



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

INSTITUTO DE CIENCIAS

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS MICROBIOLÓGICAS

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE SUELOS

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE METABOLITOS SOBRE LAS  
POBLACIONES DE RIZOBACTERIAS BENÉFICAS PROMOTORAS  
DE CRECIMIENTO DE MAÍZ**

TESIS

Para obtener el grado de:  
**QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

Presenta:

Abraham Saavedra Bermúdez

Dirección de la tesis

Directora de tesis: Dra. Guadalupe Medina de la Rosa

Codirectora de tesis: Dra. Lucía López Reyes

Asesora interna: Dra. Claudy Lorena Villagrán Padilla

Octubre, 2025

## AGRADECIMIENTOS

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por darme la oportunidad de realizar mis estudios universitarios e incitar mi interés por la investigación desde un enfoque social y humanista.

Al laboratorio de Microbiología de Suelos del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas ICUAP por disponer las instalaciones que permitieron el desarrollo de este trabajo.

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado y el programa institucional BiofertiBUAP por otorgar el financiamiento necesario para la realización de este proyecto de tesis.

A mi directora de tesis Dra. Guadalupe Medina de la Rosa y co-directora Dra. Lucía López Reyes por compartir conmigo su confianza, guía y apoyo incondicional, sin los cuales este trabajo hubiese sido imposible.

A la Dra. Claudy Lorena Villagrán Padilla por la orientación y asesoría que me brindó durante cada etapa de la realización de este proyecto de tesis.

A los integrantes de mi comisión revisora, el M.C. Moisés Graciano Carcaño Montiel, la D.C. Reyna del Consuelo Almiray Pizón de Dios y la D.C. Laura Morales Lara, quienes con su experiencia y conocimientos me otorgaron su valiosa retroalimentación.

A Lety y Ricardo por enseñarme tanto a través de sus explicaciones de los aspectos técnicos y conceptuales propios del laboratorio, así como nuestras incontables conversaciones tan frecuentemente filosóficas.

A mis compañeros Lupita, Jesús, Alicia, Karime, Beto, Aldo, Ingrid, Liz, Marco, Mónica, Pedro, Madison, Rubén, Vianey y Toño por compartir conmigo una etapa tan significativa de mi vida, otorgándole a esta experiencia abundantes momentos inolvidables y carcajadas.

A Ricardo, Dante, Aldo, Ysidro, Alan, Fátima, Sofía, Marinthia y Marycarmen por acompañarme durante todos estos años y darme su entrañable amistad, tan esencial en el bienestar del alma.

Y finalmente, aunque en absoluto menos importante, a mis padres, Andrea y Javier, Andy y Miri por ser uno de los cimientos sobre el cual se erige mi persona, así como la incondicional fuente de apoyo y resiliencia que me ha traído hasta aquí.

## ÍNDICE GENERAL

1. RESUMEN .....	1
2. INTRODUCCIÓN .....	3
3. MARCO TEÓRICO.....	4
3.1. Información taxonómica y botánica del maíz.....	4
3.2. Desarrollo fenológico de <i>Zea mays</i> y condiciones de cultivo .....	6
3.3. Producción global y nacional de maíz.....	8
3.4. Secreción de exudados radicales.....	9
3.5. Comunidades microbianas asociadas a la rizosfera del maíz .....	10
3.6. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) .....	11
3.7. Mecanismos de promoción de crecimiento vegetal por PGPR .....	12
4. MARCO DE REFERENCIA.....	16
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
6. JUSTIFICACIÓN .....	19
7. OBJETIVOS.....	20
7.1. Objetivo general.....	20
7.2. Objetivos específicos.....	20
8. HIPÓTESIS .....	20
9. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....	20
9.1 Tipo de estudio.....	20
9.2. Tamaño de muestra .....	21
9.3. Sede y lugar del estudio.....	21
9.4. Criterios de inclusión .....	21

9.5. Criterios de exclusión.....	21
9.6. Recursos humanos.....	21
9.7. Recursos financieros .....	22
9.8. Diseño estadístico .....	22
10. DIAGRAMA DE TRABAJO .....	23
11. MATERIALES Y METODOLOGÍAS .....	24
11.1. Recolección de muestras de suelo.....	24
11.2. Experimento con planta y aplicación de tratamientos con metabolitos .....	25
11.3. Evaluación de características fenológicas de plantas .....	26
11.4. Evaluación de propiedades del suelo .....	26
11.5. Medición de actividad enzimática en suelo.....	27
11.6. Identificación de comunidades bacterianas en suelo.....	29
11.7. Análisis bioinformático .....	30
11.8. Análisis estadístico .....	31
12. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	32
12.1. Estudio de fertilidad de suelos .....	32
12.2. Evaluación de características fenológicas de planta .....	33
12.3. Evaluación de propiedades del suelo .....	36
12.4. Medición de actividad enzimática en suelo.....	39
12.5. Análisis de comunidades bacterianas en suelo .....	44
12.5.1. Respuesta de diversidad bacteriana en suelo a tratamientos con metabolitos .....	44
12.5.2. Respuesta de composición de comunidades bacterianas a tratamientos con metabolitos .....	45
12.5.3. Respuesta de abundancia de taxones a tratamientos con metabolitos.....	46

13. CONCLUSIONES .....	60
14. BIBLIOGRAFÍA .....	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Plantas de <i>Zea mays</i> .....	5
Figura 2. Anatomía del sistema radical de <i>Zea mays</i> .....	6
Figura 3. Etapas fenológicas de <i>Zea mays</i> .....	6
Figura 4. Diversidad microbiana de los nichos asociados a planta. ....	10
Figura 5. Fijación biológica de nitrógeno atmosférico por BFN.....	13
Figura 6. Actividad de circulación del fósforo en el suelo.....	15
Figura 7. Mapas de información geográfica de uso del suelo y vegetación de los municipios de San Nicolás de los Ranchos, Puebla y San José Teacalco, Tlaxcala .....	24
Figura 8. Diversidad alfa bacteriana en suelo de acuerdo con el sitio y tratamiento aplicado..	45
Figura 9. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico de comunidades bacterianas en suelos de SNR y SJT según tratamiento .....	46
Figura 10. Composición de comunidades bacterianas a nivel de filo en muestras.....	47
Figura 11. Mapa de calor de composición de comunidades bacterianas en muestras a nivel de filo .....	52
Figura 12. Mapa de calor de composición de comunidades bacterianas en muestras a nivel de familia .....	58
Figura 13. Mapa de calor de composición de comunidades bacterianas en muestras a nivel de género .....	59

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del maíz de acuerdo con APG IV (2017).....	4
Cuadro 2. Etapas fenológicas del maíz. Adaptada de CONAHCYT (2024) .....	7
Cuadro 3. Tratamientos aplicados al suelo.....	25
Cuadro 4. Propiedades físicas y químicas de las muestras de suelo empleadas en el experimento de invernadero, de acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000.....	33
Cuadro 5. Características fenológicas de plantas de maíz sembradas en suelo de San Nicolás de los Ranchos, Puebla y San José Teacalco, Tlaxcala con tratamientos de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa). .....	35
Cuadro 6. Porcentaje de daño foliar y daño en tallo de plantas de maíz sembradas en suelo con tratamientos de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa). .....	36
Cuadro 7. Características de suelo tras la aplicación de tratamientos de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa) .....	37
Cuadro 8. Actividad enzimática en suelo sembrado con maíz tratado con mezclas de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa) .....	43
Cuadro 9. Diferencias en abundancia a nivel de filo de bacterias entre suelos de SNR y SJT sin aplicación de tratamiento de acuerdo con el método ANCOM-BC .....	48
Cuadro 10. Diferencias en abundancia de bacterias a nivel de filo entre muestras tratadas con mezclas de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa) y el tratamiento testigo en suelo de San Nicolás de los Ranchos, Puebla	49
Cuadro 11. Diferencias en abundancia de bacterias a nivel de filo entre muestras tratadas con mezclas de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa) y el tratamiento testigo en suelo de San José Teacalco, Tlaxcala.....	50

Cuadro 12. Diferencias en abundancia de bacterias a nivel de familia entre muestras tratadas con mezclas de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa) y el tratamiento testigo en suelo de San Nicolás de los Ranchos, Puebla..... 54

Cuadro 13. Diferencias en abundancia de bacterias a nivel de familia entre muestras tratadas con mezclas de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa) y el tratamiento testigo en suelo de San José Teacalco, Tlaxcala ..... 56

## 1. RESUMEN

El maíz (*Zea mays*) es una gramínea de cultivo anual originaria de América de gran importancia económica global, además de representar un elemento esencial de la identidad cultural de México. En su producción se emplean fertilizantes y pesticidas químicos con el fin de aumentar el rendimiento de la planta y reducir pérdidas debidas a organismos patógenos. Sin embargo, esta práctica ha traído consecuencias negativas para el ambiente, por lo que en años recientes se ha explorado el uso de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal como una alternativa al uso de agroquímicos que permita satisfacer la demanda agrícola mundial sin comprometer la estabilidad del ambiente. El objetivo de este estudio fue favorecer el crecimiento de plantas de maíz mediante la aplicación de tratamientos con ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa), de tal forma que incrementen la actividad de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Las semillas fueron sembradas en macetas con suelo proveniente de San Nicolás de los Ranchos (SNR), Puebla y San José Teacalco (SJT), Tlaxcala y mantenidas en invernadero con humedad y temperatura controladas. Transcurridos 40 días tras la siembra, se colectaron las plantas para la medición de características fenológicas y parámetros de daño en tallo y hoja, mientras que el suelo rizosférico se destinó para el análisis de propiedades químicas (pH y conductividad eléctrica), actividad enzimática (deshidrogenasa, fosfodiesterasa alcalina, quitinasa y nitrogenasa) y análisis molecular de comunidades bacterianas. Se realizó la extracción de ADN en suelo y se secuenció el gen 16S rARN para la identificación de taxones. Los resultados demostraron que los tratamientos no modificaron consistentemente las características fenológicas de planta, pero disminuyeron el porcentaje de daño en tallo. Además, los tratamientos modificaron las propiedades del suelo, donde los aminoácidos indujeron el descenso de pH mientras que los azúcares y ácidos orgánicos su aumento, lo cual podría asociarse a la interacción de estos metabolitos con la dinámica de nutrientes en suelo. Asimismo, el tratamiento con aminoácidos aumentó la actividad microbiana en ambos suelos, el de ácidos orgánicos aumentó la actividad de la deshidrogenasa y fosfodiesterasa en suelo de SJT y el de azúcares aumentó la actividad de la fosfodiesterasa en suelo de SJT, además de disminuir la actividad de la nitrogenasa en suelo de SNR. Finalmente, los tratamientos modificaron la composición de la comunidad bacteriana en suelo, donde el tratamiento con aminoácidos

aumentó en mayor medida la abundancia de familias del filo Actinomycetota, involucradas en la degradación de materia orgánica en suelo.

## 2. INTRODUCCIÓN

El uso de fertilizantes y pesticidas químicos ha traído consecuencias significativas para el ambiente y los organismos que lo habitan, muchas de estas negativas, que contribuyen con la aparición de emergencias ecológicas como la acumulación de metales pesados en suelo, eutrofización, acumulación de fosfatos y nitratos y contaminación de las reservas de agua. Ante esta problemática, las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR por sus siglas en inglés) y sus numerosos mecanismos benéficos han surgido como una potencial alternativa hacia una agricultura con enfoque sostenible, que evidencia la compleja y aún en gran parte desconocida interacción que se da entre los organismos vegetales, particularmente aquellos de interés agrícola, y el microbioma del suelo. Este trabajo surge de la necesidad de explorar la influencia que ejercen biomoléculas que componen a los exudados radicales, en el mantenimiento y enriquecimiento de comunidades bacterianas en el suelo con potencial biotecnológico, tanto para el desarrollo de estrategias agrícolas orientadas al aumento del rendimiento de los cultivos como la implementación de prácticas encaminadas al mantenimiento del microbioma rizosférico, con impacto sobre el equilibrio ecológico y biogeoquímico del ambiente.

Se evaluó el efecto de metabolitos aplicados al suelo sobre las comunidades bacterianas rizosféricas, con expresión de mecanismos benéficos para las plantas como: la facilitación de nutrientes esenciales en el desarrollo vegetal por fijación de  $N_2$ , mineralización de fosfatos y el control biológico de organismos potencialmente patógenos como hongos e insectos, mediante la producción de enzimas hidrolíticas como la quitinasa. Además, se consideró evaluar su efectividad en el mantenimiento óptimo del cultivo de maíz, por lo que se identificaron sus efectos sobre características fenológicas de las plantas como: altura, diámetro del tallo, masa de raíz y reducción de daño tisular (foliar y en tallo) por estrés abiótico o agentes patógenos. Se usaron muestras de suelo provenientes de dos sitios geográficos diferentes y se buscó evaluar la relación entre las propiedades químicas del suelo, como acidez y contenido de sales, con la diversidad de las comunidades microbianas que lo habitan, con el fin de determinar si estos factores abióticos, propios de ambiente del suelo, juegan un papel determinante en el favorecimiento de comunidades bacterianas benéficas tras la aplicación de los tratamientos con metabolitos considerados.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Información taxonómica y botánica del maíz

El maíz (*Zea mays* Linnaeus) es la forma domesticada de la gramínea silvestre teocintle (presumiblemente siendo *Zea mays subsp. parviglumis* el ancestro más inmediato), con evidencia de que su domesticación se llevó a cabo hace cerca de 10 000 años, en la región central de la cuenca del Río Balsas, territorio perteneciente a los actuales estados mexicanos de Michoacán, Estado de México y Guerrero (Piperno *et al.*, 2009).

Taxonómicamente el maíz pertenece al género *Zea* que también contiene en los territorios de México y Centroamérica a las especies *Zea diploperennis* Iltis, *Zea perennis*, *Zea luxurians*, *Zea nicaraguensis*, además de *Zea mays* L (Cuadro 1).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del maíz de acuerdo con APG IV (2017)

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Filo</b>	Tracheophyta
<b>Clase</b>	Liliopsida
<b>Orden</b>	Poales
<b>Familia</b>	Poaceae
<b>Género</b>	<i>Zea</i>
<b>Especie</b>	<i>Zea mays</i> Linnaeus

Botánicamente, el maíz es una planta herbácea de producción anual, con un tallo simple y erecto que puede alcanzar alturas de 4 m, robusto y sin ramificaciones, presenta nudos alternados desde los cuales nacen las hojas (Figura 1). Es una planta monoica dado que presenta inflorescencias masculina y femenina bien diferenciadas y separadas en la misma planta. La inflorescencia masculina presenta de forma terminal una panícula (también denominada espiga) conformada por un eje central y espigas laterales en su base, a las que se unen espiguillas que contienen las flores estaminadas productoras de polen. Por otra parte, la inflorescencia femenina, localizada en las yemas axilares de las hojas, está conformada por una espiga de eje grueso y cilíndrico, conocida por el nombre de raquis, sobre el cual se desarrollan los granos, cubierta por brácteas

que la envuelven por completo, denominándose a esta estructura raquis-brácteas como mazorca (Bennetzen & Hake, 2009).



Figura 1. Plantas de *Zea mays*. Se aprecian en la parte terminal del tallo las florescencias masculinas productoras de polen.

Las raíces primarias son fibrosas desde las cuales se forman las raíces coronarias y laterales (Hochholdinger, 2009), además de presentar raíces adventicias, también denominadas raíces de anclaje, que se originan a partir de los primeros nudos por encima de la superficie del suelo y cumplen la función de mantener erecta la planta (Figura 2) (Kato *et al.*, 2009).

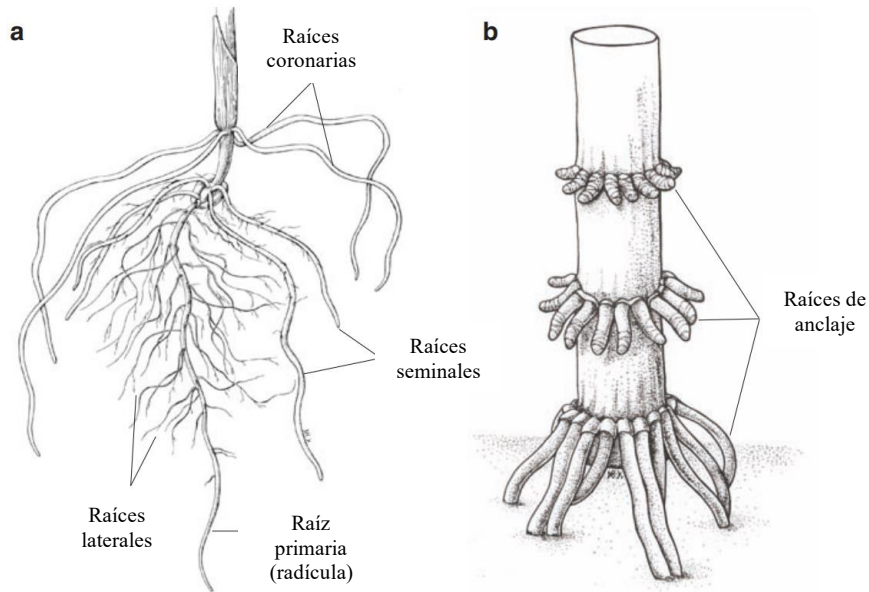


Figura 2. Anatomía del sistema radical de *Zea mays*  
 a) Representación del sistema radical general. b) Representación de las raíces adventicias, formadas como estructuras de sostén sobre el suelo.  
 Adaptado de *Bennetzen & Hake (2009)*

### 3.2. Desarrollo fenológico de *Zea mays* y condiciones de cultivo

El desarrollo fenológico del maíz se divide en dos etapas generales: etapa vegetativa (V) y etapa reproductiva (R) (Figura 3). Asimismo, cada una de estas etapas generales están comprendidas por fases de crecimiento asociadas a ciertas manifestaciones fenotípicas de la planta, como lo muestra el Cuadro 2:

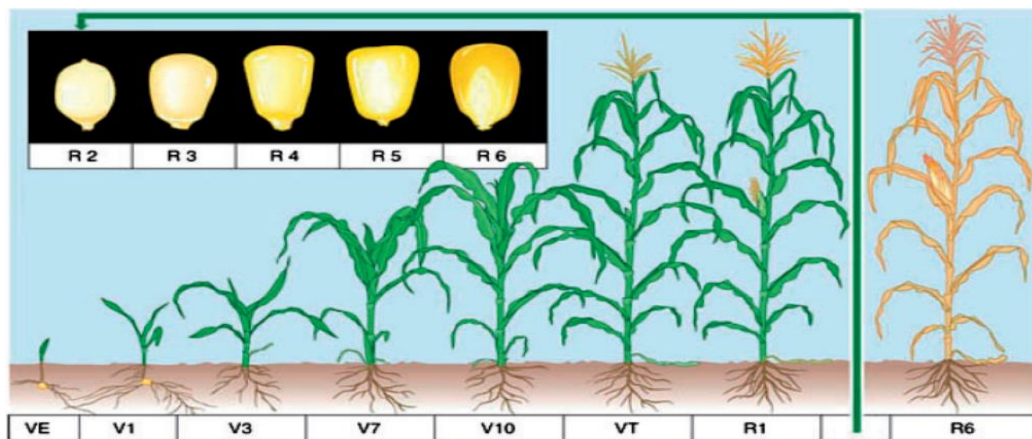


Figura 3. Etapas fenológicas de *Zea mays* y apariencia típica del grano en cada una de estas (X. Zhao *et al.* 2012)

Cuadro 2. Etapas fenológicas del maíz. Adaptada de CONAHCYT (2024)

<b>Etapas de desarrollo</b>	<b>DAS*</b>	<b>Características</b>
<b>VE</b>	5	Emerge el coleóptilo de la superficie del suelo
<b>V1</b>	9	Es visible el cuello de la primera hoja
<b>V2</b>	12	Es visible el cuello de la segunda hoja
<b>Vn</b>		Es visible el cuello de la hoja n, donde n es el número definitivo de hojas que formará la planta, fluctuando entre 16 y 22
<b>VT</b>	55	Es visible la última rama de la panícula
<b>R0</b>	57	Floración masculina (antesis). Se comienza a arrojar el polen
<b>R1</b>	59	Son visibles en las florescencias femeninas los estigmas, con la función de atrapar el polen proveniente de la florescencia masculina
<b>R2</b>	71	Los granos se encuentran en la etapa de ampolla, llenos de un líquido claro, además de ser visible el embrión
<b>R3</b>	80	Los granos se encuentran llenos de un líquido lechoso blanco
<b>R4</b>	90	Los granos se encuentran en su etapa masosa, rellenos de una pasta blanquecina. El embrión ocupa aproximadamente la mitad del ancho del grano.
<b>R5</b>	102	Los granos se encuentran en su etapa dentada, donde la parte superior de estos se llena de almidón sólido, llegando a adquirir en algunos casos un aspecto dentado.
<b>R6</b>	112	Etapas de madurez fisiológica de la planta. Es visible en la base del grano una capa negra, y la humedad del grano alcanza valores aproximados del 35%

\*DAS: número aproximado de días después de la siembra en tierras bajas tropicales, a temperaturas 22 – 33 °C.

El maíz es sembrado en una diversa variedad de condiciones, evidenciado por la amplia producción mundial de este cultivo. De esta forma, es posible la siembra de maíz en altitudes a nivel del mar hasta los 4 000 m.s.n.m., en latitudes variables de ambos hemisferios, en regiones con precipitación pluvial de <400 mm hasta 3 000 mm y en suelos y climas variables (Kato *et al.*, 2009). Dado que *Zea mays* es una planta C<sub>4</sub>, fija el CO<sub>2</sub> en compuestos intermediarios con cuatro átomos de carbono, optimiza sus niveles de agua y pierde cantidades mínimas de esta a través de la evapotranspiración, lo cual le permite crecer en zonas donde la evapotranspiración es alta o existen condiciones de escasez de agua (Bennetzen & Hake, 2009).

