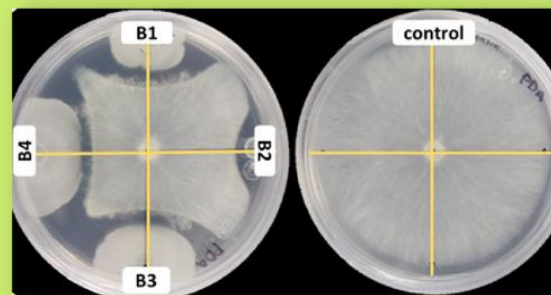


Investigaciones Biológicas, Agrícolas y Ambientales de México



Leandris Argente Martínez
Ofelda Peñuelas Rubio
Organizadores



Leandris Argente! Martínez
Ofelda Peñuelas Rubio
Organizadores

Investigaciones Biológicas, Agrícolas y Ambientales de México



Pantanal Editora

2022

Copyright© Pantanal Editora

Editor Chefe: Prof. Dr. Alan Mario Zuffo

Editores Executivos: Prof. Dr. Jorge González Aguilera e Prof. Dr. Bruno Rodrigues de Oliveira

Diagramação: A editora. **Diagramação e Arte:** A editora. **Imagens de capa e contracapa:** Canva.com. **Revisão:** O(s) autor(es), organizador(es) e a editora.

Conselho Editorial

Grau acadêmico e Nome

Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos
Prof. MSc. Adriana Flávia Neu
Prof. Dra. Albys Ferrer Dubois
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior
Prof. MSc. Aris Verdecia Peña
Prof. Arisleidis Chapman Verdecia
Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva
Prof. Dr. Bruno Gomes de Araújo
Prof. Dr. Caio Cesar Enside de Abreu
Prof. Dr. Carlos Nick
Prof. Dr. Claudio Silveira Maia
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos
Prof. Dr. Cristiano Pereira da Silva
Prof. Ma. Dayse Rodrigues dos Santos
Prof. MSc. David Chacon Alvarez
Prof. Dr. Denis Silva Nogueira
Prof. Dra. Denise Silva Nogueira
Prof. Dra. Dennyura Oliveira Galvão
Prof. Dr. Elias Rocha Gonçalves
Prof. Me. Ernane Rosa Martins
Prof. Dr. Fábio Steiner
Prof. Dr. Fabiano dos Santos Souza
Prof. Dr. Gabriel Andres Tafur Gomez
Prof. Dr. Hebert Hernán Soto Gonzáles
Prof. Dr. Hudson do Vale de Oliveira
Prof. MSc. Javier Revilla Armesto
Prof. MSc. João Camilo Sevilla
Prof. Dr. José Luis Soto Gonzales
Prof. Dr. Julio Cezar Uzinski
Prof. MSc. Lucas R. Oliveira
Prof. Dra. Keyla Christina Almeida Portela
Prof. Dr. Leandris ArgenteL-Martínez
Prof. MSc. Lidiene Jaqueline de Souza Costa Marchesan
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann
Prof. MSc. Marcos Pisarski Júnior
Prof. Dr. Marcos Pereira dos Santos
Prof. Dr. Mario Rodrigo Esparza Mantilla
Prof. MSc. Mary Jose Almeida Pereira
Prof. MSc. Núbia Flávia Oliveira Mendes
Prof. MSc. Nila Luciana Vilhena Madureira
Prof. Dra. Patrícia Maurer
Prof. Dra. Queila Pahim da Silva
Prof. Dr. Rafael Chapman Auty
Prof. Dr. Rafael Felipe Ratke
Prof. Dr. Raphael Reis da Silva
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes
Prof. Dr. Ricardo Alves de Araújo (*In Memoriam*)
Prof. Dra. Sylvana Karla da Silva de Lemos Santos
MSc. Tayronne de Almeida Rodrigues
Prof. Dr. Wéverson Lima Fonseca
Prof. MSc. Wesclen Vilar Nogueira
Prof. Dra. Yilan Fung Boix
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme

Instituição

OAB/PB
Mun. Faxinal Soturno e Tupanciretã
UO (Cuba)
IF SUDESTE MG
Facultad de Medicina (Cuba)
ISCM (Cuba)
UFESSPA
UEA
UNEMAT
UFV
AJES
UFGD
UEMS
IFPA
UNICENTRO
IFMT
UFMG
URCA
ISEPAM-FAETEC
IFG
UEMS
UFF
(Colômbia)
UNAM (Peru)
IFRR
UCG (México)
Mun. Rio de Janeiro
UNMSM (Peru)
UFMT
Mun. de Chap. do Sul
IFPR
Tec-NM / ITVY (México)
Consultório em Santa Maria
UFJF
UEG
FAQ
UNAM (Peru)
SEDUC/PA
IFB
IFPA
UNIPAMPA
IFB
UO (Cuba)
UFMS
UFPI
UFG
UEMA
IFB
UFPI
FURG
UO (Cuba)
UFT

Conselho Técnico Científico
- Esp. Joacir Mário Zuffo Júnior
- Esp. Maurício Amormino Júnior
- Lda. Rosalina Eufrausino Lustosa Zuffo

Ficha Catalográfica

**Datos Internacionales de Catalogación en la Publicación
(eDOC BRASIL)**

I62 Investigaciones biológicas, agrícolas y ambientales de México / Organizadores
Leandris Argente Martínez, Ofelda Peñuelas Rubio. – Nova Xavantina,
MT: Pantanal, 2022.
131 p. : il.

Formato: PDF
Requisitos del sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acceso: World Wide Web
ISBN 978-65-81460-59-4
DOI <https://doi.org/10.46420/9786581460594>

1. Agricultura – México. 2. Sostenibilidad. 3. Medio ambiente. I.
Argente Martínez, Leandris. II. Peñuelas Rubio, Ofelda.

CDD 630

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422



Nossos e-books são de acesso público e gratuito e seu download e compartilhamento são permitidos, mas solicitamos que sejam dados os devidos créditos à Pantanal Editora e também aos organizadores e autores. Entretanto, não é permitida a utilização dos e-books para fins comerciais, exceto com autorização expressa dos autores com a concordância da Pantanal Editora.

Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000.
Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil.
Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp).
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br

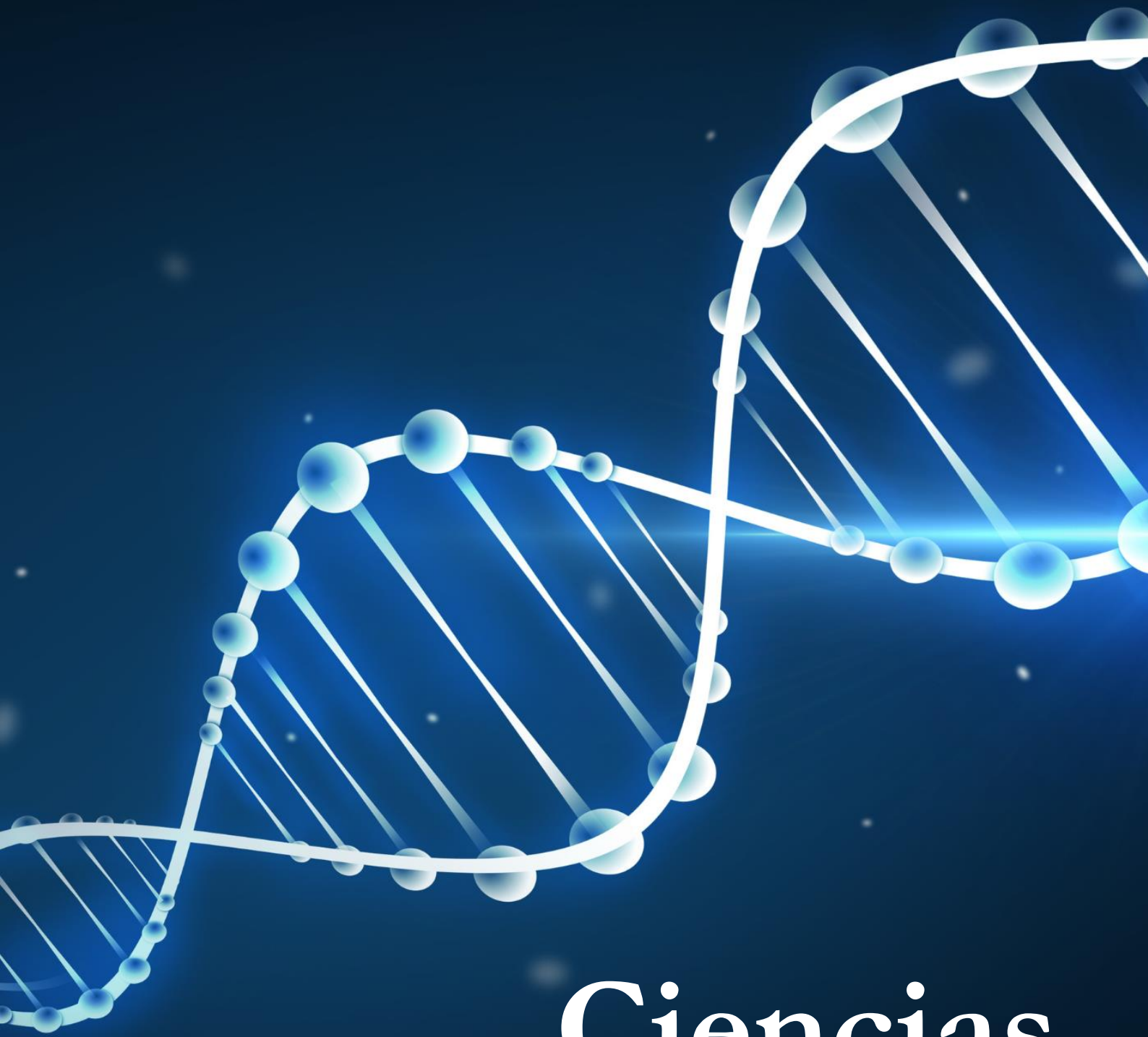
Prólogo

Investigaciones Biológicas, Agrícolas y Ambientales de México es un libro electrónico científico, basado en estudios experimentales desarrollados por un colectivo de prestigiosos investigadores de México y de otros países que, en colaboración, aportan respuestas a problemáticas existentes en dichas ramas del saber. Estos trabajos aparecen divididos en capítulos donde se ofrece información actualizada sobre los avances más recientes en dichas áreas, con un estilo de artículo científico y con referencias bibliográficas de gran nivel de actualización científica.

El proceso de revisión de los capítulos fue desarrollado, bajo la modalidad a doble ciegas, por varios investigadores que participan en el comité editorial de PANTANAL EDITORA. Se agradece a los autores de los respectivos capítulos por la dedicación al atender las sugerencias y comentarios realizados por los revisores, optimizando el tiempo de los procesos de revisión y aceptación.

Los autores

Sumario	
Prólogo	4
Ciencias Biológicas	6
Capítulo 1	7
Estructura del manglar y parámetros físico-químicos del sedimento en tres lagunas costeras del Golfo de California	7
Capítulo 2	22
Aislamiento y caracterización morfológica de <i>Fusarium oxysporum</i> asociado al tomate en el Valle del Yaqui, Sonora	22
Capítulo 3	33
Enhancing the yield of spores of <i>Bacillus cereus sensu lato</i> strain B25 by evaluating culture media	33
Capítulo 4	45
Cultivo de camarón blanco del Pacífico (<i>Penaeus vannamei</i>) a baja salinidad en agua de mar artificial	45
Ciencias Agrícolas	55
Capítulo 5	56
Caracterización morfológica y perfil patogénico de aislados fúngicos provenientes de la rizósfera de sandía (<i>Citrullus lanatus</i> Thunb.) en el sur de Sonora	56
Capítulo 6	65
Crecimiento y producción de tomate en respuesta a dos sustratos y niveles de solución nutritiva	65
Capítulo 7	76
Isolation and characterization of endophytic bacteria from maize and giant reed with biotechnological and biocontrol potential against <i>Rhizoctonia zeae</i>	76
Ciencias Ambientales	93
Capítulo 8	94
Use of nitrogen fertilizers in the Yaqui Valley: a compilation of three decades of knowledge	94
Capítulo 9	108
Are there atmospheric conditions for water loss at night in wheat canopies in the Yaqui Valley, Sonora, Mexico?	108
Capítulo 10	122
Estimación del carbono en la biomasa aérea del mezquite (<i>Prosopis</i> spp.) en la comunidad de Charay, El Fuerte, Sinaloa	122
Índice	130
Sobre los organizadores	131




Ciencias Biológicas


Estructura del manglar y parámetros físico-químicos del sedimento en tres lagunas costeras del Golfo de California


Recibida em: 07/09/2022


Aprobado em: 09/09/2022

 10.46420/9786581460594cap1

Jony R. Torres^{1*} 

Leyva-García Germán² 

Peñuelas-Rubio Ofelda¹ 

Argentel-Martínez Leandris¹ 

Cárdenas-Sánchez Prisma¹ 

RESUMEN

Los ecosistemas de manglar se ubican en el margen tierra-mar con áreas que se han reducido en gran medida debido a las actividades del hombre. Los manglares que crecen en climas áridos (Noroeste de México) experimentan bajas precipitaciones y altas temperaturas (media anual generalmente $> 18\text{ }^{\circ}\text{C}$) con grandes fluctuaciones diarias, alta radiación solar y altas tasas de evaporación. El análisis de la estructura forestal a escala local, requiere una intensiva colecta de datos en campo, con información importante acerca de los rasgos ecológicos de la comunidad. Los suelos de manglar son pantanosos, saturados de humedad la mayor parte del año, ligeramente ácidos y con altos contenidos de materia orgánica en diversos estados de descomposición; en general, hay preponderancia de fracciones superficiales finas (arcillas y limos). En el presente trabajo se evaluaron los atributos estructurales y la variación de los parámetros físicos químicos del sedimento en el ecosistema de manglar en tres lagunas costeras del Golfo de California. En seis sitios se midió la estructura y se tomaron muestras de sedimento para determinar pH, materia orgánica, textura, densidad aparente y contenido de humedad, en marzo del 2022. Los resultados mostraron que el desarrollo estructural del manglar en los sitios de estudio, fue bajo, característico de zonas áridas (4.3 m de altura de los árboles y 9.2 cm de diámetro a altura del pecho, clasificando como manglar chaparro), con alto contenido de arena (54%) y densidad aparente (6.5 g cm^{-3}), por consecuencia se registró un bajo contenido de materia orgánica (6.3 %) y humedad en el sedimento (32%), así también, las variables físico-químicas del sedimento de manglar registraron una relación directa significativa, que se afectan tanto en correlación positiva como negativa, estas relaciones nos muestran que las variaciones pueden ser espaciales, y se recomienda ampliar el estudio para analizar temporalmente (meses) el ecosistema.

¹ Tecnológico Nacional de México/I. T. del Valle del Yaqui. Av. Tecnológico, Block 611, Bácum, Sonora. México.

² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Unidad Guaymas. Carretera al Varadero Nacional km 6.6, Colonia Las Playitas, Guaymas, Sonora CP 85480, México

* Autor correspondiente: jtorres.velazquez@itvy.edu.mx

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas de manglar se ubican en el margen tierra-mar con áreas que se han reducido en gran medida debido a las actividades del hombre (Diop, 1993; Lacerda, 1993). El ecosistema funciona a partir de los subsidios de materia (nutrientes, sedimentos, materia orgánica, agua dulce y salobre) y energía recibida (luz, temperatura, oleaje, mareas y huracanes), estos elementos permiten al aparato fotosintético producir cierta cantidad de biomasa que se expresa en términos de materia orgánica (productividad primaria); la cual es variable debido a diferentes factores como latitud, estacionalidad, tipo de suelo, microtopografía, geomorfología y precipitación (Orihuela-Belmonte et al., 2004; Torres et al., 2018). Los manglares de México han sido materia de investigación por más de 30 años, con estudios realizados en su mayoría por especialistas de varias disciplinas en ecosistemas costeros, donde realizan, en algunos casos, proyectos a largo plazo que le han dado continuidad al estudio y conocimiento de los manglares en los litorales del Océano Pacífico, Golfo de México y Mar Caribe (CONABIO, 2013).

Los manglares que crecen en climas áridos (como en el noroeste de México) están expuestos a bajas precipitaciones y altas temperaturas (media anual generalmente $> 18\text{ }^{\circ}\text{C}$) con grandes fluctuaciones diarias, alta radiación solar y altas tasas de evaporación (Adame et al., 2020). Estos generalmente, se presentan como rodales aislados de franja, tipo matorral y de escasa cobertura (Rollet, 1974; Mendoza et al., 1984). Debido a la falta de ríos permanentes y la hiper-salinidad de muchos estuarios, los manglares crecen en condiciones subóptimas, evidenciadas por alturas menores y una estructura y extensión menos desarrolladas (Flores-Verdugo et al., 1992; Whitmore et al., 2005).

La deposición de sedimentos de fuentes terrestres está restringida a eventos esporádicos, como tormentas tropicales, que proporcionan agua dulce y grandes cargas de sedimentos durante días o semanas continuas. Para los manglares en climas áridos, las tormentas tropicales pueden aliviar significativamente la hipersalinidad, la fuerte limitación de nutrientes y aumentar temporalmente su baja productividad (Lovelock et al., 2011). Debido a su baja productividad y baja acumulación de sedimentos, los manglares en regiones áridas tienden a tener reservas de carbono orgánico del suelo relativamente bajas y un bajo potencial de secuestro; sin embargo, a nivel mundial almacenan 12,3 millones de MgC (Adame et al., 2020).

El análisis de la estructura forestal a escala local, requiere una intensiva colecta de datos en campo, con información importante acerca de los rasgos ecológicos de la comunidad (Romero, 2012). La estructura de la planta de mangle influye directamente en las condiciones y el funcionamiento de los bosques de manglar, y su alteración puede influir en la distribución y abundancia de la fauna (Cavalcanti et al., 2009). Por lo tanto, su caracterización constituye una herramienta importante en la comprensión de cómo este ecosistema responde a las condiciones ambientales existentes (Souza y Sampaio, 2001). La caracterización estructural de los bosques de manglar se refiere a la diversidad de especies, altura, diámetro, área basal y densidad de árboles, así como la distribución de especies en patrones espaciales (Smith, 1992).

Los suelos de manglar son pantanosos, saturados de humedad la mayor parte del año, ligeramente ácidos y con altos contenidos de materia orgánica en diversos estados de descomposición; en general, hay preponderancia de fracciones superficiales finas (arcillas y limos) (Mendoza, 2010). Castillo-Domínguez et al. (2011), mencionan que en los humedales la variabilidad de los parámetros físico-químicos está relacionada principalmente por las condiciones hidrológicas determinadas por la temporalidad, es decir, lluvias y secas. Las condiciones que propician el hidropériodo pueden modificar directamente las características físico-químicas del sedimento: la temperatura, el pH, la disponibilidad de nutrientes y los tiempos hidráulicos de retención (Cupil-Díaz, 2015). Por lo tanto, los suelos mejor drenados, la menor salinidad y el aporte de nutrientes son factores asociados con mayor productividad (Day et al., 1987). El objetivo de la presente investigación fue caracterizar la estructura del manglar y la variación físico-química del sedimento en tres lagunas costeras (Tóbari-Agiabampo-Lobos) del Sureste del Golfo de California, México. En el presente trabajo se tiene como hipótesis que, por considerarse una zona de estudio de zonas áridas del noroeste de México, (i) los contenidos de materia orgánica serán bajos, con altos porcentajes de arena y alta densidad aparente, en comparación con las condiciones que presenta el sedimento del ecosistema de manglar en regiones templadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se desarrolló en tres lagunas estuarinas en la costa sureste del Golfo de California; Tóbari (TO), Agiabampo (AG) y Lobos (LO) (Figura 1), con presencia de mangle blanco (*Laguncularia racemosa* [L.] Gaertn), negro (*Avicennia germinans* [L.] Stearn) y rojo (*Rhizophora mangle* [L.]) (Pennington y Sarukhán, 2005), consideradas bajo amenaza en la norma 059 SEMARNAT (2010).

La Bahía del Tóbari tiene una superficie de manglar aproximada a 255 hectáreas (Rodríguez-Zuñiga et al., 2013). Este sitio tiene circulación del agua influenciada principalmente por las olas y el viento (Beman y Francis, 2006). Debido en parte a las depresiones relativamente poco profundas de 1.5 m en el interior y de 4-8 m en las bocas del estuario (Beman, 2014). Cuenta con una boca al norte y al sur de la bahía con clima árido-cálido según la clasificación de Köppen-Geiger (Kottek et al., 2006) (Figura 1).

Navopatia se encuentra al sur del Estado Mexicano de Sonora (Figura 1), la zona se caracteriza por la presencia de dos especies dominantes de manglares *Rhizophora mangle* L. (mangle rojo) y *Avicennia germinans* (L.) Stearn (Flores-Verdugo et al., 1990), enraizadas sobre sedimentos salinos-limosos-arcillosos (Ayala-Castañares et al., 1990). La altura promedio de los manglares en la región es de 5 m y su estructura está muy influenciada por la alta evaporación ($\sim 2,900 \text{ mm año}^{-1}$), lluvias escasas ($\sim 300 \text{ mm año}^{-1}$), períodos de máxima inundación por mareas (durante el verano) (Granados-Martínez et al., 2021).

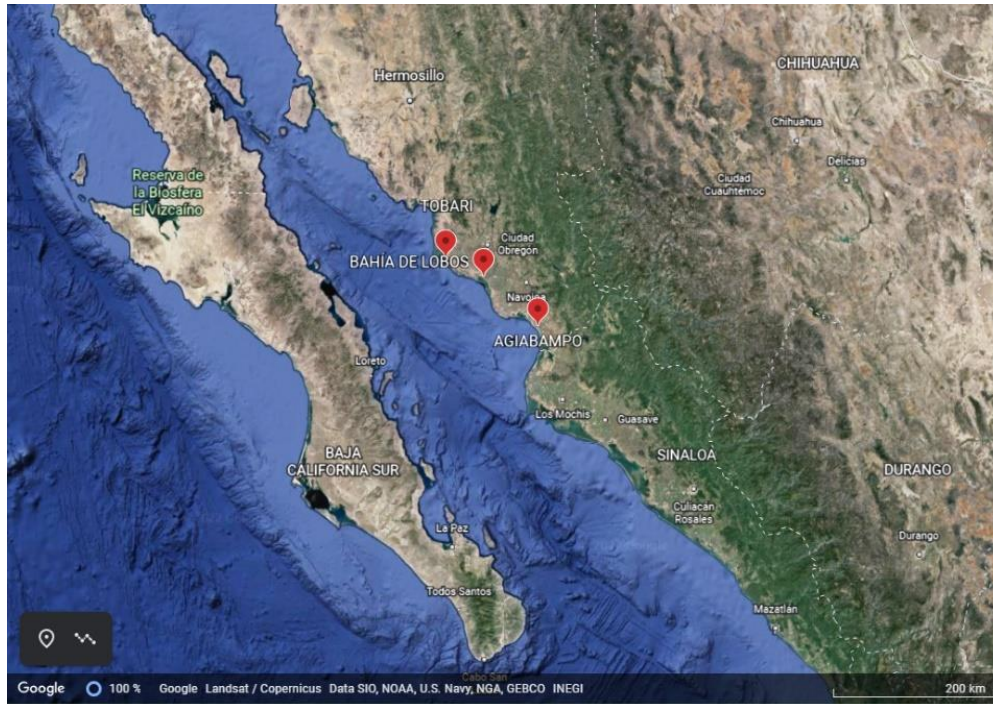


Figura 1. Sitios experimentales del Tóbari, Bahía de Lobos y Agiabampo, en el Estado de Sonora, México. Imagen tomada de Google Earth, 07 de septiembre de 2022.

Bahía de Lobos está ubicada en $27^{\circ}11'02.131''$ N– $110^{\circ}40'31.384''$ W y $27^{\circ}55'17.173''$ N– $110^{\circ}17'50.405''$ W en la costa noreste del Golfo de California (Alcantara-Razo et al., 2019) (Figura 1). El clima regional es muy seco y cálido, BW (h' hw), con precipitación anual inferior a 300 mm, temperatura media anual de 24°C y temperatura máxima anual entre 30°C y 40°C (RAMSAR, 2007). El 98 % del área de manglar se encuentra dentro del sitio Ramsar (número 1970), caracterizado por las cuatro principales especies de manglar reportadas para México: *Rhizophora mangle* (L.) (Rm), *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn (Lr), *Avicennia germinans* (L.) Stearn (Ag), y *Conocarpus erectus* (L.) (Ce), las cuales actualmente se encuentran catalogadas como amenazadas (SEMARNAT, 2010).

En cada laguna se establecieron 2 sitios en hábitat de manglar (6 sitios en total) con dos unidades de monitoreo (UM) en cada sitio (12 UM en total) en áreas similares, de 10 x 10 m con una separación de 50 m, a una distancia de 20 m perpendicular a la línea de costa. La toma de muestras se realizó durante el mes de marzo del 2022.

