



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

LICENCIATURA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Escuela Nacional de Estudios Superiores,
Unidad Morelia

EVALUACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS
DE MONTAÑA SOBRE EL CRECIMIENTO
DE LAS PLANTAS Y COMUNIDADES
MICROBIANAS NATIVAS DEL SUELO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

P R E S E N T A

MARIANE ISABELA LASSMANN KLINCKWORT

DIRECTOR DE TESIS: DR. PABLO FABIÁN JARAMILLO LÓPEZ
COORDIRECTOR DE TESIS: DR. ANDRÉS CAMOU GUERRERO

MORELIA, MICHOACÁN

NOVIEMBRE, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



ESCUELA
NACIONAL
de ESTUDIOS
SUPERIORES
UNIDAD MORELIA

10
años
(2011-2021)

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD MORELIA
SECRETARÍA GENERAL
SERVICIOS ESCOLARES

MTRA. IVONNE RAMÍREZ WENCE

DIRECTORA

DIRECCIÓN GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR

P R E S E N T E

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la **sesión ordinaria 03** del **Comité Académico de la Licenciatura en Ciencias Ambientales** de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES), Unidad Morelia, celebrada el día **24 de abril de 2023**, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para la presentación del Trabajo Profesional de la alumna **Mariane Isabela Lassmann Klinckwort** de la Licenciatura en **Ciencias Ambientales**, con número de cuenta **415028549**, con el trabajo titulado: **"Evaluación de los microorganismos de montaña sobre el crecimiento de las plantas y comunidades microbianas nativas del suelo"**, bajo la dirección como tutor del **Dr. Pablo Fabián Jaramillo López** y como co-tutor el **Dr. Andrés Camou Guerrero**.

El jurado queda integrado de la siguiente manera:

Presidente:	Dr. John Larsen
Vocal:	Mtra. Alexis Daniela Rivero Romero
Secretario:	Dr. Pablo Fabián Jaramillo López
Suplente:	Mtro. Josef Tsiri Díaz Guerrero
Suplente:	Mtra. Dalia Elizabeth Ayala Islas

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Morelia, Michoacán a 24 de octubre de 2023.

DRA. YUNUEN TAPIA TORRES
SECRETARIA GENERAL

CAMPUS MORELIA

Antigua Carretera a Pátzcuaro N° 8701, Col. Ex Hacienda de San José de la Huerta
58190, Morelia, Michoacán, México. Tel: (443)689.3500 y (55)5623.7300, Extensión Red UNAM: 80614

www.enesmorelia.unam.mx

Reconocimientos Institucionales

Doy las gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y a la Escuela Nacional de Estudios Superiores, unidad Morelia; por haberme otorgado la oportunidad de ser parte de la comunidad estudiantil. Asimismo, agradezco a la Licenciatura en Ciencias Ambientales y a todos los docentes que formaron parte de mi camino, compartiendo su pasión por los estudios sociales, naturales y tecnológicos que tuve el gusto de aprender. Siempre me dará satisfacción regresar a mi *alma mater* para compartir los logros de mi camino profesional.

También agradezco todas las facilidades otorgadas por el Laboratorio de Agroecología del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES); el Laboratorio de Estudios Transdisciplinarios sobre el Ambiente de la ENES, Morelia y; el Laboratorio de Química Analítica y Metabólica del IIES.

Reconozco a todos los miembros del Jurado Revisor por sus aportes y por haberme acompañado en el último tramo de este camino. Agradezco al Dr. John Larsen, por compartirme su visión del mundo microscópico. A la M. en C. Alexis Daniela Rivero Romero, por sus observaciones y aportes que me ayudaron a recordar el sentido holístico de mi trabajo. A mi tutor, el Dr. Pablo Fabián Jaramillo López por apoyar mis esfuerzos, acompañar mis decisiones y al mismo tiempo darme el espacio necesario para elegir el rumbo de mi trabajo. Al Mtro. Joset Tsiri Díaz Guerrero, que desde el principio compartió abiertamente todos sus conocimientos y tiempo para ayudarme a sacar el mejor partido de mi experimento, mis datos y la experiencia de realizar una tesis. A la Mtra. Dalia Elizabeth Ayala Islas, por sus aportes puntuales, su interés en mi trabajo y su disponibilidad para responder oportunamente y acompañarme hasta el final.

Finalmente, doy las gracias a mi Cotutor, el Dr. Andrés Camou Guerrero, por estar pendiente durante todo el proceso, aunque fue difícil y tardado; por darme un espacio en su agenda cada vez que fue necesario; por atender mis dudas cada vez que me atoraba y por darme ánimos cuando ya no tenía fuerzas para continuar.

Agradecimientos Personales y Dedicatorias

He llegado al final del camino, subido la última cuesta de la montaña y alcanzado la cúspide de mis estudios de licenciatura, la titulación. Es en este momento cuando me detengo y volteo hacia atrás para reflexionar y apreciar todo lo que ha sucedido para estar ahora en este momento.

Algo que me queda claro es que no estaría aquí sin el apoyo de todas las personas que me acompañaron y ayudaron, por eso dedico este trabajo a todos los que me aportaron algo durante este largo camino:

A los amigos de licenciatura que me inspiraron.

A mis profesores que compartieron sus conocimientos y pasión.

A George, que se atrevió a realizar su servicio social ayudándome con todo el experimento, pero, sobre todo, a regar las plantas dentro del invernadero en las horas más calurosas del día.

A todos los integrantes que tuve el gusto de conocer en el Laboratorio de Agroecología del IIES y el Laboratorio de estudios transdisciplinarios sobre el Ambiente de la ENES, por ayudarme con los análisis necesarios, escuchar mi trabajo y darme la retroalimentación que necesitaba.

A mi familia, que me dio espacio para afrontar este reto a mi manera; pero en especial a mi papá, que fue el que me compartió mediante la crianza su amor por la naturaleza que me llevó a estudiar Ciencias Ambientales.

Índice de Contenido

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
Antecedentes	4
Marco Teórico	6
El Papel de la Agricultura en la Degradación del Suelo	6
Los Suelos y su Fertilidad	6
Fertilidad Física	7
Fertilidad Química	8
Fertilidad Biológica	11
<i>Microbiota</i>	13
Los Microorganismos de Montaña	15
Planteamiento del Problema	15
Pregunta de Investigación	15
Hipótesis	16
Objetivo General	16
Objetivos Particulares	16
Materiales y Métodos	16
Origen del Suelo y Hojarasca	16
Diseño Experimental	17
Elaboración y Activación de Microorganismos de Montaña (MM) y Microorganismos de Parcela (MP)	19
Suelo	20
Preparación del Experimento	20
Germinación y Siembra	21
Preparación del Fertilizante Mineral (FM)	21
Riego, Raleo y Cosecha	22
Determinación de Biomasa	23
Determinación de Concentraciones de Nutrientes en Material Vegetal y Suelo	23
Mediciones de pH y Conductividad Eléctrica (CE)	23
Determinación de Ácidos Grasos en el Suelo y en los Cultivos de Microorganismos	23
Análisis de Datos	24
Resultados	25

Biomasa	25
<i>Peso Seco Aéreo</i>	27
<i>Peso Seco Radical</i>	28
<i>Biomasa Total</i>	30
Nutrición	30
Potencial de Hidrógeno (pH) y Conductividad Eléctrica (CE)	33
Ácidos Grasos	35
<i>Gram Negativas</i>	39
<i>Gram Positivas</i>	41
<i>Bacterias totales</i>	43
<i>Hongos</i>	44
Discusión	45
Biomasa	45
Concentraciones de N y P en la Biomasa Aérea de las Plantas	47
Potencial de Hidrógeno (pH) y Conductividad Eléctrica (CE) del Suelo	49
Ácidos Grasos del Suelo	50
Conclusiones y reflexiones	50
Referencias	52
Anexos	58
Anexo 1 Análisis completos del suelo extraído de Santiago Undameo, utilizado para el experimento	58
Anexo 2 Figuras del crecimiento de cada tratamiento antes de ser cosechado	59
Anexo 3 Método utilizado para la extracción de ácidos grasos de MM y MP	62

Índice de Tablas

Tabla 1 Macro y micronutrientes necesarios para las plantas y su forma disponible	8
Tabla 2 Función de los macronutrientes y los micronutrientes esenciales para las plantas .	9
Tabla 3 Clasificación de los suelos con base en su pH	10
Tabla 4 Proporción de los compuestos empleados en la elaboración del fertilizante mineral (FM) aplicado en las plantas de maíz en su etapa vegetativa	21
Tabla 5 Diferencias significativas de la biomasa del maíz en su etapa vegetativa correspondientes a cada factor y sus combinaciones	25

Tabla 6 <i>Diferencias significativas de los ácidos grasos correspondientes a cada factor y sus combinaciones</i>	36
--	-----------

Índice de Figuras

Figura 1 <i>Esquema de los tratamientos resultantes de las combinaciones de los factores que se evaluaron en el experimento llevado a cabo en invernadero con plantas de maíz en su etapa vegetativa (6 semanas)</i>	18
Figura 2 <i>Efecto de la interacción de los distintos factores en el peso seco aéreo por tratamiento de las plantas de maíz cultivadas en su etapa vegetativa</i>	26
Figura 3 <i>Efecto de la interacción de los inóculos microbianos y la fertilización en el peso seco radical de las plantas de maíz en su etapa vegetativa</i>	27
Figura 4 <i>Biomasa total de las plantas de maíz cultivadas hasta su etapa vegetativa en invernadero</i>	28
Figura 5 <i>Contenido de N y P total en las muestras compuestas por el tejido vegetal de cada tratamiento (n=1)</i>	30
Figura 6 <i>Potencial de hidrógeno y conductividad eléctrica del suelo después del experimento</i>	33
Figura 7 <i>Diferencias entre las concentraciones de los biomarcadores de bacterias y hongos contenidos en el suelo antes y después del experimento</i>	35
Figura 8 <i>Efecto de las interacciones de los factores del experimento en los biomarcadores de las bacterias Gram negativas</i>	37
Figura 9 <i>Efecto de las interacciones de los factores del experimento en los biomarcadores de las bacterias Gram positivas</i>	39
Figura 10 <i>Efecto de las interacciones de los factores del experimento en los biomarcadores de las bacterias totales</i>	41
Figura 11 <i>Efecto de las interacciones de los factores del experimento en los biomarcadores de hongos totales</i>	43
Figura 12 <i>Plantas de maíz de los tratamientos con aplicación de MM antes de la cosecha</i>	59
Figura 13 <i>Plantas de maíz de los tratamientos con aplicación de MP antes de la cosecha</i>	60
Figura 14 <i>Plantas de maíz de los tratamientos sin aplicación de microorganismos antes de la cosecha</i>	60
Figura 15 <i>Plantas de maíz de los tratamientos antes de la cosecha</i>	61

Resumen

Los agroecosistemas son nichos humanos en constante evolución que muchas veces no se manejan de la manera adecuada, dando como resultado problemas ambientales que necesitan abordarse con cautela y conocimiento. Muchos sistemas agrícolas presentan perturbaciones en los suelos que derivan en poca fertilidad, baja actividad de microorganismos benéficos y alteraciones de los ciclos biogeoquímicos. Una de las soluciones planteadas para que los agricultores puedan atender estos problemas del suelo en sus parcelas es integrar en el manejo consorcios de microorganismos benéficos llamados también fertilizantes biológicos, microorganismos eficientes o microorganismos de montaña. Durante décadas se ha buscado popularizar estos cultivos microbianos sin mucho éxito, especialmente por la dificultad que representa obtener los resultados deseados en los cultivos.

Debido a la dificultad que representa el estudio de los microorganismos derivada, principalmente, de su naturaleza, es pertinente realizar investigaciones en distintas condiciones (controladas y no controladas) y con diversos cultivos agrícolas para poder validar si estos consorcios preparados de forma casera funcionan y son seguros para usarse.

Este proyecto estuvo encaminado a responder la siguiente pregunta de investigación. ¿Cuáles son los efectos de los microorganismos de montaña en el crecimiento del maíz durante su etapa vegetativa involucrando diferentes prácticas de fertilización en condiciones de invernadero?

Los resultados obtenidos mostraron que la aplicación directa de los inóculos de microorganismos no benefició el crecimiento de las plantas en su etapa vegetativa y mostraron consecuencias negativas que se observaron en la apariencia del maíz a lo largo de la etapa experimental. Los resultados también resaltaron los beneficios que proporciona el estiércol de vaca, ya que por su aporte de materia orgánica, nutrientes y microbiota benéfica, amortiguó ligeramente los efectos negativos en algunos tratamientos con microorganismos de montaña y microorganismos de parcela.

Abstract

Agroecosystems represent human niches that are constantly evolving and are often not managed adequately, resulting in environmental problems that need to be addressed with caution and knowledge. Many agricultural systems present soil disturbances that result in low fertility, low activity of beneficial microorganisms and disturbances of biogeochemical cycles. One of the solutions proposed for farmers to address these soil problems is to integrate beneficial microorganism consortia, also known as biological fertilizers, efficient microorganisms, or mountain microorganisms, into the management plans of their plots. For decades, the popularization of these microbial cultures has been sought without much success, especially because obtaining the desired results in crops is quite complicated.

Due to the difficulty in studying microorganisms derived mainly from nature, it is pertinent to conduct research under several conditions (controlled and uncontrolled) and with various agricultural crops to validate whether these home-made consortia work and are safe to use.

This project aimed to answer the following research question: What are the effects of mountain microorganisms on the growth of maize during its vegetative stage involving various fertilization practices under greenhouse conditions?

The results obtained showed that the direct application of the microbial cultures did not benefit the growth of the plants in their vegetative stage and showed negative consequences that were observed in the appearance of maize throughout the experimental stage. The results also highlighted the benefits provided by cow manure, due to its contribution of organic matter, nutrients, and beneficial microbiota, which slightly buffered the negative effects in some treatments with mountain microorganisms and parcel microorganisms.

Introducción

Como seres humanos algo que nos ha caracterizado y diferenciado de otros seres vivos, es la cultura, a través de la cual sostenemos nuestras relaciones materiales con los ecosistemas (Durand, 2002). A pesar de que en un inicio estas relaciones eran básicamente extractivas, fueron evolucionando hasta que se convirtieron en una de las mayores intervenciones humano-naturaleza, la agricultura (León, 2009).

La agricultura fue y sigue siendo la actividad fundamental en el desarrollo de las sociedades sedentarias humanas. Esta actividad modifica las condiciones de los ecosistemas en escalas que van desde un nivel microscópico hasta un nivel paisajístico (De la Fuente y Suárez, 2008). Todos estos cambios infringidos en el medio van dirigidos a la *construcción del nicho* humano conocidos como “el agroecosistema”. Desafortunadamente estos sistemas no siempre son manejados ni estudiados de manera adecuada y, en su lugar son abordados con una interpretación simplista que emerge de “La Revolución Verde”, dando como resultado numerosos problemas ambientales (Jardón, 2018). Algunos de estos problemas son la perturbación de los ciclos biogeoquímicos, la reducción de ecosistemas naturales por el cambio de uso de suelo, la disminución de la biodiversidad global y finalmente, la reducción de la biota (De la Fuente y Suárez, 2008). Para hacer frente a estos y otros problemas ambientales de los agroecosistemas, existe la Agroecología, ciencia ambiental que suma a sus propósitos hacer hincapié en las relaciones ecológicas complejas que suceden entre los humanos y otras expresiones de vida (León, 2009).

El proyecto que a continuación se presenta, está relacionado con las perturbaciones generadas en los suelos de carácter agrícola con un manejo convencional y dentro del marco agroecológico busca estudiar el efecto de un inóculo de microorganismos de montaña, que se ha promovido como remediador de suelos y facilitador del crecimiento de las plantas. Los estudios relacionados al tema son escasos y sus resultados y conclusiones concuerdan en que el crecimiento de las plantas con el uso de estos microorganismos y otros biofertilizantes similares es muy variado y difícil de estandarizar, por lo que es importante seguir estudiando los efectos relacionados al desarrollo de cultivos.

Antecedentes

El grupo de los microorganismos es uno de los más extensos, diversos y a la vez menos estudiados (Moldenke et al., 2000; Duwadi, 2020). Es difícil decir cuánto desconocemos del mundo microscópico del suelo, por lo tanto, es igual de complicado definir específicamente qué funciones tienen los microorganismos en este ecosistema y en qué condiciones (Toro, 2004). Esta afirmación no exime a los microorganismos de montaña (MM), los cuales se desarrollaron a partir de los microorganismos efectivos o eficientes (ME), que fueron elaborados por primera vez por el Dr. Teruo Higa (Higa y Parr, 1994). Ambos cultivos de microorganismos (ME y MM) son considerados como biofertilizantes, que, si bien no son directamente una fuente de nutrientes, al añadirse al suelo favorecen la mineralización de la materia orgánica a lo largo del tiempo (Sanclemente et al., 2011) y tienen la capacidad de sustituir parcial o totalmente el uso de fertilizantes sintéticos y reducir así la contaminación asociada al uso de agroquímicos (Armenta-Bojórquez et al., 2010). Se ha registrado que los MM contienen bacterias fotosintéticas y productoras de ácido láctico, actinomicetos, hongos filamentosos y levaduras. Sin embargo, siguen existiendo pocos estudios que respalden sus efectos en la producción de cultivos (Castro et al., 2015).

La dificultad de las investigaciones relacionadas a los productos elaborados con microorganismos y el estudio de su eficiencia, se debe a la complejidad del contexto que los rodea, dada por: 1) el tipo de cultivo, 2) el suelo presente en la parcela, 3) el método seguido para la producción y manejo del inoculante, y 4) el uso de los recursos por el productor en su parcela. También es importante tomar en cuenta la especificidad que puede existir entre las interacciones planta-hospedante y cultivo microbiano, al igual que las condiciones ambientales presentes (Creus, 2017). A escalas grandes y pequeñas, el suelo se comporta como un ecosistema complejo, en el que los microorganismos se enfrentan para encontrar su nicho en la rizósfera, además, al tratarse de microorganismos inoculados, la depredación y la competencia con las especies nativas siempre está presente (Correa, 2013).

En la primera década del siglo XXI, investigadores del INIFAP buscaron la manera de introducir al mercado mexicano los fertilizantes biológicos sin tener mucho éxito, porque para ese entonces ya existía cierta desconfianza por parte de los productores hacia estos

productos, derivada de la dificultad para conseguir los resultados deseados (Armenta-Bojórquez et al., 2010).

Hasta la fecha no ha sido posible estandarizar los resultados que pueden obtenerse utilizando inóculos microbianos. Mientras hay estudios que señalan que la diversidad del inóculo promueve el desarrollo de las plantas, también se han presentado resultados contrarios (Correa, 2013). Por ejemplo: en un estudio, al probarse la combinación de *Azotobacter* sp., *Bacillus pumilus* y *Bacillus licheniformis* en un mismo inóculo en un cultivo de rábano, resultó ser el tratamiento menos efectivo comparado con otros tratamientos que contenían los mismos microorganismos por separado (Sotelo et al., 2012). Por otro lado, en Brasil se han hecho investigaciones en las que se ha observado que los inoculantes mixtos de diversas bacterias, hongos y algas presentaban una gran variedad de beneficios y ayudaban a generar una mayor tolerancia a condiciones ambientales en las plantas (Correa, 2013).