### **3.3. Producción global y nacional de maíz**

El maíz es uno de los cultivos de mayor importancia a nivel global, ya que junto con el trigo, arroz y caña de azúcar representan aproximadamente el 50% de la producción agrícola mundial (FAO, 2023). En el año 2021, la producción mundial de maíz alcanzó 1.2 mil millones de toneladas, equivalente al 13% de la producción agrícola del mundo, que lo convierte en el segundo cultivo de mayor prevalencia productiva global después de la caña de azúcar, que representa el 20% (FAO, 2023). De acuerdo con la distribución geográfica de producción de maíz, América es la región de mayor producción, con Estados Unidos en primer lugar y México en séptimo lugar, por debajo de otros países americanos como Brasil y Argentina (FAO, 2023).

En el territorio mexicano, el maíz es el cultivo nacional por excelencia, al ser el grano más relevante desde el aspecto económico-agrícola como cultural. En términos productivos, el maíz de grano blanco es el principal cultivo anual con una producción promedio de 22 millones de toneladas de acuerdo con el Censo Agropecuario 2022 realizado por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), para el periodo de referencia octubre 2021-septiembre 2022, ocupando una superficie sembrada aproximada de 6 millones de hectáreas y equivalentes al 24% de la superficie agrícola de las unidades de producción agropecuaria activas en México (INEGI, 2023). Además, este mismo censo reportó la producción de ~3 millones de toneladas de maíz de grano amarillo, con una producción total de maíz estimada de 25 millones de toneladas para el periodo descrito. Por otra parte, el Panorama Agroalimentario 2023 emitido por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) señala que para el año 2022 la producción nacional de maíz fue de 26.5 millones de toneladas, con un rendimiento de 3.9 toneladas producidas por hectárea, siendo los estados de Sinaloa, Jalisco, Michoacán y Guanajuato los principales centros de producción, abarcando cerca del 50% de la producción nacional (SIAP, 2023). En el estado de Puebla la producción de maíz fue de unas 500 mil toneladas en 2022, al ser el cultivo anual más importante de la entidad que representa el 2 % de la producción nacional, mientras que en Tlaxcala, en ese mismo año, la producción fue de 208.5 mil toneladas, representativa del ~0.8 % de la producción nacional (INEGI, 2023b).

### 3.4. Secreción de exudados radicales

Se denominan exudados radicales a aquellas sustancias que las plantas liberan, provenientes de su metabolismo, desde sus raíces hacia la rizósfera, capa del suelo inmediata a las raíces vivas de las plantas. Este fenómeno se conoce como “rizodeposición”. En maíz y otras plantas, los exudados radicales están conformados por carbohidratos, lípidos, proteínas, aminoácidos, iones radicales, vitaminas, hormonas reguladoras del crecimiento vegetal, ácidos orgánicos, enzimas hidrolíticas, compuestos aromáticos y compuestos orgánicos volátiles (Hu *et al.*, 2018; Upadhyay *et al.*, 2022). Su composición y tasa de exudación dependen de la especie de planta en cuestión (Zhalnina *et al.*, 2018), su etapa de desarrollo (Medina-de la Rosa *et al.*, 2023, Santangeli *et al.*, 2024) y las secreciones radicales de las plantas cercanas (Mészárošová *et al.*, 2024), además de las condiciones de suelo como su grado de compactación (F. Zhang *et al.*, 2023), y los atributos de la raíz como diámetro y presencia de pelos radicales (Lohse *et al.*, 2023) y las condiciones de estrés abiótico en su entorno como sequía y calor (Tiziani *et al.*, 2022).

La rizodeposición representa un proceso fundamental en la ecología del suelo pues los metabolitos liberados permiten el desarrollo selectivo en este nicho de comunidades microbianas que pueden interaccionar positiva o negativamente con el organismo vegetal, al modificar las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo (Haldar & Sengupta, 2015; Zhalnina *et al.*, 2018; Compant *et al.*, 2019). A la influencia de la exudación radical sobre las comunidades microbianas del suelo se le conoce como “efecto rizosférico” (Upadhyay *et al.*, 2022).

El efecto rizosférico se manifiesta a partir de la activación de comunidades microbianas, al inducir la expresión de un clúster de genes codificante a enzimas responsables de los diferentes mecanismos de promoción de crecimiento de estos organismos (Bashir *et al.*, 2021), así como su reclutamiento, pues los exudados sirven como quimioatrayentes y fuentes de nutrientes para el mantenimiento de comunidades que colonizan las raíces (Yue *et al.*, 2023).

### 3.5. Comunidades microbianas asociadas a la rizosfera del maíz

La composición microbiana en la rizosfera asociada al maíz presenta una abundancia relativa de grupos bacterianos similar a la que se presenta en el suelo no asociado a plantas, al encontrarse miembros de los filos Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Acidobacteria, Verrucomicrobia, entre otros (Figura 4); con la distinción de presentarse un incremento en la abundancia de bacterias del filo Proteobacteria en la rizosfera (Trivedi *et al.*, 2020).

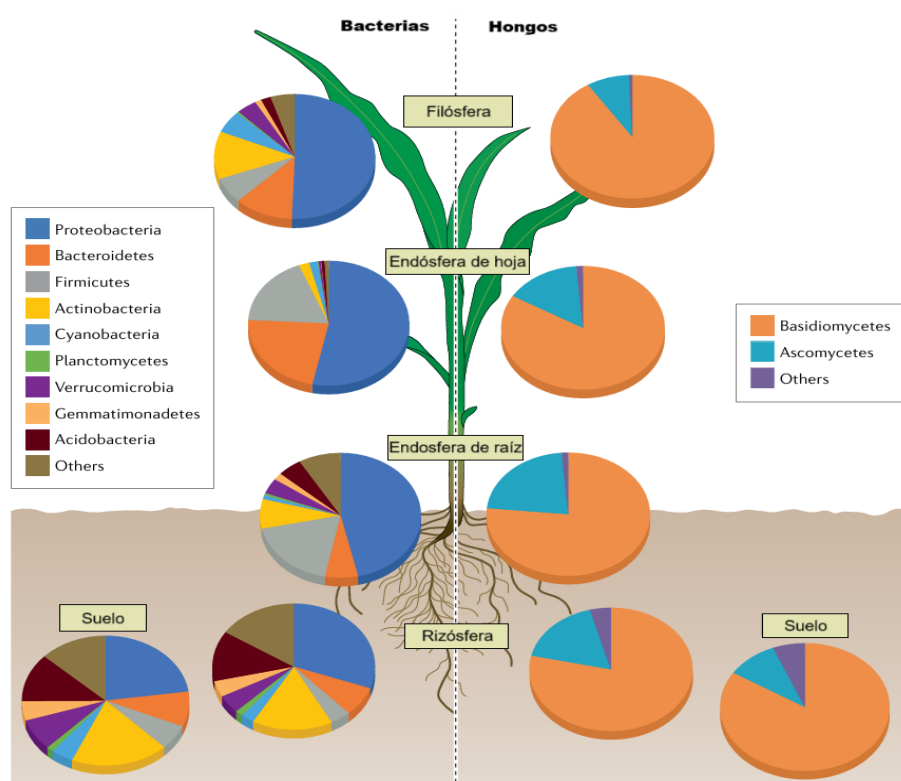


Figura 4. Diversidad microbiana de los nichos asociados a planta. Se incluyen gráficos circulares que representan las abundancias relativas de los filos de bacterias (izquierda) y hongos (derecha) comúnmente detectados en suelo, rizosfera, endosfera de raíces, endosfera de hojas y filósfera. Trivedi *et al.* (2020)

Algunos de los microorganismos no patógenos que residen en la rizosfera tienen la capacidad de ingresar al tejido de la planta huésped y ejercer su función benéfica de forma mucho más específica, siendo denominados como “endófitos”. En contraste con las comunidades presentes en la rizósfera, las comunidades endófitas se distinguen en la variabilidad de grupos que las

componen, al estar conformadas predominantemente por miembros de los filos Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes (Upadhyay *et al.*, 2022).

En términos generales, los grupos filogenéticos presentes en la rizosfera, a nivel de filo y familia, son similares entre sí para diversas especies de plantas, lo que sugiere que las características que afectan la composición de la rizosfera son independientes a la filogenia de la planta huésped (Trivedi *et al.*, 2020). Sin embargo, a nivel de género, la diversidad microbiana varía en función del huésped y factores ambientales (Wagner *et al.*, 2016). Esto se ha demostrado a su vez empleando maíz como modelo (Peiffer *et al.*, 2013). Los factores fisicoquímicos del suelo que modifican su diversidad microbiana son la humedad, pH, composición química, especialmente de nutrientes como N, P, y K y el contenido de materia orgánica (Upadhyay *et al.*, 2022).

En maíz, de la misma forma que ocurre con otras plantas huésped, la composición de la comunidad de las raíces y la rizosfera varía significativamente con aquella presente en el suelo. Acorde a lo reportado por Niu *et al.* (2017), los cuatro filos predominantes del microbioma de raíces, son Proteobacteria (84.4%), Firmicutes (4.3%), Bacteroidetes (3.5%) y Actinomycetota (3.1%), lo que representa cerca del 95% de la diversidad microbiana de la rizósfera. De estos filos, los géneros comunes son *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Curvibacter*, *Acinetobacter*, Enterobacteriaceae, *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Pantoea* (todos pertenecientes al filo Proteobacteria), *Bacillus* (del filo Firmicutes), *Microbacterium*, *Micrococcus* y *Curtobacterium* (del filo Actinomycetota) (Niu *et al.*, 2017, Santoyo *et al.*, 2016). Este grado de especificidad habla de la capacidad de la planta de reclutar selectivamente comunidades bacterianas a través de las secreciones provenientes de las raíces, involucrando las preferencias nutricionales de estos grupos (Hu *et al.*, 2018).

### **3.6. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR)**

Las bacterias habitantes de la rizosfera que establecen interacciones planta-microbio se les denomina comúnmente como rizobacterias, mientras que aquellas rizobacterias cuya interacción representa una relación benéfica para el organismo vegetal se refieren como Rizobacterias

Promotoras del Crecimiento Vegetal (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR) (Santoyo *et al.*, 2016).

Las PGPR se asocian con la planta y promueven su crecimiento a través de mecanismos directos e indirectos entre los que se encuentran: secreción de fitohormonas como auxinas, giberelinas y citoquininas; atenuación del daño tisular ante la producción de etileno de estrés por actividad de ACC desaminasa, aumento de la disponibilidad de nutrientes (fijación de N, solubilización de P y K), liberación de sideróforos, producción de antibióticos y enzimas hidrolíticas (quitinasa, proteasas, lipasas), aumento de la tolerancia al estrés abiótico e inducción de la resistencia sistémica de la planta, entre otros (Olanrewaju *et al.*, 2017).

El crecimiento de la planta se ve potenciado por las PGPR al intervenir en funciones como la proliferación de pelos radicales, promoción de la ramificación de las raíces, aumento de la germinación, mejoramiento de la función de los nódulos en leguminosas, aumento de la biomasa, incremento en la producción de fitohormonas esenciales en el desarrollo vegetal, defensa contra organismos fitopatógenos y aumento de la disponibilidad de nutrientes (Vocciante *et al.*, 2022).

### **3.7. Mecanismos de promoción de crecimiento vegetal por PGPR**

#### **a) Fijación biológica de nitrógeno**

El nitrógeno es un elemento esencial para las plantas al ser uno de los principales constituyentes de la mayoría de sus estructuras biológicas (Q. Wang *et al.*, 2024). Sin embargo, si bien representa el 78% de la composición atmosférica (NOAA, 2024), la especie química en la que se presenta ( $N_2$ ) no puede ser aprovechada directamente por los organismos vegetales, por lo que es necesaria su transformación a formas solubles, como amonio ( $NH_4^+$ ) y nitrato ( $NO_3^-$ ), para su incorporación al metabolismo de las plantas (Guo *et al.*, 2023). La transformación de  $N_2$  a  $NH_4^+$  se denomina fijación, la cual puede darse de forma natural, a partir de las descargas eléctricas; sintética, mediante el proceso de Haber; y biológica, por la actividad de bacterias diazotróficas (Guo *et al.*, 2023).

Las bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) se presentan como organismos de vida libre o en simbiosis con plantas leguminosas, que producen  $\text{NH}_4^+$  a partir de  $\text{N}_2$  a través del complejo enzimático nitrogenasa (Figura 5), codificado por el gen *nif* (Swarnalakshmi *et al.*, 2020). La participación de las BFN en la disponibilidad del nitrógeno como nutriente para organismos vegetales es de vital importancia, ya que se estima que estos microorganismos contribuyen con hasta el 70% de la demanda de nitrógeno por los diferentes cultivos (Yoneyama *et al.*, 2017).

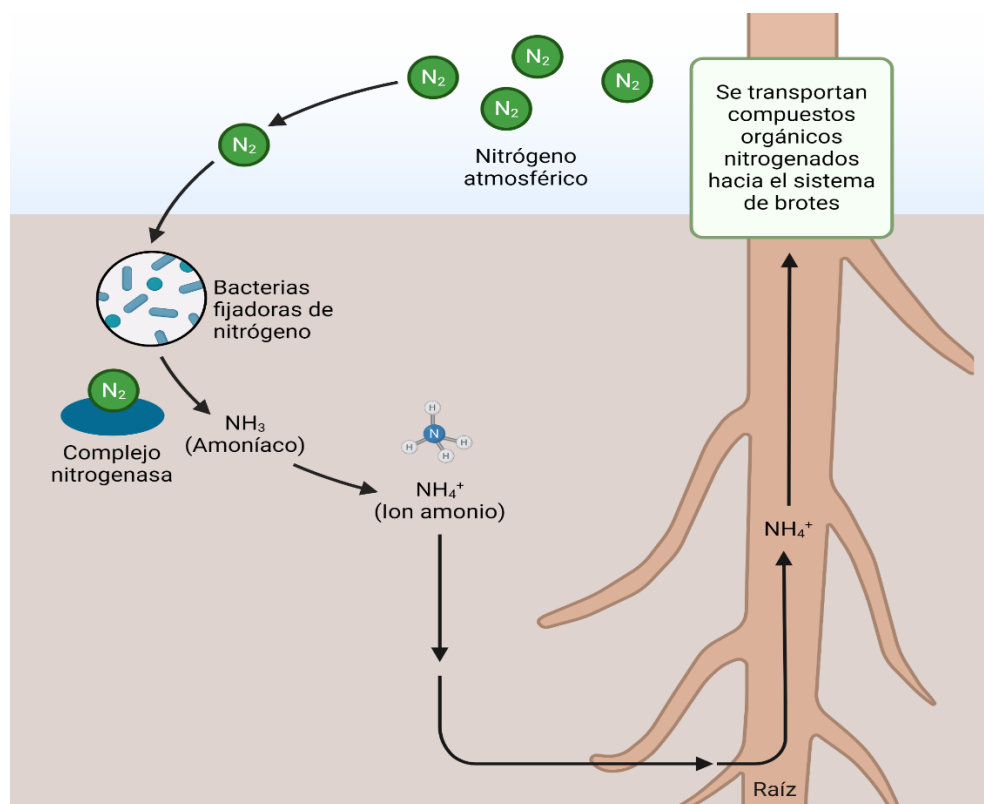
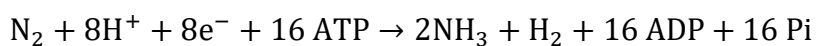


Figura 5. Fijación biológica de nitrógeno atmosférico por BFN.

De forma general, la transformación de nitrógeno atmosférico a amoníaco por medio del complejo enzimático nitrogenasa, en condiciones microaeróbicas, es:



Se han identificado bacterias fijadoras de nitrógeno del filo Proteobacteria que pertenecen a los géneros *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Rhizobium*, *Phyllobacterium*, *Microvirga*, *Ochrobactrum*, *Methylobacterium*, *Devosia*, *Shinella*, *Burkholderia*, *Cupriavidus* y *Pseudomonas* (Berrada & Fikri-Benbrahim, 2014).

## **b) Mineralización y solubilización de fósforo**

El fósforo es otro de los macronutrientes indispensables para el desarrollo, crecimiento y supervivencia de las plantas, pues participa en diversas funciones vitales como la transferencia de energía, fotosíntesis, biotransformación de azúcares y almidones, transporte de nutrientes dentro de la planta y la transferencia de rasgos genéticos durante su reproducción (Ahemad *et al.*, 2009). A pesar de su importancia, la disponibilidad del fósforo para su aprovechamiento por las plantas es baja (Upadhyay *et al.*, 2022), debido a que su alta reactividad induce su rápida inmovilización al asociarse con otros minerales como Fe y Al (Lizcano-Toledo *et al.*, 2021).

En el suelo, una fuente abundante de fósforo son las rocas, como las apatitas, conformadas por fosfatos insolubles que deben experimentar un proceso de solubilización para transformarse a formas químicas disponibles para la planta, como el ion ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) (Upadhyay *et al.*, 2022). La baja concentración de fósforo disponible para las plantas hace necesaria la aplicación elevada de fertilizantes fosforados al suelo, a pesar de que se estima que cerca del 90% de estos compuestos se precipitan en formas insolubles no utilizables por las plantas como fosfato tricálcico ( $\text{Ca}_3\text{PO}_4$ ) en suelos alcalinos y fosfato de hierro ( $\text{FePO}_4$ ) o fosfato de aluminio ( $\text{AlPO}_4$ ) en suelos ácidos (Eleonora & Pineda, 2014).

La conversión de fosfatos insolubles a iones ortofosfato puede ser realizada por bacterias solubilizadoras de fosfato (PSB por sus siglas en inglés) a través del descenso del pH del suelo por medio de la liberación de ácidos orgánicos de bajo peso molecular como el ácido glucónico, que favorece la quelación de cationes unidos al fosfato (Miller *et al.*, 2010). Se ha reportado que algunos de los géneros bacterianos más eficientes como agentes solubilizadores de fosfato son *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia* y *Rhizobium*, entre otros (Swarnalakshmi *et al.*, 2020).

Otro depósito importante de P en el suelo es el fósforo orgánico, que llega a representar hasta el 80% del contenido total de fósforo en el suelo; sin embargo, este no está disponible para su aprovechamiento por parte de las plantas (Swarnalakshmi *et al.*, 2020). Aunado a lo anterior, existen en el suelo bacterias, denominadas como bacterias mineralizadoras de fósforo orgánico (OPMB-Organic Phosphorus Mineralizing Bacteria), con la capacidad de producir enzimas extracelulares como fosfatasa alcalinas (codificadas por los genes *phoA*, *phoD* y *phoX*) y fitasas (codificadas por genes como *appA*), entre otras, que hidrolizan compuestos que presentan P orgánico como fitatos, fosfomonoésteres, fosfodiésteres, fosfolípidos, etc, y que favorecen su absorción por las plantas que se encuentren en el medio (Figura 6) (Siles *et al.*, 2022).

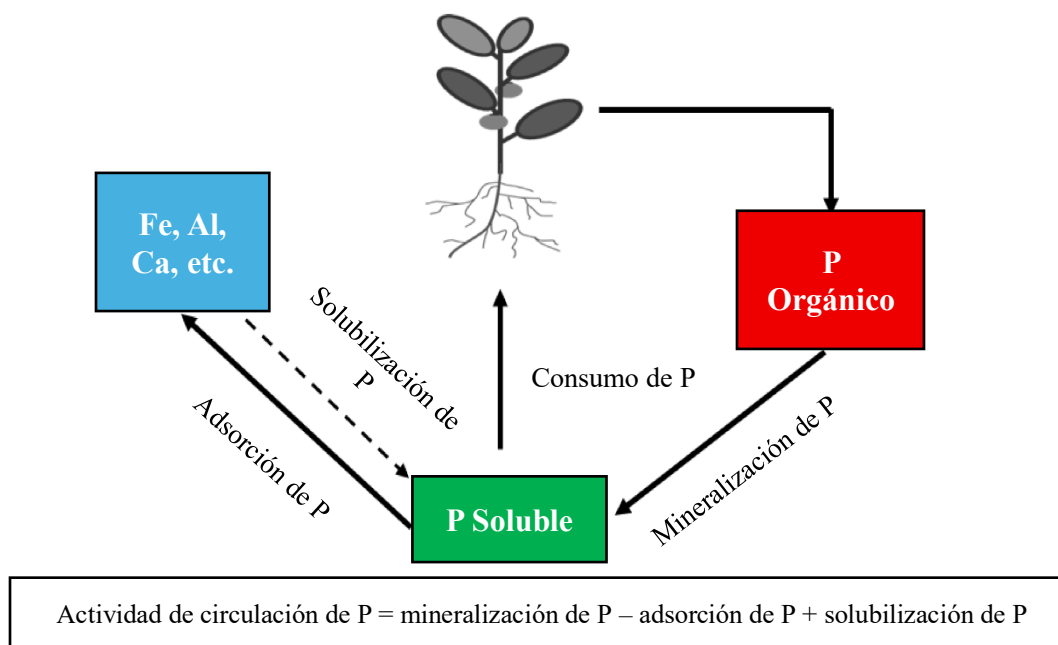


Figura 6. Actividad de circulación del fósforo en el suelo. Adhikari *et al.* (2017)

### c) Otros mecanismos

Para ejercer su actividad benéfica sobre las plantas, las PGPR emplean otros mecanismos entre los que se encuentran: mecanismos directos como la producción de fitohormonas reguladoras del crecimiento vegetal como auxinas (predominantemente el ácido indol-3-acético o AIA), citoquininas y giberelinas que modifican la estructura radical y controlan funciones de organogénesis y proliferación celular, entre otras (Swarnalakshmi *et al.*, 2020); disminución del daño tisular en la planta inducido por etileno de estrés al expresar la enzima ACC desaminasa

(Olanrewaju *et al.*, 2017); biosíntesis de sideróforos para aumentar la disponibilidad de hierro en el suelo y favorecer su absorción por la planta (Santoyo *et al.*, 2016); así como mecanismos indirectos entre los que se encuentran la producción de enzimas extracelulares líticas, como la quitinasa, con actividad sobre estructuras presentes en organismos potencialmente dañinos como insectos y hongos; producción de antibióticos y fortalecimiento de la inmunidad de la planta a través de la resistencia sistémica inducida (ISR), permitiéndole responder favorablemente ante agentes patógenos (Jeyanthi & Kanimozhi, 2018).

