

Rizobacterias para el mejoramiento del cultivo de maíz (*Zea mays*). Una tecnología prometedora para la producción de maíces criollos

Edgar Tonatiuh Sánchez-Navarrete^{1*} **iD**, Ma Dolores Castañeda-Antonio² **iD**, Antonino Baez² **iD**, Yolanda Elizabeth Morales-García^{2,3,4*} **iD**.

¹ Licenciatura en Químico Farmacobiólogo. Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Puebla, México.

² Grupo “Ecology and Survival of Microorganisms”, Laboratorio Ecología Molecular Microbiana, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, BUAP, Puebla, México.

³ Licenciatura en Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP, Puebla, México.

⁴ Licenciatura en Estomatología, Facultad de Estomatología, BUAP, Puebla, México.

*Email autores corresponsales:

tonagsn@gmail.com; lissiamor@yahoo.com.mx

Recibido: 28 julio 2021. **Aceptado:** 08 septiembre 2021

RESUMEN

El maíz (*Zea mays*) es una planta gramínea que forma parte de la cultura mexicana, pues está presente en las actividades económicas y sociales del país. El mejoramiento de los cultivos de esta planta podría ser posible usando inoculantes formulados a base de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV), una tecnología que no contamina el suelo, que es económica y que puede disminuir el uso de los fertilizantes químicos; estos últimos tienen muchas desventajas en su uso. Las rizobacterias son importantes para la agricultura, aportan beneficios a la planta por medio de diferentes mecanismos, por ejemplo; solubilizando y movilizandolos minerales, haciéndolos más biodisponibles para su utilización (mecanismos directos), o también inhibiendo el crecimiento de microorganismos patógenos (mecanismos indirectos), influyendo de forma positiva en el crecimiento vegetal. Como resultado de esta interacción, se obtienen mejores cultivos; más resistentes y con granos de mejor calidad nutricional.

En este trabajo se analizó información sobre las experiencias de diversos autores que han realizado investigación experimental para obtener mejores rendimientos de maíz gracias a la aplicación de

RPCV, abriendo la posibilidad de su manejo como complemento y/o reemplazo parcial de fertilizantes químicos. Esta tecnología ha resultado eficiente para la estimulación de crecimiento de algunos maíces criollos y podría significar la tecnología que se requiere para el rescate y cultivo de las diferentes variedades de maíz criollo en México.

Palabras clave: *Azospirillum* spp.; *Bacillus* spp.; Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV); *Pseudomonas* spp.; maíz; *Zea mays*.

ABSTRACT

Maize (*Zea mays*) is a grass plant, part of Mexican culture, it is present in the economic and social country activities, the improvement of the crops of this plant could be possible using inoculants formulated based on Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGRP), a technology that does not pollute the soil, which is economical, and can reduce the use of chemical fertilizers; these last ones have many disadvantages in their use. Rhizobacteria are important for agriculture, they provide benefits to the plant through different mechanisms, for example, solubilizing and mobilizing minerals, making them more bioavailable for use (direct mechanisms), or also inhibiting the growth of pathogenic microorganisms (indirect mechanisms), positively influencing plant growth. As a result of this interaction, better crops are obtained, more resistant and with better nutritional quality grains.

This paper analysed information on the experiences of various authors who have carried out experimental research to obtain better maize yields thanks to the application of PGPR, opening the possibility of its management as a complement and/or partial replacement of chemical fertilizers. This technology has proved efficient for the stimulation of growth of some creole maize and could mean the technology that is required for the rescue and cultivation of the different varieties of creole maize in Mexico.

Keywords: *Azospirillum*; *Bacillus*; Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR); *Pseudomonas*; corn; *Zea mays*.

INTRODUCCIÓN

Zea mays es una planta gramínea y es uno de los cereales de mayor producción mundial junto

con el trigo y el arroz, la mayoría de los países de América utilizan el maíz como base de su alimentación regional. El maíz es el grano más

importante en la mayor parte del mundo, globalmente se considera que tiene una producción de más de un billón de toneladas, esta planta ha sido utilizada como modelo biológico en diversos estudios por más de un siglo. En México, el maíz tiene un papel importante en el sector agrícola, pues representa una tradición productiva, de consumo y socioeconómica, que ha permitido a esta planta llegar a trascender hasta la actualidad [1–4]. Además, México es sitio de origen del maíz, razón por la que existe un gran número de variedades y muchas de ellas aún sin catalogar [5], lo que denota que es una planta que, aunque ha sido domesticada, tiene una enorme diversidad en cuanto a sus variedades [6].

El aumento en la demanda alimenticia debido al crecimiento poblacional impacta en la producción agrícola desmesurada y mal planeada con el fin de cubrir esas necesidades alimenticias [7]. Esto provoca la degradación del suelo; soporte fundamental para la agricultura que, a pesar de ser un recurso natural no renovable y de regeneración lenta, provee de agua y nutrientes a los cultivos [7,8].

Los fertilizantes son caros, se estima que la fertilización nitrogenada representa un costo del 40% del total de la producción, poseen un gran potencial contaminante, con graves consecuencias para el medio ambiente, su

fabricación requiere de grandes cantidades de petróleo [9]. Cuando se aplican al suelo los fertilizantes químicos generalmente se pierden por lixiviación y volatilización; provocando efectos adversos al medio ambiente [10].

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (en inglés Food and Agriculture Organization, FAO) en el año 2018 se usaron cerca de 200 millones de toneladas de fertilizantes sintéticos y se espera un incremento de hasta 70% para el año 2050 [11]. Los fertilizantes también secundan la degradación del suelo, principalmente por su alto contenido en metales pesados como son el mercurio (Hg), plomo (Pb), cadmio (Cd) y arsénico (As), derivando en la pérdida de sus características físicas y químicas [11]. Estos productos se acumulan en los suelos repercutiendo en las comunidades microbianas presentes, con un alto riesgo también de perjudicar la salud humana [12].

Actualmente, la degradación del suelo afecta a 1900 millones de hectáreas en todo el mundo, incrementándose rápidamente a una tasa de 5 a 7 millones de hectáreas por año [12]. La demanda constante y en aumento de alimentos producto de la tierra como el maíz (*Zea mays*) obliga a encontrar soluciones amigables con el suelo a la par de mejorar su rendimiento [1].

La parte del suelo influenciado por las raíces de las plantas se denomina rizósfera y en este

ambiente se alberga una gran cantidad de bacterias con diferentes funciones. Estas bacterias se han aislado y caracterizado, además de que muchas de ellas han resultado útiles para producir biofertilizantes [13]. Este tipo de tecnologías son compatibles con el medio ambiente y se han convertido en una tendencia en aumento que funcionan como alternativa para suplir parcialmente a los fertilizantes sintéticos y evitar sus daños [12].

