



BENEMÉRITA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



INSTITUTO DE CIENCIAS
POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”

**Control biológico de enfermedades fúngicas del trigo
(*Triticum aestivum* L.) con bacterias PGPR y biocarbón**

Tesis para obtener el título de
Maestro en Ciencias Ambientales

Presenta:

Bióloga Leticia Gómez Velázquez

Directora de Tesis
Dra. Lucía López Reyes

Co-Director
M. en C. Moisés Graciano Carcaño Montiel

Noviembre, 2024

El proyecto de investigación “**Control biológico de enfermedades fúngicas del trigo (*Triticum aestivum* L.) con bacterias PGPR y biocarbón**” ha sido apoyado *con financiamiento* VIEP-BUAP 2024 100155588, con recursos para el fortalecimiento del Cuerpo Académico de Microbiología de Suelos BUAP-CA-99 por parte del Instituto de Ciencias (ICUAP) y por el Programa Institucional de Desarrollo de Biofertilizantes BiofertiBUAP.

Este trabajo de investigación fue aprobado y revisado por el cuerpo académico BUAP-CA 99 **Microbiología del Suelo** y se agradece la participación de:

Dra. Lucia López Reyes

M. en C. Moisés Graciano Carcaño Montiel

M. en C. Armando Tapia Hernández

Dra. Guadalupe Medina de la Rosa

Contenido

1	Resumen	9
2	Introducción	10
3	Marco teórico	12
3.1	Problemática ambiental	12
3.2	El cultivo de trigo en el mundo	14
3.3	El trigo, sus usos y derivados	16
3.4	Principales enfermedades y plagas del trigo (<i>Triticum aestivum</i> L)	17
3.5	Estrategias para el control de enfermedades del trigo	21
3.6	Biocarbón, sus características y usos en la agricultura	26
4	Justificación	29
5	Objetivos	30
5.1	Objetivo General	30
5.2	Objetivos Particulares	30
6	Hipótesis	31
7	Zona de estudio	32
8	Materiales y Métodos	33
8.1	Selección y preparación de biocarbón	33
8.2	Selección y caracterización de Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal	33
8.3	Aislamiento y caracterización de hongos asociados al trigo	35
8.4	Inhibición del crecimiento de hongos asociados a trigo	37
8.5	Efecto <i>in vitro</i> de PGPR y biocarbón en granos de trigo	39
8.6	Validación del control biológico en ensayos de invernadero y campo	40

8.7 Cadena productiva de <i>Triticum aestivum</i> L.	43
8.8 Análisis estadístico	44
9 Resultados y discusión	45
9.1 Caracterización de biocarbón	45
9.2 Caracterización de las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal	46
9.3 Aislamiento y caracterización de hongos asociados a <i>Triticum aestivum</i> L.	48
9.4 Antagonismo de PGPR y biocarbón sobre hongos asociados a <i>T. aestivum</i> L.	50
9.5 Efecto in vitro de las PGPR y biocarbón en la sanidad de las semillas de trigo	55
9.6 Control biológico con PGPR y biocarbón en experimento de invernadero	56
9.7 Uso de PGPR y biocarbón en el control de enfermedades en el cultivo de trigo	60
9.8 Incidencia de la aplicación de biocarbón y PGPR sobre la cadena de valor del trigo	63
10 Conclusiones	67
11 Referencias bibliográficas	68
12 Anexos	74

Índice de Cuadros

Cuadro 1.	Principales enfermedades, patógenos y síntomas del cultivo de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.)	18
Cuadro 2.	Especies bacterianas seleccionadas que pertenecen a la colección del Laboratorio de Microbiología de Suelos.	32
Cuadro 3	Tratamientos aplicados en condiciones de invernadero para evaluar el efecto de PGPR y biocarbón en el control de hongos patógenos en plantas de trigo	40
Cuadro 4.	Tratamientos aplicados en el experimento de campo, en el municipio de San José Teacalco, Tlaxcala.	42
Cuadro 5.	Detección de indoles, quitinasas y COV por PGPR del género <i>Serratia</i> y <i>Bacillus</i>	45
Cuadro 6.	Diámetro de crecimiento fúngico expuesto a compuestos orgánicos volátiles (COV) producidos por Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR).	52
Cuadro 7.	Efecto de PGPR y biocarbón sobre la sanidad de semillas de trigo var. Valles F2015.	54
Cuadro 8.	Análisis de fertilidad de suelo de San José Teacalco, Tlaxcala.	55
Cuadro 9.	Población de microorganismos en suelo de San José Teacalco, Tlaxcala.	56
Cuadro 10.	Características fenológicas e índice de severidad de la enfermedad de plantas de trigo tratadas con PGPR y biocarbón en el experimento de invernadero.	57
Cuadro 11.	Características fenológicas, severidad de la enfermedad y rendimiento total.	59
Cuadro 12.	Influencia del biocarbón y PGPR en el control de hongos presentes en semillas cosechadas	60

Índice de Figuras

Figura 1.	Objetivos del Desarrollo Sostenible de la ONU, que se identifican con prácticas agrícolas sostenibles, la sociedad y la economía	13
Figura 2.	Principales países productores de trigo en el mundo.	14
Figura 3.	Triangulo de la enfermedad y los elementos que lo componen.	26
Figura 4.	Mapa del municipio de San José Teacalco, perteneciente al estado de Tlaxcala.	31
Figura 5.	Esquema de la prueba de antagonismo en placa Petri.	37
Figura 6.	Panorámica del experimento de invernadero aplicado en el Municipio de San José Teacalco, Tlaxcala.	41
Figura 7.	Caracterización textural de biocarbón. a) Isotermas de adsorción-desorción de N ₂ y b) distribuciones de tamaño del poro por el método de la teoría del funcional de densidad (DFT).	43
Figura 8.	Características morfológicas y microscópicas de: a) <i>Alternaria alternata</i> (SGN); b) <i>Alternaria arborescens</i> (SB3); c) <i>Chaetomium mareoticum</i> (SN1); d) <i>Epicoccum sorghinum</i> (SB2); e) <i>Fusarium equiseti</i> (TAM); f) <i>Fusarium tricinctum</i> (SR1); g) <i>Geotrichum candidum</i> ; h) <i>Parastagonospora nodorum</i> (TB1); i) <i>Epicoccum</i> sp. (SP2).	47
Figura 9.	Antagonismo de bacterias del género <i>Serratia</i> y <i>Bacillus</i> en medio de cultivo infusión de papa en presencia y ausencia de biocarbón, sobre el hongo <i>Fusarium equiseti</i> .	48
Figura 10.	Magnitud visual del antagonismo in vitro de los hongos asociados a trigo por PGPR en presencia y ausencia de biocarbón al 0.5%.	50
Figura 11.	Colonias fúngicas en semillas de trigo variedad Valles F2015, tratadas con PGPR y/o biocarbón.	53
Figura 12.	Implicación del biocarbón y PGPR sobre la cadena de valor del trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.)	64

1 Resumen

Según estimaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO por sus siglas en inglés Food and Agriculture Organization of the United Nations), en los próximos 30 años será necesario aumentar la producción de alimentos hasta el 50% a nivel global, debido al incremento de la población. El tercer cereal que más se produce es el trigo, después del maíz y el arroz, sin embargo, es susceptible a enfermedades y las que provocan daños más severos son las causadas por hongos. Las estrategias para el control de las enfermedades incluyen prácticas culturales, mejoramiento genético y el uso de productos químicos. Sin embargo, son métodos poco eficientes y provocan daños a la salud humana, al ambiente y aumentan los costos de producción. Por lo tanto, es necesario buscar alternativas eficientes y sostenibles para el manejo de patógenos, como el biocontrol con Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria) que, a través de la competencia por nutrientes, la síntesis de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV), antibióticos, enzimas líticas y otros mecanismos pueden limitar el desarrollo de enfermedades en los cultivos de trigo. Otra estrategia, es el biocarbón que tiene propiedades físicas y químicas que mejoran la fertilidad de los suelos y la sanidad de los cultivos al estimular la resistencia sistémica de las plantas, proveer un nicho a las comunidades microbianas del suelo, liberar nutrientes y humedad a los cultivos. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el control biológico de las enfermedades fúngicas en semillas y cultivo de trigo con PGPR (*Serratia* y *Bacillus*) con biocarbón. Primeramente, se determinó que bacterias del género *Bacillus* (3) y *Serratia* (3) producen indoles y COV, sin embargo, solo las cepas de *Serratia* sintetizaron quitinasas que se relacionan con la degradación de la pared celular. Las seis PGPR controlaron el desarrollo de 15 hongos de los géneros *Alternaria*, *Parastagonospora*, *Fusarium*, *Epicoccum*, *Chaetomium* y *Geotrichum*, en condiciones *in vitro* y en semillas de trigo. Además, la aplicación de PGPR+biocarbón en experimentos de invernadero y campo disminuyeron la severidad de la enfermedad causada por hongos y aumentaron los rendimientos hasta 1.1 t ha⁻¹, comparadas con las 0.7 t ha⁻¹ en el tratamiento testigo, también, aumentó la sanidad de semillas cosechadas. Por lo que, el biocarbón + PGPR pueden ser una alternativa eficaz en el control de las enfermedades y en el aumento de la productividad de trigo.

Palabras clave: *Patógenos, biocontrol, enfermedades fúngicas, sanidad y carbón vegetal.*

2 Introducción

La población mundial rebasa los 8 000 millones de personas y se estima que en los próximos 30 años aumente cerca de 2 000 millones (ONU, 2022), por lo que la demanda de recursos, espacios, servicios y alimentos también se elevará. Se estima la necesidad de un aumento del 50% de lo producido actualmente, para asegurar la subsistencia humana y su seguridad alimentaria (FAO, 2017). Sin embargo, el cambio climático, la contaminación de aire, suelo y agua, la pérdida de biodiversidad, entre otros, afectan negativamente a los cultivos y su rendimiento por la presencia de patógenos, por las condiciones climáticas extremas como sequías, inundaciones, tormentas, altas temperaturas y por el uso de semillas que no se adecuan a los cambios actuales (Márquez *et al.*, 2021; FAO, 2022).

Entre los cultivos primarios se encuentran el maíz, el arroz y el trigo, este último es el tercer cereal más importante en el mundo por su uso en la alimentación. En México es el segundo más consumido (SADER, 2022). Sin embargo, la presencia de fitopatógenos provoca enfermedades en las plantas, que se traducen en pérdidas en el rendimiento y calidad de los cultivos. Los hongos son los patógenos que causan daños más severos a las plantas y los métodos que se llevan a cabo para su control son: culturales, el uso de agroquímicos y el mejoramiento genético de las semillas, sin embargo, resultan ser poco eficientes aun cuando se aplican de forma integral (Taj *et al.*, 2022). Por lo tanto, se buscan alternativas para el manejo de las enfermedades como el biocontrol con Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria) y/o algunos productos como el biocarbón que solos o combinados pueden contribuir a la sanidad de los cultivos.

Los efectos positivos en el crecimiento de las plantas se han asociado a la acción de microorganismos benéficos tipo PGPR, a través de mecanismos directos e indirectos, los primeros involucran la producción de fitohormonas como auxinas, citoquininas y giberelinas, fijación biológica de nitrógeno, compuestos orgánicos volátiles, producción de sideróforos, el ciclaje y solubilización de nutrientes como zinc y fósforo (Khosro *et al.*, 2023). Entre los métodos indirectos se incluye la competencia por nutrientes, la activación de la resistencia inducida en plantas y la antibiosis (De Tender *et al.*, 2021).

Existen productos como el biocarbón que enmiendan los suelos, por sus efectos positivos sobre la estructura y fertilidad, a través de la liberación lenta de nutrientes, minerales y agua. Además de que provee un nicho para las comunidades microbianas, lo que favorece su supervivencia, abundancia y diversidad (Alaylar *et al.*, 2021). El biocarbón adsorbe nutrientes que al ser liberados pueden estar disponibles para las plantas, también algunos metabolitos activan la respuesta inmune de la planta (Alaylar *et al.*, 2021; Ijaz *et al.*, 2019) y disminuyen la presencia de patógenos (Poveda *et al.*, 2021). Sin embargo, existe poca información del efecto de este producto de carbón sobre los cultivos y los trabajos existentes revelan poca especificidad, así como efectos positivos y negativos sobre el control de las enfermedades (Liu *et al.*, 2023). Por lo tanto, se aborda el estudio de control biológico de enfermedades fúngicas del trigo con PGPR y biocarbón.

3 Marco teórico

3.1 Problemática ambiental

A mediados del siglo XX, se observaron efectos negativos y complejos en el ambiente como consecuencia de las actividades antropogénicas que priorizan el modelo de desarrollo económico, industrial y tecnológico en busca de satisfacer las necesidades humanas a costa del deterioro ambiental que genera una crisis global (Márquez *et al.*, 2021; Jhariya *et al.*, 2022). Algunos daños observables son la pérdida de la biodiversidad, la contaminación, el cambio climático, la degradación de suelos, la emisión de los gases de efecto invernadero que provocan el calentamiento global, la eutrofización de cuerpos de agua, entre otros (Jhariya *et al.*, 2022). El crecimiento tecnológico impulsado por la industria y la urbanización ha provocado severos daños ambientales y la agricultura sustentable puede aportar algunas soluciones a estos efectos negativos (Jhariya *et al.*, 2022).

3.1.1 Efectos del cambio climático en la producción agrícola

Se estima que si la temperatura del planeta aumentara tan solo 6.4°C también sería mayor la posibilidad de sucesos catastróficos como inundaciones, ciclones, sequías, cambios en las precipitaciones, etc.; variaciones que afectan la productividad de los cultivos por estar estrechamente relacionados a las condiciones climáticas (Hossain *et al.*, 2022). Además, el estrés que provocan estas condiciones favorece la presencia de plagas y enfermedades en las especies vegetales (Spanic *et al.*, 2021; Hossain *et al.*, 2022), generados a partir de cambios en la distribución de los sistemas microbianos del suelo, de las malezas e insectos (Braun y Payne, 2012). Por lo tanto, existen riesgos para la producción de alimentos.

El éxito en los rendimientos dependerá de generar estrategias para una agricultura sostenible (Simón *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2022), y adoptar prácticas agrícolas como la diversificación de los cultivos, así como generar variedades que se adapten a las condiciones ambientales de la región (Spanic *et al.*, 2021), las fechas de siembra, dosis y momentos de fertilización, de tal manera que el riesgo por la pérdida de los cultivos y los costos disminuyan (Santana *et al.*, 2016).

La identificación de problemas, el análisis de datos y la limitación de las causas del cambio climático ayudaran a tomar medidas para su mitigación, a través del desarrollo de estrategias y

políticas públicas que impacten positivamente al ambiente y se ajusten a las necesidades ambientales y sociales (Santana *et al.*, 2016).

3.1.2 Producción agrícola y seguridad alimentaria

Se estima que el crecimiento de la población mundial y los cambios en la alimentación requerirá aumentar la producción de alimentos al menos 50% más para el año 2050 (FAO, 2017; Simón *et al.*, 2017). Sin embargo, la producción agrícola a gran escala basada en monocultivos, el uso de transgénicos y agroquímicos, sumado al modelo industrial actual, ejercen una amenaza a la seguridad alimentaria y al ambiente, por los efectos dañinos a los ecosistemas (Santana *et al.*, 2016). Otros factores que limitan el aumento en la productividad son los suelos degradados, el cambio climático, disminución en la diversidad genética, las enfermedades y plagas de los cultivos (Figuroa *et al.*, 2018) provocadas por fitopatógenos, que cada día causan graves daños más frecuentes (Islam *et al.*, 2020). La seguridad alimentaria busca satisfacer las necesidades a través del aumento de las áreas cultivables y del incremento en el rendimiento de los cultivos, sin embargo, esto eleva la susceptibilidad a plagas y enfermedades (Ons *et al.*, 2020).

3.1.3 Objetivos del Desarrollo Sostenible de la Organización de las Naciones Unidas en la producción agrícola

Los países miembros de la Organización de las Naciones Unidas (ONU) en el 2015 plantearon en la agenda 2030, 17 Objetivos para el Desarrollo Sostenible (ODS) que tienen el propósito de erradicar la pobreza, desarrollar y aplicar medidas para la protección al ambiente, mejorar la vida de las personas a nivel global, es decir busca integrar las dimensiones biológica, social y económica (Márquez *et al.*, 2021). La actividad agrícola es un tema clave para el desarrollo sostenible, enfocado a mantener los servicios ecosistémicos y la salud del medio ambiente. Sin embargo, la agricultura actual se ha basado en el uso excesivo de agroquímicos (fertilizantes y pesticidas) que han provocado la contaminación de los recursos agua y suelo, favoreciendo la pérdida de la diversidad agrícola y la presencia de enfermedades en las plantas.

Los ODS involucran a la sociedad, la economía y la agricultura (Figura 1), a través del mejoramiento de la productividad y calidad de los cultivos (Jhariya *et al.*, 2019; ONU 2022):

- ODS 1: Fin a la pobreza, que toda persona tenga derecho al uso de tecnologías, recursos económicos y naturales que no afecten su ambiente ni su economía (meta 1.4).
- ODS 2: Poner fin al hambre, con una agricultura sostenible que brinde seguridad alimentaria a todos los seres humanos, principalmente a los más vulnerables (meta 2.1), por lo tanto, se pretende duplicar la productividad agrícola y la economía de los productores, mediante el acceso seguro a recursos e insumos de producción (meta 2.3), sin embargo, se requieren de aquellos que no generen daños ambientales y se apliquen de manera apropiada (meta 2.4).
- ODS 3: Garantizar una vida sana y promover el bienestar, en la meta 3.9 se propone generar estrategias que eviten el uso de productos químicos peligrosos que además de contaminar el agua, el suelo y el aire, causan graves daños al hombre como la muerte.
- ODS 8: Trabajo decente y crecimiento económico, evitando la degradación del medio ambiente (meta 8.4);
- ODS 12: Garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles, por medio de la reducción de agroquímicos (meta 12.4).
- ODS 15: Promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, que incluye frenar la pérdida de la diversidad biológica, luchar contra la desertificación, rehabilitar las tierras y los suelos degradados.



Figura 1. Objetivos del Desarrollo Sostenible de la ONU, que se identifican con prácticas agrícolas sostenibles, la sociedad y la economía.

3.2 El cultivo de trigo en el mundo

Desde inicios de la civilización, el trigo es uno de los cultivos domesticados más importantes en el mundo por su uso para la alimentación humana (Figuroa *et al.*, 2018), es el tercer cereal que más se produce después del maíz (INIFAP, 2023), actualmente es consumido por alrededor de 2 500 millones de personas y se produce en 89 países (Taj *et al.*, 2022), los más representativos son

la República Popular de China, India y la Federación Rusa (Figura 2). La FAO estima que la producción de trigo a nivel mundial se aproxime a 791 millones de toneladas a finales de este año (FAO, 2024).

El trigo es una gramínea que pertenece a la familia de las Poaceae, cuenta con once especies, la más cultivable en el mundo es *Triticum aestivum* L. conocido como trigo harinero, otras especies que son importantes por la superficie sembrada son *T. durum* o cristalino y *T. compactum* (OCDE, 1999; SADER, 2022). Es un cereal de climas templados, la temperatura ideal para su crecimiento es de 25°C, aunque puede soportar de 3 a 4°C que se necesitan para su germinación, y hasta 32°C (OCDE, 1999; Curtis, 2002). Su siembra es de temporal en primavera y bajo riego en invierno, en el primer caso como su nombre lo indica, se siembra en primavera y madura a finales del verano. El trigo de invierno se siembra durante otoño, germina por la humedad presente en el suelo, pero permanece en la fase vegetativa durante todo el invierno y retoma su crecimiento en primavera (Curtis, 2002). El periodo vegetativo es de 120 a 145 días para el trigo de primavera y 280 a 350 días para el trigo de invierno (OCDE, 1999). El desarrollo de estos cultivos se favorece en suelos arcillosos y con roca sedimentaria del tipo marga (SADER, 2019).

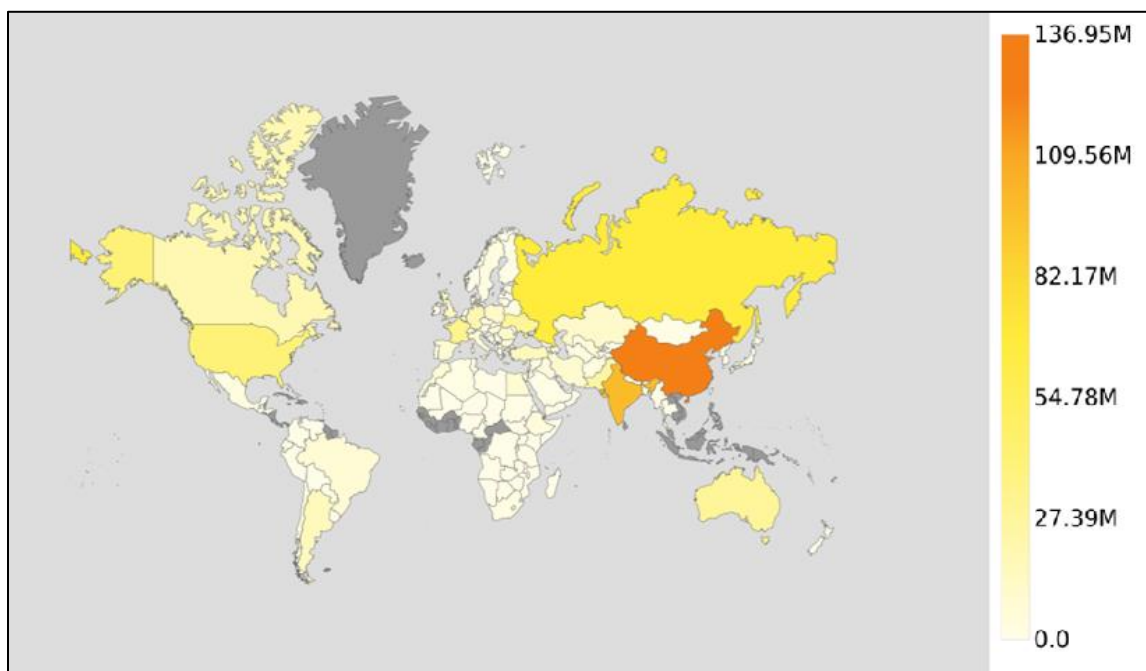


Figura 2. Principales países productores de trigo en el mundo. Fuente: FAO Stats 2022.

El trigo es una fuente de alimento importante alrededor del mundo, porque contiene del 75 al 80% de carbohidratos, del 9 al 18% de proteínas, fibra, vitaminas, calcio, hierro, así como micro y macronutrientes (CGIAR, 2019; Iglesias y Branlard, 2020; Carranza *et al.*, 2022).

El trigo es el segundo cereal que más se consume en México (Carranza *et al.*, 2022), su uso en la panificación representa a la segunda actividad más importante dentro de la industria alimentaria (INIFAP, 2022), por lo tanto, la capacidad de producción es importante para el país. El uso de nuevas variedades de semillas acorde a las condiciones climáticas de la región (Flores *et al.*, 2021), se ha relacionado con el incremento en el rendimientos de los cultivos y su abastecimiento, para suplir la demanda nacional de este cereal, se conocen 234 variedades con las características de ser resistentes a royas y enfermedades foliares, con respuesta al cambio climático como tolerar la sequía y las altas temperaturas, además del mejoramiento de la calidad industrial, etc. (Carranza *et al.*, 2022). Algunos estudios estiman que el rendimiento del trigo se verá comprometido por las condiciones ambientales, por cada grado centígrado que aumente la temperatura se perderán cerca del 6%, es decir 42 millones de toneladas de este cultivo (Hossain *et al.*, 2022).