El origen del inóculo es importante. Un estudio que comparó el efecto de microorganismos eficientes (EM®) y tres inóculos microbianos provenientes de distintas ubicaciones, sobre el cultivo de tomate, mostró que, a pesar de las similitudes en la preparación de los cultivos microbianos cada uno produjo resultados distintos en algunas de las variables medidas y, que la mayoría de los tratamientos aplicados fueron más eficientes que en el que se usaron los EM®. Este estudio también mostró que, al pasar el tiempo, la eficacia de cada inóculo cambia. El primer inóculo fue más eficaz al usarse con una semana de activación; mientras que el inóculo dos tuvo un comportamiento errático al ser menos efectivo en su segunda semana de activación, pero más efectivo en su primera y tercera semana; finalmente, el inóculo número tres dio mejores resultados en su tercera semana de activación (Acosta, 2012).

Por otro lado, un análisis realizado en 2017 caracterizó los MM en tres fases según la predominancia del tipo de microorganismos presentes a lo largo del tiempo de activación líquida. En la primera fase (de los cinco a los nueve días de activación líquida), predominaron las bacterias benéficas; en la segunda fase (de los diez a los catorce días de activación líquida), destacaron los hongos benéficos; finalmente, en la tercera fase (de los quince a los veinte días de activación): se encontraron más levaduras. Al ser comparadas, la fase de

activación que resultó más efectiva en cuanto al crecimiento de las plantas fue aquella en la que sobresalieron los hongos benéficos (Umaña et al., 2017).

Marco Teórico

El Papel de la Agricultura en la Degradación del Suelo

La degradación del suelo es un fenómeno que puede tener diversos orígenes: deforestación, minería, cambio de uso de suelo, entre otros. Podemos entenderla como el resultado de diversos factores, como pueden ser antrópicos y biofísicos que originan cambios físicos, químicos y biológicos en las características y cualidades de los suelos (Villareal-Núñez et al., 2012). Para el presente proyecto se tomó en cuenta la degradación del suelo causada por algunas prácticas llevadas a cabo en el sector agrícola, específicamente las ubicadas dentro de lo que Altieri (2009) nombra “sistema agrícola intensivo de capital y tecnología”, o dicho de otra manera: sistemas de producción de monocultivos (generalmente) que abarcan grandes áreas, dependen en gran medida de la tecnología (mecanización, mejoramiento genético de semillas y agroquímicos) y de gran capital económico para poder ser mantenidos. Estos sistemas convencionales pertenecen al modelo industrial de la agricultura, el cual genera fuertes presiones y modificaciones en los ecosistemas que no permiten la resiliencia y que al paso del tiempo reducen las contribuciones de la naturaleza al bienestar humano (Altieri y Nicholls, 2010), cobrando una larga factura económica, social y ambiental (Altieri, 2009). Para lograr una transición eficaz de sistemas convencionales a cultivos manejados mediante una agricultura más amigable con el ambiente, hay que enfatizar el cuidado de los suelos agrícolas (Higa y Parr, 1994).

Los Suelos y su Fertilidad

El suelo constituye una delgada capa ubicada entre la atmósfera y la corteza terrestre, crucial para el mantenimiento de la vida en la tierra y que en los próximos años se volverá más relevante para la humanidad debido a: 1) el aumento de la población y a la escasez de superficies cultivables; 2) que los suelos están degradados; 3) que las tierras son asignadas para usos no agrícolas (como la cimentación, recreación, vertederos de basura, etc.); y 4) porque manejar algunas superficies para producir alimentos generaría efectos ambientales negativos (por ejemplo, áreas naturales protegidas) (Plaster, 2000).

A pesar de su relevancia, los suelos no son igualmente reconocidos como otros recursos que tienen un uso directo o pueden ser fácilmente aprovechados, por ejemplo: los bosques, los yacimientos de minerales, el agua, etc. (Zinck, 2005). Sin embargo, son un recurso no renovable porque el tiempo que se requiere para que el proceso de renovación suceda naturalmente, supera las escalas temporales que necesita una generación humana entera para contemplarlo (Plaster, 2000; Zinck, 2005).

El suelo es un sistema complejo difícil de definir (Thompson y Troeh, 1988) que se comporta como un cúmulo de unidades heterogéneas que forman un solo ente; es un ecosistema sin fronteras, desordenado y organizado a la vez, que se auto regula y al mismo tiempo intercambia energía con otros sistemas; es un sistema azaroso que no se explica desde una sola trinchera porque además es dinámico (Morin, 1994). Es por esto por lo que su definición depende de la perspectiva de aquel quien lo define (Thompson y Troeh, 1988; Pierzynski et al., 2005). Para fines de este proyecto se usará la definición de Brady y Weil (2008), en la que el suelo es un cuerpo natural y dinámico compuesto por minerales, sólidos orgánicos, gases, líquidos y organismos vivos; que sirve como un medio para el crecimiento de las plantas y que cuenta con propiedades emergentes de su interacción con el clima y los organismos vivos.

Entonces, ¿qué es lo que otorga a este sustrato su capacidad de promover la vida vegetal que sustenta la del ser humano? De una manera detallada la planta requiere del suelo porque necesita de su anclaje, oxígeno, nutrientes y agua que éste le proporciona (Plaster, 2000). Hay tres aspectos de la fertilidad relacionados con estas características: la fertilidad física, química y biológica (Juárez et al., 2004).

Fertilidad Física

Se trata de un concepto relacionado con la capacidad del suelo para fungir como soporte de las raíces de la planta, pero también a aquella que la convierte en un almacén de agua y gases (Juárez et al., 2004). Al hablar de las propiedades físicas de los suelos es importante estar consciente de que algunas se mantienen estáticas y no cambian a lo largo de muchos años, por lo que no tienen efectos repentinos en el desarrollo de cultivos, por ejemplo: la textura y la estructura. Sin embargo, características como la densidad aparente,

la porosidad y el contenido de humedad, sí pueden verse modificadas gracias a factores externos generados por el modelo industrial de la agricultura, de los cuales el más importante es la compactación (Casanova y Lobo, 2007). La compactación es un fenómeno de alcance mundial, altamente perjudicial para la agricultura que disminuye el rendimiento de los suelos y eleva los costos de producción, ya que necesita más energía para la labranza y más insumos externos (Cueto et al., 2009).

Fertilidad Química

Lo referente a la fertilidad química del suelo está relacionado con los nutrientes que necesitan las plantas y las condiciones fisicoquímicas del suelo (Juárez et al., 2004). Las plantas absorben varios tipos de nutrientes. Algunos no son requeridos directamente por ella, pero sí son utilizados por la microbiota (Kirkby y Römheld, 2008) y los animales que las comen (Plaster, 2000). Por otro lado, para su desarrollo adecuado, la planta necesita macro y micronutrientes que pueden identificarse a partir de las siguientes pautas:

1. La planta se puede ver afectada en su etapa de crecimiento o de reproducción debido a la deficiencia de algún elemento esencial, además, ningún nutriente se puede reemplazar (Plaster, 2000).
2. Los nutrientes esenciales son aquellos que se ha comprobado que son necesarios para varias especies de distintos géneros y familias, sin importar su ubicación (Bonadeo et al., 2017).
3. A pesar de que la planta se nutre con ellos, es posible que no los encontremos en sus tejidos (Plaster, 2000).
4. La necesidad de la planta por dicho nutriente debe ser directa y no relacionarse con una respuesta indirecta vinculada a un efecto tóxico (Bonadeo et al., 2017).

En la Tabla 1, podemos observar los macro y micronutrientes que las plantas obtienen de la solución del suelo, al igual que la forma específica que estos deben tener para poder ser absorbidos.

Tabla 1

Macro y micronutrientes necesarios para las plantas y su forma disponible

Macronutrientes ^a	Forma (s) disponible (s) ^b	Micronutrientes ^a	Forma (s) disponible (s) ^b
Calcio (Ca)	Ca ⁺² (catión calcio)	Boro (B)	H ₃ BO ₃ y H ₂ BO ₃ (ácido bórico y dihidrogenoborato)
Magnesio (Mg)	Mg ⁺² (catión magnesio)	Cobre (Cu)	Cu ⁺² (catión cobre)
Nitrógeno (N)	NH ₄ ⁺ y NO ₃ ⁻ (amonio y nitratos)	Cloro (Cl)	Cl ⁻ (anión cloro)
Fósforo (P)	H ₂ PO ₄ ⁻ y HPO ₄ ⁻² (ortofosfatos primarios y secundarios)	Hierro (Fe)	Fe ⁺² y Fe ⁺³ (catión de hierro II y III)
Potasio (K)	K ⁺ (catión potasio)	Manganeso (Mn)	Mn ⁺² (catión manganeso)
Azufre (S)	SO ₄ ⁻² (sulfato)	Molibdeno (Mo)	MoO ₄ ⁻² (molibdato)
		Zinc (Zn)	Zn ⁺² (catión zinc)

Nota: ^aRamage y Williams (2002) ^bSathya et al., (2016).

También el oxígeno (O), hidrógeno (H) y carbono (C) son macronutrientes necesarios para el desarrollo de las especies vegetales, sin embargo, son recuperados en su mayoría por medio del agua y el aire (Plaster, 2000; Sathya et al., 2016). Cada nutriente esencial tiene una función en la planta, las cuales se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

Función de los macronutrientes y los micronutrientes esenciales para las plantas

Macro	Función ^a	Micro	Función ^b
Ca	Relevante en la estructura y permeabilidad de las membranas. Compone la pared celular.	Fe, Mn, Cu y Ni	Constituyen las enzimas.
Mg	Funge como activador de enzimas y constituye la clorofila.	Mn y Zn	Activan las enzimas.
N	Componente de todas las proteínas, clorofila, ácidos nucleicos. Necesario a lo largo de todo el desarrollo de la planta.	Fe, Cu Mn y Cl	Intervienen en el transporte de electrones durante la fotosíntesis.

	Primordial para la transmisión de energía.		
P	Activa las raíces. Relevante en la floración, fecundación, fructificación y maduración.	Mn, Zn y Mo	Involucrados en la tolerancia al estrés.
	Actúa durante la fotosíntesis, traslocación de carbohidratos y síntesis de proteínas.		
K	Reduce la transpiración, regula el agua en la planta y aumenta la resistencia durante sequías, heladas y ante enfermedades generadas por hongos.	Cu, Mn, Zn y B	Intervienen durante la etapa reproductiva.
	Forma las proteínas e interviene en procesos de oxi-reducción.	B y Zn	Constituyen las paredes y membranas celulares.
S			

Nota: ^a La Manna et al., (2011) ^b Kirkby y Römheld (2008).

El potencial de hidrógeno (pH) es una propiedad química relacionada con la disponibilidad de nutrientes, la concentración de metales que pueden ser tóxicos para las plantas (como el Al y el Cu) y; la actividad microbiana (Plaster, 2000). Esta propiedad nos muestra qué tan ácida o alcalina es la solución del suelo y se mide con una escala que va del 0 al 14. Los valores más bajos en la escala del pH representan un potencial de hidrógeno ácido, los valores medios representan un pH neutro y los valores altos, un pH alcalino (Tabla 3). Cuando el pH se encuentra en los extremos de la escala, los nutrientes se vuelven poco disponibles y el suelo se vuelve poco apto para sostener la vida en general (Osorio, 2012).

Tabla 3

Clasificación de los suelos con base en su pH

pH	Clasificación
< 4.5	Extremadamente ácido
4.6 – 5.0	Muy fuertemente ácido
5.1 – 5.5	Fuertemente ácido
5.6 – 6.0	Moderadamente ácido
6.1 – 6.5	Levemente ácido

6.6 – 6.9	Muy levemente ácido
7	Neutro
7.1 – 7.3	Muy levemente alcalino
7.4 – 7.8	Levemente alcalino
7.9 – 8.4	Moderadamente alcalino
8.5 – 9.0	Fuertemente alcalino
> 9.0	Muy fuertemente alcalino

Nota: Tomado de Cremona y Enriquez, 2020.

Otra propiedad química importante para el suelo es la salinidad. Los suelos contienen sales de manera natural, sin embargo, hay diversos factores que afectan su cantidad hasta un nivel perjudicial para las plantas y los microorganismos del suelo; por ejemplo: el uso excesivo de algunos fertilizantes o un mal manejo del riego (Cremona y Enriquez, 2020). La verificación de la cantidad de sales en los suelos se hace mediante la medición de la conductividad eléctrica (CE) que se basa en el siguiente principio: mientras más rápido pasa una corriente eléctrica a través de una solución salina, más concentración de sales hay en esta (Soriano, 2018). Cuando la cantidad de sales disueltas en el suelo es elevada, las cargas positivas y negativas de las sales tienen la capacidad de retener las moléculas del agua, generando una reducción significativa en su disponibilidad para las plantas (Cremona y Enriquez, 2020).

Fertilidad Biológica

La fertilidad biológica es determinante para la reserva orgánica, la abundancia y el movimiento de la biomasa del suelo (Juárez et al., 2004). Puede definirse como la capacidad de los habitantes del suelo y las raíces para mantener a lo largo del tiempo procesos biológicos que tienen un efecto positivo sobre la fertilidad física y química de este. A la par, los organismos del suelo aportan al bienestar humano y animal gracias a su participación en la nutrición de las plantas y animales de forrajeo (Abbott y Murphy, 2007).

Entre los habitantes del suelo podemos encontrar una gran diversidad de vida en una escala que va desde lo macroscópico hasta lo microscópico. Todos estos organismos aportan para que el ecosistema suelo funcione de manera adecuada, formando en conjunto una

delicada red trófica que facilita la descomposición de materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Moldenke et al., 2000; Domínguez et al., 2009).

Animales como las ardillas, los topos, las tuzas, entre otros, forman parte del grupo de mamíferos que habitan el suelo. Generalmente, estos animales hacen sus madrigueras formando túneles que permiten la aireación del sistema, pero más importante, mezclan los horizontes del suelo permitiendo que el mismo rejuvenezca y forman parte del ciclo del N al reincorporar sus desechos en los ecosistemas (Plaster, 2000) y proveer nichos para el desarrollo de ciertos microorganismos en sus intestinos y excretas (Swift et al., 2012). Otros de los habitantes del suelo se clasifican como artrópodos, que en su mayoría se dedican a triturar y digerir la materia orgánica haciendo los nutrientes más accesibles para los microorganismos. También son depredadores y facilitan la reincorporación de los nutrientes que han sido inmovilizados, además, fungen como dispersores de algunas bacterias y hongos (Moldenke et al., 2000). Los artrópodos más comunes del sistema suelo son ácaros, ciempiés, milpiés y miriápodos (Plaster, 2000).

En esta red trófica también participan las lombrices de tierra, las cuales son invertebrados macroscópicos que en ecosistemas templados pueden llegar a representar la mayor biomasa animal y su intervención en el ecosistema suelo repercute en la fertilidad física, química y biológica (Domínguez et al., 2009). Entre sus funciones se encuentran: 1) la creación de túneles que permiten la aireación (Plaster, 2000; Moldenke et al., 2000); 2) la descomposición física de materia orgánica que le facilita a los microorganismos la descomposición bioquímica de la misma; y 3) su influencia directa en la microbiota a través de su movimiento y dispersión (Domínguez et al., 2009).

Los microorganismos son los seres más abundantes y primitivos que habitan el planeta y los podemos encontrar en los suelos, el aire y el agua. Deben su nombre a su pequeño tamaño (Plaster, 2000). Sus interacciones individuales y ecosistémicas son de gran relevancia, pues son contribuciones de la naturaleza al bienestar humano que están relacionados con aspectos que abarcan desde la medicina (Montaño et al., 2010), hasta la regulación del ecosistema suelo (Castro et al., 2015). El estudio de la microbiota en la rizósfera ha sido muy importante en los últimos años; la rizósfera es el hábitat del suelo en

donde se da la mayor cantidad de interacciones entre los microorganismos, el suelo y las raíces de las plantas (Pedraza et al., 2010); por ende, es el lugar clave en el que deben concentrarse los estudios realizados con microorganismos benéficos para las plantas (Singh et al., 2017). A continuación, una descripción general de la microbiota benéfica que habita en los suelos:

Microbiota

Dentro de esta categoría, se puede distinguir entre la microfauna y la microflora. De manera general, la microfauna es representada por protozoos, nemátodos, ácaros pequeños y rotíferos. Con excepción de los ácaros, estos microorganismos viven en las películas y partículas de agua por lo que su presencia y actividad depende de este líquido vital. Intervienen tanto en la estructura de los agregados del suelo mediante su interacción con la microflora y en el ciclado de nutrientes regulando poblaciones de bacterias y hongos (Zerbino y Altier, 2008).

En cuanto a la microflora, podemos encontrar bacterias, hongos, algas, etc. Las bacterias son los descomponedores de materia orgánica más numerosos en el suelo, ya que en un solo gramo de este pueden habitar hasta 100 millones de individuos unicelulares (Crespo, 2013). Estos organismos se pueden encontrar en mayor proporción en un pH básico. Pueden ser autótrofos o heterótrofos y vivir en condiciones anaeróbicas y aeróbicas. Existen bacterias de vida libre y otras que viven en simbiosis (interdependencia) con la planta (Plaster, 2000). Éstas últimas son las que más interesan a los agricultores, porque son aquellas que hacen disponibles (mineralizan) los nutrientes que se encuentran en la materia orgánica y en los minerales del suelo, de manera directa para las plantas; aunque también las bacterias de vida libre tienen la facultad de mineralizar nutrientes (Plaster, 2000; Crespo, 2013).

Aunque tienen un gran parecido a los hongos, dentro del grupo de las bacterias se encuentran los actinomicetos que combaten patógenos en las plantas y son llamados microorganismos antagónicos (Plaster, 2000).

Los hongos son seres completamente heterótrofos y aeróbicos que se componen de hifas (delgados filamentos que se asemejan a una bola de hilos enredados). En comparación con las bacterias, los hongos son menos numerosos. En aproximadamente 4.5 cm³ de suelo,

sólo encontramos alrededor de 450,000 hongos, pero a pesar de esto, se consideran la masa microbiana más grande del ecosistema suelo. Al igual que las bacterias, estos organismos son descomponedores de materia orgánica y muchas veces resultan ser más eficientes porque las hifas pueden crecer dentro de la materia en descomposición (Plaster, 2000).

Entre los hongos más estudiados están los hongos micorrízicos arbusculares, los cuales generan asociaciones simbióticas con las plantas para aprovechar el carbono generado por las mismas. A cambio, estos hongos alargan las raíces y favorecen la absorción de agua y diversos nutrientes, principalmente fósforo (Montaño et al., 2010; Armenta-Bojórquez et al., 2010; Crespo, 2013).

Dentro del reino Fungi también están incluidas las levaduras (Viteri et al., 2008). En los suelos existen gran variedad de levaduras formando comunidades sumamente heterogéneas (Yurkov et al., 2016); sin embargo, su papel en el suelo no ha sido tan estudiado como el papel de otros microorganismos, debido a: 1) se presentan en menor número que otros hongos y bacterias, 2) tienen morfologías similares a algunas bacterias lo que dificulta diferenciarlas, y 3) pueden verse opacadas por otros microorganismos de crecimiento más acelerado (Botha, 2006; Mestre et al., 2009).