#### 4. MARCO DE REFERENCIA

Meier *et al.* (2017) estudiaron las dinámicas de materia orgánica y nitrógeno en suelo con la adición de soluciones de metabolitos y enzimas a especímenes del pino taeda (*Pinus taeda*). Ellos encontraron que la adición de exudados estimuló la actividad de enzimas degradadoras de compuestos como aminoácidos y aminoazúcares, sin incrementar la biomasa microbiana. Además, reportaron que estos efectos variaron como respuesta a la disponibilidad de nitrógeno en el suelo, ya que el efecto de estimulación enzimática se presentó a bajas concentraciones de exudados añadidos en suelo sin fertilizar, y a altas concentraciones de exudados en suelo fertilizado.

Hao *et al.* (2022) evaluaron la adaptación en la secreción de exudados radicales en maíz y actividad enzimática en suelo ( $\beta$ -1,4-glucosidasa y  $\beta$ -N-acetilglucosaminidasa) ante diversas condiciones de disponibilidad de nitrógeno (N), por lo que sometieron a las plantas a diferentes tasas de fertilización con N y evaluaron la diversidad de comunidades microbianas rizosféricas, zimografía del suelo, así como la caracterización metabólica de la composición de los exudados radicales secretados por cada planta. A raíz de esto, reportaron que la actividad enzimática de  $\beta$ -1,4-glucosidasa y  $\beta$ -N-acetilglucosaminidasa disminuía al aumentar la fertilización con nitrógeno, además de la reducción de abundancia de bacterias oligotróficas, como *Acidobacteria*, y el aumento de grupos copiotróficos, como *Pseudomonadota* y *Patescibacteria*, con respecto a la adición de N. Por otra parte, reportaron que la composición metabólica de los exudados radicales variaba en función de las tasas de nitrógeno aplicado.

Tiziani *et al.* (2022) estudiaron la secreción de exudados radicales en maíz ante condiciones de estrés abiótico como sequía, calor y su combinación, mediante un perfil metabolómico, y evaluaron si las comunidades bacterianas en la rizósfera se modificaban en respuesta a esto. Como consecuencia, reportaron que la composición de los exudados radicales fue modificada según el estrés específico, y que algunos de estos exudados regularon la abundancia relativa de grupos bacterianos rizosféricos, que incluía grupos promotores del crecimiento vegetal.

Lopes *et al.* (2022) realizaron un estudio donde analizaron el papel del ácido jasmónico y azúcares sobre la regulación de comunidades bacterianas en la rizósfera de maíz. En su investigación identificaron diversos genotipos de maíz con patrones de exudación radical de azúcares y ácido jasmónico diferentes, evaluados en hidroponía, que a partir de la secuenciación del gen 16S rARN en la rizósfera presentaron diferencias en la composición de sus comunidades bacterianas, revelando la influencia de estos compuestos sobre la diversidad microbiana de la rizósfera.

Medina de la Rosa *et al.* (2023) evaluaron el efecto de metabolitos, presentes en la rizósfera de *Agave lechuguilla* Torr., sobre la abundancia y actividad enzimática de bacterias fijadoras de nitrógeno y mineralizadoras de fosfatos, además de medir la disponibilidad de nutrientes como fósforo y nitrógeno. Asimismo, se consideró la edad de la planta como un factor a evaluar. En el estudio reportaron que los aminoácidos metionina y arginina aumentaron la actividad enzimática de nitrogenasa y fosfatasa y la disponibilidad en suelo de los respectivos nutrientes.

Fu *et al.* (2023) determinaron en maíz la diversidad de comunidades microbiológicas en un gradiente de ambientes desde la superficie de las raíces hasta el suelo no rizosférico, a través de la secuenciación de variantes de secuencia de amplicón (ASV, del inglés Amplicon Sequence Variants). En su investigación reportaron que los filos Proteobacteria y Bacteroidetes tuvieron una abundancia relativa mayor en la rizósfera, mientras que los grupos Acidobacteria, Chloroflexi y Verrucomicota fueron más abundantes en suelo no rizosférico.

Rojas Sánchez *et al.* (2024) inocularon en maíz sembrado en sistema milpa la PGPR *Pseudomonas fluorescens* UM270 con la finalidad de evaluar el impacto que tendría su

presencia sobre la diversidad microbiana en la rizósfera y el endobioma radical, a través de la secuenciación del gen 16S rARN de las comunidades endofíticas y rizosféricas. Ellos reportaron que *P. fluorescens* UM270 estimuló la diversidad endofítica, con la presencia de géneros como *Burkholderia*, *Variovorax*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium* y *Bradyrhizobium*, pero que no tuvo un gran impacto en la diversidad microbiana de la rizósfera.

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las plantas regulan el microbioma del suelo a través de la liberación de exudados radicales, conformados por compuestos provenientes de su metabolismo, que ejercen importantes funciones de reclutamiento y selección de comunidades bacterianas y fúngicas que repercuten en el estado del organismo vegetal, al poder tener efectos tanto benéficos como nocivos para los organismos vegetales. La aplicación de agroquímicos como fertilizantes, fungicidas, herbicidas, bactericidas e insecticidas en cultivos de interés agrícola; además del efecto esperado sobre el organismo blanco, tiene repercusiones sobre las comunidades microbiológicas presentes en el suelo, al poder alterar el equilibrio ecológico de este nicho e interferir en el mantenimiento de grupos benéficos que expresen mecanismos de promoción de crecimiento vegetal. Asimismo, están ampliamente reportadas las consecuencias que el uso de estos compuestos tiene sobre el ambiente y la salud humana.

El maíz, al ser un cultivo ampliamente producido en territorio nacional y a nivel mundial, se ve afectado por condiciones abióticas de los ambientes donde se siembran y factores de carácter biológico, como la prevalencia de enfermedades, que tienen un impacto directo sobre la productividad del cultivo, su presencia en los hábitos alimenticios de la población y la situación económica de los productores, al modificar la calidad del producto cosechado y su viabilidad para el consumo humano y animal. En un cultivo tan importante como el maíz, esta problemática adquiere repercusiones mucho más amplias.

Al considerar que la exudación radical constitutiva de la planta es determinante en la diversidad de grupos bacterianos en el suelo, tanto dañinos como benéficos, resulta relevante explorar cómo

estos metabolitos favorecen el desarrollo de comunidades benéficas en el suelo y que esto pueda traducirse en la promoción del crecimiento de maíz.

## **6. JUSTIFICACIÓN**

Si bien es extensa la investigación de la composición de exudados radicales de *Zea mays* L., así como las PGPR que fungen como su microbiota radical, existe aún la necesidad de explorar si la aplicación exógena de metabolitos, sumada a la exudación radical constitutiva, tiene un efecto significativo en el reclutamiento de comunidades bacterianas benéficas, lo que se podría traducir en la promoción de características macroscópicamente perceptibles en la planta. Una mejora en la eficiencia de los cultivos disminuiría a la par la dependencia de fertilizantes y pesticidas químicos, sustancias potencialmente nocivas para el ambiente, las personas y animales expuestos. Asimismo, el presente trabajo busca evaluar las comunidades bacterianas benéficas que se ven favorecidas, en función de su abundancia, por tratamientos con metabolitos, que posteriormente podrían extrapolarse a la promoción del crecimiento de otros cultivos de interés agrícola.

La selección del maíz como modelo obedece a dos razones: la concepción de ser uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, además de ser el cultivo emblemático de nuestro país a nivel cultural y económico; y que tanto la composición de los exudados radicales como la diversidad de grupos bacterianos asociados a una planta dependen de la especie vegetal en particular, siendo necesario el estudio especializado de cada cultivo.

## **7. OBJETIVOS**

### **7.1. Objetivo general**

- Favorecer el crecimiento de plantas de maíz a través de la adición de metabolitos que incrementen la presencia y actividad de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

### **7.2. Objetivos específicos**

- Identificar los metabolitos que favorecen el crecimiento y control de daño tisular en maíz
- Evaluar el efecto de la aplicación de los tratamientos sobre las propiedades del suelo
- Evaluar el efecto de la aplicación de los tratamientos sobre la actividad enzimática de las bacterias presentes en suelo asociado a maíz
- Estudiar los cambios en la diversidad de rizobacterias asociadas a maíz con la aplicación de metabolitos

## **8. HIPÓTESIS**

Los tratamientos con metabolitos favorecerán el crecimiento de *Z. mays* a través del enriquecimiento de poblaciones bacterianas rizosféricas benéficas de suelos provenientes de San Nicolás de los Ranchos, Puebla y San José Teacalco, Tlaxcala.

## **9. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

### **9.1. Tipo de estudio**

El estudio realizado fue de tipo experimental donde se evaluó el enriquecimiento de comunidades bacterianas benéficas asociadas a maíz y la promoción del crecimiento de la planta tras la aplicación de metabolitos.

## **9.2. Tamaño de muestra**

Se consideraron dos bloques, uno por cada sitio de recolección de muestra de suelo (San Nicolás de los Ranchos, Puebla y San José Teacalco, Tlaxcala) con 4 tratamientos por bloque: un grupo testigo, un tratamiento con mezcla de carbohidratos (melibiosa y xilosa), uno con mezcla de ácidos orgánicos (ácido málico y ácido cítrico), y uno con mezcla de aminoácidos (arginina y metionina). Cada tratamiento estuvo conformado por 4 repeticiones.

## **9.3. Sede y lugar del estudio**

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología de Suelos del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ubicado en el edificio IC-11 de Ciudad Universitaria, Puebla, Pue.

## **9.4. Criterios de inclusión**

Para la evaluación de actividad enzimática en suelo, análisis de propiedades de suelo y extracción y secuenciación de ADN en suelo se consideraron aquellos tratamientos que presentaron mejora en el crecimiento de las plantas de maíz sembradas con respecto al grupo testigo, reflejado a través de características fenológicas como altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, porcentaje de daño foliar, porcentaje de daño en tallo, masa seca de planta y masa seca de raíz.

## **9.5. Criterios de exclusión**

Se excluyeron de los ensayos de actividad enzimática en suelo, análisis de características físicas y químicas de suelo y extracción y secuenciación de ADN en suelo de aquellas muestras que no presentaron cambio en las características fenológicas de planta con respecto al grupo testigo.

## **9.6. Recursos humanos**

El trabajo de investigación se realizó con la participación de los investigadores:

- a) Directora de tesis: Dra. Guadalupe Medina de la Rosa
- b) Codirectora de tesis: Dra. Lucía López Reyes
- c) Asesora interna: Dra. Claudy Lorena Villagrán Padilla
- d) Personal técnico: M. C. Leticia Gómez Velázquez

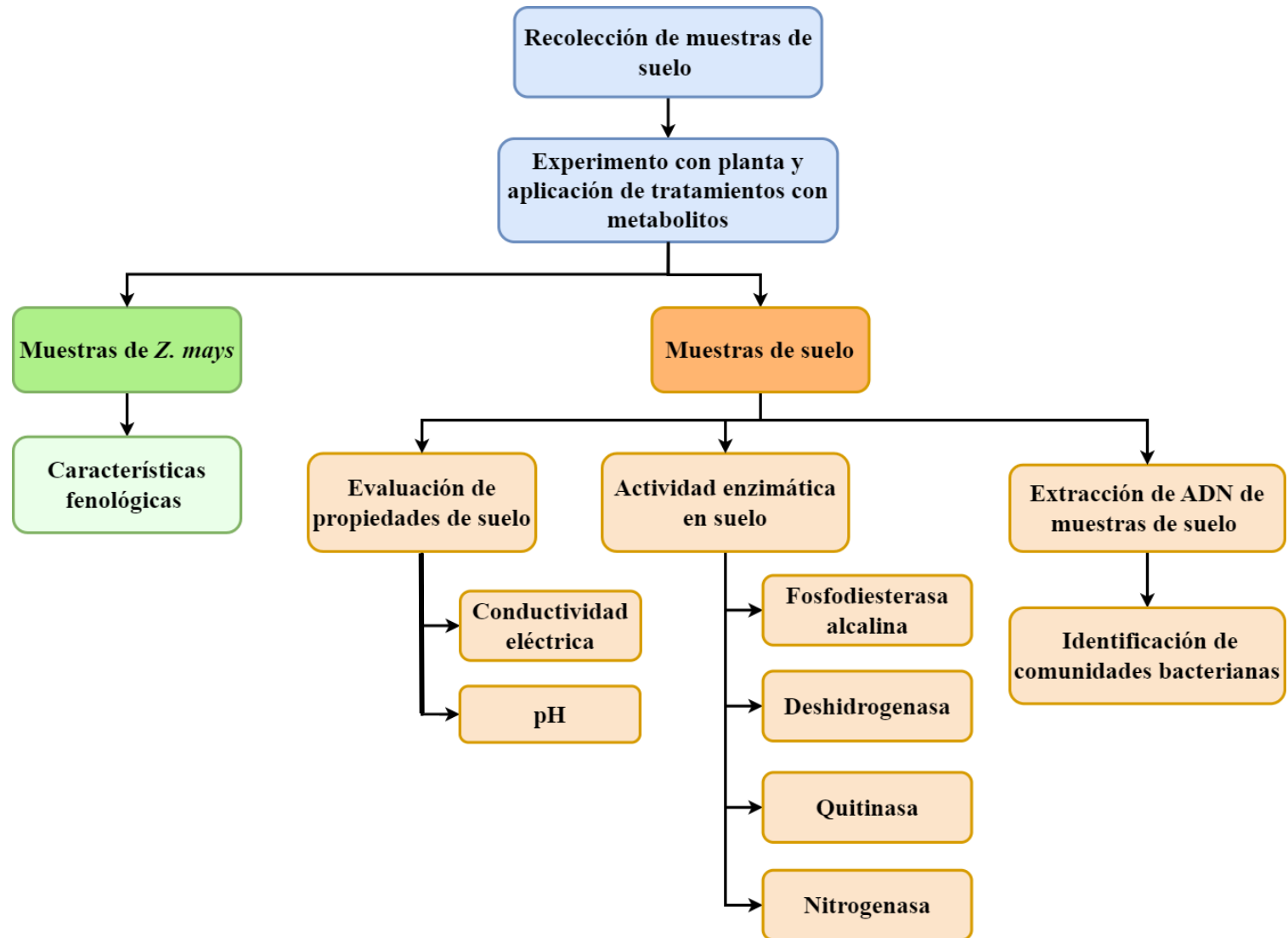
### **9.7. Recursos financieros**

El presente trabajo fue financiado por el programa institucional “BiofertiBUAP y BiofosfoBUAP”, a partir del cual se solventaron los gastos de adquisición de reactivos, material de plástico y vidrio requerido y material de biología molecular. Asimismo, se contó con el apoyo de una beca otorgada por la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado-BUAP bajo el título de proyecto “Control de enfermedades fúngicas asociadas a trigo a través del uso del biocarbón y bacterias PGPR”, con folio BPV/078.

### **9.8. Diseño estadístico**

Se evaluó la existencia de diferencias significativas entre tratamientos en los parámetros de características fenológicas de planta, propiedades de suelo, daño en planta, actividad enzimática y diversidad de la comunidad bacteriana de acuerdo con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y la prueba *post-hoc* de Dunn. La composición bacteriana del suelo correspondiente a cada muestra se realizó mediante un análisis de escalamiento multidimensional no métrico y la influencia del tratamiento se evaluó mediante un Análisis de Varianza Multivariante Permutacional (PERMANOVA). Finalmente, se visualizó la composición de las comunidades bacterianas en cada muestra con ayuda de mapas de calor. Todo el análisis estadístico se llevó a cabo en el programa R (versión 4.4.2).

## 10. DIAGRAMA DE TRABAJO



## 11. MATERIALES Y METODOLOGÍAS

### 11.1. Recolección de muestras de suelo

Se colectaron muestras de suelo provenientes de dos municipios: 1) San Nicolás de los Ranchos (SNR), Puebla, en una parcela sembrada con el sistema milpa (Figura 7a) y 2) San José Teacalco (SJT), Tlaxcala, localidad caracterizada por actividad agrícola intensiva (Figura 7b). La localidad de San Nicolás de los Ranchos, Puebla, presente en la región hidrológica Balsas, se caracteriza por un clima semifrío subhúmedo, con temperaturas en el rango de 2-16 °C y precipitación anual de 900-1 300 mm; su suelo es predominantemente arenoso (44.28%), andoso (34.97%), regoso (12.12%) y leptoso (6.42%) (INEGI, 2010). Por otro lado, el municipio de San José Teacalco, Tlaxcala, ubicado en la región hidrológica Balsas, presenta un clima templado subhúmedo con temperaturas de 1-16 °C y precipitación anual de 800-1 000 mm, mientras que su suelo dominante está conformado por luvisol (51.50%), durisol (8.45%), leptoso (7.58%) y regoso (4.70%) (INEGI, 2010). Se tomaron submuestras de aproximadamente un kilogramo de suelo en puntos aleatorios de las parcelas hasta contar con una muestra compuesta, homogénea y representativa del sitio de muestreo. Las muestras de suelo se mantuvieron en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento.

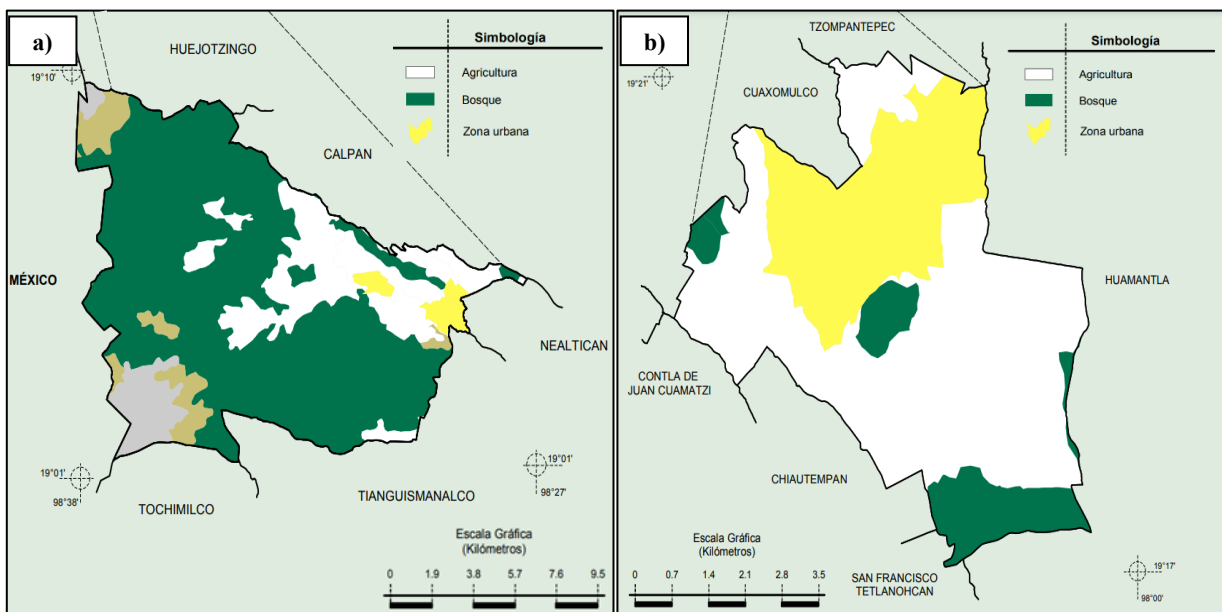


Figura 7. Mapas de información geográfica de uso del suelo y vegetación de los municipios de (a) San Nicolás de los Ranchos, Puebla y (b) San José Teacalco, Tlaxcala (INEGI, 2010).

## 11.2. Experimento con planta y aplicación de tratamientos con metabolitos

Se llevó a cabo el experimento con planta en ensayos de invernadero, donde en macetas de 15.2 cm de diámetro se colocaron 383 g de suelo tamizado y humedecido al 60% de su capacidad de retención de agua. Se consideraron dos bloques de muestras de suelo correspondientes a cada sitio de recolección (SNR y SJT) y, por cada bloque, cuatro grupos experimentales (tres tratamientos con metabolitos y un testigo; Cuadro 3). Cada grupo estuvo conformado por cuatro repeticiones, para un subtotal de 16 muestras por suelo y 32 en total. En cada maceta se sembraron tres semillas de maíz blanco criollo proveniente del municipio de San Nicolás de los Ranchos, Puebla, con un riego de 60 ml de agua purificada cada tercer día después de la siembra. Tras la germinación de las semillas, se adicionó otra capa de suelo humedecida al 60%, para un total de 765 g por maceta. Se retiraron las plantas adicionales de cada maceta, en caso de presentarse, de tal forma que permanezca una sola planta por maceta. A los 20 días después de la siembra se aplicaron por riego sobre el suelo soluciones de metabolitos a una concentración de  $600 \mu\text{g g}^{-1}$  de suelo seco.