3.3 El trigo, sus usos y derivados

El trigo contribuye con proteínas vegetales a la alimentación humana por su alto contenido nutricional (Islam *et al.*, 2020), aporta carbohidratos, minerales, vitaminas y lípidos. El proceso para su consumo inicia con la molienda, para su transformación en harina y elaborar múltiples productos como: pan, tortillas, pastas, galletas, papillas, obleas, entre otros (SADER, 2016), pero su procesamiento está determinado por la composición, variación y cantidad de proteínas (gluteninas y gliadinas), que determinan el comportamiento del gluten (Iglesias y Branlard, 2020).

En México se destina cerca del 80% de la producción de trigo a la industria del pan (SADER, 2016) a partir del grano de la especie *T. aestivum* y para la elaboración de sémola se utiliza el trigo cristalino (*T. durum*) a partir de la cual se fabrican pastas (INIFAP, 2023). El almidón presente en los granos de trigo es atractivo para la industria principalmente en 30 países donde en cada planta de fabricación se extraen aproximadamente de 40 a 50 toneladas de harina por hora (Iglesias y Branlard, 2020).

Las principales aplicaciones del trigo son: 1) En alimentos, para la fabricación de aditivos (edulcorantes, agente aglutinante y espesor), emulsionantes y bebidas energéticas, entre otros, 2)

en la alimentación animal como pienso de iniciación (ganado) y granulado (acuícola), 3) en la fabricación de cerveza a partir de la fermentación de granos de trigo, 4) en la elaboración de adhesivos y bioplásticos, 5) la alta concentración de almidón en el trigo favorece la producción de biocombustible por la fermentación de los azúcares en etanol, 6) tiene implicación en la industria farmacéutica y cosmética por el uso de su aceite y como fuente de vitamina E, para la elaboración de productos dermatológicos y capilares (SADER, 2016).

3.4 Principales enfermedades del *Triticum aestivum* L.

Todos los cultivos son susceptibles a enfermedades causadas por diversos patógenos o por condiciones ambientales adversas, que limitan el desarrollo de las plantas, lo que afecta su calidad y productividad (Liu *et al.*, 2023). Los organismos patógenos son transmitidos por el suelo, aire y semillas en los cultivos (Alaylar *et al.*, 2021) y el trigo no es la excepción.

Los efectos negativos por plagas y enfermedades, la falta de variedades resistentes a sequías, la reducción de suelo para cultivos y el cambio climático se presentan como problemas para la persistencia y aumento de la producción del trigo (Flores *et al.*, 2021). Se calcula que las pérdidas en el rendimiento del trigo por la presencia de plagas y enfermedades es del 21.5%. Entre los agentes patógenos que representan una fuerte amenaza para este cultivo se encuentran los hongos (Taj *et al.*, 2022).

La variabilidad genética de la especie *T. aestivum* ha disminuido, debido principalmente a su cultivo intensivo, que se traduce en la disminución a la resistencia hídrica y la susceptibilidad a patógenos (Duba *et al.*, 2018). Se calcula que son 31 plagas y patógenos que afectan al cultivo, los principales son hongos que provocan graves pérdidas, por ejemplo: el tizón de la espiga por *Fusarium*, la mancha de la hoja por *Septoria*, el mildiu polvoroso, mancha amarilla y las provocadas por royas (Cuadro 1) (Simón *et al.*, 2021). Otros patógenos fúngicos son: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Rhizopus* sp., *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis*, *Curvularia* sp. y *Helminthosporium* sp., que contribuyen a la infección de plantas y granos de trigo (da Ros *et al.*, 2018). Las condiciones que favorecen o limitan el desarrollo y la dispersión de los patógenos son la temperatura y humedad. La infección del cultivo de trigo generalmente es a través de las semillas infectadas por las esporas

que se encuentran en el ambiente y/o los hongos presentes en residuos de cosechas anteriores (Islam *et al.*, 2020).

3.4.1 Fitopatógenos asociados a las royas






Las royas son hongos fitopatógenos económicamente importantes, porque afectan a la mayoría de las especies vegetales, incluidos los cereales como el trigo (Gilchrist *et al.*, 2005; Carmona y Sauta, 2018). El ciclo de vida de las royas en los cereales tiene fases sexuales y asexuales e incluye hasta cinco estadios diferentes de esporas (Gilchrist *et al.*, 2005). Entre los daños que provocan este tipo de microorganismos se encuentra la reducción del área fotosintética y radicular, por lo tanto, disminuye el número y calidad de sus espigas y granos, pero los efectos y la magnitud de la enfermedad depende del grado de resistencia de las semillas y el estado de desarrollo de la planta durante la infección (Carmona y Sauta, 2018).

La roya que ataca al trigo se clasifica en: 1) la roya del tallo provocada por *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*; 2) la roya amarilla o estriada asociada a *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*; y 3) roya de la hoja que se desarrolla a partir de *Puccinia triticina* (Carmona y Sauta, 2018; Figueroa *et al.*, 2018; CGIAR, 2019).

La roya del tallo es la que causa mayor cantidad de daños, sin embargo, su presencia es poco común comparada con la roya de la hoja y la amarilla que se distribuyen en todo el mundo. El patógeno que provoca esta enfermedad se manifiesta por urediniosporas de color rojizo que provocan pequeñas lesiones ovaladas en el tallo, vainas, glumas y aristas (Figueroa *et al.*, 2018). Por lo tanto, reduce el área fotosintética, rompe las células de la epidermis de los tallos interrumpiendo el transporte de nutrientes y favorece el ataque severo de otros patógenos. La acción de este patógeno se ha visto relacionada con granos de menor tamaño y puede provocar el acame de la planta (Figueroa *et al.*, 2018).

El hongo fitopatógeno que provoca la roya amarilla o estriada (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*), afecta al 88% de las variedades de trigo, y se ha reportado que puede generar pérdidas del 100% del rendimiento (Carmona y Sauta, 2018; Figueroa *et al.*, 2018). Se sabe que este microorganismo tiene alta variabilidad genética, es de fácil adaptación a los cambios ambientales y sus tasas de reproducción son elevadas, lo que favorece su virulencia (Carmona y Sauta, 2018).

Cuadro 1. Principales enfermedades, patógenos y síntomas del cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.)

Manifestación	Síntomas	Referencia
	<p>Roya amarilla o estriada <i>Puccinia striiformis</i></p> <p>Pústulas en las hojas, paralelas a las nervaduras.</p>	<p>Gilchrist <i>et al.</i>, 2005; Garófalo <i>et al.</i>, 2011; Figuerola <i>et al.</i>, 2018</p>
	<p>Roya de la hoja o parda <i>Puccinia triticina</i></p> <p>Pústulas aisladas con esporas anaranjadas sobre las hojas.</p>	<p>Garófalo <i>et al.</i>, 2011; Figuerola <i>et al.</i>, 2018</p>
	<p>Roya del tallo <i>Puccinia graminis f. sp. tritici</i></p> <p>Produce masas de urediniosporas alargadas de color café rojizo en tallos, vainas, pedúnculos, glumas y aristas.</p>	<p>Figuerola <i>et al.</i>, 2018</p>
	<p>Tizón de la espiga <i>Fusarium</i> spp.</p> <p>Inicia con pequeños parches circulares u óvalos que atrofian a las plantas, lo que afecta el desarrollo del grano.</p>	<p>Garófalo <i>et al.</i>, 2011; Duba <i>et al.</i>, 2018</p>
	<p>Añublo del trigo <i>Magnaporthe oryzae</i> <i>Triticum</i></p> <p>Enfermedad de la espiga que provoca la ausencia del grano o de baja calidad (arrugado).</p>	<p>Islam <i>et al.</i>, 2020</p>

La roya en la hoja se manifiesta por *Puccinia triticina*, que es un hongo cosmopolita y es el más frecuente de los tres por su gran adaptabilidad y virulencia. Se ha reportado que reduce el peso y número de los granos por espiga (Figueroa *et al.*, 2018).

3.4.2 Mancha desnuda y pudrición de la raíz por *Rhizoctonia solani*

La pudrición de la raíz limita la productividad de cereales como el trigo. La enfermedad inicia con pequeños parches circulares u óvalos que atrofian a las plantas, provocando el desarrollo de pocos o ningún grano. Actualmente ninguna variedad de trigo es resistente a este fitopatógeno, además existen pocas estrategias para su manejo y el tratamiento químico es poco efectivo (Yin *et al.*, 2013).

3.4.3 Tizón de la espiga de trigo

El microorganismo que causa esta enfermedad es *Fusarium* sp. y la infección se lleva a cabo casi en todas las etapas, desde la plántula hasta la madurez del cultivo, pero principalmente durante la elongación del tallo, la floración y la maduración (Duba *et al.*, 2018). Acelera el proceso de envejecimiento de la espiga, también produce micotoxinas como el deoxinivalenol, que contamina a los granos para facilitar su propagación, pero puede ocasionar daños a la salud (Simón, 2021; Figueroa *et al.*, 2018, Spanic *et al.*, 2021). La rápida acción de este patógeno puede infectar a toda la planta en un lapso de entre diez y catorce días (Figueroa *et al.*, 2018).

3.4.4 Mancha foliar por septoria

La mancha foliar por septoria es causada por *Zymoseptoria tritici*, y se estima que afecta entre el 30% y 50% el rendimiento de los cultivos de trigo (Duba *et al.*, 2018). El patógeno entra en la planta a través de los estomas o por las uniones de las células epidérmicas, ocupa el espacio del apoplasto donde obtiene los nutrientes necesarios para su subsistencia, en la primera etapa de la infección (biotrófica) que dura entre 6 y 36 días es capaz de suprimir los mecanismos de defensa de la planta, por lo tanto, no hay síntomas. Le sigue la fase necrótica, el hongo absorbe gran cantidad de nutrientes y aumenta su tamaño, los metabolitos que produce influyen en el éxito de la enfermedad (Duba *et al.*, 2018). El diagnóstico de la infección en etapas tempranas es difícil porque sus síntomas son similares al de tizón de la espiga por *Fusarium*, con lesiones grises en las

hojas en forma de ojo que se agrandan hasta unirse y provocar la muerte de las hojas, sin embargo, los daños dependerán de la etapa de desarrollo, por ejemplo: la infección en la floración provoca granos vacíos, si es durante el llenado de granos la enfermedad se manifiesta en semillas arrugadas y pequeñas, que no son viables para su consumo como alimento humano (Islam *et al.*, 2020).

3.4.5 Añublo del trigo

Otro agente que infecta a las plantas de trigo es *Magnaporthe oryzae Triticum* (*MoT*) patotipo (*Pyricularia oryzae*) (Figueroa *et al.*, 2018; Islam *et al.*, 2020). Provoca graves daños a la espiga, desde pequeñas lesiones hasta el blanqueamiento completo o parcial, por lo tanto, evita el desarrollo de los granos y/o disminuye su peso y calidad nutrimental, esto refleja pérdidas en los rendimientos. La especificidad de esta especie hacia su hospedero es alta, por lo tanto, hay variedad de linajes que genéticamente son diferentes, entre ellos *Oryza* (*MoO*) que ataca al arroz y *MoT* ataca a otros miembros de la familia Poaceae como el trigo y cebada (Islam *et al.*, 2020).

3.5 Estrategias para el control de enfermedades

El manejo de enfermedades se lleva a cabo a través de diferentes métodos que se pueden aplicar solos o en conjunto bajo un manejo integral, que consiste en el estudio, selección e integración de las técnicas como: las prácticas culturales, el control genético y el uso de productos químicos de altos costos económicos, ambientales y de salud (Alaylar *et al.*, 2021).

Las prácticas culturales se encargan del manejo de los patógenos a través de la eliminación de una parte o de toda la planta infectada manualmente, incluye actividades como: la quema de residuos vegetales infectados de cosechas anteriores para evitar su propagación; rotación de cultivos para disminuir la concentración de los patógenos y evitar su persistencia en los suelos (Duba *et al.*, 2018).

Una estrategia para el control de patógenos es el mejoramiento de variedades de trigo, además aumentan los rendimientos y disminuyen los costos de producción (Duba *et al.*, 2018; Taj *et al.*, 2022). Las plantas y los patógenos han desarrollado mecanismos sofisticados de defensa que tienen que ver con la resistencia activa, la inmunidad y virulencia. Por lo tanto, muchos cultivos son mejorados genéticamente a través de la edición de genes, como los de resistencia al estrés biótico (Taj *et al.*, 2022) y los que se expresan en presencia de algún patógeno para proteger a la planta

(Duba *et al.*, 2018; Figueroa *et al.*, 2018; Islam *et al.*, 2020). Sin embargo, la alta y variada virulencia de los patógenos disminuye la eficacia de estas estrategias, esto favorece y aumenta los caracteres heredados de resistencia (Duba *et al.*, 2018).

El uso de productos con extractos vegetales y compuestos químicos sintéticos ayuda a mejorar la Respuesta Sistémica Adquirida (SAR) de la planta, inicia por la síntesis de moléculas del hospedero después de reconocer los metabolitos del patógeno. Entre los compuestos que favorecen la protección y resistencia del trigo se encuentra el ácido salicílico (Duba *et al.*, 2018).

La presencia y gravedad de la enfermedad dependerá de: factores ambientales como el clima, el estrés hídrico y la disponibilidad de nutrientes, también por la susceptibilidad de los cultivos a los patógenos (Figueroa *et al.*, 2018, Islam *et al.*, 2020) porque muchos son destructivos y de acción rápida, lo que limita la probabilidad de tomar medidas efectivas para su control y erradicación (Islam *et al.*, 2020).

Los métodos para el manejo de las enfermedades en los cultivos son diversos, sin embargo, son poco eficientes y de altos costos ambientales y económicos, por lo tanto, es necesario buscar alternativas que sean eficientes y sostenibles, como el control biológico con microorganismos benéficos como las Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (PGPR) que tienen mecanismos directos e indirectos para proteger a las plantas de los ataques de patógenos y productos como el biocarbón que puede tener efectos positivos sobre las características del suelo y las comunidades microbianas (Alaylar *et al.*, 2021).

3.5.1 El uso de fungicidas en el control de enfermedades

Los tratamientos químicos son ampliamente usados en la agricultura para el control de hongos patógenos y sus enfermedades, la FAO registró un aumento en el uso de pesticidas de 30% y estima que se aplican de 1.5 a 1.8 kg ha⁻¹ (FAO, 2022). Los fungicidas son agroquímicos que se pueden aplicar desde las semillas para disminuir la concentración de los agentes infecciosos y proteger a la plántula, sin embargo, son poco confiables, tienen baja efectividad en el control de enfermedades, algunos causan fitotoxicidad y reducen la germinación (da Ros *et al.*, 2018; Figueroa *et al.*, 2018, Islam *et al.*, 2020). Para el tratamiento químico de las semillas se utiliza el tebuconazole que afecta la pared celular de los hongos, el carbendazim altera la mitosis y la acción de la tubulina, fludioxonil-mefenoxam limita el transporte y crecimiento del micelio al interior del

hospedero, así como la síntesis del ARN y el Carboxin que evita la producción de energía porque inhibe al complejo citocromo II (da Ros *et al.*, 2018).

La aplicación de productos químicos en los cultivos puede provocar daños a la salud de las personas que están expuestas a estos compuestos, provocando enfermedades respiratorias, hormonales e incluso cáncer (da Ros *et al.*, 2018). Además, elevan los costos de producción y favorecen el daño ambiental, además, son poco eficientes debido a la resistencia que los patógenos han desarrollado frente a estos compuestos (Duba *et al.*, 2028; Ons *et al.*, 2020). Los productos químicos cuando se usan en exceso podrían afectar a los microorganismos y la biodiversidad de los suelos (Alaylar *et al.*, 2021).

3.5.2 El control biológico como una alternativa para el manejo de enfermedades en plantas

Una alternativa en el tratamiento de enfermedades es el control biológico o biocontrol, que se fundamenta en el uso de microorganismos contra patógenos de plantas (Islam *et al.*, 2020; Ons *et al.*, 2020). Las comunidades microbianas que se desarrollan en el suelo y principalmente en la zona rizosférica, compiten por los nutrientes que se encuentran en los exudados radicales y pueden generar un efecto benéfico o dañino al desarrollo de las plantas, las primeras incluyen a los promotores de crecimiento vegetal, y los segundos a los fitopatógenos que causan enfermedades y pérdidas de los cultivos (Moreno-Velandia *et al.*, 2018). Una estrategia actual y eficaz para controlar la acción de estos patógenos que infectan a semillas, plantas y cultivos es a través del uso de microorganismos que no solo estimulan el crecimiento de los cultivos, sino que además son antagonistas de los agentes que desarrollan enfermedades en las plantas, a través de diversos mecanismos (Islam *et al.*, 2020). Se ha reportado que la diversidad de los microorganismos en el suelo puede intervenir en la salud y supresión de enfermedades en las raíces y plantas por largos periodos de tiempo (Yin *et al.*, 2013; Giorgio *et al.*, 2015).

3.5.3 Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (PGPR) en el control de enfermedades

Las PGPR habitan en la rizosfera y tienen la característica de influir directa o indirectamente en el crecimiento de las plantas (Tiwari y Singh, 2017). Los efectos positivos de las PGPR en el crecimiento de las plantas se han asociado a mecanismos directos que involucran: la producción de fitohormonas como auxinas (ácido índol-3- acético), citocininas y giberelinas; fijación

biológica de nitrógeno, producción de sideróforos, ciclaje y solubilización de nutrientes como zinc y fósforo (Khosro *et al.*, 2023). Existen métodos indirectos que incluyen la competencia por nutrientes, la resistencia inducida y la capacidad anti-fitopatogena mediante la producción de metabolitos secundarios (antibióticos, cianuro de hidrógeno, lipopéptidos y enzimas líticas) y compuestos orgánicos volátiles (COV) que evitan el desarrollo de hongos o bacterias que infectan y provocan enfermedades en las plantas (Giorgio *et al.*, 2015; Tiwari y Singh, 2017, De Tender *et al.*, 2021; Khosro *et al.*, 2023). Por ejemplo, los microorganismos que han mostrado un efecto positivo en la salud de los cultivos son *Rhizoctonia solani*, *Pseudomonas*, *Chryseobacterium*, *Bacillus* y *Serratia*, entre otros (Ons *et al.*, 2020; Poveda *et al.*, 2021; Yin *et al.*, 2013).

3.5.3.1 Síntesis de hormonas del crecimiento vegetal

La fitohormona más abundante y la más estudiada es el ácido indol-3-acético (AIA), que pertenece a las auxinas y se ha visto involucrada en la regulación del crecimiento de las plantas. Algunas funciones de las auxinas es inducir la dominancia apical de los brotes, direccionan el crecimiento, provocan la diferenciación y extensión de los tejidos, también inducen la floración, el desarrollo de los órganos reproductivos y retrasa la senescencia de los frutos (Mike-Anosike *et al.*, 2018). Esta molécula no se limita solo a las plantas o bacterias, sino que está presente en muchos organismos, como los seres humanos, algas y hongos. Las bacterias son capaces de sintetizar la hormona del AIA que también puede reducir el estrés ambiental al que las plantas son sometidas por factores como el pH del suelo, la salinidad, toxicidad o sequías, por lo tanto, le proveen las condiciones favorables para su desarrollo (Mike-Anosike *et al.*, 2018). Este compuesto, se sintetiza por varias vías, principalmente a partir de L- triptófano.

3.5.3.2 Compuestos orgánicos volátiles (COV)

Los COV son sustancias con presiones de vapor superiores a 102 kPa a 25 °C (Poveda, 2021), pueden originarse a partir de las actividades antropogénicas, pero también proceden de procesos naturales en los océanos, volcanes, bosques y de los microorganismos. En la biosfera, por la estructura de estos compuestos, sirven como regulador de las interacciones entre los organismos (Poveda, 2021). Los microorganismos son capaces de sintetizar COV que tienen la característica de ser de bajo peso molecular y con bajos puntos de ebullición. Estos compuestos se originan a partir del metabolismo primario y secundario de los microorganismos por la oxidación de la glucosa, en

la síntesis de alcoholes, cetonas, alquenos, ácidos, pirazinas, bencenoides, terpenos y ésteres, entre otros. A todo el conjunto de COV que son emitidos por un organismo o un ecosistema se le conoce como volatiloma y la tasa de emisión dependerá del microorganismo, etapa de desarrollo, disponibilidad de nutrientes, niveles de oxígeno y de la interacción con otros organismos (Almeida *et al.*, 2023; Poveda *et al.*, 2021).

Estos compuestos cuando se encuentran en estado gaseoso tienen la habilidad de desplazarse entre el suelo e interactuar con otras plantas y microorganismos que están a largas distancias (Almeida *et al.*, 2023). Los COV participan en la dinámica del suelo, porque favorecen la comunicación e interacción con otros organismos como bacterias, hongos y plantas (Sinuco *et al.*, 2020); favorecen la resistencia sistémica de plantas e influyen en el crecimiento y desarrollo de hongos, nemátodos e insectos (Bailly *et al.*, 2014; Poveda, 2021). Estas características se relacionan estrechamente con el control de patógenos, por lo tanto, el uso de estos compuestos pueden ser una alternativa para la protección de cultivos (Sinuco *et al.*, 2020; Gutiérrez-Flores *et al.*, 2022). Los COV microbianos que se han relacionado con el control de patógenos son cariofileno, cianuro de hidrógeno, disulfuro de dimetilo, trisulfuro de dimetilo, tioacetato de S-metilo, benzonitrilo, entre otros (Poveda, 2021).

3.6 Biocarbón, sus características y usos en la agricultura

El biocarbón es un compuesto estable y rico en carbono, resultado de la descomposición térmica de la biomasa de residuos sólidos orgánicos en condiciones limitadas o carentes de oxígeno (Lehmann *et al.*, 2011; De Tender *et al.*, 2021; Gebremedhin, 2022; Li *et al.*, 2022). Su composición química y su estructura física depende de la materia prima y la temperatura de pirólisis utilizadas en su producción (Gebremedhin, 2022). Este producto se considera como parte de una economía circular, en la que se busca dar un valor agregado a los residuos y desechos orgánicos, a través de la recuperación de bioenergía, compuestos y estructuras que resultan de la descomposición con procesos térmicos de anaerobiosis, para darle un nuevo uso en la agricultura (Gebremedhin, 2022). La importancia del biocarbón radica en sus múltiples funciones como la mitigación de los gases de efecto invernadero, ya que puede ser un sumidero de carbono en el suelo por largos periodos de tiempo (Arabi *et al.*, 2018), se calcula que extrae aproximadamente el 20% del carbono de la atmosfera, también disminuye la emisión de metano del suelo, entonces, se vuelve en una estrategia para la reducción de dióxido de carbono (Gebremedhin, 2022). Este

material participa en la remediación de suelos, agua y aire porque absorbe sus contaminantes, inmovilizándolos, además durante su obtención por pirólisis se pueden producir biocombustibles renovables que reducen la dependencia al petróleo y recicla la energía (Gebremedhin, 2022).

Entre las aplicaciones del biocarbón se encuentran las de enmendar y mejorar la fertilidad de los suelos debido a sus características tanto químicas como físicas, como su alta porosidad y área superficial que retiene la humedad y nutrientes minerales para liberarlos lentamente (Lehmann *et al.*, 2011). Estos nutrimentos son puestos a disponibilidad de las plantas evitando que sean lixiviados a ríos o lagos (Liu *et al.*, 2023) y promoviendo el crecimiento de los cultivos a través del aumento radicular por el suministro de nutrientes (Ren *et al.*, 2020; Kari *et al.*, 2021; Herlambang *et al.*, 2022, Li *et al.*, 2022). También aumenta la capacidad de intercambio catiónico, previniendo la pérdida de nutrientes como el nitrógeno. Este carbón vegetal es capaz de modificar el pH del suelo (Arabi *et al.*, 2018, Li *et al.*, 2022) y promover la actividad microbiana, ya que provee un nicho favorable para el desarrollo de diversas y abundantes especies de microorganismos. Recientemente, se investiga la capacidad de este compuesto sobre el control de enfermedades en diferentes cultivos, por lo tanto, poco se conoce sobre los mecanismos de acción para limitar el desarrollo de patógenos o reducir sus efectos (Liu *et al.*, 2023). Las propiedades del biocarbón depende del tipo de materia prima que se utiliza para su fabricación y la temperatura del proceso de producción como ya se planteó previamente (Gebremedhin, 2022) y las dosis de aplicación (Liu *et al.*, 2023).

