fue el que presentó una menor porcentaje de severidad de las enfermedades fúngicas dicho tratamiento tuvo una severidad del 56.46% y la disminución del daño fue de un 27.77%, además de este tratamiento los tratamientos de Control biológico (Bacterias del género *Serratia*) y el tratamiento de Fungicida Químico (Clorotalonil) también mostraron una severidad del 62.49% y 62.91% y las disminución del daño fue de 20.18% y 19.64% respectivamente. Los tratamientos que contenían el Control Biológico con bacterias del género *Serratia* demostraron disminuir la severidad de las enfermedades fúngicas en las

plantas de sorgo, mientras que el tratamiento de Fertilización Química al 100% mostró tener un porcentaje de severidad del 70.83% y el tratamiento Control tuvo una severidad del 78.33%, siendo ambos tratamientos los porcentajes más altos en la severidad de las enfermedades fúngicas en plantas de sorgo (Cuadro 14). En los resultados obtenidos se observa que hubo una diferencia estadísticamente significativa, los datos arrojan una disminución de la infección foliar por hongos con respecto a los tratamientos con biofertilizantes y bacterias de control biológico, las cepas que funcionan como cepas de biofertilizantes también muestran tener la capacidad de tener actividad antifúngica por lo que las cepas utilizadas como biofertilizantes fueron *Azospirillum brasiliense* tiene diversos mecanismos en los cuales benefician a las plantas aumentando la masa de raíces y tallos y de esa manera ayudan a mejorar los rendimientos del grano, pero también produce mecanismos por los cuales se han propuesto como agentes de control biológico contra patógenos de las plantas. López *et al*., (2017) realizaron un estudio donde evaluaron cepas de *Azospirillum brasilence* aislados de plantas de teocintle y en su investigación hallaron que cepas de *A. brasilense* pueden ser una alternativa para disminuir el porcentaje de infección foliar por hongos fitopatógenos como *Alternaria*, *Bipolaris* y *Fusarium* además de que dichas cepas producen metabolitos bacterianos como sideróforos e indoles generando efectos benéficos para las plantas. Así mismo los tratamientos que contenían a las bacterias de Control Biológico del género *Serratia* mostraron disminuir la severidad de las enfermedades fúngicas en las plantas de sorgo por lo que los resultados se asemejan con los resultados obtenidos en el laboratorio, dónde las bacterias del género *Serratia* disminuyeron el crecimiento de hongos en el análisis de sanidad de las semillas.

Cuadro 14. Evaluación de la severidad de enfermedades fúngicas en plantas de sorgo en experimento de campo

Tratamiento	Severidad %	Disminución %
Control	78.33±3.73 a	0
Fertilización Química 100%	70.83±2.76 b	9.54
Fungicida Químico	62.92±1.82 d	19.64
Biofertilizante	65.83±2.77 cd	15.93
Biofertilizante + fungicida químico	56.46±2.08 e	27.77
Control biológico *Serratia*	62.50±1.44 d	20.18
Control biológico + biofertilizante	65.00±3.73 cd	16.99
Control biológico + fertilización química 50%	65.83±2.77 cd	15.93
Control biológico + fungicida químico	66.88±3.14 c	14.58
Control biológico + biofertilizante + Fungicida Químico	65.83±2.77 cd	15.93
Control Biológico + Fertilización Química 50 % + fungicida químico	65.00±1.67 cd	16.99

Los valores representan la media de cinco repeticiones seguida por su desviación estándar. Letras iguales de una serie no difieren, de acuerdo con la prueba de Tukey (P=0.05).

14.2.9. Aislamiento e identificación de hongos a partir de la planta de plantas de sorgo.

Se aislaron 9 hongos de los tallos de la planta de sorgo, de los cuales pertenecen a los géneros *Bipolaris* sp., *Fusarium* sp. (4 cepas) y tres hongos de los cuales no fueron identificados mediante la técnica de microcultivo. De las hojas de la planta de sorgo se aislaron cinco hongos de los cuales pertenecen al género, *Alternaria* sp., *Exserohilum* sp., *Fusarium* sp. y uno no identificado mediante la técnica de microcultivo.

14.2.10. Descripción macroscópica y microscópica de los hongos aislados de los tallos

Fusarium sp.: Presenta colonias filamentosas de color blanco inicialmente que posteriormente se observa una coloración rosa (Figura 14a). Microscópicamente presenta microconidios de forma elipsoidales aislados, presenta micelio hialino y septado (Figura 14b) (Tapia y Amaro, 2014).

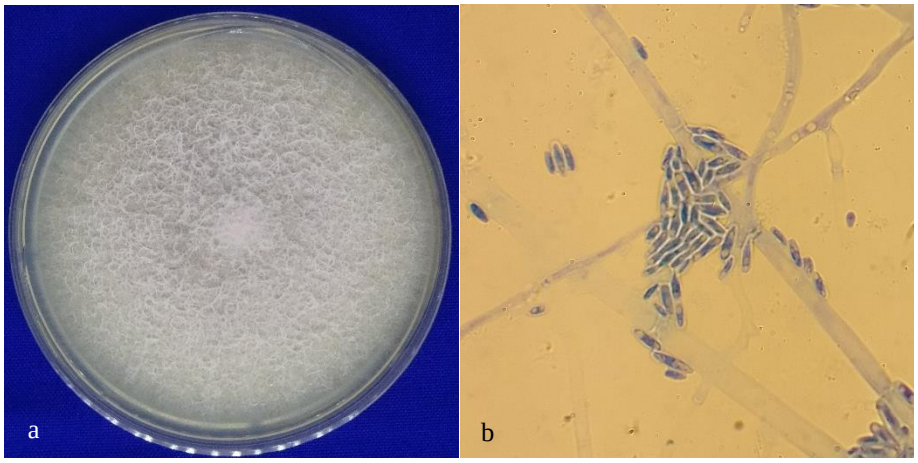


Figura 14. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscopica microconidios de forma elipsoidales aislados a 100X.

Fusarium sp: colonias de micelio denso blanco que posteriormente pasan a rosa, crecimiento con bordes irregulares (Figura 15a). Microscopicamente presenta macroconidios en forma de media luna hialinos y septados (Figura 15b) (Tapia y Amaro, 2014).

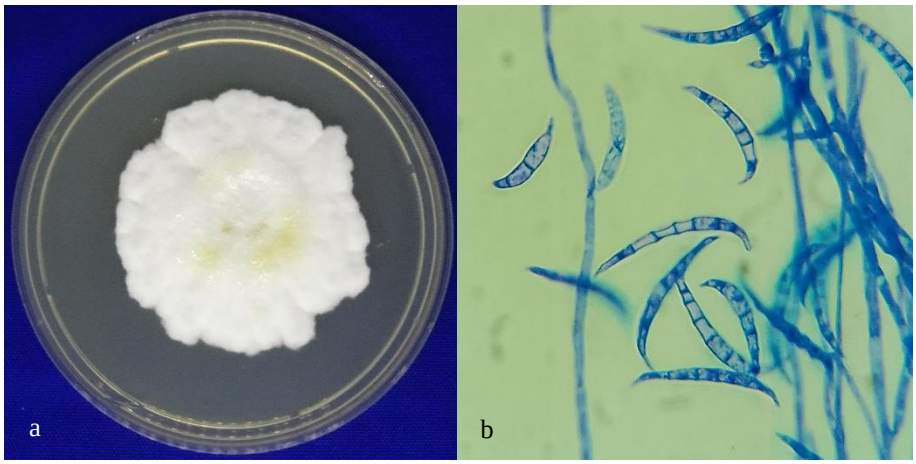


Figura 15. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscopica macroconidios agrupados a 100X.