Estructura forestal del manglar

En cada sitio, conforme a los estudios previos desarrollados por Valdez (2002) se tomaron dos unidades de muestreo (UM) de 10 x 10 m por cada sitio, con separación de 50 m al centro, a una distancia de 20 m y paralelos a la línea de costa. En las UM se registró para cada especie la abundancia de árboles adultos con un diámetro a la altura del pecho (DAP) ≥ 2.5 cm. Se midió la circunferencia de cada árbol con cinta métrica y se dividió entre el valor de π (3.14) para obtener el diámetro. Así como altura, largo y

ancho de copa del 20 % de los árboles adultos, para determinar cobertura. La densidad y área basal se estimaron de acuerdo a la metodología desarrollada por Moreno-Casasola y Warner (2009).

Físico-químicos en sedimento

Se colectaron, mensualmente, tres muestras de sedimento en cada UM en los primeros 20 cm de suelo (para un total de 36 muestras), por medio de un nucleador (0.0033 m^2) para determinar textura de acuerdo al método de Bouyucos (Klute, 1986). El pH se determinó por electrometría en proporciones 1:2 con agua y el contenido de materia orgánica por ignición de acuerdo a Heiri et al. (2001). Además, se colectaron dos muestras de sedimento con volumen conocido en cada UM (36 muestras) para determinar la densidad aparente y el contenido de humedad del suelo de acuerdo con Moreno-Casasola y Warner (2009), el contenido de humedad del suelo es el porcentaje de agua que es capaz de almacenar un gramo de suelo, si el valor fuera del 100% significaría que 1 g de suelo almacena 1 g de agua (Infante, 2011).

Análisis estadístico

Los grupos de datos fueron analizados por medio del test de normalidad Kolmogorov-Smirnov y homogeneidad de varianzas de Levene. Para identificar diferencias significativas con un nivel de significancia al 5%, se desarrolló un análisis de varianza de calificación simple (ANOVA) utilizando la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey (Steel y Torrie, 1996). Además, se determinó la correlación de Pearson (r) para explicar las relaciones entre las diferentes variables físico-químicas del agua y del sedimento del manglar. Se utilizó el software IBM SPSS *Statistics* 20 para el procesamiento de datos.

RESULTADOS

En la región de estudio se encontraron las cuatro especies de manglar (*R. mangle*, *A. germinans*, *L. racemosa* y *C. erectus*), donde la especie con mayor densidad fue *A. germinans* en todos los sitios. En relación a la altura, se registraron diferencias significativas ($F=12.6$; $p=0.015$; $N=78$), donde el manglar presentó variaciones entre $6.5\pm 0.2 \text{ m}$ y $1.9\pm 0.11 \text{ m}$ (Cuadro 1). Los diámetros presentaron diferencias significativas ($F=6.46$; $p=0.005$; $N=78$) debido al bajo DAP registrado en el S2 de Agiabampo con respecto a los demás sitios, además, *A. germinans* presentó el valor más alto con $20.5\pm 2.1 \text{ m}$ y *R. mangle* el menor valor con $5.7\pm 0.46 \text{ m}$ en el sitio 2 de Bahía de Lobos. En relación al área basal del manglar, se identificó en *A. germinans* el mayor valor con $90.9\pm 16.5 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$ en el sitio 2 de Agiabampo. Dicha variación ocasionó diferencias significativas en el área basal del manglar ($F=5.2$; $p=0.012$; $N=78$) (Cuadro 1).

Entre los principales resultados obtenidos de la textura del sedimento se identificaron altos contenidos de arena con diferencias significativas entre sitios ($F=4.4$; $p=0.02$; $N=24$) con el mayor valor en el sitio 2 de Tóbari con $89\pm 1.5 \%$, con un rango de contenidos de arena en todos los sitios de 43.4 ± 1.5

a 89 ± 1.5 %: Los contenidos de limo presentaron diferencias significativas ($F=50$; $p<0.05$; $N=24$) debido al bajo contenido encontrado en el sitio 2 (1.59 ± 0.4 %) con un rango de valores de limo desde 1.59 ± 0.4 a 39 ± 0.6 %. En lo que respecta los contenidos de arcilla promedio de los sedimentos se registraron diferencias significativas entre sitios ($F=6.1$; $p=0.008$; $N=24$) con el mayor valor en sitio 1 (Tóbari) con 37.9 ± 1.7 % y el menor en Sitio 2 (Tóbari) con 9.7 ± 0.6 % (Figura 2, Cuadro 2).

Cuadro 1. Atributos estructurales del ecosistema de manglar en sitios.

	Sitio	Especie	Abundancia (400 m ²)	Densidad (ha)	Altura (m)	DAP (cm)	Área Basal (m ² ha ⁻¹)
Tóbari	S1	Ag	47	1175	4.2±0.2	8.6±0.6	15.3±1.7
		Lr	6	150	5.3±0.6	15.1±1.6	42.3±2.9
	S2	Rm	13	325	3.4±0.3	6.5±0.6	9.3±1.4
		Ag	59	1475	3±0.1	7.4±0.5	12±1.4
		Lr	31	775	3.4±0.1	7.8±0.9	11.8±1.8
Agiabampo	S3	Ag	71	1775	2.4±0.1	8.9±1.1	19.4±4.9
		Lr	6	150	2.2±0.09	8.2±1.9	18.8±6.6
	S4	Rm	7	175	3.6±0.2	7.3±0.5	11.5±1.3
		Ag	57	1425	6.5±0.2	20.5±2.1	90.9±16.5
		Lr	2	50	4.8±0.3	17.1±2.6	73.2±15.8
Lobos	S5	Rm	15	375	5.2±0.2	6.9±0.3	10.3±1.2
		Ag	34	1700	3.8±0.27	10.3±0.97	26.8±6.6
	S6	Ce	4	200	5.3±1.03	16.2±2.9	56.2±11.5
		Lr	11	550	4.1±0.44	8.13±1.6	18.7±7.4
		Ag	24	1200	1.9±0.11	5.3±0.45	6.5±1.1
		Rm	3	150	4.5±0.31	13.4±0.64	35.8±3.4
			27	1350	2.2±0.12	5.7±0.46	7.53±1.3

Ag: *Avicennia germans*, Lr: *Laguncularia racemosa*, Rm: *Rhizophora mangle*, Ce: *Conocarpus erectus* DAP: diámetro a altura del pecho; S1 hasta S6: pares de sitios evaluados en cada lugar.

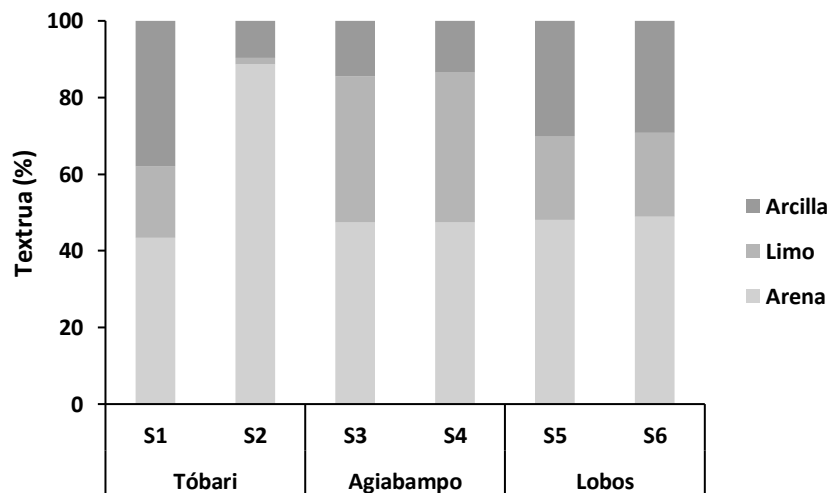


Figura 2. Contenidos de arena, limo y arcilla del sedimento en sitios de monitoreo (S1 hasta S6: pares de sitios evaluados en cada lugar).

Cuadro 2. Textura promedio en sedimento en cada laguna de estudio

Textura (%)	Tóbari	Agiabampo	Lobos
Arena	66.08	47.44	48.41
Limo	10.135	38.57	21.91
Arcilla	23.785	13.99	29.68

En el Cuadro 2 se puede observar valores altos de arena en todos los sitios, con respecto a los contenidos de limo y arcilla. Los valores de pH en sedimento no presentaron diferencias significativas debido a la baja variación entre sitios ($F=12.1$; $p=0.06$; $N=24$) con el menor valor de pH en el sitio 3 (Agiabampo) con 5.3 ± 0.13 y el más alto valor de pH en sitio 6 (Lobos) con 7.2 ± 0.33 en promedio. Los valores promedio de pH en cada laguna fueron de 6.4 ± 0.2 en Tóbari, 5.3 ± 0.06 en Agiabampo y 6.9 ± 0.2 en Lobos (Figura 3).

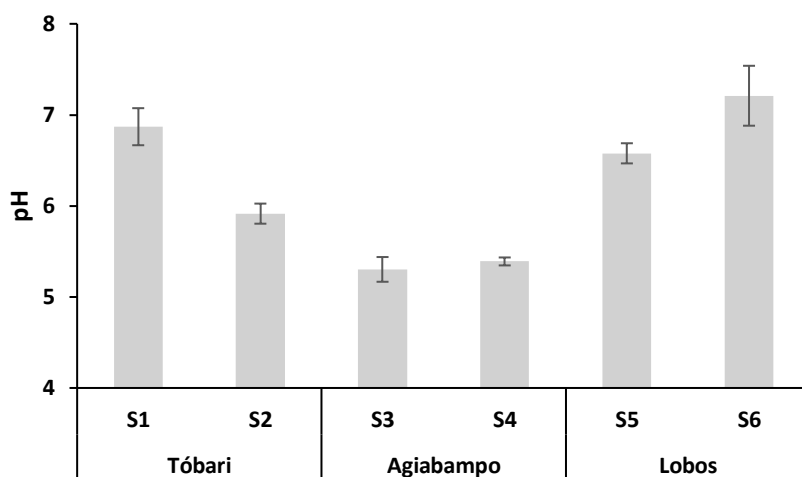


Figura 3. Valores de pH en sedimento de cada sitio de monitoreo (S1 hasta S6: pares de sitios evaluados en cada lugar).

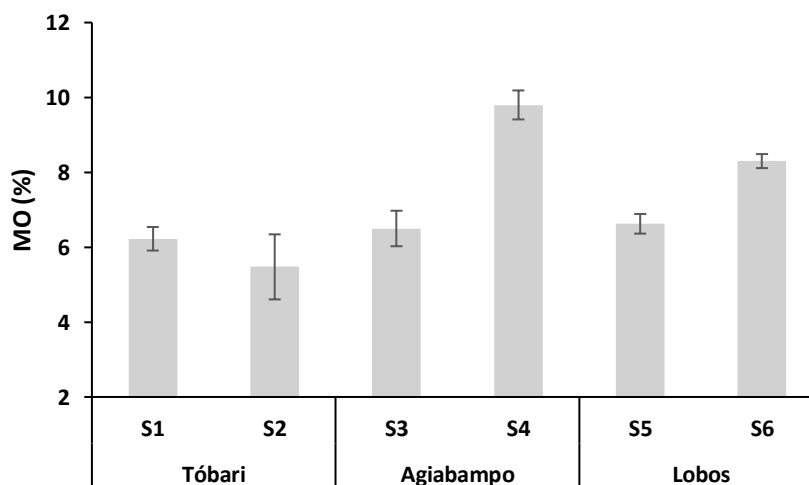


Figura 4. Contenidos de materia orgánica del sedimento en sitios de monitoreo (S1 hasta S6: pares de sitios evaluados en cada lugar)

Los contenidos de materia orgánica en sedimento no mostraron diferencias significativas ($F=5.2$; $p=0.057$; $N=24$) con un promedio general de 7.2 ± 0.41 % de materia orgánica, con el máximo valor en el sitio 4 (Agiabampo) con 9.8 ± 0.39 %. Los valores promedios de materia orgánica para cada laguna fueron de 5.9 ± 0.45 % para Tóbari, 8.2 ± 0.68 % para Agiabampo y de 7.5 ± 0.35 % para Lobos (Figura 4).

La densidad aparente medida en suelo registró diferencias significativas ($F=13$; $p<0.05$; $N=24$) debido a la alta variación en las muestras de todos los sitios que van desde un rango de 0.3 ± 0.03 g cm⁻³ en el sitio 4 (Agiabampo) hasta valores máximos promedios de 1.02 ± 0.13 g cm⁻³ en el sitio 3 (Agiabampo). Los valores promedio de densidad aparente del suelo para cada laguna estudiada fueron de 0.79 ± 0.05 g cm⁻³ en Tóbari, 0.67 ± 0.08 g cm⁻³ en Agiabampo y 0.69 ± 0.2 g cm⁻³ en Lobos (Figura 5).

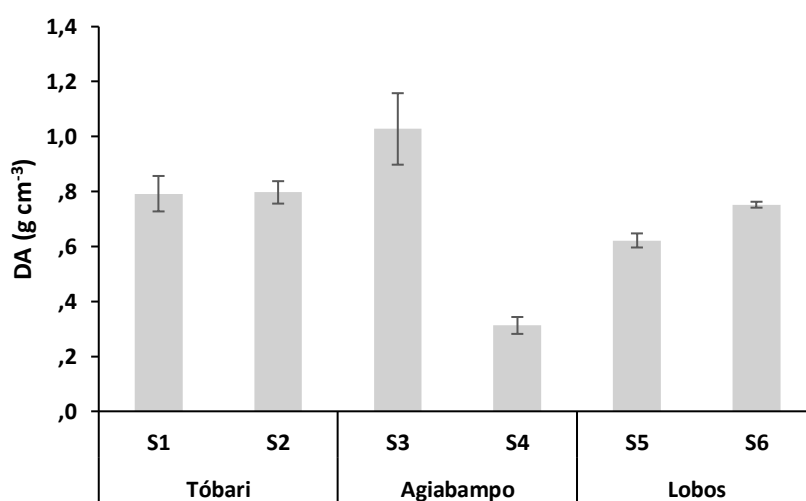


Figura 5. Densidad aparente (DA) del suelo en cada sitio de monitoreo (S1 hasta S6: pares de sitios evaluados en cada lugar).

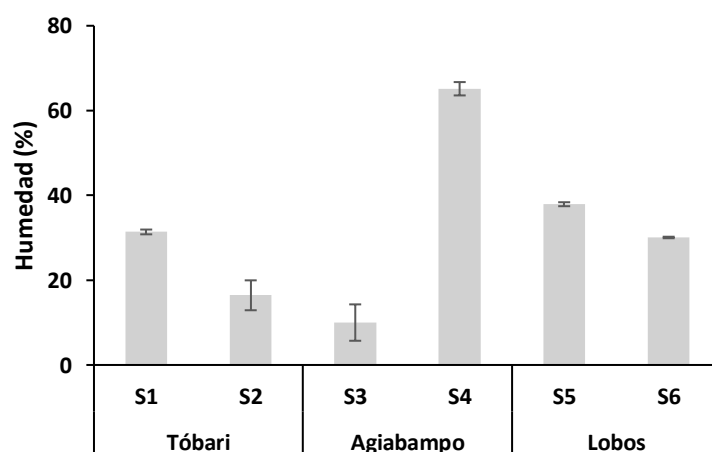


Figura 6. Contenido de humedad en sedimento de cada sitio de monitoreo (S1 hasta S6: pares de sitios evaluados en cada lugar).

La humedad (agua) retenida en suelo presentó diferencias significativas ($F=45$; $p<0.05$; $N=24$) debido a la alta variación de retención de agua en los diferentes sitios monitoreados, con valores bajos en los sitios 2 y 3 (16.4 ± 3.5 y 10 ± 4.2 % respectivamente). En relación a los promedios obtenidos para cada laguna se tiene que Tóbari presenta un contenido de humedad promedio de 23.9 ± 2.0 %, Agiabampo 37.6 ± 2.9 % y Lobos con 34 ± 0.32 % (Figura 6).

La figura 7, muestra la relación que existe entre la densidad aparente del suelo y el contenido de humedad, y se puede observar que en Agiabampo (Sitio 3) registró la más alta densidad aparente con baja retención de humedad, sin embargo, en el sitio 4 se presentó la más alta retención de humedad con baja densidad aparente.

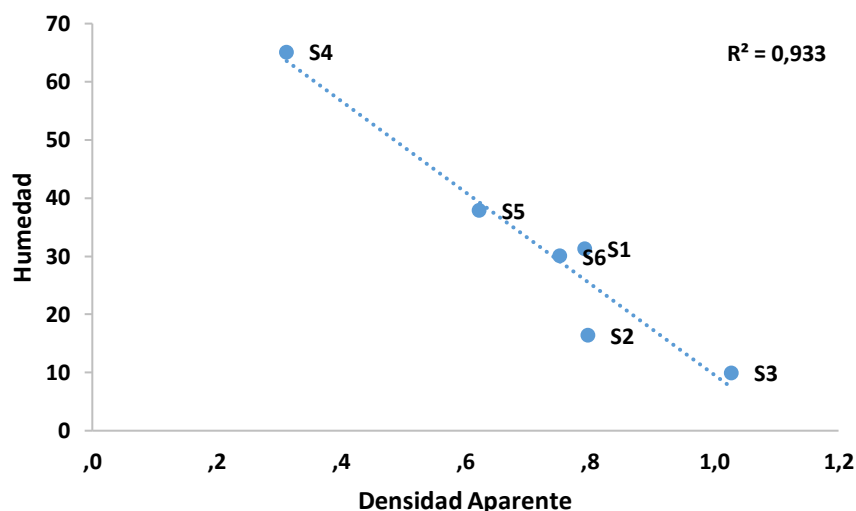


Figura 7. Relación del contenido de humedad y densidad aparente en suelo (S1 hasta S6: pares de sitios evaluados en cada lugar).

Se identificó que en existe una correlación negativa significativa de la densidad aparente con el contenido del contenido de humedad y materia orgánica en el sedimento del manglar, así mismo, los contenidos de arcilla promueven (Correlación positiva) la variación del pH y contenidos de materia orgánica (Cuadro 3).

Cuadro 3. Correlaciones de Pearson de las variables físico químicos del sedimento.

	pH	MO	DA	Humedad	Arena	Limo	Arcilla
pH	1						
MO	-.122	1					
DA	.155	-.703*	1				
Humedad	-.027	.802	-.959**	1			
Arena	-.198	-.461	.154	-.789*	1		
Limo	-.444	.646	-.272	.404	-.755	1	
Arcilla	.854*	.086*	.077	.112	-.577	-.099	1

*. La correlación es significativa en el nivel 0,05.

DISCUSIÓN

El desarrollo y crecimiento de los árboles en un bosque de manglar está influenciado por factores que cambian con un gradiente latitudinal (Albuquerque-Ribeiro et al., 2019), como la precipitación, la temperatura y la salinidad del agua, y la composición de especies (Komiyama et al., 2008; López-Medellín y Ezcurra, 2012). En los sitios de estudio, las condiciones predominantes áridas-semiáridas tienden a influir en el bajo desarrollo estructural, como se observa en otros estudios mencionados por Adame et al. (2020). El bajo desarrollo estructural responde a las condiciones ambientales de zonas áridas, ya estudiado por diferentes autores (Torres et al., 2021; Adame et al., 2020; Bautista-Olivas et al., 2018).

Las especies *R. mangle*, *A. germinans* y *L. racemosa* mostraron valores estructurales típicos de zonas áridas, de acuerdo a lo reportado por Bautista-Olivas et al. (2018) en Bahía del Tóbari y estero El Sargento, y por Torres et al. (2021) en estero El Soldado y Laguna Moroncarit. *A. germinans* es la especie con mayor densidad, que se puede atribuir a la tolerancia de altos niveles de salinidad que se presentan en ecosistemas de zonas áridas (Agraz-Hernández et al. 2006; Torres et al. 2017). Arreola-Lizárraga et al. (2004), identificó en la laguna Guásimas, ubicada sobre este gradiente latitudinal, observaron una estructura comparable con área basal de $13,5 \text{ m}^2 \cdot \text{ha}^{-1}$ y altura promedio de 2,7 m, también similares a lo reportado por Ochoa-Gómez et al. (2021), en el Suroeste del Golfo de California (Bahía La Paz) con una densidad con 5 775 a 12 924 árboles $\cdot \text{ha}^{-1}$, una altura promedio de 2.1 a 3.3 m. Se cuenta con la presencia del mangle *C. erectus* en la zona de Lobos, con alto desarrollo estructural, esta especie crece en regiones áridas o semiáridas reportada por Ochoa-Gómez et al. (2021). El alto desarrollo estructural indica altas reservas/almacenamiento de carbono por *C. erectus*.

Generalmente las lagunas costeras contienen poco material orgánico (<10%) (Howe et al., 1999), donde solo una pequeña fracción está disponible como alimento (Rulifson, 1981). En los sitios de monitoreo, se presentaron bajos valores de materia orgánica en sedimentos, que puede ser atribuido a los factores ambientales de zonas áridas y de bajo desarrollo estructural, que trae como consecuencia baja productividad primaria aportada al sistema. El suelo en el que crecen los manglares se compone de materia orgánica gruesa mezclada con sedimento (Holguín, 2001). La densidad aparente tiene valores bajos en suelos orgánicos (Moreno-Casasola et al., 2009), lo contrario ocurre en los sitios de la presente investigación, donde la densidad aparente aumentó por los altos contenidos de arena en sedimento y disminuyó el contenido orgánico y por consecuencia baja carga de nutrientes en suelo.

En el caso de las lagunas costeras, una de las principales entradas de nutrientes es a través del aporte de materia orgánica proveniente de las zonas de manglar (Tam et al., 1990); se ha demostrado que las corrientes de reflujo en la parte de aguas abajo mejoran la exportación de detritos de manglares hacia ecosistemas adyacentes (Kitheka, 1997). En los sitios de estudio de la presente investigación, al predominar los suelos arenosos, en todos los sitios de muestreo (Tóbari, Agiabampo, Lobos), las condiciones de

retención de materia orgánica y humedad en suelo resultaron ser bajas, como fue documentado por De-Boer (2000) para una bahía intermareal en Mozambique, así como también, Bjorn y McClaugherty (2008) encontraron que los suelos con mayor contenido de arcilla pueden almacenar más materia orgánica que los suelos arenosos; estos autores afirmaron que la textura es la propiedad física más importante del suelo.

Boto y Bunt (1982) estimaron que hasta el 46% de la productividad primaria de un ecosistema de manglar australiano se exportaba a las aguas costeras como materia orgánica particulada. Benítez (2007) y Moreno-Casasola et al. (2002), mencionan que las especies *A. germinans*, *L. racemosa* y *R. mangle*, las cuales son las especies encontradas en las localidades de estudio, crecen en sustratos cuya composición varía desde arcillas, lodosos y arenosos. Sin embargo, los sitios con mayor contenido de limo y arcillas, promueven el establecimiento de las especies de manglar. Los contenidos de materia orgánica fueron bajos en relación a otros estudios de zonas más tropicales como lo registra Torres et al. (2018) para Pantanos de Centla de hasta 41% de materia orgánica en el sedimento. La hipótesis (i) planteada en el presente estudio se confirma, ya que se registraron bajos contenidos de materia orgánica en el sedimento, en relación con estudios que documentan la materia orgánica en regiones de manglar con ubicación tropical.

CONCLUSIONES

Diversos trabajos han identificado correlaciones entre las diferentes variables físico-químicas del sedimento en hábitat de manglar (Torres et al., 2018; Torres et al., 2019) lo que nos muestra la interdependencia entre variables, que a su vez tienen influencia en la productividad primaria y secundaria del ecosistema de manglar (Torres et al., 2017). En el presente estudio se identificó correlación negativa entre las variables de densidad aparente del sedimento con los contenidos de materia orgánica y humedad, a su vez, los altos contenidos de arena promueven la alta densidad aparente en el suelo. Las variables físico químicas del sedimento de manglar muestran una relación directa, que se afectan tanto en correlación positiva como negativa, estas relaciones nos muestran que las variaciones pueden ser espaciales, y se recomienda ampliar el estudio para analizar temporalmente (meses). Las características físico-químicas del suelo como la textura, promueven (arcilla) o limitan (arena) la retención de humedad y contenidos de materia orgánica. Los sitios con mayor contenido de limo y arcilla demostraron tener mayor retención tanto de materia orgánica como humedad, lo que les da las condiciones para mayor dinámica de nutrientes y actividad biológica de hongos, bacterias, invertebrados, etc.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adame MF et al. (2020). Mangroves in Arid Regions: Ecology, Threats, and Opportunities. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, p. 106796. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.106796>

- Agraz-Hernández CM et al. (2006). *Guía de Campo: Identificación de manglares en México*. México D. F. Universidad Autónoma de Campeche. México: Centro de Ecología, Pesquerías y Oceanografía del Golfo de México, Comisión Federal de Electricidad, Universidad Autónoma de México, Comisión Nacional Forestal.
- Albuquerque-Ribeiro R et al. (2019). Spatial variability of mangrove primary productivity in the neotropics. *Ecosphere*, 10(8), 1–13.
- Alcantara-Razo E et al. (2019). La comunidad Yaqui y su importancia en la producción pesquera. In: Arreola-Lizárraga JA et al. (org.). *Capital Natural y Bienestar Social de la Comunidad Yaqui*. ISBN: 978-607-609-204-0.
- Arreola-Lizárraga J et al. (2004). Structure and litterfall of an arid mangrove stand of the Gulf of California, México. *Aquatic Botany*, 79, 134–143.
- Ayala-Castañares A et al. (1990). Morfo-sedimentología de la Laguna Agiabampo, Sonora-Sinaloa, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*, 17(2), 257–270.
- Bautista-Olivas AL; Mendoza-Cariño V (2018). Above-ground biomass and carbon sequestration in mangroves in the arid area of the northwest of Mexico: Bahía del Tóbari and Estero El Sargento, Sonora. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 24(3): 387-403. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2018.02.020>
- Beman JM (2014). Activity, Abundance, and Diversity of Nitrifying Archaea and Denitrifying Bacteria in Sediments of a Subtropical Estuary: Bahía del Tóbari, Mexico. *Estuaries and Coasts*, 37: 1343-1352.
- Beman JM; Francis ChA (2006). Diversity of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria in the Sediments of a Hypernutrified Subtropical Estuary: Bahía del Tóbari, Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12): 7767–7777.
- Benítez P (2007). *Forestación Artificial Con Manglares En Isletas De Dragados En Una Región Semiárida De México*. Tesis De Doctorado). Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California.
- Bjorn B; McClaugherty C (2008). *Plant Litter*. Berlin Heidelberg, Germany: Springer. 312p.
- Boto KG; Bunt JS (1982). Carbon export from mangroves. In Galbally IE; Freney JR(org.). *Cycling of carbon, nitrogen, sulfur and phosphorus in terrestrial and aquatic ecosystems* (pp. 105-110). Canberra: Australian Academy of Science.
- Castillo-Domínguez A et al. (2011). Ictiofauna de los humedales del río San Pedro, Balancán, Tabasco, México. *Revista De Biología Tropical*, 59(2): 693-708.
- Cavalcanti VE et al. (2009). Evaluating mangrove conservation through the analysis of forest. *Journal of Coastal Research*, 56: 390-394.