Las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) son capaces de estimular el crecimiento de las plantas mediante mecanismos directos e indirectos [13,14]. Las RPCV que ejercen un mecanismo directo, están implicadas en proporcionar un nutrimento a las plantas o hacerlo más biodisponible. Entre los mecanismos directos se pueden encontrar procesos como la fijación de nitrógeno y la solubilización de fosfatos realizados por rizobacterias fitoestimuladoras. Mediante mecanismos directos las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal pueden solubilizar, acumular y translocar nutrientes hacia las raíces de la planta, mejorando su crecimiento para obtener mejores cosechas [13,15]. Todos los nutrimentos son importantes para el buen desarrollo de la planta, por ejemplo, el fósforo (P) es un macronutriente esencial que desempeña un papel fundamental en casi todos los procesos metabólicos

vegetales como la fotosíntesis, la transferencia de energía, biosíntesis de macromoléculas, etc., entre el 95-99% del fósforo presente en los suelos agrícolas se encuentra insoluble y no está disponible para su utilización, lo que limita su uso por parte de las plantas [12,16]. Este mismo fenómeno ocurre también en metales como el zinc (Zn), el hierro (Fe) y el caso conocido del nitrógeno (N_2), los cuales a pesar de encontrarse en el suelo no pueden ser asimilados completamente por la planta [2,13,17].

Por otro lado, las RPCV que podrían ejercer un efecto indirecto afectan el crecimiento de fitopatógenos, lo que permite un mejor desarrollo de las plantas hospederas. En este caso las bacterias podrían producir sustancias inhibitorias como enzimas líticas, antibióticos, sideróforos o bacteriocinas, en un mecanismo conocido como biocontrol o bien desencadenar una respuesta de defensa en las plantas que las protegen contra los patógenos [18]. Entre los géneros destacados, más abundantes y comúnmente reportados del tipo RPCV están, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Paraburkholderia* spp., *Stenotrophomonas* spp. y *Azospirillum* spp. [19] (Tabla 1).

Aprovechar las características metabólicas de las rizobacterias en la formulación de inoculantes y su aplicación en el maíz permite la mejora de la cosecha en esta planta, desplazando parcialmente el uso de fertilizantes

químicos dañinos. Los inoculantes son productos que tienen en su composición microorganismos vivos. Actualmente Brasil es el principal líder global en el uso de inoculantes seguido de Argentina e India [20]. La mayoría de las formulaciones RPCV que se encuentran en el mercado son monoinoculantes o bioinoculantes, es decir su composición solo dispone de una o dos RPCV [13, 20–22].

En este trabajo se analizó información sobre algunas de las experiencias de diversos autores

que han realizado investigación experimental para obtener mejores rendimientos de maíz gracias a la aplicación de RPCV, abriendo la posibilidad de su manejo como complemento y/o reemplazo parcial de fertilizantes químicos. Esta tecnología ha resultado eficiente para la estimulación de crecimiento de algunos maíces criollos y podría significar la tecnología que se requiere para el rescate y cultivo de las diferentes variedades de maíz criollo en México.

Tabla 1. RPCV, primeros aislamientos y sus mecanismos implicados en la promoción del crecimiento vegetal.

Género	Primeros aislamientos	Mecanismo de promoción de crecimiento vegetal	Especies
<i>Pseudomonas</i>	Walter Migula. Siglo XIX. “Células con organelos polares y formadoras de lo que parecen ser esporas” [23].	<ul style="list-style-type: none"> - Fijación biológica de nitrógeno (N₂) [24] - Formación de sideróforos [17] - Actividad antagonista inhibiendo el crecimiento de patógenos [25] - Solubilización de minerales - Producción de fitohormonas - Inducción de tolerancia sistémica [26] 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Pseudomonas fluorescens</i> ➤ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ➤ <i>Pseudomonas putida</i>
<i>Bacillus</i>	Cohn. 1872. “Bacterias productoras de endosporas resistentes al calor” [27].	<ul style="list-style-type: none"> - Fijación biológica de nitrógeno (N₂) - Formación de sideróforos - Producción de fitohormonas - Actividad antagonista inhibiendo el crecimiento de patógenos [2] - Solubilización de minerales (P, K) [22,28] - Producción de fitohormonas [29] 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Bacillus subtilis</i> ➤ <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
<i>Azospirillum</i>	Martinus Beijerinck. 1925. Países Bajos [30].	<ul style="list-style-type: none"> - Fijación biológica de nitrógeno (N₂) - Producción de fitohormonas - Solubilización de minerales (P) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Azospirillum brasilense</i> ➤ <i>Azospirillum lipoferum</i>
<i>Paraburkholderia</i>	Oren y Garrity. 2015. Nuevo taxón recientemente reconocido dentro del grupo <i>Burkholderia</i> sensu lato. [31,32].	<ul style="list-style-type: none"> - Fijación biológica de nitrógeno (N₂) - Formación de sideróforos - Actividad antagonista inhibiendo el crecimiento de patógenos - Solubilización de minerales (P) - Producción de fitohormonas - Reducción de los niveles de etileno en la planta 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Paraburkholderia nodosa</i> ➤ <i>Paraburkholderia rhizosphaerae</i> ➤ <i>Paraburkholderia silvatlantica</i> ➤ <i>Paraburkholderia unamae</i> ➤ <i>Paraburkholderia tropica</i>

El género *Pseudomonas* colabora translocando hierro del suelo a tallo, hoja y semilla usando sideróforos

El hierro (Fe) es un elemento esencial para el desarrollo de las plantas y otros organismos, es requerido para varios procesos celulares, como la respiración, la biosíntesis de clorofila y la fotosíntesis, además funciona como cofactor para las enzimas involucradas en la transferencia de electrones. La mayor parte del Fe en el suelo se encuentra en forma de ion férrico (Fe^{3+}), el cual es poco soluble, en el rango de pH fisiológico en condiciones aerobias. Surge entonces un problema de baja disponibilidad de Fe debido al alto pH del suelo (mayor a 7), debido a que a nivel global, 30% de la tierra cultivable es alcalina impidiendo generar una óptima producción de cultivos y cosechas [17,33,34].

Diversos microorganismos del suelo pueden sintetizar moléculas; péptidos no ribosomales, de alta afinidad por el Fe^{+3} (sideróforos) que actúan como agentes quelantes para secuestrar Fe, y provocar su reducción a Fe^{+2} , una forma mucho más soluble y aprovechable para la nutrición de dichos organismos y una fuente más biodisponible de Fe en el medio ambiente [35].

Sah S. y cols en el 2017 [17], concluyeron que la inoculación de RPCV productoras de sideróforos en maíz, incrementa la cantidad de hierro en la planta, al mismo tiempo mejora el

rendimiento de la cosecha. Aislaron cepas de *Pseudomonas aeruginosa* con la capacidad de solubilizar Fe [36], dos de ellas, *P. aeruginosa* RSP5 y *P. aeruginosa* RSP8, fueron elegidas por su sobresaliente habilidad de fijar el metal mediante la producción de sideróforos.