3.6.1 Efecto del biocarbón sobre el control de las enfermedades

La acción del carbón vegetal en la agricultura no se limita a la enmienda de suelos, existe evidencia que evita el desarrollo de enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus en varios cultivos (Liu *et al.*, 2023) a través del aumento de la respuesta de resistencia sistémica del hospedero (Gebremedhin, 2022).

Los elementos que favorecen el desarrollo de la enfermedad son básicamente tres, se ilustran en un triángulo (Figura 3) y sucede: cuando un patógeno virulento tiene contacto con un hospedero susceptible en las condiciones ambientales adecuadas para que se lleve a cabo la infección. Los patógenos deben ser eficientes en su supervivencia y en su dispersión, además deben ser capaces de invadir endógenamente al huésped y multiplicarse, muchos de estos microorganismos deben

adaptarse al ambiente y generar resistencia tanto a los mecanismos de defensa de las plantas, como a los productos químicos que se aplican a diversos cultivos. La infección del patógeno también puede depender de la especie del huésped y su resistencia o susceptibilidad, porque es necesario superar los mecanismos de defensa de las plantas. Los factores ambientales como la disponibilidad de agua, temperatura, luz, CO₂, metano, entre otros, pueden afectar el desarrollo, la supervivencia, la distribución de los patógenos y la gravedad de la enfermedad (Pokhrel, 2021).

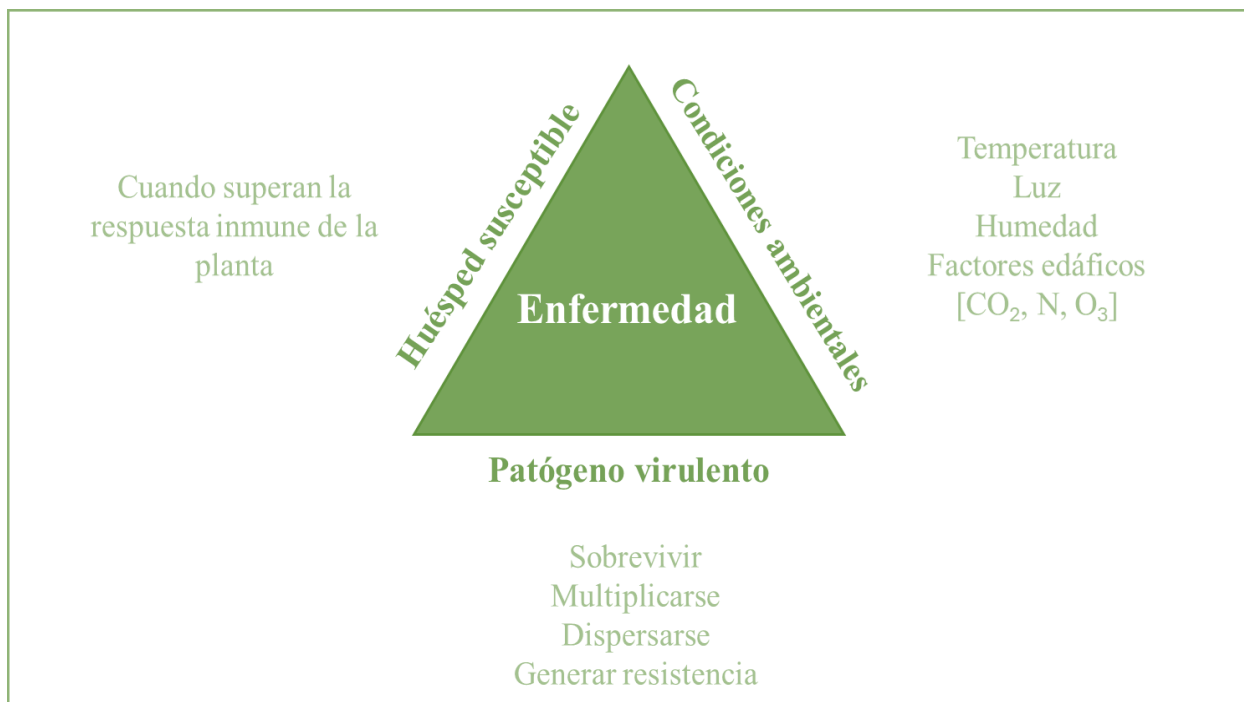


Figura 3. Representación en un triángulo de los elementos involucrados en la aparición de la enfermedad en plantas (adaptado de Pokhrel, 2021).

El biocarbón puede influir en los tres factores para limitar el desarrollo de las enfermedades (Liu *et al.*, 2023). Este producto rico en carbono 1) limita la presencia de patógenos cuando actúa como un medio para la proliferación, protección y supervivencia de diversos microorganismos del suelo (Lehmann *et al.*, 2011), como las rizobacterias y hongos promotores del crecimiento vegetal (Gebremedhin, 2022); 2) que debido a su estructura porosa, adsorbe toxinas que los patógenos liberan al ambiente, provee de nutrientes, humedad y un suelo más fértil a las plantas (Kari *et al.*, 2021), además induce a la respuesta sistémica vegetal; 3) los radicales libres y COV que componen al biocarbón tienen efectos negativos sobre la virulencia de los patógenos, limitando su supervivencia, crecimiento y acción frente al huésped (Alaylar *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2023).

Los estudios revelan que el biocarbón modifica la actividad y diversidad microbiana de la rizosfera, sin embargo, su efecto es indirecto e inespecífico, debido a que no solo favorece el desarrollo de organismos benéficos, sino también a aquellos que pueden ser patógenos (Liu *et al.*, 2023).

Otros autores sugieren la combinación del biocarbón con inóculos microbianos para suplir las deficiencias del carbón vegetal y su baja especificidad, logrando así ser un nicho que asegure la supervivencia y colonización de los microorganismos en la rizosfera, por tiempos más prolongados. Entre los efectos que el complejo biocarbón-inoculo microbiano ofrecen son activar la respuesta sistémica de la planta, por la presencia de organismos como las PGPR y sus metabolitos que también pueden atacar directamente a patógenos a través de sus enzimas, antibióticos, COV, entre otros. Estudios han descrito que el biocarbón puede favorecer la expresión de genes de defensa cuando se mezcla con microorganismos como *Trichoderma* o *Bacillus*, además de activar la resistencia inducida de las plantas por vías como la del ácido jasmónico y el etileno (Liu *et al.*, 2023). El carbón vegetal mejora la fertilidad del suelo, modifica el pH logrando la disponibilidad de nutrientes, favorece la actividad enzimática y la actividad microbiana, factores que son importantes para el desarrollo de cultivos.

La composición química y física de biocarbón puede afectar a la población microbiana, esto depende del origen de la materia prima a partir de la cual se fabrica este compuesto, por ejemplo, aquellos que provienen de lodos residuales podrían contener metales pesados y radicales libres que pueden ser tóxicos no solo para los microorganismos, sino también para las plantas (Liu *et al.*, 2023).

4 Justificación

El trigo es el tercer cereal más importante a nivel mundial, debido principalmente a su aporte nutrimental (minerales, vitaminas, fibra, macro y micronutrientes) a la alimentación humana y según las estimaciones se requerirá duplicar su productividad para el año 2050 para satisfacer las necesidades de una población creciente, pero también se pronostica una disminución del 30% en su productividad. Este cultivo es susceptible a plagas y enfermedades como los hongos, que amenazan la seguridad alimentaria por sus efectos negativos sobre el rendimiento y calidad del trigo.

En la agricultura se hace uso de grandes cantidades de agroquímicos tanto para la fertilización de los cultivos, como para el control de organismos patógenos que afectan la productividad. Estos productos son poco eficientes y dañan los recursos naturales como el suelo provocando la pérdida de fertilidad, la contaminación y eutrofización de ríos y lagos; además de problemas a la salud humana. Existen alternativas para el control de patógenos fúngicos de plantas como el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y productos como el biocarbón.

Las PGPR limitan el crecimiento de hongos asociados a enfermedades en el trigo directamente por la síntesis de hormonas como el ácido fenilacético, antibióticos y compuestos orgánicos volátiles e indirectamente por la competencia por nutrientes y la inducción de la respuesta sistémica inducida. Estos microorganismos han sido aplicados en cultivos agrícolas y recientemente se estudia su efecto en combinación con materiales como el biocarbón, que en recientes investigaciones se ha comprobado su acción frente a patógenos fúngicos. Por lo tanto, este producto rico en carbono puede favorecer la sanidad de los cultivos a través de la adsorción de compuestos tóxicos que sintetizan los patógenos, proveer un nicho estable para los microorganismos benéficos e inducir la respuesta sistémica de las plantas. Por lo tanto, en el cultivo de trigo se propone combinar el uso de microorganismos de biocontrol como las PGPR con biocarbón para limitar el desarrollo de hongos patógenos y sus efectos.

5 Objetivos

5.1 Objetivo General

Evaluar el control biológico de las enfermedades fúngicas con bacterias promotoras del crecimiento vegetal y biocarbón en plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.)

5.2 Objetivos Particulares

1. Caracterizar hongos fitopatógenos a partir de semillas y plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.).
2. Seleccionar bacterias involucradas en el control biológico de enfermedades fúngicas de trigo *in vitro*.
3. Caracterizar los mecanismos bacterianos involucrados en el control biológico de enfermedades fúngicas en trigo.
4. Validar el control biológico de enfermedades de trigo con bacterias PGPR y biocarbón in vivo en semillas, en ensayos de invernadero y campo.
5. Analizar el efecto del biocarbón y PGPR sobre las características vegetativas de las plantas y severidad de la enfermedad.
6. Relatar la incidencia del control biológico en la cadena de valor del trigo.

6 Hipótesis

La aplicación de biocarbón con Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR), durante el cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.), disminuirá la presencia de enfermedades por patógenos fúngicos que reducen el rendimiento y la calidad del grano.

7 Zona de estudio

La investigación se realizó en el municipio de San José Teacalco, Tlaxcala (Figura 4). El Estado tiene una extensión de 3 996 km², abarca el 0.2% de la superficie del país y es el quinto productor del cultivo de trigo de temporal (siembra de mayo-junio y cosecha de noviembre-diciembre) en la región de valles altos, sin embargo, se ha observado una disminución en su rendimiento por acción de patógenos, plagas y enfermedades a las que están expuestos (Vázquez, 2019). El clima predominante del estado oscila alrededor de los 14°C, pero llega a alcanzar entre 1.5°C a 25°C, las precipitaciones medias se calculan en 720 mm anuales. El estado de Tlaxcala se divide en 60 municipios, entre ellos se encuentra San José Teacalco, que cuenta con una superficie de 36 km² con una población total de 6 436 personas. Se encuentra a una altitud de 2 600 msnm y se sitúa geográficamente entre las coordenadas 19°20' latitud norte y a los 98° 04' latitud oeste. Colinda con los municipios de Cuaxomulco y Tzompantepec al norte; en el oriente y sur se encuentra Huamantla, finalmente al poniente limita con Contla de Juan Cuamatzi, Santa Ana Chiautempan y San Francisco Tetlanohcan.

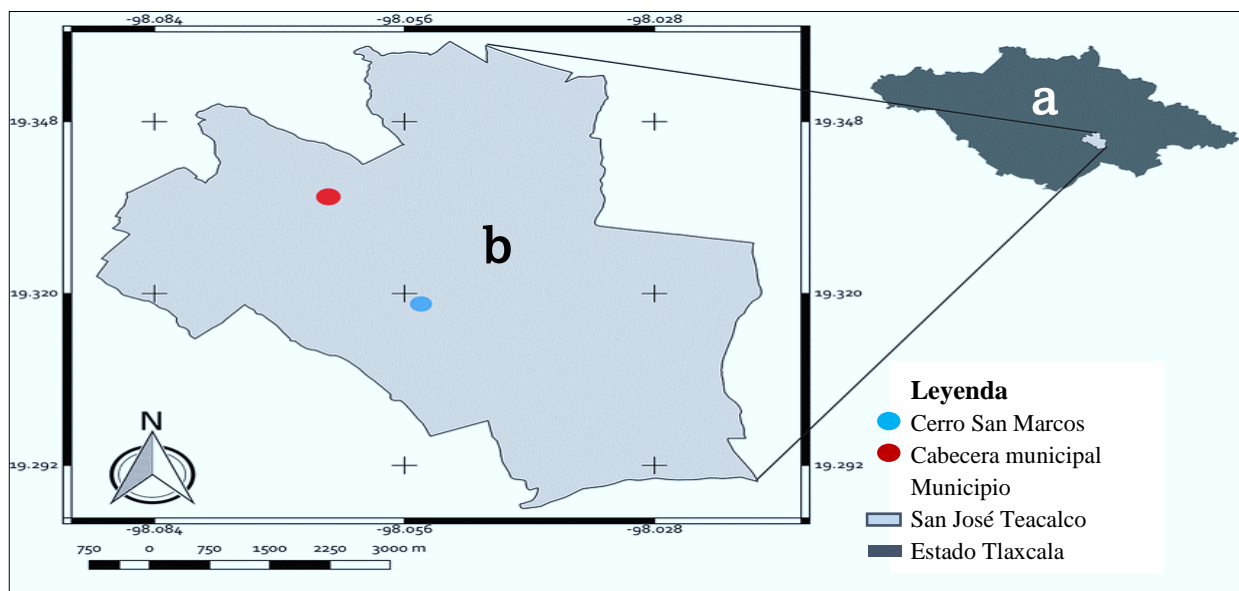


Figura 4. Mapa del municipio de San José Teacalco, perteneciente al estado de Tlaxcala (a: San José Teacalco; b: Estado de Tlaxcala).

8 Materiales y Métodos

8.1 Selección de la biomasa y preparación de biocarbón

El carbón vegetal fue obtenido a partir de restos de poda de *Quercus* sp. de aproximadamente 50 a 80 cm de longitud y fueron sometidos a pirolisis a $\pm 600^{\circ}\text{C}$. El biocarbón fue triturado en trozos pequeños para después someterlos a molienda con un molino eléctrico, se tamizó en malla 500 μm . Las características texturales como superficie específica y las propiedades del poro: volumen total, diámetro y distribución de tamaño fueron determinadas por la técnica de adsorción de N_2 (g) a la temperatura de ebullición de nitrógeno líquido a 77 K, los datos obtenidos fueron tratados por los métodos estándar Brunauer-Emmett-Teller (BET) y Barret-Joyner-Halenda (BJH). Se midió el pH, la conductividad eléctrica y después de la digestión acida del biocarbón con un sistema de microondas, se determinó la concentración total de N, Ca, Mg, Na y K (Guel-Najar *et al.*, 2023).

8.2 Selección y caracterización de Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR)

A partir de la colección bacteriana del Cuerpo Académico BUAP-CA-99 de Microbiología del Suelo del Instituto de Ciencias (ICUAP) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, se seleccionaron seis cepas que han sido asociadas a la producción de enzimas quitinasas, sideróforos y por lo tanto al control de hongos fitopatógenos como: *Fusarium*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Acremonium*, *Rhizopus*, entre otros (Gutiérrez-Flores, 2023). Las bacterias fueron identificadas previamente a través de pruebas bioquímicas por medio del sistema API® Biomérieux y por la secuenciación del gen 16S rARN (Cuadro 2). Además, las cepas bacterianas fueron caracterizadas en la producción de indoles totales, quitinasas y compuestos orgánicos volátiles.

Cuadro 2. Especies bacterianas seleccionadas que pertenecen a la colección del Laboratorio de Microbiología de Suelos.

Clave	Especie
BUAP-P3N	<i>Bacillus mycoides</i>
BUAP-E3L	<i>Bacillus simplex</i>
BUAP-P5S	<i>Serratia grimesii</i>
BUAP-P1R	<i>Serratia proteamaculans</i>
BUAP-P3S	<i>Serratia proteamaculans</i>
BUAP-C2C	<i>Peribacillus simplex</i>

8.2.1 Producción de indoles totales y ácido fenilacético (AFA)

Las bacterias del género *Serratia* fueron inoculadas en caldo de soya y tripticaseína (CST) y las de *Bacillus* en caldo nutritivo, se incubaron en agitación a 220 rpm durante 24 h a $32\pm 2^\circ\text{C}$. Posteriormente, se ajustó el crecimiento microbiano con el tubo 4 de la escala de McFarland (1.2×10^9 UFC mL^{-1}). Se tomó 1 mL del propagado bacteriano y se añadió a 49 mL del medio de cultivo Jean Patriquín (Carcaño *et al.*, 2006) adicionado con 3.125 g de fructuosa y 125 mg de triptófano. Esta inoculación se realizó por triplicado y se incubó en agitación a 220 rpm durante 96 h a 32°C . Las muestras fueron centrifugadas durante 20 min a 5 000 rpm a 4°C , se conservó el sobrenadante y se ajustó el pH a 2.5 con HCl al 10%.

El sobrenadante se lavó tres veces con acetato de etilo hasta observar la separación de las fases orgánica y acuosa, la primera se colocó en un tubo de ensayo con tapa de rosca de 20x150 mm. Se dejó reposar en frío por 24 h y se destiló en un rotavapor a 37°C , hasta que se evaporó completamente el acetato de etilo. Con 500 μL de metanol se resuspendieron los sedimentos y se almacenaron a -20°C .

A través de la técnica colorimétrica por medio de la reacción con el reactivo de Salkowsky se determinó la presencia de indoles totales a partir de su oxidación en sales férricas, provocando coloraciones entre rosa claro a intenso, de acuerdo con la concentración indólica (Mayer, 1958). Se añadió 1 mL del reactivo de Salkowsky y se colocó a 60°C en baño María durante 5 min en oscuridad. La mezcla de solventes para la reacción consistió en 20 μL de metanol y 1 mL del reactivo. Todas las muestras se realizaron por triplicado.

En el espectrofotómetro PerkinElmer's LAMBDA 25 se midió la densidad óptica de las reacciones a 535 nm. También se realizó una curva de calibración utilizando ácido indol-3-acético (SIGMA-ALDRICH) que se muestra en el Anexo A, para cuantificar la concentración de indoles totales.

La presencia del ácido indol-3-acético (AIA) y el ácido fenilacético (AFA) se evidenció por cromatografía en capa fina en una placa HPTLC LiChrospher Silica gel 60 F₂₅₄S. Se colocaron 4 μL de cada extracto bacteriano y 2 μL de los estándares: AIA (1 mg mL^{-1}) y AFA (8 mg mL^{-1}). La fase móvil consistió de acetato de etilo:benceno:ácido acético (25:75:5) y la placa fue revelada con luz UV.

8.2.2 Producción de quitinasas

Las bacterias seleccionadas se propagaron en caldo nutritivo y CST, se inocularon 10 µL en medio suplementado con quitina coloidal (Saima *et al.*, 2013). Se incubaron por 96 h a 32°C. Las cepas productoras de enzimas quitinasas fueron aquellas que mostraron halos transparentes alrededor de las colonias.

8.3 Aislamiento y caracterización de hongos asociados al trigo

Se obtuvo una colección de hongos a partir de plantas y semillas de trigo obtenidas del ciclo 2022 en el municipio de San José Teacalco, Tlaxcala. El aislamiento se realizó por medio de la técnica de siembra de material vegetal en cámara húmeda, que permite el desarrollo de los síntomas y signos de la enfermedad (Warham *et al.*, 1997). En placas Petri de vidrio con papel filtro húmedo previamente estéril, se colocaron partes de la planta como el tallo, hojas y granos, previamente desinfectados con hipoclorito de sodio al 10 % durante dos minutos y con tres enjuagues de agua destilada estéril (SENASICA, 2018). Se llevaron a incubar de 48 a 96 h, a temperatura ambiente y en oscuridad para permitir el desarrollo fúngico. Posteriormente, se identificaron características como textura y color del micelio que sirvieron para aislar diferentes hongos a través de la siembra por picadura en agar de papa y dextrosa (PDA por sus siglas en inglés Potato-Dextrose Agar), se realizaron las resiembras necesarias hasta obtener un desarrollo fúngico puro.

8.3.1 Identificación morfológica de hongos asociados a *Triticum aestivum* L.

Cada cepa fúngica aislada fue identificada a través del método de microcultivo por la técnica de Ridell, que consiste en sembrar el hongo en un bloque de PDA de 1 cm³ colocado entre un portaobjetos y cubreobjetos, dentro de una cámara húmeda. Durante el periodo de incubación (48 a 96 h) se favoreció el desarrollo fúngico, posteriormente fue teñido con colorante azul de metileno. Las preparaciones fueron observadas en un microscopio óptico para diferenciar sus características y estructuras como: color y morfología de la colonia, tipo de micelio, cuerpos fructíferos y esporas, que permitieron asociarlos a un género taxonómico específico con ayuda de claves (Barnett y Hunter, 1972; Wharman *et al.*, 1997; Carrillo, 2003).

8.3.2 Identificación molecular de patógenos fúngicos

8.3.2.1 Extracción del material genético

Los hongos se sembraron en medio de cultivo extracto de Levadura, Peptona y Dextrosa (YPD por sus siglas en inglés Yeast Extract Peptone Dextrose), para incubarse de 4 a 7 días a 32°C en agitación. Cuando se obtuvo un desarrollo fúngico abundante se procedió a realizar la extracción de material genético (ADN) con ayuda del kit Quick-DNA Fecal/Soil Microbe de Zymo Research siguiendo las indicaciones del fabricante: se agregaron aproximadamente 200 mg del hongo a un tubo de lisis (ZR Bashig Bead™) y se adicionaron 750 µL del buffer Bashing Bead™, se colocó en un Vortex Genie2 (G-560) a 3 200 rpm durante 20 minutos con el propósito de romper la pared celular de los hongos, después se llevó a centrifugación (Eppendorf Centrifuga 5415 C) a 10 000 rpm durante 1 minuto, se tomaron 400 µL del sobrenadante y se transfirió al Filtro III-F Zymo-Spin™ que estaba dentro de un tubo colector, para centrifugar a 8 000 rpm. A este filtrado se le agregaron 1 200 µL del Buffer de lisis genómica, se mezcló y se tomaron 800 µL que se colocaron en la columna IICR Zymo-Spin™, en un nuevo tubo colector, para centrifugar por 10 000 rpm durante 1 min. Se decantó el filtrado y se repitió el último paso con los 800 µL que restaban de la mezcla con el buffer de lisis genómica. La columna fue transferida a un nuevo tubo colector, se le agregaron 200 µL del buffer DNA Pre-wash y se centrifugó a 10 000 rpm por 1 min, después se le adicionaron 500 µL del buffer g-DNA Wash a la misma columna para llevarlo a centrifugación durante 1 minuto a 10 000 rpm. Por último, la columna se colocó en un microtubo de 1.5 mL y se le agregó 50 µL del buffer DNA Elution para centrifugar 30 segundos a 10 000 rpm y obtener el material genético listo para aplicaciones posteriores. Se verificó la integridad del material genético por medio de electroforesis en gel de agarosa al 0.8%, durante 70 min a 80 volts, después fue teñido con colorante fluorescente GelRed® Nucleic Acid Gel Stain en oscuridad durante 30 min, para observar los ácidos nucleicos en un transiluminador (WiseUV® Wisd WUV-L50).

8.3.2.2 Amplificación de la sección intergénica ITS

Con el ADN obtenido, se amplificó la sección intergénica ITS1 e ITS2 por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés Polymerase Chain Reaction) y con ayuda de un termociclador (Techne®TC-3000G). La mezcla de reacción estaba compuesta por: 4.5 µL de agua libre de nucleasas, 12.5 µL de la enzima polimerasa GoTaq de Promega®, 1 µL de cada oligonucleótido ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') e ITS4 (5'

TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') (White, 1990), a concentración 10 μ M, y 6 μ L de ADN genómico, obteniendo un volumen final de 25 μ L para la reacción. La PCR se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones: desnaturalización a 94 °C por 2 minutos, seguido por 33 ciclos con una temperatura de 94 °C durante 1 minuto, el alineamiento fue a 49 °C por 1 minuto, la extensión a 72 °C por 3 minutos y la extensión final a 72 °C por 7 minutos (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2020). La obtención de productos de amplificación se verificó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, durante 90 min a 80 volts, fue teñido con GelRed® Nucleic Acid Gel Stain por 30 min, y se observó en un transiluminador (WiseUV® Wisd WUV-L50).