Cuadro 3. Tratamientos aplicados al suelo

Tratamiento	Metabolito
1	Testigo
2	Carbohidratos (melibiosa + xilosa)
3	Ácidos orgánicos (ácido cítrico + ácido málico)
4	Aminoácidos (arginina + metionina)

Tres días después de la aplicación de los tratamientos, se aplicó en cada maceta 160 mg del fertilizante fosfato diamónico 18-46-00 (DAP). Transcurridos 40 días después de la siembra se removieron las plantas de las macetas y se colectó el suelo adherido a las raíces. Se almacenaron por muestra 5 g de suelo rizosférico en crioviales estériles de polipropileno que se mantuvieron a  $-70^{\circ}\text{C}$  para la extracción de ADN. Posteriormente, se colectaron las plantas de maíz en bolsas de papel etiquetadas con el tratamiento correspondiente para la posterior evaluación de sus características fenológicas. Se colectó 1 kg del suelo de las macetas en bolsas de plástico resellables, etiquetado acorde al tratamiento aplicado y se mantuvo a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

### 11.3. Evaluación de características fenológicas de plantas

En las plantas se evaluaron las características fenológicas: altura, número de hojas, diámetro de tallo, porcentaje de daño foliar de acuerdo con la escala de Peterson y porcentaje de daño en tallo según la escala de Cobb (Kiss & Veres, 2017). Posteriormente se removió la humedad de las plantas en estufa a una temperatura de 70 °C hasta obtener peso constante con la finalidad de medir los parámetros de masa seca de planta (tallo y hojas) y masa seca de raíz.

### 11.4. Evaluación de propiedades del suelo

A partir de las muestras de suelo colectadas, se destinó 250 g de cada una de estas para el análisis de porcentaje de humedad, pH y conductividad eléctrica de acuerdo con lo establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones para el muestreo, estudio y análisis de la fertilidad, salinidad y clasificación de suelos.

Para la determinación de porcentaje de humedad (%W), se pesaron 20 g de cada suelo y se mantuvieron a 70 °C en estufa hasta peso constante. El porcentaje de humedad se determinó de acuerdo con la fórmula:

$$\%W = \frac{\text{masa de suelo húmedo} - \text{masa suelo seco}}{\text{masa de suelo seco}} \cdot 100$$

Para la medición de pH y conductividad eléctrica de muestras de suelo se realizó una modificación al método de la norma NOM-021-RECNAT-2000, pues en lugar de extracto de saturación del suelo, se utilizó la muestra de suelo sin manipulación posterior a su recolección y almacenamiento.

La conductividad eléctrica se calculó de acuerdo con la siguiente expresión:

$$CE = \frac{C_{problema} \cdot k \cdot Ft}{1000}$$

Donde:

$CE$  = conductividad eléctrica a temperatura ambiente en  $dS\ m^{-1}$

$C_{problema}$  = conductividad de la muestra problema en  $\mu mhos$

$k$  = constante de celda equivalente a la constante eléctrica específica de KCl 0.01 N a  $25^{\circ}C$  entre conductividad de estándar de KCl 0.01 N

$Ft$  = factor de corrección de temperatura

### **11.5. Medición de actividad enzimática en suelo**

A partir de las muestras de suelo conservadas en refrigeración ( $4^{\circ}C$ ) se evaluó la actividad de las enzimas deshidrogenasa, fosfodiesterasa alcalina, nitrogenasa y quitinasa, con el fin de evaluar la presencia general de microorganismos en el suelo, microorganismos mineralizadores de fosfatos, fijadores de nitrógeno y aquellos con potencial para el control biológico, respectivamente.

La actividad de la enzima deshidrogenasa en suelo se midió por ensayo colorimétrico mediante el método de cloruro de trifeniltetrazolio (Thalman, 1968), se pesó 1 g de cada muestra de suelo en frascos ampolla, por triplicado. Asimismo, con la finalidad de contar con muestras blanco, se pesó 1 g de muestra de suelo del grupo testigo y se esterilizó en autoclave: 15 minutos - 15 psi -  $121^{\circ}C$ ; esto se hizo por duplicado para cada suelo (2 blancos para suelo de San Nicolás de los Ranchos y 2 para suelo de San José Teacalco). A todos los frascos con muestra, incluyendo blancos con suelo estéril, se les adicionó 10 mg de  $CaCO_3$ , 1 ml de agua destilada estéril y 1 ml de solución al 1% en agua destilada de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (Sigma-Aldrich T8877). Posteriormente, se les colocó a los frascos puertos de inyección, se sellaron sus boquillas con plástico y se mezclaron sus componentes. Tras la mezcla se extrajo el aire de cada frasco con ayuda de una jeringa y se mantuvo en agitación a 200 rpm por 25 minutos, empleando un agitador orbital. Las muestras se dejaron por 22 h a  $30^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$  y posterior a su incubación se adicionó 25 ml de alcohol etílico  $96^{\circ}$  para una segunda incubación de 2 h a  $30^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$ . Por último, se transportaron 10 ml de sobrenadante de cada frasco a tubos Falcon para su medición espectrofotométrica en celdas de cuarzo, a una longitud de onda de 550 nm. La actividad de la

enzima deshidrogenasa se reportó como microgramos de trifenilformazan por gramo de suelo seco por hora ( $\mu\text{g TPF h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  suelo).

Para la medición de actividad de fosfodiesterasa alcalina en suelo se siguió una versión modificada de la metodología desarrollada por Tabatabai & Bremner (1969). Se pesó 1 g de suelo en tubos tipo Falcon de 50 ml de capacidad, considerando un triplicado para cada muestra y dos blancos por origen de muestra de suelo. A cada tubo se adicionaron 4 ml de solución buffer Tris (tris(hidroximetil)aminometano) 0.5 M (Sigma-Aldrich T1378) ajustada a pH 11 y 1 ml del sustrato bis(p-nitrofenil) fosfato de sodio (Sigma-Aldrich N3002) a una concentración de 7.5 mM en buffer Tris 0.5 M, ajustado a pH 11. A las muestras blanco únicamente se añadió 4 ml de solución buffer Tris 0.5 M. Posteriormente, los tubos se incubaron en agitación por 1 h a 150 rpm y  $30 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , usando un agitador orbital. Tras la incubación, se agregó 1 ml de solución buffer Tris-sustrato a las muestras blanco y se detuvo la reacción en todos los tubos adicionando 1 ml de  $\text{CaCl}_2$  0.5 M y 4 ml de NaOH 0.5 M. Con la reacción detenida, los tubos se centrifugaron a 4500 rpm por 5 minutos y se hicieron las lecturas espectrofotométricas a partir del sobrenadante, a una longitud de onda de 405 nm. La actividad de la enzima se reportó en  $\mu\text{g}$  de nitrofenol (NP) generado por gramo de suelo por hora ( $\mu\text{g NP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ).

La actividad de la quitinasa se evaluó mediante un ensayo colorimétrico modificado de la metodología reportada por Castro *et al.* (2011), modificada para los requerimientos de esta investigación, a través de la formación de N-acetil-D-glucosamina (NAG) empleando 4-nitrofenil N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminida (Sigma Aldrich N9376) como sustrato. En tubos tipo Eppendorf de 1.5 ml de capacidad, se pesaron 0.25 g de suelo y se añadió a cada tubo 500  $\mu\text{l}$  de solución buffer con acetato de sodio 50 mM a pH 5.8 y 150  $\mu\text{l}$  de solución de sustrato 4-nitrofenil N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminida en buffer acetato de sodio a una concentración de 50 mM. Similar a los ensayos descritos anteriormente, los ensayos se hicieron por triplicado y se consideraron dos blancos por origen de muestra de suelo, a los que se añadieron 650  $\mu\text{l}$  de solución buffer acetato de sodio 50 mM. Se mezcló el contenido de los tubos y estos se incubaron en agitación 1.5 h a  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  y 200 rpm, en agitador orbital. Posteriormente, se detuvo la reacción en cada tubo al agregar 500  $\mu\text{l}$  de solución buffer bicarbonato-carbonato de sodio a pH 9.2. Tras esto, se centrifugaron los tubos por 5 minutos a 4500 rpm y se hicieron las lecturas espectrofotométricas

del sobrenadante a una longitud de onda de 420 nm. La actividad de la quitinasa se reportó en  $\mu\text{mol}$  de NAG producido por gramo de suelo por hora ( $\mu\text{mol NAG g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ).

La actividad de la enzima nitrogenasa se determinó mediante el método de reducción de acetileno a etileno de acuerdo con una versión modificada de lo empleado por López-Lozano *et al.* (2016). Con este fin, se pesaron 14 g de cada muestra de suelo, por triplicado, en frascos ampolla cubiertos herméticamente por tapones resellables. Posteriormente, con ayuda de una jeringa, se reemplazó el 20% del volumen de aire dentro del frasco con acetileno previamente obtenido a partir de la reacción entre carburo de calcio ( $\text{CaC}_2$ ) (FAGALAB 2120-100) y agua destilada. Se consideraron dos blancos por zona de muestreo (San Nicolás de los Ranchos y San José Teacalco) a los que no se inyectó acetileno. Los frascos con muestra se incubaron por 12 días a  $30 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ . Tras su incubación, se inyectaron 25  $\mu\text{l}$  del espacio gaseoso de cada frasco a un cromatógrafo de gases (Finnigan Focus GC, Thermo Scientific, Waltham, MA) con un detector de ionización de llama y acoplado con una columna TG-Bond Alumina, no. 26001-6080, no. serial 992068 (Thermo Scientific), con nitrógeno gaseoso como cargador, a una temperatura en el inyector y detector de  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  y con 3 minutos de corrida analítica por muestra. Se consideró un flujo dentro de la columna de  $3 \text{ ml min}^{-1}$ . La actividad de la nitrogenasa se expresó en  $\text{nmol}$  de etileno producido por día y por kilogramo suelo ( $\text{nmol C}_2\text{H}_4 \text{ día}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ ).

#### **11.6. Identificación de comunidades bacterianas en suelo**

Para la identificación de las comunidades bacterianas en suelo se llevó a cabo la secuenciación masiva del gen 16S rARN. La extracción de ADN genómico presente en suelo se realizó con el kit Quick-DNA Fecal/Soil Microbe (N6010) de Zymo Research y se siguieron las instrucciones especificadas por el fabricante para su procedimiento. Se realizó una electroforesis en gel de agarosa 3% para la evaluación de la integridad del ADN, donde se utilizó 1  $\mu\text{l}$  de ADN con una duración de 40 minutos a 80 V. El revelado de las bandas se realizó con el colorante fluorescente GelRed® Nucleic Acid Gel Stain por 15 min y se observaron en un transiluminador WiseUV® Wisd WUV-L50 a 312-365 nm.

Las muestras se enviaron a la empresa Novogene para su secuenciación en la plataforma Illumina-MiSeq, donde se realizó la amplificación de la región V3-V4 del gen 16S rARN con los cebadores universales 341F (3'-CCTAYGGGRBGCASCAG-5') y 806R (3'-GGACTACNNGGGTATCTAAT-5') (Yu *et al.*, 2004).

### 11.7. Análisis bioinformático

Las secuencias se analizaron por medio del paquete “DADA2” versión 1.34.0 en el programa R 4.4.2 para la evaluación de la calidad de secuencias, filtrado, recorte, emparejamiento, remoción de quimeras y asignación de taxonomía, para de esta forma obtener ASV (del inglés Amplicon Sequence Variants) representativos de la comunidad bacteriana en suelo. La asignación taxonómica se realizó con ayuda de la base de datos SILVA del gen 16S rARN (versión 138.1) (<https://www.arb-silva.de/>).

El manejo de tablas de abundancias de ASV en cada muestra, junto con su asignación taxonómica, se realizó con el paquete de R “phyloseq” versión 1.50.0, mientras que algunos de los análisis realizados sobre estos datos, como el cálculo de índices de diversidad y la identificación de taxones representativos por muestra se llevó a cabo con el paquete “microbiome” versión 1.28.0. Para la comparación en la abundancia de taxones específicos en función del tratamiento o suelo de origen se utilizó el Análisis de Composición de Microbiomas con corrección de sesgo (ANCOM-BC por sus siglas en inglés) (Lin & Peddada, 2020), con ayuda del paquete de R “ANCOMBC” versión 2.8.1. El cambio en abundancia de taxones según el suelo o el tratamiento aplicado se expresó como un cambio de pliegue logarítmico (LFC por las siglas del inglés “Log fold change”), que expresa la diferencia entre los logaritmos naturales de las abundancias relativas de determinado taxón, de acuerdo con la expresión:

$$LFC_{\alpha j-k} = \ln A_{\alpha j} - \ln A_{\alpha k}$$

Donde:

$LFC_{\alpha j-k}$  = Cambio de pliegue logarítmico del taxón  $\alpha$  entre una muestra del grupo  $j$  (tratamiento o suelo) y una muestra del grupo  $k$

$\ln A_{\alpha j}$  = Logaritmo natural de la abundancia relativa A del taxón  $\alpha$  en una muestra del grupo j (tratamiento o suelo)

$\ln A_{\alpha k}$  = Logaritmo natural de la abundancia relativa A del taxón  $\alpha$  en una muestra del grupo k (tratamiento o suelo)

## 11.8. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó en el programa R (versión 4.4.2) a través de Rstudio (versión 2024.04.0.735) (Posit team, 2024). Para la comparación de observaciones de características fenológicas y de suelo, daño en planta, actividad enzimática y diversidad (índice de Shannon-Wiener) se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, con el fin de determinar diferencias significativas según las variables de tratamiento y origen del suelo; se empleó la prueba *post-hoc* de Dunn para determinar diferencias puntuales entre grupos. Por otro lado, se realizó un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS por sus siglas en inglés) con los datos de abundancia de los ASV identificados en las muestras de suelo. De esta manera, se evaluó la similitud entre muestras en función de todos los parámetros evaluados, esto a partir del índice de disimilitud Bray-Curtis. Con el fin de determinar la influencia del tratamiento sobre la composición de la comunidad bacteriana y las mediciones en planta y suelo se realizó un Análisis de Varianza Multivariante Permutacional (PERMANOVA por sus siglas en inglés). Todas las pruebas previamente mencionadas se implementaron con el paquete de R “vegan” versión 2.6.8.

Finalmente, para visualizar las comunidades bacterianas de cada muestra se seleccionaron ASV representativos considerando los siguientes criterios: que el ASV tuviese una abundancia relativa por muestra  $\geq 0.05\%$  y una prevalencia  $\geq 3$  muestras, al considerar que cada tratamiento tuvo 4 repeticiones. A partir de las abundancias de los ASV representativos, se generaron mapas de calor mediante el paquete de R “pheatmap” (versión 1.0.12) con la finalidad de detectar agrupamientos entre las muestras en función del tratamiento aplicado o el sitio en diferentes niveles taxonómicos (filo, familia y género). Cabe destacar que las abundancias de los ASV fueron previamente transformadas logarítmicamente (base 10) para compensar las diferencias en número de lecturas por muestra, con el fin de posteriormente convertir estas a unidades

tipificadas (z-score). Asimismo, se exploró este agrupamiento en los niveles filogenéticos de filo, familia y género de acuerdo con el índice de disimilitud de Bray-Curtis correspondiente a cada muestra.

## 12. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 12.1. Estudio de fertilidad de suelos

La caracterización del contenido de nutrientes en los suelos muestreados de SNR y SJT se realizó en trabajos previos sobre el uso de PGPR para el control biológico de plagas en trigo (*Triticum aestivum*) (Gómez, 2024) y nogal (*Juglans regia*) (Morales, 2024). Estos resultados se incluyen en el Cuadro 4. Ambos suelos presentan concentraciones relativamente bajas de nutrientes esenciales para el crecimiento vegetal, como N, P y K, además de su pobre contenido de materia orgánica. Es posible que esto se deba a la producción agrícola intensiva realizada en ambos sitios, ya que esta se ve relacionada con la depleción de nutrientes en suelo si no se ve acompañada de técnicas agrícolas conservativas como la retención de residuos y la rotación de cultivos (Marahatta *et al.*, 2025). Esto a su vez se ve exacerbado si dicha producción es de cultivos anuales como el maíz o el trigo, donde la remoción completa de la planta impide la reincorporación de materia orgánica al suelo, lo que conlleva el agotamiento paulatino de sus reservas de nutrientes. En contraste con lo anterior, el suelo de SNR contiene concentraciones elevadas de fósforo extraíble ( $\approx 214 \text{ mg kg}^{-1}$ ), lo cual puede deberse a la cercanía de este municipio con el volcán activo Popocatepetl, ubicado en el Eje Volcánico Transversal, que le confiere el carácter de suelo tipo andosol enriquecido en fósforo proveniente de las emisiones volcánicas (Katayama *et al.*, 2021). Igualmente, ambos suelos fueron caracterizados como francos arenosos, lo que les confiere una capacidad intermedia de retención de agua y drenaje que permite el óptimo desarrollo del maíz en condiciones de irrigación (Fang & Su, 2019), mientras que, con respecto a su acidez, el suelo de SNR presentó un pH acorde a los niveles óptimos para el desarrollo de *Z. mays* (5.5 – 7.8), a diferencia de SJT, cuya acidez moderada se ha asociado con baja disponibilidad en suelo de nutrientes como fósforo y magnesio, así como a toxicidad debida al aluminio (Mondragón, 2005).

Cuadro 4. Propiedades físicas y químicas de las muestras de suelo empleadas en el experimento de invernadero, de acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000

	<b>Parámetro y método</b>	<b>SNR, Puebla<sup>1</sup></b>	<b>Interpretación</b>	<b>SJT, Tlaxcala<sup>2</sup></b>	<b>Interpretación</b>
<b>Nutrientes</b>	Materia orgánica (AS-07)	1.97%	Medio	0.29%	Muy bajo
	Nitrógeno total (AS-25)	0.11%	Medio	0.06%	Bajo
	Fósforo (Bray-Kurtz)	213.9 mg kg <sup>-1</sup>	Alto	6.9 mg kg <sup>-1</sup>	Bajo
	Calcio (AS-12)	5.6 cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Medio	4 cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Bajo
	Magnesio (AS-12)	2 cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Medio	1.6 cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Alto
	Sodio (AS-12)	1 cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	N.A.	0.2 cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	N.A.
	Potasio (AS-12)	0.3 cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Bajo	0.2 cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Bajo
<b>Propiedades químicas</b>	Capacidad de intercambio catiónico (AS-12)	9.6 cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Bajo	9.3 cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	Bajo
	pH (AS-02)	6.47	Moderadamente ácido	5.47	Moderadamente ácido
	Conductividad eléctrica (AS-18)	0.2 dS m <sup>-1</sup>	Efecto de salinidad casi nulo	0.55 dS m <sup>-1</sup>	Efecto de salinidad casi nulo
<b>Propiedades físicas</b>	Densidad aparente (AS-03)	1.36 g ml <sup>-1</sup>	N.A.	1.96 g ml <sup>-1</sup>	N.A.
	Arena: Limo: Arcilla (AS-09)	80%:14%:6%	Franco arenoso	70%:24%:6%	Franco arenoso

SNR = San Nicolás de los Ranchos, Puebla; SJT = San José Teacalco, Tlaxcala; N.A. = No aplica; 1. De acuerdo con lo reportado por Morales (2024); 2. De acuerdo con lo reportado por Gómez (2024)

## 12.2. Evaluación de características fenológicas de planta

Se apreció una notable diferencia entre los parámetros fenológicos en función del suelo que se empleó para la siembra de las plantas, independientemente del tratamiento con metabolitos. Por un lado, las muestras SNR presentaron un incremento consistente en comparación con sus

contrapartes con suelo de SJT en los parámetros de diámetro de tallo, masas secas de planta y raíz (Cuadro 5). Este comportamiento puede atribuirse a un mayor contenido de materia orgánica y minerales en el suelo proveniente de SNR con respecto al de SJT, al considerar que la nutrición vegetal se ve favorecida por la aportación de estos reservorios de nutrientes en suelo disponibles para la planta (Shrivastav *et al.* 2020). Asimismo, esta diferencia a priori en las características nutricionales del suelo hizo necesario que los análisis posteriores se hicieran distintivamente por suelo. Por otro lado, no hubo diferencia evidente entre la altura y los parámetros de daño según el suelo, lo que podría deberse a que tanto la primera como la resistencia a patógenos son características atribuibles a la identidad genética de la variedad de maíz empleada, homóloga en todas las muestras, y no al contenido nutricional del suelo (Peiffer *et al.*, 2014; Xia *et al.*, 2024).

En comparación con sus respectivos testigos, el tratamiento con ácidos orgánicos aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) la altura de planta en las muestras SNR, mientras que en aquellas con suelo de SJT disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ) el diámetro de tallo y la masa seca de planta, sin efecto significativo ( $p > 0.05$ ) sobre la masa seca de raíz en ninguno de los suelos. Por otro lado, el tratamiento con aminoácidos no tuvo efecto significativo ( $p > 0.05$ ) en ninguno de los parámetros fenológicos medidos (altura de planta, diámetro de tallo, masas secas de planta y raíz), tanto en las muestras SNR como SJT. Finalmente, el tratamiento con azúcares disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ) el diámetro de tallo en ambos suelos, y las masas secas de planta y raíz, la primera únicamente en las muestras SJT y la segunda en ambos suelos (Cuadro 5).

Además, de acuerdo con las mediciones realizadas de daño en planta (Cuadro 6), ninguno de los tratamientos tuvo efecto significativo ( $p > 0.05$ ) con respecto al testigo sobre los porcentajes de daño foliar en ambos suelos ni daño en tallo en las muestras SNR, mientras que en SJT todos los tratamientos (ácidos orgánicos, aminoácidos y azúcares) presentaron una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) del porcentaje de daño en tallo.

Cuadro 5. Características fenológicas de plantas de maíz sembradas en suelo de San Nicolás de los Ranchos, Puebla y San José Teacalco, Tlaxcala con tratamientos de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa).