Para determinar los efectos en la planta de maíz, cada una de ellas fue utilizada para inocular semillas estériles con una matriz de carboximetilcelulosa de concentración 10^5 UFC. Una muestra de suelo fue utilizada para la siembra individual, con las combinaciones siguientes: (a) suelo con Bacteria; (b) suelo con Fe (20 μM); (c) suelo con bacteria y Fe (20 μM); y (d) Control: sin bacteria ni Fe, luego de 70 días a la germinación, las plantas fueron recolectadas y preparadas para su evaluación. Los resultados mostraron que *P. aeruginosa* RSP5 genera especímenes de maíz más robustos, más altos y con más granos en la mazorca respecto a las otras combinaciones. El contenido de hierro fue determinado por Espectroscopía de Absorción Atómica (AAS por sus siglas en inglés), observando que la cepa de *P. aeruginosa* RSP5 permitió de manera efectiva la asimilación del hierro por parte de la planta, ya que se determinaron altos niveles del metal en tallo, hojas y semillas; con porcentajes de 301.6%, 328%, y 487.5% respectivamente, comparados con el tratamiento control [17].

***Pseudomonas* spp. es un atractivo agente de control biológico en maíz**

Alrededor del mundo, las enfermedades en plantas causadas por plagas son la principal causa de pérdida del rendimiento de los cultivos. Esta problemática ha originado un uso constante y excesivo tanto de herbicidas como de pesticidas químicos en la agricultura. Son varias las desventajas del empleo de plaguicidas sintéticos, por ejemplo, la acumulación de los residuos tóxicos en el suelo y la adaptación de los patógenos a los componentes de estos plaguicidas; generando resistencia y una disminución progresiva de la eficacia de estos. Los agentes de biocontrol pueden ser RPCV, por su naturaleza, no afectan la salud humana o el medio ambiente y pueden funcionar efectivamente como reemplazo para los pesticidas del mercado. Los agentes de control biológico se definen como organismos vivos, o moléculas biodegradables derivadas de los mismos, que se utilizan para suprimir las poblaciones de plagas de patógenos en las plantas [37].

Las RPCV ejercen actividad antagonista en contra de patógenos causantes de enfermedades de la raíz mediante la producción de moléculas como: el ácido cianhídrico, el ácido fenazina-1-carboxílico, la pioluteorina, la pirrolnitrina, los lipopéptidos cíclicos y el diacetilfloroglucinol; un antibiótico que causa daño a la membrana celular de patógenos fúngicos como *Fusarium*

oxysporum [13]. Un agente antagonista efectivo reduce y/o suprime los efectos de patógenos indeseables al mismo tiempo que favorece el crecimiento vegetal [38].

Pseudomonas spp. tienen la capacidad para producir una amplia gama de metabolitos antifúngicos [25]. Las *Pseudomonas* fluorescentes son un grupo ampliamente estudiado por ser habitantes comunes de la rizosfera, y han recibido especial atención como agentes de biocontrol de elección, se pueden distinguir visualmente de otras especies por su capacidad para producir pigmentos amarillo-verdosos solubles en agua. *Pseudomonas* spp. ejercen su actividad a través del antagonismo sobre fitopatógenos e inducen la resistencia a enfermedades en la planta huésped. Los miembros de este grupo poseen rasgos que los hacen adecuados como agentes de biocontrol, (a) ocupan un espacio bien establecido en la rizosfera, regulando el crecimiento de otros microorganismos, (b) producen un amplio espectro de metabolitos bioactivos (antibióticos, sideróforos, compuestos volátiles y sustancias promotoras del crecimiento vegetal), y (c) son capaces de adaptarse a diversas condiciones de estrés ambiental [17,37].

En el año 2018 Foyosal MJ y cols. [39], determinaron como prometedoras las capacidades de agente de biocontrol a

Pseudomonas aeruginosa PS24 pues, *in vitro*, mostró la capacidad de inhibir el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, y *Penicillium digitatum*. De los 18 aislamientos provenientes del suelo de la costa de Baluchistán, Pakistán, *Pseudomonas aeruginosa* PS24 (caracterizada mediante pruebas bioquímicas y posteriormente usando secuenciación del gen 16S ARNr) lideró las pruebas de antagonismo en los ensayos de cultivo en placa dual y de estría cruzada. Mediante solventes fueron extraídos los compuestos antimicrobianos de *P. aeruginosa* PS24 crecida en medio King B, el extracto crudo obtenido se sometió a cromatografía en capa fina (TLC por sus siglas en inglés) en placa revestida de gel de sílice y fue observado en luz ultravioleta (254 nm). Las distintas fracciones separadas se recuperaron en dimetilsulfóxido y se ensayaron para determinar la actividad antifúngica. El resultado de la TLC se comparó con otro, esta vez de la cepa de referencia Pf-5 (*Pseudomonas fluorescens* Pf-5) identificándose en ambos la característica banda de la molécula de pirrolnitrina, un compuesto antifúngico secretado por varias especies del género *Pseudomonas* [40]. El amplio potencial biotecnológico del género *Pseudomonas* hace prometedor su uso, no solo

como agente de biocontrol sino también como una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal. En los ensayos donde se puso a prueba la promoción del crecimiento vegetal de algunas *Pseudomonas* aisladas de rizosfera de maíz, Chu TN y cols. [41] determinaron que la variante *Pseudomonas putida* PS01 permite la germinación de semillas de maíz a un ritmo más acelerado cuando éstas son inoculadas con la cepa en cuestión, después de 2 días de incubación, una tasa más alta de germinación se observó en semillas recubiertas de bacterias (51,5%), en comparación con semillas sin recubrimiento (31,3%) (n = 100).

La siembra de semillas maíz con recubrimientos de *Pseudomonas* es compatible con el uso de fertilizantes de nitrógeno. En sus experimentos Shaharoon B y cols. [42] suministraron nitrógeno, en forma de urea, a una concentración de 175 kg ha⁻¹, a semillas tratadas con *Pseudomonas fluorescens* biotipo G (N3) sembradas en suelo arenoso, después de siete días comprobaron la presencia de plantas más largas con mejor desarrollo de su sistema radicular y el consecuente incremento de la biomasa total individual a diferencia de las semillas que germinaron sin aplicación de fertilizante de nitrógeno (11.7% y 9.2%, respectivamente).

Bacterias del género *Bacillus* con capacidad de solubilizar zinc mejora el crecimiento del maíz

Los granos de *Zea mays* y otros producidos a partir de suelos deficientes en nutrientes llegan a tener un bajo contenido de Zn. La deficiencia de este metal en plantas retarda la fotosíntesis, disminuye la síntesis de carbohidratos y fitohormonas, retrasando la floración y provocando una disminución en el rendimiento del cultivo con la consecuente mala calidad nutricional de los granos. Casi el 50% de los suelos del mundo dedicados a la producción de cereales tienen un bajo contenido de Zn, lo que provoca una reducción en el rendimiento y la calidad nutricional de los granos [2].