En ciertos estudios, se pudo vincular la presencia de levaduras con la solubilización de fósforo (Viteri et al., 2008). También es sabido que, en suelos ricos en nutrientes, del 25% al 50% de la población de levaduras existentes son capaces de fermentar los carbohidratos, por lo que es altamente probable encontrar grandes poblaciones de levaduras debajo de árboles frutales (Botha, 2006). Por otro lado, se ha encontrado una relación positiva entre la presencia de levaduras y el crecimiento de hongos micorrízicos arbusculares (Ravnskov et al., 1999).

Además de clasificar a los microorganismos basándonos en sus relaciones específicas, también es posible agruparlos por sus atributos conductuales, morfológicos, fisiológicos, de su historia de vida, por sus respuestas a los disturbios o por ejercer papeles ecológicos parecidos. Estas categorías reciben el nombre de grupos funcionales (Martínez, 2008). Entre estos grupos funcionales se han identificado algunos que afectan la productividad de las especies vegetales (Olalde y Aguilera, 1998), entre los que se

encuentran: a) aquellos que degradan materia orgánica, b) los promotores del crecimiento vegetal, c) los que participan en la fijación, mineralización y/o solubilización de nutrientes y d) microorganismos que combaten patógenos (Olalde y Aguilera, 1998; Pedraza et al., 2010). Todas estas actividades microbiológicas son esenciales para la estabilidad y productividad de los ecosistemas y agroecosistemas y su espacio de acción es la rizósfera: ambiente dinámico en el que interviene la acción de las raíces, microorganismos y el suelo (Pedraza et al., 2010).

Los Microorganismos de Montaña

Los Microorganismos de Montaña (MM) son un preparado de forma casera o artesanal barato, que prescinde del uso de medios de cultivo específicos y de difícil acceso para su fabricación, en el que se emplea microbiota de suelos boscosos de zonas cercanas al sitio de aplicación, aprovechando su diversidad taxonómica y funcional para aplicarla en distintos cultivos (Castro et al., 2015). Los MM tienen dos fases de elaboración: sólida y líquida. Los ingredientes utilizados para cada fase consisten en:

Fase sólida

- Inóculo microbiano: mantillo y suelo de algún bosque cercano al agroecosistema
- Fuente de proteína y energía: arroz, trigo o maíz
- Otra fuente de energía: melaza, piloncillo o azúcar

Fase líquida

- MM de la fase sólida
- Melaza, piloncillo o azúcar
- Agua limpia

Planteamiento del Problema

Pregunta de Investigación

¿Cuáles son los efectos de los microorganismos de montaña en el crecimiento del maíz durante su etapa vegetativa involucrando diferentes prácticas de fertilización en condiciones de invernadero?

Hipótesis

Los microorganismos de montaña tendrán un efecto positivo en el desarrollo de la etapa vegetativa del maíz en condiciones de invernadero.

Objetivo General

Evaluar la efectividad del uso de los microorganismos de montaña en la etapa vegetativa del maíz, con diferentes prácticas de fertilización en condiciones de invernadero.

Objetivos Particulares

1. Analizar el efecto de los microorganismos de montaña y las distintas prácticas de fertilización sobre la biomasa de la planta de maíz.
2. Evaluar el efecto de los tratamientos en la obtención de nutrientes en la planta de maíz.
3. Analizar el efecto de la aplicación de los microorganismos de montaña sobre las características fisicoquímicas del suelo.
4. Evaluar el efecto de la aplicación de los microorganismos de montaña sobre las comunidades microbianas del suelo.

Materiales y Métodos

El experimento se llevó a cabo en el invernadero del Laboratorio de Agroecología del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad de la UNAM campus Morelia, durante el periodo comprendido entre el 2 de julio y el 13 de septiembre del 2019.

Origen del Suelo y Hojarasca

El suelo y la hojarasca utilizados para la siembra de las unidades experimentales y la preparación de los Microorganismos de Parcela (MP) se obtuvieron de una parcela ubicada en Santiago Undameo en las coordenadas geográficas 19° 34' 19.0" N y 101° 17' 34.0" W. En esta parcela se había cultivado maíz y avena siguiendo las pautas de la agricultura convencional.

Gracias a un estudio desarrollado en el 2018 por científicos del Laboratorio Universitario de Geofísica Ambiental, liderado por el Dr. Francisco Bautista, se sabe que esta

área cuenta con un suelo Stagnic Luvisol, lo cual significa que son suelos de agua estancada que al ser drenados son muy fértiles, ya que en ellos los nutrientes difícilmente se lixivian. El suelo de la parcela de Santiago Undameo tiene una capa de compactación artificial debida al arado persistente, lo que dificulta la penetración de las raíces de los cultivos. Por otro lado, análisis fisicoquímicos realizados por el Laboratorio Nacional de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal del INIFAP en 2017, muestran que se trata de un suelo franco arcillo arenoso, con un pH moderadamente ácido (5.73), con deficiencia de fósforo (P) y exceso de hierro (Fe) y manganeso (Mn). Los estudios completos se pueden encontrar en el Anexo 1.

La hojarasca empleada en la elaboración de los MM se obtuvo de una zona de bosque de encino-pino ubicado a una distancia aproximada de 4.6 km a la parcela agrícola en cuestión, en las coordenadas 19° 32' 58.0" N y 101° 15' 42.1" W.

Diseño Experimental

Se llevó a cabo un diseño multi factorial completamente al azar. Los factores fueron:

1. Cultivos de microorganismos: los microorganismos de montaña (MM), los microorganismos de parcela (MP) y sin microorganismos (SM).
2. Suelo: en su forma estéril y no estéril.
3. Fertilización: estiércol de vaca (EV), fertilizante mineral con contenido de macro y micronutrientes¹ (FM) y sin fertilización (SF).

Las variables respuesta estudiadas fueron las siguientes:

1. Biomasa
2. Análisis de N y P totales en material vegetal y suelo
3. Análisis de nitratos (NO₃-) y amonio (NH₄+) en el suelo
4. Determinación de ácidos grasos en el suelo

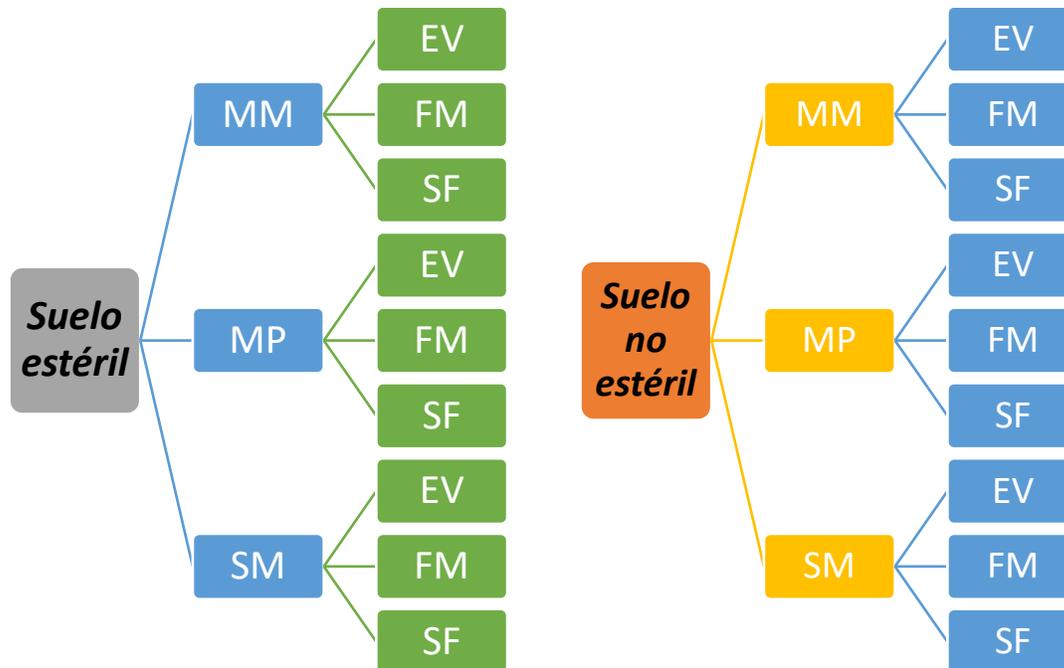
Experimento:

¹ La fórmula utilizada para la preparación del fertilizante mineral utilizado en el experimento se encuentra en la Tabla 4.

Se prepararon 18 tratamientos con 5 réplicas, lo que resultó en un total de 90 unidades experimentales (Fig. 1).

Figura 1

Esquema de los tratamientos resultantes de las combinaciones de los factores que se evaluaron en el experimento llevado a cabo en invernadero con plantas de maíz en su etapa vegetativa (6 semanas).



Nota: Significado de las siglas: MM (microorganismos de montaña), MP (microorganismos de parcela), SM (sin microorganismos), EV (estiércol de vaca), FM (fertilizante mineral con macro y micronutrientes), SF (sin fertilización).

La especie utilizada para el experimento fue el híbrido de maíz (*Zea mays* L.) H-318. Dicha variedad ha sido utilizada en experimentos previos en el Laboratorio de Agroecología del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad de la UNAM, porque se trata de una variedad popular entre muchos agricultores; además, al tratarse de un híbrido tiene poca variación genética, lo cual también reduce la variación en el experimento, dando buenos resultados como planta modelo. Las plantas se dejaron crecer solamente dentro de su etapa vegetativa a lo largo de seis semanas.

Elaboración y Activación de Microorganismos de Montaña (MM) y Microorganismos de Parcela (MP)

La producción de ambos inóculos no se llevó a cabo de manera simultánea, primero se elaboraron los MM y después los MP, con un mes de diferencia entre la preparación de cada lote. Es importante resaltar que ambos lotes contienen las mismas proporciones de cada ingrediente. Dichas proporciones fueron:

- 46% pulimento de arroz
- 37% suelo
- 12% melaza esterilizada
- 5% cascarilla de arroz

No se tomó en cuenta el porcentaje de agua utilizada ya que simplemente se añadió la necesaria hasta lograr la humedad requerida.

Primero se mezclaron todos los ingredientes secos (pulimento, mantillo y cascarilla) y después se añadió poco a poco la melaza diluida en el agua. La masa resultante se añadió en capas dentro de un tambo o bote con sello hermético. Cada capa se comprimió antes de agregar la siguiente.

Se dejó pasar un mínimo de treinta días antes de continuar con el proceso de activación para la elaboración del inóculo final. Para activar los MM y los MP se utilizaron los siguientes insumos:

- 90% agua
- 5% MM y MP sólidos
- 5% melaza estéril

Preparación:

- Se agregó la cantidad de microorganismos requerida en una bolsa de tela, simulando una bolsita de té, para separar la materia orgánica.
- Se vertió el agua necesaria y se introdujeron los microorganismos sólidos y la melaza.
- Se dejó reposar durante once días

Suelo

El suelo utilizado en las unidades experimentales se pasó por un tamiz de 2 mm. Durante dos horas se esterilizó el 50% del total del suelo en una autoclave vertical manual marca NOVATECH®, a una temperatura y presión constantes de 120°C y 0.5 kg/cm² respectivamente. Este método se repitió para asegurar una correcta esterilización.

Durante el mismo periodo, se llevó a cabo la determinación de la capacidad de campo del suelo. Se saturó una maceta preparada con el sustrato a utilizar, compuesto por 50% de suelo tamizado y 50% de arena. Luego de 24 horas se quitó la capa superficial de suelo y se tomó una muestra de 5gr que se introdujo en una termobalanza marca SARTORIUS, modelo MA37-1.

Dado que el estiércol de vaca absorbe mucha humedad, el procedimiento para determinar la capacidad de campo se repitió con una maceta que contenía 85% de sustrato (42.5% de suelo tamizado, 42.5% de arena) y 15% de estiércol de vaca.

Los porcentajes utilizados para los sustratos de los diferentes tratamientos se tomaron de los materiales y métodos del artículo escrito por Aguilar et al., (2017)

Preparación del Experimento

Los tratamientos se montaron en macetas con capacidad de 2 l, las cuales se llenaron con el sustrato correspondiente a cada tratamiento: sustrato estéril y no estéril (50% suelo, 50% arena v/v) y sustrato estéril y no estéril con 15% de estiércol de vaca adicionado.

Todas las macetas con suelo no estéril (con y sin estiércol de vaca) y las de suelo estéril con estiércol de vaca, se regaron durante todo un mes antes de la siembra, con la intención de activar la microbiota presente y que el estiércol de vaca pasara por un proceso de descomposición.

La solución de fertilizante mineral se agregó en los tratamientos correspondientes un día antes de la siembra. Es importante mencionar que este mismo día se colocaron unos platos hondos debajo de cada unidad experimental para evitar la pérdida de humedad y la lixiviación de los nutrientes y los inóculos. Estos platos sólo se mantuvieron puestos dos días después

de la primera aplicación del inóculo microbiano, esto debido a que se notó encharcamiento en los tratamientos, principalmente en las unidades experimentales con MM y MP.

Germinación y Siembra

La germinación de las semillas de maíz se llevó a cabo en una incubadora de baja temperatura marca FELISA® para asegurar la mayor cantidad de brotes y que cada individuo tuviera el mismo tiempo de germinación. Se dejaron en la incubadora a 26 °C con humedad suficiente, durante tres días.

Posteriormente, se realizó la siembra. Con la ayuda de un palito, se hicieron pequeños pozos con la profundidad necesaria para la raíz, y con mucho cuidado se acomodaron y cubrieron las semillas. Se colocaron tres semillas germinadas por maceta.

Preparación del Fertilizante Mineral (FM)

La solución de FM se preparó dentro del laboratorio. Se utilizaron insumos de las marcas BAKER ANALYZED® y MEYER®. En la Tabla 4 se mencionan las proporciones de los compuestos utilizados en un litro de agua, de acuerdo con las necesidades nutricionales de las plantas:

Tabla 4

Proporción de los compuestos empleados en la elaboración del fertilizante mineral (FM) aplicado en las plantas de maíz en su etapa vegetativa. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.

Compuesto	Cantidad (g) por Litro de Agua
K_2SO_4	61.72
$CaCl_2 \times 2H_2O$	25
$MnSO_4 \times H_2O$	3.5
$ZnSO_4 \times 7H_2O$	1.8
$CuSO_4 \times 5H_2O$	0.7
$Na_2MoO_4 \times 2H_2O$	0.06
NH_4NO_3	95.24

KH_2PO_4	43.93
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	135.14

La solución se agregó en surcos marcados previamente en el suelo de cada maceta utilizando pipetas graduadas. Esto se llevó a cabo dos veces a lo largo del procedimiento para asegurarnos de que las unidades experimentales tuvieran suficiente fertilizante durante el experimento.

Riego, Raleo y Cosecha

Las primeras dos semanas, las unidades experimentales se regaron con agua cada tercer día a un 70% de la capacidad de campo para mantener una humedad constante. El resto del tiempo que duró el experimento, las plantas se regaron de acuerdo con su requerimiento individual. Esto se debió a que, dependiendo del tratamiento, algunas plantas crecieron más que otras y por lo tanto tuvieron más demanda de agua. El riego con el inóculo activo de MM y MP se realizó una vez a la semana durante cinco semanas simultáneas.

Once días después de la siembra se dejó una sola planta por maceta considerando las que presentaban un tamaño similar.

Finalmente, la cosecha se llevó a cabo seis semanas después de la siembra. El procedimiento fue el siguiente:

- Se hizo el corte de la parte aérea de la planta y se almacenó en bolsas de papel previamente marcadas para introducirlas en el horno y secarlas.
- Se separó el suelo de las raíces y se tomó una porción homogénea por unidad experimental que se almacenó en bolsas de plástico previamente marcadas.
- Las raíces se lavaron lo mejor posible para separar el suelo adherido, y se almacenaron en bolsas plásticas.
- Tanto el suelo como las raíces se metieron a congelar a una temperatura de entre -4°C y -6°C .

En el Anexo 2 se pueden encontrar figuras que muestran a las plantas de cada tratamiento justo antes de la cosecha.

Determinación de Biomasa

La determinación de biomasa se hizo en dos partes. El peso seco de la parte aérea de las plantas se determinó cuatro días después de la cosecha, mientras que el peso seco de la parte radical se obtuvo hasta marzo del 2021. Tanto la parte aérea de las plantas como la radical, se introdujeron en bolsas de papel marcadas con el código de la unidad experimental y se dejaron dentro del horno secador marca Fisher Scientific (Modelo 6905), durante tres días a una temperatura continua de 80°C. La medición del peso seco se hizo con una balanza analítica marca SARTORIUS, modelo AZ214, en el Laboratorio de Química Analítica y Metabólica (LQUAM) del IIES.

Determinación de Concentraciones de Nutrientes en Material Vegetal

El N y P totales se determinaron por medio del método micro-Kjeldahl (Murphy y Riley, 1962). La cuantificación colorimétrica se hizo por medio de un autoanalizador bicanal, modelo AACE3, marca Bran-Luebbe.

Mediciones de pH y Conductividad Eléctrica (CE)

La primera medición de pH del suelo que se llevó a cabo fue de una unidad experimental que murió dos semanas después de iniciado el experimento. Las siguientes mediciones de pH y las de CE se realizaron al terminar la etapa experimental. El método utilizado para todas las mediciones fue el siguiente. Se dejaron secar las muestras de suelo a temperatura ambiente y después se pasaron por un tamiz de 2 mm. Se pesaron 5 g que se pusieron dentro de un vaso con tapa con 50 ml de agua desionizada. Posteriormente se agitaron las muestras durante 30 minutos a velocidad lenta. Después de este tiempo se hicieron las lecturas de pH y CE, asegurándonos de que las muestras siguieran agitadas. Las mediciones se llevaron a cabo con el potenciómetro Horiba LAQUA F-74, previamente calibrado.

Determinación de Ácidos Grasos en el Suelo y en los Cultivos de Microorganismos

Para la extracción e identificación de los ácidos grasos se utilizó el método descrito por Sasser (2006) con las modificaciones detalladas a continuación. En lugar de hacer cultivos en placas Petri como se hace en el primer paso, se liofilizaron las muestras de suelo

y se colocó 1g de suelo por muestra, en tubos. El resto del procedimiento se siguió como el descrito por Sasser (2006).

Uno de los métodos que se buscaba llevar a cabo fue la extracción de ácidos grasos de los MM y MP, para identificar los biomarcadores presentes en el preparado y poder hacer comparaciones con los biomarcadores de los ácidos grasos del suelo; sin embargo, no fue posible terminar con el procedimiento debido, probablemente, a un error durante la toma de las muestras. La información sobre el método empleado pero inconcluso se encuentra en el Anexo 3.

Análisis de Datos

Los datos de biomasa, pH, CE y ácidos grasos fueron analizados mediante un Modelo Lineal Generalizado (GLM por sus siglas en inglés). El GLM fue elegido para interpretar los resultados ya que era el modelo que mejor se adecuaba a los datos recopilados, los cuales no se encontraban dentro de la normalidad. El Modelo Lineal Generalizado nos muestra si hay diferencias entre las medias de los tratamientos. Finalmente, se realizó un análisis de *post hoc* de Tukey el cual nos dio los valores de p que son una referencia para conocer si los resultados de los análisis estadísticos son significativos.

Para la elaboración de las figuras de ácidos grasos se separaron los datos por biomarcadores. Aquellos biomarcadores que pertenecían a bacterias gram positivas se agruparon. Se hizo lo mismo con las bacterias gram negativas y los hongos. En el caso de los hongos, sólo se elaboró una figura que englobara todos los biomarcadores de hongos. En todas las figuras se manejaron promedios y se incluyeron las barras de error.