- CONABIO (2013). Manglares de México. Extensión, Distribución y Monitoreo. México D. F.: Primera edición, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. ISBN: 978-607-8328-02-4.
- Cupil-Díaz A (2015). Calidad del agua mediante el análisis fisicoquímico, demanda bioquímica y química de oxígeno en los humedales de Tumulco, Veracruz, México. Universidad Veracruzana (Tesis). 55 p.
- Day JW et al. (1987). The Productivity and Composition of Mangrove Forests, Laguna de Terminos, Mexico. *Aquatic Botany*, 27: 267-284.
- De-Boer WF (2000). Biomass dynamics of seagrasses and the role of mangrove and seagrass vegetation as different nutrient sources for an intertidal ecosystem. *Aquatic Botany*, 66(3): 225-239.
- Diop E (1993). Conservation and sustainable utilization of mangrove forests in Latin America and Africa regions, part II – Africa. Reports 3: ITTO/ISME Mangrove Ecosystems Technical.
- Flores-Verdugo F et al. (1992). Mangrove ecosystems of the pacific coast of México: Distribution, structure, litterfall, and detritus dynamic. En Seeliger, U. Coastal plant communities of Latin America (pp. 269-287). Londres: Academic.
- Flores-Verdugo F et al. (1990). Mangrove ecology, aquatic primary productivity, and fish community dynamics in the Teacapán-Agua Brava Lagoon-Estuarine system (Mexican Pacific). *Estuaries*, 13: 219-230.
- Granados-Martínez KP et al. (2021). Environmental controls on the temporal evolution of energy and CO₂ fluxes on an arid mangrove of Northwestern Mexico. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 126, e2020JG005932. <https://doi.org/10.1029/2020JG005932>
- Heiri O et al. (2001). Loss on ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: Reproducibility and comparability of results. *Journal Of Paleolimnology*, 25: 101-110.
- Holguín G et al. (2001). The role of sediment microorganisms the productivity, conservation and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. *Biology and Fertility of Solis*, 33: 265-278.
- Howe JC et al. (1999). Habitat Utilization by Postlarval and Juvenile Penaeid Shrimps in Mobile Bay, Alabama. *Estuaries*, 22(4): 971-979.
- Infante MD (2011). Estructura y dinámica de las selvas inundables de la planicie costera central del Golfo de México. INECOL AC (Tesis). Jalapa, Veracruz. 77p.
- Kitheka J (1997). Coastal tidally driven circulation and the role of water exchange in the linkage between tropical coastal ecosystems. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 45: 177-187.
- Klute A (1986). Methods of soils analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods (2nd ed.). Madison, Wisconsin, EUA. 1188 p.
- Komiyama A et al. (2008). Allometry, biomass, and productivity of mangrove forests: A review. *Aquatic Botany*, 89: 128–137.


- Kottek M et al. (2006). World map of the Koppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift*, 15(3): 259–263.
- Lacerda LD (1993). Mangroves of Brazil. En Lacerda, L.D. Conservation and sustainable utilization of mangrove forests in Latin America and Africa regions, part I Latin America (pp. 245-272). ITTO/ISME Mangrove Ecosystems Technical Reports.
- López-Medellín X; Ezcurra E (2012). The productivity of mangroves in northwestern México: a meta-analysis of current data. *Journal of Coastal Conservation*, 16(3): 399–403.
- Lovelock CE et al. (2011). Intense storms and the delivery of materials that relieve nutrient limitations in mangroves of an arid zone estuary. *Funct. Plant Biology*, 38: 514–522.
- Mendoza CP (2010). Caracterización físico-química de suelos de mangle de la ciudad de Cartagena costa atlántica colombiana. En Mendoza CD et al. (org.). Manual de Cartagena de Indias; Partinonio biológico y fuente de biodiversidad. Tecnológico Comfenalco.
- Mendoza R et al. (1984). Inventario de las áreas de manglar en la Ensenada de Aripes, BCS. En: Memorias de la Primera Reunión Sobre Ciencia y Sociedad: Presente y Futuro de La Paz. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz.
- Moreno-Casasola P; Warner B (2009). Breviario para describir, observar y manejar humedales. En: Serie Costa Sustentable No. 1. Xalapa Ver. México: RAMSAR Instituto de Ecología A.C., CONANP, US Fish and Wildlife Service US State Department.
- SEMARNAT (2010). NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-059-SEMARNAT-2010. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4254/semarnat/semarnat.htm>
- Ochoa-Gómez J et al. (2021). Distribution and structure of *Conocarpus erectus* L. (Combretaceae) in the northern limit of the Pacific Ocean (Gulf of California). *Ocean & Coastal Management*, 209: 105645. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2021.105645>
- Orihuela-Belmonte DE et al. (2004). Flujo de materia en un manglar de la costa de Chiapas, México. *Madera y Bosques*, 10(Es2): 45-61.
- Pennington TD; Sarukhán J (2005). Árboles tropicales de México: manual para la identificación de las principales especies. México. D. F.: UNAM/ FCE.
- RAMSAR (2007). Ficha informativa de los humedales de Ramsar, Complejo Lagunar Bahía Guásimas – Estero Lobos. Available online: <https://rsis.ramsar.org/es/rsis/1790> Consultado en 25/07/2022.
- Rodríguez-Zúñiga et al. (2013). Manglares de México: Extensión, distribución y monitoreo México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Rollet B (1974). Ecología y reforestación de los manglares de México. México D. F.: FAO, Programa de Investigaciones y Fomento Pesqueros, FI: SF/MEX 15, Inf. Téc. No. 6, 126 pp.

- Romero BE (2012). Manglares del Soconusco, Chiapas: estructura y cambios a nivel de paisaje, Tapachula, Chiapas. El Colegio de la Frontera Sur (Tesis de Maestría).
- Rulifson RA (1981). Substrate preferences of juvenile penaeid shrimps in estuarine habitats. *Contributions in Marine Science*, 24: 35-52.
- SEMARNAT (2010) NOM-059 Protección ambiental - especies nativas de México de flora y fauna silvestres - categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio - lista de especies en riesgo. Diario Oficial, 30 de diciembre de 2010. Available online: https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM_059_SEMARNAT_2010.pdf Consultado en 03/06/2022.
- Smith TJ (1992). Forest Structure. In Robertson EAI; Alongi DM (org.), *Tropical Mangrove Ecosystems USA: American Geophysical Union*. 101-136p.
- Souza MMA; Sampaio EVSB (2001). Variación temporal da estrutura de bosques de mangle de Suape-PE após a construção do Porto. *Acta Botanica Brasilica*, 15: 1-12.
- Steel A; Torrie M (1996). *Bioestadística: Principios y procedimientos*. Segunda edición. México D. F. México: Edit. McGrawHill.
- Tam et al. (1990). Nutrient Dynamics Associated with Leaf Decomposition in a Small Subtropical Mangrove Community in Hong Kong. *Bulletin of Marine Science*, 47: 68-78.
- Torres JR et al. (2018). Mangrove Productivity and Phenology in Relation to Hydroperiod and Physical-Chemistry Properties of Water and Sediment in Biosphere Reserve, Centla Wetland, Mexico. *Tropical Conservation Science*, 11:1-14.
- Torres JR et al. (2017) Atributos estructurales, productividad (hojarasca) y fenología del manglar en la Laguna Mecoacán, Golfo de México. *Revista de Biología Tropical*, 65: 1592-1608. <https://doi.org/10.15517/rbt.v65i4.26653>
- Torres JR et al. (2021) Root biomass and productivity in subtropical arid mangroves from the Gulf of California. *Rhizosphere*, 18:100356. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100356>
- Valdez JI (2002). Aprovechamiento forestal de manglares, en el estado de Nayarit, costa pacífica de México. *Madera y Bosques*, Número especial: 129-145.
- Whitmore RC et al. (2005). The ecological importance of mangroves in Baja California Sur: Conservation implications for an endangered ecosystem. En Cartron JG et al. (org.). *Biodiversity, ecosystems, and conservation in northern Mexico*. New York. 298–362p.


Aislamiento y caracterización morfológica de *Fusarium oxysporum* asociado al tomate en el Valle del Yaqui, Sonora

Recibida em: 10/09/2022

Aprobado em: 12/09/2022

 10.46420/9786581460594cap2

Leandris Argente-Martínez^{1*} 

Ofelda Peñuelas Rubio² 

Adriana Garnica Domínguez² 

Jorge González Aguilera³ 

RESUMEN

Fusarium oxysporum es un hongo fitopatógeno que se encuentra ampliamente en suelos y plantas afectando a una gran variedad de cultivos. Este hongo se manifiesta mediante marchitamiento, pudrición de raíces, tallos y frutos, provocando grandes pérdidas económicas para el sector agrario. Teniendo en cuenta la importancia de este hongo se realizó un estudio con el objetivo de aislar cepas patogénicas del género *Fusarium* para su identificación a partir de muestras de tejido vegetal de plantas de tomate. Se realizó el aislamiento en plantas de tomate de las variedades comerciales heirloom: Super Choice y Brandy Pink, clasificadas como susceptibles a este patógeno, con sintomatologías típicas. Dicho aislamiento se realizó aplicando la técnica de cultivos monospóricos. Se obtuvieron y purificaron 11 cepas puras de un total de 20 aislamientos. A partir de estos aislados se desarrolló la caracterización morfológica de las colonias mediante claves taxonómicas para la elaboración de un banco de microorganismos para futuras investigaciones. Una vez obtenidas las cepas puras se criopreservaron para crear un banco de microorganismos con las especies y formas especiales del género para futuras investigaciones.

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los vegetales más cultivados y consumidos en todo el mundo. En México, el tomate cultivado está considerado como la segunda especie hortícola más importante, debido a la superficie sembrada, y como la hortaliza de mayor importancia por sus niveles de producción. A nivel nacional se siembran alrededor de 81,000 ha donde se obtienen cerca de 2 millones de toneladas, siendo los principales estados productores: Sinaloa, Baja California, San Luis Potosí, Sonora, Nayarit, Morelos y Michoacán (Hinojosa-Ochoa et al., 2018).

¹ Tecnológico Nacional de México /Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui, Bâcum Sonora, México, CP: 85270(a) 1.

² Editora Pantanal, Nova Xavantina, MT, Brasil.

* Autor(a) correspondente: oleinismora@gmail.com

Entre las diferentes variedades de tomate que se producen en México, se encuentra los tipos saladette, bola, cherry, pera, uva, manzano y heirloom. Este último se cultiva particularmente en regiones donde las condiciones edafoclimáticas son óptimas para su desarrollo (Martínez-Gallardo et al., 2019).

El cultivo es altamente susceptible a muchas enfermedades fúngicas como las causadas por *Fusarium oxysporum* en las formas especiales *lycopersici* (FOL) y *radicis-lycopersici* (FORL) (Gayosso-Barragán et al., 2021). Las enfermedades que causan estos hongos son la marchitez vascular (MVT) y la pudrición de la corona del tallo (PCT) y tienen una importancia económica mundial ya que son altamente destructivas tanto para la producción en condiciones de campo abierto como para los tomates producidos bajo algún esquema de agricultura protegida. Su presencia se ha reportado en al menos 32 países (Wei y Wu, 2020). Los síntomas de la enfermedad incluyen el amarillamiento de las hojas, el bronceado de los tejidos vasculares, el marchitamiento de las plantas, el retraso en el crecimiento y la muerte eventual de toda la planta (Attia et al., 2022).

Los síntomas de la PCT son: pudrición radical y lesiones necróticas extensivas en el cuello y base del tallo, y marchitez hasta provocar la muerte de la planta (Arie, 2019). Estos síntomas son los que hacen que su identificación en campo sea difícil, por lo tanto, se requiere desarrollar investigaciones morfológicas su identificación rápida y tomar medidas fitosanitarias y evitar su proliferación. Estas características morfológicas coloniales de las cepas brindan un acercamiento a la certeza en la identificación de estos hongos fitopatógenos (Bektas y Kusek, 2019).

Considerando lo anterior, se desarrolló la presente investigación con el objetivo de aislar cepas patógenas del género *Fusarium* para su identificación a partir de muestras de tejido vegetal de plantas de tomate de las variedades de tomate Heirloom: Super Choice y Brandy Pink, con sintomatología típica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta del material vegetal

Las muestras de plantas de tomate se colectaron en casa sombra de la empresa de producción orgánica de tomate “Agrícola FEVAL S.A de C.V.”, con ubicación en Block 623, del municipio de San Ignacio Rio Muerto, Sonora, México.

Inicialmente, se tomaron plantas completas (incluida la rizósfera) que presentaban sintomatología típica de fusariosis (marchitamiento, pudrimiento de raíz, tallo, hojas y fruto, etc. (Figura 1). La colecta se realizó en cinco plantas, cada una con 500 g de solo de la rizósfera en las variedades Super Choice y Brandy Pink. Además, se tomaron tres ejemplares de la variedad Brandy Pink (Figura 1b). Las plantas que se colectaron se encontraban en la misma nave, y en etapa de fructificación. La mayoría de las muestras presentaban frutos en estado de putrefacción, raíces y tallos con necrosis color café, y hojas secas (Figura 1).

Posteriormente, las muestras se prepararon e identificaron y fueron trasladadas al Laboratorio de Investigación en Microbiología del Instituto Tecnológico de Sonora, Unidad Centro donde fueron conservadas hasta el momento de ser procesadas.



Figura 1. Plantas de tomate variedades Super Choice (a), Brandy Pink (b), y síntomas de marchitez y necrosis en tallo (c) y hojas (d), tomadas para el aislamiento y purificación del *Fusarium*. Fuente: Elaboración propia.

*Aislamiento de *F. oxysporum* a partir de tejido vegetal*

Para el aislamiento de *F* se utilizó la técnica propuesta por Domínguez (2012). Se realizaron cortes de tejido vegetal (con parte infectada y parte sana) de 0.5 cm de raíz, 50 cm a partir de la corona y ápice de la planta (Figura 2).



Figura 2. Planta de tomate indicando el tejido que se utilizó para la siembra y aislamiento de *F. oxysporum*: 1) raíz; 2) corona; 3) límite de necrosis vascular; 4) a partir de los 50 cm de la corona; y 5) ápice de la planta. Fuente: Domínguez, (2012).

Por separado, las muestras se desinfectaron con NaClO al 2% durante dos minutos. Posteriormente, se enjuagaron con agua destilada estéril dos veces durante un minuto y se secaron con papel absorbente estéril (actividad realizada en medio estéril). Luego, se tomaron tres trozos de aproximadamente 5 cm de cada muestra correspondiente y se sembraron en cajas de Petri (100 x 15 mm) con medio de cultivo de agar dextrosa de papa (PDA) (Ascencio-Álvarez et al., 2008). El medio PDA fue acidificando con ácido láctico al 25% (10 mL L⁻¹) y las muestras se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio (27±4°C). Se revisaron diariamente los cultivos para transferir las colonias de *F. oxysporum* a nuevas cajas de Petri con medio PDA y se registró el origen del tejido de la planta de donde se asignó.

Una vez obtenidas las colonias de *F. oxysporum* se realizó la purificación de éstas. Se prepararon cajas Petri con medio PDA preparado a razón de 39 g L⁻¹ de agua destilada y una vez estéril, el medio se acidificó con ácido láctico al 25% añadiéndole 1mL de ácido láctico por cada 100 mL de medio. En dichas cajas se resembró una muestra del crecimiento colonial para aislar las colonias, se incubaron por 7 días a 28°C. Para la purificación, los aislamientos se transfirieron a nuevas cajas Petri con medio fresco agar ADP.

Cultivos monospóricos de F. oxysporum

De los aislamientos seleccionados se realizaron cultivos monospóricos, siguiendo la siguiente metodología. Se utilizaron colonias de 10 días de edad y por cada aislamiento se preparó una suspensión de conidios adicionando 15 mL de Tween 20, al 0.8% a la caja de Petri y con una varilla de vidrio estéril se realizó un raspado de la colonia para liberar los conidios. Con ayuda de una pipeta estéril se tomó un volumen de 0.5 mL de la suspensión y se vertió en un tubo Eppendorf cubierto por gasa estéril para filtrar, la solución se agitó en agitador vortex de 10 a 15 segundos. Posteriormente se tomó una muestra de 10 µL de la suspensión y se colocó en una cámara de Neubauer para realizar el conteo y ajustar a 1.5 x 10 conidios mL⁻¹. Finalmente, un volumen de 200 µL de esta suspensión se colocó en cajas de Petri con medio PDA, y se dispersó con una varilla de vidrio estéril y se mantuvo bajo condiciones de laboratorio (27± 4°C) por 10 días.

Caracterización morfológica de las colonias aisladas de F. oxysporum

Para la identificación morfológica de las colonias, los cultivos monospóricos seleccionados se sembraron en cajas de Petri en medio de PDA para el desarrollo de micro y macroconidios. Las cajas se incubaron a 27°C durante 21 días (Leslie y Sumerell 2006).

Criopreservación de las cepas puras

Una vez realizada la identificación morfológica de las colonias, las cepas puras se sometieron al método de conservación llamado criopreservación y se realizó en ambiente estéril para garantizar la ausencia de contaminantes. Para la criopreservación, a cada cepa obtenida en el medio PDA se le añadió un volumen de 850 μ L de agua destilada estéril (121°C, 20 min) y con ayuda de una varilla de vidrio se arrastró el micelio hasta homogenizar. Posteriormente, con una micropipeta, se recuperó la solución y se colocó en un tubo Fisher estéril, a dicha solución se le añadieron 150 μ L de glicerol al 25% estéril (121°C, 20 min). Cada tubo se agitó en agitador mecánico Vortex por 10 segundos. Por último, los tubos Fisher se rotularon con la clave correspondiente de la cepa y se colocaron en un rack y se les asignó un lugar en el congelador Ultra a -70°C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamientos obtenidos de *F. oxysporum*

A partir de las muestras colectadas se obtuvieron aislados de las dos variedades Super Choice (Figura 1a) y Brandy Pink (Figura 1b). En total se obtuvieron 20 aislamientos de *F. oxysporum* que se encontraron principalmente en tejido vegetal de raíz, corona y tallo. Estos resultados se presentan en el Cuadro 1, que muestra el número de aislados según la parte de la planta utilizada.

Aunque las plantas de las dos variedades estudiadas presentaron los mismos síntomas de marchitez y de haber presentado una sola colonia de crecimiento al sembrar el tejido vegetal, al realizar la purificación de las colonias el hongo ya no se presentó. Este resultado demuestra que quizás el hongo no se haya distribuido en toda la planta y que la marchitez fue ocasionada por otras causas, como estrés (Bayona et al., 2011). En el presente estudio solo se obtuvieron aislados positivos para *F. oxysporum* en la variedad Super Choice.

Cuadro 1. Aislados de *F. oxysporum* en las variedades Super Choice y Brandy Pink en diferentes tejidos de la planta.

Colecta	Variedad	Ra ¹	Co	50 cm C	AP	Total
1	Super Choice I	2	2	1	-	5
2	Super Choice II	1	2	2	1	6
3	Super Choice III	2	1	2	2	7
4	Brandy Pink I	0	0	0	0	0
5	Brandy Pink II	0	1	0	0	2
						20

¹Ra: Raíz; Co: corona; 50 cm C: a 50 cm de la corona; AP: Ápice de la planta. Fuente: Elaboración propia.

F. oxysporum se aisló principalmente de raíz, corona y de 50 cm a partir de la corona (Cuadro 1). Sin embargo, del ápice no se obtuvieron aislamientos purificados. Cabe mencionar que se obtuvieron colonias, pero al purificarlas no se obtuvo crecimiento micelial individual (Cuadro 2). Este resultado indica

que el patógeno presenta distribución limitada en la planta, en función de la forma especial (según el caso) que causa la enfermedad. Por ejemplo, para FORL se reporta una distribución en toda la planta (Paulus, 1993); mientras que para FORL se reporta que se localiza en los primeros 10 a 30 cm a partir de la corona (Horinouchi et al., 2007; Jones 1993).

Purificación de cepas aisladas mediante cultivos monospóricos

Una vez obtenida la suspensión de conidios se realizó el conteo en cámara de Neubauer, y para obtener el resultado se sacó el promedio y este se multiplicó por 50,000 para conseguir el total de conidios por cada microlitro (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resultado de conteo de conidios por microlitro en cámara de Neubauer. Fuente: Elaboración propia.

Colonias	Cuadrante superior					Cuadrante inferior					Promedio	Total (C μL^{-1})
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5		
SC-I-1		1	1			1	2	1			3	150 000
SC-I-2	2	5	6	4	2	4	5	2	9	2	22.5	1 125 000
SC-I-3	4	2	1	1	1	1	3	4	1	2	10	500 000
SC-II-1	1		1						1		1.5	75 000
SC-II-2		1	1	1					1		2	100 000
SC-II-3	1	1									1	50 000
SC-II-4	3	1							1		3	150 000
SC-III-1					1						0.5	25 000
SC-III-2				1					2		1.5	75 000
SC-III-3	2	2	3	6	2	9	2	3	9	1	19.5	195 000
SC-III-4											0	0
BP-II-2											0	0
BP-II-3											0	0

C μL^{-1} : Conidios por microlitro.

Cuadro 3. Catálogo de cepas puras describiendo los acrónimos. Fuente: Elaboración propia.

Colonias	Variedad	Cultivar	Tejido Vegetal	Numero de colonia
SC-I-2,1	Super Choice	1	Corona	1
SC-I-3,1	Super Choice	1	50 cm a partir de la corona	1
SC-II-1,1	Super Choice	2	Raíz	1
SC-II- 2,2	Super Choice	2	Corona	2
SC-II-3,1	Super Choice	2	50 cm a partir de la corona	1
SC-II-3,1	Super Choice	2	50 cm a partir de la corona	2
SC-III-1,1	Super Choice	3	Raíz	1
SC-III-1,2	Super Choice	3	Raíz	2
SC-III-2,1	Super Choice	3	Corona	1
SC-III-2,2	Super Choice	3	Corona	2
SC-III-3,2	Super Choice	3	50 cm a partir de la corona	2

De esta misma suspensión se obtuvieron 16 colonias aisladas y purificadas de *F. oxysporum*. Es importante mencionar que de ápice no se obtuvieron aislamientos puros y tampoco de obtuvieron cepas puras de la variedad Brandy Pink. Una vez obtenidos los cultivos puros, se realizó el catálogo de las cepas, como lo indica el Cuadro 3.

Caracterización colonial de *F. oxysporum*

Una vez realizado el catálogo de cepas, se identificó presuntivamente la especie de *F. oxysporum* por lugar de ubicación en la planta, como lo muestra a continuación (Cuadro 4).

Cuadro 4. Identificación de especie presuntiva, según su ubicación. Fuente: Elaboración propia.

Clave	Colonias	Forma especial presuntiva
1	SC-I-2,1	FORL
2	SC-I-3,1	FOL
3	SC-II-1,1	FORL
4	SC-II- 2,2	FORL
5	SC-II-3,1	FOL
6	SC-II-3,1	FOL
7	SC-III-1,1	FORL
8	SC-III-1,2	FORL
9	SC-III-2,1	FORL
10	SC-III-2,2	FORL
11	SC-III-3,2	FORL

FOL: *F. oxysporum lycopersici*. FORL: *F. oxysporum radicis-lycopersici*.

A continuación, se muestran figuraas que representan la frecuencia de *F. oxysporum* según su ubicación (Figura 3a). En este análisis se encontró que las mayores frecuencias se observaron en la corona y a los 50 cm a partir de esta, sin diferencias entre sí.