Algunas rizobacterias, como las que pertenecen al género *Bacillus*, solubilizan el zinc del suelo mediante la producción de ligandos quelantes, aminoácidos, secreción de ácidos orgánicos. El género *Bacillus* es de los más estudiados, la mayoría de los representantes de este género son bacterias saprofitas que se encuentran en la mayoría de los suelos, además poseen múltiples características que promueven el crecimiento vegetal [27].

Mumtaz MZ y cols. 2017 [2] sugieren que cepas de *Bacillus* solubilizadoras de zinc tienen la capacidad de mejorar el crecimiento del maíz con el consecuente incremento de la calidad nutricional de los granos. Evidenciaron la solubilización de Zn con cepas bacterianas

provinientes de suelo rizosférico de maíz haciendo uso de medio de sales mínimas Tris, adicionado con ZnO (0.1%). En los ensayos en placa de agar observaron la presencia de halos transparentes de 13 aislamientos, a estos se les evaluó el efecto en la promoción del crecimiento vegetal, usando cada una de las bacterias seleccionadas como inóculos en semillas de maíz con su posterior siembra en frascos con arena tamizada, el control no fue inoculado. Después de 2 semanas de germinación las plantas se cosecharon para su análisis y observación.

La aplicación de rizobacterias del género *Bacillus* elegidas por su capacidad de solubilizar zinc, mejoraron significativamente el crecimiento del maíz a las dos semanas de germinación. Este fenómeno sucedió para cada una de las 13 plantas inoculadas con las cepas de *Bacillus*, cada uno de los parámetros que se evaluaron tenían mejores valores respecto al control: largo del brote, largo de la raíz, biomasa fresca del brote, entre otras determinaciones. En el mismo trabajo Mumtaz MZ y cols. 2017 [2] demuestran la capacidad productora de ácido indol acético (AIA) de las cepas de *Bacillus* seleccionadas, comprobando que la producción de AIA también favorece el crecimiento vegetal, por tratarse de una fitohormona.

Tabla 2. Trabajos que demuestran el efecto promotor de crecimiento de *Bacillus* en plantas de maíz.

Año	Autores	Cepa de <i>Bacillus</i>
2021	Chaudhary P y cols. [43]	<i>Bacillus</i> spp.
2019	Cui W y cols. [44]	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B9601-Y2
2010	Vardharajula S y cols. [45]	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus thuringensis</i> <i>Bacillus subtilis</i>

Aprovechar las particularidades que puede aportar el género *Bacillus* en el desarrollo vegetal podrá permitir obtener mejores especímenes de maíz con mayores rendimientos, como lo han publicado en diversos trabajos (Tabla 2).

***Bacillus velezensis*, agente antagonista que inhibe el crecimiento de patógenos fúngicos en sistemas agrícolas**

Algunos de los microorganismos rizosféricos controlan el crecimiento de fitopatógenos, la rizósfera es la primera línea de defensa de la planta contra estos microorganismos. Los estudios moleculares demuestran que un porcentaje del genoma de las cepas del género *Bacillus* está relacionado con la producción de metabolitos secundarios asociados al control de patógenos. *Bacillus subtilis* es un valioso recurso biológico al igual que otras especies de *Bacillus* como *Bacillus velezensis*, que se halla con frecuencia en el suelo [46].

Para determinar la capacidad antagonista de *B. velezensis*, frente a patógenos comunes de sistemas agrícolas y alimentarios, en el 2019 Liu Y. y cols. [46] usaron cepas aisladas y caracterizadas de *Bacillus velezensis* HC6, *Aspergillus parasiticus*, *A. ochraceus*, obtenidas del Centro General de Colecciones de Cultivos Microbiológicos de China, muestras de *Fusarium graminearum* y *A. sulphureus* se obtuvieron de un maíz enmohecido.

Para detectar la actividad antimicrobiana *in vitro*, de la cepa *Bacillus velezensis* HC6, contra los patógenos fungi se usó el método de cultivo en placa dual. Cubos de medio de cultivo con 5 mm por lado de los patógenos sembrados en Agar Papa Dextrosa (PDA por sus siglas en inglés), fueron recolectados y colocados al centro de una nueva placa Petri con medio PDA, a 3 cm del centro se colocaron inóculos de la cepa *B. velezensis* HC6. Las placas se incubaron durante 5 días a 28 °C. Hubo claras



zonas de inhibición entre *B. velezensis* HC6 y cada uno de los indicadores; *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus*, *A. sulphureus*, *F. graminearum* y *F. oxysporum* (Figura 1) indicando actividad antifúngica hacia las cepas de hongos estudiadas.

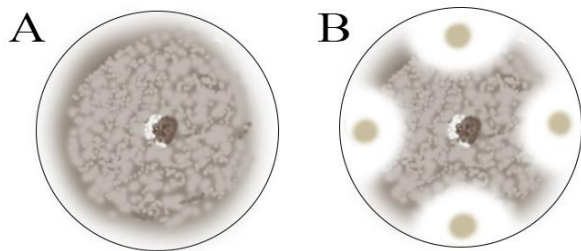


Figura 1. Caricaturización de la actividad antagonista de una bacteria productora de sustancia inhibitoria que impide el crecimiento de un hongo. A) Crecimiento del hongo posterior a 48 horas de incubación. B) Inoculación dual en placa, cuatro inóculos bacterianos se colocan al extremo de la placa, al centro se colocó el inóculo fúngico, luego de 48 horas de incubación se observan evidentes halos de inhibición en el crecimiento del hongo.

En el mismo trabajo de 2019 Lui y cols. [46] identificaron la naturaleza de las moléculas antimicrobianas producidas por *B. velezensis* HC6, extrajeron un complejo de proteína cruda del sobrenadante de medio líquido Luria-Bertani (LB) con cultivo de *B. velezensis* HC6. Las moléculas antimicrobianas fueron aisladas y purificadas por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (en inglés High Performance Liquid Chromatography, HPLC) y después analizadas con la técnica de Espectrometría de

Masas por Desorción-ionización Láser Asistida por Matriz Ultravioleta (en inglés Ultraviolet Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Mass Spectrometry, MALDI-MS), demostrando que se trataban de lipopéptidos del tipo fengicina A [46], un antifúngico secretado por varias especies de *Bacillus* [47].

Un mL de *B. velezensis* HC6 (10^8 UFC/mL⁻¹, medio Luria-Bertani) puede aplicarse directamente en las semillas de maíz, confiriéndoles efecto protector antifúngico contra cepas de *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus*, *A. sulphureus*, *F. graminearum* y *F. oxysporum*, ya que las evaluaciones realizadas a semillas de maíz con suspensión de conidios del género *Aspergillus* spp. en incubación en cajas Petri por 7 días a 28 °C dieron resultados negativos [46].