Fusarium sp: las colonias presentan un crecimiento micelial denso con aspecto algodonoso y de color blanco (Figura 16a). Microscopicamente presenta macroconidios en forma de medialuna hialinos y septados (Figura 16b) (Tapia y Amaro, 2014).

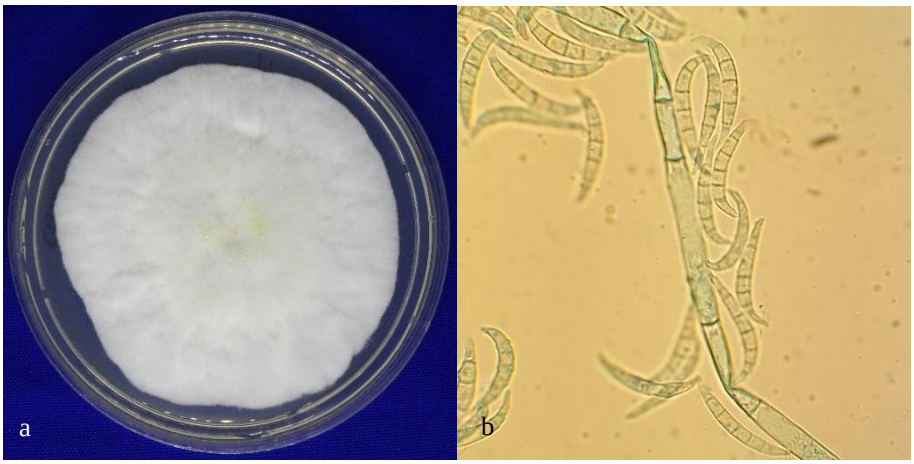


Figura 16. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscópica macroconidios en forma de medialuna a 100X.

Fusarium sp: Macroscopicamente presenta colonias algodonosas con coloración blanco-amarillo (Figura 17a). Microscópicamente desarrolla macroconidios en forma de medialuna y con septos con micelio hialino tabicado (Figura 17b) (Tapia y Amaro, 2014).

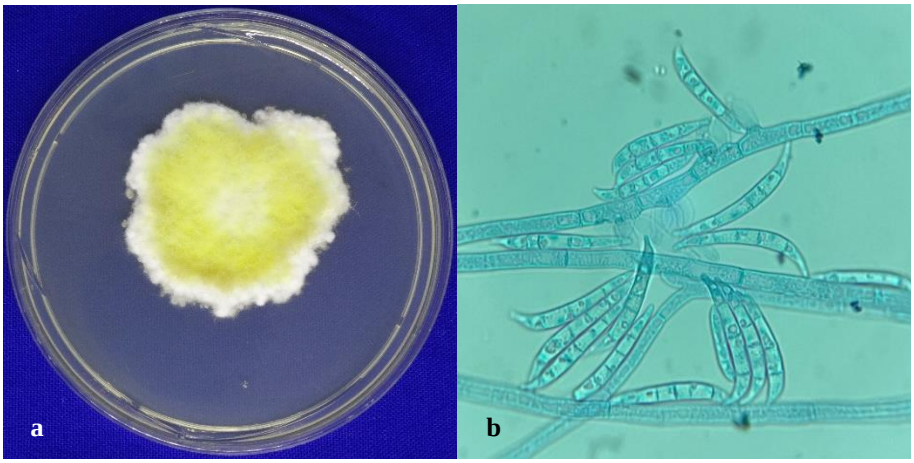


Figura 17. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscópica macroconidios en forma de medialuna a 100X.

Bipolaris sp.: macroscópicamente las colonias presentan una coloración verde olivo y de textura aterciopelada (Figura 18a). Microscópicamente presenta hifas de color café claro obscuro, los conidios presentan una coloración café obscuro y geniculados y forma curva (Figura 18b) (Manamgoda *et al*., 2014).

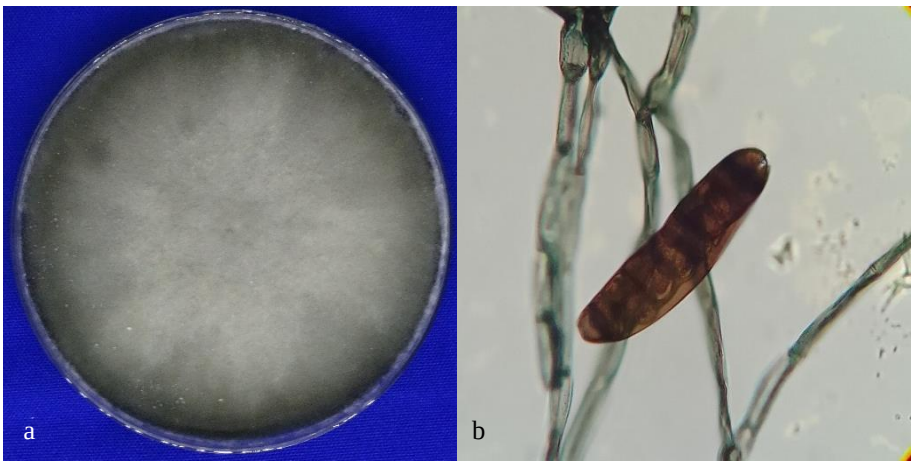


Figura 18. *Bipolaris* sp. a) Morfología colonial. b) morfología microscópica conidios geniculados a 100X.

Hongo no identificado 1: macroscópicamente presenta colonias blancas y en el centro una coloración roja con crecimiento micelial de tipo algodonoso (Figura 19b), microscópicamente presenta hifas hialinas sin septos (Figura 19b).

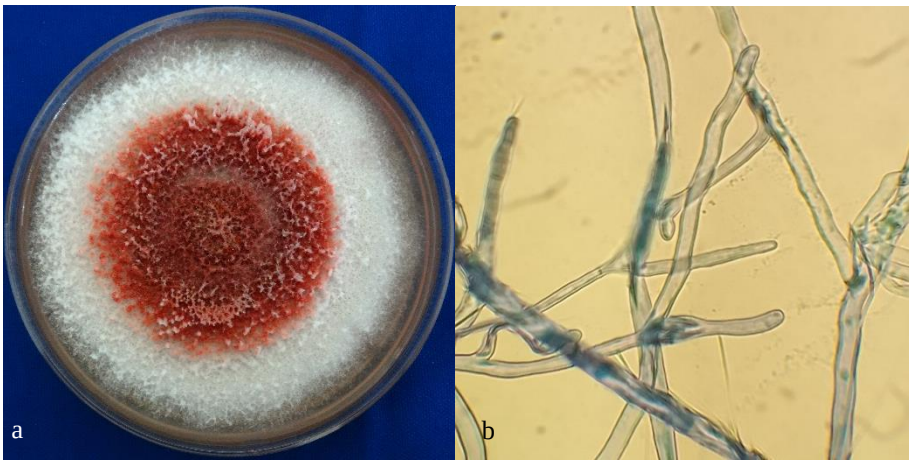


Figura 19. Hongo no identificado 1. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica, hifas hialinas no septadas a 100X.

Hongo no identificado 2: macroscópicamente presenta colonias de color blanco que posteriormente pasan a color crema, crecimiento micelial abundante con aspecto algodonoso (Figura 20a). Microscopicamente solo se observaron hifas hialinas y septadas (Figura 20b).