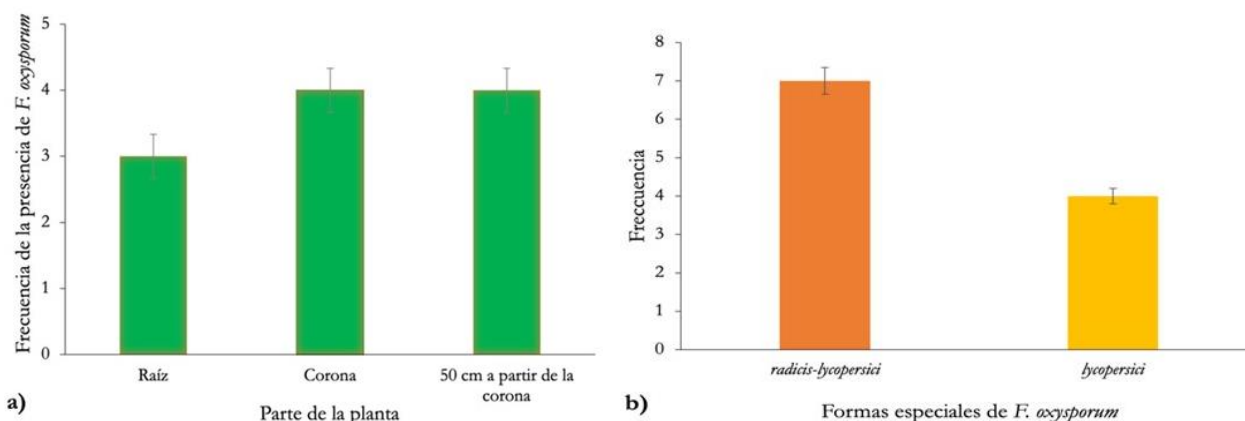


Figura 3. Frecuencias de *F. oxysporum* (%) en diferentes partes de la planta (a) y en formas especiales (b). Barras perpendiculares sobre las columnas indican desviaciones estándar respecto a la media. Fuente: Elaboración propia.

Una vez realizado el catálogo de cepas purificadas, se identificaron presuntivamente las formas especiales de *Fusarium*, con cuatro cepas de *F. oxysporum* f.sp *lycopersici* y siete cepas de *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (Figura 3b).

FORL se aisló con más frecuencia en la variedad Super Choice, de raíz se obtuvieron tres cepas y de corona se obtuvieron cuatro, diversos autores reportan que el patógeno presenta distribución limitada a no más de los primeros 50 cm a partir de la corona (Ascencio-Álvarez et al., 2008) y que otros factores como la temperatura pueden favorecer a la forma especial, siendo de 18° a 22°C óptima para su desarrollo (Jones, 1993). FOL se aisló con menos frecuencia en la misma variedad, aunque muchos autores han reportado que es la forma especial más frecuente cuando se presentan síntomas de marchitez en la planta, ambas formas especiales son patogénicas sobre la especie *Solanum lycopersicum* provocando así, mismos síntomas. (Katan et al., 1997, Attitalla et al., 2004).

Las colonias de las cepas aisladas formadas en medio PDA se clasificaron macroscópicamente según el tipo de elevación, borde, forma y pigmento anverso como lo indica en Cuadro 5. En general, las cepas presentan las mismas características morfológicas; elevación plana, borde filamentosos, forma filamentosos y presentaron pigmento púrpura a partir del séptimo día de crecimiento.

Cuadro 5. Características morfológicas para la caracterización macroscópica colonial de las cepas aisladas. Fuente: Elaboración propia.

Clave	Colonias	Elevación	Borde	Forma	Pigmento anverso
1	SC-I-2,1	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura
2	SC-I-3,1	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura
3	SC-II-1,1	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura
4	SC-II- 2,2	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura
5	SC-II-3,1	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura
6	SC-II-3,1	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura
7	SC-III-1,1	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura
8	SC-III-1,2	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura
9	SC-III-2,1	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura
10	SC-III-2,2	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura
11	SC-III-3,2	Plano	Filamentosa	Filamentosa	Púrpura

Se obtuvieron 11 cepas puras por medio de cultivos monospóricos, las cuales se caracterización macroscópicamente por la forma de crecimiento del micelio algodonoso, borde y el pigmento blanquecino-rosado en los primeros estados de desarrollo, tornándose de un color púrpura en el centro y de un tono más claro en el borde (Kenneth et al., 2017) y en algunos casos adquiriendo pigmentación rosado-naranja como se indica en la Figura 4, donde se pueden identificar los colores y tipo de crecimiento en la parte anversa y reversa de las cajas Petri.

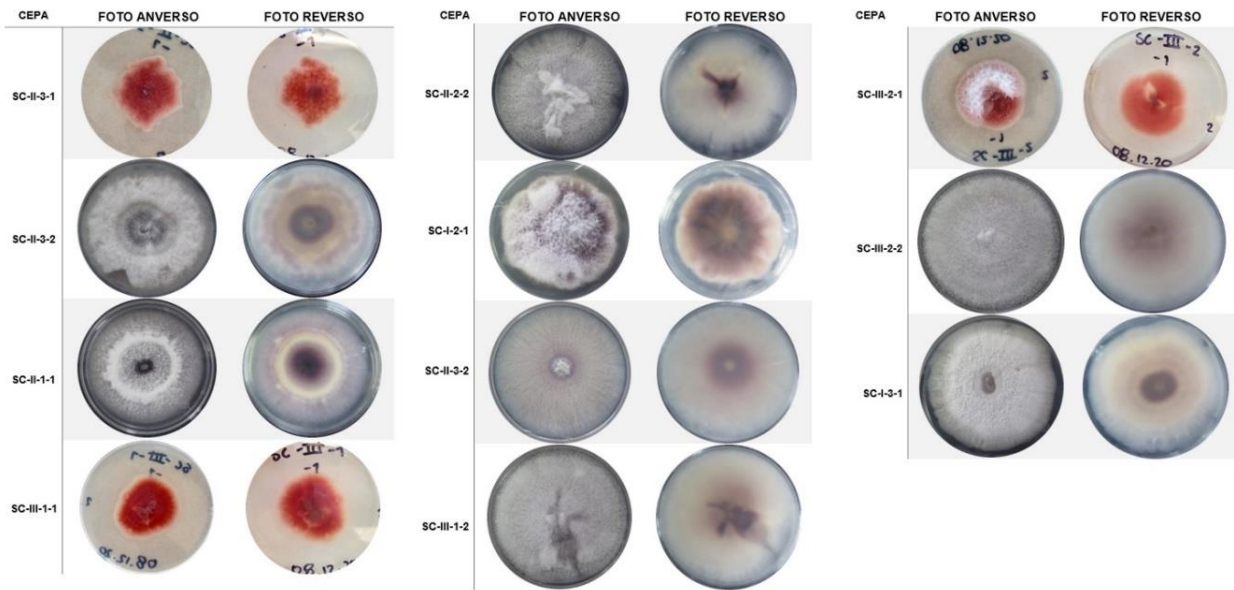


Figura 4. Características visibles de las cepas aisladas de *F. oxysporum* por el anverso y reverso de las cajas Petri. Fuente: Elaboración propia.

Los estudios realizados son el resultado de características morfológicas presentes en las plantas cuando hay presencia de Fusariosis que causa mermas significativas en el rendimiento, por tanto, cuando se observen los síntomas que se muestran en la Figura 5 se puede inferir con alto grado de confiabilidad la presencia de dicha enfermedad.



Figura 5. Plantas de tomate en etapa de fructificación presentando síntomas de marchitez y amarillamiento. Fuente: Elaboración propia.

Aunque en el presente trabajo no se realizaron estudios basados en técnicas moleculares para confirmar las especies presuntivas que indica el Cuadro 4, se considera importante para la identificación rápida y precisa de la enfermedad en condiciones de campo. Por tanto, el segundo paso, para estudios más detallados será necesario el uso de herramientas moleculares para confirmar cuestiones más específicas del patógeno en cuestión y así evitar una diferenciación inequívoca de la forma especial del patógeno.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron 11 aislamientos de *F. oxysporum*, principalmente de raíz, corona y tallo de plantas de tomate con sintomatología típica de fusariosis, mediante técnica de cultivos monospóricos.

Presuntivamente se obtuvieron cuatro cepas de *F. oxysporum* fsp. *lycopersici*, y siete cepas de *F. oxysporum* fsp. *radicis-lycopersici*, identificadas según su ubicación en el órgano de la planta. Estos resultados forman parte del primer Banco de microorganismos patógenos de cultivos orgánicos del Valle del Yaqui, Sonora, México para su futuro uso en estudios moleculares, y para el biocontrol con el uso de microorganismos antagonistas y/o extractos vegetales.

Se sugiere en trabajos posteriores se realice la identificación molecular de los aislamientos obtenidos para la diferenciación de las formas especiales de *F. oxysporum* y así corroborar los resultados presuntivos según su ubicación en el tejido vegetal, que se presentan.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


- Arie T (2019). *Fusarium* diseases of cultivated plants, control, diagnosis, and molecular and genetic studies. *Journal of Pesticide Science*, 19-23.
- Ascencio-Álvarez A et al. (2008). Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 26(2): 114-120.
- Attia MS et al. (2022). Plant growth-promoting fungi as biocontrol tool against *Fusarium* wilt disease of tomato plant. *Journal of Fungi*, 8(8): 775.
- Attitalla I et al. (2004). A rapid molecular method for differentiating two special forms (*lycopersici* and *radicis-lycopersici*) of *Fusarium oxysporum*. *Mycology Research* 108(7): 787-794.
- Bayona LG et al. (2011). *Revista Iberoamericana de Micología*, 28(4): 166-172.
- Bektas I; Kusek M (2019). Phylogenetic and morphological characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. cepae the causal agent of basal rot on onion isolated from Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(3): 1733-1742.


- Dominguez AG (2012). Aislamiento, identificación y distribución de *Fusarium spp.* en jitomate cultivado en suelo bajo invernadero en Morelos, México Instituto Politécnico Nacional. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. (Tesis de Maestría en Ciencias). 107 p.
- Gayosso-Barragán O et al. (2021). Evaluación de la respuesta de diferentes genotipos de tomate a *Fusarium oxysporum* raza 3. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 12(3): 409-420.
- Hinojosa-Ochoa B et al. (2018). Atlas agroalimentario 2018. de SAGARPA–SIAP. Disponible en: https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018. Consultado el 15/09/2022.
- Horinouchi H et al. (2007). *Fusarium equiseti* GF191 as an effective biocontrol agent against *Fusarium* crown and root rot of tomato in rock wool systems. Crop Protection, 26(10): 1514-1523.
- Jones JP (1993). *Fusarium* crown and root rot. The American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota, USA. 73p.
- Katan T et al. (1997). Sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on stem surfaces of tomato plants and aerial dissemination of inoculum. Phytopathology, 87: 712-719.
- Kenneth R et al. (2017). Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. sp. *apii* asociado a la marcitez del apio en Costa Rica. Agronomía Costarricense, 42.
- Leslie JF; Summerell BA (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. Wiley Blackwell. USA. 388p.
- Martínez-Gallardo JÁ et al. (2019). Identificación y distribución de *Meloidogyne* spp. en tomate de Sinaloa México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 10(2): 453-459.
- Paulus AO (1993). *Fusarium* Wilt. Compendium of Tomato Diseases. Second Printing. The American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota, USA. 73p.
- Wei J; Wu B (2020). Chemistry and bioactivities of secondary metabolites from the genus *Fusarium*. Fitoterapia, 146: 104638.


Enhancing the yield of spores of *Bacillus cereus sensu lato* strain B25 by evaluating culture media and fermentation parameters

Recibida em: 16/09/2022

Aprobado em: 20/09/2022

 10.46420/9786581460594cap3

Juan C. Martínez-Álvarez¹ 

Claudia Castro-Martínez¹ 

Melina López-Meyer¹ 

Ignacio E. Maldonado-Mendoza^{1*} 

ABSTRACT

Bacillus cereus sensu lato strain B25 has previously been used as an active component of a powder formulation that can be applied in the biological control of the phytopathogenic fungus *Fusarium verticillioides* in corn. In the present work, we investigated the effect of bacterial growth conditions on the production of spores by *Bacillus* B25 during batch fermentation. The increase in spore yield was examined using different culture media and physical fermentation parameters. Using a batch culture strategy, the highest *Bacillus* B25 spore production was achieved with incubation in DSM broth medium at 25 °C, pH 6.0 and 150 rev min⁻¹, in which we obtained a yield of up to 6×10^8 spores mL⁻¹ and a sporulation efficiency of 80%. Due to the agricultural importance of this bacterial isolate in controlling certain fungal diseases, our results regarding the optimization of growth and sporulation conditions will be very useful for the future production of this isolate on a commercial scale.

INTRODUCTION

The bacterium *Bacillus* was one of the first successful biocontrol agents to be used against insects and pathogens (Kumar et al., 2012). Indeed, its spore forming ability makes it an ideal candidate for developing efficient biopesticide products (Chen et al., 2014). *Bacillus* spores offer an effective solution to formulation problems since they are highly resistant to desiccation, which is a feature required in powder formulations (Kumar et al., 2012). *Bacillus* spores are also tolerant to extreme abiotic environmental conditions (such as temperature, pH, pesticides and fertilizers) that are typically present in crop fields (Nakkeeran et al., 2005; Saharan and Nehra, 2011; Ramirez-Peralta et al., 2012; Verma et al., 2013). This

¹ Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Biotecnología Agrícola, CIIDIR-Unidad Sinaloa, Guasave, Sinaloa, México.

*E-mail: imaldona@ipn.mx

durability of *Bacillus* spores allows the use of formulation processes that otherwise might impact the viability of a less resistant microbial biomass such as vegetative cells (Schisler et al., 2004). Finally, biological products based on bacterial spores have the advantage of storability in a stable form for up to 1-3 years in room conditions (Laloo, 2010; Kumar et al., 2012).

Two main factors have limited the commercial success of biocontrol products: adequate methods for large-scale biomass production and appropriate formulation technologies (Boyetchko et al., 1999; Gašić and Tanović, 2013). When producing *Bacillus* spp. biomass, fermentation protocols should be designed to maximize the production of spores rather than vegetative cells (Driks, 2004; Omer, 2010). Optimization of biomass production protocols for industrial production should be aimed at guaranteeing an increase in the amount of the product, without compromising its efficacy or its susceptibility to stabilization or formulation (Schisler et al., 2004). Since the high costs required in producing spores have delayed their use in agriculture, improving spore yield in the production of currently used industrial strains of *Bacillus* is central to solving this problem (Chen et al., 2010). Indeed, various attempts to enhance *B. subtilis* spore yields are well documented in the literature (Cazemier et al., 2001; Monteiro et al., 2005; Chen et al., 2010; Monteiro et al., 2014).

Bacillus cereus sensu lato strain B25 was originally isolated from the maize rhizosphere (Cordero-Ramírez et al., 2013). This strain was selected for its *in vitro* antagonistic activity toward *F. verticillioides*. Along these lines, *Bacillus* B25 has been reported to exhibit protease, glucanase, and chitinase activities as well as siderophore production (Figueroa-López et al., 2016). Moreover, *Bacillus* B25 was tested in maize plants in pots and in field assays against *F. verticillioides*, where it was observed to reduce the incidence and severity of the disease, as well as elicit a decrease in fumonisin levels in maize grains (Figueroa-López, 2011; Cordero-Ramírez et al., 2013; Lizárraga-Sánchez et al., 2015). The main objective of the present study was to find a means to increase the production of *B. cereus sensu lato* strain B25 spores in liquid batch fermentation by evaluating different cultivation media and physicochemical fermentation parameters.

MATERIALS AND METHODS

Biological material

Bacillus cereus sensu lato strain B25 (*Bacillus* B25) is part of the CIIDIR-003 scientific collection at the CIIDIR-IPN Unidad Sinaloa. It is maintained as a frozen 15% glycerol stock (-70 °C) (Cordero-Ramírez et al., 2013).

Preculture conditions

For inoculum preparation, an assay tube containing 5 mL of Luria Broth (LB) medium was inoculated with a single colony of *Bacillus* B25 from a fresh 24 h LB plate culture. The culture was incubated on an orbital shaker at 30 °C and 200 rev min⁻¹ for 18 h. Next, the cells were used to inoculate a 500 mL

Erlenmeyer flask containing 100 mL of LB medium (1% v/v), which was incubated at 30 °C and 200 rev min⁻¹ for 24 h until a final optical density of 1,0 was obtained. Subsequently, 1×10^8 cells from this culture were used to inoculate 500 ml Erlenmeyer flasks for the experiments (Martínez-Álvarez et al., 2016).

Standardization of sporulation time

For sporulation time standardization, a 500 mL Erlenmeyer flask containing 100 mL of Difco Sporulation Medium (DSM) was inoculated with 1×10^8 inoculum cells and incubated at 30 °C and 200 rev min⁻¹. The culture was monitored at 24, 48, 72 and 96 h after inoculation to determine the time point for the highest possible spore production. The Schaeffer and Fulton differential staining method was used to detect spores (Schaeffer and Fulton, 1933).

Effect of fermentation parameters on sporulation

Experiments were performed in 500 mL Erlenmeyer flasks containing 100 mL of DSM (Monteiro et al., 2005). Each experimental flask was inoculated with 1×10^8 *Bacillus* B25 cells as described above. Culture conditions were defined according to the experimental design, and all tests were monitored for 72 h (Rao et al., 2007; Chen et al., 2010). The variables considered for evaluation and analysis included temperature, pH and agitation. A full 2³ factorial design was generated with four replicates at the basal level values, resulting in a total of 12 experiments.

Effect of different culture media on sporulation

Bacillus B25 was grown in 500 mL Erlenmeyer flasks containing 100 mL of different sporulation media and incubated at 25 °C and 150 rev min⁻¹ to evaluate the strain for spore production at 72 h. The DSM contained peptone (5 g L⁻¹), yeast extract (3 g L⁻¹), KCl (1 g L⁻¹), and MgSO₄•7 H₂O (0,12 g L⁻¹). After sterilization (121 °C at 1,5 psi for 15 min) before use, 1 mL of each of the following filter-sterilized solutions was added to the DSM (pH: 7.6): 1 M Ca(NO₃)₂, 10 mM MnCl₂•4 H₂O, and 1 mM FeSO₄ (Monteiro et al., 2005). The 2DSM (pH: 7.0) essentially contained double-strength concentrations of each component in DSM (Monteiro et al., 2005). The 2XSG medium contained nutrient broth, 16 g L⁻¹; MgSO₄•7 H₂O, 0,5 g L⁻¹; and KCl, 2,0 g L⁻¹. After the 2XSG medium was autoclaved and cooled to 55 °C, the following components were added: 1 M Ca(NO₃)₂, 1,0 mL; 0,1 M MnCl₂•H₂O, 1,0 mL; 1 mM FeSO₄, 1,0 mL; and 50% (w/v) glucose, filter sterilized, 2,0 mL (Leighton and Doi, 1971). The TYE medium (pH: 7.0) contained tryptone (0.5%) and yeast extract (0.25%) (Verma et al., 2013). Each experiment was inoculated with 1×10^8 colony forming units (cfu) of *Bacillus* B25 inoculum produced as described above. After sporulation, colonies were counted and reported as cfu mL⁻¹.

Effect of the medium components on sporulation

To determine the significant contributions of DSM sporulation medium components to the production of spores, a principal component analysis was performed using a fractional factorial design (2^{7-4} III), running a total of 12 experiments in flasks that were incubated at 25 °C and 150 rev min⁻¹ for 72 h. The variables that we evaluated and analyzed were all components of the medium: peptone, yeast extract, KCl, MgSO₄•7 H₂O, Ca(NO₃)₂, MnCl₂ and FeSO₄. During fractional factorial design, independent variables were tested at two levels, at the low and the high level (coded -1 and 1), greater or lesser than the basal level (coded 0), respectively. The average spore yield values were considered the response values (Heck et al., 2005).

Determination of sporulation

The viable spore concentration was calculated by colony count after heat shock treatment. The *Bacillus* B25 heat shock procedure was performed by heating spore suspensions at 80 °C for 10 min, followed by rapid cooling to room temperature. Sequential dilutions were made, and 100 µL samples were spread on LB agar plates. The plates were incubated for 24 h at 25 °C, and visible colonies were counted. Sporulation frequencies were calculated by counting the cfu number per mL, both before and after the heat treatment. Values were then expressed as (spore count after heat treatment/spore count before heat treatment) × 100. All experiments were performed in triplicate (Chen et al., 2010; Tavares et al., 2013).

Data processing

All experiments were designed and analyzed using the Design Expert 7,0 statistical package. The average spore yield values (cfu mL⁻¹) were considered the response values. To analyze the effect of the fermentation parameters and the effect of medium components on sporulation, spore yield average values were transformed into common logarithm values (log₁₀). The goodness of fit for the regression equation was expressed as the coefficient of determination (R²), and the statistical significance was determined using Fisher's F test (ANOVA). Design Expert 7,0 was used to plot the response surface graphics (Heck et al., 2005).

RESULTS AND DISCUSSION

Within the agriculture industry, spore-producing bacteria are currently receiving attention as potential biopesticides and growth promoters that could be used in place of agrochemicals (Errington, 2003; Rao et al., 2007). Our study is particularly relevant to this, since there is also commercial interest in the ability to produce a high concentration of spores in a short period of time (Brar et al., 2006).

One of the main aspects to consider in developing a biological control product is biomass production. This is a challenging process due to the difficulty of evaluating each of the influencing factors, and consequently, much work has been devoted to the study of biomass production (Tzeng et al., 2008). Typically, spore production depends on the nutrients present in the culture medium accumulated by the bacteria during vegetative growth; therefore, obtaining an optimal spore yield requires the significant development and accumulation of vegetative cell biomass (Monteiro et al., 2005).

Physical and chemical conditions such as temperature, pH and agitation and culture medium nutritional factors such as the carbon and nitrogen sources, minerals, vitamins and carbon-nitrogen ratio are among the most important factors that can influence growth, spore formation and the effectiveness of a biological control product (Brar et al., 2006). In the present work, we studied the influence of different culture media components and fermentation parameters (temperature, pH and agitation) on *Bacillus* B25 sporulation.

In this work, the sporulation time was first determined, obtaining as a result that the sporulation percentage increased from 0-50% during the 24 to 48 h period. There was an increase in sporulation from 50-80% during the 48- to 72-h period, whereas there was no increase in sporulation after 72 h (data not shown). Based on these results, 72 h was selected as the optimal incubation period for *Bacillus* B25 sporulation in DSM broth.

Table 1 summarizes the spore production results from the model at each experimental point. The maximum spore production was observed at 25 °C, pH 6.0 and 150 rpm. The results were fitted to a linear regression model containing three linear and four interaction terms. The regression equation (1) obtained after the analysis of variance shows that the production of spores is a function of the temperature, pH and agitation variables. Each term, regardless of its importance, was included in the following equation:

$$Y = 19.16226 - 0.33797x_1 - 1.18314x_2 - 0.044053x_3 + 0.037231x_1x_2 + 0.00139168x_1x_3 + 0.0056269x_2x_3 - 0.000183949x_1x_2x_3 \quad (1)$$

where Y corresponds to the production of spores and x_1 , x_2 and x_3 are the coded values of the evaluated temperature, pH and agitation variables, respectively. According to equation (1), the three linear factors (x_1 , x_2 and x_3) have an inverse effect on the production of spores, whereas each interaction (x_1x_2 , x_1x_3 and x_2x_3) has a proportional effect, except for the tripartite interaction between temperature-pH-agitation ($x_1x_2x_3$). The fit level of the regression model equation is expressed by the coefficient of determination (R^2 or adj R^2 ; data not shown), indicating that 99,28% (or 97,61%, for adj R^2) of the variability in the response could be accounted for by the model equation. This demonstrates that equation (1) is a suitable model to describe the response of the experimental results in spore production.

Table 1. Effect of growth conditions on spore production by *Bacillus* B25.

Run	Coded parameters ¹			Spore yield (× 10 ⁸ cfu ml ⁻¹)
	X ₁	X ₂	X ₃	
1	1	1	-1	1,033±0,094
2	-1	1	-1	2,200±0,141
3	1	1	1	0,466±0,047
4	-1	-1	1	2,666±0,236
5	-1	1	1	2,783±0,024
6	1	-1	-1	1,050±0,071
7	1	-1	1	1,000±0,094
8	-1	-1	-1	5,433±0,047
9	0	0	0	1,783±0,212
10	0	0	0	1,550±0,165
11	0	0	0	1,466±0, 94
12	0	0	0	1,416±0,071

¹X₁, X₂ and X₃ refer to temperature, pH and agitation, respectively. Levels of the coded parameters -1, 0 and +1 refer to minimal, central and maximum values for each factor, respectively. Temperature (25, 30 and 35 °C, respectively); pH (6.0; 8.0 and 10.0, respectively); agitation (150, 200 and 250 rpm, respectively).

Our results reveal that temperature, pH and agitation all had a significant effect on spore production (Table 2). Temperature was the most significant factor (P=0,0004) since it inversely affected spore production, followed by the interaction between temperature-pH-agitation (P=0,0097), pH (P=0,0105), and agitation (P=0,0192). Moreover, the interactions between temperature-pH, temperature-agitation and pH-agitation did not show any statistical significance (Table 2).

Table 2. Regression analysis for the production of spores by *Bacillus* B25.