En cuanto a los datos de los análisis de nutrientes, es importante dejar en claro que los resultados se obtuvieron a partir del análisis de muestras compuestas, es decir, sólo se analizó una muestra que contenía todas las repeticiones disponibles de cada tratamiento. En total se analizaron 18 muestras, una por tratamiento. Por lo tanto, no fue posible realizar análisis estadísticos con estos datos.

Tomando en cuenta las limitaciones resultantes de la cantidad de muestras disponibles, se hicieron varias comparaciones. Primero se separaron los datos en dos grandes

grupos, los tratamientos con suelo estéril (SE) y aquellos con suelo no estéril (SNE). Se sacó un promedio de la biomasa y de la concentración de N y P en la materia vegetal para cada grupo y, se prosiguió multiplicando ambos valores para obtener la cantidad total de N y P contenida en el grupo de tratamientos con SE y en el grupo de tratamientos con SNE.

La segunda comparación se hizo tomando en cuenta el factor de aplicación de microorganismos, así que se separaron los tratamientos en tres grupos: aquellos sin microorganismos (SM), con microorganismos de montaña (MM) y con microorganismos de parcela (MP). Se prosiguió a calcular la cantidad total de N y P contenida en cada grupo de tratamientos.

La tercera y última comparación se hizo con el factor de aplicación de fertilizante, así que los tratamientos se separaron en los siguientes grupos: sin fertilizante (SF), con estiércol de vaca (EV), y con fertilizante mineral (FM). De igual manera, se calculó la cantidad total de N y P contenida en cada grupo de tratamientos.

Todos los datos obtenidos se graficaron para poder ver mejor los patrones que aparecieron en ellos.

Resultados

Biomasa

Tabla 5

Diferencias significativas de la biomasa del maíz en su etapa vegetativa correspondientes a cada factor y sus combinaciones. Para más información sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.

	Biomasa		
	Aérea	Radical	Total
S	***	***	***
M	***	***	***
F	***	0.48	***
S: M	0.36	0.38	0.76

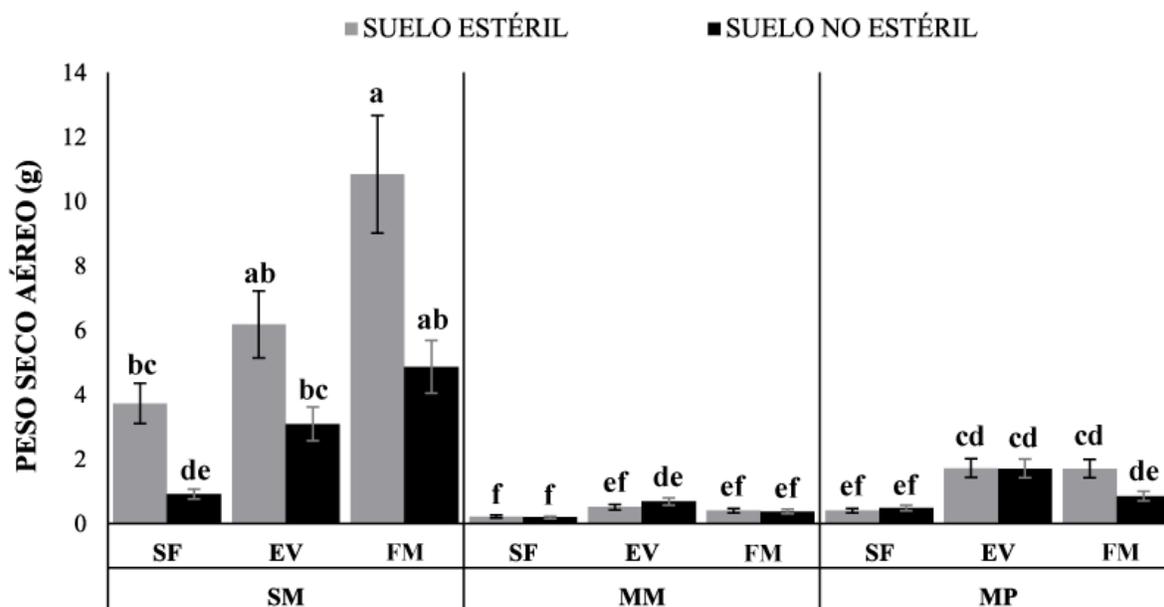
S: F	***	0.26	**
M: F	***	***	***
S: M: F	*	0.09	0.17
S = suelo; M = microorganismos; F = fertilización.			
Códigos de significancia: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05			

En la Tabla 5, podemos observar los resultados de la prueba *post hoc* de la biomasa.

En las siguientes figuras se representan los resultados estadísticamente significativos de las interacciones entre los factores que tuvieron un impacto en la biomasa.

Figura 2

Efecto de la interacción de los distintos factores en el peso seco aéreo por tratamiento de las plantas de maíz cultivadas en su etapa vegetativa. Para más información sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.



Nota: Diferentes letras representan diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). Significados de abreviaturas: SM = sin microorganismos; MM = microorganismos de montaña; MP = microorganismos de parcela; SF = sin fertilización; EV = estiércol de vaca; FM = fertilizante mineral.

Peso Seco Aéreo

En la Figura 2 podemos apreciar la media del peso seco aéreo por tratamiento. En la primera sección de la figura, donde aparecen todos los tratamientos SM, se observan diferencias significativas entre aquellos tratamientos con suelo estéril y suelo no estéril. El promedio más bajo corresponde a los tratamientos con suelo no estéril sin fertilización, mientras que el mayor promedio corresponde a los tratamientos de suelo estéril con FM.

En la segunda sección de la figura se encuentran representados los tratamientos a los que se les aplicaron MM. Entre estos tratamientos sólo existen diferencias significativas entre aquellos SF (independientemente del factor de esterilización), con el valor más bajo y, aquel de suelo no estéril con EV, con el valor más alto.

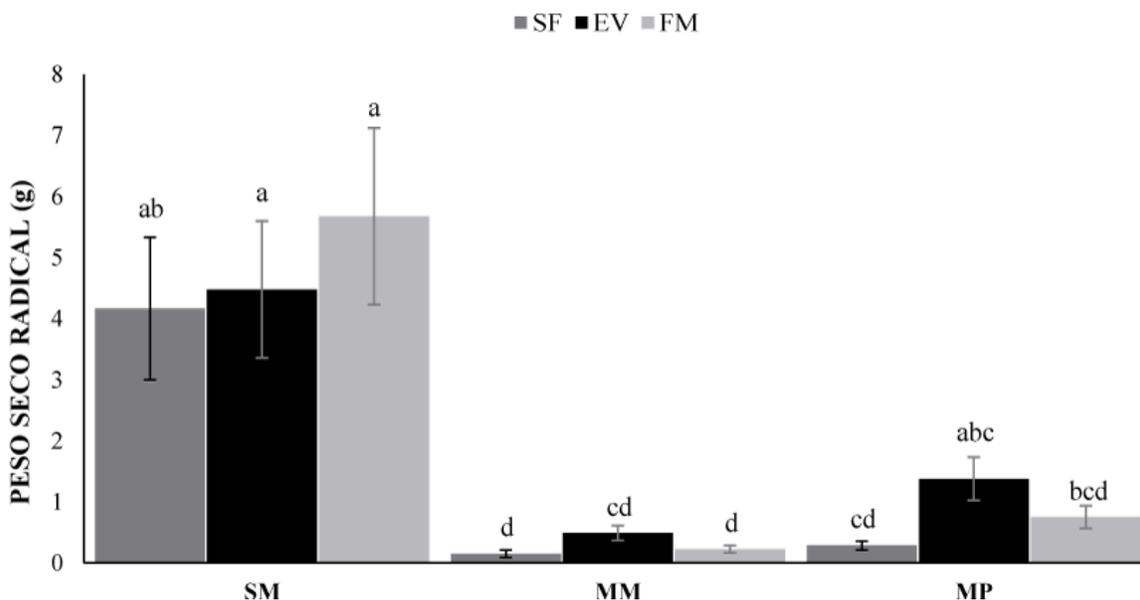
En la tercera sección, aparecen los tratamientos con MP. Las diferencias significativas se encuentran entre los tratamientos SF, los tratamientos con EV (independientemente del factor de la esterilización), y el tratamiento de suelo estéril con FM; siendo los tratamientos SF los de promedio más bajo.

Finalmente, al hacer un análisis conjunto de las secciones de la Figura 2, podemos resaltar que, entre los tratamientos inoculados con microorganismos, aquellos con MP, fertilizados con estiércol de vaca y, los de suelo estéril fertilizado con fertilizante mineral; son significativamente mayores respecto a los tratamientos con MM sin fertilización. En general, los tratamientos que son significativamente mayores son los que no fueron inoculados con microorganismos, con excepción del tratamiento con suelo no estéril sin fertilización, el cual no tiene diferencias significativas con algunos tratamientos inoculados con MM y MP.

Para apreciar mejor las diferencias entre tratamientos se pueden observar las Figuras 11, 12, 13 y 14 que se encuentran en el Anexo 2.

Figura 3

Efecto de la interacción de los inóculos microbianos y la fertilización en el peso seco radical de las plantas de maíz en su etapa vegetativa. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.



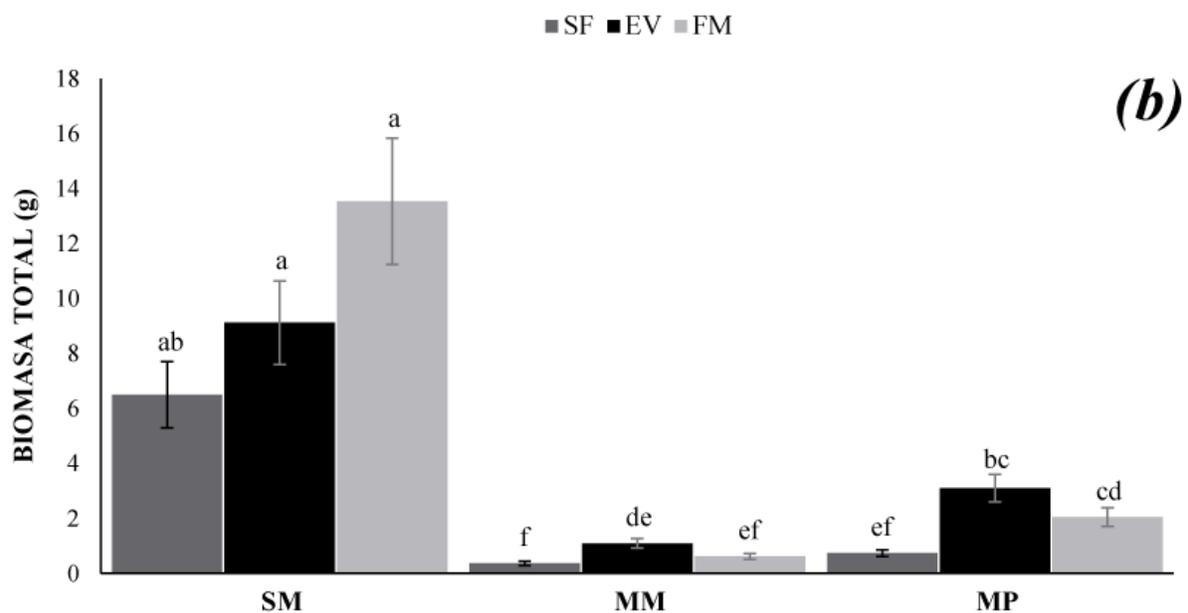
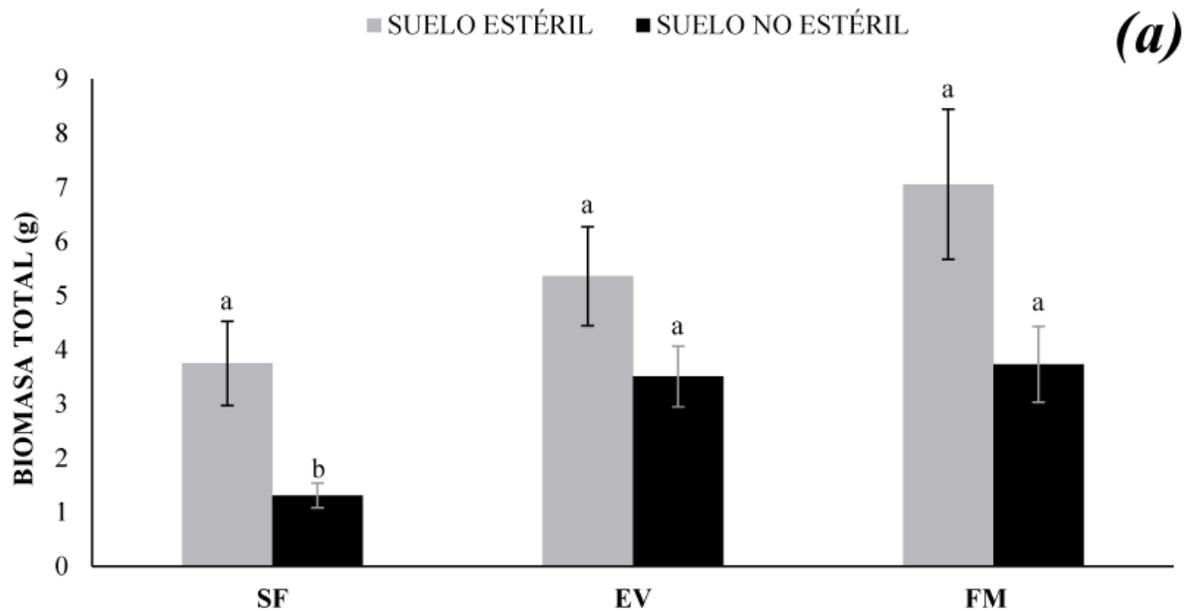
Nota: Diferentes letras representan diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.001$). SM = sin microorganismos; MM = microorganismos de montaña; MP = microorganismos de parcela; SF = sin fertilización; EV = estiércol de vaca; FM = fertilizante mineral.

Peso Seco Radical

Se puede inferir que, independientemente de la aplicación de fertilizante, el factor determinante para el desarrollo radical de las unidades experimentales fue la aplicación de microorganismos. Aquellos tratamientos que no tuvieron ninguna aplicación de microorganismos mostraron un mayor desarrollo de la masa radical que los tratamientos que sí fueron sometidos a la aplicación de microorganismos. Las diferencias significativas más apreciables se encuentran entre los tratamientos SM y los tratamientos con aplicación de MM. También se puede resaltar que entre los tratamientos con MP y EV, no existen diferencias significativas con aquellos SM.

Figura 4

Biomasa total de las plantas de maíz cultivadas hasta su etapa vegetativa en invernadero. Para más información sobre el diseño experimental, consultar la sección de materiales y métodos.



Nota: (a) Efecto de la interacción entre la esterilización y la fertilización en la biomasa de las plantas de maíz; (b) efecto de la interacción de la aplicación de microorganismos y la fertilización en la biomasa de las plantas de maíz. Diferentes letras representan diferencias significativas entre los tratamientos: (a) \rightarrow ($p < 0.01$) y (b) \rightarrow ($p < 0.001$). Significado de las abreviaturas: SF = sin fertilización; EV = estiércol de vaca;

FM = fertilizante mineral; SM = sin microorganismos; MM = microorganismos de montaña; MP = microorganismos de parcela.

Biomasa Total

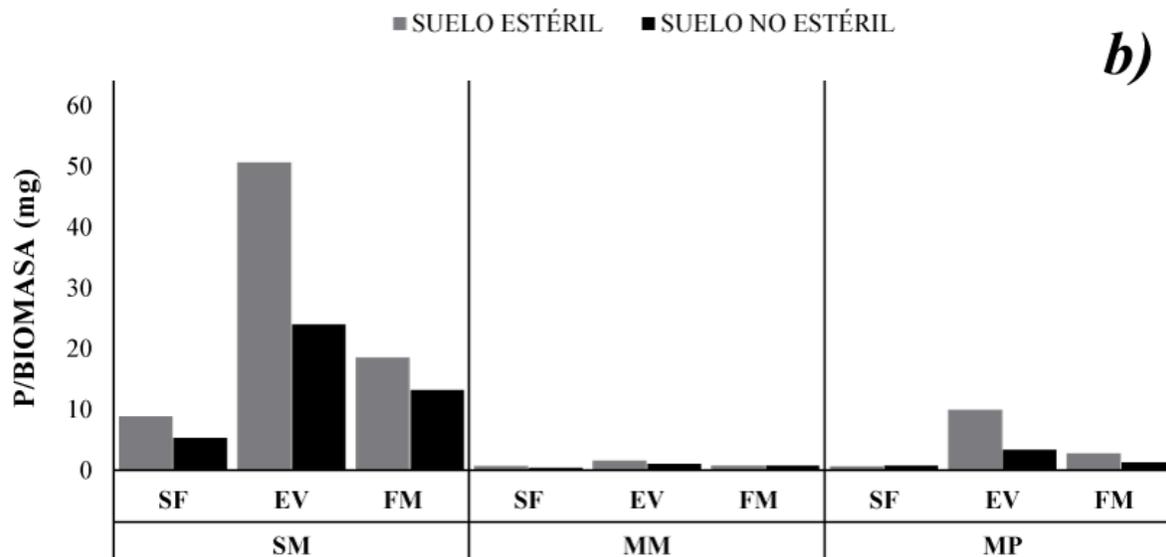
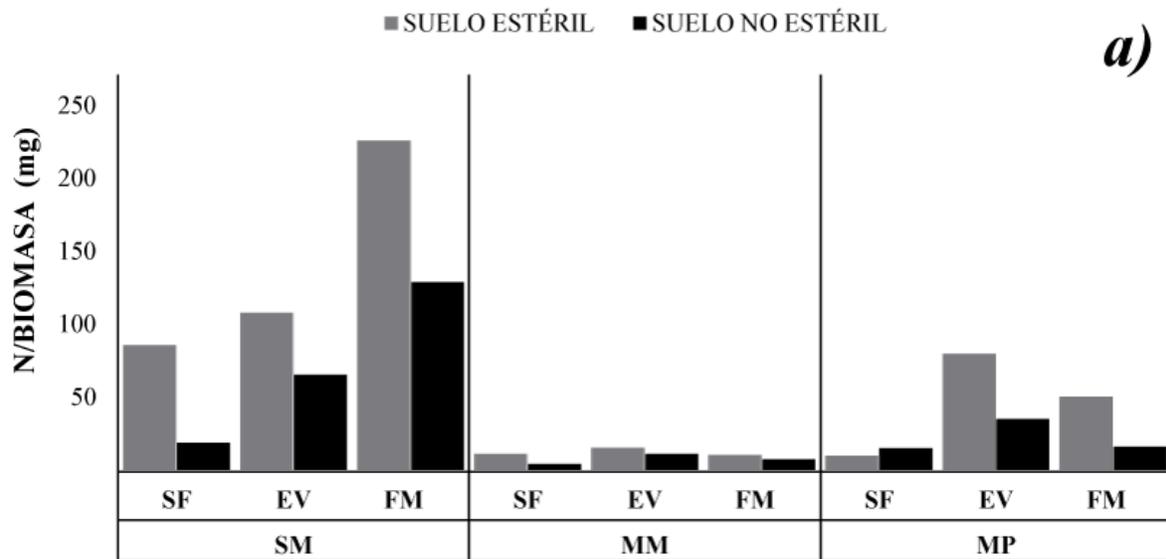
La biomasa total del tratamiento con suelo no estéril sin fertilización fue significativamente menor que los demás tratamientos (Fig. 4 a).