Suelo	Tratamiento	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (cm)	Masa seca de planta (g)	Masa seca de raíz (g)
SNR	Testigo	116.38 ± 3.80 b	0.90 ± 0.02 a	4.13 ± 0.18 a	3.11 ± 0.20 a
	Ácidos	129.63 ± 2.59 a	0.83 ± 0.04 ab	4.12 ± 0.24 a	2.72 ± 0.17 ab
	Aminoácidos	114.63 ± 2.93 b	0.87 ± 0.02 ab	4.15 ± 0.26 a	2.53 ± 0.20 ab
	Azúcares	115.75 ± 1.65 b	0.79 ± 0.03 b	3.81 ± 0.28 a	2.34 ± 0.23 b
SJT	Testigo	120.63 ± 5.33 a	0.68 ± 0.03 ab	3.31 ± 0.28 ab	2.06 ± 0.12 ab
	Ácidos	118.38 ± 0.69 a	0.62 ± 0.04 b	2.77 ± 0.18 bc	2.08 ± 0.21 ab
	Aminoácidos	111.89 ± 2.29 a	0.76 ± 0.02 a	3.60 ± 0.10 a	2.45 ± 0.32 a
	Azúcares	117.00 ± 5.18 a	0.58 ± 0.04 b	2.49 ± 0.11 c	1.58 ± 0.16 b

Cada valor representa la media de las muestras ± error estándar (n = 4). Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba *post-hoc* de Dunn (p < 0.05). La comparación por pares entre tratamientos se realizó para cada suelo. SNR = San Nicolás de los Ranchos, SJT = San José Teacalco

Está establecido que, en condiciones ambientales de estrés, las plantas modifican su exudación radical para inducir el reclutamiento de rizobacterias que expresen mecanismos benéficos para la planta (Vocciante *et al.*, 2022), principalmente la producción de fitohormonas reguladoras de estrés como auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico y ácido salicílico, entre otras (Egamberdieva *et al.*, 2017). Asimismo, L. B. Zhao *et al.* (2025) encontraron que la adición de fertilización orgánica, abundante en biomoléculas como aquellas presentes en los tratamientos, disminuyó el estrés oxidativo en plantas de tomate provocado por su exposición a nanoplasticos al favorecer la acumulación de ácido salicílico y ácido abscísico en la planta, que correlacionaron con el enriquecimiento en la rizósfera de actinomicetos y un incremento en el metabolismo de terpenoides y policétidos a nivel de suelo.

Por ende, los resultados sugieren que la aplicación de una fuente de C y N, en la forma de los tratamientos, promovió la resistencia de la planta a patógenos debido al enriquecimiento de bacterias, que incorporarían estos sustratos a su metabolismo, con mecanismos como el control biológico por la producción de enzimas quitinolíticas y la síntesis de fitohormonas reguladoras de estrés como los ácidos abscísico y salicílico. Esto se ve respaldado por el hecho de que este efecto se presentó en ambos suelos, aunque la menor variabilidad entre los datos y mayor actividad quitinolítica (ver apartado de medición de actividad enzimática en suelo) de las muestras con suelo SJT pueden ser el motivo por el que la diferencia fuese significativa ( $p < 0.05$ ).

Cuadro 6. Porcentaje de daño foliar y daño en tallo de plantas de maíz sembradas en suelo con tratamientos de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa).

Suelo	Tratamiento	Daño foliar (%)	Daño en tallo (%)
SNR	Testigo	1.33 ± 0.21 a	11.50 ± 6.44 a
	Ácidos	1.45 ± 0.26 a	4.25 ± 2.14 a
	Aminoácidos	1.11 ± 0.11 a	9.00 ± 4.10 a
	Azúcares	1.11 ± 0.11 a	6.25 ± 1.25 a
SJT	Testigo	1.45 ± 0.26 a	17.50 ± 4.79 a
	Ácidos	1.11 ± 0.11 a	3.00 ± 1.15 b
	Aminoácidos	1.00 ± 0.00 a	3.00 ± 1.15 b
	Azúcares	1.11 ± 0.11 a	5.00 ± 0.00 b

Cada valor representa la media de las muestras ± error estándar (n = 4). Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba *post-hoc* de Dunn ( $p < 0.05$ ). La comparación por pares entre tratamientos se realizó para cada suelo. SNR = San Nicolás de los Ranchos, SJT = San José Teacalco

### 12.3. Evaluación de propiedades del suelo

Los tratamientos modificaron el pH del suelo, aunque esto se presentó distintivamente de acuerdo con el sitio (Cuadro 7). En particular, el tratamiento con azúcares aumentó

significativamente ( $p < 0.05$ ) el pH del suelo de SNR con respecto al testigo, mientras que el tratamiento con aminoácidos provocó una disminución de 0.28 unidades en el pH en comparación con el testigo. Por otro lado, en suelo de SJT únicamente se encontró una diferencia de pH significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al testigo debida a los tratamientos de ácidos orgánicos y azúcares, que aumentaron el pH del suelo en 0.13 y 0.17 unidades, respectivamente.

Cuadro 7. Características de suelo tras la aplicación de tratamientos de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa)

Suelo	Tratamiento	pH	Conductividad eléctrica (dS m <sup>-1</sup> )
SNR	Testigo	6.83 ± 0.02 b	0.08 ± 0.003 c
	Ácidos	6.80 ± 0.03 b	0.10 ± 0.003 b
	Aminoácidos	6.55 ± 0.02 c	0.11 ± 0.003 a
	Azúcares	6.91 ± 0.03 a	0.11 ± 0.005 a
SJT	Testigo	5.36 ± 0.10 b	0.04 ± 0.00 b
	Ácidos	5.49 ± 0.02 a	0.05 ± 0.003 b
	Aminoácidos	5.13 ± 0.04 b	0.08 ± 0.004 a
	Azúcares	5.53 ± 0.01 a	0.04 ± 0.003 b

Cada valor representa la media de las muestras ± error estándar (n = 4). Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba *post-hoc* de Dunn ( $p < 0.05$ ). La comparación por pares entre tratamientos se realizó para cada suelo. SNR = San Nicolás de los Ranchos, SJT = San José Teacalco

Los exudados radicales modifican la disponibilidad de nutrientes por su interacción abiótica con componentes del suelo (Philippot *et al.*, 2024). En relación con esto, se ha establecido que con la finalidad de aumentar en suelo la disponibilidad de nutrientes que se encuentran inmovilizados en minerales, las plantas liberan ácidos orgánicos (p. ej. los ácidos málico, cítrico, succínico, acético, entre otros) al espacio rizosférico, que acidifican su entorno inmediato e inducen la solubilización de minerales como P (hacia su forma PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>), Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> y K<sup>+</sup>, lo que da lugar a un incremento de sus concentraciones en suelo y su posterior captación radical (Adeleke *et al.*, 2017; Sasse *et al.*, 2018). Esto contrasta con el efecto de los tratamientos con aminoácidos y ácidos orgánicos, el primero de naturaleza alcalina por la presencia de la arginina,

pues indujeron un aumento del pH del suelo. Esto sugiere una compleja interacción metabolito-suelo-rizomicrobioma que no está dada únicamente por la naturaleza química del sustrato, sino que puede involucrar la dinámica e interacción de estos compuestos con otros componentes abióticos del suelo (contenido de materia orgánica, contenido mineral, salinidad, pH, concentración de oxígeno en el suelo y la raíz, además de la actividad fotosintética, entre otros) y las comunidades bacterianas que lo habitan, ya que los metabolitos adicionados podrían representar fuentes de nutrientes para el desarrollo de la actividad microbiana.

Es posible que un mecanismo implicado en los resultados obtenidos es el efecto de la exudación radical y sus componentes con el consumo de nutrientes por las plantas. Puntualmente, He *et al.* (2024) encontraron que la tasa de nitrificación (transformación de  $\text{NH}_4^+$  o N orgánico a  $\text{NO}_3^-$ ) en suelo, realizada por bacterias nitrificadoras, fue significativamente mayor en la presencia de *Z. mays* que en suelo sin cultivo, lo que a su vez indujo un mayor consumo de nitrato por parte de la planta. Esto evidencia cómo, a partir de la exudación radical, la planta estimuló la actividad nitrificadora microbiana para garantizar los requerimientos de N del maíz y los microorganismos. Al considerar que los tratamientos aplicados están formados por miembros comunes de la exudación radical, es posible que su adición simule un fenómeno similar. Este posible efecto de los tratamientos sobre la actividad de bacterias nitrificadoras podría explicar la alcalinización del suelo de SJT debida a los tratamientos con azúcares y ácidos orgánicos, pues este proceso se ve comúnmente acompañado por la alcalinización del suelo, originada por la liberación de iones hidróxido ( $\text{OH}^-$ ) a la rizósfera, provenientes de la reducción de nitratos en los tejidos vegetales para la formación de aminoácidos (Sugihara *et al.*, 2016). Esto puede a su vez explicar porque en suelo de SNR, donde el mayor contenido de N y pH óptimo disminuyen la necesidad de estos mecanismos, la alcalinización del suelo por los tratamientos fue menor. Asimismo, las plantas poseen la capacidad de absorber directamente aminoácidos del suelo por la vía radical para cumplir sus demandas de N (Yao *et al.*, 2020), lo que podría explicar por qué esta alcalinización, potencialmente derivada del consumo de nitratos, no se presentó en el tratamiento con aminoácidos de ambos sitios. Asimismo, el descenso del pH en ambos suelos debido al tratamiento con aminoácidos corresponde con la acidificación que suele acompañar la adición de nitrógeno al suelo, proveniente de la liberación de iones  $\text{H}^+$  durante el proceso de nitrificación (Xing *et al.*, 2022). En su conjunto, los resultados obtenidos sugieren que los

tratamientos con metabolitos podrían estar relacionados con la modificación de las condiciones del suelo, al involucrar la actividad microbiana sobre estos y la dinámica de absorción de nutrientes por parte del huésped vegetal.

#### **12.4. Medición de actividad enzimática en suelo**

Se evaluó la actividad en suelo de las enzimas nitrogenasa, fosfodiesterasa alcalina (FDE) y quitinasa, además de la evaluación de la deshidrogenasa (DH) como indicador de actividad microbiana en suelo (García *et al.*, 1997) (Cuadro 8). En muestras de ambos suelos, todos los tratamientos tendieron hacia el aumento de la actividad microbiana en suelo, representada por la DH. En suelo SNR, únicamente el tratamiento con aminoácidos produjo un aumento significativo de la actividad de la DH ( $p < 0.05$ ) con respecto al testigo, sin diferencia significativa con los otros, mientras que en suelo SJT los tratamientos con aminoácidos y ácidos orgánicos aumentaron significativamente ( $p < 0.05$ ) la actividad de DH con respecto al testigo. Cabe destacar que en suelo SJT el tratamiento con azúcares presentó significativamente ( $p < 0.05$ ) una menor actividad de DH con respecto al tratamiento con aminoácidos, similar a la actividad microbiana reportada en suelo sin tratamiento. En otros trabajos se ha explorado ampliamente el potencial en la adición de compuestos orgánicos simples, como aquellos presentes en la exudación radical, para la promoción de la actividad microbiana en suelo y la descomposición de materia orgánica, con resultados comúnmente positivos (Luo *et al.*, 2016). Específicamente, se ha encontrado que generalmente la descomposición de materia orgánica en suelo se ve favorecida por la afluencia de compuestos de C hacia este ambiente, provenientes principalmente de fuentes vegetales como la exudación radical (Sun *et al.*, 2019). Al efecto sobre la tasa de descomposición de materia orgánica en suelo inducido por el suministro de compuestos de C se suele denominar “priming effect” (PE), y está determinado en gran medida por una compleja red de factores bióticos y abióticos como la naturaleza química del sustrato adicionado (p. ej. su contenido de elementos como N), la composición de la comunidad microbiana en suelo, el contenido mineral del suelo, propiedades químicas y físicas del suelo, entre otros (Xie *et al.*, 2022).

El incremento en la actividad de la DH en ambos suelos debido al tratamiento con aminoácidos corresponde con lo reportado en otros trabajos sobre el PE inducido por la adición de sustratos como alanina, que correlacionan un incremento en la descomposición microbiana de materia orgánica de suelo con el suministro de compuestos que contienen N (Bernal *et al.*, 2016), incluso con magnitudes de PE mayores que aquellas dadas por la adición de azúcares, sustratos aparentemente más disponibles para su utilización, y ácidos orgánicos (Yan *et al.*, 2023), fenómeno coincidente con lo aquí reportado. Esto puede deberse a lo establecido por la hipótesis de descomposición estequiométrica, que explica la promoción de la actividad microbiana en suelo, particularmente la descomposición de materia orgánica, debida al cumplimiento de la demanda de nutrientes como N y P para su uso por parte de las comunidades de microorganismos que ahí residen (Hessen *et al.*, 2004). Bajo este esquema, la adición de sustratos orgánicos con proporciones C:N elevadas, como es el caso de los tratamientos con azúcares y ácidos orgánicos, inducen un estado de limitación de N por la consecuente modificación de la relación C:N del suelo, y resultan en una disminución del PE (Yan *et al.*, 2023). Este fenómeno podría verse exacerbado en suelos pobres en N (p. ej. el suelo de SJT), donde la condición de limitación de N es aún más crítica, hecho que coincide con la actividad de DH debida a los tratamientos con aminoácidos y azúcares en este suelo (Cuadro 8).

Con respecto a la actividad de la FDE, en suelo de SNR, únicamente el tratamiento con aminoácidos representó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al testigo, donde la actividad de esta enzima disminuyó (Cuadro 8). Esto podría estar relacionado con la influencia de las propiedades del suelo sobre la disponibilidad de P, debido a que se ha reportado que la acidificación del suelo, como se presentó en SNR únicamente en respuesta a este tratamiento (Cuadro 7), aumenta la disponibilidad de P en suelo proveniente de fuentes minerales, a través de su solubilización (Staunton & Pistocchi, 2025); y orgánicas, por medio de la actividad microbiana de fosfatasa ácida (Ding *et al.*, 2011). Por ende, este posible aumento en la disponibilidad de P en suelo disminuiría la necesidad de expresar FDE alcalina, disminuyendo su actividad. Por otro lado, en suelo de SJT los tres tratamientos aumentaron significativamente ( $p < 0.05$ ) la actividad de la FDE, con el mayor efecto debido al tratamiento con ácidos orgánicos, que llegó a representar en promedio cerca de dos veces la actividad registrada en los otros tratamientos y cuatro veces la actividad del grupo testigo.

La FDE es una enzima implicada en la mineralización de P a partir de fuentes orgánicas, como los fosfolípidos y ácidos nucleicos (Długosz *et al.*, 2022). En términos generales, el aumento de la actividad de FDE como respuesta a los tratamientos en suelo SJT puede relacionarse al PE evidenciado en la actividad de la DH, sumado a que la condición pobre en materia orgánica presente en este suelo (Cuadro 4) con respecto a SNR hizo significativo el posible efecto inductor de los tratamientos sobre la descomposición de la materia orgánica disponible, pues en estas condiciones las bacterias favorecen su actividad degradadora para satisfacer sus demandas nutricionales (Daunoras *et al.*, 2024).

Por otra parte, ninguno de los tratamientos evaluados modificó significativamente ( $p > 0.05$ ) la actividad de la quitinasa en ninguno de los suelos, resultado contrastante con la disminución del daño en tallo vista previamente en las muestras SJT. Este hecho podría indicar que el efecto observado en la prevalencia de estas heridas no sea debido a la producción de esta enzima extracelular por las comunidades microbianas presentes en este ambiente, sino que, al considerar la menor disponibilidad de nutrientes en el suelo de SJT (Cuadro 4), su adición exógena en los tratamientos contribuyó a un mejor estado nutricional de las plantas. Esto corresponde con lo reportado por (L. B. Zhao *et al.*, 2025), que encontraron una menor incidencia de daño por estrés oxidativo en tejidos de planta ante la adición de fertilización orgánica y la consecuente promoción de comunidades rizosféricas benéficas. Asimismo, la ausencia de diferencias en la actividad rizosférica de la quitinasa en respuesta a los tratamientos, aún con una disminución del daño en tallo, puede sugerir la presencia de otros mecanismos reductores de estrés, como la producción microbiana de fitohormonas, sugerida previamente.

Finalmente, la actividad de la nitrogenasa disminuyó ( $p < 0.05$ ) con respecto al testigo en respuesta a los tratamientos de aminoácidos y azúcares, en suelo de SNR, donde la cantidad de etileno producida diariamente por kilogramo de suelo seco llegó a ser más de dos veces menor que en el testigo (Cuadro 8). Esto puede explicarse si se considera la asociación entre el contenido nutricional de un suelo, particularmente la presencia de N, con la abundancia y diversidad de diazotófos responsables de la fijación biológica del nitrógeno (H. Wang *et al.*, 2023). Además, Dynarski & Houlton (2018), a partir de un metaanálisis que consideró 26

estudios consistentes en 261 experimentos individuales, encontraron que la fertilización con nitrógeno disminuyó la fijación de nitrógeno por microorganismos de vida libre, relevantes para la fijación biológica de N en *Z. mays*. Asimismo, H. Wang *et al.* (2023) encontraron que, en un periodo de 20 años, el suministro de niveles moderados y altos de N al suelo disminuyó la abundancia y diversidad de microorganismos diazotróficos, alusivo al efecto del cambio en la estequiometría del N en suelo sobre la fijación biológica de N<sub>2</sub>.

Al considerar en su conjunto la actividad de la nitrogenasa junto con el PE demostrado en estos tratamientos (azúcares y aminoácidos), es posible que el descenso en la actividad de la nitrogenasa se deba a que las bacterias rizosféricas prefieran estos sustratos para el mantenimiento de sus funciones biológicas, lo cual representaría un menor gasto energético y un uso más eficiente de los elementos contenidos en estos sustratos (Koyama *et al.*, 2025), sobre la alternativa de la fijación biológica de N en organismos diazotróficos, un proceso energéticamente demandante (Reed *et al.*, 2011). Además, considerando el contenido de N presente en el tratamiento con aminoácidos ( $\approx 124.6 \mu\text{g N/g}$  de suelo seco), recurrir a la fijación de N<sub>2</sub> para solventar la demanda de este elemento se vería menos favorecido.

Contrario a lo visto en SNR, en suelo de SJT únicamente el tratamiento con azúcares produjo alguna diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la actividad de la nitrogenasa con respecto al testigo, lo cual puede de igual forma atribuirse a la mayor facilidad por parte de las bacterias del suelo para metabolizar estos sustratos. Sin embargo, si bien la diferencia no fue significativa ( $p > 0.05$ ), se apreció una tendencia por parte del tratamiento con aminoácidos a aumentar la actividad de esta enzima, resultado contrastante con lo previamente establecido. Resulta difícil no atribuir, al menos en cierta medida, esta discordancia entre los sustratos y su efecto sobre la actividad de enzimas específicas, como la nitrogenasa, a la desigual composición de la comunidad bacteriana entre sitios, de tal forma que su efectividad no es necesariamente reproducible entre suelos de diferentes características.

Cuadro 8. Actividad enzimática en suelo sembrado con maíz tratado con mezclas de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa)

Suelo	Tratamiento	Deshidrogenasa ( $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{h}^{-1}$ )	Fosfodiesterasa ( $\mu\text{g NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ )	Quitinasa ( $\mu\text{mol NAG g}^{-1} \text{h}^{-1}$ )	Nitrogenasa (nmol $\text{C}_2\text{H}_4 \text{ día}^{-1} \text{kg}^{-1}$ )
SNR	Testigo	0.50 $\pm$ 0.02 b	88.43 $\pm$ 2.40 a	74.67 $\pm$ 3.09 a	195.58 $\pm$ 32.01 a
	Ácidos	0.64 $\pm$ 0.08 ab	83.43 $\pm$ 5.41 ab	86.37 $\pm$ 4.28 a	151.50 $\pm$ 39.43 ab
	Aminoácidos	0.69 $\pm$ 0.03 a	75.23 $\pm$ 2.50 b	90.02 $\pm$ 5.20 a	69.68 $\pm$ 15.81 b
	Azúcares	0.62 $\pm$ 0.07 ab	87.89 $\pm$ 4.32 a	83.13 $\pm$ 7.12 a	75.16 $\pm$ 28.05 b
SJT	Testigo	0.82 $\pm$ 0.07 c	30.76 $\pm$ 1.87 c	96.54 $\pm$ 1.51 a	79.83 $\pm$ 30.85 ab
	Ácidos	1.09 $\pm$ 0.11 ab	117.00 $\pm$ 5.61 a	97.65 $\pm$ 5.37 a	71.59 $\pm$ 9.43 ab
	Aminoácidos	1.21 $\pm$ 0.07 a	63.04 $\pm$ 3.50 b	94.36 $\pm$ 1.99 a	133.23 $\pm$ 31.04 a
	Azúcares	0.92 $\pm$ 0.10 bc	56.59 $\pm$ 5.07 b	100.12 $\pm$ 5.99 a	48.44 $\pm$ 5.34 b

Cada valor representa la media de las muestras  $\pm$  error estándar (n = 4). Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba *post-hoc* de Dunn ( $p < 0.05$ ). La comparación por pares entre tratamientos se realizó para cada suelo. SNR = San Nicolás de los Ranchos, SJT = San José Teacalco, TPF = trifenil formazan, NP = nitrofenol, NAG = N-acetil-D-glucosamina

## 12.5. Análisis de comunidades bacterianas en suelo

### 12.5.1. Respuesta de diversidad bacteriana en suelo a tratamientos con metabolitos

La diversidad alfa de la comunidad bacteriana en suelo, medida por el índice de Shannon, resultó diferente ( $p < 0.01$ ) según el sitio (Figura 8a), al ser mayor en SJT que en SNR. Con respecto al efecto de los tratamientos aplicados sobre la diversidad microbiana en cada suelo, todos tuvieron un efecto selectivo significativo sobre las comunidades rizosféricas de SNR ( $p < 0.05$ ), al disminuir la diversidad con respecto al testigo (Figura 8b). Sin embargo, no se encontró una disminución significativa del índice de Shannon al comparar los tratamientos entre sí, por lo que no fue posible determinar si alguno de estos tuvo un mayor efecto selectivo sobre las comunidades bacterianas que otro. Por otro lado, en SJT, únicamente el tratamiento con aminoácidos disminuyó ( $p < 0.05$ ) la diversidad bacteriana en suelo en relación con el grupo testigo y los tratamientos con azúcares y ácidos orgánicos (Figura 8b). En general, este efecto de selección corresponde con el hecho de que estos sustratos, como componentes de la exudación radical, participan en el enriquecimiento selectivo de ciertos grupos de bacterias en la rizósfera (Trivedi *et al.*, 2020)

Por otro lado, los resultados obtenidos concuerdan con lo que otros estudios han establecido sobre la adición de fuentes de nitrógeno orgánico, como la urea, pues reportan que esto se ve acompañado con la disminución de la diversidad bacteriana en suelo, asociado con un aumento en la nitrificación y acidificación de este ambiente, lo que favorece el establecimiento de nichos más selectivos para los microorganismos, sumado a un aumento de la biomasa microbiana y el carbono orgánico en suelo (Zeng *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023; M. Wang *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2025).