Factor	SS ¹	DF	MS	F	P
Model	0,81	7	0,12	59,32	0,0033
X ₁	0,63	1	0,63	324,23	0,0004
X ₂	0,063	1	0,063	32,70	0,0106
X ₃	0,041	1	0,041	21,21	0,0192
X ₁ X ₂	1,554E-004	1	1,554E-004	0,080	0,7956
X ₁ X ₃	3,193E-003	1	3,193E-003	1,64	0,2898
X ₂ X ₃	9,406E-004	1	9,406E-004	0,48	0,5365
X ₁ X ₂ X ₃	0,068	1	0,068	34,85	0,0097
Curvature	7,499E-004	1	7,499E-004	0,39	0,5783
Pure Error	5,825E-003	3	1,942E-003		
Total	0,81	11			

¹SS: sum of squares; DF: degrees of freedom; MS: mean of square; F: F value; P: probability value. P values less than 0.0500 indicate that the model terms are significant. X₁, X₂ and X₃ refer to temperature, pH and agitation, respectively.

To observe the type of interaction between the different variables, response surface graphs were generated. Figure 1 shows the effect of the interaction between temperature and pH on spore production at 200 rev min⁻¹. The difference in spore production at 25 °C, pH 6.0 ($4,05 \times 10^8$ cfu mL⁻¹), and at 25 °C, pH 10.0 ($2,45 \times 10^8$ cfu mL⁻¹), was $1,6 \times 10^8$ cfu mL⁻¹. On the other hand, the difference in spore production at 35 °C, pH 6.0 ($1,02 \times 10^8$ cfu mL⁻¹), and at 35 °C, pH 10.0 ($0,75 \times 10^8$ cfu mL⁻¹), was $0,27 \times 10^8$ cfu mL⁻¹. Figure 2 shows the effect of the interaction between temperature and agitation on spore production at pH 8.0. The difference in spore production at 25 °C and 150 rev min⁻¹ ($3,81 \times 10^8$ cfu mL⁻¹) and at 25 °C and 250 rev min⁻¹ ($2,72 \times 10^8$ cfu mL⁻¹) was $1,09 \times 10^8$ cfu mL⁻¹. On the other hand, the difference between spore production at 35 °C, 150 rev min⁻¹ ($1,04 \times 10^8$ cfu mL⁻¹), and at 35 °C, 250 rev min⁻¹ ($0,73 \times 10^8$ cfu mL⁻¹), was $0,31 \times 10^8$ cfu mL⁻¹. Figure 3 shows the effect of the interaction between agitation and pH on the production of spores at a fixed temperature of 30 °C. The difference in spore production at 150 rev min⁻¹, pH 6.0 ($3,24 \times 10^8$ cfu mL⁻¹), and at 250 rev min⁻¹, pH 10.0 ($1,61 \times 10^8$ cfu mL⁻¹), was $1,63 \times 10^8$ cfu mL⁻¹. The difference in spore production at 250 rev min⁻¹, pH 6.0 ($1,3 \times 10^8$ cfu mL⁻¹), and at 250 rev min⁻¹, pH 10.0 ($1,62 \times 10^8$ cfu mL⁻¹), was $0,21 \times 10^8$ cfu mL⁻¹.

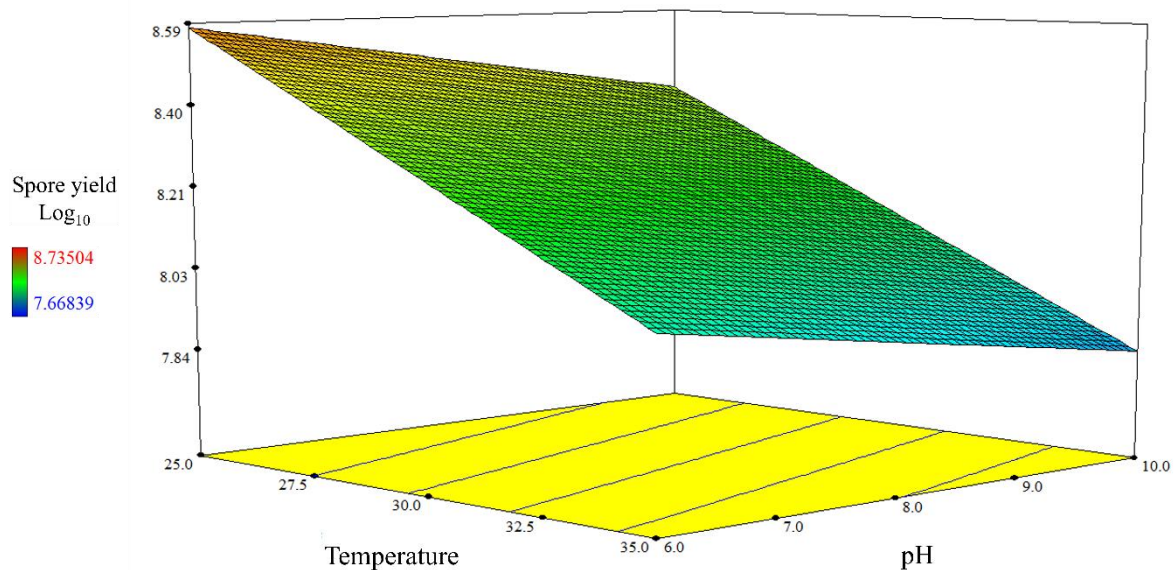


Figure 1. Contour plot and response surface for the analysis of spore yield by *Bacillus* B25. The plot examines the interaction between the temperature-pH factors.

Figures 1, 2 and 3 demonstrate that conditions of 25 °C, pH 6.0 and 150 rev min⁻¹ are optimal for maximizing spore production by *Bacillus* B25 and that the temperature factor has the greatest influence on spore production. These results are in agreement with other studies in the literature, including Moita, Feio, Nunes, Curto and Roseiro (2005), who evaluated the influence of fermentation conditions (temperature, pH and agitation) on growth, sporulation and the production of antifungal metabolites in *B. subtilis*. Their

data analysis revealed that the highest values for spore production ($4,4 \times 10^7$ cfu mL⁻¹) were produced under low temperature and agitation values (Moita et al., 2005), similar to our results. Monteiro et al. (2005) worked on optimizing the culture parameters (pH, dissolved oxygen concentration, and medium composition) for growth and sporulation processes in *B. subtilis* using batch-controlled cultures in 2-liter fermenters. Their results indicate that sporulation efficiency is independent of pH values within the range of 6.0-9.0, although the best results were achieved at pH 7.5. In contrast, (Posada-Uribe et al., 2015) showed that the use of a constant pH (either 6.5 or 7.0) did not significantly affect the total cell, spore density, or sporulation efficiency. Under their uncontrolled pH conditions, the pH varied between 5.5 and 7.0 during the 48 h of fermentation, reaching a spore density between $2,27-9 \times 10^9$ cfu mL⁻¹ and a sporulation efficiency of 92,9%.

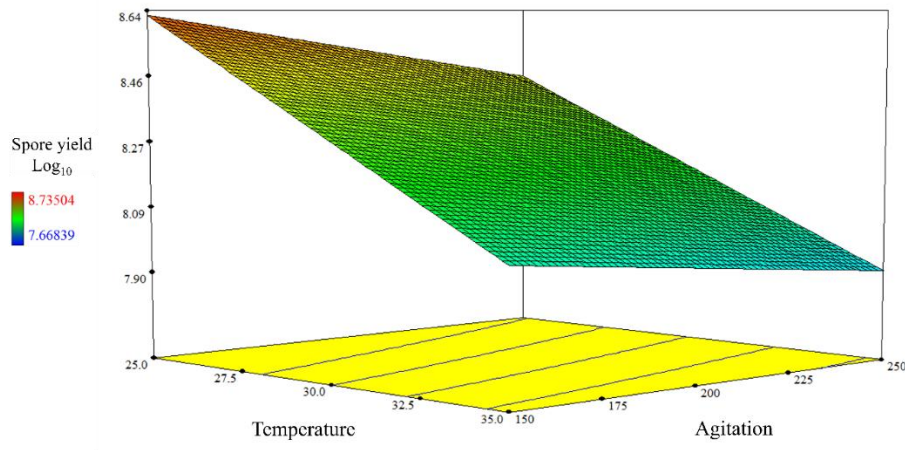


Figure 2. Contour plot and response surface for analysis of spore yield by *Bacillus* B25. The plot examines the interaction between the temperature-agitation factors.

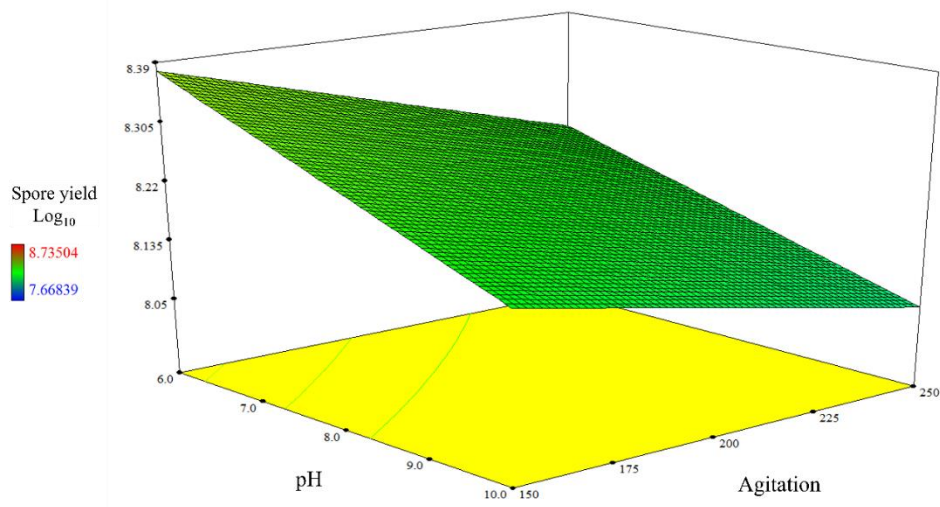


Figure 3. Contour and surface response plot for analysis of spore yield by *Bacillus* B25. The plot examines the interaction between the pH-agitation factors.

After evaluating different growth conditions, the sporulation efficiency of *Bacillus* B25 was determined in different growth media. Four growth media were tested (DSM, 2DSM, 2XSG and TYE) and incubated for 72 h. Under the testing conditions, the highest spore production by *Bacillus* B25 was obtained in DSM broth, with a sporulation efficiency of 80% and a maximum spore concentration of $6,1 \times 10^8$ cfu mL⁻¹ after 72 h of incubation (data not shown).

These results are consistent with the report that *B. subtilis* strain 1012, when incubated in DSM broth, could reach spore concentrations of 4×10^8 cfu mL⁻¹ after 24 h of incubation or $6,7 \times 10^8$ cfu mL⁻¹ after 72 h of incubation Tavares et al. (2013). On the other hand, Monteiro et al. (2005) evaluated the effects of DSM and 2DSM on *B. subtilis*, showing that duplicating the DSM concentration (2DSM) produces a significant increase (48-77%) in sporulation efficiency. Indeed, this effect led to a 50% increase in the final spore concentration, reaching $4,8 \times 10^9$ spores mL⁻¹.

Table 3. Effect of the culture medium components on spore production in *Bacillus* B25.

Run	Spores	Independent variables ¹						Spore yield ($\times 10^8$ cfu ml ⁻¹)
		X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	
1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	4,20±0.10
2	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1,15±0.11
3	1	1	-1	1	-1	-1	-1	2,30±0.40
4	1	-1	1	-1	1	-1	-1	4,45±0.56
5	-1	-1	-1	1	1	1	-1	3,30±0.55
6	1	1	1	1	1	1	1	1,80±0.36
7	1	-1	-1	-1	-1	1	1	2,40±0.36
8	-1	-1	1	1	-1	-1	1	0,86±0.08
9	0	0	0	0	0	0	0	6,00±0.36
10	0	0	0	0	0	0	0	6,30±0.61
11	0	0	0	0	0	0	0	5,80±0.56
12	0	0	0	0	0	0	0	6,20±0.30

¹X₁: peptone; X₂: yeast extract; X₃: KCl; X₄: MgSO₄; X₅: MnCl₂; X₆: FeSO₄; X₇: Ca(NO₃)₂. Levels of the coded parameters -1, 0 and +1 refer to minimal, central and maximum values for each factor, respectively. Peptone (0,5; 5,0 and 9,5 gr L⁻¹, respectively); yeast extract (0,3; 3,0 and 5,7 gr L⁻¹, respectively); KCl (0,1; 1,0 and 1,9 gr L⁻¹, respectively); MgSO₄ (0,012; 0,12 and 0,228 gr L⁻¹, respectively); MnCl₂ 10 mM (0,1 and 1,0 and 1,9 mL L⁻¹, respectively); FeSO₄ 1 mM (0,1; 1,0 and 1,9 mL L⁻¹, respectively) and Ca(NO₃)₂ 2,1 M (0,2; 2,0 and 2,8 mL L⁻¹, respectively).

Once we selected the appropriate culture medium, the next step was to optimize it. To do this, a principal component analysis was conducted using a fractional factorial design to determine which of the components of the culture medium showed a significant effect on spore production. With the exception of Ca(NO₃)₂, all of the components showed a significant effect on spore production (P<0,05). No further

optimization was then needed, since the highest values for spore production by *B. cereus* B25 were obtained using the original concentrations of the medium (Table 3, Table 4).

Table 4. Analysis of variance for spore production by *Bacillus* B25.

Factor	SS ¹	DF	MS	F	P
Model	0,99	7	0,14	558,40	0,0001
X ₁	1,03	1	1,03	4069,51	< 0,0001
X ₂	0,92	1	0,92	3616,43	< 0,0001
X ₃	2,860E-005	1	2,860E-005	0,11	0,7592
X ₄	0,56	1	0,56	2216,39	< 0,0001
X ₅	0,012	1	0,012	46,80	0,0064
X ₆	0,23	1	0,23	901,83	< 0,0001
X ₇	0,046	1	0,046	179,65	0,0009
Pure Error	7,614E-004	3	2,538E-004		
Total	1,83	11			

¹ SS: sum of squares; DF: degrees of freedom; MS: mean of square; F: F value; p: probability value. P values less than 0,0500 indicate that the model terms are significant. X₁: peptone; X₂: yeast extract; X₃: KCl; X₄: MgSO₄; X₅: MnCl₂; X₆: FeSO₄; X₇: Ca(NO₃)₂.

CONCLUSION

In conclusion, we determined that the highest spore production for *B. cereus sensu lato* strain B25 was obtained in DSM broth. Not only was the DSM effective, but it could yield up to 6×10^8 spores mL⁻¹ (80% sporulation) under optimal growth conditions in batch culture. Maximizing spore production by *Bacillus* B25 required conditions of 25 °C, pH 6.0, 150 rev min⁻¹ and 72 hours of incubation, while the factor with the greatest influence on spore production was temperature. Since *Bacillus* B25 has great potential for use as a biological control agent against phytopathogens in agriculture, our results on the optimization of growth conditions will be highly relevant to future work aiming to scale up the production of this bacterial isolate.

REFERENCES

- Boyetchko S et al. (1999). Formulations of biopesticides Biopesticides: Use and delivery: Springer. 487-508p.
- Brar SK et al. (2006). Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. Process Biochem, 41(2): 323-342.
- Cazemier A et al. (2001). Effect of sporulation and recovery medium on the heat resistance and amount of injury of spores from spoilage bacilli. Journal of Applied Microbiology, 90(5): 761-770.


- Cordero-Ramírez JD et al. (2013). Native soil bacteria isolates in Mexico exhibit a promising antagonistic effect against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Journal of Basic Microbiology* 53(10): 838-847.
- Chen F et al. (2014). Preparation of wetting powder for biocontrol *Bacillus subtilis*. Paper presented at the Proceedings of the 2012 International Conference on Applied Biotechnology (ICAB 2012).
- Chen Z et al. (2010). Greater enhancement of *Bacillus subtilis* spore yields in submerged cultures by optimization of medium composition through statistical experimental designs. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(5): 1353-1360.
- Driks A (2004). The *Bacillus* spore coat. *Phytopathology*, 94(11): 1249-1251.
- Errington J (2003). Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*. *Nature Reviews Microbiology*, 1(2): 117p.
- Figuroa-López AM (2011). Escrutinio masivo de un banco de germoplasma para obtener microorganismos antagonistas a *Fusarium verticillioides*. Departamento de Biotecnología Agrícola, Instituto Politécnico Nacional (Tesis), Guasave, México. 117p.
- Figuroa-López AM et al. (2016). Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. *SpringerPlus*, 5(1): 330.
- Gašić S; Tanović B (2013). Biopesticide formulations, possibility of application and future trends. *Pesticidi i fitomedicina*, 28(2): 97-102.
- Heck JX et al. (2005). Optimization of cellulase-free xylanase activity produced by *Bacillus coagulans* BL69 in solid-state cultivation. *Process Biochemistry*, 40(1): 107-112.
- Kumar P et al. (2012). Diversity of bacilli from disease suppressive soil and their role in plant growth promotion and yield enhancement. *New York Sci J*, 5(1): 90-111.
- Laloo R (2010). Development of a bioprocess for the production of an aquaculture biological agent. University of Stellenbosch (Thesis), Stellenbosch. 132p.
- Leighton T; Doi RH (1971). The stability of messenger ribonucleic acid during sporulation in *Bacillus subtilis*. *Journal of Biological Chemistry*, 246(10): 3189-3195.
- Lizárraga-Sánchez GJ et al. (2015). *Bacillus cereus sensu lato* strain B25 controls maize stalk and ear rot in Sinaloa, Mexico. *Field Crops Research*, 176: 11-21.
- Martínez-Álvarez JC et al. (2016). Development of a powder formulation based on *Bacillus cereus sensu lato* strain B25 spores for biological control of *Fusarium verticillioides* in maize plants. *World J Microbiol Biotechnol*, 32(75): 1-10.
- Moita C et al. (2005). Optimisation of physical factors on the production of active metabolites by *Bacillus subtilis* 355 against wood surface contaminant fungi. *International biodeterioration & biodegradation*, 55(4): 261-269.

- Monteiro S et al. (2014). Enhanced spore production of *Bacillus subtilis* grown in a chemically defined medium. *Advances in Microbiology*, 4(08): 11.
- Monteiro S et al. (2005). A Procedure for high-yield spore production by *Bacillus subtilis*. *Biotechnology progress*, 21(4): 1026-1031.
- Nakkeeran S et al. (2005). Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases PGPR: Biocontrol and Biofertilization Springer. 257-296.
- Omer AM (2010). Bioformulations of *Bacillus* spores for using as biofertilizer. *Life Science Journal*, 7: 124-131.
- Posada-Urbe LF et al. (2015). Effect of medium components and culture conditions in *Bacillus subtilis* EA-CB0575 spore production. *Bioprocess and biosystems engineering*, 38(10): 1879-1888.
- Ramirez-Peralta A et al. (2012). Effects of sporulation conditions on the germination and germination protein levels of *Bacillus subtilis* spores. *Applied and environmental microbiology*, 78(8): 2689-2697.
- Rao YK et al. (2007). Medium optimization of carbon and nitrogen sources for the production of spores from *Bacillus amyloliquefaciens* B128 using response surface methodology. *Process Biochemistry*, 42(4): 535-541.
- Saharan B; Nehra V (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Science and Medical Research*, 21: 1-30.
- Schaeffer AB; Fulton MD (1933). A simplified method of staining endospores. *Science*, 77(1990): 194.
- Schisler D et al. (2004). Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. *Phytopathology*, 94(11): 1267-1271.
- Tavares MB et al. (2013). *Bacillus subtilis* endospores at high purity and recovery yields: Optimization of growth conditions and purification method. *Current Microbiology*, 66(3): 279-285.
- Tzeng YM et al (2008). Effect of cultivation conditions on spore production from *Bacillus amyloliquefaciens* B128 and its antagonism to *Botrytis elliptica*. *Journal of Applied Microbiology*, 104(5): 1275-1282.
- Verma N et al. (2013). Screening of different media for sporulation of *Bacillus megaterium*. *International Journal of Microbiology Research and Reviews*, 1(4): 068-073.

Cultivo de camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei*) a baja salinidad en agua de mar artificial


Recibida em: 17/09/2022

Aprobado em: 21/09/2022


 10.46420/9786581460594cap4


Daniel Enrique Godínez Siordia^{1*} 

Rocío Guadalupe Cervantes Gámez¹ 


Bernabé Aguilar Palomino¹ 


José Javier Mina Lara² 

Rogelia Guillermina Lorente Adame³ 

Juan Manuel Pacheco Vega⁴ 

José Belisario Leyva Morales⁵ 

Julián Gamboa Delgado⁶ 

Ana Claudia Sánchez Ortiz⁷ 

RESUMEN

Juveniles de camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei*) fueron mantenidos en sistemas de recirculación a 15 Unidades Prácticas de Salinidad (UPS), contrastando un tratamiento control con agua de mar (AM) y un tratamiento de prueba a partir de una fórmula experimental de agua de mar artificial (FE), la cual fue elaborada con compuestos químicos de bajo costo que incluyen los cationes: Na⁺, K⁺, Ca⁺, Mg⁺, y los aniones: Cl⁻, CaCO₃⁻², SO₄⁻². Los parámetros zootécnicos analizados fueron el crecimiento, supervivencia y factor de conversión alimenticia, además de parámetros fisicoquímicos del agua. En los resultados obtenidos no se encontraron diferencias significativas (P>0.05) entre los parámetros zootécnicos de ambos tratamientos. Los valores de los parámetros fisicoquímicos del agua se mantuvieron estables, dentro de lo recomendado para el cultivo de *P. vannamei*. Las proporciones de iones entre AM y FE, en unos casos fueron diferentes, sin embargo, se obtuvo una alta sobrevivencia y adecuado crecimiento en los tres bloques experimentales, lo cual es indicativo del éxito de la propuesta experimental.

¹Departamento de Estudios para el Desarrollo Sustentable de Zonas Costeras, Centro Universitario de la Costa Sur, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.

²Acuacultura de la Costa Sur de Jalisco, San Patricio-Melaque, Cihuatlán, Jalisco, México.

³Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Centro Universitario de la Costa Sur, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.

⁴Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera, Universidad Autónoma de Nayarit, San Blas, Nayarit.

⁵Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Guasave, Guasave, Sinaloa, México.

⁶Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, N. L., México.

⁷Departamento de Ingeniería Química, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.

*Autor correspondiente: daniel.gsiordia@academicos.udg.mx

INTRODUCCIÓN

La característica fundamental del ambiente marino es el contenido de sales que concentra, el cual se expresa en partes por mil (ppt, ‰), o lo que es su equivalente en gramos por litro (g L^{-1}) y, recientemente, en unidades prácticas de salinidad (UPS), en cualquiera de los casos corresponde a la cantidad de gramos de solutos que existe en un litro de agua de mar. El valor promedio de la salinidad en los océanos del mundo está entre los 34 y 35 UPS (Carissimo et al., 2013), siendo por lo general mayor en las áreas tropicales que en los polos. En este sentido, cabe señalar que el concepto de salinidad y las lecturas realizadas al evaluar calidad de agua, no solo corresponde al cloruro de sodio presente en la muestra a analizar (aunque tanto el cloro como el sodio son parte de los ocho principales componentes), sino que la salinidad es equivalente a la suma de los iones: Ca^{2+} , Mg^{+} , Na^{+} , K^{+} , Cl^{-} , HCO_3^{-} , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} en una masa de agua. Las sales disueltas en el agua de mar forman un gran complejo de iones cuyas concentraciones se mantiene en equilibrio. Sin embargo, la proporción relativa entre cloro, sodio, magnesio, sulfatos, calcio y potasio, es más importante para los organismos marinos que la misma salinidad (Tarifeño, 2013).

El problema principal al que se enfrentan los organismos acuáticos marinos es el conservar su volumen o integridad celular, así como los solutos que intervienen en las diferentes actividades de la célula (Mantel y Farmer, 1983). Esta situación también se presenta en cultivos acuícolas. Organismos marinos como camarón blanco (*Penaeus vannamei*) requieren que exista un balance osmótico entre el agua intracelular y el medio donde se desarrollan, lo que estimulará la osmorregulación hiperosmótica gracias a su condición eurihalina, de manera permanente y dependiente de la proporción de iones en el medio (Roy et al., 2007). Esta movilización de iones y proteínas de membrana celular, crean un intercambio con el medio externo, en donde el Na^{+} , Ca^{2+} , K^{+} , Mg^{+} y Cl^{-} , son los iones más importantes en este proceso (Castillo et al., 2009).