La aplicación de los MM y MP tuvo un efecto negativo en el desarrollo de las plantas, expresado en la biomasa total. Los tratamientos SM fueron significativamente mayores a aquellos con MM y MP, a excepción del tratamiento de MP con EV (Fig. 4 b).

Nutrición

Figura 5

Contenido de N y P total en las muestras compuestas por el tejido vegetal de cada tratamiento (n=1). Para más información sobre el diseño experimental, revisar las sección de materiales y métodos.



Nota: Significado de las abreviaturas: SF = sin fertilización; EV = estiércol de vaca; FM = fertilizante mineral; SM = sin microorganismos; MM = microorganismos de montaña; MP = microorganismos de parcela.

La figura que muestra los valores de la cantidad total de N en la biomasa de los tratamientos, nos indica que entre los tratamientos SM, la combinación que reflejó una mayor asimilación de este nutriente en las plantas fue la de FM con suelo estéril, seguida de la combinación de FM con suelo no estéril. De igual manera, es posible ver que

independientemente del factor fertilización, cada tratamiento con suelo estéril SM, tuvo valores mayores que su contraparte con suelo no estéril (Fig. 5 a).

Todos los tratamientos con MM tuvieron cantidades muy bajas de N en el tejido vegetal. Se notan ligeras diferencias entre el tratamiento sin fertilización y con suelo no estéril (con la menor cantidad de N en su biomasa) y el tratamiento de EV y suelo estéril (que muestra el valor más grande entre estos tratamientos) (Fig. 5 a).

Los tratamientos con MP mostraron una mayor variación entre las cantidades de N que la que mostraron los tratamientos con MM, siendo el tratamiento con EV y suelo estéril el que tuvo mayor cantidad de N en su biomasa. Algo que resalta es que el tratamiento SF con suelo no estéril, tuvo mayor cantidad de N que el tratamiento SF con suelo estéril (Fig. 5 a).

Tomando en cuenta la combinación de todos los factores (suelo, fertilización y microorganismos). Podemos observar que los tratamientos sin microorganismos tienen más mg de N por biomasa cuando fueron fertilizados (con EV o FM), independientemente de si el suelo estaba estéril o no (Fig. 5 a).

Al observar la sección de la figura que corresponde a la figura del contenido de P en la biomasa de los tratamientos, en la parte donde se grafican los tratamientos SM, podemos ver que cuando se aplicó EV, el P total en la biomasa de las plantas, fue mayor (Fig. 5 b).

Cuando se aplicaron MM, los contenidos de P fueron sumamente bajos y es difícil observar diferencias entre los tratamientos. Por otro lado, cuando se aplicaron MP, los tratamientos que mostraron una mayor asimilación de P fueron los que contenían EV (Fig. 5 b).

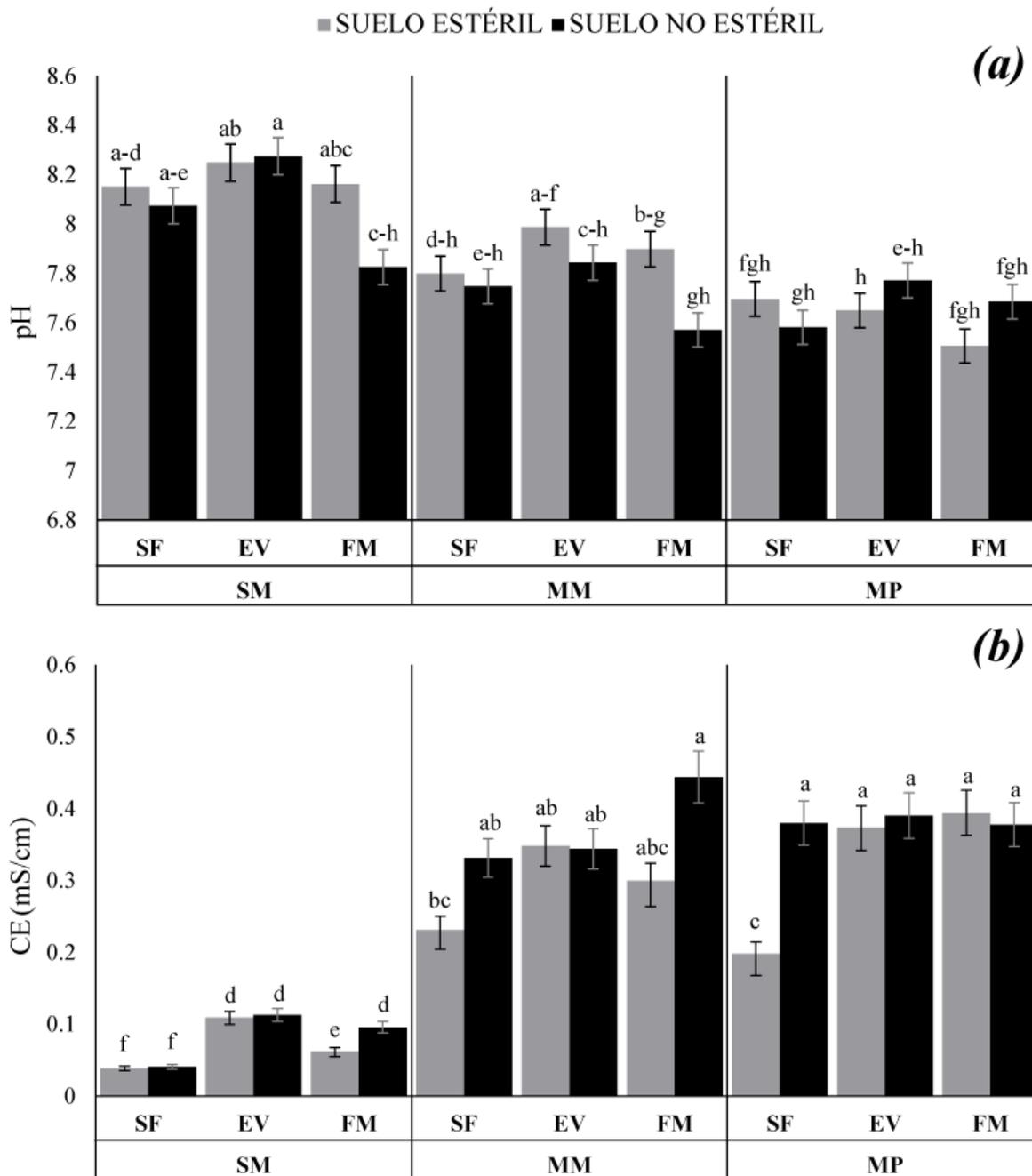
Finalmente, podemos resaltar que cuando se trató de N, el fertilizante que más favoreció la concentración total de este nutriente fue el FM siempre y cuando no hubiera aplicación de microorganismos, mientras que, al tratarse del P total, el fertilizante que más favoreció su concentración fue el EV.

Potencial de Hidrógeno (pH) y Conductividad Eléctrica (CE)

Las mediciones de pH hechas al suelo de la planta que murió primero al inicio del experimento, dieron un resultado promedio de 5.45 en la escala de pH.

Figura 6

Potencial de hidrógeno y conductividad eléctrica del suelo después del experimento. Para más información sobre los tratamientos y procedimientos utilizados, revisar la sección de materiales y métodos.



Nota: Diferentes letras representan diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.001$). SM = sin microorganismos; MM = microorganismos de montaña; MP = microorganismos de parcela; SF = sin fertilización; EV = estiércol de vaca; FM = fertilizante mineral.

En la Figura 6 (a), podemos observar el efecto de cada tratamiento en el pH del suelo. En los tratamientos sin microorganismos añadidos, sólo se aprecian diferencias significativas entre aquellos con estiércol de vaca (independientemente de la esterilización del suelo) y, el tratamiento con FM y suelo no estéril. Cuando se aplicaron MM, sólo se observan diferencias significativas entre los tratamientos con EV y suelo estéril y, con FM y suelo no estéril. Por otro lado, entre los tratamientos con aplicación de MP, no se encontraron diferencias significativas. Finalmente, al comparar todos los tratamientos podemos notar que los valores más elevados en la escala de pH son de los tratamientos sin microorganismos añadidos y, aquellos con los valores menores son los tratamientos que tuvieron MP.

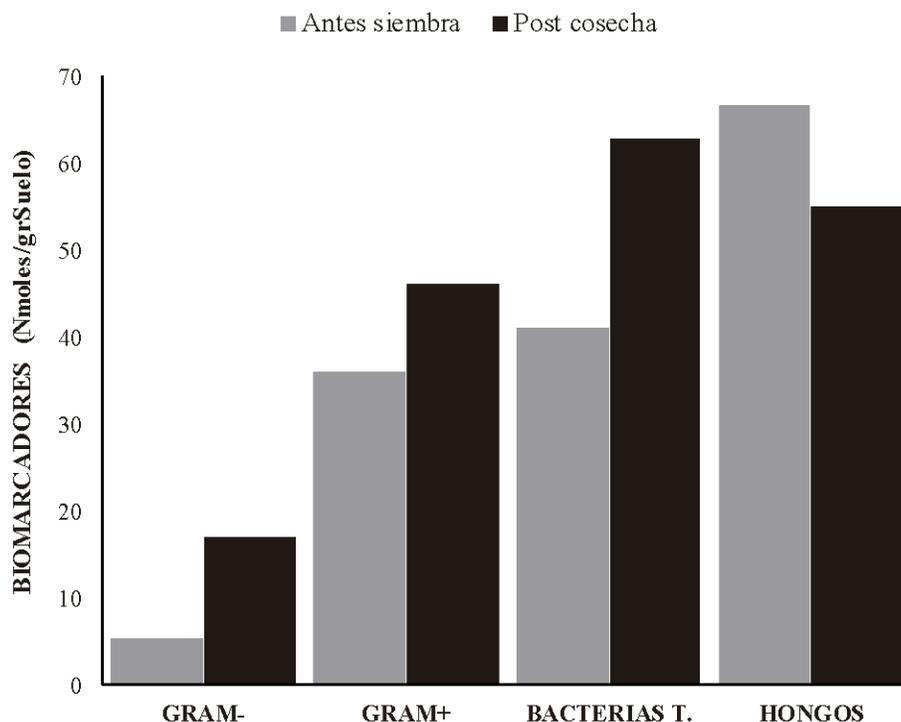
En la Figura 6 (b), se observa el efecto de cada tratamiento en la CE del suelo. En los tratamientos sin microorganismos añadidos existen diferencias significativas entre los distintos tipos de fertilización independientemente de si el suelo se esterilizó o no; solamente no hubo diferencias significativas entre los tratamientos con FM sin esterilización y los tratamientos con EV. Entre los tratamientos con aplicación de MM, sólo hay diferencias significativas entre el tratamiento con FM sin esterilización y el tratamiento sin fertilización con suelo estéril. En cuanto a los tratamientos con MP, sólo hay diferencias significativas entre el tratamiento sin fertilización con suelo estéril, siendo este el de menor CE. Por último, al comparar todos los tratamientos podemos ver que las diferencias más notorias se observan entre los tratamientos SM, que son aquellos que tienen la CE más baja.

En la mayoría de los casos podemos apreciar una correlación inversamente proporcional entre los valores de pH y los valores de CE, donde un valor de pH alto corresponde a un valor de CE bajo y viceversa.

Ácidos Grasos

Figura 7

Diferencias entre las concentraciones de los biomarcadores de bacterias y hongos contenidos en el suelo antes y después del experimento. Para más detalles sobre el diseño experimental revisar la sección de materiales y métodos.



Al observar la Figura 7, notamos que las concentraciones de todos los biomarcadores se modificaron a lo largo del experimento. Todas las concentraciones de bacterias (GRAM-, GRAM+ y, por ende, bacterias totales), mostraron un incremento durante el experimento; mientras que las cantidades de biomarcadores de hongos disminuyeron.

Tabla 6

Diferencias significativas de los ácidos grasos correspondientes a cada factor y sus combinaciones. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.

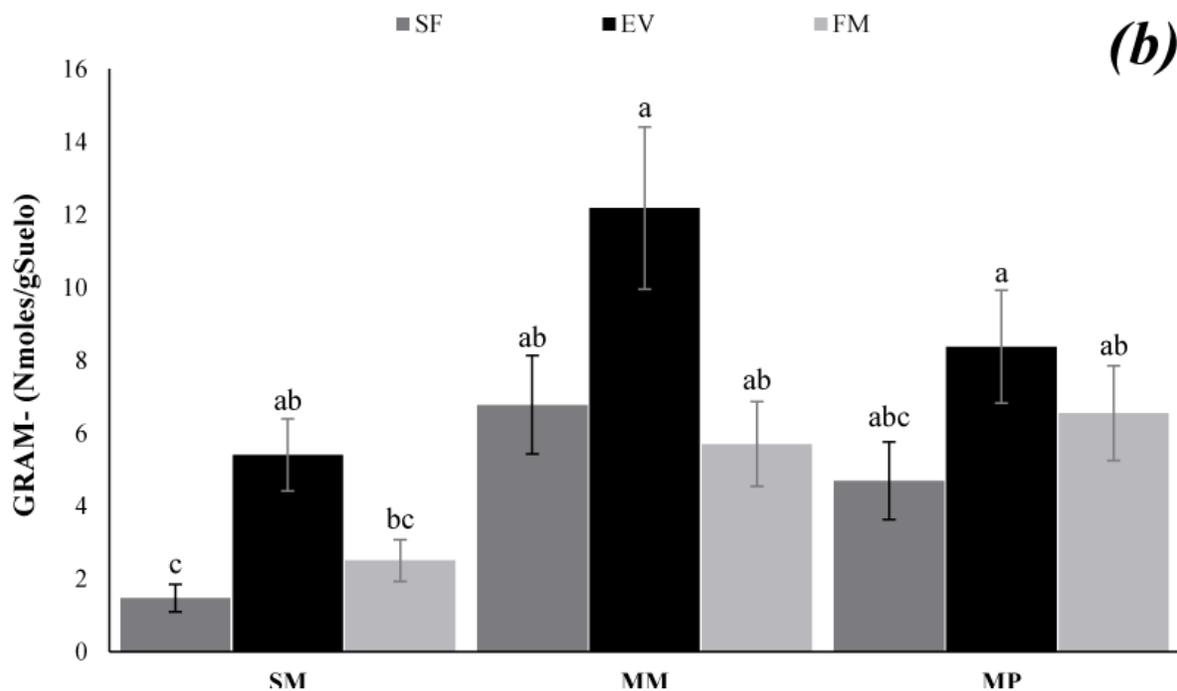
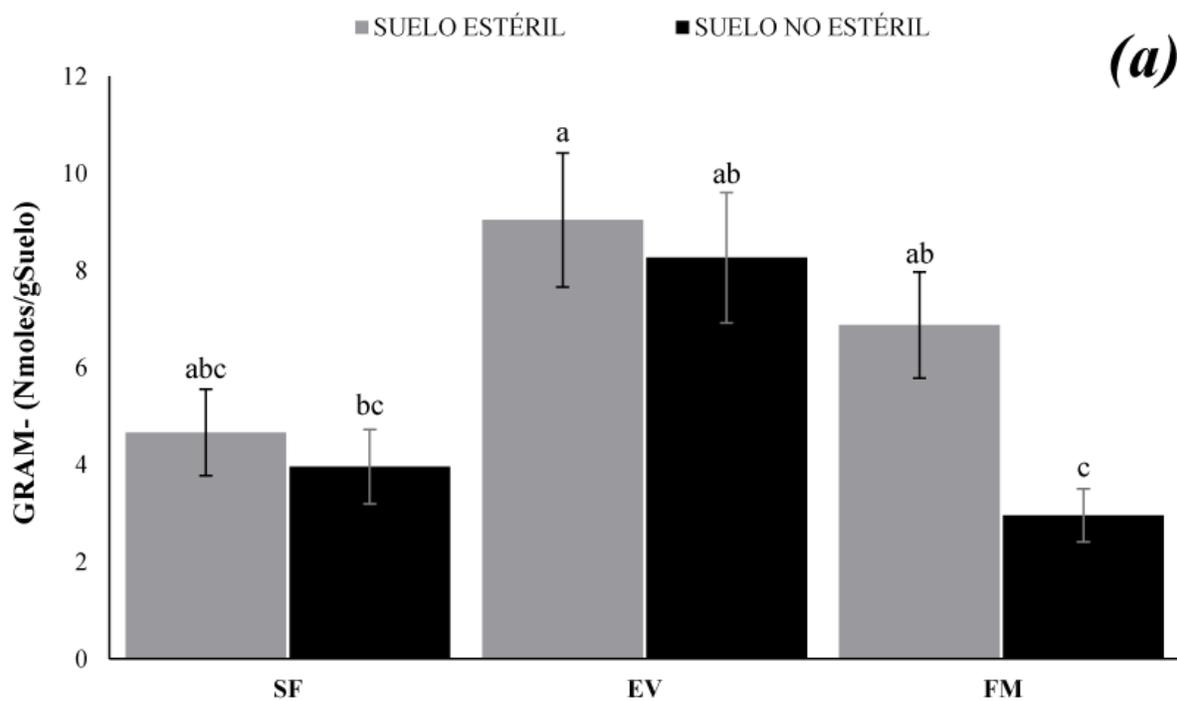
Ácidos Grasos				
	Gram-	Gram+	Bacterias Totales	Hongos Totales
S	0.06	***	***	***
M	***	***	***	0.07
F	***	*	***	0.9
S: M	0.3	*	0.06	**

S: F	*	**	**	0.38
M: F	*	*	*	0.29
S: M: F	0.052	0.23	0.6	***
S = suelo; M = microorganismos; F = fertilización.				
Códigos de significancia: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05				

En la Tabla 6, podemos observar los valores de p para los resultados de los análisis de ácidos grasos, que nos indican cuáles son las interacciones entre factores que son estadísticamente significativas. En las siguientes figuras se muestran los biomarcadores de bacterias gram negativas y positivas, bacterias y hongos totales.

Figura 8

Efecto de las interacciones de los factores del experimento en los biomarcadores de las bacterias Gram negativas. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.



Nota: (a) Interacción entre el factor suelo (estéril y no estéril) y el factor de fertilización, y su impacto en la presencia de bacterias Gram negativas ($p < 0.05$). (b) Efectos de la interacción de los microorganismos aplicados y los fertilizantes utilizados en la presencia de

bacterias Gram negativas ($p < 0.05$). Diferentes letras representan diferencias significativas entre los tratamientos. Significados de abreviaturas: SF = sin fertilización; EV = estiércol de vaca; FM = fertilizante mineral; SM = sin microorganismos; MM = microorganismos de montaña; MP = microorganismos de parcela.