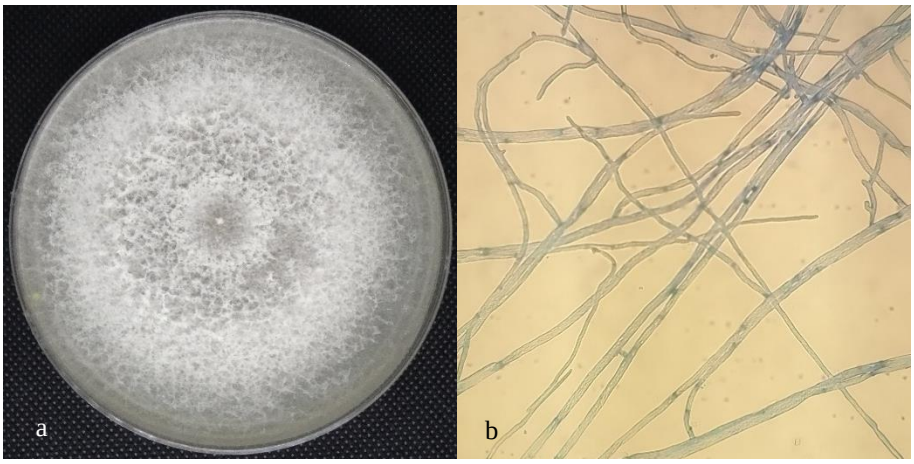


Figura 20. Hongo no identificado 2. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica, hifas septadas y hialinas a 100X.

Hongo no identificado 3: morfológicamente presenta crecimiento micelial abundante con aspecto algodonoso de color blanco (Figura 21a). Microscópicamente presento hifas hialinas y septadas (Figura 21b).

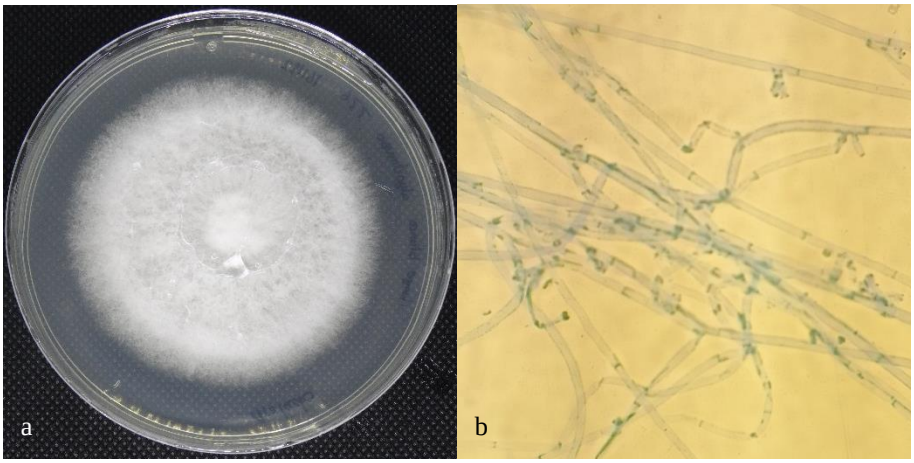


Figura 21. Hongo no identificado 3. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica, hifas septadas y hialinas a 100X.

De los hongos aislados en los tallos de la planta de sorgo se identificaron 5 hongos de los cuales uno corresponde al género *Bipolaris* sp., y cuatro hongos se identificaron con el género *Fusarium* sp., por su parte los hongos pertenecientes al género *Bipolaris* son patógenos que causan enfermedades en muchas plantas incluso en cultivos agrícolas de gran importancia a nivel mundial. Estos patógenos agreden a plantas que pertenecen a la familia de las gramíneas, provocando principalmente pérdidas económicas ya que daña la parte foliar de las plantas desarrollando manchas que reducen la actividad fotosintética de las plantas, dentro de las principales enfermedades causadas por los miembros de este género se encuentra el tizón del maíz causada por *Bipolaris maidys*, la mancha de arroz causada por *B. oryzae*, tizón de la hoja de trigo causado por *B. sorokiniana*, tizón de la victoria en el cultivo de avena causado por *B. victoriae* y mancha foliar del sorgo ocasionada por *B. sorghicola* (Singh *et a*l., 2021).

Se lograron aislar cuatro hongos que por las estructuras fúngicas desarrolladas correspondían al género *Fusarium*. Los hongos de este género provocan grandes consecuencias en la planta de sorgo ya que la planta es susceptible a infectarse con estos hongos patógenos en cualquier etapa de desarrollo, causando principalmente la podredumbre de la panícula, la pudrición de las raíces y del tallo en plantas adultas y en algunos casos la muerte de la planta (Gálvez *et al*., 2012). La presencia de hongos del género *Fusarium* en el tallo de las plantas causa

perdidas del cultivo de sorgo ya que la presencia de este género fúngico afecta principalmente al rendimiento del cultivo, de manera que el peso de la semilla se reduce significativamente ya que daña al tejido vascular de la planta dificultando así el transporte de agua y nutrientes esenciales para el desarrollo de la planta. Es así como Bandara *et al*., (2017) realizaron un estudio con el objetivo de evaluar los impactos de la pudrición del tallo por *Fusarium* y la pudrición carbónica en los componentes del rendimiento del grano de sorgo, los hongos patógenos que inocularon en las plantas fueron cuatro genotipos, tres hongos pertenecían al género *Fusarium* spp., de los cuales fueron *F. thapsinum*, *F. porliferatum*, *F. andiyazi* y un genotipo de *Macrophomina phaseolina*, dichos hongos fitopatógenos se inocularon en las etapas de periodo vegetativo y en la etapa de llenado de grano y encontraron que los hongos fitopatógenos inoculados disminuyeron significativamente el peso total de la semilla por panícula, observando una mayor reducción del rendimiento después de las inoculaciones en la etapa vegetativa así mismo se observó que en esta etapa se redujo significativamente el número total de sitios reproductivos por panícula indicando así que los patógenos que provocan la pudrición del tallo también cuentan con la capacidad de interferir de una manera indirecta o indirectamente en la formación de panículas afectando así el rendimiento del cultivo. Por lo tanto, la presencia de la enfermedad fúngica en las plantas de sorgo reduce el rendimiento del cultivo de una manera significativa y que el cultivo debe cuidarse cuando se somete a condiciones de estrés principalmente en la etapa previa a la floración, uno de los factores importantes es la sequía ya que predispone a las plantas a la infección natural por patógenos de la pudrición del tallo. Siendo otro factor importante a considerar ante la presencia de hongos fitopatógenos del género *Fusarium* es la calidad de los granos y el rastrojo que se genera posterior a la cosecha, debido a que varias de las especies del género *Fusarium* son productoras de micotoxinas que representan un riesgo para la salud de los consumidores debido a que se encuentran ampliamente distribuidas en suelo y plantas de zonas tropicales, Yassin *et al*., (2010) quien realizó un estudio sobre el aislamiento de hongos en granos de sorgo almacenados, logró aislar a hongos del género *Aspergillus*, *Penicillim*, *Rhizopus* y *Fusarium*, además identificó si los hongos producían algún tipo de micotoxina, aisló a las especies de *F. verticillioide* y *F. semitectum*, quien produce micotoxinas del tipo Fumonisina Zearalenona y Vomatoxina, *F. nygamai* produce Fumonisinas y Vomatoxina y *F. thapsinum* que no produjo ningún tipo de micotoxina.

14.2.11. Descripción macroscópica y microscópica de los hongos aislados de las hojas

Alternaria sp.: Desarrolla colonias de color gris con micelio denso de aspecto algodonoso (Figura 22a), microscópicamente presenta conidióforos oscuros de forma ovoidal y septados longitudinal y transversalmente, las hifas que presenta son septadas y coloración marrón obscuro (Figura 22b) (Rivas y Mühlhauser, 2014).