La purificación de los productos de PCR se llevó a cabo con el kit DNA Wizard® Genomic DNA Purification. La pureza y concentración de los productos de PCR obtenidos fueron cuantificadas con el espectrofotómetro Lamda 25, estos fueron enviados al laboratorio Langebio, CINVESTAV en Irapuato para su secuenciación por el método de Sanger. La edición y análisis de secuencias fueron realizadas con los programas Chromas y Bioedit, para su comparación con las bases de datos que se encuentran en la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool Analyses) que pertenecen al GenBank del National Center for Biotechnology Information para obtener la especie de cada cepa fúngica.

8.4 Inhibición del crecimiento de hongos asociados a trigo

8.4.1 Producción bacteriana de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV)

La presencia de COV se determinó en placas Petri con cuatro divisiones, en uno de los pozos se vertió medio TSA, y en los otros tres se colocó PDA. Las cepas bacterianas del género *Serratia* se propagaron en caldo de soya y tripticaseína, mientras que aquellas que pertenecen a *Bacillus* en caldo nutritivo. Se incubaron a $32 \pm 2^\circ\text{C}$ en agitación por 24 h. La concentración microbiana se ajustó con el tubo número 4 de la escala de McFarland, posteriormente, se tomaron 10 μ L de cada cepa y se sembró por estría en el pozo de la placa que contenía TSA. En las divisiones con PDA se inoculó el hongo por picadura, y las placas fueron selladas perfectamente con una película plástica. Como testigo, en placas Petri con los mismos medios de cultivo se sembró solo el hongo, en ausencia bacteriana, que sirvió para comparar el desarrollo fúngico después de incubarlas a 32°C durante 48 y 72 horas. Se midió el diámetro de los hongos, para determinar el porcentaje de inhibición (Medina-de la Rosa, 2016).

8.4.2 Efecto de bacterias PGPR y biocarbón sobre hongos asociados a *Triticum aestivum*

La acción de las PGPR sobre el desarrollo fúngico se evidenció en placa Petri, de la siguiente forma: las cepas del género *Serratia* fueron propagadas en tubos con caldo de soya y tripticaseína, mientras que aquellas que pertenecen a *Bacillus* crecieron en caldo nutritivo, se incubaron a $32 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 o 48 h en agitación a 220 rpm. La población bacteriana se ajustó al tubo 4 de la escala de McFarland, y se inoculó en seis radios de 2.5 cm con $10 \mu\text{L}$ cada uno, en placas Petri de $100 \times 15 \text{ mm}$ con agar infusión de papa estéril, en ausencia y presencia de biocarbón al 0.5%, para también evaluar el efecto del carbón vegetal (Figura 5). Las placas fueron incubadas durante 24 h a 32°C para permitir el desarrollo bacteriano y la difusión de metabolitos en el medio.

Después del periodo de incubación, se sembró el micelio de los hongos patógenos por una picadura en el centro del agar, este último paso también se realizó en placas con medio de cultivo con y sin biocarbón, pero en ausencia de bacterias, que sirvió como testigo. El procedimiento se realizó por duplicado para cada cepa bacteriana y hongo aislado de trigo. Las placas Petri se llevaron a incubación durante 7 días a 32°C y posteriormente se midieron los diámetros de crecimiento micelial (Pandey *et al.*, 1982).

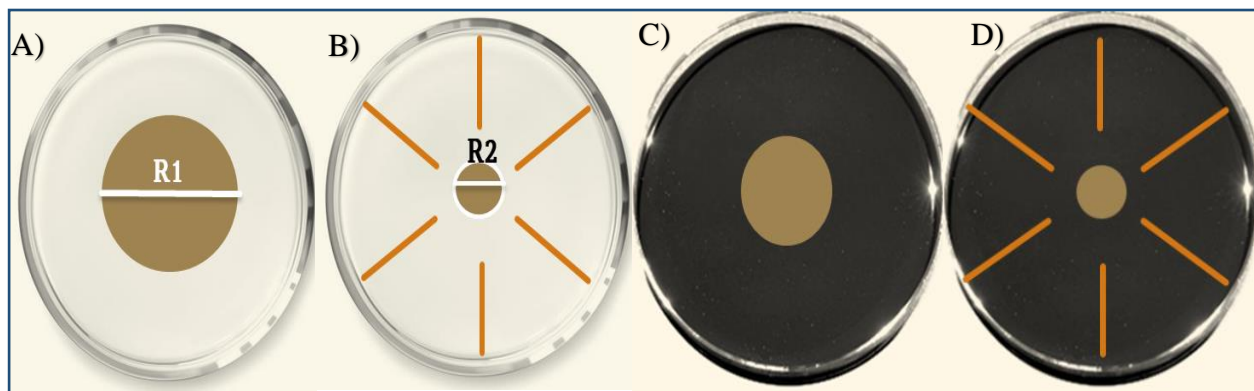


Figura 5. Esquema de la prueba de antagonismo en placa Petri. A) y B) en medio infusión de papa, C) y D) en infusión de papa + biocarbón al 0.5%. Para las PGPR: B) y D) con presencia bacteriana, A) y D) en ausencia de ellas.

8.5 Efecto *in vitro* de PGPR y biocarbón en granos de trigo

8.5.1 Prueba de sanidad de semillas de trigo

Las semillas seleccionadas pertenecen a la variedad Valles F2015 línea generada por el INIFAP, es trigo de primavera y de alta resistencia a enfermedades como el tizón, la roya y manchas foliares (Villaseñor *et al.*, 2018).

Se realizó la prueba de sanidad de semillas, por medio del método Warham para determinar la presencia de hongos endófitos. Se distribuyeron 100 granos de trigo homogéneamente en papel filtro (25x25 cm), estéril y humedecido con agua destilada estéril, se enrolló de tal forma que se evitó el contacto entre las semillas. Se incubaron durante 10 días con 12 horas luz y 12 horas oscuridad, a $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, se identificaron y contabilizaron las semillas infectadas con las diferentes especies de hongos. Se obtuvo el porcentaje de infección y germinación de acuerdo con Warham *et al.*, 1997. La determinación se realizó por triplicado (Medina-de la Rosa, 2016).

8.5.2 Aplicación de PGPR y biocarbón en semillas de trigo

La técnica de sanidad de semillas en papel secante (Warham *et al.*, 1997) fue modificada para determinar el efecto de las PGPR y el biocarbón sobre los hongos endógenos de granos de trigo. En esta prueba las cepas bacterianas se agruparon en consorcios de acuerdo con el género taxonómico al que pertenecen. En total se aplicaron ocho tratamientos: 1) Testigo, 2) *Bacillus*, 3) *Serratia*, 4) *Bacillus*+*Serratia*, 5) Biocarbón, 6) Biocarbón+*Bacillus*, 7) Biocarbón+*Serratia* y 8) Biocarbón+*Bacillus*+*Serratia*.

Se inició con la preparación de los inóculos. Cada bacteria se propago en medio líquido: *Bacillus* en caldo nutritivo y *Serratia* en caldo de soya y tripticaseína, durante 24 a 48 horas a 32°C , en agitación a 220 rpm. Después, se estandarizó la población con el tubo 4 de la escala de McFarland y entonces se mezcló cada grupo de microorganismos en igualdad de volumen. En el testigo y en el tratamiento con biocarbón, el diluyente usado fue agua destilada estéril.

En 30 mL de inóculo se sumergieron 300 semillas de trigo durante 2 h, después se distribuyeron homogéneamente sobre papel filtro estéril de 25 x 25 cm, previamente se humedeció con 20 mL de agua destilada estéril. Se envolvió y se cubrió con una película plástica, para evitar la contaminación externa y la desecación, se llevó a incubar a temperatura ambiente durante 10 días con lapsos de 12 h luz y 12 h oscuridad, todos los tratamientos se realizaron por triplicado. Para las semillas testigo se dejaron reposar en agua destilada estéril y se continuó con el proceso.

El biocarbón se aplicó al 3% según correspondía, hasta alcanzar un volumen final de 30 mL. Las 300 semillas se dejaron reposar durante 2 h con los tratamientos y se siguió el proceso descrito

anteriormente. Se observó y cuantifico el porcentaje de germinación y de infección por patógenos fúngicos en presencia y ausencia tanto de los consocios bacterianos como de biocarbón.

8.6 Validación del control biológico en ensayos de invernadero y campo

8.6.1 Aplicación en invernadero de PGPR y biocarbón en trigo

El suelo utilizado en el experimento de invernadero procedió de San José Teacalco, Tlaxcala. Se recolectó por el método cinco de oros que consistió en tomar cuatro submuestras de la capa arable de los extremos del área delimitada y una central (Anexo B) y se mezclaron para obtener una sola muestra. También se realizó el análisis microbiológico, físico y químico de fertilidad donde se detectaron elementos como N total, P, Ca, K, entre otros. El suelo recolectado se tamizó y se colocó en 85 macetas con 3 kg cada una. A 35 macetas se les adicionó biocarbón al 3% (p/v) (Araujo *et al.*, 2019).

Se aplicaron 16 tratamientos que se muestran en el Cuadro 3, Las cepas bacterianas se inocularon en 50 mL de medio líquido, caldo nutritivo o de soya y tripticaseína según corresponda, y se llevó a incubación durante 24 h a 32 °C y en agitación a 220 rpm. Se estandarizó la concentración microbiana al tubo 4 de la escala de McFarland y se llevaron a cabo las mezclas correspondientes. En el testigo, biocarbón y fertilización química se utilizó agua destilada como sustituyente del propagado bacteriano. Cada tratamiento consistió en 65 semillas de trigo sumergidas en 20 mL del inoculante durante dos horas, en cada maceta se sembraron 13 granos.

El fungicida seleccionado fue el Alto 100SL de Syngenta, que es de acción sistémica y pertenece al grupo de los triazoles, su ingrediente activo es el ciproconazol: 2-(4-clorofenil)-3-ciclopropil-1-(1H-1.2.4-triazol-1-il) butano-2-ol. Según las recomendaciones del producto, se diluyeron 2.5 mL del fungicida en 1 litro de agua destilada. Este se aplicó desde la siembra, por lo tanto, se mezcló con las diferentes bacterias de los tratamientos en igualdad de volumen, sin embargo, solo se dejó reposar con la semilla durante 30 minutos, para evitar la disminución en la germinación. A las tres semanas del establecimiento del experimento, se raleó para dejar solo 10 plantas por macetas, los criterios de selección fueron la media en la altura y grosor del tallo.

A los 85 días se seleccionaron 3 plantas y se marcaron colocando lazos de colores para evaluar la severidad de las enfermedades provocadas por hongos en la hoja bandera de acuerdo con las

recomendaciones de CIMMYT (1986). A los 102 días se dio por terminado el experimento de invernadero y se realizó la última evaluación, midiendo las siguientes variables: altura de la planta, longitud de la hoja, diámetro del tallo, masa seca del tallo y raíz, longitud de la espiga, número y peso de granos, a las plantas que se midieron anteriormente. Se utilizó la escala de Rust para evaluar el índice de severidad de las enfermedades provocadas por trigo.

Cuadro 3. Tratamientos aplicados en condiciones de invernadero para evaluar el efecto de PGPR y biocarbón en el control de hongos patógenos en plantas de trigo

Número	Tratamiento	Clave
1	Testigo	T
2	<i>Serratia</i>	S
3	<i>Bacillus</i>	B
4	<i>Serratia</i> + <i>Bacillus</i>	BS
5	Fungicida químico	FQ
6	Biocarbón	Ca
7	Biocarbón + <i>Serratia</i>	CS
8	Biocarbón + <i>Bacillus</i>	CB
9	Biocarbón + <i>Serratia</i> + <i>Bacillus</i>	CBS
10	FQ + <i>Serratia</i>	FS
11	FQ + <i>Bacillus</i>	FB
12	FQ + <i>Serratia</i> + <i>Bacillus</i>	FBS
13	FQ + Biocarbón	FC
14	FQ + Biocarbón+ <i>Serratia</i>	FCS
15	FQ + Biocarbón + <i>Bacillus</i>	FCB
16	FQ + Biocarbón+ <i>Serratia</i> + <i>Bacillus</i>	FCBS

8.6.2 Aplicación de PGPR y biocarbón en campo

Cada cepa bacteriana fue inoculada en 500 mL de caldo nutritivo, para propagarlas durante 48 h en agitación a 32 °C. Se prepararon 3 mezclas de acuerdo con los géneros: *Bacillus*, *Serratia* y la combinación de *Bacillus*+*Serratia*, que fueron aplicadas en las semillas de trigo en campo.

El experimento de campo se realizó durante los meses de agosto a diciembre del 2023 en el municipio de San José Teacalco, Tlaxcala. En una parcela de 84 x 16 m con 55 subparcelas de 3 x 5 m o 15 m², separadas entre ellas por 1 m de distancia, se aplicaron 9 tratamientos con cinco repeticiones cada uno. El experimento siguió un diseño completamente al azar (Figura 6). Para cada subparcela se pesaron 300 g de semilla y se les agregó 0.5 mL de adherente agrícola para

favorecer la adherencia de los microorganismos sobre la superficie del grano, después se adicionaron 10 mL de inóculo bacteriano, 15 g de biocarbón y/o 10 mL de fungicida, de acuerdo con el tratamiento al que pertenecían. Se esparcieron las semillas por voleo en la superficie indicada y al final de la siembra con ayuda de un tractor se cubrieron totalmente.



Figura 6. Panorámica del experimento de invernadero aplicado en el Municipio de San José Teacalco, Tlaxcala, en subparcelas de 3x5 m con separación de 1 m entre ellas. Las banderas de colores indican la señalética de los diferentes tratamientos

Se realizó una primera evaluación a las 8 semanas después de la siembra, donde se colectaron 3 plantas de cada parcela para evaluar en el laboratorio: la severidad de la enfermedad en la tercera hoja de acuerdo con la escala de Rust, la longitud y ancho de la planta, masa seca de la planta y raíz. También se fertilizó con urea y fosfatos con la dosis 120-60-00.

Después de la primera evaluación, se realizó una segunda inoculación de los tratamientos bacterianos y fungicida de manera foliar. Después de 20 semanas se llevó a cabo la evaluación final y la cosecha. Se colectó el trigo que creció en 1 m² al centro de las subparcelas para calcular la productividad de cada tratamiento. Se seleccionaron 3 plantas y se midió: la longitud de la espiga, número de granos, masa seca, altura y diámetro del tallo.

También se evaluó el efecto de los tratamientos aplicados en las parcelas sobre los granos cosechados, a través de la técnica de sanidad de semillas en papel secante de Warham (1997). Después de los 10 días de incubación, se observaron las colonias fúngicas sobre las semillas y se determinó el porcentaje de infección.

Cuadro 4. Tratamientos aplicados en el experimento de campo, en el municipio de San José Teacalco, Tlaxcala.

Número	Tratamiento	Clave
1	Testigo	T
2	<i>Serratia</i>	S
3	<i>Bacillus</i>	B
4	<i>Serratia</i> + <i>Bacillus</i>	BS
5	Biocarbón	Bc
6	Bicarbón + <i>Serratia</i>	SC
7	Biocarbón + <i>Bacillus</i>	BaC
8	Biocarbón + <i>Serratia</i> + <i>Bacillus</i>	BSC
9	Fungicida químico	FQ

8.7 Cadena de valor *Triticum aestivum* L.

Se realizó una esquematización de la información acerca del empleo de trigo en los sectores de producción, procesamiento, distribución y consumo, que permitió observar los bienes y beneficios del trigo en la sociedad. Además, fue posible ofrecer una visión de los efectos o puntos críticos por la presencia de fitopatógenos en cada sector, así como las alternativas para su control, con el fin de disminuir los daños al ambiente y aumentar su competencia y calidad. Este modelo de desarrollo social y de producción se propone para evaluar la calidad de la materia prima y por lo tanto de los costos de producción (semilla, fertilización, agroquímicos, mano de obra, entre otros), calidad de los productos (% de proteína) y la competitividad del país en esta industria (costos, pérdidas, productividad).

8.8 Análisis estadístico

Los datos obtenidos serán analizados con el programa R commander versión 4.2.2, para someterlos a pruebas de normalidad, análisis de varianza y comparación de medias por la prueba de Tukey.

9 Resultados y discusión

9.1 Caracterización de biocarbón

Los análisis de una isoterma de adsorción el biocarbón de *Quercus* sp. que se clasificó como del tipo 1, según la IUPAC (Figura 7a), denota que es un sólido microporoso que en su estructura presenta poros de diversos tamaños desde 1 a 7 nm, los predominantes son aquellos ≤ 3 nm (Figura 7b). El volumen total de poro se calculó en $0.112 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ con un diámetro promedio de 2.33 nm y un área superficial de $289.5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. En cuanto a las características químicas del biocarbón, se determinó un pH de 8.9 y CE de 2.23 dS m^{-1} , y su composición es 0.8 % de N, 8.0 g kg^{-1} de Ca, 5.0 g kg^{-1} de Na, 3.6 g kg^{-1} de Mg y 95 g kg^{-1} de K.

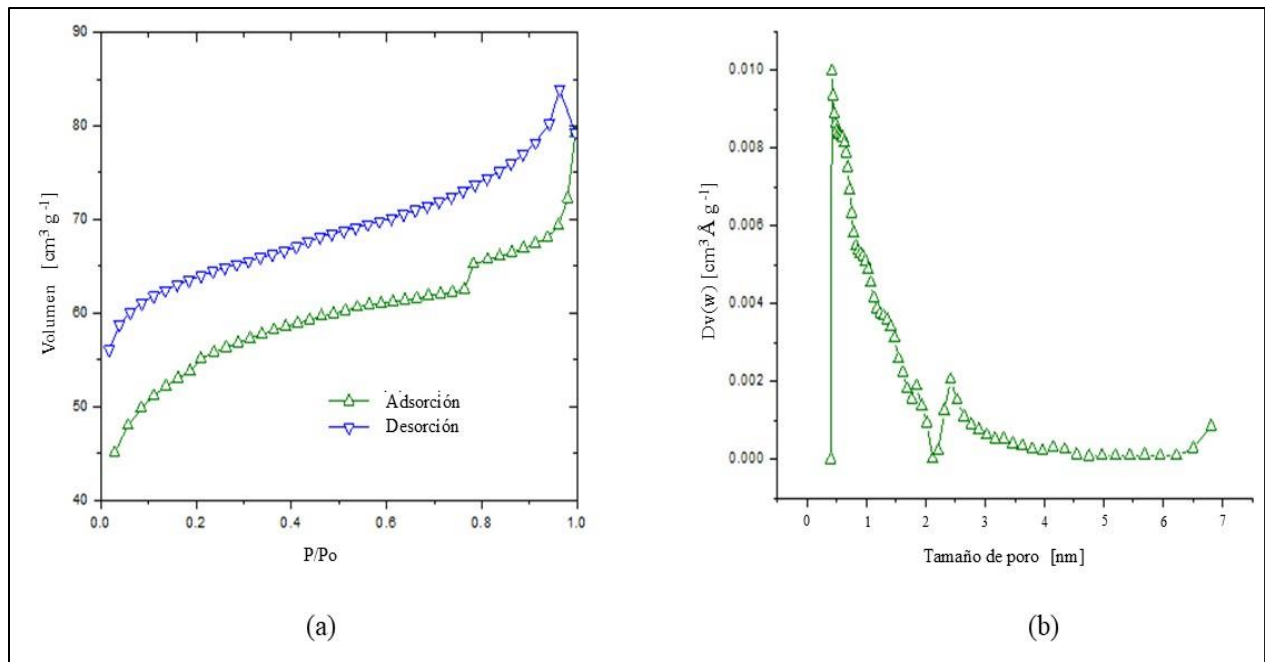


Figura 7. Caracterización textural de biocarbón. a) Isothermas de adsorción-desorción de N_2 y b) distribuciones de tamaño del poro por el método de la teoría del funcional de densidad (DFT).

El biocarbón que se obtiene de restos de poda de *Quercus* sp., estructuralmente estuvo formado de microporos y mesoporos, estos pueden aumentar la adsorción de este material y el área superficial (Pituello *et al.*, 2015; Saletnik *et al.*, 2022). Los poros proveen un nicho estable a la microbiota, lo que favorece su propagación, actividad y supervivencia (Dror *et al.*, 2022; Lacomino *et al.*, 2022),

aquellos que se encuentran entre 1 y 20 μm son los que según otros estudios aseguran la colonización de microorganismos (Liu *et al.*, 2023). Por ejemplo, *Bacillus* requiere de mesoporos (2 a 4 mm) para anclarse (Sarfraz *et al.*, 2019) y participa en el control de algunos patógenos fúngicos. Además, los microorganismos sintetizan sustancias de adhesión y por medio de interacciones electrostáticas que se llevan a cabo en la superficie del material rico en carbón se logra el complejo biocarbón-inoculo microbiano (Liu *et al.*, 2023).

Las características tanto físicas como químicas del biocarbón son consecuencia de las condiciones de la pirolisis y de la biomasa (Dror *et al.*, 2022). En pirolizados de *Quercus* se ha reportado concentraciones de N_2 que van del 0.3 % a 1.3%, esto es semejante a los datos de esta investigación, también es rico en minerales, pero esto se relaciona con la parte de la planta (hojas, bellota, corteza, aserrín, etc.) que se use como materia prima para la elaboración de biocarbón. El pH alcalino es común en este tipo de carbón vegetal y favorece la x de suelos (Saletnik *et al.*, 2022).

El biocarbón ha sido ampliamente estudiado por su capacidad en el secuestro de carbono y la enmienda de suelos (Alade *et al.*, 2021). El biocarbón ensayado tiene potencial de ser adsorbente de nutrimentos útiles para las plantas, además, retiene N_2 a presiones bajas, por lo tanto, puede liberar otros compuestos lentamente, por ejemplo, los metabolitos microbianos que participan en el control de patógenos. Entre las características del biocarbón, las más representativas son: la retención de humedad (Sarfraz *et al.*, 2019), 2), la inmovilización de compuestos tóxicos como enzimas que sintetizan los patógenos, provocan severos daños y favorecen su patogenicidad (Lacomino *et al.*, 2022), También, está involucrado en la inducción de la resistencia vegetal (Lacomino *et al.*, 2022; Kolton *et al.*, 2017). Melo-Lozano y Afanasjeva, (2023) mencionan los efectos del biocarbón en las propiedades benéficas del suelo y el mejoramiento en el desempeño de los cultivos, algunos de sus grupos funcionales permiten la adsorción de contaminantes, incrementan el carbono en el suelo, también su estructura porosa favorece el aumento de rizobacterias y sus conexiones simbióticas con las raíces.

9.2 Caracterización de las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal

Las especies bacterias ensayadas fueron (Cuadro 2): *Serratia proteamaculans* (BUAP-P1R y BUAP-P3S), *Serratia grimesii* (BUAP-P5S), *Bacillus mycoides* (BUAP-P3N), *Bacillus simplex*

(BUAP-E3L) y *Peribacillus simplex* (BUAP-C2C) (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2023). Estos géneros se incluyen dentro del grupo de las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (Goswami *et al.*, 2016). Se demostró que las cepas seleccionadas son productoras de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, las más eficientes son las del género *Serratia* con concentraciones de indoles totales semejantes entre las tres especies, sin embargo, sucede lo contrario con *Bacillus*, donde solo *P. simplex* tiene una alta síntesis indólica (Cuadro 5). Esto puede relacionarse con la biosíntesis de ácido indol acético (AIA) dependiente de triptófano, a través de sus diferentes rutas, la más estudiada y frecuente es la del ácido indol pirúvico, pero algunos autores han reportado que *Bacillus* utiliza la vía de triptamina (Goswami *et al.*, 2016) que resulta en la síntesis de diferentes concentraciones de AIA. Además, otros autores reportan que las bajas concentraciones de AIA estimulan el desarrollo y elongación de las raíces, mientras que las altas concentraciones favorecen la formación de raíces laterales y adventicias (Mike-Anosike *et al.*, 2018).