Gram Negativas

En la Figura 8 (a), se observa el efecto de la interacción de la fertilización y la esterilización del suelo en la población de bacterias Gram negativas (G-). Podemos destacar los siguientes tratamientos:

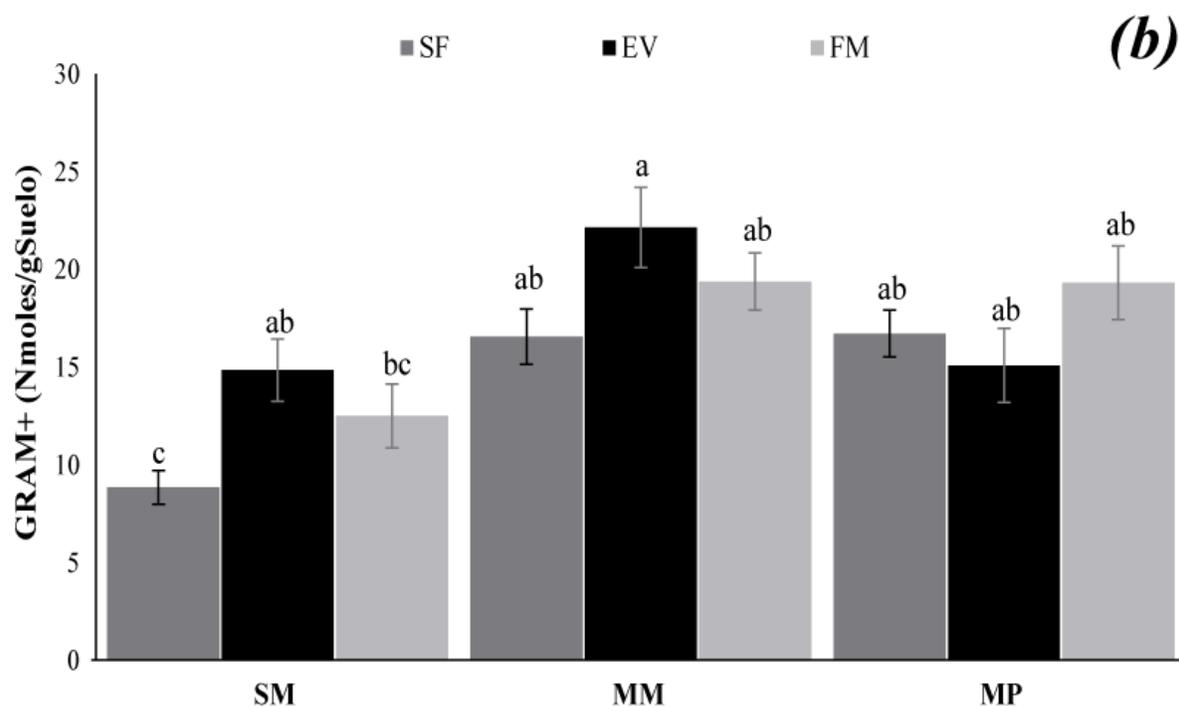
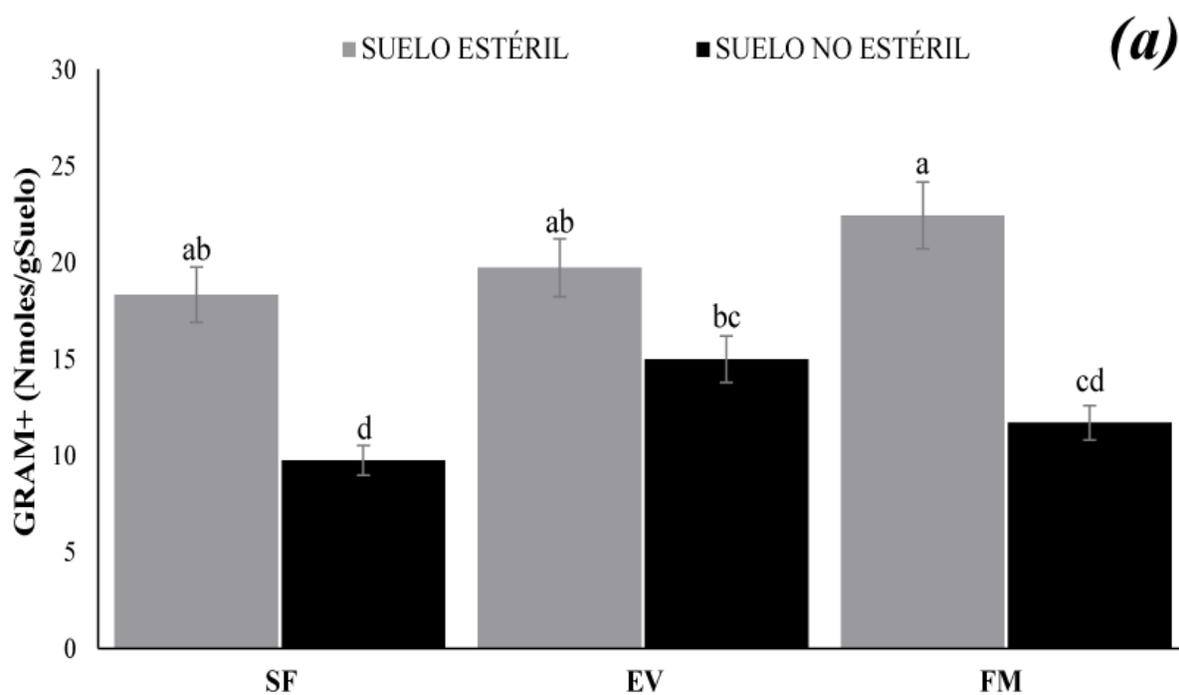
- Suelo estéril con estiércol de vaca, con el mayor promedio.
- Suelo no estéril con FM, con el menor promedio.

En esta figura también salta a la vista el hecho de que los tratamientos con suelo estéril son los que cuentan con promedios más altos. Sin embargo, sólo en los resultados de los tratamientos fertilizados con FM existen diferencias significativas entre aquellos con suelo estéril y no estéril.

En la Figura 8 (b), observamos el efecto en las bacterias Gram negativas dado por la interacción entre los factores de aplicación de microorganismos y fertilización. En esta ocasión los promedios más altos corresponden a los tratamientos fertilizados con EV que también fueron inoculados con MM y MP, sin embargo, los siguientes tratamientos son estadísticamente similares: 1) sin microorganismos fertilizado con estiércol de vaca; 2) MM sin fertilizante; 3) MM con FM; 4) MP sin fertilizante y 5) MP con FM. El promedio más bajo corresponde al tratamiento sin microorganismos y sin fertilización, el cual es estadísticamente similar a los tratamientos: 1) sin microorganismos con FM y 2) con MP sin fertilización.

Figura 9

Efecto de las interacciones de los factores del experimento en los biomarcadores de las bacterias Gram positivas. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.



Nota: (a) Efecto sobre las bacterias Gram positivas generado por la interacción entre los factores: fertilización y suelo ($p < 0.01$). (b) Efecto en las bacterias Gram positivas por la interacción de la aplicación de microorganismos y la fertilización ($p < 0.05$). Diferentes

letras representan diferencias significativas entre los tratamientos. Significados de abreviaturas: SM = sin microorganismos; MM = microorganismos de montaña; MP = microorganismos de parcela; SF = sin fertilización; EV = estiércol de vaca; FM = fertilizante mineral.

Gram Positivas

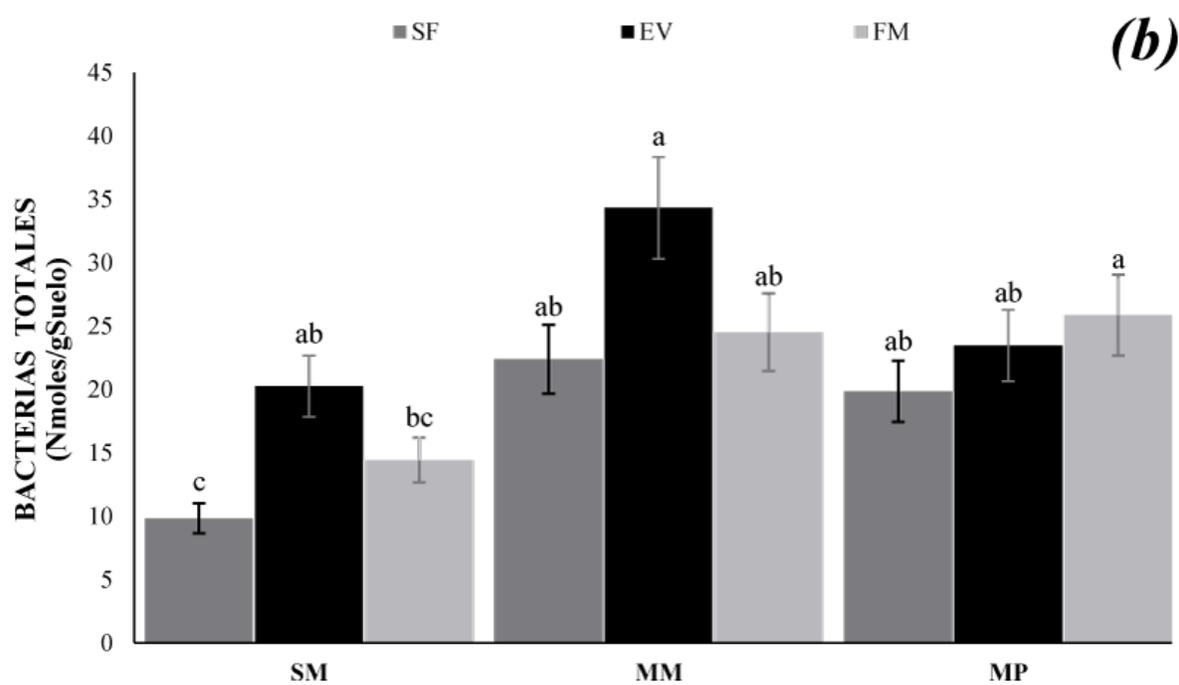
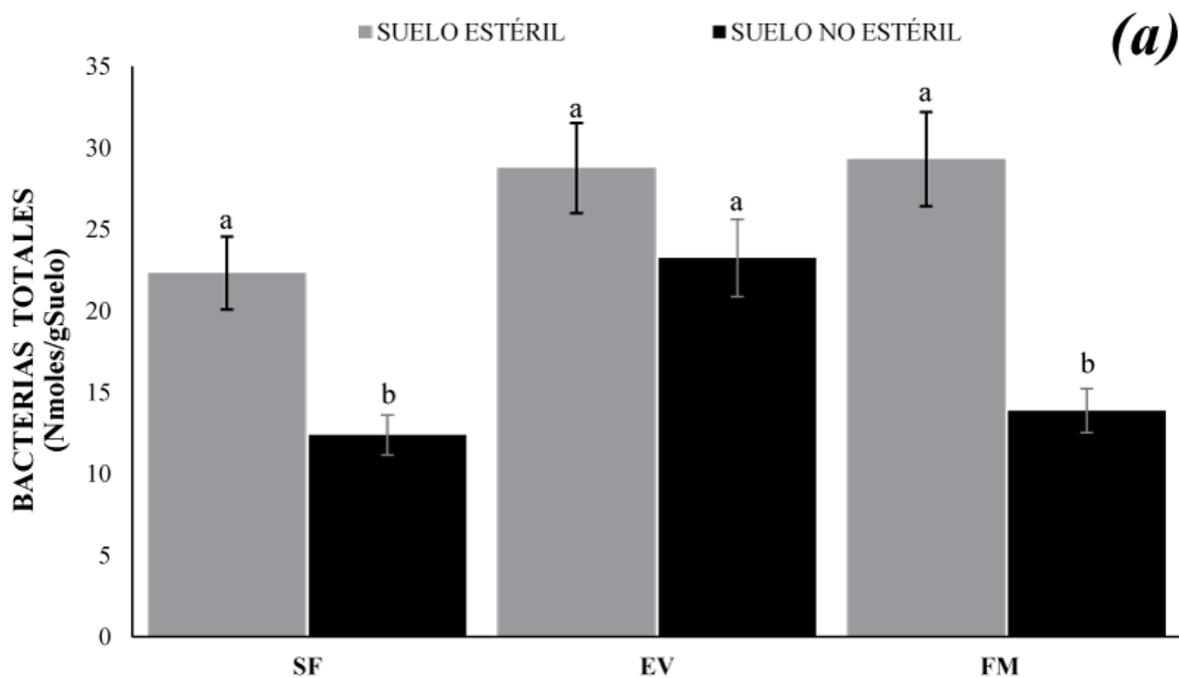
En la Figura 9 (a) se observa el efecto que tiene la interacción de los factores fertilización y esterilización del suelo, en la presencia de bacterias Gram positivas (G+). Todos los tratamientos que no se fertilizaron y aquellos fertilizados con FM, presentaron diferencias significativas en suelo estéril y no estéril. Los promedios más altos en cuanto a la concentración de biomarcadores de bacterias G+ los tuvieron los tratamientos con suelo estéril sin importar el tipo de fertilización, aunados a los tratamientos con estiércol de vaca y suelo no estéril. Los tratamientos que mostraron menor concentración de bacterias G+ fueron aquellos de suelo no estéril sin fertilización y suelo no estéril fertilizados con FM. Sin embargo, los tratamientos de suelo no estéril con FM fueron estadísticamente similares a aquellos de suelo no estéril con estiércol de vaca.

En la parte (b) de la Figura 9, podemos observar el efecto sobre las bacterias G+ dado por la interacción entre la aplicación de cultivos de microorganismos y fertilizante. De esta figura se pueden destacar los tratamientos:

- Aplicación de MM y fertilización con EV, con la mayor concentración de G+.
- Sin microorganismos y sin fertilización, con el menor promedio.

Figura 10

Efecto de las interacciones de los factores del experimento en los biomarcadores de las bacterias totales. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.



Nota: (a) Efectos de la interacción de los factores fertilización y esterilización del suelo en la presencia de bacterias totales ($p < 0.01$). (b) Efecto en las bacterias totales dado por la interacción entre fertilización y aplicación de microorganismos ($p < 0.05$). Diferentes letras representan diferencias significativas entre los tratamientos. Significados de abreviaturas:

SM = sin microorganismos; MM = microorganismos de montaña; MP = microorganismos de parcela; SF = sin fertilización; EV = estiércol de vaca; FM = fertilizante mineral.

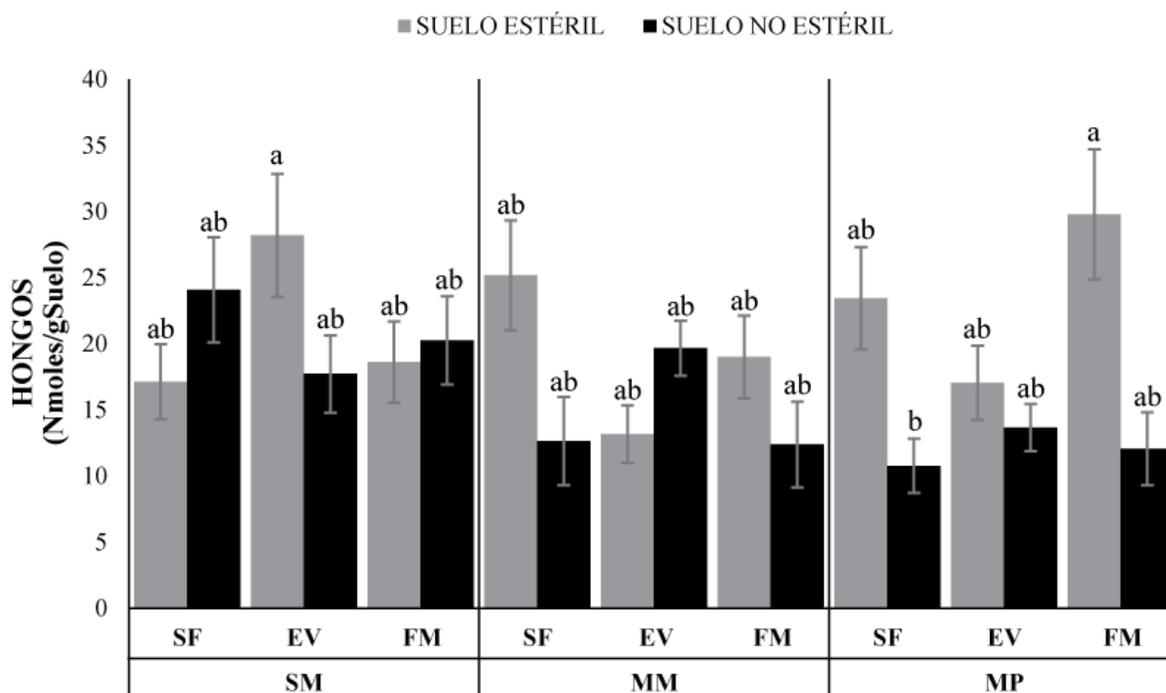
Bacterias totales

La Figura 10 (a) muestra la relación entre los factores de la fertilización con la esterilización del suelo para mostrar su efecto sobre las bacterias totales. En general, se puede apreciar que en los tratamientos con suelo estéril se desarrollaron más bacterias, con excepción del tratamiento de suelo no estéril con estiércol de vaca. Los tratamientos de suelo no estéril sin fertilización y con FM obtuvieron los valores más bajos y difieren estadísticamente de todos los demás.

Por otro lado, en la Figura 10 (b), se reflejan los resultados obtenidos de la interacción entre dos factores: el uso de fertilizante y la aplicación de microorganismos, sobre la presencia de bacterias de todo tipo. En esta interacción no se aprecian muchas diferencias significativas. Los resultados para los tratamientos con aplicación de MM y de MP son muy similares entre sí, sin tomar en cuenta el tipo de fertilización. Los tratamientos que no recibieron la aplicación de ningún cultivo de microorganismos obtuvieron los valores más bajos. El tratamiento sin microorganismos y sin fertilización es aquel con el valor más bajo, estadísticamente distinto a los tratamientos con valor más alto, que son: a) aplicación de MM y fertilización con estiércol de vaca y b) aplicación de MP con fertilizante mineral.

Figura 11

Efecto de las interacciones de los factores del experimento en los biomarcadores de hongos totales. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.



Nota: Diferentes letras representan diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.001$). Significados de abreviaturas: SM = sin microorganismos; MM = microorganismos de montaña; MP = microorganismos de parcela; SF = sin fertilización; EV = estiércol de vaca; FM = fertilizante mineral.

Hongos

En la Figura 11, podemos observar el efecto que cada tratamiento tuvo en los biomarcadores correspondientes a los hongos en general. Entre los tratamientos sin microorganismos no existen diferencias significativas, sin embargo, el tratamiento con EV y suelo estéril mostró ligeramente una mayor presencia de hongos. Ninguno de los tratamientos con aplicación de MM mostró diferencias significativas.

Entre los tratamientos con MP sí se observan diferencias significativas; el tratamiento SF y con suelo no estéril es el que tiene menor contenido de biomarcadores para hongos mientras que el tratamiento con FM y suelo estéril es el que más biomarcadores para hongos mostró.

Solamente existieron diferencias significativas entre los siguientes tratamientos:

- Suelo no estéril con microorganismos de parcela sin fertilizante, el cual obtuvo el valor más bajo en cuanto a presencia de hongos.
- Suelo estéril sin microorganismos y fertilizado con estiércol de vaca, junto con el tratamiento de suelo estéril con MP y fertilizante mineral (FM), que obtuvieron los valores más altos.