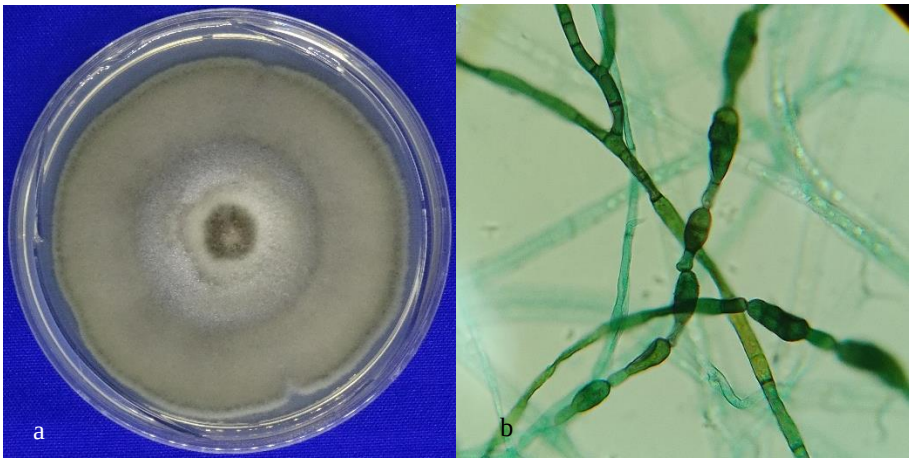


Figura 22. *Alternaria* sp. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica conidios de forma ovoide septados en cadena y de coloración marrón obscuro a 100X.

Alternaria sp.: las colonias desarrolladas presentan colonias de color verde oliva de aspecto algodonoso (Fig. 23a), microscópicamente desarrolla hifas septadas oscuras, los conidios desarrollados son de aspecto fusiforme y de color marrón obscuro (Fig. 23b) (Rivas y Mühlhauser, 2014).

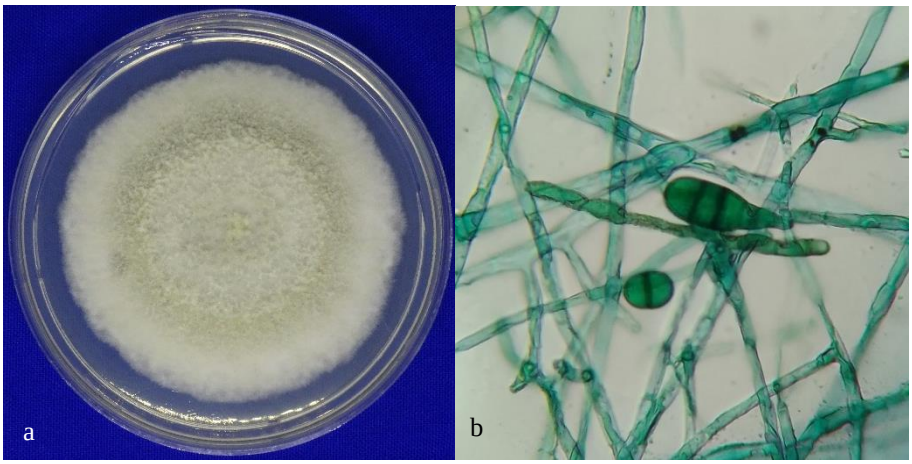


Figura 23. *Alternaria* sp. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica conidios de forma ovoide septados y de coloración marrón obscuro a 100X.

Exserohilum sp.: macroscópicamente presenta colonias con aspecto aterciopeladas de color marron negruzco, al reverso presenta una coloración verde olivaceo (Figura 24a). Micróscopicamente presenta hifas de color café y septadas, macroconidios son fusiformes y multiseptados (Figura 24b) (Cruz y Piontelli, 2020).

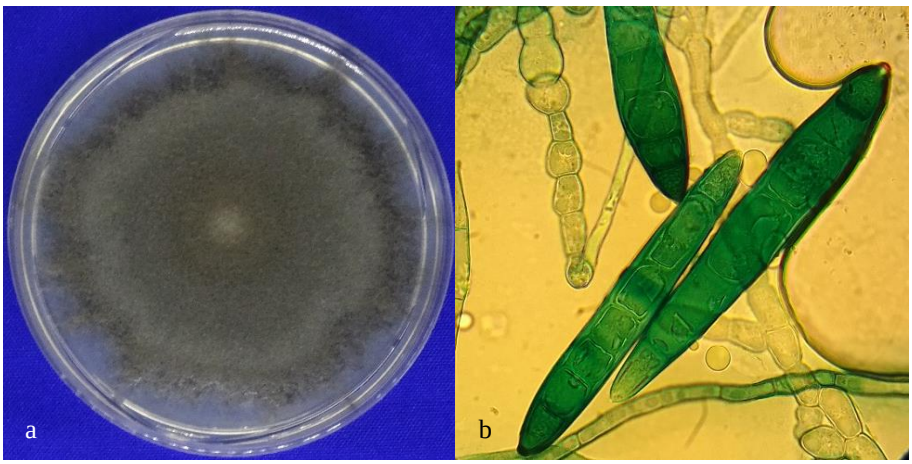


Figura 24. *Exserohilum* sp. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica macroconidios fusiformes a 100X

Fusarium sp.: Presenta colonias filamentosas de color blanco inicialmente que posteriormente se observa una coloración rosa (Figura 25a). Microscópicamente presenta microconidios de forma oval aglomerados y en cadena sobre monofiálides, presenta micelio hialino y septado (Figura 25b) (Tapia & Amaro, 2014).

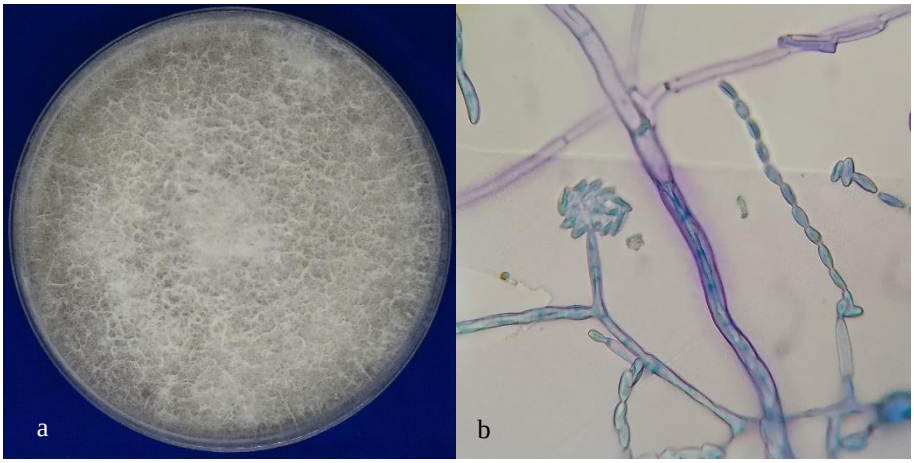


Figura 25. *Fusarium* sp. a) Morfología colonial. b) Morfología microscópica microconidios agrupados y en cadena sobre monofiálides a 100X.

Hongo no identificado 4: macroscópicamente presenta colonias blancas que con el tiempo pasa a una coloración rosa, desarrolla crecimiento micelial de tipo algodonoso (Figura 26a), microscópicamente presenta hifas hialinas septadas (Figura 26b).

Figura 26. Hongo no identificado 4. a) morfología colonial. b) Morfología microscópica hifas hialinas septadas a 100X.