El control biológico por medio de microorganismos antagonistas es una medida prometedora para reducir el uso de pesticidas, y regular diferentes enfermedades causadas por patógenos, en cultivos como el maíz.

***Azospirillum* spp. una alternativa para el uso eficiente de fertilizantes de nitrógeno en el maíz**

Azospirillum brasilense es una bacteria capaz de realizar Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) siendo su inoculación una alternativa para suplir parte de la demanda de nitrógeno en las plantas de *Zea mays*. La FBN ocurre por la

conversión del N_2 en otras moléculas nitrogenadas como el ion amonio, siendo asimiladas por la planta a través de la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos [10]. El uso de cepas del género *Azospirillum* en la agricultura es una alternativa viable y sustentable para el suministro de nitrógeno en cultivos, pues el manejo adecuado de la fertilización con nitrógeno es esencial para un alto rendimiento de grano en los cultivos de cereales.

Azospirillum brasilense puede incrementar la biomasa del maíz inoculado y esto puede ser elucidado en diferentes estudios realizados. En experimentos *in vivo* se observa que la inoculación de *Azospirillum* incrementa en 17 % en la longitud de las espigas y su productividad con respecto a los controles [10].

Azospirillum brasilense también es capaz de aumentar el rendimiento del maíz originando un incremento de hasta 9% en la producción de granos de la planta [10].

Morales-García y cols. (2019) [18] han mencionado la efectividad de usar a *Azospirillum brasilense* Sp7 en un consorcio bacteriano, aprovechando la sinergia de los mecanismos de las RPCV. Las plantas de maíz variedad CAP15-1 TLAX inoculadas con el consorcio tras 45 días después de su crecimiento fueron más robustas y con más raíces en comparación con las plantas no inoculadas.

La efectividad de los inoculantes multiespecies con cepas de *Azospirillum* no solo se ha probado en maíz, en 2017 Prasad AA y cols. [48] desarrollaron una formulación con las RPCV *Azospirillum brasilense* TNA y *Pseudomonas fluorescens* PF1 obteniendo buenos resultados, esta vez, en el crecimiento de plantas de cacahuete (*Arachis hypogea* L.) variedad TKM9. Los resultados obtenidos sugieren la presencia de actividad sinérgica cuando las dos bacterias se encuentran en la mezcla pues, luego de dos semanas de la inoculación directa del suelo con el inoculante, las plantas de cacahuete tienen más hojas y presentan raíces más prolongadas a diferencia de las no tratadas.

Inoculantes para incrementar la producción de maíz criollo

Los inoculantes microbianos son alternativas atractivas y viables para aumentar el rendimiento de maíz y de cualquier otra planta, asegurando una intensificación sostenible de la agricultura, se trata de una tecnología prometedora y sostenible capaz de sustituir en parte la fertilización química costosa [10,22].

Gracias a sus características metabólicas, las rizobacterias poseen un potencial agronómico adecuado para la formulación de inoculantes. Los tratamientos con RPCV son económicos y amigables con el medio ambiente [13,28]. Al desarrollar un inoculante es importante

considerar algunas características para incrementar su eficiencia en la promoción del crecimiento vegetal, como por ejemplo, la cepa utilizada, su competitividad, el número de células necesarias o viables para la rápida colonización de la rizósfera, entre otros [10]. La formación de biopelículas por las RPCV también es una característica para tomar en consideración si se fuera a producir un biofertilizante, ya que brindan una mejor protección a la planta contra patógenos y estrés abiótico, originado por condiciones adversas como la sequía [1].

La producción de inoculantes a nivel comercial en América Latina comenzó en 1898 [10]. En el año 2002 México fue uno de los primeros países en introducir al mercado biofertilizantes para maíz formulados a base de *Azospirillum* sp. [20], a nivel comercial se pueden encontrar empresas dedicadas a la producción y venta de inoculantes microbianos, Trópico Seed's y Rizosfera, por ejemplo con base en Guadalajara, Jalisco y con presencia en el occidente y sur de Sinaloa tiene a la venta "Biofom" (Bio-fertilizante Orgánico Mineral) (<https://biofom.com.mx/>) formulado con ocho cepas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Figura 2).

Biofábrica Siglo XXI tiene en el mercado su producto "AZOFER PLUS" (<https://biofabrica.com.mx/azofer-plus/>); ase-

gurando tener la cantidad de 500 millones de bacterias de *Azospirillum brasilense* por gramo de producto.

"INOCREP" (<https://inocrep.blogspot.com/>) es un biofertilizante multiespecies desarrollado por la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y está en planes de ser transferido a la empresa MICROBST YOLIZA, empresa poblana. INOCREP es una formulación que aprovecha la sinergia de seis géneros diferentes de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, siendo estas: *Gluconacetobacter diazotrophicus* PA15, *Pseudomonas putida* KT2440, *Paraburkholderia unamae* MT1-641, *Sphingomonas* sp. OF178, *Bradyrhizobium* sp. MS22 y *Azospirillum brasilense* Sp7. En los ensayos de campo, este inoculante se muestra efectividad sobre el mejoramiento del crecimiento de plantas de maíz y su rendimiento [18]. "Nutripellet"

(<https://www.intagri.com/directorio-agricola/nutricion-vegetal/Nutripellet>), es otro producto mexicano con una presentación granulada de 40 kg que contiene *Nitrobacter* sp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* sp. entre otros. La empresa BIOqualitum (<https://bioqualitum.com>), conformada por Científicos Mexicanos, con su línea de productos "BactoCROP" formulado con *Bacillus* sp., *Azospirillum* sp., y otros microorganismos, también ofrece al agricultor