Cuadro 5. Detección de indoles, quitinasas y COV por PGPR del género *Serratia* y *Bacillus*

Especie	Clave	Indoles			Quitinasas	COV
		Totales ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	AIA	AFA		
<i>Bacillus mycoides</i>	BUAP-P3N	26.0 \pm 7.4 b	-	+	-	+
<i>Bacillus simplex</i>	BUAP-E3L	25.3 \pm 7.5 b	-	-	-	+
<i>Peribacillus simplex</i>	BUAP-C2C	152.2 \pm 18.2 a	+	-	-	+
<i>Serratia grimesii</i>	BUAP-P5S	275.0 \pm 86.3 a	+	-	+	+
<i>Serratia proteamaculans</i>	BUAP-P1R	239.7 \pm 50.4 a	+	-	+	+
<i>Serratia proteamaculans</i>	BUAP-P3S	225.7 \pm 20.3 a	+	-	+	+

(+) Positiva. (-) negativa. Ácido indol-3-acético (AIA), ácido fenilacético (AFA), compuestos orgánicos volátiles (COV). Letras diferentes en la misma columna muestran diferencias significativas ($p < 0.5$).

El microbioma de las plantas influye sobre su desarrollo y salud (Kolton *et al.*, 2017), a través de la interacción directa entre los organismos y de sus metabolitos, por ejemplo, por la síntesis de enzimas (Dror *et al.*, 2022). Se observó que *Bacillus* sintetiza auxinas como AIA y solo la especie *B. mycoides* produce ácido fenilacético (AFA). Este compuesto es importante en el control biológico porque además de participar en la estimulación de las plantas también actúa directamente contra patógenos fúngicos (Cook, 2019).

9.2.1 Síntesis de enzimas quitinasas

En el ambiente existen microorganismos de control biológico que sintetizan diversas enzimas líticas como las glucanasas, proteasas, lipasas y quitinasas, las últimas degradan la pared celular de hongos, provocando la muerte celular y la liberación de quitina y glucano que activan los mecanismos de defensa de las plantas (Pedraza *et al.*, 2020). Saima y colaboradores (2013) han descrito que bacterias PGPR como *Bacillus* y *Serratia*, son eficientes productoras de quitinasas, enzimas que se encargan de la defensa vegetal, debido a que estos compuestos hidrolizan la pared celular de los hongos, evitando su propagación (Gutiérrez-Flores *et al.*, 2022). Sin embargo, en esta investigación las especies de *Bacillus* ensayadas carecen de actividad quitinasa en condiciones de Laboratorio.

9.3 Aislamiento y caracterización de hongos asociados a *Triticum aestivum*

A partir de la siembra de material vegetal en cámara húmeda y la prueba de sanidad de semillas en papel secante, se lograron aislar e identificar 15 cepas fúngicas; 12 fueron obtenidas de los granos de trigo y 3 especies a partir de plantas (Anexo C).

La identificación morfológica y por secuenciación de la sección intergénica ITS1 e ITS2 evidenció la presencia de: tres cepas de *Alternaria alternata*, cuatro cepas de *Alternaria arborescens* y una cepa de cada especie de *Chaetomium mareoticum*, *Epicoccum* sp., *Epicoccum sorghinum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium tricinctum*, *Geotrichum candidum* y *Parastagonospora nodorum* (Figura 8). Los hongos encontrados han sido relacionados con enfermedades que provocan una disminución en la calidad y el rendimiento del trigo. Además, especies de *Fusarium* han sido relacionadas con el tizón de la cabeza y la pudrición de la raíz, y sintetizan micotoxinas que favorecen su virulencia y provocan daños a la salud humana (Manghwar *et al.*, 2021). El fitopatógeno *Parastagonospora nodorum* suprime los mecanismos de defensa de la planta por medio de la síntesis de proteínas que lo protegen de la acción de las quitinasas del trigo (Figueroa *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2016). Los síntomas de pudrición de la raíz, mancha foliar, plaga de la espiga y punto negro (El-Gremi *et al.*, 2017) tienen en común la presencia del hongo *Alternaria*, que ha sido reportado como un patógeno que se adapta a las condiciones ambientales debido a su amplia variabilidad genética (Turzhanova *et al.*, 2020), produce toxinas como el ácido tenuazónico, que puede fijarse en los alimentos y provocar daños a la salud de los animales, este

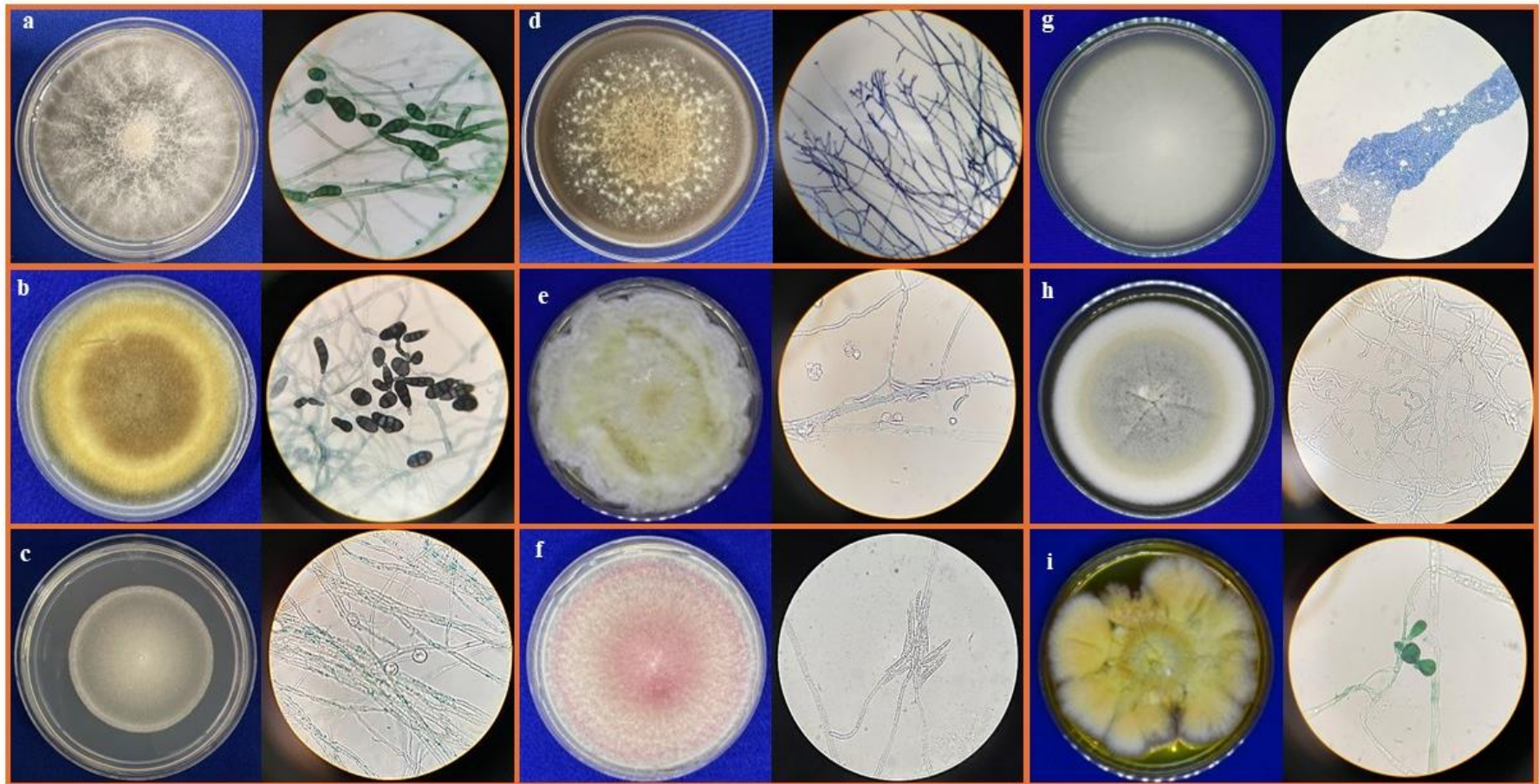


Figura 8. Características morfológicas de la colonia (izquierda) y microscópicas (derecha) de: a) *Alternaria alternata* (SGN); b) *Alternaria arborescens* (SB3); c) *Chaetomium mareoticum* (SN1); d) *Epicoccum sorghinum* (SB2); e) *Fusarium equiseti* (TAM); f) *Fusarium tricinctum* (SR1); g) *Geotrichum candidum*; h) *Parastagonospora nodorum* (TB1); i) *Epicoccum* sp. (SP2). Imágenes microscópicas en 1000X y macroscópicas en placas Petri de 90x15 mm.

compuesto también se ha detectado en el hongo *Epicoccum* spp. (Oliveira *et al.*, 2018). Por otro lado, se identificó a *Geotrichum candidum*, especie que se ha estudiado porque participa en el control de fitopatógenos por medio de la síntesis de compuestos orgánicos volátiles que limitan el desarrollo de otros hongos, contrario a lo que se observó con los otros hongos aislados de trigo (Mitra *et al.*, 2023).

9.4 Antagonismo de PGPR y biocarbón sobre hongos asociados a *T. aestivum*

Las bacterias de los tres géneros *Bacillus*, *Peribacillus* y *Serratia*, limitaron el diámetro de crecimiento de todos los hongos aislados a partir de trigo. Las más eficientes en el control de patógenos fueron las tres cepas de *Serratia* (Figura 9), comparadas con *Bacillus* y *Peribacillus*, mientras que las de menor efecto antagonístico fueron *Peribacillus simplex* (BUAP-C2C) y *Bacillus simplex* (BUAP-EL3) con biocarbón (Figura 10).

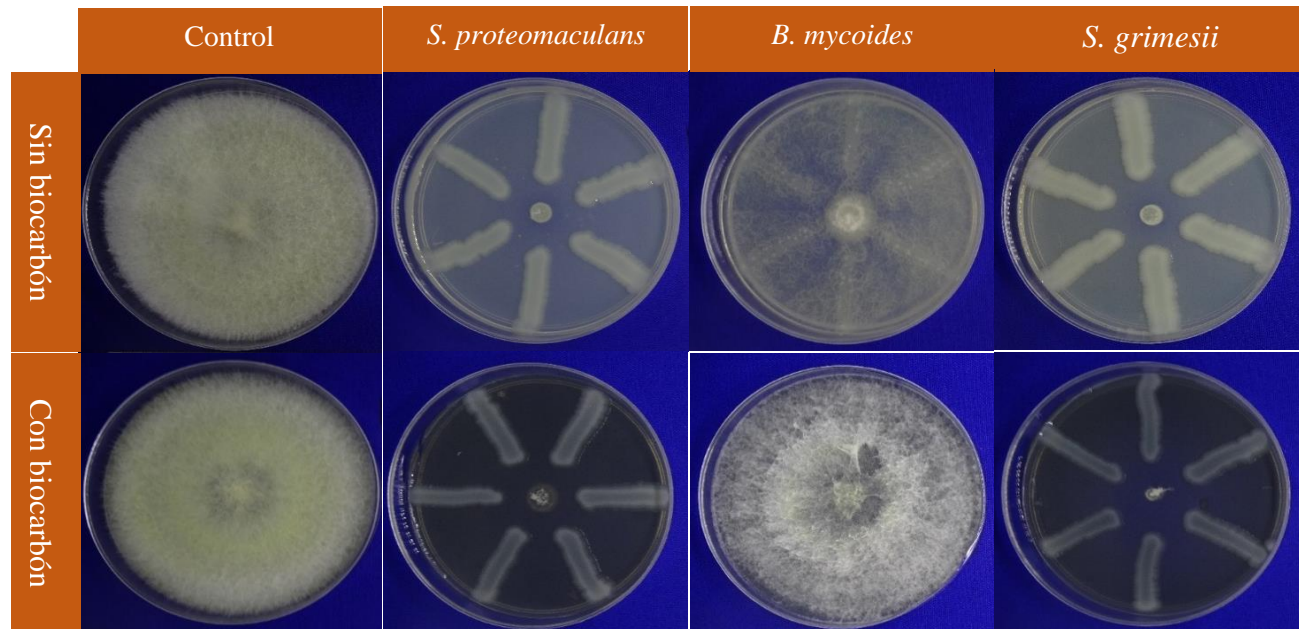


Figura 9. Antagonismo de bacterias del género *Serratia* y *Bacillus* en medio de cultivo infusión de papa en presencia y ausencia de biocarbón, sobre el hongo *Fusarium equiseti*.

Algunos hongos mostraron sensibilidad exclusivamente a una o dos bacterias: 1) *G. candidum* (BUAP-SAM) redujo su crecimiento con *B. mycooides* (BUAP-P3N) y *B. simplex* (BUAP-E3L), sin mostrar diferencias respecto al biocarbón 0.5%; también, la reducción del crecimiento micelial de 2) *C. mareoticum* (BUAP-SN1) no fue tan evidente como en las otras especies fúngicas.

Se determinó que *Fusarium equiseti* y *Fusarium tricinctum* (BUAP-TAM y BUAP- SR1) son sensibles frente a *S. grimesii* cuando están en presencia y ausencia de biocarbón, además *S. proteamaculans* también manifiesta un efecto negativo importante sobre *F. equiseti* (BUAP-TAM), y aumenta cuando está en ausencia de biocarbón.

El biocarbón al 0.5% no mostró diferencias significativas respecto del testigo, pero en algunos casos favorece el desarrollo fúngico como sucede con *G. candidum* (BUAP-SAM), *Epicoccum sorghinum* BUAP-SB2) y algunas cepas de *Alternaria* (BUAP-SNG, BUAP-SC1). Por lo tanto, la adición de bacterias como las PGPR al biocarbón podría aumentar su efectividad en el control de hongos. Pero, generalmente la acción bacteriana es más efectiva cuando el biocarbón estuvo ausente, a excepción de *B. simplex* (BUAP-E3L).

El biocarbón solo tuvo diferencias significativas con respecto del testigo en *P. nodorum* (BUAP-TB1) y *A. arborescens* (BUAP-TP1). Sin embargo, cuando se añadieron PGPR favoreció su acción contra otros hongos. Este efecto se pudo observar con *B. simplex* (BUAP-E3L), ya que aumenta el control en once de los quince hongos ensayados, excepto en *A. alternata* (BUAP- SC2), *A. arborescens* (BUAP-TP1 y BUAP-SB3) y *G. candidum* (BUAP-SAM) en comparación con el uso de biocarbón solo. La adición del carbón vegetal a *Serratia proteamaculans* (BUAP-P3S) limitó el desarrollo de los patógenos, excepto a *G. candidum* (BUAP-SAM) y *A. arborescens* (BUAP-SC2). *Serratia grimesii* (BUAP-P1R) actuó eficientemente sobre todas las especies fúngicas aisladas de trigo, excepto *A. arborescens* (BUAP-SC2), mientras que *S. grimesii* (BUAP-P5S) no actuó sobre *A. alternata*. Sin embargo, la acción de las tres bacterias del género *Serratia* con y sin biocarbón no manifestaron diferencias significativas entre ellas, excepto cuando se enfrentaron con *A. arborescens* (BUAP-SC2) y *G. candidum*.

Las especies de *Bacillus* y *Peribacillus* redujeron en menor proporción el diámetro de los hongos ensayados comparados con *Serratia* (Figura 10). Cuando se añadió biocarbón a *B. Mycoides* disminuyó su efectividad en el control fúngico, en *B. simplex* y *P. simplex* la aumentó. El efecto de las PGPR varía dependiendo de la especie bacteriana y del hongo al que se enfrenten, mientras que la dosis de aplicación del biocarbón y sus características fisicoquímicas determinaran su acción sobre los fitopatógenos. Sin embargo, se ha reportado que el biocarbón puede actuar contra patógenos presentes en el suelo y que atacan a diversos cultivos como *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Podosphaera aphanis*, *Botritis cinerea*, entre otros (Rasool *et al.*, 2021).

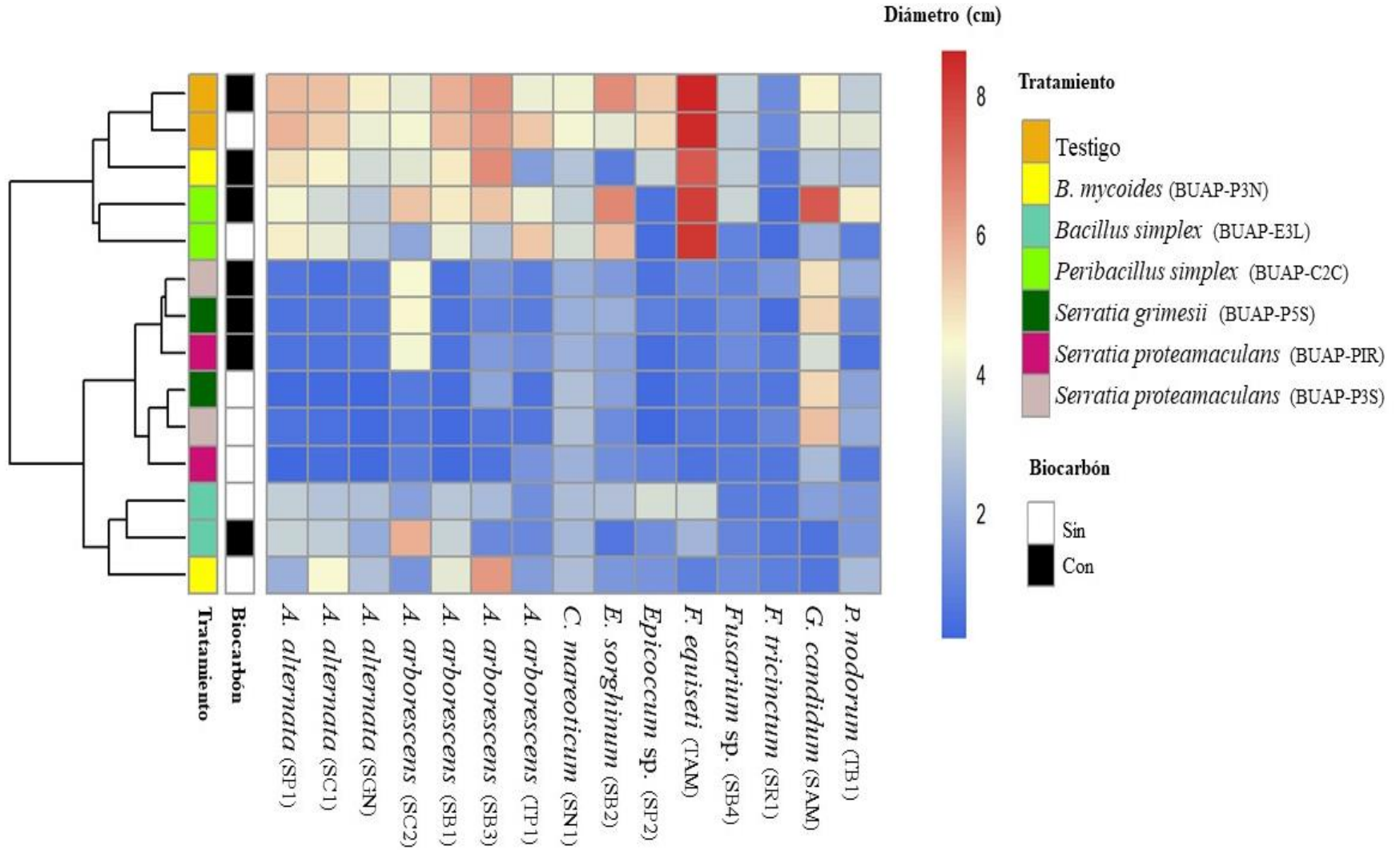


Figura 10. Magnitud visual del antagonismo *in vitro* de los hongos asociados a trigo por PGPR en presencia y ausencia de biocarbón al 0.5%. La escala de color muestra el diámetro fúngico en centímetros.

9.4.1 Efecto de los compuestos orgánicos volátiles (COV) en el desarrollo fúngico

Los compuestos orgánicos volátiles (COV) son un medio de comunicación entre organismos, pueden favorecer la promoción del crecimiento y la resistencia sistémica de las plantas, además modulan la acción de las bacterias contra los hongos patógenos (Poveda *et al.*, 2021; Sinuco *et al.*, 2020). En esta investigación se determinó que especies de *Bacillus*, *Peribacillus* y *Serratia* limitaron el desarrollo de los hongos asociados a trigo hasta con tasas superiores del 50% por la síntesis de COV. Estos compuestos orgánicos afectan negativamente en los hongos a través de cambios morfológicos, reducen el número de conidios y, por lo tanto, también su patogenicidad (Sinuco *et al.*, 2020).

Algunos autores reportan que son más de 1 000 las bacterias que producen COV y son alrededor de 2 000 los compuestos que sintetizan y participan en el control de patógenos fúngicos (Poveda *et al.*, 2021). Se encontró que los hongos de la especie *Alternaria* son susceptibles a todos los COV emitidos por las seis cepas bacterianas, sin embargo, BUAP-SB1 no mostró una alta reducción en el crecimiento micelial, en comparación con las otras cinco especies ensayadas (Cuadro 6). Las bacterias efectivas en el control de: *C. mareoticum* son *B. simplex* (BUAP-3EL) y *S. grimesii* (BUAP-P5S); contra *E. sorghinum* (BUAP-SB2) son las dos *S. proteamaculans*; para el hongo *Fusarium* sp. (BUAPSB4) son *B. mycoides* (BUAP-P3N), *P. simplex* (BUAP-C2C) y *S. proteamaculans* (BUAP-P1R); en el caso de *P. nodorum* disminuye su crecimiento frente a *P. simplex* (BUAP-2C2) y *S. proteamaculans* (BUAP-P3S), en comparación con las otras cuatro cepas. Algunos hongos redujeron su desarrollo solo con una especie bacteriana: *B. mycoides* tuvo un efecto negativo sobre *Epicoccum* sp. (BUAP-SP2) y *G. candidum*, la cepa bacteria de *B. simplex* (BUAP-E3L) actúa inhibiendo a *F. equiseti* (BUAP-TAM) y *F. tricinctum* (BUAP-SR1). El tipo de compuesto orgánico que sintetizan las bacterias y su concentración, dependen del medio de cultivo, temperatura, etapa de crecimiento y método de extracción, (Sinuco *et al.*, 2020). Poveda (2021), reporta que bacterias como *Bacillus* emiten alcanos (2-Dodecano y 2-Tetradecano) y 2,5 dimetil pirazina, acetoina, etc. que actúan contra especies de *Fusarium*, *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, entre otros. Mientras que los COV (Trans-9-hexadeceno-1-ol, β -feniletanol y bencilnitrilo) a partir de *Serratia* limitan el desarrollo de *Rizoctonia solani*. Sin embargo, se ha reportado que altas concentraciones de amonio o dimetil disulfuro por *S. odorifera* inhibe el crecimiento de *A. thalassiana* (Poveda *et al.*, 2021).

Cuadro 6. Diámetro de crecimiento fúngico expuesto a compuestos orgánicos volátiles (COV) producidos por bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR).