Las plantas de sorgo son susceptibles a enfermedades foliares causadas por bacterias, virus y hongos, los daños ocasionados por estos microorganismos pueden ser bastantes severas, los hongos patógenos foliares atacan principalmente a las hojas de la planta durante el verano por medio de la propagación de esporas a través de las lluvias y el viento, pero la principal consecuencia de la presencia de enfermedades en el follaje es el daño en llenado del grano viéndose afectado el rendimiento del grano.

Los hongos aislados e identificados correspondieron a los géneros *Alternaria* sp., *Exserohilum* sp., *Fusarium* sp. y un hongo que no se pudo identificar ya que solo presentaba el crecimiento de hifas hialinas y septadas.

Los hongos del género *Alternaria* sp., son hongos fitopatógenos que afectan a diversas plantas debido a su gran distribución en el suelo, su presencia en el cultivo es más asociada a causar el deterioro postcosecha de los cultivos, en el cultivo se sorgo *Alternaria* sp., se ha aislado principalmente de los granos cosechados y que han sido almacenados, identificado principalmente *Alternaria alternata* (Broggi *et al*., 2007). Dentro de los efectos que provoca este hongo es la producción de micotoxinas que algunas de ellas pueden ser tóxicas para humanos y para animales, hasta ahora se ha encontrado que *Alternaria* sp., puede producir hasta 70 metabolitos, de los cuales las toxinas más frecuentes en los alimentos son Alternariol, Alternariol monometil éter, ácido tenuazónico y altertoxinas, causando efectos negativos en la salud de los animales y humanos como efectos mutagénicos, teratogénicos y fetotóxicos en animales (Tralamazza *et al*., 2018).

Exserohilum sp., es un hongo fitopatógeno de gran importancia para los cultivos de maíz y sorgo principalmente que causa el tizón de la hoja en el sorgo y el tizón de la hoja de maíz del norte, además es un patógeno por naturaleza para los cultivos de teosintle, paspalum y pasto Jonhson (Zhang *et al*., 2020), la presencia de este hongo afecta a la hoja de la planta reduciendo así la actividad fotosintética (Ogolla *et al*., 2019) y si la enfermedad ocurre antes de la emergencia de la panícula las perdidas en el rendimiento pueden ser afectadas. La presencia de *Exserohilum* en las hojas se evidencia con manchas pequeñas de color rojizo en una etapa temprana, que posteriormente pasan a ser manchas necróticas de color café claro y un margen de color rojizo alcanzando un largo de 2 a 5 cm o más, en casos severos las lesiones se pueden juntar y dar como resultado un follaje necrótico que se asemeja a un estrés

hídrico (Little y Perumal, 2019). La diversidad de *Exserohilum* se da en los climas subtropical o templado teniendo presencia en diversos países, se ha reportado el aislamiento de este patógeno en diferentes países como la India, donde ha sido aislado de plantas de maíz y en sorgo (Reddy *et al*., 2013), en Argentina y Brasil se ha encontrado en plantas de maíz (Navarro *et al*., 2021), en México *Exserohilum turcicum* ha sido analizado principalmente en planta de maíz (Félix *et al*., 2018). *Exserohilum* puede causar pérdidas importantes en cuanto al rendimiento del cultivo, las reducciones debidas por este patógeno pueden ser significativas de acuerdo con la gravedad de la enfermedad, el momento de la infección, la susceptibilidad de la planta (Ogolla *et al*., 2019) y las condiciones ambientales óptimas que le permitan el desarrollo de la enfermedad (Haasbroek *et al*., 2014).

Fusarim sp., es un género de hongo que comprende un gran número de especies, la importancia de este género es por la afectación que hacen a las plantas debido a que son hongos fitopatógenos y causan perdidas en los cultivos principalmente económicas, la presencia de *Fusarium* en las hojas del cultivo de sorgo se asocia principalmente a la enfermedad de Pokka Boeng es una enfermedad que se conoce como punta torcida, que daña a los cultivos de caña y sorgo (Das *et al*., 2019). El agente causal de esta enfermedad en el cultivo de sorgo es por *Fusarium subglutinans* y para el cultivo de caña se le atribuyen *F. proliferatum*, *F. sacchari Nirenberg* y *F. verticoloides* (Little y Perumal, 2019). Esta enfermedad ocasiona daños en la planta con la aparición de manchas cloróticas hacia la base de las hojas jóvenes y en casos severos puede causar una distorsión del tallo con corte tanto internos como externos en forma de lesiones, además puede ocasionar la pudrición del tallo (Vishwakarma *et al*., 2013), la presencia de esta enfermedad causa daños en la planta y hace que se vea afectado el rendimiento del cultivo ya que al dañar a la planta se impide el transporte de nutrientes y agua que requiere la planta.

15. CONCLUSIONES

1. Se determinó mediante pruebas de antagonismo que las bacterias empleadas en los ensayos de control biológico presentaban compatibilidad entre ellas.
2. Se valoró la sanidad y germinación de las semillas de sorgo del híbrido Asgrow-Ámbar, conociendo que la semilla germinó con valores superiores al 85% en los diferentes tratamientos aplicados, así mismo se observó que la semilla mostró contaminación con hongos.
3. Se aislaron e identificaron hongos fitopatógenos en las semillas de sorgo que correspondieron a los géneros *Alternaria* sp., *Fusarium* sp. y *Rhizopus* sp.; en los tallos se identificaron los hongos pertenecientes a los géneros *Bipolaris* sp. y *Fusarium* sp., y en las hojas se identificaron los hongos del género *Alternaria* sp., *Exserohilum* sp., y *Fusarium* sp.
4. Se comparó el impacto de los diferentes tratamientos en las variables agronómicas como grosor del tallo, altura de la planta, altura de la panoja, área foliar y rendimiento del grano en el cultivo de sorgo, demostrando que la biofertilización junto con las bacterias de control biológico influyen en los parámetros evaluados de manera positiva, lo que representa una alternativa para reducir el empleo de fertilizantes químicos.
5. Se logró evaluar el efecto de las bacterias PGPR en el cultivo de sorgo para el control de enfermedades fúngicas tanto en las plantas como en la semilla de sorgo. Además, se demostró que las bacterias del género *Serratia* ayudan a disminuir la severidad de las enfermedades fúngicas en las plantas de sorgo.

16. BIBLIOGRAFÍA

Adimpong, D. B., Nielsen, D. S., Sorensen, K. I., Derkx, P. M. & Jespersen, L. (2012). Genotypic characterization and safety assessment of lactic acid bacteria from indigenous African fermented food products. *BMC Microbiology*, 12(1), 1-2.

Aguilar Flores, I., E., Espinosa Victoria, D., Carcaño Montiel, M. & Rodriguez Mendoza, M.D.L.N. (2021). Desarrollo y Producción de la col (*Brassica oleracea* var. Royal vantage) bajo diferentes presiones osmóticas y biofertilizada con consorcios microbianos. Terra Latinoamérica, 39(11). 1-3.

Alijani, Z., Amini, J., Ashengroph, M., & Bahrampejad, B. (2022). Antifungical activity of *Serratia rubidaea* Mar61-01 purified prodigiosin against *Colletotrichum nymphaeae*, the causal agent of strawberry antracnose. *Revista regulación del crecimiento vegetal*. 4(2), 585-595. https://doi.org/10.1007/s00344-021-10323-4.

Astoreca, A.L, Emateguy, L.G & Alconada, T.M (2019). Fungal contamination and mycotoxins associated with sorghum crop: its relevance today. *European Journal of Plant Pathology*, 155 (2), 381-392.