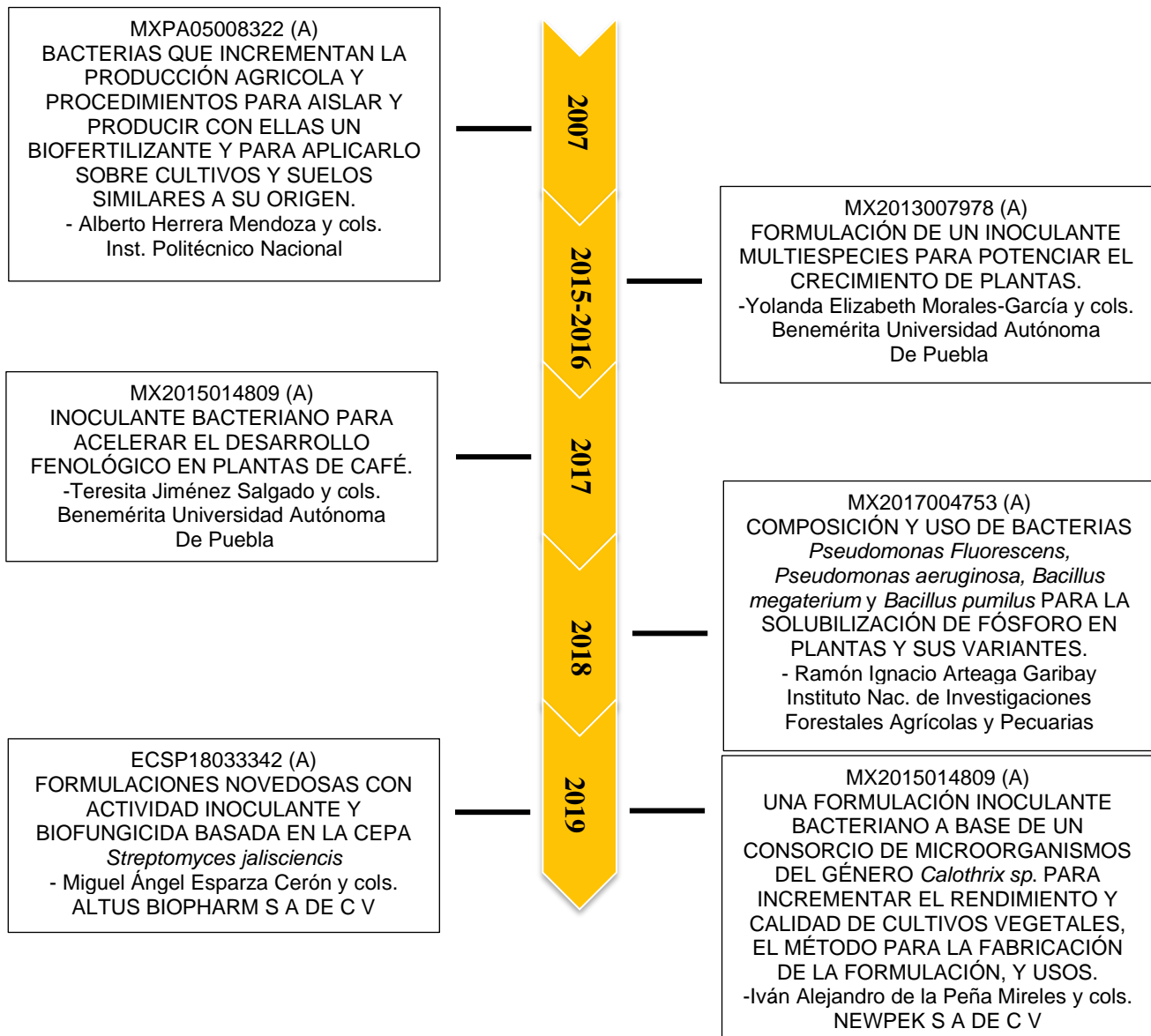


Figura 2. Cronología de algunas patentes de inoculantes bacterianos registrados en México. Obtenido de Latipat – Espacenet. Sitio web: <https://lp.espacenet.com/>.

alternativas ecológicas para incrementar la producción de sus cultivos.

Aun cuando hay muchos trabajos de RPCV en maíz, muy pocos de ellos se han enfocado a maíces criollos, la mayoría de los trabajos se ha realizado sobre variedades comerciales híbridas o incluso en algunas transgénicas [49,50]. Solo

unos cuantos trabajos se han desarrollado con maíces autóctonos de México [51,52]. La razón es que la mayoría de las variedades autóctonas no son de alta productividad y no están dentro de los intereses de la mayoría de los investigadores en el mundo. Sin embargo, estas variedades son productoras de compuestos

importantes como las antocianinas [53] y quizás podrían albergar la capacidad de producir otras sustancias de importancia comercial, nutrimental, e incluso farmacéutico.

Por esta razón, estas variedades deberían de considerarse para los trabajos de promoción de crecimiento vegetal. Es importante enfatizar que muchas de las formulaciones comerciales disponibles en el mercado no son tan efectivas cuando se aplican en variedades autóctonas (nuestras observaciones), razón por la que se sugiere realizar ensayos usando este tipo de variedades. En México existe una enorme riqueza de variedades de maíz, al ser lugar de origen de esta planta [54], estas variedades son de diversos colores, sabores, texturas y que desde épocas prehispánicas se han usado para diversos fines [55]. Por lo que toma especial relevancia ya que seguramente se podrán explotar este tipo de variedades con el fin de fundar nuevas empresas biotecnológicas especializadas en aprovechar los compuestos que se producen en estas variedades autóctonas.

CONCLUSIÓN

Con mecanismos directos e indirectos las rizobacterias son capaces de promover el desarrollo de las plantas, por este motivo han recibido el nombre de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal, su inoculación en cultivos tan importantes para

México como el maíz permite aprovechar las características de esta clase de bacterias al conseguir mejores rendimientos en la cosecha, con especímenes más resistentes, que tienen mazorcas más grandes y con más granos.

Otra ventaja del uso de RPCV; por ejemplo, es la biofortificación del maíz, este hecho hace referencia a la elevación en el contenido de metales como el hierro y el zinc en la planta, producto de la solubilización de minerales por parte de las cepas bacterianas, mecanismo importante de promoción del crecimiento, originando granos con una mejor calidad nutricional para consumo humano y/o animal.

En México es posible encontrar empresas ya dedicadas al desarrollo y formulación de inoculantes bacterianos teniendo ya disponibles sus productos en el mercado. A pesar de que son más económicos, existe poca cultura de aplicación de las RPCV. Se tendrá que demostrar a los agricultores que su uso es eficaz para potenciar el crecimiento de plantas sobre todo de variedades autóctonas de México, ya que aquí es donde existe una riqueza amplia de variedades, con diversos colores, sabores, texturas y que desde épocas prehispánicas se han usado para diversos fines.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la VIEP BUAP por el apoyo para llevar a cabo nuestras investigaciones.

REFERENCIAS

- [1]. Rojas MM, B. T, Bosh DM, Ríos Y, Rodríguez J, Heydrich M. Potentialities of *Bacillus* strains for promoting growth in maize (*Zea mays* L.). Cuba J Agric Sci. 2016;50:485–96.
- [2]. Mumtaz MZ, Ahmad M, Jamil M, Hussain T. Zinc solubilizing *Bacillus* spp. potential candidates for biofortification in maize. Microbiol Res. 2017 Sep 1;202:51–60.
- [3]. Yang N, Xu X-W, Wang R-R, Peng W-L, Cai L, Song J-M, et al. Contributions of *Zea mays* subspecies mexicana haplotypes to modern maize. Nat Commun. 2017;8(1):1874.
- [4]. De los Santos Ramos M, Romero Rosales T, Bobadilla Soto EE. Dinámica de la producción de maíz y frijol en México de 1980 a 2014. Agron Mesoam. 2017 Apr 30;28(2):439.
- [5]. Morales-García YE, Juárez-Hernández D, Aragón-Hernández C, Mascarua-Esparza MA, Bustillos-Cristales MR, Fuentes-Ramírez LE, et al. Growth response of maize plantlets inoculated with *Enterobacter* spp., as a model for alternative agriculture. Rev Argent Microbiol. 2011;43(4):287–93.