Las tecnologías actuales para el cultivo de camarón promueven el incremento de la biomasa y la disminución del consumo de agua en sistemas cerrados, permitiendo así la sostenibilidad de la actividad (Ray et al., 2017). Sin embargo, estos desarrollos tecnológicos se han limitado a medios marinos (Arambul-Muñoz et al., 2019). Uno de los principales factores que influyen en el crecimiento y supervivencia de la familia Penaeidae es la salinidad, puesto que, dependiendo de la especie, los cambios o deficiencias en algunos cationes en el medio pueden favorecer o afectar el metabolismo del camarón. En este sentido, hace más de 17 años en la región occidente de México se iniciaron cultivos de camarón blanco (*P. vannamei*) tierra adentro en agua a baja salinidad (Saoud et al., 2003), y desde entonces, esta modalidad se ha extendido con rapidez a nivel mundial gracias a la capacidad eurihalina de la especie (Jory, 2017). A pesar de que existen algunas formulaciones empleando distintos solutos para imitar la salinidad marina, el precio de las mismas es elevado, representando una inversión considerable durante el cultivo de organismos marinos, reflejándose en una disminución de las ganancias. A su vez, el rendimiento o éxito de la producción, depende de la capacidad de adaptación de los organismos al medio marino artificial. El objetivo de este

trabajo fue evaluar el crecimiento, supervivencia y factor de conversión alimenticia de juveniles de *P. vannamei* en un sistema de cultivo a baja salinidad en recirculación a partir de agua de mar artificial, como una alternativa de bajo costo para el cultivo de esta especie de alto interés comercial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Transporte y aclimatación de juveniles de P. vannamei

Para esta investigación se utilizaron juveniles *P. vannamei* con edades de 2 a 3 meses, estos fueron proporcionados por la granja acuícola “Tenacatita” y conducidos vía terrestre al Laboratorio de Acuicultura (LA) del Departamento de Estudios para el Desarrollo Sustentable de Zonas Costeras, perteneciente al Centro Universitario de la Costa Sur de la Universidad de Guadalajara. Durante el traslado, la temperatura del agua se mantuvo a 25 °C y el oxígeno disuelto (OD) en 7 mg L⁻¹. En el LA, se realizó una aclimatación gradual a 15 unidades prácticas de salinidad (UPS) (Cuéllar-Anjel et al., 2010).

Diseño experimental

Los camarones se dividieron en tres rangos o bloques: bloque **a**: camarones con un peso de 3.6 ± 1.07 g, y una talla de 3.79 ± 0.45 cm; bloque **b**: camarones con un peso de 6.0 ± 0.7 g, y una talla de 5.0 ± 0.28 cm; y bloque **c**: camarones con un peso de 8.0 ± 0.5 g, y talla de 7.06 ± 0.68 cm. Los organismos se distribuyeron en tres repeticiones para dar un total de 300 camarones por rango a una densidad de 50 camarones por metro cuadrado.

Cuadro 1. Iones utilizados en la creación de agua de mar artificial.

Elementos	Concentración Mg L ⁻¹	Total Meq L ⁻¹
Cationes		
Na ⁺	4,222.30	185.13
K ⁺	300.00	7.73
Ca ⁺	471.00	23.69
Mg ⁺	2125.00	176.26
Aniones		
Cl ⁻	10,250.00	291.43
CaCO ₃ ⁻²	84.00	1.69
SO ₄ ⁻²	1,700.00	35.68

Cada bloque experimental tuvo una duración de cuatro semanas. Los tratamientos fueron: FE (Fórmula Experimental), tratamiento de agua de mar artificial: fórmula a 15 UPS creada a partir de los iones señalados en el Cuadro 1; y AM, tratamiento agua de mar de baja salinidad: agua de mar estéril a 15 UPS. El agua utilizada en ambos tratamientos fue filtrada a 5 µm, esterilizada por método químico

(Torrentera-Blanco y Tacon, 1989), y aireada 24 h previo a su uso. Se proporcionó alimento comercial balanceado con 40% de proteína (Silver Cup^{MR} “El Pedregal” México), al 10% de la biomasa, en dos raciones al día, en comederos de plástico asentados al fondo. Los restos de alimento, excretas y exuvias se retiraron dos veces al día por sifoneo, previo al suministro de alimento.

Se utilizaron dos sistemas con recirculación de agua independientes, uno por cada tratamiento (Figura 1); cada uno se compone de una tina de fibra de vidrio de 5,000 L, conectada a un sistema *airlift*, que permite recircular el agua a través de un tanque de filtración de 500 L, conteniendo pellets de 2 mm de HDPE (Polietileno de alta densidad) sirviendo como filtro mecánico y biológico. La aireación se proporcionó por una red interna de mangueras porosas y piedras difusoras de poro mediano, conectadas a un turbo soplador de 2 Hp (caballos de fuerza).

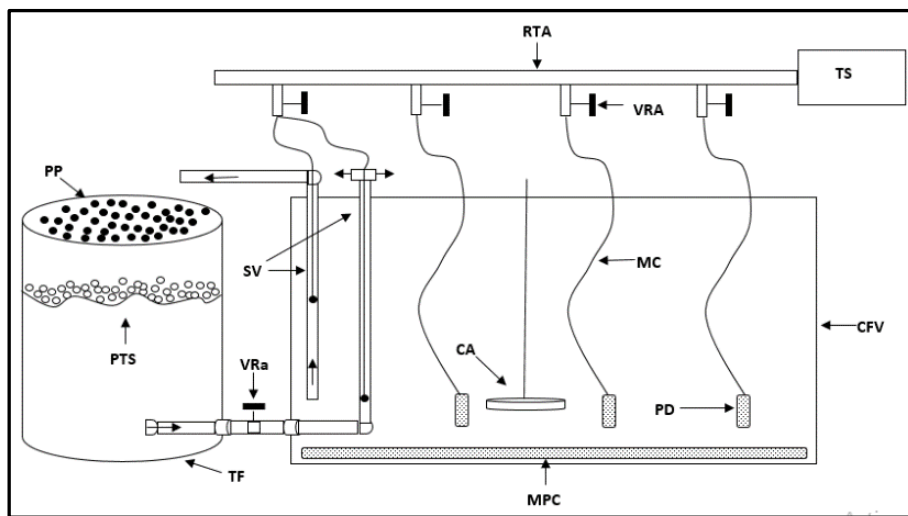


Figura 1. Diagrama general de los sistemas de recirculación (vista transversal). **CFV:** Contenedor fibra de vidrio (5,000 L). **TF:** Tanque de filtración (500L). **PTS:** Pellets 2 mm, **PP:** Poros de 3 mm, **SV:** Sistema arlift, **PD:** Piedras Difusoras (poro mediano), **MC:** Manguera cementada, **MPC:** Manguera poro cementada, **TS:** Turbo soplador (2 HP), **RTA:** Red de tubería de aire, **VRA:** Válvula reguladoras de aire, **VRa:** Válvula reguladora de agua, **CA:** Charola alimentadora (Fuente propia).

Diariamente se midieron temperatura ($^{\circ}\text{C}$), OD (mg L^{-1}), pH, UPS, conductividad (Ms cm^{-1}), con un equipo digital multiparamétrico marca YSI^{MR} modelo 556 MPS. Semanalmente con la ayuda de un espectrofotómetro marca YSI^{MR} modelo 9500, se determinó la concentración de amonio ($\text{NH}_4 \text{mg L}^{-1}$), nitritos ($\text{NO}_2 \text{mg L}^{-1}$), nitratos ($\text{NO}_3 \text{mg L}^{-1}$), fosfatos, ($\text{PO}_4 \text{mg L}^{-1}$), sólidos disueltos totales (mg L^{-1}), dureza total (mg L^{-1}) y alcalinidad total (mg L^{-1}).

Parámetros zootécnicos

Semanalmente se midió longitud de los camarones con un ictiómetro de 30 cm, desde la base del “rostrum” hasta la base de los urópodos, tomando 30 individuos por tratamiento. Adicionalmente, fueron

pesados en una balanza OHAUS^{MR} Modelo Scout, con rango de 0.01 a 100 g, para obtener la tasa de crecimiento por día (TC, gr día⁻¹). Al final, se evaluó supervivencia y se calculó el factor de conversión alimenticia (FCA = alimento consumido/biomasa de cosecha) (Zhao et al., 2012).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron sometidos a las pruebas de normalidad de Lilliefors y de igualdad de Bartlett (Conover, 1980; Zar, 1984). Una vez identificada la normalidad de los datos se procedió a aplicar análisis de varianza de una vía entre las variables de respuesta a los tratamientos. En los casos donde existieron diferencias significativas se aplicaron la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para identificar los tratamientos homogéneos (Steel y Torrie, 1960; Conover, 1980; Zar, 1984). Los análisis se realizaron con el paquete estadístico Sigma plot^{MR} ver. 11.0; con un nivel de significancia de 0.05 (Zar, 1984).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El crecimiento, en términos generales de talla y peso, presentó una tendencia alométrica y lineal, sin encontrarse diferencias significativas ($P > 0.05$) entre ambos tratamientos (Figura 2). En el Cuadro 2 se presentan los valores promedio de crecimiento y parámetros productivos calculados.

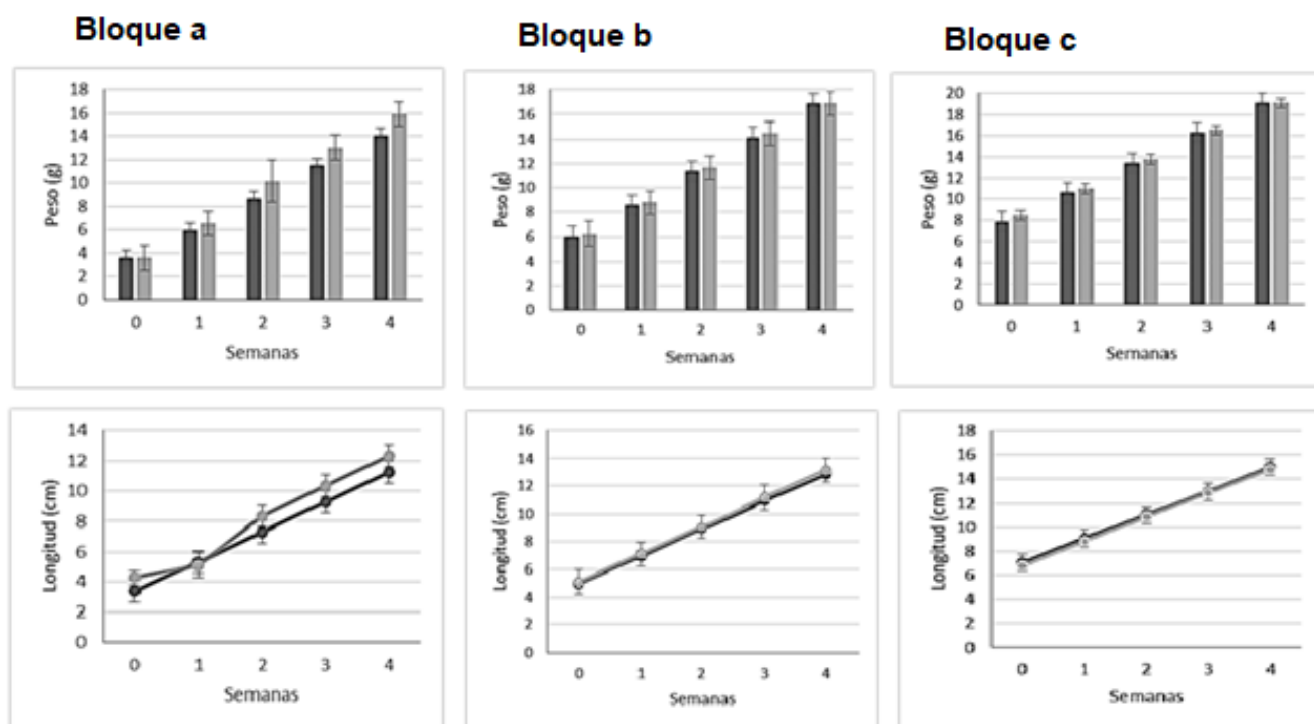


Figura 2. Crecimiento de juveniles de camarón blanco (*P. vannamei*). Está representado el promedio en peso (g \pm DE) y longitud (cm \pm DE) para cada rango de talla (bloques a, b, c) para los tratamientos agua de mar AM \blacksquare y fórmula experimental FE \blacksquare .

Cuadro 2. Resumen de producción de juveniles de *P. vannamei* para cada rango de talla (bloques a, b y c), para cada tratamiento (AM: agua de mar y FE: fórmula experimental). PF= peso final promedio \pm DE, TC = tasa de crecimiento diario, LF = Longitud final promedio \pm DE, FCA = factor de conversión alimenticia.

	a		b		c	
	AM	FE	AM	FE	AM	FE
PF (g)	15.9 \pm 1.0	14.11 \pm 0.5	16.87 \pm 0.55	16.88 \pm 0.63	19.10 \pm 0.23	19.12 \pm 0.34
TC (g d ⁻¹)	0.44	0.38	0.36	0.39	0.4	0.4
LF (cm)	12.40 \pm 0.4	11.27 \pm 0.43	13.16 \pm 0.56	12.83 \pm 0.34	14.83 \pm 0.21	14.96 \pm 0.23
Biomasa Total (kg)	4.35	3.93	4.55	4.55	5.10	5.16
Supervivencia (%)	91	93	90	90	89	90
FCA	0.3:1	0.3:1	0.4:1	0.4:1	0.4:1	0.4:1

En el Cuadro 3, se muestran los parámetros fisicoquímicos del agua, durante el período experimental. Se mantuvieron valores estables, dentro de lo recomendado para el cultivo de *P. vannamei* (Chávez e Higuera, 2003).

Cuadro 3. Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos del agua registrados para cada repetición por tallas (bloques a, b y c). Se indica desviación estándar. Superíndices indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Parámetros fisicoquímicos del agua	a		b		c	
	AM	FE	AM	FE	AM	FE
Temperatura (°C)	28.482 \pm 0.438	28.672 \pm 0.391	28.510 \pm 0.418	28.870 \pm 0.540	28.71 \pm 0.18	28.63 \pm 0.50
OD (mg L ⁻¹)	7.766 \pm 0.396	7.878 \pm 0.382	7.856 \pm 0.243	7.834 \pm 0.248	7.866 \pm 0.343	7.482 \pm 0.144
UPS	15.100 \pm 0.051	15.056 \pm 0.046	15.125 \pm 0.057	15.400 \pm 0.207	15.212 \pm 0.05	15.701 \pm 0.027
pH	7.646 \pm 0.363	7.892 \pm 0.126	7.832 \pm 0.077	8.004 \pm 0.315	7.326 \pm 0.092	8.143 \pm 0.118
Sólidos disueltos totales (mg L ⁻¹)	16.140 \pm 0.136	16.228 \pm 0.193	16.528 \pm 0.218	16.740 \pm 0.156	16.836 \pm 0.182	16.402 \pm 0.187
Conductividad (Ms cm ⁻¹)	25.208 \pm 0.283	26.730 \pm 0.299	26.458 \pm 0.288	27.060 \pm 0.160	26.458 \pm 0.222	27.033 \pm 0.105
Dureza total (mg L ⁻¹)	154 \pm 4.94	177 \pm 8.03 ^a	167.00 \pm 8.916	176.80 \pm 11.904	165.80 \pm 7.463	194.40 \pm 5.505 ^a
Alcalinidad total (mg L ⁻¹)	114.6 \pm 4.56	125.4 \pm 4.27 ^a	121.00 \pm 6.083	125.00 \pm 4.123	123.40 \pm 3.847	124.60 \pm 5.505
Nitritos (mg L ⁻¹)	1.068 \pm 0.55	0.694 \pm 0.72	1.522 \pm 0.980	0.930 \pm 0.929	1.820 \pm 1.089	1.814 \pm 1.132
Nitratos (mg L ⁻¹)	2.894 \pm 0.56 ^a	1.082 \pm 0.7	2.420 \pm 1.392	2.562 \pm 1.595	4.680 \pm 2.628	3.316 \pm 1.314
Amonio ionizado (mg L ⁻¹)	0.752 \pm 0.652	0.886 \pm 0.802	1.580 \pm 0.811	1.884 \pm 1.180	1.740 \pm 1.101	1.996 \pm 1.155
Fosfatos (mg L ⁻¹)	6.168 \pm 4.11	9.416 \pm 5.48 ^a	3.248 \pm 2.354	4.580 \pm 2.748	4.340 \pm 2.682	11.160 \pm 5.129 ^a

En términos generales, existieron muy pocas diferencias significativas entre los parámetros fisicoquímicos del agua entre tratamientos, lo cual permite aseverar el éxito de la fórmula experimental de agua de mar artificial propuesta para el cultivo de camarón.

Las sales en el agua de mar forman un gran complejo de iones donde la proporción relativa entre Cl⁻, Na⁺, Mg⁺, Ca²⁺, K⁺ y SO²⁻₄, es más importante para los organismos marinos que la misma salinidad (Tarifeño, 2013). Se mantuvo una salinidad de 15 UPS en los tratamientos, por ser la concentración en la que *P. vannamei* presenta un mejor aprovechamiento de los nutrientes, lo que se refleja en una mejor tasa

de crecimiento (Rosas et al., 2001). Se asume que en el presente estudio, los juveniles de *P. vannamei* lograron mantener el balance osmótico entre el agua intracelular y los solutos presentes en el medio acuático, estimulándose la osmorregulación hiperosmótica gracias a su condición eurihalina, de manera permanente y dependiente de la proporción de iones en el medio (Roy et al., 2007), esta movilización de iones y proteínas de membrana celular, crean un intercambio con el medio externo, donde el Na^+ , Ca^{+2} , K^+ , Mg^+ y Cl^- , son los iones más importantes en el proceso (Castillo et al., 2009). Galkanda et al. (2020), obtuvieron supervivencias del 100% en juveniles de camarón blanco en agua de mar reconstituida a 15 UPS, a partir de una mezcla de sales de bajo costo, con proporciones de $\text{Na}:\text{K} = 17.2:1$, $\text{Ca}:\text{Mg} = 3:1$ y $\text{Mg}:\text{K}$ de 3.92:1. En este trabajo las proporciones fueron: $\text{Na}:\text{K}$ de 14.07:1, equivalente a 18.19% menos, $\text{Ca}:\text{Mg}$ de 0.22:1, una reducción del 92.6%; $\text{Mg}:\text{K}$ fue 7.08:1, un aumento del 55% en esta proporción. A pesar de la reducción de iones, se logró una supervivencia superior al 90%, lo que favorece la economía de la formulación. Por otra parte, Valenzuela et al. (2017), utilizaron agua de pozo a baja salinidad, concluyeron que la relación $\text{Na}:\text{K} = 30.9:1$ y $\text{Mg}:\text{K} = 3.1:1$, fueron similares a las del agua de mar, con supervivencias del 78 al 84% con la misma especie, indicando que, mientras la relación iónica del medio de cultivo sea similar a la del agua de mar, se favorecerá la producción de camarón. La relación de $\text{Mg}:\text{K}$, en el presente trabajo fue de 3.6:1 en AM y 7.08:1 en FE, logrando una supervivencia mayor a la reportada por estos autores (Cuadro 4).

De acuerdo a Rosas et al. (2002), el consumo de energía del camarón blanco, proporcionado por el alimento, a 15 UPS, genera un mejor rendimiento en un punto isosmótico, esto ayuda a obtener una mejor ganancia de energía y un ahorro en los procesos fisiológicos para mantener el equilibrio del medio interno en relación con el externo, mejorando así la condición inmune y supervivencia (Valdez et al., 2008). En el presente estudio, el crecimiento, supervivencia, FCA y TC, en ambos tratamientos, no sufrieron afectaciones por salinidad ni temperatura. De los parámetros cuantificados, donde se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) señaladas en el Cuadro 3, es importante destacar que se mantuvieron los niveles en el rango de tolerancia para la especie. Los iones de calcio y magnesio son las fuentes más comunes de dureza en el agua, el nivel de dureza óptimo para el cultivo de camarón blanco es entre 80 y 200 $\text{mg L}^{-1} \text{CaCO}_3$ (Ching, 2007). La dureza total del agua fue mayor en FE, 177 y 194.4 mg L^{-1} . Para la alcalinidad total, se encontró diferencia en el grupo a de FE con 125.4 mg L^{-1} (114.6 mg L^{-1} en AM); según Limsuwan (2005), la alcalinidad en el cultivo de *P. vannamei* no debe ser menor a 80 $\text{mg L}^{-1} \text{CaCO}_3$. Los nitritos no deben sobrepasar 6 mg L^{-1} (Lin y Chen, 2003). El amonio ionizado (NH_4) es menos tóxico que su homólogo no ionizado (NH_3) (Emerson et al., 1975), por lo que no debe sobrepasar los 2.4 mg L^{-1} a 15 UPS (Lin y Chen, 2001), se registró 1.99 mg L^{-1} . En los fosfatos se detectaron valores mayores para FE en los bloques a y c, entre 3.24 mg L^{-1} y 11.16 mg L^{-1} , dentro del margen reportando para la especie, siendo de 0.3 a 131 mg L^{-1} (Mendoza-López et al., 2017).

Cuadro 4. Comparativa con *Penaeus vannamei* entre diversas fórmulas experimentales y agua de mar

	Galkanda et al., (2020)	Valenzuela et al., (2017)	Agua de mar Valenzuela et al., (2017)	FE	AM
Na:K	17.2:1	30.9:1	28.3:1	14.07:1	28.3:1
Ca:Mg	3:1	3.86:1	0.29:1	0.22:1	0.29:1
Mg:K	3.92:1	3.1:1	3.67:1	7.08:1	3.67:1
Supervivencia (%)	100	78.4	84.6	90-93	89-91
UPS	15	1.5	34	15	15

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos de esta investigación y bajo las condiciones de cultivo y manejo aquí señaladas, se concluye que la formulación de agua de mar artificial (FE) evaluada en el cultivo de camarón blanco (*P. vannamei*) fue un éxito, ya que se obtuvo una alta sobrevivencia y adecuado crecimiento, sin presentar diferencias significativas con el tratamiento control (MA). El siguiente paso consistirá en llevar la evaluación de esta fórmula a sistemas de producción comercial con la misma especie; y esperar el resultado de la solicitud de patente de esta fórmula ante Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, bajo el expediente: MX/a/2021/008787.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arambul-Muñoz E et al. (2019). Influence of stocking density on production and water quality of a photoheterotrophic intensive system of White shrimp (*Penaeus vannamei*) in circular lined grow-out ponds, with minimal water replacement. Latin American Journal of Aquatic Research, 47 (3): 449-455. 10.3856/vol47-issue3-fulltext-7.
- Conover WJ (1980). Practical nonparametric statistics. Second Edition, John Wiley and Sons, New York. 493 pp.
- Carissimo MS; Del Cero P; Fonalleras MC; Silva PM; Giordano MI (2013). Ecosistemas acuáticos. Ministerio de Educación de la Nación. Buenos Aires, Argentina. 150p.
- Castillo BC; Lagos ME; Cáceres CW (2009). Osmoregulación y equilibrio ácido-base en el crustáceo *Neotrypaea uncinata* (Milne Edwards, 1837) (Decapoda: Thalassinidae): consecuencias del parasitismo Por *Lonella agassizii* (Bonnier, 1900) (Isopoda: Bopyridae). Revista de Biología Marina y Oceanología. 44 (3): 715-724.
- Chávez SMC; Higuera CI (2003). Manual de buenas prácticas de producción acuícola de camarón para la inocuidad alimentaria. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). México. 95p.

- Ching C (2007). La alcalinidad en el agua de cultivo del camarón de mar *Litopenaeus vannamei*. Boletín Nocoovita. Edición Enero-Marzo. 2007. 3p.
- Cuéllar-Anjel J et al. (2010). Manual de buenas prácticas de manejo para el cultivo del camarón blanco *Penaeus vannamei*. OIRSAOSPESCA, C.A. Panamá. 43p.
- Emerson K et al. (1975). Aqueous ammonia equilibrium calculations: Effect of pH and temperature. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 32: 2379-2383.
- Galkanda AHSC et al. (2020). Evaluation of an alternative salt mixture to culture Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in inland aquaculture. Aquacatic Research, 51 (7): 1–11.
- Jory DE (2017). Crecimiento lejos de la costa: Examinando el cultivo de camarón tierra adentro. Global Aquaculture Advocate. 7p.
- Limsuwan C (2005). Cultivo intensivo de camarón blanco *Penaeus vannamei*. Boletín Nocoovita, Edición Octubre-Diciembre 2005. p.
- Lin YC; Chen JC (2001). Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 259: 109-119.
- Lin YC; Chen JC (2003). Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity level. Aquaculture, 224: 193-201.
- Mantel L; Farmer H (1983). Osmotic and ionic regulation. Bliss DE (org.). The Biology of Crustacean. Academic Press, New York. NY. 161p.
- Mendoza-López DG et al. (2017). El efecto de la tecnología de biofloc (TBF) sobre la calidad del agua en el cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*: Una revisión. Revista Bio Ciencias, 4 (4): 1-15.
- Ray AJ et al. (2017). Comparing clear-water RAS and biofloc systems: Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production, water quality, and biofloc nutritional contributions estimated using stable isotopes. Aquacultural Engineering, 77: 9–14.
- Rosas C et al. (2002). An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 268: 47-67.
- Rosas C et al. (2001). Effect of salinity acclimation on oxygen consumption of juveniles of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Journal of Crustacean Biology, 21(4): 912-922.
- Roy L et al. (2007). Supplementation of potassium, magnesium and sodium chloride in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters. Aquaculture Nutrition, 13:104-113.
- Saoud I et al. 2003). Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture. Aquaculture, 217: 373-383.