Discusión

Biomasa

Los resultados de los análisis de biomasa muestran que no en todos los casos, las interacciones entre los tres factores evaluados (esterilización del suelo, aplicación de fertilizante y aplicación de microorganismos) tuvieron efectos significativos en la biomasa de las unidades experimentales. Sólo en el caso del peso seco aéreo, la interacción entre los tres factores se mostró significativa. Tomando en cuenta estos aspectos, podemos apreciar en las figuras que la esterilización del suelo tuvo un efecto positivo en la biomasa de las plantas, lo cual está ampliamente documentado y se atribuye a que la esterilización elimina la microbiota del suelo, incluyendo a los patógenos, permitiendo que las plantas intervengan en la recolonización de microorganismos en el suelo, generando una rizósfera benéfica para su crecimiento (Li et al., 2019). Igualmente, los resultados pueden atribuirse a que en el suelo estéril los microorganismos asociados a la raíz de la planta no tuvieron competencia en su desarrollo y pudieron acceder a los nutrientes disponibles por la esterilización, pero al mismo tiempo, liberar aquellos que el suelo ya contenía. También en los tratamientos sin fertilización, cuando no hubo aplicación de microorganismos, se observó un mejor desarrollo en suelo estéril. Esto puede deberse a que la esterilización del suelo libera nutrientes disponibles en la biomasa microbiana (Zhang et al., 2011). Por otro lado, es importante tomar en cuenta que, aunque las asociaciones entre microorganismos y planta tienen múltiples beneficios, también implican una inversión extra de energía para la planta, la cual se encarga de producir los compuestos de carbono que promueven el desarrollo de los microorganismos en las raíces (Morgan et al., 2005). Además, un estudio mostró que, al esterilizar el suelo, se incrementaron los efectos positivos en todos sus tratamientos (Zhang et al., 2011). Sin embargo, esto no significa que la esterilización del suelo es la solución a todos los problemas

en las parcelas productivas, labor que, además, no es del todo posible. Es importante siempre tener en cuenta que los microorganismos intervienen en procesos que promueven funciones básicas de los ecosistemas como la descomposición de la materia orgánica y el ciclaje de nutrientes (Montaño et al., 2010).

En cuanto al desarrollo de las raíces, los resultados muestran que cuando no hubo aplicación de microorganismos, con o sin fertilización, las raíces representaron una mayor biomasa, además al momento de la cosecha, se distinguían del resto de las raíces por tener una apariencia sana. Este hecho puede estar relacionado con el estancamiento del suelo que se presentó al inicio del experimento (causado por los platos que se colocaron debajo de las macetas), pero que se mantuvo la mayor parte del tiempo en los tratamientos con MM y MP, debido a que los inóculos microbianos en su estado líquido tenían cierta densidad o espesura, lo cual pudo haber generado un estado prolongado de hipoxia e inclusive de anoxia, en estos tratamientos. Además, la falta de oxígeno en el suelo genera sustancias tóxicas como el etileno, que inhibe el crecimiento de las raíces (Pardos, 2004).

Finalmente, en los resultados de la biomasa total, observamos una vez más que la esterilización del suelo al inicio del experimento fue positiva para el desarrollo de las plantas y que la aplicación de MM y MP tuvo un efecto negativo sobre la biomasa e incluso, es posible que, debido a la frecuencia de aplicación, los inóculos de microorganismos hayan actuado como contaminantes del suelo. Aunque todavía no existen estudios que hablen específicamente de las consecuencias en el suelo y las plantas derivadas de la aplicación y uso excesivo de cultivos de microorganismos, se sabe que en la rizósfera se mantiene una constante competencia por espacio y nutrientes y que la limitación de cualquiera de estos factores puede generar efectos derivados de las interacciones entre microorganismos y planta, nulos o antagónicos (Cano, 2011). Además, factores endógenos y exógenos pueden ocasionar que las interacciones simbióticas se alternen entre mutualismo y parasitismo (Neuhauser y Fargione, 2004).

Un aspecto interesante que salta a la vista en los resultados es que aquellos tratamientos con EV, inoculados con MM y MP, presentan un ligero incremento en su biomasa, en comparación a los demás tratamientos inoculados. Aunque estas diferencias no

son significativas, podrían deberse a alguna característica física o biológica que el EV aportó al suelo, como mayor porcentaje de aireación o un consorcio de microorganismos benéficos que contrarrestó en cierta medida el efecto negativo de la aplicación de los inóculos microbianos concentrados. En un experimento realizado con estiércol de vaca como enmienda de suelo, se encontró que este material orgánico tiene la capacidad de mejorar las cualidades físicas del suelo, incrementando la porosidad, el porcentaje de humedad y la tasa de infiltración, al mismo tiempo que reduce la densidad aparente, la temperatura y la tasa de dispersión (directamente relacionada a la erosión), favoreciendo el crecimiento de plantas de maíz (Adekiya et al., 2016). Además, también se ha encontrado que el EV contribuye con la fitorremediación (Njoku et al., 2012) y en general es uno de los mejores aditivos naturales para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos (Neethu et al., 2019).

Por otro lado, recientemente se hicieron experimentos empleando los mismos MM utilizados en este proyecto, pero en su estado sólido, mezclado con suelo al 10%, para cultivar plantas de jitomate (variedad Seminis DRD 8551). El investigador encargado de la coordinación del experimento, sugiere una alta probabilidad de que las semillas utilizadas hayan estado previamente infectadas con *Phytophthora infestans*, ya que las plantas mostraron síntomas de tizón tardío, enfermedad causada por este patógeno, sin embargo, dijo que los resultados preliminares muestran que el sustrato utilizado favoreció el crecimiento de las plantas de jitomate, ya que mostraron un mejor desarrollo en comparación con plantas cultivadas en campo, pero además, la enfermedad tardó de dos a tres meses en desarrollarse, cuando normalmente las plantas infectadas pueden morir en cuestión de días; por ello propone que los MM limitaron la agresividad de la enfermedad (A. Reyes, comunicación personal, 28 de febrero de 2023).

Concentraciones de N y P en la Biomasa Aérea de las Plantas

Los análisis de nutrientes realizados después del experimento se llevaron a cabo con muestras compuestas, ya que en algunos casos no se contaba con la cantidad mínima de materia vegetal por unidad experimental. Debido a esto, no se pudieron realizar análisis estadísticos por falta de repeticiones, sin embargo, los datos obtenidos de estos análisis de nutrientes pueden interpretarse a grandes rasgos para obtener un panorama del N y P totales

que las plantas de los distintos tratamientos absorbieron y retuvieron en su tejido vegetal. Aunque la información obtenida sólo nos muestra una fotografía del estado de los nutrientes en el tejido vegetal en el momento en el que se hicieron los análisis, gracias a las figuras podemos encontrar algunos patrones que también se observaron en los resultados de biomasa.

Los tratamientos con suelo estéril tuvieron mayores concentraciones de N y P que los de suelo no estéril, esto puede deberse a que la esterilización favoreció la liberación de nutrientes contenida en la biomasa microbiana presente en el suelo de origen, además de reducir la competencia por los nutrientes entre plantas y microorganismos (Zhang et al., 2011).

Todos los tratamientos inoculados con microorganismos presentaron los contenidos más bajos de N y P, principalmente aquellos inoculados con MM, que son los que tuvieron el menor contenido de ambos nutrientes. Lo anterior puede deberse al pobre desarrollo que presentaron estas plantas desde las etapas iniciales y en este caso, podemos inferir que el contenido de nutrientes en la materia vegetal de las plantas es directamente proporcional a su desarrollo (Mengel y Kirkby, 2000).

Otro patrón visible en estas figuras es que cuando no se añadieron microorganismos, existió una relación entre el contenido de nutrientes y el tipo fertilizante utilizado, mostrándose un mayor contenido de N en la biomasa cuando se aplicó fertilizante mineral y mayor contenido de P al aplicarse EV. Lo interesante es que este patrón no se cumple cuando hubo MM y MP de por medio, en estos casos los tratamientos con EV fueron los que presentaron el mayor contenido de nutrientes, tanto de N como de P. Una vez más, podemos suponer que esto se debe a que el EV mejora las cualidades físicas del suelo (Adekiya et al., 2016) y, que contribuye con la fitorremediación (Njoku et al., 2012), lo cual repercute en la microbiota y las plantas.

Es importante recordar la etapa de anegación provocada accidentalmente al inicio del experimento, donde se vieron afectadas principalmente las unidades experimentales a las que se les agregaron MM y MP. Aunque los platos fueron retirados después de dos días, es posible que el encharcamiento haya provocado un daño irreversible en las plantas de maíz de los tratamientos con inóculos microbianos y esto influyera en la capacidad de absorción de nutrientes y, por lo tanto, en su crecimiento. Los efectos en las plantas derivados del

encharcamiento son diversos y dependen de la especie en cuestión, la etapa de crecimiento y la duración del periodo de anegación (Pardos, 2004). En el caso del maíz, un suelo bien drenado es crucial, si la planta se ve afectada por el encharcamiento desde su siembra hasta los 15 a 20 días de su desarrollo, durante más de un día y a altas temperaturas, el cultivo se puede dañar (Deras, 2020). Un suelo encharcado sufre alteraciones químicas; las reservas de oxígeno que en él se encuentran se reducen e incluso se terminan, pero se acumula el dióxido de carbono (CO₂); gracias al cambio de los gases en suelo, que también genera cambios en el pH, los nutrientes comienzan a verse afectados lo cual genera que algunos dejen de estar disponibles (como el nitrógeno) y otros sean mucho más solubles (como el hierro) (Lopes et al., 1988).

Potencial de Hidrógeno (pH) y Conductividad Eléctrica (CE) del Suelo

La medición de pH hecha al suelo de la planta que murió primero al inicio del experimento², confirmó que después de dos semanas de haber iniciado el experimento no existía una gran diferencia con el pH del suelo registrado antes del experimento³ (Anexo 1). Sin embargo, si comparamos el pH inicial con el pH final, podemos notar un cambio importante, de un suelo ácido a uno alcalino. Probablemente este cambio se debió al efecto del encharcamiento que sufrieron los tratamientos al inicio del experimento. Se ha visto que después de periodos de anegación, el pH en los suelos ácidos puede aumentar debido a la liberación de hidroxilos (OH) por la reducción de los óxidos de hierro, dando como resultado suelos neutros o básicos (Lopes et al., 1988). Por otro lado, este aumento en los valores de pH parece no haber afectado a las plantas de maíz, ya que aquellas con mayor biomasa (las plantas sin aplicación de microorganismos), presentaron los valores más altos de pH y la apariencia más sana.

Por otro lado, los valores de CE son más altos en todos los tratamientos con aplicación de MM y MP, lo cual puede estar relacionado con la saturación constante del suelo de estas unidades experimentales. Se ha visto que en encharcamientos prolongados, la CE aumenta proporcionalmente al tiempo de encharcamiento, lo cual es causado por la reducción de

² pH de 5.45, correspondiente a un suelo fuertemente ácido (Tabla 3).

³ pH de 5.73, correspondiente a un suelo moderadamente ácido (Tabla 3).

compuestos y el potencial de solubilización del dióxido de carbono que incrementa la concentración de iones en la solución del suelo (Lopes et al., 1988).

Ácidos Grasos del Suelo

Al observar la comparación de las concentraciones de biomarcadores de bacterias y hongos antes del experimento y concluido el experimento, podemos darnos cuenta de que antes de la siembra había más hongos y después de la cosecha se encontraron más bacterias. Las bacterias Gram negativas incrementaron en mayor proporción que las bacterias Gram positivas (228% y 53% respectivamente). Esto puede estar relacionado con los microorganismos asociados a la rizósfera del maíz. Un estudio llevado a cabo en distintos suelos logró identificar cinco géneros de bacterias relacionados a la rizósfera del maíz, de los cuales, los que se encontraron en mayores concentraciones fueron *Pseudomonas*, *Azospirillum* y *Azotobacter*, todos géneros de bacterias Gram negativas (Hernández et al., 2003). Por otro lado, gracias a los datos arrojados en los análisis estadísticos de ácidos grasos, se puede decir que los cambios en las concentraciones de biomarcadores de bacterias están principalmente relacionados con la aplicación de MM y MP. En cuanto a los hongos, se encontró una disminución del 17% de los biomarcadores de hongos. Sin embargo, se puede decir a grandes rasgos que la esterilización del suelo favoreció su desarrollo en los tratamientos, lo cual pudo haberse debido a que algunas esporas resistieron la esterilización del suelo (Aguilar-Ulloa et al., 2016).

Conclusiones y reflexiones

Es importante que nuestros esfuerzos para mejorar las condiciones del suelo de una parcela estén respaldados por análisis que demuestren qué necesita ese suelo en particular, o mejor aún, llevar a cabo una evaluación holística del terreno. La historia de la parcela también puede ser un factor importante para tomar en consideración. Tanto el manejo que se le haya dado a la parcela a lo largo del tiempo, como las especies que se hayan cultivado en ella, le confieren al suelo características específicas que hay que considerar en nuestra evaluación previa, por ejemplo, los microorganismos asociados a los cultivos (benéficos o parásitos). Tomar en consideración estos detalles puede darnos información más completa que solamente un análisis de características fisicoquímicas del suelo.

No es posible estandarizar la producción de microorganismos de montaña para que siempre nos den el mismo resultado al aplicarse, sin embargo, es posible estandarizar las condiciones que se proveen al suelo y a la planta (por ejemplo, cantidades adecuadas de humedad, materia orgánica y nutrientes) para lograr que los microorganismos que se introducen al sistema, se desenvuelvan de la mejor manera para promover relaciones mutualistas benéficas para el desarrollo de las plantas. Sin embargo, no se debe tomar a la ligera el empleo de los biofertilizantes en la agricultura, ya que aún se desconoce mucho de las interacciones que puedan tener en el sistema. Además, siempre podemos optar por favorecer las condiciones del espacio que intervenimos con prácticas agrícolas sustentables (intercalando cultivos, incorporando materia orgánica y abonos verdes, barbechando, etc.), para que paulatinamente se restaure el equilibrio del ecosistema suelo.

Es importante llevar a cabo estudios prolongados en el tiempo sobre el uso de biofertilizantes como los microorganismos de montaña, principalmente porque los microorganismos pueden tardar en adaptarse a las condiciones del suelo al que se introducen y a los cultivos. Además, los microorganismos de montaña como biotecnología de fácil alcance, está dirigida a productores, por lo tanto, lo más adecuado es llevar a cabo los estudios pertinentes en una parcela en lugar de realizarlos bajo condiciones de invernadero. Aunado a lo anterior, antes de introducir microorganismos ajenos al suelo de la parcela, hay que tener claridad en la cantidad del inóculo que se va a utilizar, la frecuencia con la que se va a aplicar y no pensar en su uso como la solución a todos los problemas del suelo.

Se han llevado a cabo algunos estudios que hablan de abundantes beneficios para los cultivos al incorporar consorcios de microorganismos, sin embargo, es importante tomar en cuenta que difícilmente podemos atribuir todos los beneficios resultantes sólo a la actividad de esta microbiota aplicada. Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que es muy fácil cometer una serie de errores al utilizar biopreparados que pueden generar serias consecuencias en el suelo y en los cultivos. Es importante generar más conocimiento en torno al correcto uso y aplicación de los cultivos de microorganismos, de igual manera, visibilizar los riesgos y las consecuencias que pueden derivarse de su empleo excesivo.

Referencias

- Abbott, L. K., & Murphy, D. V. (2007). What is Soil Biological Fertility? En L. K. Abbott, & D. V. Murphy, *Soil Biological Fertility* (págs. 1-15). Dordrecht: Springer.
doi:https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6619-1_1
- Acosta Almánzar. (2012). *Microorganismos eficientes de montaña: evaluación de su potencial bajo manejo agroecológico de tomate en Costa Rica [Tesis de posgrado]*. Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.
- Adekiya, A. O., Ojeniyi, S. O., & Owonifari, O. E. (2016). Effect of cow dung on soil physical properties, growth and yield of maize (*Zea mays*) in a tropical Alfisol. *Scientia Agriculturae*, 374 - 379.
- Aguilar, R., Carreón-Abud, Y., López-Carmona, D., & Larsen, J. (2017). Organic fertilizers alter the composition of pathogens and arbuscular mycorrhizal fungi in maize roots. *Journal of Phytopathology*, 1-7. doi:<https://doi.org/10.1111/jph.12579>
- Aguilar-Ulloa, W., Arce-Acuña, P., Galiano-Murillo, F., & Torres-Cruz, T. J. (2016). Aislamiento de esporas y evaluación de métodos de inoculación en la producción de micorrizas en cultivos trampa. *Revista Tecnología en Marcha*, 29(3), 5-14.
doi:<https://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i7.2700>
- Altieri, M. (2009). La Agricultura Moderna: Impactos Ecológicos y la Posibilidad de una Verdadera Agricultura Sustentable. *Berkeley, Estados Unidos: Department of Environmental Science, Policy and Management. University of California, Berkeley*, 1-19.
- Altieri, M. A., & Nicholls, C. I. (2010). Agroecología: Potenciando la Agricultura Campesina para Revertir el Hambre y la Inseguridad Alimentaria en el Mundo. *Revista de Economía Crítica*, 62-74.
- Armenta-Bojórquez, A. D., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., Apodaca-Sánchez, M. Á., Gerardo-Montoya, L., & Nava-Pérez, E. (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai*, 6(1), 51-56.
- Bonadeo, E., Moreno, I., Bongiovanni, M., Marzari, R., & Ganum Gorriz, M. J. (2017). Nutrientes. En E. Bonadeo, I. Moreno, M. Bongiovanni, R. Marzari, & M. J. Ganum Gorriz, *Sistema suelo-planta* (págs. 223-241). Río Cuarto, Argentina: UniRío.
- Botha, A. (2006). Yeast in Soil. En C. Rosa, & Péter, (Eds.) , *Biodiversity an Ecophysiology of yeasts* (págs. 221-240). Berlín: Springer.
- Brady, N. C., & Weil, R. R. (2008). *The Nature and Properties of Soils* (14th ed. ed.). Pearson. Prentice Hall.
- Cano, M. A. (2011). INTERACCIÓN DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN PLANTAS: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. UNA REVISIÓN. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15-31.
- Casanova O., E., & Lobo L., D. (2007). Relación entre la física y la fertilidad de los suelos. *Venesuelos*, 42-56.