Hongos	Testigo	<i>B. mycooides</i>	<i>B. simplex</i>	<i>P. simplex</i>	<i>S. grimesii</i>	<i>S. proteamaculans</i>	
		BUAP-P3N	BUAP-E3L	BUAP-C2C	BUAP-P5S	BUAP-P1R	BUAP-P3S
cm							
<i>Alternaria alternata</i> (SC1)	3.3±0.1 a	2.5±0.4 ab	1.9±0.3 b	1.9±0.1 b	2.3±0.2 ab	1.7±0.3 b	2.1±0.7 b
<i>Alternaria alternata</i> (SGN)	3.3±0.1 a	0.9±0.2 b	1.3±0.1 b	2.3±0.5 b	1.1±0.3 b	1.4±0.0 b	1.0±0.4 b
<i>Alternaria alternata</i> (SP1)	1.7±0.3 a	0.8±0.2 bc	1.2±0.1 b	1.0±0.1 bc	0.5±0.2 c	1.2±0.2 b	0.6±0.1 c
<i>Alternaria arborescens</i> (SB1)	3.5±0.2 a	1.4±0.2 c	2.1±0.1 b	1.7±0.1 bc	2.1±0.2 b	1.4±0.2 c	1.9±0.2 b
<i>Alternaria arborescens</i> (SB3)	2.3±0.1 a	1.5±0.1 bc	2.3±0.0 a	1.3±0.1 c	1.5±0.2 bc	1.7±0.2 b	1.7±0.2 b
<i>Alternaria arborescens</i> (SC2)	2.4±0.1 a	0.9±0.2 bc	1.2±0.1 bc	0.9±0.2 bc	1.3±0.2 b	0.8±0.3 c	1.1±0.2 bc
<i>Alternaria arborescens</i> (TP1)	2.9±0.5 a	2.0±0.7 ab	2.0±0.0 ab	1.3±0.1 b	1.4±0.1 b	2.0±0.1 ab	2.2±0.5 ab
<i>Chaetomium mareoticum</i> (SN1)	3.0±0.1 a	1.7±0.3 cd	1.3±0.2 d	1.9±0.1 c	1.8±0.2 c	2.4±0.2 b	2.0±0.1 bc
<i>Epicoccum sorghinum</i> (SB2)	3.2±0.1 a	2.2±0.2 bc	2.3±0.3 bc	2.1±0.4 bc	2.5±0.3 ab	1.7±0.3 c	1.8±0.2 bc
<i>Epicoccum</i> sp. (SP2)	2.5±0.2 a	1.7±0.5 b	2.1±0.2 ab	2.0±0.2 ab	2.1±0.1ab	2.0±0.1 ab	2.0±0.2 ab
<i>Fusarium equiseti</i> (TAM)	4.2±0.2 a	3.8±0.1 a	3.0±0.7 b	3.5±0.7 a	4.0±0.5 a	4.0±0.3 a	3.0±0.3 b
<i>Fusarium</i> sp. (SB4)	1.2±0.1 a	0.4±0.1 c	0.3±0.0 c	0.6±0.1 b	0.6±0.1 b	0.2±0.0 c	0.6±0.1 b
<i>Fusarium tricinctum</i> (SR1)	2.4±0.5 a	1.5±0.1 ab	0.6±0.2 b	1.4±0.2 ab	1.7±0.6 ab	1.7±0.7 ab	1.9±0.4 a
<i>Geotrichum candidum</i> (SAM)	4.5±0.5 a	2.0±0.0 cd	2.4±0.1 c	3.2±0.1 b	2.9±0.2 bc	3.1±0.1 b	2.8±0.1 bc
<i>Parastagonospora nodorum</i> (TB1)	4.2±0.1 a	2.4±0.1 b	2.7±0.3 b	3.4±0.3 ab	2.6±0.2 b	2.5±1.1 b	2.9±0.1 ab

Los resultados muestran la media ± desviación estándar de tres repeticiones. Letras diferentes en la misma fila representan diferencias significativas $p < 0.05$.

9.5 Efecto *in vitro* de las PGPR y biocarbón en la sanidad de las semillas de trigo

El porcentaje de germinación de las semillas de trigo Var. Valles F2015 es del 97.9%, sin embargo, tuvieron el 84.5% de infección por hongos, donde se identificaron cuatro tipos de colonias que fueron provocadas por dos o más especies fúngicas (Figura 11): A) la colonia fúngica tiene coloraciones amarillas, el micelio es aéreo y con apariencia esponjosa, en ella se encontró a *F. equiseti* y *G. candidum*, B) con abundante micelio pigmentado de café a negro, con presencia o ausencia de esporas compactadas, formando puntos en el ápice de la semilla, a partir de esta se aislaron las especies de *A. alternata*, *A. arborescens*, *C. mareoticum* y *Epicoccum* sp., C) micelio blanco, fino y con apariencia enmarañado, puede ser poco o abundante, las cepas fúngicas obtenidas pertenecen a *A. arborescens*, *E. sorghinum* y *Fusarium* sp., por último, la colonia tipo D) con hifas de aspecto algodonoso, de micelio abundante y con pigmento rosa, es de crecimiento rápido y está compuesta por las especies de *Fusarium* sp. y *F. tricinctum*.

Las colonias más representativas fueron B y C, con el 50 y 30% de los granos infectados respectivamente, por lo tanto, los hongos más abundantes son *Alternaria*, *Chaetonium*, *Epicoccum* y *Fusarium*.



Figura 11. Colonias fúngicas en semillas de trigo variedad Valles F2015, tratadas con PGPR y/o biocarbón.

La aplicación de PGPR y biocarbón en las semillas de trigo aumentó la sanidad en todos los tratamientos comparados con el testigo, desde el 3% hasta el 29%. Los tratamientos más significativos fueron: la combinación de biocarbón con las cepas del género *Serratia* y la mezcla de biocarbón, *Bacillus* y *Serratia* (Cuadro 7).

La colonia fúngica del tipo B se redujo significativamente del 50% hasta el 8.3% con la aplicación de biocarbón+*Serratia*+*Bacillus*, sin embargo, este tratamiento aumento la presencia de la sintomatología C. Para el caso de las colonias A y D, se observa una disminución de la infección de los hongos endófitos, y los resultados más significativos en el primer caso son con la mezcla de los dos géneros bacterianos y biocarbón, contrario a lo que sucede en D, donde *Serratia* controla la presencia de hongos, cuando el biocarbón está ausente. Las especies de *Bacillus* mostraron efectos poco significativos en el control de los patógenos endófitos de semillas de trigo, pero mejora cuando se mezcla con biocarbón. Esto es semejante a lo que reportan otros estudios, en los que *B. subtilis* disminuye las enfermedades en tomate hasta el 80% cuando se añade biocarbón (Lacomino *et al.*, 2022). El estudio del carbón vegetal se ha relacionado con el control de fitopatógenos en diversos cultivos, sin embargo, algunos autores recomiendan su uso con microorganismos que pueden potenciar su efecto (Alade *et al.*, 2021) y otros han reportado que aumenta su susceptibilidad, como en el cultivo de soja frente a *Rhizoctonia solani* (Lacomino *et al.*, 2022).

Cuadro 7. Efecto de PGPR y biocarbón sobre la sanidad de semillas de trigo var. Valles F2015.

Tratamiento	Colonia fúngica en semilla				Sin infección
	A	B	C	D	
	% Infección				
Testigo	7.0±0.7 ab	50.0±1.5 a	32.3±2.1 ab	8.0±0.6 ab	2.6±0.5 c
<i>Serratia</i>	5.3±1.7 ab	31.3±6.2 bc	43.0±6.0 ab	1.7±0.4 b	18.7±1.6 b
<i>Bacillus</i>	10.7±5.8 ab	30.7±2.1 bc	46.3±4.1 ab	6.7±1.3 ab	5.7±0.8 c
<i>Bacillus</i> + <i>Serratia</i>	19.7±1.6 a	19.7±4.4 cd	46.7±4.2 ab	1.7±0.7 a	12.3±1.5 bc
Biocarbón	3.7±0.5 ab	44.3±3.0 ab	23.7±1.6 b	12.3±2.0 a	16.0±1.5 b
Biocarbón +<i>Serratia</i>	0.5±0.4 b	23.0±3.5 bc	41.5±3.9 ab	5.5±1.8 ab	29.5±1.8 a
Biocarbón + <i>Bacillus</i>	6.0±1.2 ab	24.3±2.3 bc	59.3±1.0 a	6.3±1.6 ab	4.0±0.7 c
Biocarbón +<i>Serratia</i> + <i>Bacillus</i>	0.3±0.2 b	8.3±2.0 c	59.3±3.3 a	3.0±0.6 ab	29.0±1.4 a

Los valores representan la media de 3 repeticiones ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas a $p < 0.05$. A, B, C y D representan las diferentes colonias fúngicas en semilla.

9.6 Control biológico con PGPR y biocarbón en experimento de invernadero

El suelo utilizado para el experimento de invernadero procede de San José Teacalco, Tlaxcala, su caracterización física y química determinó que es de textura franco arenoso, moderadamente ácido

con pH 5.4, es extremadamente pobre en materia orgánica y con concentraciones bajas o pobres de N total, Ca, K y P. La conductividad eléctrica muestra un efecto de la salinidad casi nula y el Mg es el único elemento que se encuentra en una concentración media (Cuadro 8). Estos resultados fueron interpretados según la NOM-021-RECNAT-2000. La deficiencia nutrimental en los suelos se debe a múltiples causas como: la intensificación de los cultivos, el uso excesivo de fertilizantes químicos y el uso de variedades de alto rendimiento, esto repercute en la salud y la calidad de los granos de trigo (Pandey *et al.*, 2020).

Cuadro 8. Análisis de fertilidad de suelo de San José Teacalco, Tlaxcala.

Parámetro	Unidades	Valor	Interpretación
pH		5.47	Moderadamente ácido
Materia Orgánica	%	0.29	Extremadamente pobre
Nitrógeno total	%	0.06	Bajo
Arena:limo:arcilla	%	70:24:6	Textura franco arenosa
Calcio	cmol _c kg ⁻¹	4.00	Bajo
Magnesio	cmol _c kg ⁻¹	1.60	Medio
Sodio	cmol _c kg ⁻¹	0.20	---
Potasio	cmol _c kg ⁻¹	0.20	Bajo
CIC	cmol _c kg ⁻¹	9.30	Bajo
Fósforo	mg kg ⁻¹	6.90	Bajo
Densidad aparente	g mL ⁻¹	1.96	---
Conductividad eléctrica	dS m ⁻¹	0.55	Efecto de la salinidad casi nulo

*CIC: Capacidad de intercambio catiónico

El suelo es de uso agrícola, sin embargo, presenta bajas concentraciones de diversos nutrientes necesarios para las plantas, este no es solo un problema local, ya que se calcula que alrededor del 40% del suelo agrícola mundial está degradado (Furtak *et al.*, 2017). Por lo tanto, se busca cubrir las necesidades nutrimentales de los cultivos con el uso intensivo de fertilizantes químicos. Para un suelo fértil y con altos rendimientos, es importante la actividad biológica, sin embargo, esta puede ser modificada por diversos factores como el tipo y las técnicas de cultivo, debido a los exudados que las plantas secretan a través de sus raíces. En el suelo de San José Teacalco también se determinó que los microorganismos más abundantes son las bacterias mesófilas y actinomicetos con poblaciones superiores a 4 millones por gramo de suelo, mientras que la proporción de hongos fue de 45 000 UFC g⁻¹ y en menor cantidad fueron las bacterias Gram negativas con 3 000 UFC g⁻¹ (Cuadro 9).

Cuadro 9. Población de microorganismos en suelo de San José Teacalco, Tlaxcala

Microrganismo	1x10³ UFC g⁻¹ Suelo
Bacterias mesófilas aerobias	5 100 ± 230.0
Bacterias Gram negativas	3 ± 0.5
Bacterias filamentosas o Actinomicetos	4 400 ± 560.0
Hongos	45 ± 1.0

En el experimento de invernadero se sembraron trece semillas por maceta, sin embargo, en el testigo y el tratamiento con fungicida químico, disminuyó la germinación y solo se obtuvieron hasta siete plantas por repetición. Las variables vegetativas estudiadas revelaron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 10): la aplicación de *Bacillus* y su mezcla con biocarbón aumentaron la longitud del tallo, sin embargo, sus valores son semejantes al testigo; además el diámetro del tallo aumentó con el uso de fungicida y biocarbón: algo semejante ocurrió con la masa seca de la planta, la longitud de la espiga, el número y peso de los granos, donde se observó un aumento significativo en los tratamientos de fungicida, fungicida+*Serratia* y fungicida+biocarbón con respecto del control.

Las plantas tratadas que aumentaron su sanidad respecto del testigo fueron aquellas a las que se les aplicaron *Bacillus*+*Serratia*, biocarbón+*Serratia*+*Bacillus* y *Serratia*, mientras que los trigos que contenían el fungicida químico elevaron el índice de severidad de la enfermedad es decir tenían evidencia de mayor daño foliar (Cuadro 10), esto a pesar de que también fueron los tratamientos con mayor número y peso de granos de trigo. Se sabe que el efecto del biocarbón sobre el control de las enfermedades depende de: la naturaleza de la materia prima que se utiliza para su preparación, las propiedades del suelo y la dosis de aplicación, por ejemplo, se ha reportado que la aplicación de biocarbón a tasas inferiores al 1% son más eficientes en la inhibición fúngica, que las superiores al 3% (Alaylar *et al.*, 2021). En esta investigación se observó que el control de enfermedades con biocarbón al 3% era significativo solo cuando se mezcló con PGPR. El efecto de este material sobre los patógenos de las plantas es difícil de predecir, porque se conoce poco acerca de sus mecanismos, sin embargo, se sugiere la combinación del biocarbón con una o varias especies microbianas, para mejorar su eficiencia en la supresión o control de patógenos (Liu *et al.*, 2023).

Cuadro 10. Características vegetativas e índice de severidad de la enfermedad de plantas de trigo tratadas con PGPR y biocarbón en el experimento de invernadero.

Tratamiento	Tallo			Espiga Longitud (cm)	Índice de Severidad	Granos	
	Longitud (cm)	Diámetro (cm)	Masa seca (g)			Número	Peso (g)
Testigo (T)	58.8 ± 5.3 a	0.24 ± 0.03 ab	0.37 ± 0.07 de	7.1 ± 0.9 bc	1.7	15.1 ± 2.6 ef	0.5 ± 0.1 cd
<i>Bacillus</i> (B)	59.8 ± 3.2 a	0.24 ± 0.03 ab	0.41 ± 0.06 cd	6.7 ± 0.2 abc	5.3	16.2 ± 2.0 ef	0.6 ± 0.1 cd
<i>Serratia</i> (S)	56.4 ± 4.5 ab	0.20 ± 0.02 de	0.32 ± 0.05 ef	5.7 ± 0.5 de	0.7	12.2 ± 2.1 fg	0.4 ± 0.1 d
<i>Bacillus</i> + <i>Serratia</i> (BS)	57.3 ± 2.6 ab	0.22 ± 0.02 bcd	0.37 ± 0.05 de	6.2 ± 0.6 cd	0.3	14.1 ± 2.8 ef	0.5 ± 0.1 cd
Biocarbón (CA)	57.7 ± 4.1 ab	0.21 ± 0.02 cd	0.35 ± 0.06 ef	6.3 ± 0.9 cd	3.4	16.1 ± 3.6 ef	0.5 ± 0.1 cd
Biocarbón + <i>Bacillus</i> (CB)	59.2 ± 2.7 a	0.23 ± 0.03 abc	0.40 ± 0.05 cd	6.5 ± 0.6 abc	8.0	15.3 ± 2.6 ef	0.5 ± 0.1 cd
Biocarbón + <i>Serratia</i> (CS)	57.3 ± 3.5 ab	0.20 ± 0.02 de	0.37 ± 0.07 de	6.1 ± 0.5 cd	1.0	15.7 ± 3.1 ef	0.5 ± 0.1 cd
FQ + <i>Bacillus</i> (FB)	53.9 ± 3.9 ab	0.20 ± 0.02 de	0.45 ± 0.08 bcd	6.5 ± 0.8 abc	10.7	17.7 ± 3.1 bcd	0.7 ± 0.1 c
FQ + <i>Serratia</i> (FS)	58.2 ± 3.6 a	0.24 ± 0.03 ab	0.54 ± 0.10 ab	7.5 ± 0.9 ab	7.0	23.2 ± 3.6 b	1.0 ± 0.2 b
FQ + <i>Serratia</i> + <i>Bacillus</i> (FBS)	54.3 ± 4.7 ab	0.20 ± 0.02 de	0.37 ± 0.07 de	6.1 ± 0.9 cd	10.0	14.5 ± 3.1 ef	0.6 ± 0.1 cd
FQ + Biocarbón (FC)	52.6 ± 4.1 ab	0.26 ± 0.04 a	0.49 ± 0.11 bc	7.5 ± 1.0 ab	3.7	22.4 ± 5.3 bc	1.0 ± 0.3 b
FQ + Biocarbón + <i>Bacillus</i> (FCB)	54.6 ± 1.7 ab	0.19 ± 0.02 d	0.37 ± 0.05 de	6.1 ± 0.6 cd	13.3	13.5 ± 2.5 ef	0.5 ± 0.1 cd
FQ + Biocarbón + <i>Serratia</i> (FCS)	55.3 ± 6.2 ab	0.21 ± 0.03 cd	0.40 ± 0.06 cd	6.3 ± 0.9 cd	10.7	17.0 ± 4.2 bcd	0.6 ± 0.1 cd
FQ + Biocarbón + <i>Serratia</i> + <i>Bacillus</i> (FCBS)	52.1 ± 4.3 b	0.20 ± 0.02 de	0.27 ± 0.08 f	5.4 ± 0.8 e	5.0	12.9 ± 3.2 f	0.4 ± 0.1 d
Fungicida químico (FQ)	53.0 ± 5.8 ab	0.26 ± 0.04 a	0.61 ± 0.13 a	8.1 ± 0.8 ab	2.0	28.6 ± 4.1 a	1.1 ± 0.2 a
Biocarbón + <i>Serratia</i> + <i>Bacillus</i> (CBS)	54.0 ± 2.2 ab	0.20 ± 0.03 de	0.33 ± 0.04 ef	5.9 ± 0.7 de	0.6	16.7 ± 3.1 cde	0.5 ± 0.2 cd

Los valores representan la media de 15 repeticiones ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas a $p < 0.05$. FQ: Fungicida químico.

9.7 Uso de PGPR y biocarbón en el control de enfermedades en el cultivo de trigo

El experimento de campo realizado en San José Teacalco, estado de Tlaxcala, mostró que las características fenológicas de la planta como la altura, el diámetro del tallo y la longitud de la espiga no tienen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos aplicados con respecto del control. Sin embargo, el peso del tallo más representativo es con el fungicida químico, después *Bacillus* y el testigo (Cuadro 11), este último presentó 26 granos de trigo por espiga, pero, el tratamiento con biocarbón logró alcanzar cerca de 30 semillas.

De acuerdo con la información anterior, se esperaría que el grupo testigo al tener mayor número de granos, así como una alta masa seca de raíz y tallo, mostrara un alto rendimiento total del cultivo, sin embargo, esto no sucede. Los tratamientos de 1) biocarbón+*Serratia*, 2) biocarbón y 3) Biocarbón+*Bacillus*+*Serratia*, mostraron rendimientos superiores a 1.0 ton ha^{-1} , mientras que el testigo solo tiene 0.7 ton ha^{-1} , esto puede deberse al porcentaje de germinación de las semillas que fueron sembradas, ya que como fue evidente en el experimento de invernadero, la germinación aumenta con la presencia de biocarbón y las PGPR, comparados con los tratamientos testigo y aquellos que utilizaban fungicida químico en donde solo germinaron poco más del 50% de las semillas. Por lo tanto, los tratamientos aplicados influyen en la densidad de plantas y en la sanidad del cultivo de trigo. La aplicación de Biocarbón+*Bacillus*+*Serratia* en las semillas disminuyó el índice de la severidad de la enfermedad hasta 5, comparado con el testigo que tuvo un índice de 40 (Cuadro 11).

La mezcla de biocarbón y los dos géneros bacterianos aplicados en semillas de trigo durante la siembra, pueden disminuir significativamente la infección por patógenos, así como aumentar la productividad del cultivo de trigo. El biocarbón por sí solo aumenta el rendimiento de trigo, sin embargo, los patógenos fúngicos y sus compuestos como las micotoxinas que son dañinas para la salud humana siguen persistiendo en las plantas (Oliveira *et al.*, 2018). Lo anterior sugiere que la adición de bacterias, como en este caso de *Bacillus* y *Serratia*, al carbón vegetal puede favorecer el control biológico de las enfermedades en el cultivo de trigo, proveerles un nicho eficiente que las proteja de las condiciones adversas del ambiente, les ayude a reducir la competencia en la zona de anclaje y, por lo tanto, asegure tanto la colonización como el efecto de estos microorganismos sobre las plantas (Liu *et al.*, 2023).

Cuadro 11. Características fenológicas, severidad de la enfermedad y rendimiento total del cultivo de trigo en San José Teacalco, Tlaxcala.

Tratamiento	Longitud (cm)		Diámetro (cm)	Masa seca (g)		No. Granos	Rendimiento total (t ha ⁻¹)	Índice de severidad
	Tallo	Espiga	Tallo	Raíz	Tallo			
Testigo (T)	50.0±8.6 a	8.2±0.5 a	0.3±0.0 a	0.10±0.0 a	0.6±0.1 ab	27 ± 4 a	0.7 ± 0.2 c	40.0
<i>Bacillus</i> (B)	54.1±3.9 a	8.3±0.6 a	0.3±0.0 a	0.07±0.0 bc	0.6±0.1 ab	24 ± 2 ab	1.0 ± 0.3 bc	26.7
<i>Serratia</i> (S)	48.5±3.9 a	7.9±0.6 a	0.3±0.0 a	0.06±0.0 bc	0.4±0.0 ab	24 ± 3 ab	0.9 ± 0.2 bc	33.3
<i>Bacillus+Serratia</i> (BS)	50.8±4.7 a	8.9±1.1 a	0.3±0.0 a	0.09±0.0 bc	0.5±0.0 ab	23 ± 3 ab	0.9 ± 0.2 bc	15.0
Biocarbón (Bc)	49.1±8.1 a	8.1±1.1 a	0.3±0.0 a	0.06±0.0 bc	0.6±0.1 ab	30 ± 2 a	1.3 ± 0.2 b	46.7
Biocarbón+ <i>Bacillus</i> (BaC)	51.3±9.1 a	7.5±1.7 a	0.2±0.0 a	0.05±0.0 bc	0.4±0.2 ab	16 ± 6 b	0.8 ± 0.2 bc	40.0
Biocarbón+ <i>Serratia</i> (SC)	53.3±6.5 a	8.1±1.1 a	0.3±0.0 a	0.04±0.0 c	0.4±0.1 ab	23 ± 4 ab	1.9 ± 0.2 a	46.7
Biocarbón+ <i>Bacillus+Serratia</i> (BSC)	50.0±6.0 a	7.6±1.2 a	0.3±0.0 a	0.10±0.0 a	0.5±0.1 ab	25 ± 5 ab	1.1 ± 0.2 bc	5.0
Fungicida Químico (FQ)	47.5±5.9 a	8.6±1.3 a	0.3±0.0 a	0.06±0.0 bc	0.7±0.2 a	20 ± 2 ab	0.9 ± 0.2 bc	11.7

Los valores representan la media de 5 repeticiones ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas a p<0.5.

9.7.1 Efecto de la aplicación de PGPR y biocarbón sobre granos de trigo cosechados

También se determinó el efecto de las PGPR y biocarbón sobre la sanidad de las semillas cosechadas (Cuadro 12), donde se observó que el fungicida químico disminuye el porcentaje germinación alrededor del 50%. Entre los otros tratamientos no hay diferencias significativas y todos tienen porcentajes de germinación por arriba del 90%, es decir el uso de PGPR y biocarbón favorecieron la germinación de las semillas de trigo comparados con el fungicida químico.

Cuadro 12. Influencia del biocarbón y PGPR en el control de hongos presentes en semillas cosechadas del cultivo de trigo.