Bandara, Y.M.A.Y, Weerasooriya, D.K, Tesso, T.T, Prasad, P.V.V & Little, C.R (2017). Stalk rot fungi affect grain sorghum yield components in an inoculation stage-specific manner. *Crop Protection*, 94, 97-105. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.12.018

Basit, A., Shah, S.T, Mantha, S.T & Mohamed H.I. (2021). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Bicontrol Agent for Viral Protección. En: Mohamed, H.I., El-Beltagi, H.ED.S., Abd-Elsam, K.A. (eds) *Plant Growth-Promoting Microbes for Sustainable Biotig and Abiotic Stress Management*. (págs. 187-225). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66587-6_8.

Broggi, L.E, González, H.H.L, Resnik, S.L, & Pacin, A. (2007). *Alternaria alternata* prevalence in cereal grains and soybean sedes from Entre Ríos Argentina. *Revista iberoamericana de micología*, 24 (1), 47.

Carlson, R., Tugizimana, F., Steenkamp, PA, Dubery, IA, Hassen, AI & Labuschagne, N. (2020). Rhizobacteria-induced systemic tolerance against drought stress in Sorghum bicolor (L.) Moench. *Microbiological research*, 232, 126388.

Carrasco, N., Zamora, M. S., & Melin, A. (2011). Manual de sorgo (No. 633.174). *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Argentina).*

Cassán, F., Coniglio, G., López, G., Molina, R., Nievas, S., Carlan, C.L.N., Donadio, F., Torres, D., Rosas, S., Olivera, P.F., Souza, M., Díaz, Z.M., Bashan, L., & Mora, V. (2020). Everthing you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. *Biology and Fertility of Soils*, 45, 461-479. https://doi.org/10.1007/s00374-020-01463-y

Chandrashekar, A., & Satyanarayana, K.V. (2006). Disease and pest resistance in grains of sorghum and millets. *Journal of Cereal Science*, 44(3), 287-304. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.08.010

Chaudary, P., Parveen, H., Gangola, S., Kumary, G., Bhalt, P., & Chaudary, A. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria and their application in sustainable crop production. En: Bhatt, P., Gangola, S., Udayanga, D., Kumar, G. (eds) *Microbial Technology for sustaainable environment*. (217-234), Springer, Singapur. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3840-4_13

Cheng, X., Ji, X., Ge, Y., Li, J., Qi, W., & Qiao, K. (2019). Characterization of Antagonistic *Bacillus methylotrophicus* Isolated From Rhizosphere and Its Biocontrol Effects on Maize Stalk Rot. *Phytopathology*, 109(4), 571-581.

Chiang, K.S., & Bock, C.H. (2021). Understanding the ramifications of quantitative ordinal scales on accuracy of stimates of disease severity and data analysis in plant pathology. *Tropical Plant Pathology*, 47, 58-73. https://doi.org(10.1007/s40858-021-00446-0

Chuck- Hérnandez, C., Pérez-Carrillo, E., Heredia- Olea, E., Serna-Saldivar, S.O. (2011). Sorgo como un cultivo multifacético para la producción de bioetanol en México: tecnologías, avances y áreas de oportunidad. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10(3), 529-549.

Colazo, J.C., & Garay, J. (2012). Fenología y Fisiología del cultivo de sorgo. En: Colazo, J.C., Garay, J.A., Veneciano, J.H, (eds) El cultivo de sorgo en San Luis. *Instituto Nacional de tecnología Agropecuaria*.

Cruz-Choappa, R. & Piontelli, E. (2020). *Exserohilum rostratum* (Drechsler) Leonard y Suggs. *Revista chilena de infectología*, 37 (1), 45-46.

Das, I.K., Kumar, S., Kannababu, N., & Tonapi V.A. (2019). Pokkah boeng resistance in popular rabi sorghum cultivars and effects of the disease on leaf chlorophyll. *Indian Phytopathology*, 72, 421–426. https://doi.org/10.1007/s42360-019-00146-5

Dey, R., Pal, k.k & Tilak, K.V.B.R. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria in crop protection and challenges. En: Goyal, A., Manoharachary, C. (eds) *Future challenges in crop protection againt fungal pathogens*. (págs. 31-58). Fungal Biology. Springer, Nueva York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1188-2_2.

Díaz, F.A. & Treviño, Q. C. (2013). Efectividad de bioinoculantes comerciales y fertilización química reducida en características de planta y productividad de sorgo. *Revista Biológico Agropecuario Tuxpan*, 1(2), 43-47. https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v1i2.226

Félix-Castélum, R., Lizárraga-Sanchez, G.J, Maldonado-Mendoza, I.E., Leyva-Madrigal, K.Y., Herrera-Rodríguez, G., & Espinoza-Matías, S. (2018). Confirmación de la identidad de *Exserohilum turcicum*, agente causal del tizón foliar del maíz en Sinaloa. *Revista Mexicana de Patología*, 36(3), 468-478.

Figueiredo, M. D.V.B., Bonifacio, A. Rodrigues, AC & Araujo, FFD. (2016). Plant growth promoting rhizobacteria: key mechanisms of action. En Choudhary, D., Varma, A. (eds) *Microbial mediated indaced systemic resistance in plants*. 23-37. Springer, Singapur. https://doi.org/10.1007/978-981-10-0388-2_3.

Gálvez, L., Paris, M., Cordes, G., Iglesias, C., & Palmero P. (2012). La podredumbre del cuello de sorgo causado por *Fusarium verticillioides*. *Terralia*, 87.

García Aguirre, G & Flores, R.M. (1991). Análisis micológico de granos de sorgo dulce. *Scientia Fungorum* (7), 129-138.

García de Salamone, I., E. (2011). Microorganismos del suelo y sustentabilidad de los agroecosistemas. *Revista Argentina de Microbiología*, 1-3.

Gelvez Pardo, I. M., Moreno Rodríguez, J. M., & Santos Díaz, A. M. (2020). Guía de muestreo de suelo para análisis microbiológico. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria agrosavia. https://doi.org/10.21930/agrosavia.nbook.7404098

Gómez Martínez, J. C. (2018). *Biodisponibilidad del fósforo edáfico a través de bacterias solubilizadoras de fosfatos en cultivo mixto maíz (Zea mays L.)- HABA (Vicia faba L.)* [Tesis de Maestria, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla].

González, G. G., Campos, E. T., Maciel, O. N., Pérez, J. S. B., & Silva, M. L. R. (2013). Efecto de *Azospirillum brasilense* y fertilización química sobre el crecimiento, desarrollo, rendimiento y calidad de fruto de fresa (*Fragaria* x *ananassa* Duch). *Interciencia*, 38(10), 737-744.

Gutiérrez-Flores, L.M., López-Reyes, L., Mauricio-Guiérrez, A., Carcaño-Montiel, M., Portillo-Manzano, E., & Gómez-Velazquez, L. (2023). Potential use of bacterial strain in the genus *Serratia* to biocontrol fungal pathogens associated with defoliation on *Pinus patula. Biocontrol Science and Technology*, 1-14. https://doi.org/10.1080/09583157.2023.2210276

Haasbroek, M.P., Craven, M., Barnes, I. & Cramton B. G. (2014). Microsatellite and mating type primers for the maize and sorghum pathogen, *Exserohilum turcicum*. *Australasian Plant Pathol*. 43, 577–581. https://doi.org/10.1007/s13313-014-0289-4

Hariprasanna, K. & Patil., J.V. (2015). *Sorghum*: origin, classification, biology and improvement. En Madhusudhana, R., Rajendrakumar, P., Patil, J. (eds) Sorghum Molecular Breeding. Springer, New Delhi. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2422-8_1.