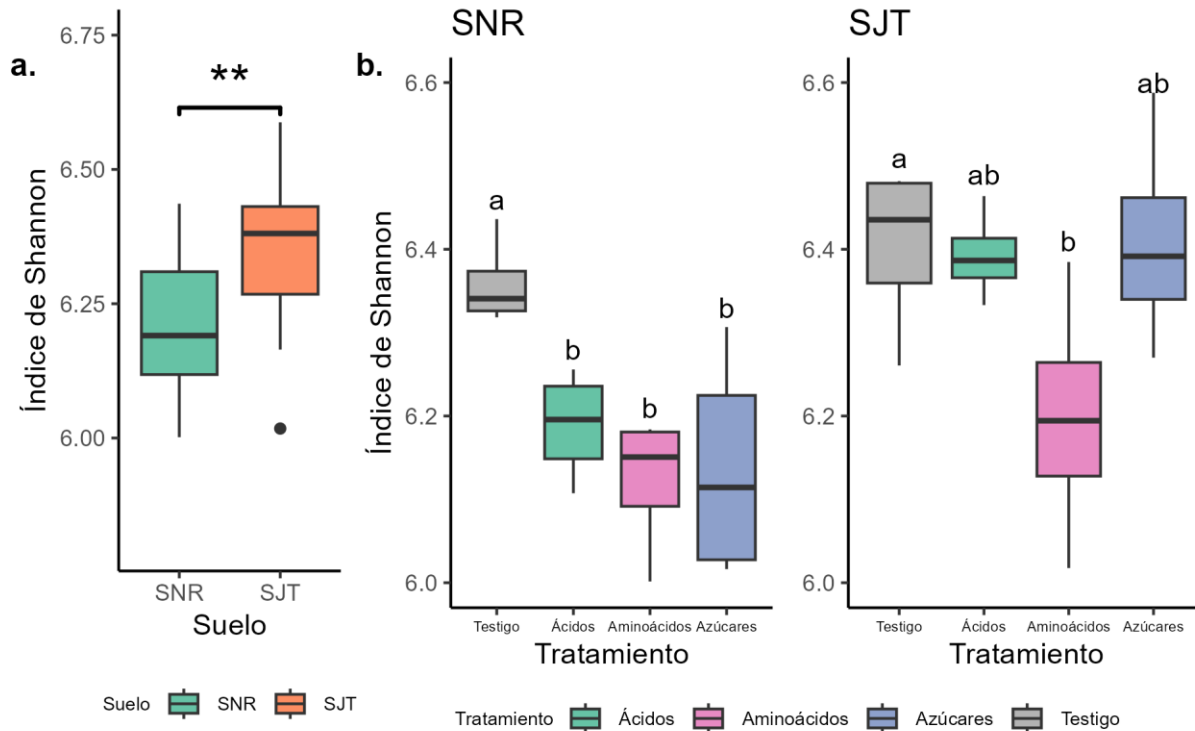


Figura 8. Diversidad alfa bacteriana en suelo de acuerdo con el sitio (a) y tratamiento aplicado (b). Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba *post-hoc* de Dunn ( $p < 0.05$ ). SJT = San José Teacalco, SNR = San Nicolás de los Ranchos. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

### 12.5.2. Respuesta de composición de comunidades bacterianas a tratamientos con metabolitos

De acuerdo con los resultados obtenidos a partir del análisis NMDS, los tratamientos configuraron la composición de las comunidades bacterianas de formas distintivas según el suelo, pues se apreció un agrupamiento entre tratamientos más distintivo en SNR (Figura 9a) que en SJT (Figura 9b). Sumado a esto, los resultados de PERMANOVA reflejaron que en SNR, los centroides representativos de al menos uno de los tratamientos se ubicaron significativamente distantes entre sí ( $p < 0.01$ ), donde cerca del 40% ( $R^2 = 0.40$ ) de la variabilidad entre comunidades es atribuible a los metabolitos aplicados. Esto contrasta con SJT, donde el agrupamiento según tratamiento fue menor ( $p < 0.05$ ;  $R^2 = 0.28$ ).

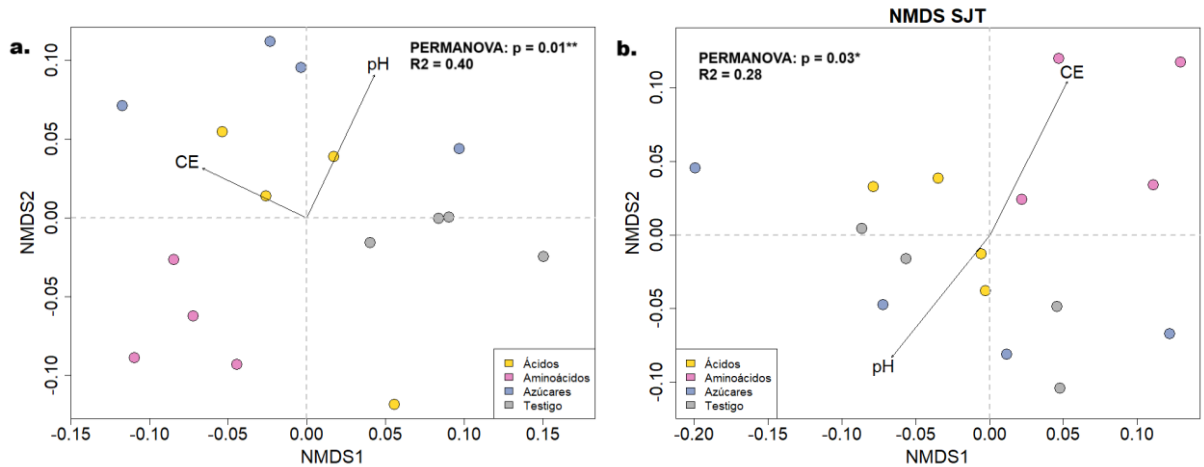


Figura 9. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico de comunidades bacterianas en suelos de SNR (a) y SJT (b) según tratamiento, con ajuste de propiedades del suelo. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

Además, en SNR, se encontró una correlación significativa ( $p < 0.05$ ) entre la composición de la comunidad bacteriana y las características del suelo (pH y conductividad eléctrica), factores cuya correlación se presentó también en SJT de forma significativa ( $p < 0.01$ ). Estos resultados sugieren el rol determinante que juegan las características del suelo, particularmente el pH, en la composición bacteriana de la rizósfera, lo que coincide con lo encontrado por otros trabajos específicos en esta relación (Xiong *et al.*, 2024). Por ende, con el fin de establecer un modelo mecanístico del efecto de estos y otros metabolitos sobre las comunidades bacterianas de la rizósfera, es esencial explorar la relación entre su aplicación, la dinámica/disponibilidad de nutrientes y otras especies químicas en suelo y el metabolismo microbiano, pues está establecido que estos factores se retroalimentan entre sí para formar los nichos sobre los cuales se desarrollarán los organismos implicados, tanto vegetales como microbiológicos (Philippot *et al.*, 2024).

### 12.5.3. Respuesta de abundancia de taxones a tratamientos con metabolitos

La abundancia de filos bacterianos fue distintiva de acuerdo con el sitio y el tratamiento aplicado. En suelo de SJT sin aplicación de tratamientos, la comunidad bacteriana estuvo principalmente compuesta en promedio por los filos Actinomycetota (48.5%), Pseudomonadota (25.1%), Acidobacteriota (13.5%) y Choroflexota (11.5%) (Figura 10a), mientras que la

composición en SNR estuvo conformada en su mayoría por los filos Actinomycetota (63.4%), Pseudomonadota (27.2%) y Chloroflexota (6.8%) (Figura 10b).

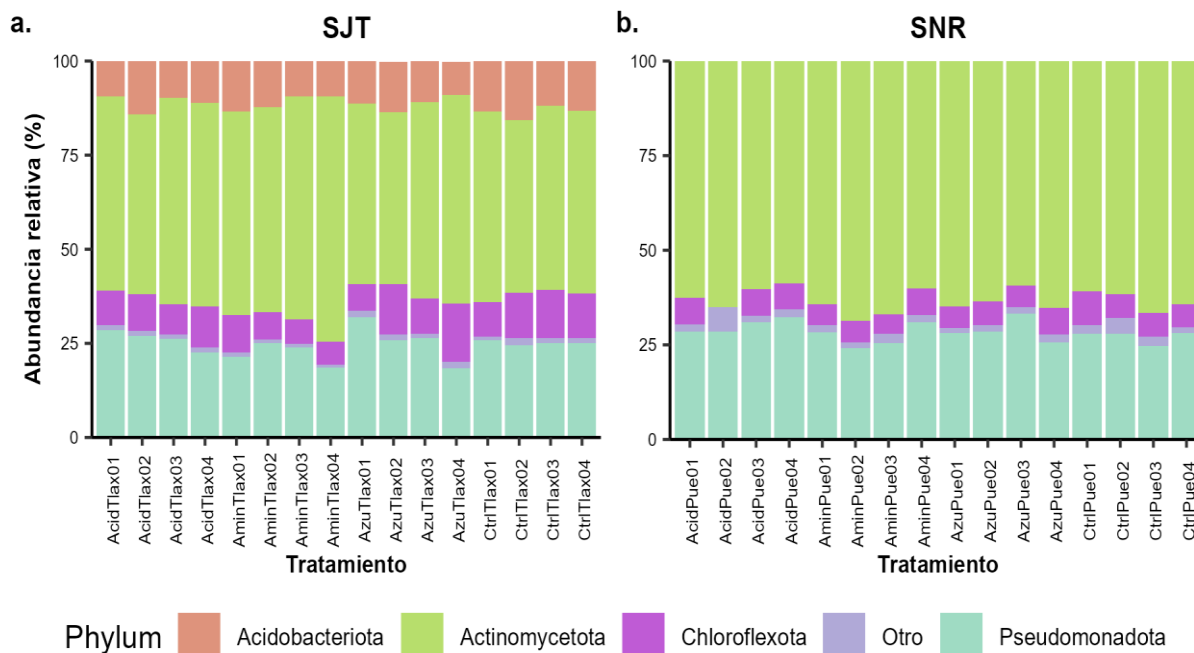


Figura 10. Composición de comunidades bacterianas a nivel de filo en muestras. Cada muestra se registra según una clave representativa del tratamiento y suelo, así como un número correspondiente a su repetición. Acid = ácidos orgánicos, Amin = aminoácidos, Azu = azúcares, Pue = Puebla, Tlax = Tlaxcala

Aunado a esto, la composición microbiana rizosférica según sitio en ausencia de tratamientos fue diferente ( $p < 0.05$ ) entre los filos Acidobacteriota, Armatimonadota, Deinococcota, Gemmatimonadota, Myxococcota y Verrucomicrobiota, mientras que la diferencia en abundancias de filos como Actinomycetota, Chloroflexota y Pseudomonadota no resultó significativa (Cuadro 9). Es relevante destacar que estos tres últimos filos representaron la mayor parte de la composición microbiana en todas las muestras (aproximadamente 97% de la diversidad bacteriana en suelo de SNR y 98% en suelo de SJT), por lo que es posible que la diferencia significativa apreciada para el resto de los filos se deba a la presencia de ceros estructurales en sus abundancias de ciertas muestras.

Cuadro 9. Diferencias en abundancia a nivel de filo de bacterias entre suelos de SNR y SJT sin aplicación de tratamiento de acuerdo con el método ANCOM-BC

Filo	LFC SNR - SJT
Acidobacteriota	2.53 ± 0.21 *
Actinomycetota	-0.16 ± 0.20
Armatimonadota	1.72 ± 0.36 *
Bacillota	-0.72 ± 0.76
Bdellovibrionota	0.17 ± 0.61
Chloroflexota	0.64 ± 0.22
Cyanobacteriota	-1.37 ± 0.89
Deinococcota	-1.58 ± 0.00 *
Gemmatimonadota	1.23 ± 0.20 *
Myxococcota	0.84 ± 0.00 *
Patescibacteria	0.30 ± 0.33
Planctomycetota	0.78 ± 0.79
Pseudomonadota	0.03 ± 0.17
Verrucomicrobiota	2.57 ± 0.00 *

Cada valor representa la media del cambio de pliegue logarítmico en las abundancias de determinado taxón ± su error estándar. Diferencia significativa entre abundancias se señala con asterisco considerando \* $p < 0.05$ . SNR = San Nicolás de los Ranchos, SJT = San José Teacalco, LFC = Log fold change

Los tratamientos con metabolitos no modificaron ( $p > 0.05$ ) la abundancia de la comunidad microbiana en suelo a nivel de filo, con algunas excepciones puntuales. En muestras con suelo de SNR, el tratamiento con aminoácidos aumentó ( $p < 0.05$ ) la abundancia de los fillos Myxococcota, Patescibacteria y Bdellovibrionota con respecto a sus abundancias testigo (Cuadro 10). Sin embargo, los tratamientos con ácidos orgánicos y azúcares no modificaron ( $p > 0.05$ ) la composición microbiana con respecto a las muestras testigo al nivel de filo. Por otra parte, en suelo de SJT, los tres tratamientos disminuyeron la abundancia del filo Myxococcota ( $p < 0.05$ ), con el mayor efecto inducido por el tratamiento con aminoácidos (Cuadro 11). Asimismo, los tratamientos no modificaron ( $p > 0.05$ ) la abundancia de los principales fillos encontrados en las muestras (Acidobacteriota, Actinomycetota, Chloroflexota y Pseudomonadota).

Cuadro 10. Diferencias en abundancia de bacterias a nivel de filo entre muestras tratadas con mezclas de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa) y el tratamiento testigo en suelo de San Nicolás de los Ranchos, Puebla

<b>Filo</b>	<b>LFC Ácidos orgánicos</b>	<b>LFC Aminoácidos</b>	<b>LFC Azúcares</b>
Acidobacteria	-0.13 ± 0.24	0.38 ± 0.32	-0.19 ± 0.27
Actinomycetota	-0.06 ± 0.22	0.65 ± 0.33	0.05 ± 0.26
Armatimonadota	-1.14 ± 0.76	-0.11 ± 0.55	0.07 ± 0.28
Bacillota	0.92 ± 0.76	-0.17 ± 0.57	-0.73 ± 0.78
Bdellovibrionota	0.73 ± 0.62	2.19 ± 0.72 *	-0.96 ± 0.76
Candidatus	-0.01 ± 0.31	-0.42 ± 0.60	0.35 ± 0.29
Eremiobacterota	-0.08 ± 0.26	0.48 ± 0.29	-0.03 ± 0.26
Chloroflexota	-0.08 ± 0.26	0.48 ± 0.29	-0.03 ± 0.26
Cyanobacteriota	-1.65 ± 0.90	-0.88 ± 1.00	-1.11 ± 0.93
Deinococcota	0.40 ± 0.52	-0.32 ± 0.72	-0.76 ± 0.74
Gemmatimonadota	0.04 ± 0.15	0.05 ± 0.28	0.09 ± 0.22
Myxococcota	-0.69 ± 0.68	1.38 ± 0.00 *	0.02 ± 0.87
Patescibacteria	0.37 ± 0.34	1.55 ± 0.46 *	0.34 ± 0.45
Planctomycetota	-0.57 ± 1.06	1.17 ± 1.08	0.58 ± 0.69
Pseudomonadota	0.07 ± 0.20	0.62 ± 0.27	0.11 ± 0.27

Cada valor representa la media del cambio de pliegue logarítmico en las abundancias de determinado taxón ± su error estándar. Cada LFC se obtuvo al comparar la diferencia de abundancia de un taxón en una muestra con tratamiento contra su testigo. Diferencia significativa entre abundancias se señala con asterisco considerando  $*p < 0.05$ . LFC = Log fold change

Cuadro 11. Diferencias en abundancia de bacterias a nivel de filo entre muestras tratadas con mezclas de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa) y el tratamiento testigo en suelo de San José Teacalco, Tlaxcala

Filo	Log fold change Ácidos orgánicos	Log fold change Aminoácidos	Log fold change Azúcares
Acidobacteriota	-0.13 ± 0.14	-0.01 ± 0.13	-0.21 ± 0.21
Actinomycetota	0.14 ± 0.14	0.38 ± 0.18	0.02 ± 0.23
Armatimonadota	-0.27 ± 0.33	-1.24 ± 0.71	0.13 ± 0.44
Bacillota	1.00 ± 0.66	0.19 ± 0.99	-0.32 ± 0.93
Bdellovibrionota	0.66 ± 0.36	-0.88 ± 0.71	0.45 ± 0.44
Candidatus	0.62 ± 0.29	0.00 ± 0.44	-0.07 ± 0.29
Eremiobacterota			
Chloroflexota	-0.12 ± 0.16	-0.24 ± 0.16	-0.06 ± 0.22
Cyanobacteriota	0.37 ± 0.35	0.11 ± 0.59	0.64 ± 0.69
Deinococcota	-0.04 ± 0.17	0.43 ± 0.44	0.20 ± 0.22
Gemmatimonadota	-0.09 ± 0.24	-0.30 ± 0.23	-0.03 ± 0.26
Myxococcota	-0.82 ± 0.00 *	-1.44 ± 0.00 *	-0.96 ± 0.00 *
Patescibacteria	0.42 ± 0.31	0.22 ± 0.37	0.08 ± 0.36
Planctomycetota	-0.63 ± 0.71	-0.60 ± 1.19	-0.87 ± 1.10
Pseudomonadota	0.11 ± 0.14	0.07 ± 0.16	-0.01 ± 0.27
Verrucomicrobiota	-0.05 ± 1.16	0.71 ± 1.01	-1.38 ± 1.04

Cada valor representa la media del cambio de pliegue logarítmico en las abundancias de determinado taxón ± su error estándar. Cada LFC se obtuvo al comparar la diferencia de abundancia de un taxón en una muestra con tratamiento contra su testigo. Diferencia significativa entre abundancias se señala con asterisco considerando  $*p < 0.05$ . LFC = Log fold change

Por otro lado, las abundancias de los ASV a nivel de filo se agruparon distintivamente de acuerdo con el sitio del que provenían las muestras de suelo (Figura 11), mas no de acuerdo con el tratamiento aplicado, coincidente a lo visto en el análisis de comunidades. Este hecho sugiere que la diversidad bacteriana endógena de cada sitio se diferencia lo suficiente para apreciar este agrupamiento, presumiblemente como consecuencia de las propiedades contrastantes de cada suelo responsables de modificar la diversidad microbiana (contenido de nutrientes, pH, agregación, entre otros), a pesar de que la comparación puntual entre abundancia de filos según sitio no resultara significativa para los taxones principales. A priori, al considerar que el contenido de nutrientes es uno de los parámetros que más distingue a ambos sitios, sumado al

hecho de que está establecido en la literatura que el contenido de nutrientes juega un rol crucial en la abundancia y diversidad de las comunidades microbianas en la rizósfera (Koorem *et al.*, 2014), los resultados sugieren que los tratamientos aplicados, en la escala de tiempo contemplada por el experimento (20 días desde su aplicación inicial hasta la recolección de muestras de suelo para su análisis), no modifican la diversidad al nivel taxonómico de filo ni alteran el ambiente rizosférico de tal forma que la comunidad microbiana se vea completamente reconfigurada. Este hecho resulta importante al considerar la creciente preocupación en torno al uso de microorganismos como agentes bioestimulantes y biofertilizantes en cultivos de interés agrícola, y el posible impacto ecológico que la modificación abrupta y temporal de la composición microbiana en un suelo pueda tener (Jack *et al.*, 2021).