Tratamiento	Germinación %	A	B %	C	D	Sin infección
Testigo	97.0 ± 2.6 a	18.4 ± 2.4 a	42.2 ± 7.6 a	17.6 ± 0.7 ab	2.4 ± 0.7 b	19.5 ± 0.7 b
<i>Bacillus</i>	92.3 ± 10.7 a	23.6 ± 6.2 a	33.2 ± 3.8 ab	3.8 ± 1.8 b	3.1 ± 1.9 b	36.3 ± 3.1 a
<i>Serratia</i>	90.0 ± 1.7 a	26.8 ± 8.6 a	49.3 ± 2.0 a	1.9 ± 1.3 b	6.6 ± 1.3 ab	15.5 ± 2.0 b
BS	94.7 ± 8.4 a	28.6 ± 5.5 a	27.3 ± 1.5 b	3.0 ± 1.4 b	11.3 ± 0.7 a	29.9 ± 3.2 ab
Biocarbón	93.7 ± 6.8 a	24.5 ± 5.1 a	44.5 ± 1.6 a	0.0 ± 0.0 b	0.9 ± 0.0 b	30.0 ± 5.1 ab
Bc+ <i>Bacillus</i>	93.0 ± 2.6 a	15.5 ± 2.3 ab	53.0 ± 3.8 a	5.4 ± 0.0 ab	4.6 ± 3.4 b	21.4 ± 10.6 b
Bc+ <i>Serratia</i>	95.3 ± 4.0 a	13.6 ± 1.3 ab	34.2 ± 1.4 ab	8.2 ± 1.8 ab	2.7 ± 2.6 b	41.3 ± 7.1 a
Bc+BS	90.3 ± 5.8 a	14.3 ± 0.7 ab	44.3 ± 5.7 a	12.2 ± 2.8 ab	0.0 ± 0.0 b	29.1 ± 4.9 ab
FQ	49.5 ± 9.2 b	3.3 ± 1.1 b	42.0 ± 11.4 ab	29.6 ± 22.9 a	2.8 ± 2.4 b	22.3 ± 3.2 b

Los resultados muestran la media de 3 repeticiones ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas. Bc: Biocarbón; BS: *Bacillus*+*Serratia*; FQ: Fungicida químico

La colonia fúngica en semilla predominante en los granos de esta generación continuó siendo la de tipo B, con el 42% de infección en los que no recibieron ningún tratamiento, sin embargo, este porcentaje aumento en aquellos que se les aplicó Biocarbón+*Bacillus*, *Serratia*, biocarbón y biocarbón+*Bacillus*+*Serratia*. Los hongos que manifiestan el tipo C disminuyeron su expresión cuando se aplicaron las bacterias y el carbón vegetal, contrario a lo que sucedió con el fungicida. Es importante recordar que las especies implicadas son *A. arborescens*, *E. sorghinum* y *Fusarium* sp., especies que causan severos daños en trigo provocando enfermedades como el tizón de la cabeza, la pudrición de la raíz, y las tres

especies producen micotoxinas que son persistentes a los procesos industriales a los que son sometidos (Oliveira *et al.*, 2018; Turzhanova *et al.*, 2020).

Otro aspecto importante, es que aumentó la incidencia de las colonias tipo A con el 18% de infección en las semillas hijas, comparadas con sus progenitoras que presentaban solo el 7%, el fungicida resulto ser el más efectivo para el control de estos hongos. La colonia fúngica D fue controlada totalmente con el biocarbón+Bacillus+Serratia (Cuadro 12). De acuerdo con los resultados obtenidos, el tratamiento de Biocarbón+Serratia y Bacillus logró aumentar la sanidad de las semillas cosechadas cerca del 40%, comparadas con el testigo con menos del 20% de semillas sanas.

9.8 Incidencia de la aplicación de biocarbón y PGPR sobre la cadena de valor del trigo

Las cadenas de valor fueron descritas en 1985 por Michel Porter y son todas las actividades necesarias para colocar un producto o servicio, desde su nacimiento hasta su venta en el mercado final, por lo tanto, incluye actores variados y muy diversos, porque su estructura es dinámica (Kumar y Pv, 2016). El objetivo de las cadenas de valor agrícolas es la búsqueda de innovaciones o áreas de oportunidad en sus diferentes procesos, para beneficiar a los actores, ser capaces de suplir las necesidades alimentarias y erradicar la pobreza (Qin *et al.*, 2024). Los niveles que componen a las cadenas de valor de productos agrícolas como los cereales, incluyen: producción, procesamiento, distribución y consumo (Grote *et al.*, 2021; Udhayan N. *et al.*, 2023). El uso de microorganismos benéficos como las PGPR y el biocarbón, puede tener efectos positivos sobre los niveles que componen a la cadena de valor del cultivo de trigo (Figura 12).

Durante la producción algunos actores a considerar son: a) insumos básicos como las semillas, fertilizantes, plaguicidas, entre otros, b) tipo de cultivo (temporal o riego), c) estado nutrimental del suelo, d) cambio climático, e) mecanización agrícola (desde el uso de tractores hasta drones, sensores, etc.), f) innovación tecnología (semillas mejoradas, variedades resistentes, modificaciones genéticas, etc.) (Grote *et al.*, 2021; Udhayan *et al.*, 2023). Este experimento se realizó en el año 2023, el cultivo de trigo fue de temporal en un suelo deficiente de nutrientes y con precipitaciones atípicas de 596 mm, comparada con los 720 mm que es la precipitación media estatal (INEGI, 2024), la temperatura oscilo entre los

20 y 25°C, y la semilla que se utilizó fue variedad Valles F2015, que es resistente a royas. La innovación que se realizó fue la adición de biocarbón a la semilla de trigo durante la siembra, para evitar el uso de plaguicidas.

El procesamiento podría incluir 1) calidad del producto, 2) limpieza, 3) adición de nutrimentos, 4) empaque y 5) venta (Udhayan *et al.*, 2023). La definición de calidad del trigo está comprometida con el uso final de los granos, sin embargo, los factores que afectan sus propiedades son: la variedad, el ambiente en el que se cultivó y el manejo postcosecha (de la Olán *et al.*, 2012; Nuttall *et al.*, 2017). La variedad porque determina la forma, las proteínas (glutenina y gliadina) y textura del endospermo, pero las condiciones ambientales afectan la concentración proteica y el peso de los granos por la disponibilidad de agua y N₂ del suelo o de los fertilizantes, el CO₂ de la atmósfera y las altas temperaturas influyen en su tamaño y las propiedades de los masas (viscosidad, elasticidad, resistencia a la deformación y extensibilidad), mientras que las enfermedades pueden manifestarse durante el cultivo y también después de las cosechas, durante el almacenamiento, dañando la calidad física (Nuttall *et al.*, 2017). Los parámetros que se miden para determinar la calidad y el valor de los granos de trigo son el peso de mil litros de trigo (peso hectolítrico), forma, tamaño, dureza, concentración proteica, microorganismos presentes y los daños ocasionados por factores abióticos y bióticos (de la Olán *et al.*, 2012; Nuttall *et al.*, 2017).

La FAO (2024) prevé para México un panorama desfavorable para la producción de trigo, debido a las condiciones meteorológicas del país, principalmente las sequías y Ijaz *et al.* en el 2019, sugirieron que la disponibilidad de agua se relaciona con aumentos en el peso de los granos (Ijaz *et al.*, 2019). De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación, la aplicación de biocarbón+*Serratia* logró aumentar el rendimiento de trigo, alrededor del 170% (1.9 t ha⁻¹), comparado con el testigo (0.7 t ha⁻¹) y cuando se aplicaron *Serratia*+*Bacillus*+biocarbón incrementó el 57% y el precio de garantía ofrecido por el gobierno de México en el año 2023 por tonelada fue de \$7 480 a los pequeños productores y de \$6 938 a los productores con mediana extensión de producción (California, 2023). Por lo tanto, la aplicación de biocarbón y PGPR, podría incrementar la utilidad alrededor de \$5 236 hasta \$12 716 por hectárea, esto en el municipio de San José Teacalco, Tlaxcala en un año

atípico, sin embargo, hay estados donde la producción de trigo alcanza 6.31 t ha^{-1} (California, 2023).

En cuanto a la limpieza de los granos y del producto final que son las harinas, pueden ser evaluados bajo las Normas oficiales Mexicanas NOM-FF-36-1984 y NOM-247-SSA1-2008, donde manifiestan los métodos utilizados para descartar el uso de trigo cuando visualmente presente materia extraña (excretas o restos de animales e insectos, suelo, etc.), microorganismos como los hongos y contaminantes como aflatoxinas, debido a que las harinas obtenidas a partir de los granos de trigo no deben contener más de 300 UFC g^{-1} . El tratamiento de biocarbón+PGPR además de incrementar los rendimientos, logro reducir el número de semillas infectadas por hongos, del 80% en el testigo hasta el 59% y por lo tanto también el número de granos que presentaban daños físicos por la presencia de estos fitopatógenos y las toxinas que sintetizan.

Otro aspecto importante es la distribución, que incluye: 1) la pérdida de cereales durante el transporte por deficiencias en el almacenamiento o por patógenos., 2) políticas de seguridad alimentaria de los países, que pueden ser de apoyo para incentivar a los productores a una agricultura cada vez más sostenible o aquellas que busquen precios justos para los consumidores, impuestos de importación y exportación, 3) Globalización, se refiere a la disponibilidad de trigo para consumo interno, abasteciendo con la producción nacional o si es necesario importar (Grote *et al.*, 2021). Las políticas gubernamentales mexicanas buscan favorecer la producción de cinco alimentos prioritarios (maíz, trigo, arroz, frijol y leche) con el fin de buscar la autosuficiencia alimentaria del país, a través de tres programas: Producción para el bienestar, sembrando vida y precios de garantía. En el primero, se busca proveer asesoría técnica e insumos a pequeños y medianos productores, por medio de prácticas agroecológicas. Sembrando vida utiliza la plantación forestal para aumentar la fertilidad de los suelos, la retención de carbono y la producción de los cultivos. Los precios de garantía son aquellos que se ofertan a pequeños y medianos productores por la compra de los alimentos que se distribuyen a instituciones públicas. (Wise, 2023).

El ultimo nivel en la cadena de valor es el consumo y este dependerá de 1) las preferencias y cambio de dieta, 2) el contenido nutrimental del producto y 3) el crecimiento demográfico (Grote *et al.*, 2021). En el 2023 la producción de trigo fue de 3.5 millones de toneladas y para

el 2024, se estiman 0.5 millones de toneladas menos que el año anterior (FAO, 2024), sin embargo, también la tasa de crecimiento demográfico seguirá disminuyendo como en las dos décadas anteriores hasta el 0.8% en el 2028. En el 2030 se pronostica tan solo el incremento en la producción de trigo de 0.63% (OCDE-FAO. 2021). La industria harinera tiene una demanda de trigo de 225 175 toneladas para todo el 2024, sin embargo, la producción nacional no la suple y es que el trigo es el segundo cereal más consumido en México (California, 2023).

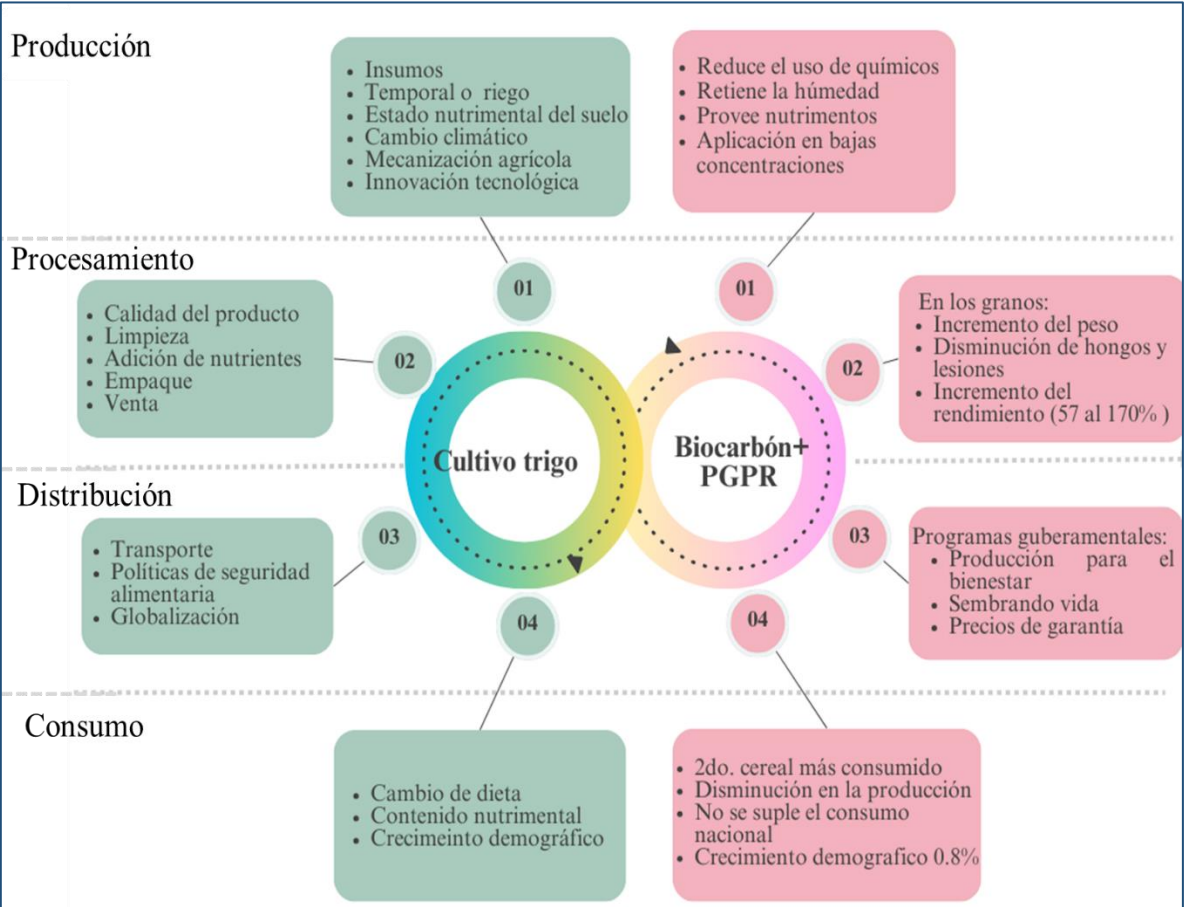


Figura 12. Implicación del biocarbón y PGPR sobre la cadena de valor del trigo (*Triticum aestivum* L.)

10 Conclusiones

Las especies de hongos asociadas a trigo variedad valles F2015 fueron: *Alternaria alternata*, *Alternaria arborescens*, *Chaetomium mareoticum*, *Epicoccum* sp., *Epicoccum sorghinum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium* sp., *Fusarium tricinctum*, *Geotrichum candidum* y *Parastagonospora nodorum*.

Las PGPR de las especies de *Bacillus mycoides*, *Bacillus simplex*, *Peribacillus simplex*, *Serratia proteamaculans* y *Serratia grimesii*, limitaron el desarrollo de todos los hongos asociados a trigo, por mecanismos involucrados en el control fúngico como: síntesis de ácido indol-3-acético, ácido fenilacético, enzimas quitinasas y compuestos orgánicos volátiles.

La aplicación de biocarbón+Bacillus+Serratia en semillas de trigo: disminuyó la presencia de hongos patógenos y aumentó la sanidad de las plantas en condiciones de invernadero y campo.

La aplicación de Bacillus+Serratia+biocarbón aumento significativamente el rendimiento del cultivo de trigo y disminuyo la severidad de la enfermedad por hongos.

El uso de biocarbón+Serratia y Bacillus logró reducir significativamente la presencia de colonias fúngicas en las semillas cosechadas, por lo tanto, se sugiere la adición de PGPR al biocarbón para su aplicación en el cultivo de trigo.

El control biológico con PGPR y biocarbón en el cultivo de trigo es una alternativa al uso de los agroquímicos al mejorar los rendimientos y la calidad de los granos, lo que se traduce en contribuir a la seguridad alimentaria e incrementar los ingresos económicos para los agricultores. Por lo tanto, tiene un impacto positivo en todos los niveles de la cadena de valor del trigo.

11 Referencias bibliográficas

- Alade, Kehinde, I. A., Oloyede, A. R., Abimbola, Ayanda, & Adesina, C. A. (2021). Growth promotion and antifungal activity of soil amendments against Fusarium wilt of pepper. In Nigerian Journal of Plant Protection (Vol. 35, Issue 1).
- Alaylar, B., Güllüce, M., Egamberdieva, D., Wirth, S., & Bellingrath-Kimura, S. D. (2021). Biochar mediated control of soil-borne phytopathogens. Environmental Sustainability, 4(2), 329–334. <https://doi.org/10.1007/s42398-021-00187-5>
- Almeida, O. A. C., de Araujo, N. O., Dias, B. H. S., de Sant'Anna Freitas, C., Coerini, L. F., Ryu, C. M., & de Castro Oliveira, J. V. (2023). The power of the smallest: The inhibitory activity of microbial volatile organic compounds against phytopathogens. In Frontiers in Microbiology (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.951130>
- Arabi, Z., Eghtedaey, H., Gharehchmaghloo, B., & Faraji, A. (2018). Effects of biochar and bio-fertilizer on yield and qualitative properties of soybean and some chemical properties of soil. *Arabian Journal of Geosciences*, 11, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s12517-018-4041-1>
- Araujo, A. S. D., Blum, L. E. B., & Figueiredo, C. C. D. (2019). Biochar and *Trichoderma harzianum* for the Control of *Macrophomina phaseolina*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180259>
- Bailly, A., Groenhagen, U., Schulz, S., Geisler, M., Eberl, L., & Weisskopf, L. (2014). The inter-kingdom volatile signal indole promotes root development by interfering with auxin signalling. *The Plant Journal*, 80(5), 758-771.
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi. Illustrated genera of imperfect fungi., (3rd ed).
- Braun, H. J., & T. Payne. (2013). “Fitomejoramiento en mega-ambientes.” In Fitomejoramiento fisiológico I: Enfoques interdisciplinarios para mejorar la adaptación del cultivo, edited by M. P. Reynolds, A. J. D. Pask, D. M. Mullan, and P. N. Chavez-Dulanto, 6–17. México: CIMMYT.
- Carcaño-Montiel, M. G., Ferrera-Cerrato, R., Pérez-Moreno, J., Molina-Galán, J. D., & Bashan, Y. (2006). Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle. *Terra Latinoamericana*, 24(4), 493-502.
- Carmona, M., & Sautua, F. (2018). Epidemias de roya amarilla del trigo. nuevas razas en el mundo, monitoreo y decisión de uso de fungicidas. *Agronomía & Ambiente*, 38(1).

- Carranza-González, S., Carballo-Carballo, A., Villaseñor-Mir, H. E., Hernández-Livera, A., & Elena-Ramírez, M. (2022). Calidad física de semilla en 24 variedades mejoradas de trigo liberadas en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(5), 827-840. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i5.3003>
- Consultative Group for International Agricultural Research CGIAR. (2019). Wheat in the World CGIAR Research Program on Wheat. Disponible en <https://www.cgiar.org/research/program-platform/wheat/>
- Cook, S. D. (2019). An Historical Review of Phenylacetic Acid. In *Plant and Cell Physiology* (Vol. 60, Issue 2, pp. 243–254). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz004>
- Curtis, B. C., Rajaram, S., & Gómez Macpherson, H. (2002). Bread wheat: improvement and production. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). <https://www.fao.org/3/Y4011E/y4011e04.htm#bm04>
- da Ros Zanette, C. C., Rasche, J. W., Trinidad, S. A., González, L., & Antúnez, C. C. (2018). Eficiencia de fungicidas frente a la incidencia de patógenos en semillas de trigo. *Revista Agrogeoambiental*, 10(3). 121-134. <http://dx.doi.org/10.18406/2316-1817v10n320181215>
- de la Olán, M. O., Espitia Rangel, E., López Sánchez, H., Villaseñor Mir, H. E., Peña Bautista, R. J., & Herrera Hernández, J. (2012). Physical quality from rainfall Mexican bread wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* (Vol. 3).
- De Tender, C., Vandecasteele, B., Verstraeten, B., Ommeslag, S., Kyndt, T., & Debode, J. (2021). Biochar-enhanced resistance to *Botrytis cinerea* in strawberry fruits (but not leaves) is associated with changes in the rhizosphere microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 12, 700479.
- Dror, B., Amutuhair, H., Frenkel, O., Jurkevitch, E., & Cytryn, E. (2022). Identification of Bacterial Populations and Functional Mechanisms Potentially Involved in Biochar-Facilitated Antagonism of the Soilborne Pathogen *Fusarium oxysporum*. *Phytobiomes Journal*, 6(2), 139–150. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-11-21-0071-R>
- Duba, A., Goriewa-Duba, K., & Wachowska, U. (2018). A review of the interactions between wheat and wheat pathogens: *Zymoseptoria tritici*, *Fusarium* spp. and *Parastagonospora nodorum*. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1138. <https://doi.org/10.3390/ijms19041138>

- El-Gremi, S. M., Draz, I. S., & Youssef, W. A. E. (2017). Biological control of pathogens associated with kernel black point disease of wheat. *Crop Protection*, 91, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.08.034>
- FAO (2017). *The Future of Food and Agriculture—Trends and Challenges*. Rome: FAO. Available online at: <https://doi.org/10.4060/cc0959en>
- FAO (2022). *World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2022*. Rome. <https://doi.org/10.4060/cc2211en>
- FAO (2023). Nota informativa de la FAO sobre la oferta y la demanda de cereales. Available online at: www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/
- FAO. (2024). *Crop Prospects and Food Situation*. In *Crop Prospects and Food Situation*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cd0022en>
- Figuroa, M., Hammond-Kosack, K. E., & Solomon, P. S. (2018). A review of wheat diseases—a field perspective. In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 19, Issue 6, pp. 1523–1536). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/mpp.12618>
- Furtak, K., Gawryjolek, K., Gajda, A. M., & Gałazka, A. (2017). Effects of maize and winter wheat grown under different cultivation techniques on biological activity of soil. *Plant, Soil and Environment*, 63(10), 449–454. <https://doi.org/10.17221/486/2017-PSE>
- Garófalo, J., Ponce L., Abad S., (2011). Guía de cultivo de trigo. Boletín divulgativo No. 411. INIAP-Ecuador 20 p. <http://repositorio.iniap.gob.ec/jspui/handle/41000/381>
- Gebremedhin W. (2022). The role of biochar for agricultural and environmental purposes with best quality considerable characteristics. *Magna Scientia Advanced Research and Reviews*, 5(1), 048–053. <https://doi.org/10.30574/msarr.2022.5.1.0044>
- Gilchrist, L., Fuentes C., Martínez C., López R.M., Duveiller E., Singh R.P., Henry M. y García I. (2005). Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. Segunda Edición. México, D.F.: CIMMYT.
- Giorgio, A., De Stradis, A., Lo Cantore, P., & Iacobellis, N. S. (2015). Biocide effects of volatile organic compounds produced by potential biocontrol rhizobacteria on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Frontiers in microbiology*, 6, 1056.
- Grote, U., Fasse, A., Nguyen, T. T., & Erenstein, O. (2021). Food Security and the Dynamics of Wheat and Maize Value Chains in Africa and Asia. In *Frontiers in Sustainable Food Systems* (Vol. 4). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.617009>