Hipólito-Romero, E., Carcaño-Montiel, M.G., Ramos-Prado, J.M., Vázquez-Cabañas, E.A., López-Reyes, L., & Ricaño-Rodríguez, J. (2017). Efecto de inoculantes edáficos mixtos en el desarrollo temprano de cultivares mejorados de cacao (*Theobroma cacao*

L.) en un sistema agroforestal tradicional del norte de Oaxaca, México. *Revista Argentina de Microbiología*, 49(4), 356-365.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2015). Anuario estadístico y geográfico de Puebla.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2019). Encuesta Nacional Agropecuaria.

Instituto Nacional de estadística y Geografía (INEGI). (2023). Mapas, Estado de Puebla.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2010). Cartas de división política y carta de municipios.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). (1997). Guía para la asistencia técnica agrícola en el área de Influencia del campo experimental Tecamachalco. 172-176.

Kang, S.M., Khan, A.l., Hamayun, M., Shinwari, Z.K., Kim, Y.H., Joo, G.J., & Lee, I. J. (2012). *Acinetobacter calcoaceticus* ameliorated plant growth and influenced giberillins and functional biochemicals. *Pak. J. Bot*, 44(1). 365-372.

Khaitlina, S., Bozhokina, E., & Tsaplina, O. (2020). Bacterial Actin-specific Endoproteases Grimelysin and Proteolysin as Virulence Factors Contributing to the Invasive Activities of *Serratia*. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11),4025.

Khoa, N. Đ., Giàu, N. Đ. N. & Tuấn, T.Q. (2016). Effects of *Serratia* nematodiphilia CT-78 on raice bacterial leaf blight caused by xanthomonas oryzar pv. Oryzae. *Biological Control*, 103, 1-10. https://doi.org/10.16/j.biocontrol.2016.07010

Ksheri, L. Naseem, F. & Pandey, P. (2019). Role of *Serratia* as Biocontrol Agent an Plant Growth Simulator, with Prospects of Biotic Stress Management in Plant. En: Sayed, R. (eds) *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Stess Management. Microorganisms for sustainability*, 13, (169-200). Springer, Singapure. https://doi.org/10.1007/978-981-13-6986-5_6

Lim, T., K. (2013). *Sorghum bicolor*. En *editable medicinal and non-medicinal plants*: 5 (359-384). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5653-3_19.

Little, C.R., Perumal, R., Tesso, T., Prom, L.K., Odvody, G.N, & Magill, C.W. (2012). *Sorghum* Pathology and Biotechnology-A Fungal Disease Perspective: Part 1. Grain Mold, Head Smut and Ergot. *European Journal of plant Science and Biotechnology*, 6(1), 10-30.

Little, R.C. & Perumal, R. (2019). The Biology and Control of *Sorghum* Diseases. En. Ciampitti, I.A & Vara, P. P.V, *Sorghum: A State of the Art and Future Perspective*, 58, 297-346. https://doi.org/10.2134/agronmonogr58.c14

López, R.L., Carcaño, M.M.G., Tapia, L.L., Medina, R.G., & Tapia, H.R.A. (2017). Actividad Anti fúngica y Promotora del Crecimiento de **Azospirillum brasilense** en *Zea mays* L. ssp. mexicana. *Archivos de Fitopatología y Protección Vegetal*. https://doi.org/10.1080/03235408.2017.1372247

Loredo-Osti, C., López-Reyes, L., & Espinoza-Victoria, D. (2004). Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal Asociadas con Gramíneas. Una revisión. *Terra Latinoamericana*, 22(2), 225-239.

Mahlen, S.D. (2011). Serratia Infections: from Military Experiments to current Paractice. American Society for Microbiology, 24(4), 755-791. https://doi.org/10.1128/cmr.00017-11

Manamgoda, D.S, Rossman, A.Y, Castlebury, L.A, Crous, P.W, Madrid, H., Chukeatirote, E. & Hyde, K.D (2014). The genus bipolaris. *Studies in Mycology*, 79 (1), 221-288. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.10.002

Martínez, R. L., Aguilar, J. C., Carcaño, M. M. G., Galdamez, G. J., Gutierrez, M. A., Morales, C. J. A., Martinez, A. F. B., Llaven, M. J., Gómez, P. E. (2018). Biofertilización y Fertilización Química en Maíz (*Zea mays*) en Villa Flores, Chiapas, México. *Siembra*, 5(1), 26-37.

Mathur, K., Thakur, R. P. & Reddy, B.V. (2007). Leaf Blight. En: Thakur, R. P., Reddy, B. V. & Mathur, K. (eds). *Screening techniques for sorghum diseases. Information:*

Bulletin No. 76. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 24-30.

Mohammed, K., Gure, A., & Zuberi, M.I. (2015). Problems of Seed-borne Fungal Diseases Affecting Sorghum Grain (Sorghum bicolor, L.Moench). in Two Districts of Orumina Ethiopia. International Journal of Biosciences, 7(5). 66-67.

Molina-Romero, D., Baez, A., Quintero-Hernández, V., Castañeda-Lucio, M., Fuentes-Ramírez, L.E., Bustillos-Cristales, M.R., Rodríguez-Andrade, O., Morales-García, Y.E., Munive, A., & Muños-Rojas, J. (2017). Compatible bacterial mixture, tolerant to desiccation, improves maize plant growth. *Plos One*. 12(11), 1-21. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187913

Moreno, R.A., Mendoza, C., Reyes Carrillo, L.J., Vásquez Arrollo, J. & Cano Ríos, P. (2018). Rhizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10(1), 68-33.

Naqvi, S.D.V., Shiden, T., Merhawi, W. & Mehret, S. (2013). Identification of seed borne fungi on farmer saved sorghum (*Sorghum bicolor* L.), pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) and groundnut (*Arachis hypogaea* L.) seeds. Agricultural Science Research Journals, 3(4), 107-114.

Navarro, B.L., Ramos-Romero, L., Kistner, M.B., Iglesias, J., & Tiedemann, A. (2021). Assesment of physiological races of *Exserohilum turcicum* isolated from maize in Argentina and Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 46, 371-380. https://doi.org/10.1007/s40858-020-00417-x

Nuñez, N.L.G. (2020). Entre lo inesperado y lo imprevisto: la sequía y los proyectos de mejoramiento de maíz y sorgo en el bajío 1943-1970. *Historia Mexicana*, 7(1(277)), 207-258. https://www.jstor.org/stable/27002136

Ogolla, F., Muraya, MM y Onyango, B. (2019). Variation in Temperatura and Nutrient Source Influence the Growth of *Exserohilum turcicum* Mycelia Isolated from Sorghum. *Journal of Scientific and Engineering Research*, 6 (2), 93-99.

Osorio Vega, N.W., (2009). Microorganismos del suelo y su efecto sobre la disponibilidad y absorción de nutrientes para las plantas. En sociedad colombiana de la ciencia de los suelos & Centro Nacional de Investigación del Café (eds), *Materia orgánica de biología del suelo y productividad agrícola: segundo seminario regional comité regional eje cafetero*, 43-71. https://doi.org/10.38141/10791/0003_3

Parani, K., Shetty, G.P., & Saha, B.K. (2011). Isolation of *Serratia marcescens* SR1 as a source of chitinase having potentiality of using as a biocontrol agent. *Indian journal of microbiology*, 51(3), 247-250. https://doi.org/10.10007/s12088-011-0065-x

Pedraza, R.O. Teixeira, K.R., Scavino, A.F., de Salamone, I.G., Baca, B.E., Azcón, R., Baldani, V.L. & Bonilla, R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revisión. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 11(2), 155-164.