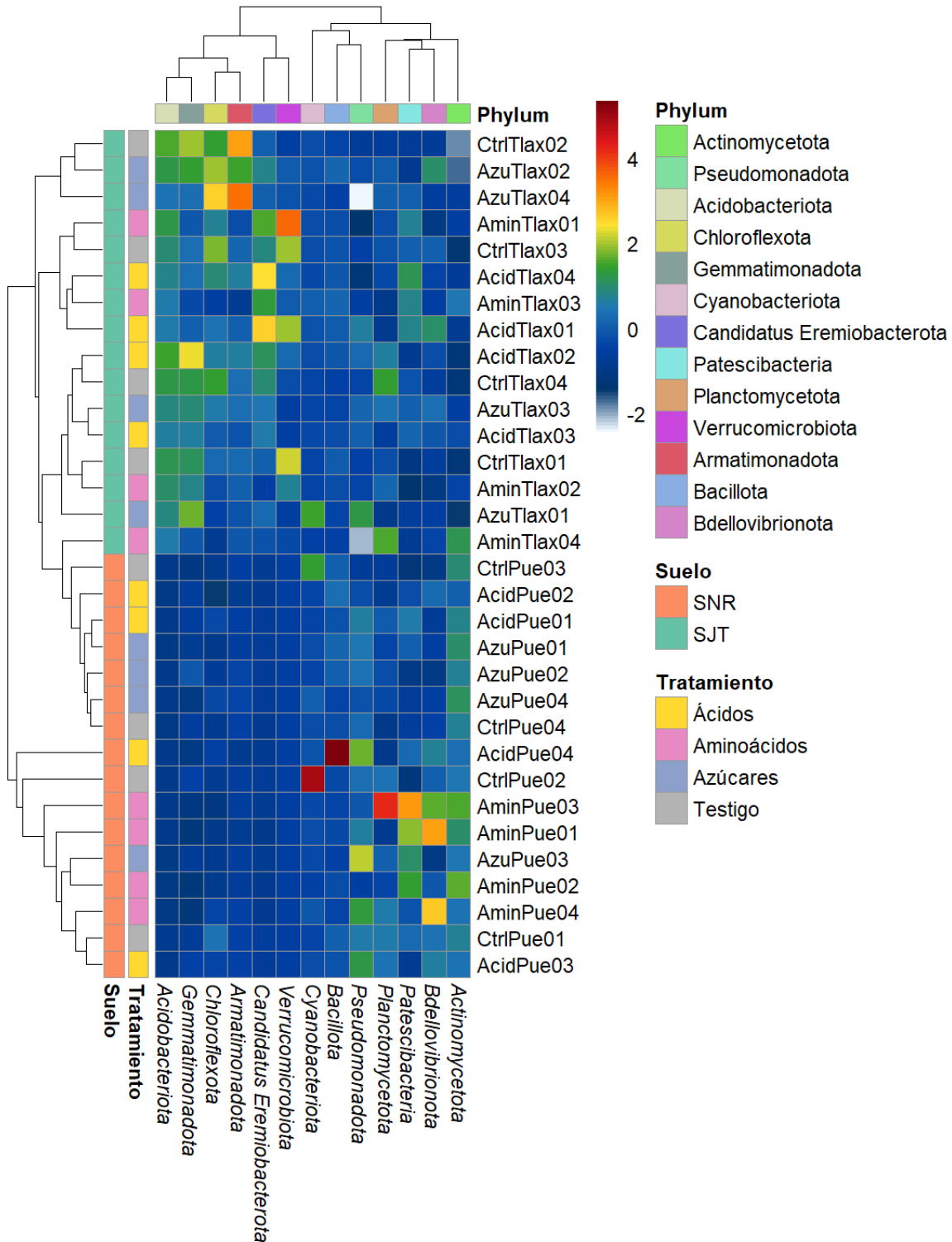


Figura 11. Mapa de calor de composición de comunidades bacterianas en muestras a nivel de filo. La abundancia de los taxones se encuentra expresada en unidades estandarizadas z-score posterior a la transformación logarítmica ( $\log_{10}$ ) de su cuenta absoluta. Dendrograma expresa agrupación en función del índice de disimilitud Bray-Curtis. Acid = ácidos orgánicos, Amin = aminoácidos, Azu = azúcares, Pue = Puebla, Tlax = Tlaxcala, SNR = San Nicolás de los Ranchos, SJT = San José Teacalco.

A niveles taxonómicos inferiores y en suelo de ambos sitios, se observó una modificación significativa ( $p < 0.05$ ) en la abundancia de una variedad de familias provenientes principalmente de los filos Actinomycetota y Pseudomonadota, y en menor medida Acidobacteriota y Chloroflexota, con patrones de aumento/disminución particulares para cada tratamiento. En términos generales, el tratamiento con aminoácidos en suelo de SNR indujo el mayor enriquecimiento de actinomicetos con respecto al resto de tratamientos, al aumentar significativamente ( $p < 0.05$ ) la abundancia de las familias Bogoriellaceae, Microbacteriaceae, Micrococcaceae y Nocardiaceae con respecto al testigo, mientras que los tratamientos con ácidos orgánicos y azúcares produjeron resultados similares entre sí, al incrementar cada uno la abundancia de las familias Bogoriellaceae, Micrococcaceae y Cellulomonadaceae, Nakamurellaceae, respectivamente (Cuadro 12). Cabe destacar que además de reclutar una menor diversidad de familias de actinomicetos en comparación con el tratamiento con aminoácidos, el aumento puntual en abundancia con respecto a sus testigos debido a estos tratamientos fue también menor que el inducido por los aminoácidos, sumado al hecho de que el tratamiento con azúcares disminuyó la abundancia de Frankiaceae, una familia que alberga al género *Frankia* y que se reconoce como uno de los más relevantes en lo que respecta a la fijación biológica de N (Liu *et al.*, 2024; (M. Zhang *et al.*, 2025). El enriquecimiento de actinomicetos por los tratamientos, particularmente el de aminoácidos, resulta relevante debido a que estos microorganismos se relacionan en gran medida con diversos procesos importantes en suelo como el reciclaje ecológico, por su rol en la degradación de materia orgánica, descomposición de polisacáridos complejos (como la lignina y la quitina) y la producción de antibióticos, lo que les otorga su potencial como agentes de control biológico (Javed *et al.*, 2021). Asimismo, se ha demostrado que la productividad de cereales como trigo, maíz, sorgo y avena, entre otros, es favorecida en suelos enriquecidos con actinomicetos, posiblemente debido a que estos microorganismos aumentan el contenido de elementos esenciales para el crecimiento vegetal (Hozzein *et al.*, 2019).

Cuadro 12. Diferencias en abundancia de bacterias a nivel de familia entre muestras tratadas con mezclas de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa) y el tratamiento testigo en suelo de San Nicolás de los Ranchos, Puebla

<b>Filo</b>	<b>Familia</b>	<b>LFC</b> <b>Ácidos orgánicos</b>	<b>LFC</b> <b>Aminoácidos</b>	<b>LFC</b> <b>Azúcares</b>
Acidobacteriota	Acidobacteriaceae	N.A.	-0.62 ± 0.00	N.A.
Actinomycetota	Bogoriellaceae	0.20 ± 0.00	1.00 ± 0.00	N.A.
	Cellulomonadaceae	N.A.	N.A.	0.64 ± 0.18
	Frankiaceae	N.A.	N.A.	-0.63 ± 0.17
	Microbacteriaceae	N.A.	0.75 ± 0.15	N.A.
	Micrococcaceae	0.41 ± 0.10	0.68 ± 0.13	N.A.
	Nakamurellaceae	N.A.	N.A.	0.31 ± 0.08
	Nocardiaceae	N.A.	1.05 ± 0.20	N.A.
Chloroflexota	Herpetosiphonaceae	N.A.	0.11 ± 0.01	1.55 ± 0.44
Pseudomonadota	Caedibacteraceae	0.91 ± 0.00	N.A.	N.A.
	Devosiaceae	N.A.	0.60 ± 0.15	N.A.
	Dongiaceae	N.A.	N.A.	0.23 ± 0.06
	Ferrovibrionaceae	1.68 ± 0.00	N.A.	0.81 ± 0.00
	Kaistiaceae	2.53 ± 0.00	2.10 ± 0.00	2.32 ± 0.00
	Magnetospiraceae	N.A.	1.67 ± 0.00	N.A.
	Magnetospirillaceae	N.A.	N.A.	1.01 ± 0.00
	Micavibrionaceae	N.A.	-1.11 ± 0.00	N.A.
	Paracoccaceae	N.A.	N.A.	0.45 ± 0.10
	Parvularculaceae	-0.78 ± 0.00	-1.34 ± 0.00	N.A.
	Rhizobiaceae	0.61 ± 0.12	0.83 ± 0.20	N.A.

Cada valor representa la media del cambio de pliegue logarítmico en las abundancias de determinado taxón ± su error estándar. Cada LFC se obtuvo al comparar la diferencia de abundancia de un taxón en una muestra con tratamiento contra su testigo. Se incluyen únicamente diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), en caso contrario se presenta como N.A (No aplica). LFC = Log fold change

Por otro lado, el tratamiento con azúcares aumentó con respecto al testigo ( $p < 0.05$ ) la abundancia de cinco familias del filo Pseudomonadota, (Dongiaceae, Ferrovibrionaceae, Kaistiaceae, Magnetospirillaceae y Paracoccaceae), y la abundancia de Herpetosiphonaceae, una familia del filo Chloroflexota que se ha asociado con actividad quitinolítica en suelo (Hui *et al.*, 2020). El tratamiento con aminoácidos también indujo un enriquecimiento de Herpetosiphonaceae en comparación con su testigo, aunque de menor magnitud, además de las familias Devosiaceae, Kaistiaceae, Magnetospiraceae, mientras que disminuyó

significativamente ( $p < 0.05$ ) la abundancia de las familias Micavibrionaceae y Parvularculaceae. En contraste, el tratamiento con ácidos orgánicos produjo un enriquecimiento ( $p < 0.05$ ) de las familias Caedibacteraceae, Ferrovibrionaceae y Kaistiaceae con respecto al testigo, además de disminuir la abundancia de Parvularculaceae, de forma similar al tratamiento con aminoácidos. Asimismo, resulta destacable que la familia Rhizobiaceae, la cual alberga géneros reconocidos como importantes bacterias fijadoras de nitrógeno, como *Rhizobium* y *Ensifer* (Shamseldin *et al.*, 2017), presentó un aumento de su abundancia debido a los tratamientos con ácidos orgánicos y aminoácidos, con un enriquecimiento mayor debido al segundo (Cuadro 12).

De forma similar a como lo hizo en suelo de SNR, el tratamiento con aminoácidos en suelo SJT indujo el mayor enriquecimiento de actinomicetos con respecto a los otros tratamientos (Cuadro 13), al aumentar con respecto al testigo la abundancia de la familia Promicromonosporaceae, la cual contiene géneros como *Cellulosimicrobium*, asociado con la degradación del xilano, polisacárido de la hemicelulosa presente en la corteza de los árboles (Dou *et al.*, 2020) y la solubilización de complejos de fosfato y potasio insolubles (Qingwei *et al.*, 2023; Matthew & Shivakumar, 2021). Además, aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) con respecto al testigo la abundancia de las familias de proteobacterias Beijerinckiaceae, Hyphomicrobiaceae, Magnetospirillaceae y Sphingomonadaceae, esta última donde se encuentra el género *Sphingomonas* y que se ha asociado con la biorremediación de suelo a través de la biodegradación de hidrocarburos (Zhou *et al.*, 2016) y la promoción de crecimiento vegetal a partir de la producción de fitohormonas (Asaf *et al.*, 2020).

Cuadro 13. Diferencias en abundancia de bacterias a nivel de familia entre muestras tratadas con mezclas de ácidos orgánicos (málico + cítrico), aminoácidos (arginina + metionina) y azúcares (melibiosa + xilosa) y el tratamiento testigo en suelo de San José Teacalco, Tlaxcala

<b>Filo</b>	<b>Familia</b>	<b>LFC Ácidos orgánicos</b>	<b>LFC Aminoácidos</b>	<b>LFC Azúcares</b>
Actinomycetota	Microbacteriaceae	0.48 ± 0.13	0.71 ± 0.00	N.A.
	Microtrichaceae	0.63 ± 0.00	N.A.	N.A.
	Nakamurellaceae	N.A.	N.A.	0.87 ± 0.19
	Promicromonosporaceae	N.A.	2.05 ± 0.00	N.A.
Chloroflexota	Herpetosiphonaceae	-0.94 ± 0.00	-0.81 ± 0.00	-0.86 ± 0.00
Pseudomonadota	Beijerinckiaceae	0.25 ± 0.05	0.30 ± 0.00	N.A.
	Hyphomicrobiaceae	N.A.	1.08 ± 0.00	N.A.
	Magnetospirillaceae	1.98 ± 0.00	0.39 ± 0.00	0.45 ± 0.00
	Micavibrionaceae	N.A.	N.A.	0.74 ± 0.36
	Paracoccaceae	0.62 ± 0.00	N.A.	N.A.
	Reyranellaceae	N.A.	N.A.	0.26 ± 0.12
	Rhodospirillaceae	N.A.	-1.84 ± 0.00	N.A.
	Rickettsiaceae	N.A.	N.A.	0.34 ± 0.62
	Sphingomonadaceae	N.A.	0.65 ± 0.00	N.A.

Cada valor representa la media del cambio de pliegue logarítmico en las abundancias de determinado taxón ± su error estándar. Cada LFC se obtuvo al comparar la diferencia de abundancia de un taxón en una muestra con tratamiento contra su testigo. Se incluyen únicamente diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), en caso contrario se presenta como N.A (No aplica). LFC = Log fold change

En contraste con lo visto en niveles taxonómicos mayores, se apreció un mayor agrupamiento de las abundancias de los ASV a nivel de familia según el tratamiento aplicado, además de diferenciarse de acuerdo con el suelo utilizado (Figura 12). Este agrupamiento fue de igual forma perceptible a nivel de géneros representativos (Figura 13), lo que sugiere que el efecto selectivo de los metabolitos sobre la comunidad microbiana en la rizósfera es sensible a niveles taxonómicos inferiores, al modificar la abundancia de ciertos taxones específicos en lugar de la comunidad bacteriana en su totalidad. Esto resulta sustentado por el hecho de que el efecto selectivo de estos metabolitos depende en gran medida de las rutas metabólicas específicas a las que puedan llegar a incorporarse, cuya expresión está naturalmente determinada por el fenotipo específico de ciertos microorganismos (Kuzuyakov & Razavi, 2019). Un potencial campo de

futura exploración, a raíz de esto, podría basarse en la exploración transcriptómica de la comunidad bacteriana por efecto de estos y otros metabolitos presentes en la exudación radical, con la finalidad de establecer un modelo que incorpore la utilización de estos tratamientos en su metabolismo, la dinámica de nutrientes en suelo y la identificación de organismos cuya actividad pueda asociarse a la promoción del crecimiento de plantas de interés agrícola.

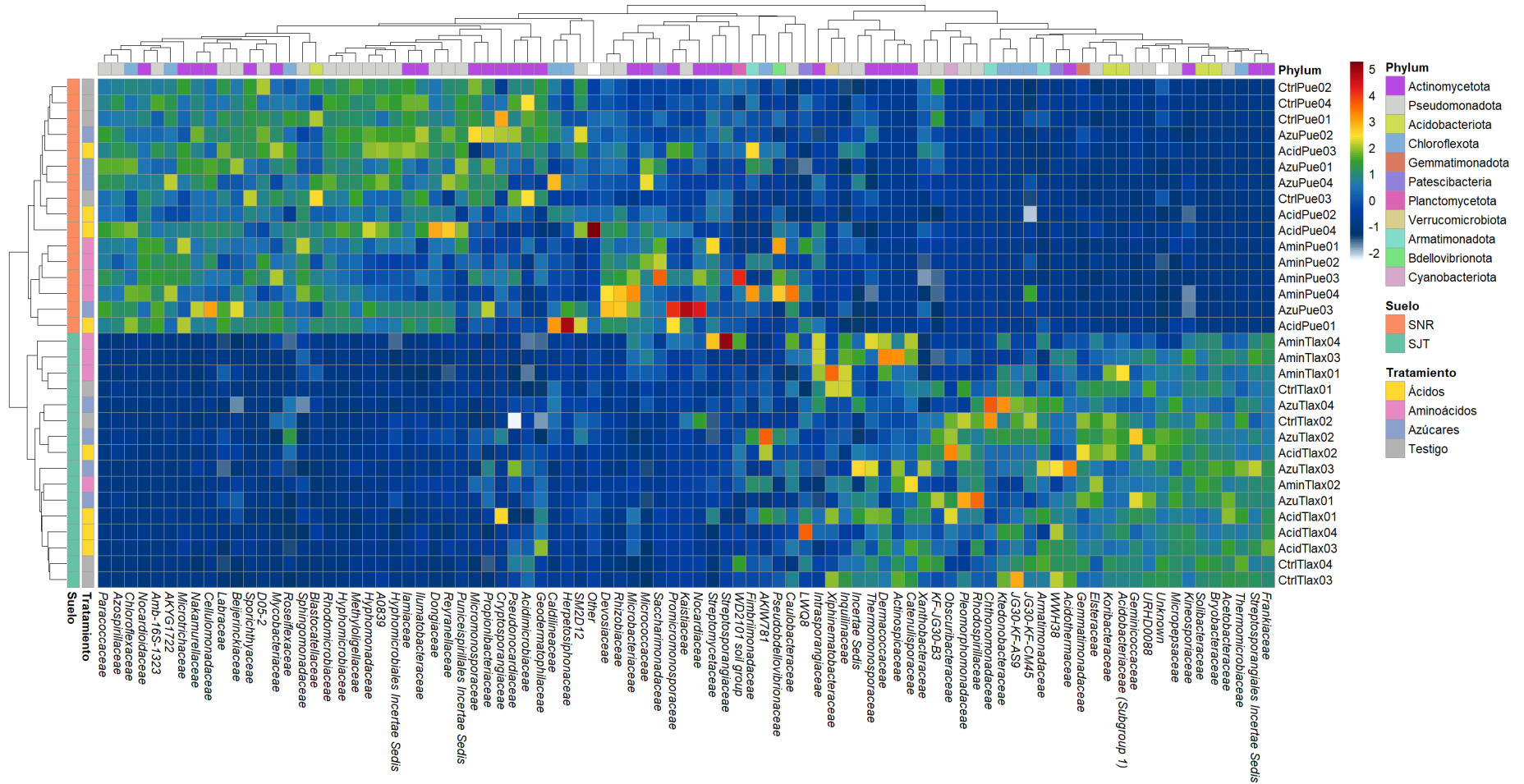


Figura 12. Mapa de calor de composición de comunidades bacterianas en muestras a nivel de familia. La abundancia de los taxones se encuentra expresada en unidades estandarizadas z-score posterior a la transformación logarítmica ( $\log_{10}$ ) de su cuenta absoluta. Dendrograma expresa agrupación en función del índice de disimilitud Bray-Curtis. Acid = ácidos orgánicos, Amin = aminoácidos, Azu = azúcares, Pue = Puebla, Tlax = Tlaxcala, SNR = San Nicolás de los Ranchos, SJT = San José Teacalco.



### 13. CONCLUSIONES

- En suelo de SNR y SJT, los tratamientos disminuyeron la prevalencia de daño en tallo hasta en un 14% con respecto al testigo, lo que sugiere el enriquecimiento en suelo de bacterias reguladoras del daño tisular.
- Los tratamientos modificaron el pH y la conductividad eléctrica del suelo donde fueron aplicados. En particular, el tratamiento con aminoácidos indujo la acidificación del suelo de ambos sitios hasta cerca de 0.3 unidades, mientras que los tratamientos con ácidos orgánicos y azúcares resultaron en aumentos de pH cerca de 0.15 unidades.
- Entre los tratamientos, los aminoácidos indujeron el mayor incremento en la actividad microbiana de ambos suelos, lo que sugiere su potencial en la promoción del reciclaje de nutrientes y el aumento de su disponibilidad para el mantenimiento de los cultivos. Además, la actividad de la FDE se asoció con las condiciones de suelo, particularmente el pH, en la medida que estas fueron modificadas por la aplicación de los tratamientos. En contraste, los tratamientos no indujeron alguna diferencia en la actividad de la quitinasa, por lo que la disminución de daño en tallo encontrada puede relacionarse con otros mecanismos no explorados en este trabajo. Finalmente, en suelo SNR los tratamientos con azúcares y aminoácidos disminuyeron la actividad de la nitrogenasa, lo que podría deberse a que las rizobacterias optimizan su metabolismo consumiendo estos sustratos en lugar de recurrir a la energéticamente demandante fijación de N.
- El estudio de la diversidad bacteriana en la rizósfera asociada a maíz tras la aplicación de los tratamientos demostró que estos ejercieron un efecto selectivo sobre la comunidad, reflejado por la disminución del índice de Shannon, en suelo de SNR, mientras que en suelo de SJT únicamente el tratamiento con aminoácidos disminuyó la diversidad bacteriana. Asimismo, se encontró que el tratamiento con aminoácidos aumentó en mayor medida, con respecto a los otros tratamientos, la abundancia de familias del filo Actinomycetota en ambos suelos, involucradas en la degradación de materia orgánica. Además, se determinó que el pH y la conductividad eléctrica tuvieron correlación con la composición de las comunidades bacterianas en muestras con tratamiento.