- Guel-Najar, N. A., Ríos-Hurtado, J. C., Pat-Espadas, A. M., Guevara-Chávez, J. Y., & Lara-Castillo, F. P. (2023). Biocarbón: una revisión de literatura sobre sus propiedades, métodos de caracterización y aplicaciones. *CienciaAcierta*, 219–260.
- Goswami, D., Thakker, J. N., & Dhandhukia, P. C. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1127500.
- Gutiérrez-Flores, L. M., Mauricio-Gutiérrez, A., Carcaño-Montiel, M. G., Portillo-Manzano, E., Gómez-Velázquez, L., Sánchez-Alonso, P., & López-Reyes, L. (2020). Fungi associated with sick trees of *Pinus patula* in Tetela de Ocampo, Puebla, Mexico. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53(13-14), 591-611. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1778241>.
- Gutiérrez-Flores, L. M., López-Reyes, L., Hipólito-Romero, E., Torres-Ramírez, E., Castañeda-Roldán, E. I., & Mauricio-Gutiérrez, A. (2022). Biological control perspectives in the pine forest (*Pinus* spp.), an environmentally friendly alternative to the use of pesticides. *Revista mexicana de fitopatología*, 40(3), 401-424. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2205-5>
- Gutiérrez-Flores, L. M., López-Reyes, L., Mauricio-Gutiérrez, A., Carcaño-Montiel, M., Portillo-Manzano, E., & Gómez-Velázquez, L. (2023). Potential use of bacterial strain in the genus *Serratia* to biocontrol fungal pathogens associated with defoliation on *Pinus patula*. *Biocontrol Science and Technology*, 33(7), 640–653. <https://doi.org/10.1080/09583157.2023.2210276>
- Hossain, A., Skalicky, M., Brestic, M., Maitra, S., Ashraful Alam, M., Syed, M. A., Hossain, J., Sarkar, S., Saha S., Bhadra, P., Shankar, T., Bhatt, R., Chaki, A.K., Sabagh, A. & Islam, T. (2021). Consequences and mitigation strategies of abiotic stresses in wheat (*Triticum aestivum* L.) under the changing climate. *Agronomy*, 11(2), 241. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020241>
- Igrejas, G., & Branlard, G. (2020). The importance of wheat. In *Wheat quality for improving processing and human health* (pp. 1-7). Springer, Cham.
- Ijaz, M., Tahir, M., Shahid, M., Ul-Allah, S., Sattar, A., Sher, A., Mahmood, K., & Hussain, M. (2019). Combined application of biochar and PGPR consortia for sustainable production of wheat under semiarid conditions with a reduced dose of synthetic fertilizer. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(2), 449–458. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00043-z>
- INIFAP. (2022). Variedades de trigo del INIFAP. Libro técnico No. 3. Disponible en https://vun.inifap.gob.mx/VUN_MEDIA/BibliotecaWeb/_media/_librotecnico/14360_5120_Variedades_de_Trigo_del_INIFAP.pdf
https://vun.inifap.gob.mx/BibliotecaWeb/_Content?/=14360

- Islam, M. T., Gupta, D. R., Hossain, A., Roy, K. K., He, X., Kabir, M. R., Singh, P. K., Khan, M. A. R., Rahman, M., & Wang, G. L. (2020). Wheat blast: a new threat to food security. In *Phytopathology Research* (Vol. 2, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s42483-020-00067-6>
- Jhariya, M. K., Banerjee, A., Meena, R. S., & Yadav, D. K. (2019). Agriculture, Forestry and Environmental Sustainability: a way forward. In *Sustainable agriculture, forest and environmental management* (pp. 1-29). Springer, Singapore.
- Kari, A., Nagymáté, Z., Romsics, C., Vajna, B., Tóth, E., Lazanyi-Kovács, R., ... & Márialigeti, K. (2021). Evaluating the combined effect of biochar and PGPR inoculants on the bacterial community in acidic sandy soil. *Applied Soil Ecology*, 160, 103856. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103856>
- Khoso, M. A., Wagan, S., Alam, I., Hussain, A., Ali, Q., Saha, S., ... & Liu, F. (2023). Impact of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on plant nutrition and root characteristics: Current perspective. *Plant Stress*, 100341. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100341>
- Kolton, M., Graber, E. R., Tsehansky, L., Elad, Y., & Cytryn, E. (2017). Biochar-stimulated plant performance is strongly linked to microbial diversity and metabolic potential in the rhizosphere. *New Phytologist*, 213(3), 1393–1404. <https://doi.org/10.1111/nph.14253>
- Kumar, D., & Pv, R. (2016). Value Chain: A Conceptual Framework. <https://www.researchgate.net/publication/325110680>
- Lacomino, G., Idbella, M., Laudonia, S., Vinale, F., & Bonanomi, G. (2022). The Suppressive Effects of Biochar on Above- and Belowground Plant Pathogens and Pests: A Review. In *Plants* (Vol. 11, Issue 22). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants11223144>
- Lehmann, J., Rillig, M. C., Thies, J., Masiello, C. A., Hockaday, W. C., & Crowley, D. (2011). Biochar effects on soil biota—a review. *Soil biology and biochemistry*, 43(9), 1812-1836. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.04.022>
- Li, Y., Feng, H., Chen, J., Lu, J., Wu, W., Liu, X., ... & Siddique, K. H. (2022). Biochar incorporation increases winter wheat (*Triticum aestivum* L.) production with significantly improving soil enzyme activities at jointing stage. *Catena*, 211, 105979. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2021.105979>
- Liu, Z., Zhou, W., Sun, Y., Peng, Y., Niu, J., Tan, J., & Wei, M. (2023). Biochar and its coupling with microbial inoculants for suppressing plant diseases: A review. *Applied Soil Ecology*, 190, 105025. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105025>

- Manghwar, H., Hussain, A., Ali, Q., Saleem, M. H., Abualreesh, M. H., Alatawi, A., Ali, S., & Munis, M. F. H. (2021). Disease severity, resistance analysis, and expression profiling of pathogenesis-related protein genes after the inoculation of fusarium equiseti in wheat. *Agronomy*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/agronomy11112124>
- Márquez, D. L., Hernández, A., Márquez, L. H., & Casas, M. (2021). La educación ambiental: evolución conceptual y metodológica hacia los objetivos del desarrollo sostenible. *Universidad y Sociedad*, 13(2), 301-310
- Mayer, A. M. (1958). Determination of indole acetic acid by the Salkowsky reaction. *Nature*, 182(4650), 1670-1671.
- Medina-de la Rosa, G., López-Reyes, L., Carcaño-Montiel, M. G., López-Olguín, J. F., Hernández-Espinosa, M. Á., & Rivera-Tapia, J. A. (2016). Rhizosphere bacteria of maize with chitinolytic activity and its potential in the control of phytopathogenic fungi. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 49(11-12), 310-321.
- Mike-Anosike, E. E., Bride, W., & Adeleye, S. A. (2018). International Journal of Advanced Research in Biological Sciences Studies on Indole Acetic Acid (IAA) Production by Rhizobacteria and Growth promoting potentials. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci*, 5(2), 133–140. <https://doi.org/10.22192/ijarbs>
- Mitra, M., Venkatesh, P., Ghissing, U., Biswas, A., Mitra, A., Mandal, M., Mishra, H. N., & Maiti, M. K. (2023). Fruity-scented antifungal volatiles from endophytic *Geotrichum candidum* PF005: Broad-spectrum bioactivity against stored grain pathogens, mode of action and suitable formulation for mycofumigation. *Biological Control*, 177. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105129>
- Moreno-Velandia, C. A., Cotes, A. M., Beltrán-Acosta, C., Bettiol, W., & Elad, Y. (2018). Control biológico de fitopatógenos del suelo. *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros: agentes de control biológico*, 1, 144-220.
- Nuttall, J. G., O’Leary, G. J., Panozzo, J. F., Walker, C. K., Barlow, K. M., & Fitzgerald, G. J. (2017). Models of grain quality in wheat—A review. *Field Crops Research*, 202, 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.12.011>
- Oliveira, R. C. de, Carnielli-Queiroz, L., & Correa, B. (2018). *Epicoccum sorghinum* in food: occurrence, genetic aspects and tenuazonic acid production. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 23, pp. 44–48). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.05.011>
- Organización de las Naciones Unidas. (2022). Objetivos de desarrollo sustentable. Disponible en <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>

- Organization for Economic Co-operation and Development (OCDE). 1999. Consensus Document on the biology of *Triticum aestivum* (Bread wheat). Paris. Series on Harmonization of regulatory Oversight in Biotechnology No. 9. 1-48.
- Ons, L., Bylemans, D., Thevissen, K., & Cammue, B. P. A. (2020). Combining biocontrol agents with chemical fungicides for integrated plant fungal disease control. *Microorganisms*, 8(12), 1–19. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121930>
- Pandey, D. K., Tripathi, N. N., Tripathi, R. D., & Dixit, S. N. (1982). Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 89(6), 344–349. <https://www.jstor.org/stable/43214961>
- Pandey, M., Shrestha, J., Subedi, S., & Shah, K. K. (2020). Role of nutrients in wheat: a review. *Tropical Agrobiodiversity*, 1(1), 18–23. <https://doi.org/10.26480/trab.01.2020.18.23>
- Pedraza, L. A., López, C. E., & Uribe-Vélez, D. (2020). Mechanisms of action of bacillus spp. (bacillaceae) against phytopathogenic microorganisms during their interaction with plants. In *Acta Biologica Colombiana* (Vol. 25, Issue 1, pp. 112–125). Universidad Nacional de Colombia. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.75045>
- Pituello, C., Francioso, O., Simonetti, G., Pisi, A., Torreggiani, A., Berti, A., & Morari, F. (2015). Characterization of chemical–physical, structural and morphological properties of biochars from biowastes produced at different temperatures. *Journal of Soils and Sediments*, 15(4), 792–804. <https://doi.org/10.1007/s11368-014-0964-7>
- Pokhrel, A. (2021). Plant Pathology & Microbiology Role of Individual Components of Disease Triangle in Disease Development: A Review. *J Plant Pathol Microbiol*, 12(9), 573.
- Poveda, J., Martínez-Gómez, Á., Fenoll, C., & Escobar, C. (2021). The Use of Biochar for Plant Pathogen Control. *Phytopathology*, 111(9), 1490–1499. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-20-0248-RVW>
- Qin, L., Xie, W., & Jia, P. (2024). Value Chain Digitalization, Global Value Chain Embeddedness, and Distributed Innovation in Value Chains. *Sustainability (Switzerland)*, 16(7). <https://doi.org/10.3390/su16072845>
- Rasool, M., Akhter, A., Soja, G., & Haider, M. S. (2021). Role of biochar, compost and plant growth promoting rhizobacteria in the management of tomato early blight disease. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85633-4>
- Ren, H., Huang, B., Fernández-García, V., Miesel, J., Yan, L., & Lv, C. (2020). Biochar and rhizobacteria amendments improve several soil properties and bacterial diversity. *Microorganisms*, 8(4), 502. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040502>

- Saima, Kuddus, M., Roohi, & Ahmad, I. Z. (2013). Isolation of novel chitinolytic bacteria and production optimization of extracellular chitinase. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 11(1), 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2013.03.001>
- Saletnik, B., Saletnik, A., Zagula, G., Bajcar, M., & Puchalski, C. (2022). Oak Biomass in the Form of Wood, Bark, Brushwood, Leaves and Acorns in the Production Process of Multifunctional Biochar. *Molecules*, 27(21). <https://doi.org/10.3390/molecules27217191>
- Santana, D. C. E., Zúniga-González, C. A., Hernández-Rueda, M. J., & Marinero-Orates, E. A. (2016). Cultivo de Trigo harinero *Triticum aestivum*, una alternativa para la soberanía nutricional y adaptación ante el cambio climático, en el departamento de Jinotega. *Rev. iberoam. bioecon. cambio clim.*, 2(1), 346-362. <https://doi.org/10.5377/ribcc.v2i1.5705>
- Sarfraz, R., Hussain, A., Sabir, A., Ben Fekih, I., Ditta, A., & Xing, S. (2019a). Role of biochar and plant growth promoting rhizobacteria to enhance soil carbon sequestration—a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(4), 251. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7400-9>
- Sarfraz, R., Hussain, A., Sabir, A., Ben Fekih, I., Ditta, A., & Xing, S. (2019b). Role of biochar and plant growth promoting rhizobacteria to enhance soil carbon sequestration—a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(4), 251. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7400-9>
- Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (2016). ¿Por qué el grano de trigo es tan valioso? Disponible en <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/por-que-el-trigo-en-grano-es-tan-valioso>
- Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (2022). Cultivo de trigo en México: todo lo que debes de saber. Disponible en <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/cultivo-de-trigo-en-mexico-todo-lo-que-debes-de-saber>
- Simón, M. R., Börner, A., & Struik, P. C. (2021). Fungal wheat diseases: Etiology, breeding, and integrated management. *Frontiers in Plant Science*, 12, 671060. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.671060>
- Singh, R. P., Singh, P. K., Rutkoski, J., Hodson, D. P., He, X., Jørgensen, L. N., Hovmøller, M. S., & Huerta-Espino, J. (2016). Disease Impact on Wheat Yield Potential and Prospects of Genetic Control. *Annual Review of Phytopathology*, 54, 303–322. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095835>
- Sinuco, D. C., Coconubo, L. C., & Castellanos, L. (2020). Fungicidal activity of volatile organic compounds from *Paenibacillus* bacteria against *Colletotrichum*

- gloeosporioides. *Revista Colombiana de Química*, 49(1), 20–25. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v1n49.81996>
- Spanic, V., Cosic, J., Zdunic, Z., & Drezner, G. (2021). Characterization of agronomical and quality traits of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) for *Fusarium* head blight pressure in different environments. *Agronomy*, 11(2), 213
- Taj, M., Sajjad, M., Li, M., Yasmeen, A., Mubarik, M. S., Kaniganti, S., & He, C. (2022). Potential Targets for CRISPR/Cas Knockdowns to Enhance Genetic Resistance Against Some Diseases in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Genetics*, 13. <https://doi.org/10.3389%2Ffgene.2022.926955>
- Timothy A. Wise. (2023). Nadar contra corriente: México busca la soberanía alimentaria frente al dumping agrícola estadounidense.
- Tiwari, P., & Singh, J. S. (2017). A plant growth promoting rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* strain inhibits seed germination in *Triticum aestivum* (L) and *Zea mays* (L). *Microbiology Research*, 8(2), 7233. <https://doi.org/10.4081/mr.2017.7233>
- Turzhanova, A., Khapilina, O. N., Tumenbayeva, A., Shevtsov, V., Raiser, O., & Kalendar, R. (2020). Genetic diversity of *Alternaria* species associated with black point in wheat grains. *PeerJ*, 2020(3). <https://doi.org/10.7717/peerj.9097>
- Udhayan N., Naik, A. D., & Hiremath, G. M. (2023). Value Chain Analysis of Wheat in North Karnataka, India. *International Journal of Plant & Soil Science*, 35(20), 974–979. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2023/v35i203891>
- Villaseñor Mir, H. E., Huerta Espino, J., Santa Rosa, R. H., Martínez Cruz, E., Espitia Rangel, E., Solís Moya, E., ... & Rodríguez García, M. F. (2018). Valles F2015: Nueva variedad de trigo para siembras de temporal en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(6), 1315-1320.
- Vázquez, E. (2019). Para mejorar su producción, agricultores de Tlaxcala siembran variedades experimentales de trigo. Centro Internacional de Mejoramiento Maíz y Trigo. Disponible en <https://idp.cimmyt.org/para-mejorar-su-produccion-agricultores-de-tlaxcala-siembran-variedades-experimentales-de-trigo/>
- Warham, E. J., Butler, L. D., & Sutton, R. C. (1997). Ensayos para la semilla de maíz y de trigo Manual de laboratorio.
- White, T.J. (1990) Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: *PCR Protocols, a Guide to Methods and Applications*, 315-322.
- Yin, C., Hulbert, S. H., Schroeder, K. L., Mavrodi, O., Mavrodi, D., Dhingra, A., Schillinger, W. F., & Paulitz, T. C. (2013). Role of bacterial communities in the natural suppression of *Rhizoctonia solani* bare patch disease of wheat (*Triticum aestivum* L.).

Applied and Environmental Microbiology, 79(23), 7428–7438.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01610-13>

12 Anexos

12.1 Glosario

Antagonismo: Interacción entre organismos o sustancias que causan la pérdida de actividad de uno de ellos.

Biocarbón: Es el producto de la descomposición térmica de materiales orgánicos (biomasa) con escaso o limitado suministro de oxígeno (pirólisis), a temperaturas inferiores a los 700°C.

Biocontrol: Es un método de control de plagas y enfermedades que consiste en utilizar organismos vivos o sustancias biológicas para prevenir o reducir los daños ocasionados por organismos nocivos, como los insectos, hongos y otros patógenos.

Enfermedad: Estado producido en un ser vivo por la alteración de la función de uno de sus órganos o de todo el organismo.

Enfermedad de las plantas: Es la respuesta de las células y tejidos vegetales a los organismos patógenos o a factores ambientales que determinan un cambio adverso en la forma, función o integridad de la planta y puedan conducir a una incapacidad parcial o a la muerte de la planta o de sus partes.

Fitopatógeno: un organismo que genera enfermedades en las plantas afectando el metabolismo celular, absorbiendo nutrientes de la célula, por la secreción de enzimas, toxinas, fitorreguladores u otras sustancias.

Fungicida: Cualquier sustancia que se usa para destruir hongos (organismos parecidos a las plantas que no elaboran clorofila), como la levadura y el moho.

Indol: Es un compuesto orgánico heterocíclico necesario para la formación de aminoácidos, neurotransmisores, hormonas vegetales o pigmentos. Su estructura consiste en dos anillos aromáticos, uno de benceno y otro de pirrol.

Quitina: Es el polímero más abundante después de la celulosa, está presente en la pared celular de hongos, levaduras y en el exoesqueleto de los invertebrados.

Quitinasas: Es una enzima capaz de hidrolizar quitina insoluble en sus componentes oligo y monoméricos.

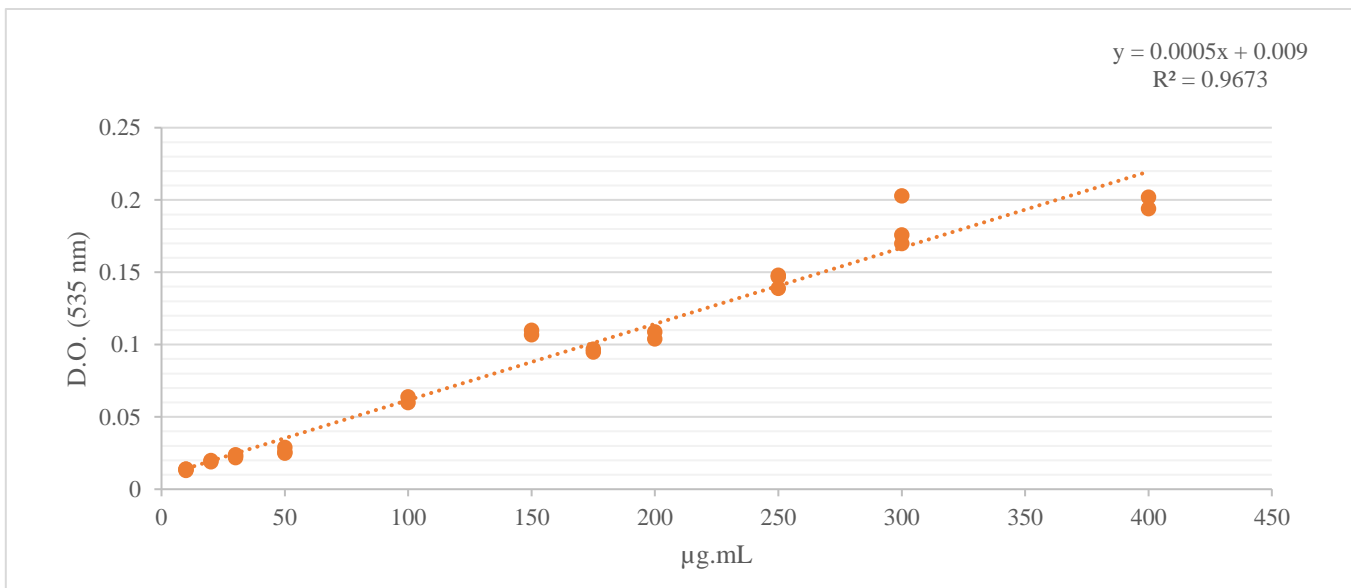
Rendimiento: Medida de la cantidad de un cultivo cultivado o producto, por unidad de superficie de tierra.

Resistencia: Mecanismo genético mediante el cual la planta retarda o suprime la invasión de sus tejidos por parte del patógeno potencial.

Rizosfera: Es la parte del suelo inmediata a las raíces y que está bajo la directa influencia de estas, además es donde existe gran actividad microbiana y aumento de biomasa.

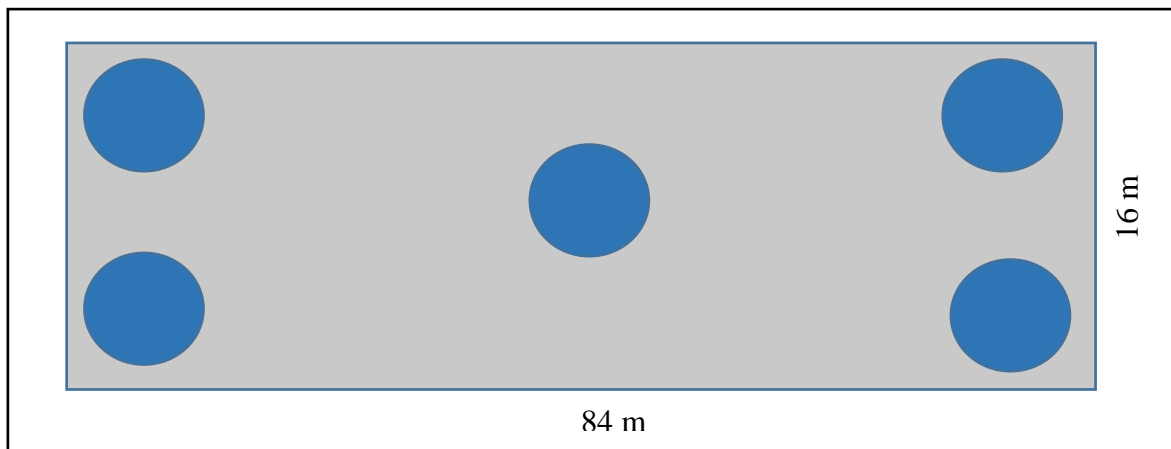
Desarrollo sostenible: Desarrollo capaz de satisfacer las necesidades de las generaciones presentes sin comprometer la capacidad de las del futuras generaciones para satisfacer sus propias necesidades y aspiraciones.

12.2 Curva calibración ácido indol-3-acético



Anexo A. Curva de calibración de Acido Indol 3-Acético (AIA) para la determinación de indoles totales.

12.3 Muestreo cinco de oros



Anexo B. Muestreo de suelo en el sitio de estudio. Círculos representan la toma de submuestras.

12.4 Especies fúngicas

Anexo C. Especies de hongos aislados a partir de plantas y granos de trigo con el número de acceso de GenBank

Especie	Clave	Numero de acceso	Origen
<i>Alternaria alternata</i>	BUAP-SP1	SNA	Semillas
<i>Alternaria alternata</i>	BUAP-SC1	PP669610	Semillas
<i>Alternaria alternata</i>	BUAP-SGN	PP669608	Semillas
<i>Alternaria arborescens</i>	BUAP-SC2	SNA	Semillas
<i>Alternaria arborescens</i>	BUAP-SB1	SNA	Semillas
<i>Alternaria arborescens</i>	BUAP-SB3	PP669609	Semillas
<i>Alternaria arborescens</i>	BUAP-TP1	PP669611	Planta
<i>Chaetomium mareoticum</i>	BUAP-SN1	PP669605	Semillas
<i>Epicoccum sorghinum</i>	BUAP-SB2	PP669612	Semillas
<i>Epicoccum</i> sp	BUAP-SP2	PP669613	Semillas
<i>Fusarium equiseti</i>	BUAP-TAM	PP669607	Planta
<i>Fusarium</i> sp.	BUAP-SB4	PP669615	Semillas
<i>Fusarium tricinctum</i>	BUAP-SR1	PP669616	Semillas
<i>Geotrichum candidum</i>	BUAP-SAM	PP669606	Semillas
<i>Parastagonospora nodorum</i>	BUAP-TB1	PP669614	Planta

SNA: Sin número de acceso