Pérez, A., Saucedo, O., Iglesias, J., Wencomo, H.B., Reyes, F., Oquendo, G., & Milián, I. (2010). Caracterización y potencialidades del grano de sorgo (*Sorghum bicolor* L.Moench). *Pastos y Forrajes*, 33(1), 1-26. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269119691001

Pitt, J.I & Hocking, A.D (2009). Zygomicetes. En: *Fungi and Food spoilage*, (145-167). Nueva York: Springer.

Prabhakar., Madhusudhana, R., Aruna, C. (2022). *Sorghum* breeding. En: Yadava, D,K., Dikshit, H, K., Mishra, G, P.,& Tripathi, S. (eds) *Fundamentals of field crop breeding*, (367-447). Springer, Singapure. https://doi.org/10.1007/978-981-16-9257-4_7.

Rangel Lucio, J. A., Ramírez Gama, R.M., Cervantes Ortiz, F, Mendoza Ellos, M., Garcia, Moya, E., & Rivera Ryes, G. (2014). Biofertilización de *Azospirrillum* spp. y rendimiento de grano de Maíz, sorgo y trigo. *Revista de la facultad de ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 46(2), 231-238.

Reddy, P. P. (2012). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). En *Recent Advances in crop protection*, (131-158). Springer, Nueva Delhi. https://doi.org/10.1007/978-81-322-0723-8_10.

Reddy, P. P. (2014). Importance of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. En *Plant growth promoting rhizobacteria for horticultural crop protection*, 10, (3-13). New Delhi, India: Springer India.

Reddy, T.R, Reddy, P.N & Reddy, R.R. (2013). Pathogenic variability of isolated of *Exserohilum turcicum*, Incitant of leaf Blight of Maize. *Indian Journal of Plant Protection*, 40(1), 72-75

Reyes, I., Alvarez, L., El-Ayoubi, H., & Valery, A. (2008). Selección y Evaluación de rhizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. *Bioagro*, 20(1), 37-48.

Rivas, L.M & Mühlhauser, M. (2014). *Alternaria* spp. *Revista chilena de infectología*. 31(5), 605-606.

Sanz, S. C. (1997). Prácticas de Microbiología. Universidad de la Rioja.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2020). Producción Agrícola. SIAP.

Sharma, I., Kumari, N. & Sharma, V. (2015). Sorghum Fungal Disease. En: lichtfouse, E., Goyal, A. (eds). *Sustainable Agriculture Reviews*, volumen 16. Springer, Cham. https://doi.org/10.10071978-3-319-16988-0.7

Sharma, R., Thakur, R..P., Senthilvel, S. et al.(2011). Identification and Characterization of Toxigenic Fusaria Associated with Sorghum Grain Mold Complex in India. *Mycopathologia* 171, 223–230. https://doi.org/10.1007/s11046-010-9354-x

Sharma, V., Kaur, J., & Sharma, S. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria: potential for sustainable agriculture. *Biotecnología vegetal*, 20(3), 157-166.

Singh, S., Sharma, S., Ali, A., Kandan, A., Kumar, P., & Akhtar, J. (2021). Morpho-molecular Characterization of *Bipolaris* y *Exserohilum* spp. Infection varius agricultural crops. *Int J Agric Appl Sci*, 2, 110-117.

Soenens, A, e Imperial, J. (2020). Biocontrol capabilitis of the genus *Serratia*. Revisión Fitoquimica, 19(3), 577-587. https://doi.org/10.1007/s11101-019-09657-5.

Someya, N., Nakajima, M., Hirayea, K., Hibi, T., & Akatsu, K. (2001). Synergistic Antifungal Activity of Chitinolytic Enzymes and Prodigiosin Produced by Biocontrol Bacterium, *Serratia marcescens* Strain B2 against Gray Mold Pathogen, *Botrytis cinerea*. *Diario de patología General de Planta*, 67(4), 312-317.

Suárez, E.J.J. (1984). *Características agronómicas del sorgo (Sorghum bicolor* L.Moench*) que determinan resistencia, susceptibilidad a mohos del grano en la costa de Nayarit* [Tesis para obtener el título de Ingeniero agrónomo especialidad en Fitotecnia, Universidad de Guadalajara].

Tapia, C. & Amaro, J. (2014). Género Fusarium. *Revista chilena de infectología*, 3(1), 85-86.

Tariq, M., Khan, A., Asif, M., Khan, F., Ansari, T., Shariq, M., & Siddiqui, M.A. (2020). Biological control: a sustainable and practical approach for plant disease management. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B- Soil and Plant Science, 70(6), (Pág. 507-524). https://doi.org/10.1080/09064710.2020.1784262.

Thakur, R. P, Reddy, B. V. & Mathur, K. (2007). *Screening techniques for sorghum diseases. Information: Bulletin No. 76*. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.

Tralamazza, S.M, Piacentini, K.C, Iwase, C.H.T & de Oliveira Rocha, L. (2018). Togigenic Alternaria species:Impact in cereals worldwide. *Current Opinionin Food Science*, 23, 57-63. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.05.002

Tsaplina, O., Bozhokina, E., Mardanova, A., & Khaitlina, S. (2015). Virulence factors contributing to invasive activities of Serratia grimessi and Serratia proteomaculans. *Arch Microbiology*, 197, 481-488. https://doi.org/10.1007/s00203-014-1079-7

United States Departament of Agriculture. (2016). Nutrient Data Laboratory. National Nutrient Database for standard Reference, Relase 28(slightly revised). USDA.

Vallejo, M.J.J. (1985). *Identificación y Métodos de control de plagas y enfermedades de alamacen de sorgo (Sorghum bicolor*. L. Moench) *en Jalisco* [Tesis para obtener el

título de Ingeniero Agrónomo especialidad en fitotecnia, Universidad de Guadalajara].

Velázquez, P. D. (2020). “Ergot” en sorgo. ¿debemos preocuparnos cuando alimentamos al ganado? Estación Experimental Agropecuaria Paraná, INTA.

Velázquez, P.D. (2019). Enfermedades en el centro oeste de entre Rios. *Asociación Argentina de Fitopatologos*, 4.

Vishwakarma, SK, Kumar, P., Nigam, A., Singh, A. & Kumar, A. (2013). Pokkah Boeng: An Emerging Disease of Sugarcane. *Plant Pathology and Microbiology*, 4(170), 1-5. http://dx.doi.org/10.4172/2157-7471.1000170

Warham, E. J., Suttan, B. C. & Butter, C. D.(1996). Ensayos para la semilla de maiz y trigo: manual de laboratorio. CYMMYT.

Wu, X., Liu, Y., Lou, H., Shang, L., Yuan-Leng, C., Liu, Z., Li, Z., Lu, X., Hongwei, C., Hao, H. & Chan-J, H. (2022). Genomie foot prints of sorghum domestication and breeding selection for multiple and uses. *Molecular Plant*, 15(3), 537-551.

Yassin, M.A., El-Samawaty, A.R., Bahkali, A., Moslem, M., Abd-Elsalam, K.A y Hyde, K.D. (2010). Mycotoxin-producing fungi occurring in sorghum grains from Saudi Arabia. *Fungal Diversity*, 44, 45-52.

Zhang, X., Fernandes, S.B., Kaiser, C. Adhikari, P., Brown, P.J., Mideros, S.X & Jamann, T.M. (2020). Conserved defense responses between maize and sorghum to *Exserohilum turcicum*. *BMC Plant Biology*, 20 (67), 2-11. https://doi.org/10.1186/s12870-020-2275-z.