- Steel RG; Torrie J (1960). Principal and Procedures of Statistics. Mcgraw-Hill Book Company, Inc; New York, Toronto, London. 481p.
- Tarifeño E (2013). Adaptaciones fisiológicas de animales marinos. En: Werlinger I.C. Biología Marina y Oceanografía: Conceptos y Procesos. Universidad Rafael Landívar. Guatemala. 383p.
- Torrentera-Blanco L; Tacon AGJ (1989). La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. (No. F010. 015). FAO.90p.
- Valdez G et al. (2008). Effect of salinity on physiological energetics of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). Hidrobiológica, 18 (2): 105-115.
- Valenzuela MI (2017). Effects of ionic composition on growth and survival of white shrimp *Litopenaeus vannamei* culture at low-salinity well water. Revista de Biología Marina y Oceanología, 52: 103-112.
- Zar JH (1984). Biostatistical analysis. 2nd. Prentice Hall USA. 718p.
- Zhao P et al. (2012). The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*. Aquaculture, 354: 97-106.


Ciencias Agrícolas



Caracterización morfológica y perfil patogénico de aislados fúngicos provenientes de la rizósfera de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) en el sur de Sonora

Recibida em: 14/09/2022

Aprobado em: 18/09/2022

 10.46420/9786581460594cap5

Norma Gabriela Rodríguez Mora^{1*} 

Ernesto Uriel Cantú Soto¹ 

Ofelda Peñuelas-Rubio² 

Alejandro Miguel Figueroa López^{1*} 

RESUMEN

El estado de Sonora es uno de los mayores productores de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) en México, siendo este vegetal un rubro importante para la alimentación nacional y para la exportación, fundamentalmente a Estados Unidos y a Japón. Esta especie vegetal se ve frecuentemente afectada por patógenos que causan mermas significativas en el desempeño fisiológico y el rendimiento agrícola. Uno de estos patógenos es el *Fusarium* sp. Teniendo en cuenta esta situación se realizó la presente investigación con el objetivo de identificar y asociar los aislados fúngicos a géneros o especies patógenas que causan enfermedades en el cultivo de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) para probar su patogenicidad. Se llevaron a cabo caracterizaciones morfológicas de los aislados fúngicos, aquellos que resultaron presuntivos del género *Fusarium* fueron evaluados en ensayos de hoja desprendida. Los aislados que mostraron patogenicidad fueron seleccionados para ser evaluados en plántulas de 2 semanas. Con las pruebas de patogenicidad en hoja desprendida y en plántulas se demostró que existen variabilidad en el nivel de infección de los aislados fúngicos H3, H12, H15, H27 y H28. El aislado H12 que mostró baja infección en hoja desprendida también causan enfermedad en tejido vegetal de las plantas de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.). Además, se logró demostrar que los aislados presuntivos de *Fusarium* juegan un papel importante como agentes causales del marchitamiento de la sandía en tejido y en plántula. Estos resultados permitieron seleccionar a los aislados H3 y H12 como patogénicos para desarrollar nuevos estudios de resistencia inducida en planta.

¹ Instituto Tecnológico de Sonora. Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias. Calle 5 de Febrero 818 Sur, Col. Centro, Cd. Obregón, Sonora, México, C.P. 85000.

² Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui. Avenida Tecnológico s/n, Block 611, Bácum, Sonora, México, C. P. 85276.

* Autor(a) correspondiente: alejandro.figueroa@itson.edu.mx

INTRODUCCIÓN

La producción de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) para México es de gran relevancia, ya que lo sitúa en el primer lugar como productor y en el segundo como exportador de este cultivo, además de tener un consumo per cápita de 4.6 kg (SADER, 2021). En el año agrícola 2022 se han establecido 10,686,211.95 ha de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) en Sonora, de las cuales se cosecharon 3,461,253.07 al mes de julio del mismo año y 26,858.03 se catalogan como siniestradas (SIAP, 2022). El estado de Sonora, tan solo en el año 2020 fue el principal estado productor de este cultivo con un aporte del 38% de la producción total nacional (SADER, 2021). La microbiota de la rizósfera es clave para el desarrollo, salud y productividad en la planta, ya que en ella se encuentra un complejo diverso de microorganismos que interactúan entre sí junto con el suelo para el funcionamiento adecuado del ecosistema, encontrándose tanto microorganismos benéficos como patógenos (Chapelle et al., 2016). Los hongos son uno de los grupos que intervienen de manera crucial en el desarrollo de la planta como patógenos, facilitadores de nutrientes o como organismos benéficos ante patógenos (Xu et al., 2020). Así, las interacciones entre estos, la planta hospedera y la rizósfera en conjunto, pueden conllevar a una microbiota que protege a la planta, o bien, conduce al desarrollo de enfermedades (Mendes et al., 2018).

Entre los microorganismos fúngicos causales de enfermedades en cultivos de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) destacan los patógenos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, y *Phytophthora capsici* (Fernández-Herrera et al., 2013). Se ha demostrado que la aplicación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (FON) inactivo como agente de biocontrol, disminuye los efectos de la marchitez de la sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.), mejora la comunidad microbiana benéfica de la rizósfera e induce la resistencia sistémica en la planta que, por consecuencia, promueve la resistencia de la enfermedad de la marchitez de la sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) y el crecimiento de la planta (Xie et al., 2021). También se han observado respuestas de defensa en plantas como soya, arroz, tomate, trigo, lechuga, melón, papa dulce, betabel y perejil estimuladas por elicitores fúngicos como quitina, quitosano y sus oligómeros, β -glucanos, péptidos N-glicosilados, Glicoproteogalactanos y glucolípidos (Das et al., 2015).

El objetivo del presente estudio fue identificar y asociar los aislados fúngicos a géneros o especies patógenas asociadas a enfermedades en el cultivo de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) para probar su patogenicidad y sentar las bases para el estudio de la resistencia inducida en planta por patrones moleculares relacionados con patógenos (PAMP's). Para lograr esto se realizó una colección de aislados fúngicos del cultivo de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) con problemas de fusariosis. Posteriormente, se analizaron sus macro y microestructuras y finalmente, se evaluaron los aislados putativos a *Fusarium* sp. para probar su patogenicidad en plantas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección del material vegetal y de suelo

Se recolectaron 5 muestras aleatorias de suelo rizosférico en un cultivo de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) de la Agrícola FEVAL S.A. de C.V. ubicada en el Municipio San Ignacio Muerto, Sonora (27.418940, -110.252116), que mostraba pudrición de tallo y raíz característico de *Fusarium* en el Sur de Sonora. Las muestras se tomaron a una profundidad del suelo de 0-30 cm. Posteriormente, se secaron a 25° C durante 1 semana, se tamizaron en una malla de 1 mm para eliminar las partículas grandes y finalmente, se homogenizaron y almacenaron a 4° C hasta su análisis. Las muestras se analizaron en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico de Sonora, Ciudad Obregón, Sonora, México

Las raíces de plantas de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) enfermas se desinfectaron superficialmente con Et-OH (70%) por 1 min, después con NaClO 5% (v/v) por 3 min y finalmente, se lavaron 4 veces con agua destilada estéril. Los fragmentos de raíces se colocaron en placas Petri con medio de Agar Dextrosa de Papa (PDA) suplementado con sulfato de estreptomicina. Después, se incubaron las placas a 25° C durante 48 h en la oscuridad y las colonias emergentes se transfirieron a placas con PDA para obtener cultivos puros y posteriormente caracterizarlos (Figueroa López, 2011).

Para identificar las estructuras del micelio se colocaron cubreobjetos estériles sobre cajas Petri inoculadas con cada uno de los aislados fúngicos, después los cubreobjetos se montaron en un portaobjetos con 50 µl de NaCl 0.8% y se visualizaron en un microscopio óptico.

Ensayos de patogenicidad en hoja desprendida

Se prepararon cajas Petri con una base de papel absorbente estéril saturado con agua destilada estéril, se colocó un portaobjetos estéril sobre el papel húmedo y posteriormente se colocó en la superficie una hoja de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) que se inoculó con un disco de 0.5 mm de diámetro de agar con micelio. Posteriormente, se midió el área de infección foliar a las 72 h de infección con ayuda del software ImageJ. La germinación de las plantas partió de la desinfección de semilla comercial de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) (variedad Cal Sweet) con un tratamiento hidrotérmico, se cultivaron en vermiculita y se fertilizaron cada semana empleando una solución nutritiva de Sonneveld (Robredo et al., 2000).

Los hongos utilizados para la infección se inocularon en PDA y se incubaron a 31°C durante 7 días. Cada tratamiento constó de 5 réplicas que consistieron en 5 hojas tomadas de 5 plantas diferentes. El experimento se repitió 3 veces.

Ensayo de patogenicidad en toalla de papel enrollado

Este ensayo fue utilizado para evaluar el porcentaje de severidad de la enfermedad en plántula, porcentaje de germinación y peso seco, para el cual se utilizó el método de papel enrollado como indica Leyva-Madrigal et al. (2015). Se desinfectaron semillas comerciales de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) (variedad Cal Sweet) con un tratamiento hidrotérmico. Las semillas se sumergieron en sosa líquida (5 gotas x 100 ml agua destilada estéril), después se lavaron 3 veces con agua destilada estéril y se sumergieron en 100 ml de agua destilada estéril en un termo-baño a 52° C por 20 min. Posteriormente, se sumergieron en una solución de esporas (1×10^6 esporas ml^{-1}) durante 5 min, se colocaron en un papel secante, después, se enrollaron y mantuvieron en bolsas de plástico.

Los síntomas de la enfermedad se evaluaron a los 21 días de la infección utilizando la siguiente escala de severidad: 0 (plántula sana sin pudrición de raíz); 1 (0.1-2.0 cm de pudrición de la raíz); 2 (2.1-5.0 cm de pudrición de la raíz); 3 (≥ 5.0 cm de pudrición de la raíz y 0.1-1.0 cm de pudrición en la base del tallo); 4 (≥ 5.0 cm de pudrición de raíz y 1.1-2.0 cm de pudrición en la base del tallo); 5 (plántula muerta). Finalmente los datos se expresaron en índice de severidad con la fórmula reportada por Asran and Buchenauer (2003). Se utilizaron cinco réplicas para los tratamientos que consistieron en 5 plantas diferentes. Dicho experimento fue realizado tres veces en el tiempo.

Los datos de severidad de la enfermedad, patogenicidad en hoja y porcentaje de germinación se sometieron a un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis, los datos de peso seco se sometieron a un análisis de la varianza ANOVA. La comparación de las medias se realizó por una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Todos los datos se sometieron a un análisis de normalidad con el uso de la prueba estadística de Shapiro-Wilk.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aislaron un total de 40 cepas fúngicas, 3 aislados que representan el 7.5% del total presentaron crecimiento con abundante micelio aéreo (Figura 1). Los aislados mostraron micelio veloso de color blanca con pigmentación amarilla (Figura 1 A-F) y microconidios septados y no septados (Figura 1G-I) en forma de media luna típicos del género *Fusarium* (Rosas-Guevara et al., 2014; SADER-SENASICA, 2020).

En las muestras de suelo colectadas se observó la presencia de una variedad de cepas asociadas a enfermedades fúngicas transmitidas por el suelo en plantas, como el marchitamiento y pudrición del tallo (Inderbitzin et al., 2011). Rentería-Martínez et al. (2019) menciona que los microconidios de *Fusarium oxysporum* presentan ausencia de septos, por lo que es posible tener presencia de esta especie común en el suelo rizosférico de los cultivos. También, se identificaron otras morfologías típicas asociadas a los géneros *Phytophthora*, *Aspergillus* y *Verticillium* (datos no mostrados).

Partiendo de la caracterización morfológica y observada en las cepas obtenidas, fueron seleccionados 5 aislados fúngicos que mostraron una morfología típica del género *Fusarium* para los ensayos de patogenicidad (Lesli y Summerell, 2006).

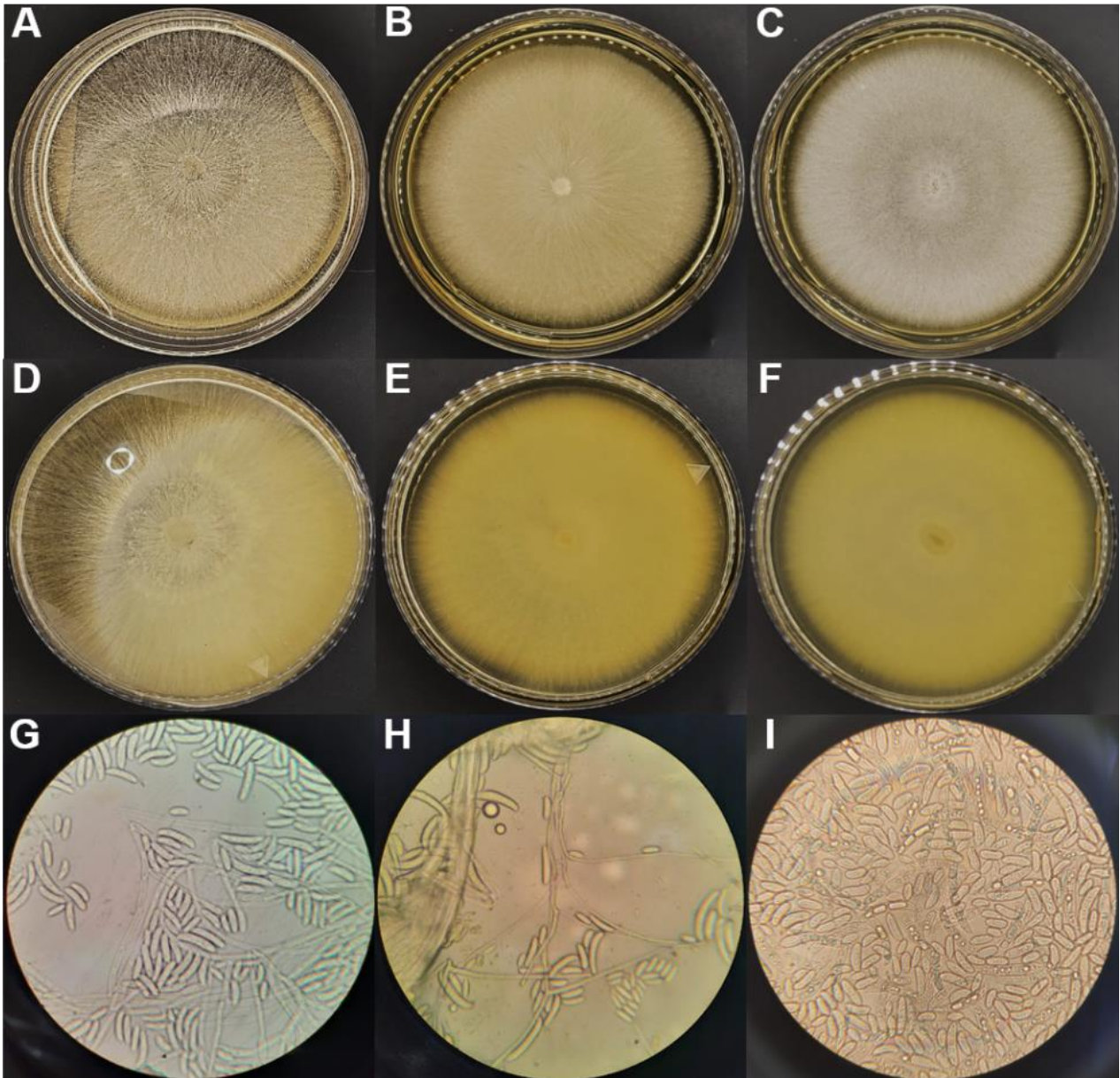


Figura 1. Forma macroscópica y microscópica de cepas presuntivas del género *Fusarium* en medio agar dextrosa de papa (PDA). Morfología micelar (A-C), pigmentación (D-F), microconidios (G-I) y macroconidios (1H).

En el ensayo de patogenicidad en hoja desprendida con los 5 de los aislados (H3, H12, H15, H27 y H28) fúngicos se evaluó el área de infección (Figura 2). Los resultados muestran que todos los aislados presentaron un nivel de patogenicidad significativo (Figura 2A). El aislado H3 fue una de las cepas que presentó mayor área de infección y por ende, mayor patogenicidad, seguido de los aislados H15, H27 y

H28 que se agrupan en el mismo nivel y, posteriormente del aislado H12, como se observa en la Figura 2A. Las hojas infectadas comenzaron a necrosarse desde el punto de inoculación al resto de la hoja (Figura 2B).

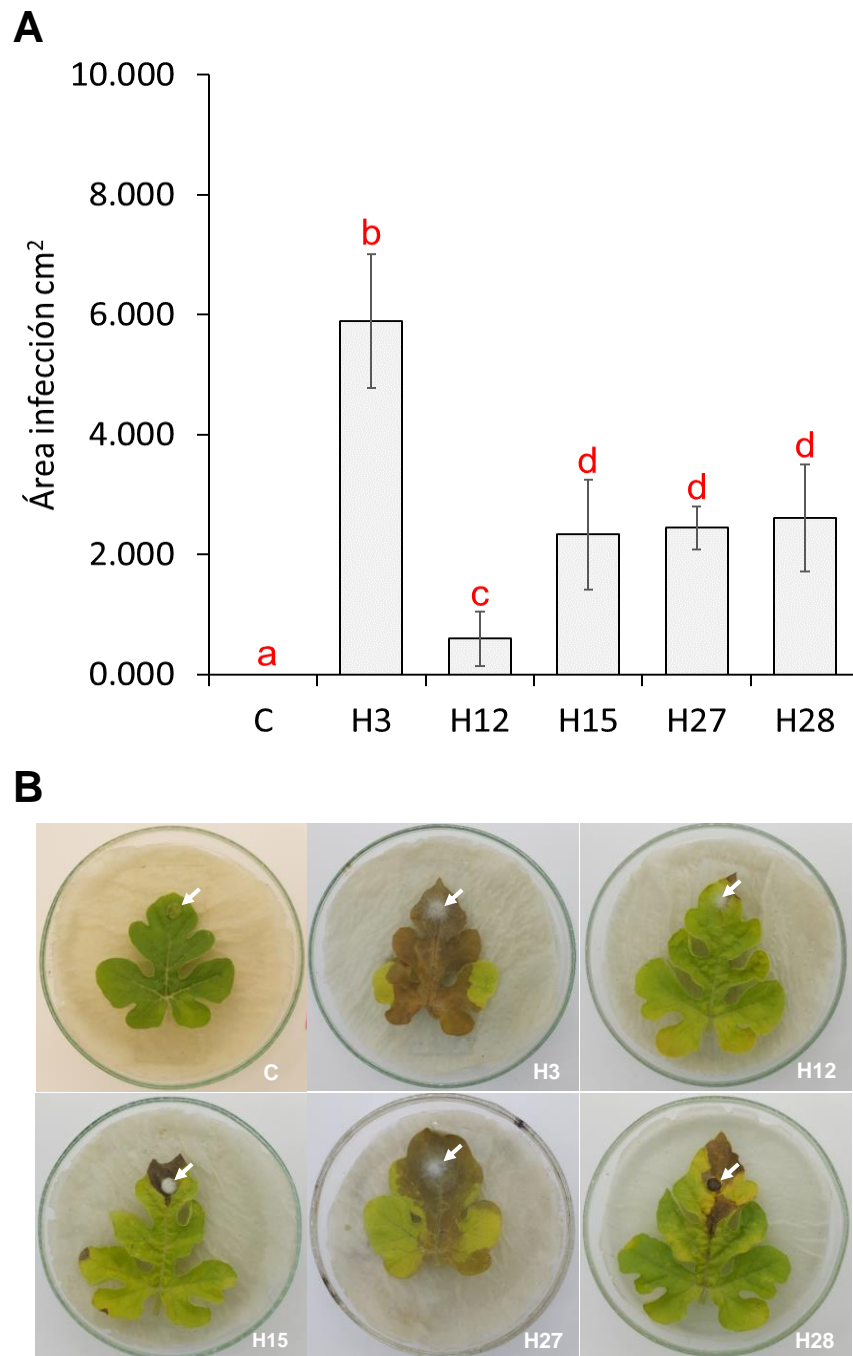


Figura 2. Comparación de los niveles de infección en hoja de acuerdo con el área de infección. A, área de infección calculada en centímetros cuadrados con el programa de uso libre ImageJ. Las letras sobre las barras indican que hay una diferencia significativa (Prueba de Tukey; $P \leq 0.05$). B, ensayo de hoja desprendida con las 5 cepas presuntivas de *Fusarium* sp. C= hoja usada como control con un plug de agar sin hongo. Las flechas blancas indican el punto de inoculación con las cepas fúngicas.

La comparación de medias de las áreas infectadas entre los aislados demuestran que hay variación en nivel patogenicidad entre los aislados, lo cual podría estar relacionado a la capacidad de la cepa para colonizar el tejido vegetal y generar síntomas de enfermedad de acuerdo al género y especie (Delgado-Ortiz et al., 2016).

El ensayo de severidad en planta se llevó a cabo con el aislado H12, presentó morfología típica a *Fusarium* y resultó tener la cepa con menor patogenicidad en el ensayo de hoja desprendida, este criterio se usó como criterio de selección para esta cepa y así poder evaluar si hay un efecto en la germinación y peso seco de la plántula. Se demostró que hay una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos control e infectado para los 3 parámetros evaluados (Figura 3).

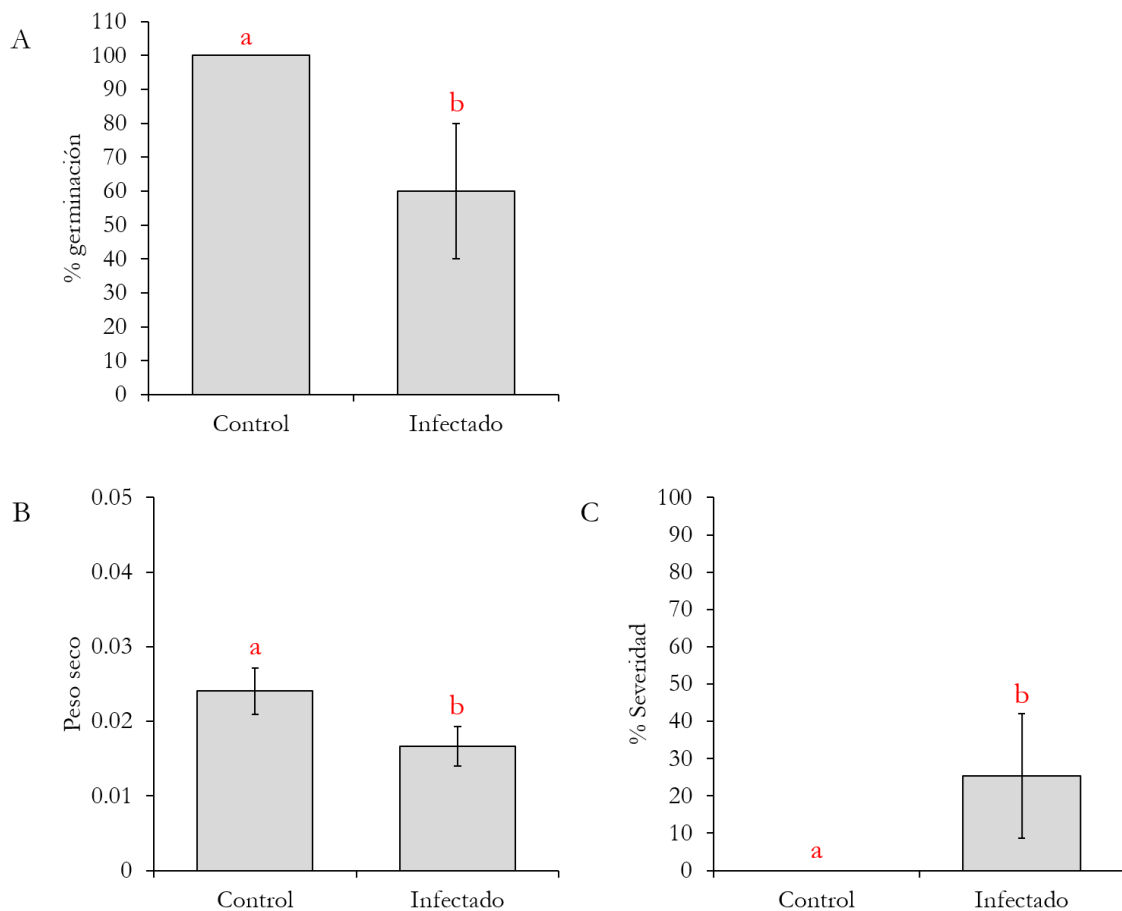


Figura 3. Ensayos infección en plántulas de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.). A, porcentaje de germinación. B, peso seco de las plántulas. C, severidad de la enfermedad. Las letras sobre las barras indican que hay una diferencia significativa (Prueba de Tukey; $P \leq 0.05$).

Se observa una afectación en la germinación de las semillas, se observa aproximadamente un 40% de reducción, resultando una diferencia significativa ($p=0.00421$) con las plantas control (Figura 3A). El peso seco de las plántulas disminuye significativamente durante la infección (Figura 3B), mientras que el índice de severidad de la enfermedad aumenta significativamente durante la infección (Figura 3C). Estos datos indican que el aislado H12 es patogénico para el cultivo de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.), y a pesar

de ser unos de los menos patogénicos en el ensayo de hoja desprendida, tiene la capacidad de causar una infección en plántulas. *F. oxysporum* ha sido catalogado como uno de los agentes causantes del marchitamiento de la sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) en zonas agrícolas de Sonora y se ha demostrado su potencial patogénico en plantas de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) (Delgado-Ortiz et al., 2016; Fernández-Herrera et al., 2013).