- [6]. Ángeles–Gaspar E, Ortiz–Torres E, López PA, López–Romero G. Caracterización y rendimiento de poblaciones de maíz nativas de Molcaxac, Puebla. Rev Fitotec Mex. 2010;33(4):287–96.
- [7]. Burbano-Orjuela H. El suelo y su relación con los servicios ecosistémicos y la seguridad alimentaria. Rev Ciencias Agrícolas. 2016 Dec 14;33(2):117.
- [8]. Novillo Espinoza ID, Carrillo Zenteno MD, Cargua Chavez JE, Nabel Moreiral V, Albán Solarte KE, Morales Intriago FL. Propiedades físicas del suelo en diferentes sistemas agrícolas en la provincia de Los Ríos, Ecuador. Temas Agrar. 2018 Jun 28;23(2):177–87.
- [9]. Sá JC de M, Lal R, Cerri CC, Lorenz K, Hungria M, de Faccio Carvalho PC. Low-carbon agriculture in South America to mitigate global climate change and advance food security. Environ Int. 2017 Jan 1;98:102–12.
- [10]. Fernandes Domingues Duarte C, Cecato U, Biserra TT, Mamédio D, Galbeiro S. *Azospirillum* spp. en gramíneas y forrajeras. Revisión. Rev Mex Ciencias Pecu. 2020 Feb 27;11(1):223–40.
- [11]. Sanz López L. Aislamiento y estudio de microorganismos endófitos en cultivos de maíz [Internet]. 2020 [cited 2021 Apr 22]. Available from: <https://ebuah.uah.es/dspace/handle/10017/45513>

- [12]. De los Santos Villalobos S, Parra Cota FI, Herrera Sepúlveda A, Valenzuela Aragón B, Estrada Mora JC, Santos Villalobos S de los, *et al.* Colmena: colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos, para contribuir a la seguridad alimentaria nacional. *Rev Mex Ciencias Agrícolas*. 2018 Feb 6;9(1):191–202.
- [13]. Molina-Romero D, Del M, Bustillos-Cristales R, Rodríguez-Andrade O, Morales-García YE, Santiago-Saenz Y, *et al.* Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas Rev la DES Ciencias Biológico Agropecu*. 2015;17(2):24–34.
- [14]. Pérez-Pérez R, Oudot M, Hernández I, Nápoles MC, Sosa-Del Castillo D, Pérez-Martínez S. Aislamiento y caracterización de *Stenotrophomonas* asociada a rizosfera de maíz (*Zea Mays L.*). *Cultiv Trop*. 2020;41(2):3.
- [15]. Sánchez-Bautista A, De León-García De Alba C, Aranda-Ocampo S, Zavaleta-Me-Jía E, Nava-Díaz C. Bacterias endófitas de la raíz en líneas de maíces tolerantes y susceptibles a sequía. *Rev mex fitopatol*. 36(1):35–55.
- [16]. You M, Fang S, MacDonald J, Xu J, Yuan ZC. Isolation and characterization of *Burkholderia cenocepacia* CR318, a phosphate solubilizing bacterium promoting corn growth. *Microbiol Res*. 2020 Mar 1;233:126395.
- [17]. Sah S, Singh N, Singh R. Iron acquisition in maize (*Zea mays L.*) using *Pseudomonas* siderophore. *3 Biotech*. 2017 Jun 1;7(2).
- [18]. Morales-García YE, Baez A, Quintero-Hernández V, Molina-Romero D, Rivera-Urbalejo AP, Pazos-Rojas LA, *et al.* Bacterial Mixtures, the Future Generation of Inoculants for Sustainable Crop Production. 2019;11–44.
- [19]. Ortiz-Galeana MA, Hernández-Salmerón JE, Valenzuela-Aragón B, de los Santos-Villalobos S, Rocha-Granados M del C, Santoyo G, *et al.* Diversidad de bacterias endófitas cultivables asociadas a plantas de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*) cv. Biloxi con actividades promotoras de crecimiento vegetal. *Chil J Agric Anim Sci*. 2018;34(2):140–51.
- [20]. Santos MS, Nogueira MA, Hungria M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. *AMB Express*. 2019 Dec 1;9(1):1–22.
- [21]. Morales-García YE, Juárez-Hernández D, Hernández-Tenorio AL, Muñoz-Morales JM, Baez A, Muñoz-Rojas J. Inoculante de segunda generación para incrementar el crecimiento y salud de plantas de jardín. *AyTBUAP*. 2020;5(20):136–54.
- [22]. de Sousa SM, de Oliveira CA, Andrade

DL, de Carvalho CG, Ribeiro VP, Pastina MM, *et al.* Tropical *Bacillus* Strains Inoculation Enhances Maize Root Surface Area, Dry Weight, Nutrient Uptake and Grain Yield. *J Plant Growth Regul.* 2020 May 29;40(2):867–77.

[23]. Paz-Zarza VM, Mangwani-Mordani S, Martínez-Maldonado A, Álvarez-Hernández D, Solano-Gálvez SG, Vázquez-López R, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Rev Chil infectología.* 2019 Apr;36(2):180–9.

[24]. Toribio-Jiménez J, Rodríguez-Barrera MÁ, Hernández-Flores G, Ruvalcaba-Ledezma JC, Castellanos-Escamilla M, Romero-Ramírez Y. Isolation and screening of bacteria from *Zea mays* plant growth promoters. *Rev Int Contam Ambient.* 2017;33:143–50.

[25]. Tiwari P, Singh JS. A plant growth promoting rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* strain inhibits seed germination in *Triticum aestivum* (L) and *Zea mays* (L). *Microbiol Res (Pavia).* 2017 Nov 22;8(2).

[26]. Zarei T, Moradi A, Kazemeini SA, Farajee H, Yadavi A. Improving sweet corn (*Zea mays* L. var *saccharata*) growth and yield using *Pseudomonas fluorescens* inoculation under varied watering regimes. *Agric Water Manag.* 2019 Dec 20;226:105757.

[27]. Villarreal-Delgado MF, Villa-Rodríguez ED, Cira-Chávez LA, Estrada-Alvarado MI, Parra-Cota FI, De los Santos-Villalobos S. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Rev Mex Fitopatol Mex J Phytopathol.* 2018 Jan 4;36(1).