- Castro Barquero, L., Murillo Roos, M., Uribe Lorío, L., & Mata Chinchilla, R. (2015). INOCULACIÓN AL SUELO CON *Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum oryzae*, *Bacillus subtilis* Y MICROORGANISMOS DE MONTAÑA (MM) Y SU EFECTO SOBRE UN SISTEMA DE ROTACIÓN SOYA-TOMATE BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO. *Agronomía Costarricense*, 39(3), 21-36.
- Correa, O. S. (2013). Los microorganismos del suelo y su rol indiscutido en la nutrición vegetal. En M. Díaz-Zorita, O. Correa, M. V. Fernández Canigia, R. S. Lavado, & (ed), *Aportes de la microbiología a la producción de cultivos*. La Plata, Buenos Aires: Facultad de Agronomía.
- Cremona, M. V., & Enriquez, A. S. (2020). ALGUNAS PROPIEDADES DEL SUELO QUE CONDICIONAN SU COMPORTAMIENTO: El pH y la conductividad eléctrica. *Presencia*(73), 5-8.
- Crespo, G. (2013). Funciones de los organismos del suelo en el ecosistema de pastizal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 47(4), 329-334.
- Creus, C. M. (2017). Inoculantes microbianos: piezas de un rompecabezas que aún requiere ser ensamblado. *Revista Argentina Microbiología*, 207-209.
- Cueto González, O., Iglesias Coronel, C. E., & Herrera Suárez, M. (2009). Análisis de los factores que provocan compactación en el suelo agrícola. *Revista Ciencias Técnicas Afropesqueras*, 18(2), 57-63. Obtenido de <https://www.redalyc.org/html/932/93215937011/>
- De la Fuente, E. B., & Suárez, S. A. (2008). Problemas ambientales asociados a la actividad humana: la agricultura. *Ecología Austral*, 239-252. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Susana_Suarez4/publication/260769987_Problemas_a_mbianales_asociados_a_la_actividad_humana_la_agricultura/links/5894783ca6fdcc45530ec624/Problemas-ambientales-asociados-a-la-actividad-humana-la-agricultura.pdf
- Deras Flores, H. (2020). *Guía técnica: el cultivo de maíz*.
- Domínguez, J., Aira, M., & Gómez-Brandón, M. (2009). El papel de las lombrices de tierra en la descomposición de la materia orgánica y el ciclo de nutrientes. *Ecosistemas*, 18(2), 20-31.
- Durand, L. (septiembre de 2002). La relación ambiente-cultura en antropología: recuento y perspectivas. *Nueva Antropología*, XVIII(61), 169-184.
- Duwadi, A. (2020). Scoping the Potential of Microorganisms for Increasing the Productivity in Agricultural System: An Overview. *International Journal of Graduate Research and Review*, 6(4), 131-136.
- Gutierrez R., E., & Cáceres C., A. (2018). Correlación entre la conductividad eléctrica medida en el extracto de saturación del suelo y en extractos con cinco relaciones suelo-agua. *ALFA, Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias*, 2(6), 144-156.
- Hernández, A., Caballero, A., Pazos, M., Ramírez, R., & Heydrich, M. (2003). Identificación de algunos géneros microbianos asociados al cultivo del maíz (*Zea mays* L.) en diferentes suelos de Cuba. *Revista Colombiana de Biotecnología*, V(1), 45-55.
- Higa, T., & Parr, J. F. (1994). Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. *International Nature Farming Research Center*.

- Jardón Barbolla, L. (2018). La agroecología como conocimiento necesario para transformar la mutua determinación sociedad-naturaleza. *INTERdisciplina*, 6(14). doi:<http://dx.doi.org/10.22201/ceiich.24485705e.2018.14.63395>
- Juárez Sanz, M., Sánchez Sánchez, A., Jordá Guijarro, J. D., & Sánchez Andreu, J. J. (2004). *Diagnóstico del potencial nutritivo del suelo*. España: Universidad de Alicante.
- Kirkby, E., & Römheld, V. (2008). Micronutrientes en la fisiología de las plantas: funciones, absorción y movilidad. *Informaciones Agronómicas*(68), 1-6. Obtenido de [http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/3FA84D0333FEDEAA852579A0006BF733/\\$FILE/Micronutrientes%20en%201a%20Fisiolog%C3%ADa%20de%20las%20Plantas.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/3FA84D0333FEDEAA852579A0006BF733/$FILE/Micronutrientes%20en%201a%20Fisiolog%C3%ADa%20de%20las%20Plantas.pdf)
- La Manna, L., Buduba, C., Irisarri, J., Ferrari, J., & Cremona, M. V. (2011). Los nutrientes del suelo en la Región Andino Patagónica: una exploración a la interpretación de datos analíticos. *Patagonia Forestal*, 7-8.
- León Sicard, T. E. (2009). Agroecología: Desafíos de una Ciencia Ambiental en Construcción. *Agroecología*, 7-17.
- Li, K., DiLegee, M. J., Minas, I. S., Hamm, A., Manter, D., & Vivanco, J. (2019). Soil sterilization leads to re-colonization of a healthier rhizosphere microbiome. *Rhizosphere*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2019.100176>
- Lopes, M. A., Parentoni Sidney, N., & Magnavaca, R. (1988). *Adaptaciones morfológicas y fisiológicas en plantas de maíz sometidas a deficiencia de oxígeno en el suelo*. Quito: IICA: PROCIANDINO. Obtenido de <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/478768>
- Martínez Ramos, M. (2008). Grupos funcionales. En CONABIO, *Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad* (págs. 365-412). México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Mengel, K., & Kirkby, E. A. (2000). La Nutrición Vegetal. En K. Mengel, & E. A. Kirkby, *Principios de nutrición vegetal* (R. J. Melgar, Trad., 4ta. Edición ed., págs. 11-18). Basilea, Suiza: International Potash Institute.
- Mestre, M. C., Libkind, D., & Fontenla, S. (2009). Comparación de condiciones de cultivo para el aislamiento y recuento simultáneo de levaduras de suelos de bosques nativos de *Nothofagus* spp. (Fagaceae) de la Patagonia Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 44(3-4), 229-238. Obtenido de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-23722009000200001&lng=es&nrm=iso. ISSN 1851-2372
- Moldenke, A., Pajutee, M., & Ingham, E. (2000). The functional Roles of Forest Soil. Anthropods: The Soil Is a Lively Place. En U. F. Service, *Proceedings of the California Forest Soils Council Conference on Forest Soils Biology and Forest Management* (págs. 7-22). Sacramento, California.
- Montaño Arias, N. M., Sandoval Pérez, A. L., Camargo Ricalde, S. L., & Sánchez Yáñez, J. M. (2010). Los Microorganismos: Pequeños Gigantes. *Elementos: Ciencia y cultura*, 15-23.

- Morgan, J., Bending, G. D., & White, P. J. (2005). Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, *56*(417), 1729 - 1739. doi:doi:10.1093/jxb/eri205
- Morin, E. (1994). *Introducción al pensamiento complejo*. Barcelona: GEDISA.
- Murphy, J., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*(27), 31-36. doi:10.1016/s0003-2670(00)88444-5
- Neethu, T. M., Dubey, P. K., Kaswala, A. R., & Patel, K. G. (2019). Cow Dung as a Bioremediation Agent to Petroleum Hydrocarbon Contaminated Agricultural Soils. *Current Journal of Applied Science and Technology*, *38*(6), 1-9. doi:DOI: 10.9734/CJAST/2019/v38i630437
- Neuhauser, C., & Fargione, J. E. (2004). A mutualism–parasitism continuum model and its application to plant–mycorrhizae interactions. *Ecological Modelling*, *177*(3-4), 337-352. doi:doi:10.1016/j.ecolmodel.2004.02.010
- Njoku, K. L., Akinola, M. O., & Oboh, B. O. (2012). Phytoremediation of crude oil polluted soil: effect of cow dung augmentation on the remediation of crude oil polluted soil by *Glycine max*. *Journal of Applied Sciences Research*, *8*(1), 277 - 282.
- Olalde Portugal, V., & Aguilera Gómez, L. I. (1998). Microorganismos y biodiversidad. *Terra Latinoamericana*, *16*(3), 289-292.
- Osorio, N. (2012). pH del suelo y disponibilidad de nutrientes. *Manejo Integral del Suelo y Nutrición Vegetal*, *1*(4), 1-4.
- Pardos, J. A. (2004). Respuestas de las plantas al anegamiento del suelo. *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales*, *13*(Extra 1), 101-107.
- Pedraza, R., Teixeira, K., Fernández Scavino, A., García de Salamone, I., Baca, B., Azcón, R., . . . Bonilla, R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revisión. *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agorpecuaria*, *11*(2), 155-164.
- Pierzynski, G. M., Sims, J. T., & Vance, G. F. (2005). *Soils and environmental quality*. Taylor & Francis Group.
- Plaster, E. J. (2000). *La Ciencia del Suelo y su Manejo*. España: Thomson.
- Ramage, C. M., & Williams, R. R. (2002). Mineral Nutrition and Plant Morphogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, *38*(2), 116-124. Obtenido de http://priede.bf.lu.lv/grozs/AuguFiziologijas/Augu_audu_kulturas_MAG/literatura/03_MINERAL%20NUTRITION%20AND%20PLANT%20MORPHOGENESIS%202002.pdf
- Ravnskov, S., Larsen, J., Olsson, P. A., & Jakobsen, I. (1999). Effects of various organic compounds on growth and phosphorus uptake of an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytol*, *141*, 517-524. Obtenido de <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1469-8137.1999.00353.x>

- Sanclemente Reyes, Ó. E., García Arboleda, M., & Valencia Trujillo, F. L. (2011). Efecto del uso de melaza y microorganismo eficientes sobre la tasa de descomposición de la hoja de caña (*Saccharum officinarum*). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13-19.
- Sasser, M. (2006). Bacterial Identification by Gas Chromatographic Analysis of Fatty Acid Methyl Esters (GC-FAME). *Technical Note #101. MIDI*. Obtenido de http://midi-inc.com/pdf/MIS_Technote_101.pdf
- Sathya, A., Vijayabharathi, R., & Gopalakrishnan, S. (2016). Soil Microbes: The Invisible Managers of Soil Fertility. En D. P. Singh, H. B. Singh, R. Prabha, & (Eds.), *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity* (págs. 1-16). Springer India. doi:10.1007/978-81-322-2644-4
- Singh, S., Singh, V., & Pal, K. (2017). Importance of Microorganisms in Agriculture. *Climate and Environmental changes: Impact, Challenges and Solutions*, 93-117.
- Soriano Soto, M. (2018). Conductividad eléctrica del suelo. *Universitat Politècnica de València*.
- Sotelo D., L. I., Jiménez F., J. A., Tarsicio de Zan, A., & Cueto V., M. C. (2012). Efecto de Inoculación de Microorganismos en Crecimiento de Rábano. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(1), 21-31.
- Swift, M. J., Bignell, D. E., Moreira, F. M., & Huising, E. J. (2012). El inventario de la biodiversidad biológica del suelo: conceptos y guía general. En F. M. Moreira, E. J. Huising, D. E. Bignell, & [eds.], *Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo* (págs. 29-52). México: Instituto Nacional de Ecología.
- Thompson, L. M., & Troeh, F. R. (1988). *Los suelos y su fertilidad*. Reverté.
- Toro Castaño, D. R. (2004). La biodiversidad microbiana del suelo, un mundo por descubrir. *Revista Luna Azul*, 1-8.
- Umaña, S., Rodríguez, K., & Rojas, C. (2017). Do Mountain Microorganisms (MM) Really Work as a Biofertilization Strategy? A Biosystems Engineering Approach. *Revista de Ciencias Ambientales (Tropical Journal of Environmental Sciences)*, 133-144.
- Villareal-Núñez, J. E., Name-Tuñón, B., & García-Espino, R. A. (2012). Monitoreo de cambios en la fertilidad desuelos por medio de análisis de laboratorio. *Agronomía Mesoamericana*, 301-309. Obtenido de <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/6493/6192>
- Viteri, S. E., Granados, M., & González, A. R. (2008). Potencial de los caldos rizósfera y súper cuatro como biofertilizantes para la sostenibilidad del cultivo de cebolla de bulbo (*Allium cepa*). *Agronomía Colombiana*, 26(3), 517-524.
- Yurkov, A., Wehde, T., Federici, J., Schäfer, A., Ebinghaus, M., Lotze-Engelhard, S., . . . Begerow, D. (2016). Yeast diversity and species recovery rates from beech forest soils. *Mycol Progress*, 845-859. doi:DOI 10.1007/s11557-016-1206-8
- Zerbino, S., & Altier, N. (2008). La biodiversidad del suelo: su importancia para el funcionamiento de los ecosistemas. *Suplemento tecnológico*, 23-25.

- Zhang, G. Y., Zhang, L. P., Wei, M. F., Lui, Z., Fan, Q. L., Shen, Q. R., & Xu, G. H. (2011). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi, organic fertilizer and soil sterilization on maize growth. *Acta Ecológica Sinica*, 31, 192 - 196. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2011.04.005>
- Zinck, A. (2005). Suelos, información y sociedad. *Gaceta Ecológica*, 7-22.

Anexos

Anexo 1

Análisis completos del suelo extraído de Santiago Undameo, utilizado para el experimento



**Laboratorio Nacional de Fertilidad de Suelos
Y Nutrición Vegetal
(Campo Experimental Bajo)**

ANÁLISIS DE SUELO

INFORMACION GENERAL															
No. Registro	: SU-9309	Municipio	: Morelia	Cultivo Agr.	: Maíz										
Fecha de Recepción:	15/06/2017	Estado	: Michoacán de Ocampo	Cultivo a Sem.	: Avena										
Fecha de Entrega	: 22/06/2017	Lote	: 1	Tipo de Análisis	: Completo										
Propietario	: Laboratorio de Agroecología UNAM.	Prof. de Muestra:	25 cm												
Rancho	: Santiago Undameo 1	Cliente	: IIES												
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL SUELO							REACCIÓN DEL SUELO								
Arena:	57.48 %	Arcilla:	25.28 %	Limo:	17.24 %	pH (1:2 agua)	5.73	Mod. Acido							
Tipo de Suelo	:	Franco Arcillo Areno				pH (1:2 CaCl ₂)	N.D								
Punto de Saturación	:	54.00 %		Alto		Carbonatos Totales(%)	0.09	Bajo							
Capacidad de Campo:	40.50 %						Requerimientos de Cal	No Req	Ion ha ⁻¹						
Punto March. Perm.	21.30						Requerimientos de Yeso	No Req	Ion ha ⁻¹						
Cond. Hidráulica	: N.D	cm/hg													
Densidad Aparente	: 0.99	g/cm													
FERTILIDAD															
Determinación	MO	N-Inorg	P-Bay	K	Ca	Mg	Na*	Fe	Zn	Mn	Cu	B	P-Olsen		
Unidades	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	N.D	N.D		
Resultados	2.06	46.14	2.82	252.217	1,433.99	309.55	29.93	71.24	0.79	110.37	1.61				
EXTRACTO DE SATURACION (SALINIDAD - SODICIDAD)						RELACION DE BASES DE CAMBIO									
CEc	0.46	dS/m	RAS	0.56	Muy Alto										
pHe	7.19	FSI	6.96	Alto											
Cationes (meq/l)			Aniones (meq/l)			Mod. Alto									
Ca ⁺⁺	1.89	CO ₃	0.12	Mediano											
Mg ⁺⁺	1.53	HCO ₃	0.40	Mod. Bajo											
Na ⁺	0.73	Cl ⁻	1.08	Bajo											
K ⁺	0.43	SO ₄	2.97	Muy Bajo											
PO ₄	N.D	N-NO ₃	N.D	Grado de											
						Sales		RAS							
						Muy Alto									
						Alto									
						Mediano									
						Bajo									
						Muy Bajo									
						Relación	Ca/Mg	Mg/K	Ca+Mg/K	Ca/K					
						Resultado	2.83	3.93	15.05	11.12					
						Rango Medio	2 - 6	2 - 3	20 - 30	10 - 15					
PORCENTAJE ACTUAL Y SUGERIDO DE LAS BASES DE CAMBIO															
		H ⁺		Al ⁺⁺⁺		Ca ⁺⁺		Mg ⁺⁺		K ⁺		Na ⁺		CIC	
Resultado	meq/100 gr					7.170		2.540		0.650		0.130		10.49	
	% Actual					68.40		24.21		6.15		1.24			
Sugerido	% Sugerido	N.D		N.D		65 - 75		10 - 20		3 - 7		0 - 5			
COMENTARIOS							ATENAMENTE								
Los requerimientos de cal agrícola se calculan a partir del valor de pHe obtenido en el extracto de saturación.							<p style="text-align: center;">DR. AURELIO BÁEZ PÉREZ ENCARGADO(A) DEL LABORATORIO</p>								

Anexo 2

Figuras del crecimiento de cada tratamiento antes de ser cosechado

Figura 12

Plantas de maíz de los tratamientos con aplicación de MM antes de la cosecha. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.



Nota: En la figura se aprecian las plantas de maíz con aplicación de MM. Se puede observar que tuvieron muy poco desarrollo a lo largo de las seis semanas que duró del periodo experimental antes de la cosecha. De izquierda a derecha se encuentran los siguientes tratamientos: a) suelo no estéril, con microorganismos de montaña, sin fertilización; b) suelo no estéril, con microorganismos de montaña, con FM; c) suelo no estéril, con microorganismos de montaña, con estiércol de vaca; d) suelo estéril, con microorganismos de montaña, sin fertilizante; e) suelo estéril, con microorganismos de montaña, con FM y; f) suelo estéril, con microorganismos de montaña, con estiércol de vaca. Dentro de los tratamientos señalados como a, b y d, hubo plantas que murieron en algún momento del experimento, lo cual sólo sucedió con los tratamientos que contenían MM.

Figura 13

Plantas de maíz de los tratamientos con aplicación de MP antes de la cosecha. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.



Nota: En la imagen se aprecian las plantas de maíz con aplicación de microorganismos de parcela. En comparación al tratamiento con aplicación de microorganismos de montaña, las plantas están visiblemente más grandes y no hubo ninguna unidad experimental que muriera. De izquierda a derecha se encuentran los siguientes tratamientos: a) suelo no estéril, con microorganismos de parcela, sin fertilización; b) suelo no estéril, con microorganismos de parcela, con FM; c) suelo no estéril, con microorganismos de parcela, con estiércol de vaca; d) suelo estéril, con microorganismos de parcela, sin fertilizante; e) suelo estéril, con microorganismos de parcela, con FM y; f) suelo estéril, con microorganismos de parcela, con estiércol de vaca.

Figura 14

Plantas de maíz de los tratamientos sin aplicación de microorganismos antes de la cosecha. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.



Nota: En esta fotografía podemos apreciar las diferencias marcadas entre los tratamientos sin fertilización con suelo no estéril (1ra columna) y aquellos con suelo estéril (4ta columna). Además, es evidente la diferencia de tamaños entre estos tratamientos y los que contenían MM y MP. De izquierda a derecha se encuentran los siguientes tratamientos: a) suelo no estéril, sin microorganismos, sin fertilización; b) suelo no estéril, sin microorganismos, con FM; c) suelo no estéril, sin microorganismos, con estiércol de vaca; d) suelo estéril, sin microorganismos, sin fertilizante; e) suelo estéril, sin microorganismos, con FM y; f) suelo estéril, sin microorganismos, con estiércol de vaca.

Figura 15

Plantas de maíz de los tratamientos antes de la cosecha. Para más detalles sobre el diseño y las condiciones experimentales, consultar la sección de materiales y métodos.



Anexo 3

Método utilizado para la extracción de ácidos grasos de MM y MP

Se realizó la toma de dos muestras por cada cultivo de microorganismos (MM y MP) en su fase líquida, en tubos Falcon de 50 ml. Con cada muestra se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Cada tubo se llevó a la centrífuga durante 15 minutos a 3,000 RPM.
2. Al terminar de centrifugarlos se retiró el sobrenadante para dejar solamente el pellet o asiento.
3. A cada pellet se le agregó agua desionizada hasta llegar a la línea de los 50ml para después agitarlo con el Vortex.

Los pasos 1. y 2. se repitieron en tres ocasiones y el paso 3. se realizó dos veces. La toma de muestras se llevó a cabo cada semana momentos antes de efectuar el riego en los tratamientos. En total se recabaron veinte muestras; diez muestras por cultivo de microorganismos. Todas las muestras se mantuvieron en congelación hasta que se pudieron procesar todas.

Finalmente, se llevó a cabo el procedimiento descrito por Sasser (2006), con las mismas modificaciones que se realizaron para obtener los ácidos grasos del suelo.