## 14. BIBLIOGRAFÍA

1. Adeleke, R., Nwangburuka, C., & Oboirien, B. (2017). Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. In *South African Journal of Botany* (Vol. 108, pp. 393–406). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.09.002>
2. Adhikari, D., Jiang, T., Kawagoe, T., Kai, T., Kubota, K., Araki, K. S., & Kubo, M. (2017). Relationship among phosphorus circulation activity, bacterial biomass, ph, and mineral concentration in agricultural soil. *Microorganisms*, 5(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040079>
3. Asaf, S., Numan, M., Khan, A. L., & Al-Harrasi, A. (2020). Sphingomonas: from diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth. In *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 40, Issue 2, pp. 138–152). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1709793>
4. Bashir, S., Iqbal, A., Hasnain, S., & White, J. F. (2021). Screening of sunflower associated bacteria as biocontrol agents for plant growth promotion. *Archives of Microbiology*, 203(8), 4901–4912. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02463-8>
5. Bennetzen, J., & Hake, S. (2009). *Handbook of Maize* (Primera edición). Springer New York, NY.
6. Bernal, B., McKinley, D. C., Hungate, B. A., White, P. M., Mozdzer, T. J., & Megonigal, J. P. (2016). Limits to soil carbon stability; Deep, ancient soil carbon decomposition stimulated by new labile organic inputs. *Soil Biology and Biochemistry*, 98, 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.04.007>
7. Castro, R. ;, Álvarez, A. ;, Machado, E. ;, Mendoza, M. ;, Gómez, R., & ; A García, P. (2011). CARACTERIZACIÓN DE UNA QUITINASA EXTRACELULAR PRODUCIDA POR *Serratia* sp. BIOMI-363706 USANDO QUITINA COLOIDAL COMO SUSTRATO. *Rev Soc Quím Perú*, 77(2), 101–108.
8. Compant, S., Samad, A., Faist, H., & Sessitsch, A. (2019). A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of Advanced Research*, 19, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.004>
9. Daunoras, J., Kačergius, A., & Gudiukaitė, R. (2024). Role of Soil Microbiota Enzymes in Soil Health and Activity Changes Depending on Climate Change and the Type of

- Soil Ecosystem. In *Biology* (Vol. 13, Issue 2). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/biology13020085>
10. Ding, X., Fu, L., Liu, C., Chen, F., Hoffland, E., Shen, J., Zhang, F., & Feng, G. (2011). Positive feedback between acidification and organic phosphate mineralization in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.). *Plant and Soil*, *349*(1–2), 13–24. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0783-1>
  11. Długosz, J., Piotrowska-Długosz, A., Siwik-Ziomek, A., & Figas, A. (2022). Depth-Related Changes in Soil P-Acquiring Enzyme Activities and Microbial Biomass—The Effect of Agricultural Land Use/Plant Cover and Pedogenic Processes. *Agriculture (Switzerland)*, *12*(12). <https://doi.org/10.3390/agriculture12122079>
  12. Dou, T. Y., Chen, J., & Liu, C. (2020). Isolation and subunit compositions of the xylanosome complexes produced by *Cellulosimicrobium* species. *Enzyme and Microbial Technology*, *133*. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.109445>
  13. Dynarski, K. A., & Houlton, B. Z. (2018). Nutrient limitation of terrestrial free-living nitrogen fixation. *New Phytologist*, *217*(3), 1050–1061. <https://doi.org/10.1111/nph.14905>
  14. Egamberdieva, D., Wirth, S. J., Alqarawi, A. A., Abd-Allah, E. F., & Hashem, A. (2017). Phytohormones and beneficial microbes: Essential components for plants to balance stress and fitness. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 8, Issue OCT). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02104>
  15. Eleonora, M., & Pineda, B. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu*, *15*(1), 101–113.
  16. Fang, J., & Su, Y. (2019). Effects of Soils and Irrigation Volume on Maize Yield, Irrigation Water Productivity, and Nitrogen Uptake. *Scientific Reports*, *9*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41447-z>
  17. Fu, X., Fu, Q., Zhu, X., Yang, X., Chen, H., & Li, S. (2023). Microdiversity sustains the distribution of rhizosphere-associated bacterial species from the root surface to the bulk soil region in maize crop fields. *Frontiers in Plant Science*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1266218>

18. Guo, K., Yang, J., Yu, N., Luo, L., & Wang, E. (2023). Biological nitrogen fixation in cereal crops: Progress, strategies, and perspectives. *Plant Communications*, 4(2). <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100499>
19. Haldar, S., & Sengupta, S. (2015). Plant-microbe Cross-talk in the Rhizosphere: Insight and Biotechnological Potential. *Open Microbiology Journal*, 9, 1–7.
20. Hao, C., Dungait, J. A. J., Wei, X., Ge, T., Kuzyakov, Y., Cui, Z., Tian, J., & Zhang, F. (2022). Maize root exudate composition alters rhizosphere bacterial community to control hotspots of hydrolase activity in response to nitrogen supply. *Soil Biology and Biochemistry*, 170, 108717. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108717>
21. He, M., Dai, S., Zhu, Q., Wang, W., Chen, S., Meng, L., Dan, X., Huang, X., Cai, Z., Zhang, J., & Müller, C. (2024). Understanding the stimulation of microbial oxidation of organic N to nitrate in plant soil systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 190. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2024.109312>
22. Hessen, D. O., Göran, A. I., Anderson, T. R., Elser, J. J., & De Ruiter, P. C. (2004). Carbon sequestration in ecosystems: the role of stoichiometry. *Special Feature Ecology*, 85(5), 1179–1192.
23. Hozzein, W. N., Abuelsoud, W., Wadaan, M. A. M., Shuikan, A. M., Selim, S., Al Jaouni, S., & AbdElgawad, H. (2019). Exploring the potential of actinomycetes in improving soil fertility and grain quality of economically important cereals. *Science of the Total Environment*, 651, 2787–2798. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.048>
24. Hu, L., Robert, C. A. M., Cadot, S., Zhang, X., Ye, M., Li, B., Manzo, D., Chervet, N., Steinger, T., Van Der Heijden, M. G. A., Schlaeppi, K., & Erb, M. (2018). Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05122-7>
25. Hui, C., Jiang, H., Liu, B., Wei, R., Zhang, Y., Zhang, Q., Liang, Y., & Zhao, Y. (2020). Chitin degradation and the temporary response of bacterial chitinolytic communities to chitin amendment in soil under different fertilization regimes. *Science of the Total Environment*, 705. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136003>

26. INEGI. (2023). *Resultados Definitivos del Censo Agropecuario 2022*.  
[https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2023/CA\\_Def/CA\\_Def2022.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2023/CA_Def/CA_Def2022.pdf)
27. Jack, C. N., Petipas, R. H., Cheeke, T. E., Rowland, J. L., & Friesen, M. L. (2021). Microbial Inoculants: Silver Bullet or Microbial Jurassic Park? In *Trends in Microbiology* (Vol. 29, Issue 4, pp. 299–308). Elsevier Ltd.  
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.11.006>
28. Javed, Z., Tripathi, G. D., Mishra, M., & Dashora, K. (2021). Actinomycetes – The microbial machinery for the organic-cycling, plant growth, and sustainable soil health. In *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* (Vol. 31). Elsevier Ltd.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101893>
29. Jeyanthi, V., & Kanimozhi, S. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)-prospective and mechanisms: A review. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(2), 733–749. <https://doi.org/10.22207/JPAM.12.2.34>
30. Katayama, S., Omori, T., & Tateno, M. (2021). Fresh litter acts as a substantial phosphorus source of plant species appearing in primary succession on volcanic ash soil. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91078-6>
31. Kato, T. A., Mapes, C., Mera, L. M., Yamakake, K., Serratos, J. A., & Bye, R. A. (2009). *Origen y Diversificación del Maíz-Una Revisión Analítica* (Primera edición).
32. Kiss, L., & Veres, S. (2017). Study of yellow rust infection on various winter wheat genotypes. *Columella : Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 4(2), 27–32. <https://doi.org/10.18380/szie.colum.2017.4.2.27>
33. Koorem, K., Gazol, A., Öpik, M., Moora, M., Saks, Ü., Uibopuu, A., Sõber, V., & Zobel, M. (2014). Soil nutrient content influences the abundance of soil microbes but not plant biomass at the small-scale. *PLoS ONE*, 9(3).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091998>
34. Koyama, T., Enggrob, K. L., Rasmussen, J., Martins, J. T., & Peixoto, L. (2025). Substrate quantity and quality affect microbial carbon use efficiency and priming effects of root exudates investigated with microdialysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 209.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2025.109869>

35. Kuzyakov, Y., & Razavi, B. S. (2019). Rhizosphere size and shape: Temporal dynamics and spatial stationarity. *Soil Biology and Biochemistry*, *135*, 343–360. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.011>
36. Li, X., Su, L., Jing, M., Wang, K., Song, C., & Song, Y. (2025). Nitrogen addition restricts key soil ecological enzymes and nutrients by reducing microbial abundance and diversity. *Scientific Reports*, *15*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-025-87327-7>
37. Lin, H., & Peddada, S. Das. (2020). Analysis of compositions of microbiomes with bias correction. *Nature Communications*, *11*(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17041-7>
38. Liu, H., Ni, B., Duan, A., He, C., & Zhang, J. (2024). High Frankia abundance and low diversity of microbial community are associated with nodulation specificity and stability of sea buckthorn root nodule. *Frontiers in Plant Science*, *15*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1301447>
39. Lizcano-Toledo, R., Reyes-Martín, M. P., Celi, L., & Fernández-Ondoño, E. (2021). Phosphorus dynamics in the soil–plant–environment relationship in cropping systems: A review. *Applied Sciences (Switzerland)*, *11*(23). <https://doi.org/10.3390/app112311133>
40. Lohse, M., Santangeli, M., Steininger-Mairinger, T., Oburger, E., Reemtsma, T., Lechtenfeld, O. J., & Hann, S. (2023). The effect of root hairs on exudate composition: a comparative non-targeted metabolomics approach. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *415*(5), 823–840. <https://doi.org/10.1007/s00216-022-04475-9>
41. Lopes, L. D., Wang, P., Futrell, S. L., & Schachtman, D. P. (2022). Sugars and Jasmonic Acid Concentration in Root Exudates Affect Maize Rhizosphere Bacterial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, *88*(18). <https://doi.org/10.1128/aem.00971-22>
42. Lopez-Lozano, N. E., Carcaño-Montiel, M. G., & Bashan, Y. (2016). Using native trees and cacti to improve soil potential nitrogen fixation during long-term restoration of arid lands. *Plant and Soil*, *403*(1–2), 317–329. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2807-3>
43. Luo, Z., Wang, E., & Sun, O. J. (2016). A meta-analysis of the temporal dynamics of priming soil carbon decomposition by fresh carbon inputs across ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, *101*, 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.07.011>

44. Marahatta, S., Sah, S. K., McDonald, A., Timsina, J., & Devkota, K. P. (2025). Improving soil health and crop productivity through conservation agriculture and nitrogen management in rice-mustard-maize systems. *Field Crops Research*, 325. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2025.109825>
45. Matthew, T., & Shivakumar, S. (2021). Cellulosimicrobium funkei: A Novel Bacterium in Potassium Solubilization from Soil in Bangalore. In *International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR) ISSN* (Vol. 7, Issue 2).
46. Medina-de la Rosa, G., García-Oliva, F., & López-Lozano, N. E. (2023). Arginine and methionine increase the enzymatic activity of microbes involved in N and P cycles in arid soil from the Chihuahuan desert. *European Journal of Soil Biology*, 117. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2023.103517>
47. Meier, I. C., Finzi, A. C., & Phillips, R. P. (2017). Root exudates increase N availability by stimulating microbial turnover of fast-cycling N pools. *Soil Biology and Biochemistry*, 106, 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.12.004>
48. Mészárosóvá, L., Kut'áková, E., Kohout, P., Münzbergová, Z., & Baldrian, P. (2024). Plant effects on microbiome composition are constrained by environmental conditions in a successional grassland. *Environmental Microbiome*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00550-z>
49. Niu, B., Paulson, J. N., Zheng, X., & Kolter, R. (2017). Simplified and representative bacterial community of maize roots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(12), E2450–E2459. <https://doi.org/10.1073/pnas.1616148114>
50. Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11). <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
51. Peiffer, J. A., Romay, M. C., Gore, M. A., Flint-Garcia, S. A., Zhang, Z., Millard, M. J., Gardner, C. A. C., McMullen, M. D., Holland, J. B., Bradbury, P. J., & Buckler, E. S. (2014). The genetic architecture of maize height. *Genetics*, 196(4), 1337–1356. <https://doi.org/10.1534/genetics.113.159152>
52. Peiffer, J. A., Spor, A., Koren, O., Jin, Z., Tringe, S. G., Dangl, J. L., Buckler, E. S., & Ley, R. E. (2013). Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under

- field conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(16), 6548–6553. <https://doi.org/10.1073/pnas.1302837110>
53. Philippot, L., Chenu, C., Kappler, A., Rillig, M. C., & Fierer, N. (2024). The interplay between microbial communities and soil properties. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 22, Issue 4, pp. 226–239). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00980-5>
54. Piperno, D. R., Ranere, A. J., Holst, I., Iriarte, J., & Dickau, R. (2009). *Starch grain and phytolith evidence for early ninth millennium B.P. maize from the Central Balsas River Valley, Mexico*. [www.pnas.org/cgi/content/full/](http://www.pnas.org/cgi/content/full/)
55. Qingwei, Z., Lushi, T., Yu, Z., Yu, S., Wanting, W., Jiangchuan, W., Xiaolei, D., Xuejiao, H., & Bilal, M. (2023). Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from rhizosphere of poplar on road verge and their antagonistic potential against various phytopathogens. *BMC Microbiology*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02953-3>
56. Reed, S., Cleveland, C., & Townsend, A. (2011). Functional biology of heterotrophic nitrogen-fixing bacteria. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145034>
57. Rojas-Sánchez, B., Castelán-Sánchez, H., Garfías-Zamora, E. Y., & Santoyo, G. (2024). Diversity of the Maize Root Endosphere and Rhizosphere Microbiomes Modulated by the Inoculation with *Pseudomonas fluorescens* UM270 in a Milpa System. *Plants*, 13(7), 954. <https://doi.org/10.3390/plants13070954>
58. Santangeli, M., Steininger-Mairinger, T., Vetterlein, D., Hann, S., & Oburger, E. (2024). Maize (*Zea mays* L.) root exudation profiles change in quality and quantity during plant development – A field study. *Plant Science*, 338. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111896>
59. Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
60. Sasse, J., Martinoia, E., & Northen, T. (2018). Feed Your Friends: Do Plant Exudates Shape the Root Microbiome? In *Trends in Plant Science* (Vol. 23, Issue 1, pp. 25–41). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.09.003>

61. Shamseldin, A., Abdelkhalek, A., & Sadowsky, M. J. (2017). Recent changes to the classification of symbiotic, nitrogen-fixing, legume-associating bacteria: a review. In *Symbiosis* (Vol. 71, Issue 2, pp. 91–109). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s13199-016-0462-3>
62. SIAP. (2023). *Panorama Agroalimentario 2023* (Primera edición). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
63. Siles, J. A., Starke, R., Martinovic, T., Parente Fernandes, M. L., Orgiazzi, A., & Bastida, F. (2022). Distribution of phosphorus cycling genes across land uses and microbial taxonomic groups based on metagenome and genome mining. *Soil Biology and Biochemistry*, 174. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108826>
64. Staunton, S., & Pistocchi, C. (2025). Isotopic exchangeability reveals that soil phosphate is mobilised by carboxylate anions, whereas acidification had the reverse effect. *SOIL*, 11(1), 389–394. <https://doi.org/10.5194/soil-11-389-2025>
65. Sugihara, S., Tomita, Y., Nishigaki, T., Kilasara, M., Wasaki, J., & Funakawa, S. (2016). Effects of different phosphorus-efficient legumes and soil texture on fractionated rhizosphere soil phosphorus of strongly weathered soils. *Biology and Fertility of Soils*, 52(3), 367–376. <https://doi.org/10.1007/s00374-015-1082-4>
66. Sun, Z., Liu, S., Zhang, T., Zhao, X., Chen, S., & Wang, Q. (2019). Priming of soil organic carbon decomposition induced by exogenous organic carbon input: a meta-analysis. *Plant and Soil*, 443(1–2), 463–471. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04240-5>
67. Swarnalakshmi, K., Yadav, V., Tyagi, D., Dhar, D. W., Kannepalli, A., & Kumar, S. (2020). Significance of plant growth promoting rhizobacteria in grain legumes: Growth promotion and crop production. *Plants*, 9(11), 1–25. <https://doi.org/10.3390/plants9111596>
68. Tabatabai, M. A., & Bremner, J. M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Bd. Biochem*, 1, 301–307.
69. Tiziani, R., Miras-Moreno, B., Malacrinò, A., Vescio, R., Lucini, L., Mimmo, T., Cesco, S., & Sorgonà, A. (2022). Drought, heat, and their combination impact the root exudation patterns and rhizosphere microbiome in maize roots. *Environmental and Experimental Botany*, 203. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105071>

70. Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*, *18*(11), 607–621. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>
71. Upadhyay, S. K., Srivastava, A. K., Rajput, V. D., Chauhan, P. K., Bhojiya, A. A., Jain, D., Chaubey, G., Dwivedi, P., Sharma, B., & Minkina, T. (2022). Root Exudates: Mechanistic Insight of Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Crop Production. *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.916488>
72. Vocciante, M., Grifoni, M., Fusini, D., Petruzzelli, G., & Franchi, E. (2022). The Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Mitigating Plant’s Environmental Stresses. *Applied Sciences (Switzerland)*, *12*(3). <https://doi.org/10.3390/app12031231>
73. Wagner, M. R., Lundberg, D. S., Del Rio, T. G., Tringe, S. G., Dangl, J. L., & Mitchell-Olds, T. (2016). Host genotype and age shape the leaf and root microbiomes of a wild perennial plant. *Nature Communications*, *7*. <https://doi.org/10.1038/ncomms12151>
74. Wang, H., Qiu, Y., Zhang, K., Zhao, Y., Li, Y., Wang, Y., Bai, Y., Zhang, Y., & Hu, S. (2023). Alterations in substrate stoichiometry control the responses of soil diazotrophs to nutrient enrichment. *Soil Biology and Biochemistry*, *179*. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2023.108975>
75. Wang, M., Frey, B., Li, D., Liu, X., Chen, C., Liu, Y., Zhang, R., Sui, X., & Li, M. H. (2024). Effects of organic nitrogen addition on soil microbial community assembly patterns in the Sanjiang Plain wetlands, northeastern China. *Applied Soil Ecology*, *204*. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105685>
76. Wang, Q., Li, S., Li, J., & Huang, D. (2024). The Utilization and Roles of Nitrogen in Plants. *Forests*, *15*(7). <https://doi.org/10.3390/f15071191>
77. Wang, X., Feng, J., Ao, G., Qin, W., Han, M., Shen, Y., Liu, M., Chen, Y., & Zhu, B. (2023). Globally nitrogen addition alters soil microbial community structure, but has minor effects on soil microbial diversity and richness. *Soil Biology and Biochemistry*, *179*. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2023.108982>
78. Xia, X., Wei, Q., Wu, H., Chen, X., Xiao, C., Ye, Y., Liu, C., Yu, H., Guo, Y., Sun, W., & Liu, W. (2024). *Bacillus* species are core microbiota of resistant maize cultivars that induce host metabolic defense against corn stalk rot. *Microbiome*, *12*(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-024-01887-w>

79. Xie, Z., Yu, Z., Li, Y., Wang, G., Liu, X., Tang, C., Lian, T., Adams, J., Liu, J., Liu, J., Herbert, S. J., & Jin, J. (2022). Soil microbial metabolism on carbon and nitrogen transformation links the crop-residue contribution to soil organic carbon. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41522-022-00277-0>
80. Xing, W., Lu, X., Ying, J., Lan, Z., Chen, D., & Bai, Y. (2022). Disentangling the effects of nitrogen availability and soil acidification on microbial taxa and soil carbon dynamics in natural grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 164. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108495>
81. Xiong, R., He, X., Gao, N., Li, Q., Qiu, Z., Hou, Y., & Shen, W. (2024). Soil pH amendment alters the abundance, diversity, and composition of microbial communities in two contrasting agricultural soils. *Microbiology Spectrum*, 12(8). <https://doi.org/10.1128/spectrum.04165-23>
82. Yan, S., Yin, L., Dijkstra, F. A., Wang, P., & Cheng, W. (2023). Priming effect on soil carbon decomposition by root exudate surrogates: A meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 178. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2023.108955>
83. Yao, X., Nie, J., Bai, R., & Sui, X. (2020). Amino acid transporters in plants: Identification and function. In *Plants* (Vol. 9, Issue 8, pp. 1–17). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants9080972>
84. Yoneyama, T., Terakado-Tonooka, J., & Minamisawa, K. (2017). Exploration of bacterial N<sub>2</sub>-fixation systems in association with soil-grown sugarcane, sweet potato, and paddy rice: a review and synthesis. *Soil Science and Plant Nutrition*, 63(6), 578–590. <https://doi.org/10.1080/00380768.2017.1407625>
85. Yue, L., Jiao, L., Tao, M., Xu, L., Cao, X., Chen, F., Wang, C., Cheng, B., & Wang, Z. (2023). Dynamics of organic acid exudation and rhizobacteria in maize rhizosphere respond to N-CDs. *Science of the Total Environment*, 901. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166500>
86. Zeng, J., Liu, X., Song, L., Lin, X., Zhang, H., Shen, C., & Chu, H. (2016). Nitrogen fertilization directly affects soil bacterial diversity and indirectly affects bacterial community composition. *Soil Biology and Biochemistry*, 92, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.09.018>

87. Zhalnina, K., Louie, K. B., Hao, Z., Mansoori, N., Nunes da Rocha, U., Shi, S., Cho, H., Karaoz, U., Loqué, D., Bowen, B. P., Firestone, M. K., Northen, T. R., & Brodie, E. L. (2018). Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*, *3*, 470–480.
88. Zhang, F., Hou, Y., Zed, R., Mauchline, T. H., Shen, J., Zhang, F., & Jin, K. (2023). Root exudation of organic acid anions and recruitment of beneficial actinobacteria facilitate phosphorus uptake by maize in compacted silt loam soil. *Soil Biology and Biochemistry*, *184*. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2023.109074>
89. Zhang, M., He, T., Wu, P., Wang, C., & Zheng, C. (2025). Recent advances in the nitrogen cycle involving actinomycetes: Current situation, prospect and challenge. In *Bioresource Technology* (Vol. 419). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2025.132100>
90. Zhao, L. B., Tang, Z. X., Zhai, H. F., Lai, H. Y., Li, H. Y., Liu, S., Liao, X. Di, & Xing, S. C. (2025). Organic fertilizer mitigated the oxidative stress of tomato induced by nanoplastics through affecting rhizosphere soil microorganisms and bacteriophage functions. *Journal of Hazardous Materials*, *492*. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.138301>
91. Zhao, X., Tong, C., Pang, X., Wang, Z., Guo, Y., Du, F., & Wu, R. (2012). Functional mapping of ontogeny in flowering plants. *Briefings in Bioinformatics*, *13*(3), 317–328. <https://doi.org/10.1093/bib/bbr054>
92. Zhou, L., Li, H., Zhang, Y., Han, S., & Xu, H. (2016). Sphingomonas from petroleum-contaminated soils in Shenfu, China and their PAHs degradation abilities. *Brazilian Journal of Microbiology*, *47*(2), 271–278. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.001>