[28]. Ahmad M, Adil Z, Hussain A, Mumtaz MZ, Nafees M, Ahmad I, *et al.* Potential of phosphate solubilizing *Bacillus* strains for improving growth and nutrient uptake in mungbean and maize crops. *Pakistan J Agric Sci.* 2019 Apr 1;56(2):283–9.

[29]. Anguiano Cabello JC, Flores Olivas A, Olalde Portugal V, Arredondo Valdés R, Laredo Alcalá EI, Anguiano Cabello JC, *et al.* Evaluación de cepas de *Bacillus subtilis* como promotoras de crecimiento vegetal. *Rev bio ciencias.* 2019;6:418.

[30]. Cassán F, Coniglio A, López G, Molina R, Nieves S, Carlan CLN de, *et al.* Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. *Biol Fertil Soils* 2020 564. 2020 May 8;56(4):461–79.

[31]. Oren A, Garrity GM. List of new names and new combinations previously effectively, but not validly, published. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2015;65:3763–3767.

[32]. Mavima L, Beukes CW, Palmer M, De Meyer SE, James EK, Maluk M, *et al.*

Paraburkholderia youngii sp. nov. and 'Paraburkholderia atlantica' – Brazilian and Mexican Mimosa-associated rhizobia that were previously known as *Paraburkholderia tuberum* sv. mimosae. Syst Appl Microbiol. 2021 Jan 1;44(1):126152.

[33]. Rivera E, Sánchez M, Domínguez H. pH como factor de crecimiento en plantas. Rev Iniciación Científica. 2018 Jun 23;4:101–5.

[34]. Kobayashi T, Nozoye T, Nishizawa NK. Iron transport and its regulation in plants. Free Radic Biol Med. 2019 Mar 1;133:11–20.

[35]. Moreno Reséndez A, García Mendoza V, Reyes Carrillo JL, Vásquez Arroyo J, Cano Ríos P. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. Rev Colomb Biotecnol. 2018 Jan 1;20(1):68–83.

[36]. Sah S, Sahgal M, Singh R. Effect of *Pseudomonas* on micronutrient status of forest and agricultural soil of Uttarakhand. Ecol Environ Conserv. 2016;S279–84.

[37]. Panpatte DG, Jhala YK, Shelat HN, Vyas R V. *Pseudomonas fluorescens*: A promising biocontrol agent and PGPR for sustainable agriculture. Microb Inoculants Sustain Agric Product Vol 1 Res Perspect. 2016 Jan 1;257–70.

38. Foyals MJ, Lisa AK. Isolation and

characterization of *Bacillus* sp. strain BC01 from soil displaying potent antagonistic activity against plant and fish pathogenic fungi and bacteria. J Genet Eng Biotechnol. 2018 Dec 1;16(2):387–92.

[39]. Uzair B, Kausar R, Bano SA, Fatima S, Badshah M, Habiba U, *et al.* Isolation and Molecular Characterization of a Model Antagonistic *Pseudomonas aeruginosa* Divulging *In Vitro* Plant Growth Promoting Characteristics. Batool R, editor. Biomed Res Int. 2018.

[40]. Pawar S, Chaudhari A, Prabha R, Shukla R, Singh DP. Microbial Pyrrolnitrin: Natural Metabolite with Immense Practical Utility. Biomolecules. 2019;9(9).

[41]. Chu TN, Bui L Van, Hoang MTT. *Pseudomonas* PS01 Isolated from Maize Rhizosphere Alters Root System Architecture and Promotes Plant Growth. Microorg 2020, Vol 8, Page 471. 2020 Mar 26;8(4):471.

[42]. Shaharoon B, Arshad M, Zahir ZA, Khalid A. Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. Soil Biol Biochem. 2006 Sep 1;38(9):2971–5.

[43]. Parul C, Priyanka K, Anuj C, Saurabh G, Rajeew K, Sharma A. Bioinoculation using indigenous *Bacillus* spp. improves growth and

yield of *Zea mays* under the influence of nanozeolite. 3 Biotech. 2021 Jan 1;11(1).

[44]. Cui W, He P, Munir S, He P, Li X, Li Y, *et al.* Efficacy of plant growth promoting bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* B9601-Y2 for biocontrol of southern corn leaf blight. Biol Control. 2019 Dec 1;139:104080.

[45]. Vardharajula S, Ali SZ, Grover M, Reddy G, Bandi V. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. J Plant Interact. 2010 Mar;6(1):1–14.

[46]. Liu Y, Teng K, Wang T, Dong E, Zhang M, Tao Y, *et al.* Antimicrobial *Bacillus velezensis* HC6: production of three kinds of lipopeptides and biocontrol potential in maize. J Appl Microbiol. 2020 Jan 21;128(1):242–54.

[47]. Fan H, Ru J, Zhang Y, Wang Q, Li Y. Fengycin produced by *Bacillus subtilis* 9407 plays a major role in the biocontrol of apple ring rot disease. Microbiol Res. 2017 Jun 1;199:89–97.

[48]. Prasad AA, Babu S. Compatibility of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* in growth promotion of groundnut (*Arachis hypogea* L.). An Acad Bras Cienc. 2017;89(2):1027–40.

[49]. Vázquez-Carrillo MG, Preciado-Ortíz RE, Santiago-Ramos D, Palacios-Rojas N, Terrón-

Ibarra A, Hernández-Calette A. Estabilidad del rendimiento y calidad de grano y tortilla de nuevos híbridos de maíz con valor agregado para el subtrópico de México. Rev fitotec mex. 2018 Nov;41(4a).

[50]. García Jiménez A, Toscana Aparicio A. Presencia de maíz transgénico en la Sierra Norte de Oaxaca. Un estudio desde la mirada de las comunidades. Soc Ambient. 2016;(12).

[51]. Reyes-Guzmán G, Guerra Navarro J, Calderón Ponce G. Condiciones de cultivo del maíz criollo en comunidades de Puebla, Tlaxcala e Hidalgo: un análisis de las economías de autoconsumo. Aportes. 2005;10(29):63–82.

[52]. Guillén-Sánchez J, Mori-Arismendi S, Paucar-Menacho LM. Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. subnigroviolaceo. Sci Agropecu. 2014 Mar 30;5(4):211–7.

[53]. Gorriti Gutierrez A, Arroyo Acevedo J, Negron Ballarte L, Jurado Teixeira B, Purizaca Llajaruna H, Santiago Aquisé I, *et al.* Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*Zea mays* L.): Método de extracción. Boletín Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromáticas. 2009;8(6):509–18.

[54]. Hernández S, Antonio J. Bioseguridad y dispersión de maíz transgénico en México.

Ciencias. 2009;92-93:130-41.

[55]. Caballero-García, Marco A. Córdova-Téllez, Leobigildo López- Herrera A de J.

Validación empírica de la teoría multicéntrica del origen y diversidad del maíz en México. Rev fitotec mex. 2019;42(4):356-66.