CONCLUSIÓN

Se identificó la incidencia de *Fusarium* en los aislados fúngicos y su papel como agente causal del marchitamiento de la sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) en tejido y en plántula.

Los ensayos de patogenicidad revelaron que hay otros grupos fúngicos que también causan enfermedad en tejido vegetal.

La información generada en este estudio permitirá seleccionar una o varios aislados patogénicos para hacer uso de estos y sus partes y proceder a los estudios de resistencia inducida en planta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


- Asran M; Buchenauer H (2003). Pathogenicity of *Fusarium graminearum* isolates on maize (*Zea mays* L.) cultivars and relation with deoxynivalenol and ergosterol contents. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, 209-219.
- Chapelle E et al. (2016). Fungal invasion of the rhizosphere microbiome. *The ISME Journal*, 10(1): 265-268. [10.1038/ismej.2015.82](https://doi.org/10.1038/ismej.2015.82)
- Das SN et al. (2015). Biotechnological approaches for field applications of chitoooligosaccharides (COS) to induce innate immunity in plants. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(1): 29-43. [doi:10.3109/07388551.2013.798255](https://doi.org/10.3109/07388551.2013.798255)
- Delgado-Ortiz JC et al. (2016). Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México. *Revista Argentina de Microbiología*, 48(3): 222-228. [doi:10.1016/j.ram.2016.04.003](https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.04.003)
- Fernández-Herrera E et al. (2013). Hongos fitopatógenos asociados a pudriciones de raíz y cuello en sandía en la costa de Hermosillo, Sonora. Paper presented at the Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas. Mexicali BC, México.
- Figueroa-López AM (2011). Escrutinio masivo de un banco de germoplasma para obtener microorganismos antagonistas a *Fusarium verticillioides*. Instituto Politécnico Nacional (Tesis Maestría)

- Inderbitzin P et al. (2011). Phylogenetics and Taxonomy of the Fungal Vascular Wilt Pathogen *Verticillium*, with the Descriptions of Five New Species. PLOS ONE, 6(12): e28341. doi:10.1371/journal.pone.0028341
- Leslie JF; Summerell BA (2006). Practical Approaches to Identification The *Fusarium* Laboratory Manual 101-110p.
- Leyva-Madrigal KY et al. (2015). *Fusarium* Species from the *Fusarium fujikuroi* Species Complex Involved in Mixed Infections of Maize in Northern Sinaloa, Mexico. Journal of Phytopathology, 163(6): 486-497. doi:10.1111/jph.12346
- Mendes LW et al. (2018). Influence of resistance breeding in common bean on rhizosphere microbiome composition and function. The ISME Journal, 12(1): 212-224. doi:10.1038/ismej.2017.158
- Rentería-Martínez ME et al. (2019). Descripción y comparación entre morfotipos de *Fusarium brachygibbosum*, *F. falciforme* y *F. oxysporum* patogénicos en sandía cultivada en Sonora, México. Revista Mexicana de Fitopatología, 37(1): 16-34.
- Robredo P et al (2000). Análisis comparativo de soluciones nutritivas en cultivos hidropónicos en invernadero. Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente, 4.
- Rosas-Guevara Vet al. (2014). Identification and morphological variability of pokkah boeng (*Fusarium* spp.) on sugar cane, in Mexico. Investigación Agropecuaria, 11(2): 119-126.
- SADER-SENASICA (2020). Podredumbre de raíces *Fusarium* spp. (Hypocreales: Nectriaceae) en trigo.
- SADER (2021). Creció producción y exportación de sandía mexicana en 2020.
- SIAP (2022). Avance de Siembras y Cosechas.
- Xie XG et al. (2021). Inactivated pathogenic mycelia as a biocontrol agent against *Fusarium* wilt and its effects on continuously cropped watermelon. Biocontrol Science and Technology, 31(8): 817-833. doi:10.1080/09583157.2021.1892591
- Xu L et al. (2020). Pathogen Infection and Host-Resistance Interactively Affect Root-Associated Fungal Communities in Watermelon. Frontiers in Microbiology, 11. doi:10.3389/fmicb.2020.605622


Crecimiento y producción de tomate en respuesta a dos sustratos y niveles de solución nutritiva


Recibida em: 09/09/2022


Aprobado em: 14/09/2022

 10.46420/9786581460594cap6


José A. Rangel-Lucio¹ 

Francisco Cervantes-Ortiz^{2*} 

J. Guadalupe García-Rodríguez² 

Hugo C. Cisneros-López² 

Blanca C. López-Ramírez³ 

Lorenzo Pérez-López⁴ 

RESUMEN

El incremento de la densidad poblacional en México requiere un impulso significativo en las capacidades de producción de alimentos. Un paso importante para la producción exitosa de cultivos como el tomate, que en México es la segunda hortaliza, después del chile y con una amplia gama de usos tanto en fresco como procesado, es la nutrición de las plántulas. Con adecuados sustratos y soluciones nutritivas se lograrán plantas en óptimas condiciones para un mejor desempeño fisiológico y agronómico. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la respuesta de algunas variables agronómicas de la producción de tomate bajo invernadero con concentración nutritiva Steiner y dos sustratos. El experimento se realizó en invernadero del Instituto Tecnológico de Roque, Celaya, Guanajuato, en el periodo Primavera-Verano en el año 2018. El estudio experimental comprobó que las concentraciones diseñadas a partir de la solución nutritiva Steiner tienen mayor relevancia que la función desempeñada por el sustrato en altura de planta y producción de frutos de tomate en hidroponía e invernadero. No obstante, la fibra de coco representa una alternativa por influir positivamente en altura de planta y provocar mayor concentración de clorofila. Se demostró, además, que concentraciones de la solución Steiner superiores al testigo comercial (125 y 150%) condujeron a la mayor altura de planta y tienen mayor impacto en la producción de fruto de tomate el cid, cultivado en hidroponía en condiciones de invernadero.

¹Departamento de Biología, Tecnológico Nacional de México, Campus Ciudad Victoria. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México.

²Departamento de Ciencias Agropecuarias, Tecnológico Nacional de México, Campus Roque. Celaya, Guanajuato, México.

³Departamento de Sistemas y Computación, Tecnológico Nacional de México, Campus Roque. Celaya, Guanajuato, México.

⁴Departamento de Agronomía, Tecnológico Nacional de México, Campus Valle del Yaqui. Ciudad Obregón, Sonora, México.

*Autor para correspondencia: francisco.co@roque.tecnm.mx

INTRODUCCIÓN

La demanda creciente de alimentos provoca el abatimiento de recursos naturales y mayor presión ambiental, lo que obliga a la búsqueda de alternativas sustentables de producción agrícola, de acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés: Food and Agriculture Organization) (FAO, 2017). Parte de esa sustentabilidad podría lograrse con el manejo racional de un cultivo, que puede encontrarse con la incorporación de la hidroponía y la serie de factores que involucra el incremento de la productividad de éste sistema, como la concentración de los nutrimentos en la solución y el tipo de sustrato de crecimiento empleado.

En México, el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la segunda hortaliza en importancia después del chile, así como de la mayor difusión agrícola mundial por su alto consumo y valor económico, según estadísticas de Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA, 2019). Parte de ello se soporta en el sabor del fruto para la elaboración de salsas, platillos tradicionales y alimentos procesados (Islam et al., 2018). La producción mundial de tomate fue de 182.3 millones de toneladas en 2017, resultado de un registro creciente de la superficie que se ubicó en 4,8 millones de hectáreas entre 2007 y 2017, donde destacaron China, India, Nigeria, Turquía y Egipto; en el mismo período, México ocupó la novena posición con una participación de 2,3% (FIRA, 2019).

El uso de invernaderos tiende a mejorar el crecimiento, desarrollo de la planta, productividad y calidad de fruto de tomate, entre otras ventajas, según el grupo Asesores en Construcción y Extensión Agrícola (ACEA, 2020). El complemento ideal se basa en la solución nutritiva, una disolución acuosa que contiene oxígeno y parte o la totalidad de los nutrimentos completamente disociados en forma disponible para la planta (Santos y Ríos, 2016), que se debe suministrar en balance para brindar un desarrollo apropiado de la planta y la obtención de un rendimiento óptimo. En ésta, la concentración iónica total determina el crecimiento, desarrollo y producción del cultivo (Steiner, 1984).

La productividad y calidad de fruto de tomate y otras solanáceas han sido abordadas con diversas soluciones nutritivas (Arnon y Hoogland, 1940). Sin embargo, en la actualidad, el uso de la solución nutritiva Steiner se ha generalizado para la producción de tomate en hidroponía en sistemas cerrados (De la Rosa-Rodríguez et al., 2017) o se opta por alguna solución elaborada para propósitos particulares (Delaide et al., 2019). En cambio, el estudio de esta modalidad de suministro nutricional no ha sido bien documentado en sistemas abiertos.

El uso de sustratos sobrepasa el concepto de la hidroponía, pues permite transporte de oxígeno y dióxido de carbono entre raíces y aire externo, mantiene las características originales durante el crecimiento del cultivo, invierte menos en mano de obra, uso de pesticidas o fertilizantes, provoca buen crecimiento de la planta, interviene o no en la nutrición de la planta (Suvo et al., 2017). En México, el tezontle mantiene un arraigo de uso importante como sustrato por favorecer el rendimiento y bajo costo de adquisición

(Castellanos y Vargas, 2003; Cruz-Crespo et al., 2013). En este sentido, la incorporación de sustratos modificó para bien el sistema de producción en hidroponía, pero la diversidad de fuentes enfrenta problemas que merecen atención. La caracterización del sustrato por sus propiedades físicas, químicas y biológicas, es importante para el manejo de la planta (Castellanos, 2004). Por su origen y abundancia natural en México, el tezontle (mineral volcánico) se utiliza en la producción hidropónica. Como sustrato, al tezontle se le fragmenta hasta alcanzar el tamaño granulométrico (Vargas-Tapia et al., 2008), según el cultivo. La fibra de coco como sustrato tiende a adquirir mayor cobertura, pero se recomienda lavarlo antes de emplearlo por el contenido de sodio y cloruros que alteran el potencial osmótico de la solución nutritiva (Abad et al., 2002). En una evaluación en tomate donde se midió la respuesta en altura de planta, índice de clorofila y producción de fruto en función de soluciones nutritivas y humus de lombriz combinado con fibra de coco como sustrato, se concluyó que el sustrato no modificó estadísticamente ninguna característica estudiada (Valenzuela et al., 2014).

Con base a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta de algunas variables agronómicas de la producción de tomate bajo invernadero con concentración nutritiva Steiner y dos sustratos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en invernadero del Instituto Tecnológico de Roque, Celaya, Guanajuato, en el periodo Primavera-Verano 2018, situado a 20°34' N 100° 49' W y 1 750 m de elevación. El ensayo comprendió sustratos [fibra de coco (pH 6,3 a 6,7, conductividad eléctrica (C.E.) de 1 a 1,8 dS/m, densidad 294 kg/m) y tezontle rojo (partículas de 0,50 mm de diámetro, pH neutro, buena aireación, 56,9% de retención de humedad)] y concentración de la solución nutritiva Steiner (50, 75, 100, 125 y 150 %). El análisis químico del agua de riego tuvo 0.23 mmol/L de NO_3^- , 0,5 mmol/L de SO_4^{2-} , 0,35 mmol/L de K^+ , 5,1 mmol/L de Ca^{2+} y 0,8 mmol/L de Mg^{2+} ; pH = 6,69 y CE = 0,63 mS/cm. Las fuentes fertilizantes fueron $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, KNO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, H_2SO_4 y H_3PO_4 ; así como H_3BO_3 , $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y Fe-EDTA (7% Fe).

La combinación de factores [Sustrato (2) x Solución Nutritiva (5)] permitió la formación de 10 tratamientos distribuidos en el invernadero bajo el esquema de un Diseño Completamente al Azar y repetido tres veces. La unidad experimental se integró por seis plantas. El trasplante del tomate tipo saladette El Cid F1 (Harris Moran) a bolsas negras y “bolis” (o *slabs*) se realizó el 12 de abril de 2018, cuando la plántula tenía 30 días de edad y entre 0,15 m y 0,17 m de altura. El empleo recipientes diferentes obedece a la forma de cómo se oferta en el mercado; la fibra de coco su presentación es en bolis y el tezontle a granel. Las dimensiones de la bolsa fueron 0,40 m x 0,40 m, en las que se vaciaron 12 kg de tezontle con partículas de 0,5 mm de diámetro, mientras que el boli de 1 m de longitud, contenía fibra de

coco. Ambos sustratos se desinfectaron con Busan 30 w TCMTB (tiocianometiltio benzotiazol), en un riego de pre-plantación. La densidad fue 3,3 plantas/m² en hileras separadas 1,40 m. La solución nutricional se suministró en el sistema de riego por goteo autocompensado (4 L/h), 3 veces al día por 15 min; el tiempo de riego aumentó hasta 20 m conforme ocurrió el crecimiento de la planta.

El manejo del cultivo consistió en la poda de hojas, tutoreo y desbrote semanal. El raleo hasta cinco frutos inició a partir de la segunda inflorescencia a 60 días de edad de la planta (dep), para uniformizar el tamaño. La polinización se realizó dos veces por semana con mochila de aire aplicado a presión, durante la mañana. Las variables registradas en cuatro plantas por parcela fueron altura de planta a los 67, 77, 85, 97, 108 y 120 dep, concentración de clorofila con el medidor portátil tipo SPAD 501 (Minolta Camera Co., LTD, Osaka, Japón) en la parte media de la hoja a los 77, 85, 97 y 108 dep, racimos de frutos y producción de fruto del segundo al sexto corte (77, 86, 97, 108 y 120 dep). El ciclo de crecimiento permitido fue de 175 días.

Los resultados se sometieron a un análisis estadístico, consistente en un Análisis de Varianza (ANOVA) mediante un Diseño Completamente Aleatorizado y prueba de comparación de medias con Tukey ($\alpha = 0,05$), con el Sistema de Análisis Estadístico (SAS), por sus siglas en inglés: Statistical Analysis System (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Altura de planta

El análisis de varianza para altura de planta mostró efecto estadístico significativo ($p \leq 0,05$) para la fuente de variación sustrato únicamente a los 120 dep; por otro lado, la solución nutritiva modificó estadísticamente ($p \leq 0,01$) la altura a los 77 y 120 dep y con efecto significativo al 0,05 de probabilidad a los 85 dep. No hubo efecto de la interacción de estos factores de estudio en altura de la planta (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables altura de planta e índice de clorofila que fueron medidas en diferentes días de edad de la planta (dep). Celaya, Guanajuato. México.

Fuente de variación	GL	Altura de planta (cm)			Clorofila (uS)		
		77	85	120	77	85	97
Sustrato (S)	1	22,5 ^{ns}	28,0 ^{ns}	26,1 [*]	238,5 ^{**}	453,1 ^{**}	258,1 ^{**}
Sol. nutritiva (C)	4	82,3 ^{**}	98,2 [*]	71,4 ^{**}	16,80 ^{ns}	48,5 ^{ns}	252,3 ^{**}
S x C	4	2,7 ^{ns}	24,1 ^{ns}	3,8 ^{ns}	13,92 ^{ns}	28,8 ^{ns}	34,4 ^{ns}
Error	20	9,0	25,0	5,3	28,0	40,4	28,3
C.V (%)	--	11,0	21,0	9,9	13,7	16,5	14,1

^{*}, ^{**} significativo al 0,05 y 0,01 de probabilidad, respectivamente. ns: no significativo; GL: grados de libertad; CV: coeficiente de variación. Fuente: elaborado por los autores.

En el Cuadro 2 se pueden observar las diferencias entre los promedios de la altura de planta de tomate a los 77 dep, de tal manera que con la solución nutritiva Steiner al 125% la altura de planta fue 17%

mayor con respecto a la que alcanzaron con la solución nutritiva Steiner 100%, incluso dicha característica superó en 7% a la que se observó cuando fueron cultivadas con el nivel de 150% de solución nutritiva, aunque sin diferencias estadísticas entre ambos promedios. Además, en comparación con la altura que las plantas alcanzaron con las soluciones a 50 y 75% con respecto a la solución de 125%, los incrementos fueron de 29,4 y 21,6%, respectivamente. Una tendencia similar ocurrió en la altura de planta medida a los 85 dep, aunque la solución nutritiva de 150% favoreció el mayor crecimiento de la planta (24,4%) con respecto de la solución de 125% y fue superior en 30,2% con respecto de la solución nutritiva Steiner de 100%. De la misma forma, ocurrió en la altura de planta registrada a los 120 dep, donde la solución nutritiva de 150% presentó la respuesta más alta con 29% superior a la solución del 100%. Los resultados en la variación de altura de planta, ocasionadas por las soluciones nutritivas confirman lo referido por Segura (2003), quien menciona que esta es una característica que ha sido estudiada con mucha frecuencia en experimentación agrícola y que es muy afectada por las condiciones del medio en el que las plantas son cultivadas. Además, Ramírez y Nienhuis (2012) afirman que esta variación de la altura medida a través del tallo, la senescencia y muerte de hojas y frutos explican el crecimiento y el rendimiento de la planta, respectivamente.

Cuadro 2. Comparación de medias para las variables altura de planta e índice de clorofila registradas en diferentes días de edad de la planta (dep) de tomate. Celaya, Guanajuato, México.

Sol. Nut.	Altura de Planta (cm)			Índice de clorofila (uS)		
	77	85	120	77	85	97
50	22,6 c	21,0 b	21,0 b	38,0 a	35,1 a	26,5 b
75	25,1 bc	22,1 b	21,8 b	39,3 a	41,9 a	39,5 a
100	26,6 bc	21,5 b	20,6 b	36,0 a	36,8 a	38,5 a
125	32,0 a	23,3 ab	24,1 b	38,7 a	37,6 a	40,0 a
150	29,8 ab	30,8 a	29,0 a	40,5 a	40,9 a	43,5 a
DSH	5,1	8,6	4,0	9,1	10,9	9,1
Sustrato						
Tezontle	26,4 a	22,8 a	22,4 b	35,7 b	34,6 b	34,6 b
Fibra coco	28,1 a	24,7 a	24,2 a	41,3 a	42,3 a	40,5 a
DSH	2,2	3,8	1,7	4,0	4,8	4,0

Valores con literales distintas en la misma columna son significativamente diferentes (Tukey, 0,05). DSH: diferencia significativa honesta. Fuente: elaborado por los autores.

Del mismo modo, la fibra de coco como sustrato generó las plantas de mayor altura a los 120 dep. En el resto de los muestreos no tuvo efecto estadístico significativo. Sin embargo, el tezontle, producto de las erupciones volcánicas, se utiliza en mayor proporción en invernaderos comerciales y de investigación en México, principalmente en el centro, pero su costo se incrementa por el transporte hacia el norte o sur de México. Ante la escasez de tezontle en estas partes, la fibra de coco se constituye en el sustrato indicado para el desarrollo de tomate en invernadero, a pesar del riesgo que representan las sales en la conductividad eléctrica (Cruz-Crespo et al., 2013).

Índice de clorofila

La concentración de clorofila, indirectamente obtenida por la coloración verde de la hoja de tomate fue afectada estadísticamente ($p \leq 0,01$) debido al efecto simple del sustrato a los 77, 85 y 97 dep. Por otra parte, la combinación de factores no provocó cambios significativos en esta variable (Cuadro 1).

En las tres fechas de lectura del índice de clorofila; 77, 85 y 97 dep, donde se presentó efecto estadístico significativo, los valores alcanzados por el sustrato fibra de coco fue superior en 13,6, 18,2 y 14,6% respectivamente, con respecto del tezontle; además, la mayor concentración se presentó a los 85 dep, con 42,38 uS (Cuadro 2). La fibra de coco como sustrato tiende a adquirir mayor cobertura, pero se recomienda lavarlo antes de emplearlo por el contenido de sodio y cloruros que alteran el potencial osmótico de la solución nutritiva (Abad et al., 2002). Por otro lado, el tezontle en una proporción porcentual de 75 (partículas finas: < 2 mm)/25 (partículas gruesas: > 2 mm y $< 12,5$ mm/grueso) retiene hasta 40% el agua suministrada (Ojodeagua et al., 2008) una condición que pudo favorecer el color verde reflejado en la clorofila medida con el SPAD-501 y mantener un balance apropiado entre fuente-demanda y mejor absorción y contenido de nutrimentos en la hoja de tomate (Zhang et al., 2015). En este contexto, de acuerdo con Ortega-Torres et al. (2020) en México se prefiere el tezontle como sustrato para cultivar tomate en hidroponía y otras hortalizas redituables.

Por otro lado, la variación en la concentración de la solución nutritiva de 75 a 150% condujeron a valores que fueron significativamente iguales, al variar de 38,5 a 43,5 uS de clorofila. La reducción de la solución nutritiva hasta 50% trajo consecuencias severas en la clorofila de la hoja de tomate, al registrar sólo 26,5 uS (Cuadro 2). Los índices de reflectancia de la vegetación son útiles para identificar el estado nutricional de un cultivo (Bhushan et al., 2017). El principio de los valores *Spad*, se basa en la medición de la proporción de la radiación solar recibida por el follaje, que es efectivamente absorbida por la clorofila; el resto se detecta por el dispositivo y después convertida en una señal eléctrica (Dong et al., 2019).

Número de racimos de frutos

Esta característica no presentó efecto estadístico significativo para ninguno de los factores estudiados; sustrato y solución nutritiva, así como en su forma combinada (datos no mostrados). Aunque se afirma que la deficiencia de nutrimentos en la solución Steiner representa una desventaja importante, pues estadísticamente se forma el menor número de racimos con una solución diluida al 50% (Cuadro 3), debido a un retraso del crecimiento por las deficiencias nutricionales a las que se somete a la planta de tomate (lo mismo ocurre en la iniciación floral y formación de fruto), particularmente nitrógeno, fosforo o potasio (Liu et al., 2019).

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza de la producción de fruto del tomate saladette “Cid F₁” registrados en diferentes días de edad de la planta (dep). Celaya, Guanajuato, México. Fuente: elaborado por los autores.

Fuente de variación	GL	Producción de fruto		
		97	108	120
Sustrato (S)	1	67687,5 ^{ns}	1080151,9 ^{ns}	12301,9 ^{ns}
Solución nutritiva (C)	4	92947103,4 ^{**}	23064723,7 [*]	87493928,4 ^{**}
S x C	4	76654,7 ^{ns}	8640948,7 ^{ns}	4242972,2 ^{ns}
Error	20	10536787,5	5729373,8	13024640,6
CV (%)	---	17,3	13,2	21,1

*, ** significativo al 0,05 y 0,01 de probabilidad, respectivamente. ns, no significativo, GL, grados de libertad; CV, coeficiente de variación.

Producción de fruto

La producción de fruto fue afectada significativamente por la solución nutritiva a los 97, 108 y 120 dep (Cuadro 4). El sustrato; tezontle y fibra de coco y la interacción sustrato por solución nutritiva (S x C) no modificaron estadísticamente esta característica. En la primera fecha (97 dep), los dos grupos de medias formados tuvieron como punto de corte a la solución nutritiva Steiner original; el primero de esos grupos varió de 18,46 a 22,76 t ha⁻¹ de fruto al cambiar desde 100 a 150% la solución nutritiva; en tanto que, el segundo grupo se formó al tener de 14,25 a 18,46 t ha⁻¹ de fruto con las soluciones que fueron de 50 a 100% de los componentes químicos (Cuadro 4). A los 108 dep también se formaron dos grupos: el primero de ellos fue de 17,92 a 20,46 t ha⁻¹ de fruto producido, en respuesta a la solución nutritiva establecida desde 75 a 150%; mientras que, en el segundo grupo la producción fue de 15,08 a 18,89 t ha⁻¹ de fruto de tomate con las soluciones concentradas de 50 a 100 y 150%. Finalmente, a los 120 dep la respuesta en la producción de fruto tiende dispersarse entre las distintas concentraciones de la solución nutritiva (Cuadro 4).

De esta manera, se formaron tres grupos de medias; donde el primero fue de 16,28 a 21,66 t ha⁻¹ de fruto por efecto de un cambio de solución de 100 a 150%; el segundo de ellos varió de 15,43 a 19,98 t ha⁻¹ de fruto con las soluciones concentradas de 75 a 125% y, el tercer grupo se conformó al tener una producción que cambió de 12,03 a 16,28 t ha⁻¹ por efecto de las soluciones nutritivas preparadas desde 50 a 100%. En este contexto, Ojodeagua et al. (2008) tuvieron una producción de 30,4 t ha⁻¹, con el uso de la solución nutritiva de 125% y tezontle como sustrato. Mientras que, Mata-Vázquez et al. (2010) obtuvieron 58,9 t ha⁻¹ de fruto del híbrido de tomate “Toro”, tipo saladette, con tezontle como sustrato y solución nutritiva Steiner. Adicionalmente, Jerónimo (2015) menciona que hay reducción de consumo de agua hasta 40% y otras ventajas de la producción bajo hidroponía e invernadero. Por otro lado, Ortega et al. (2016) afirman que cultivar en sustrato suele ser una herramienta efectiva para aumentar el rendimiento del cultivo, el uso eficiente del agua y reducir el impacto ambiental. Además, Jasso et al. (2011) afirman que el rendimiento de jitomate en hidroponía supera al que se cultiva en campo hasta en un 500%.

Cuadro 4. Comparación de medias para la producción de fruto ($t\ ha^{-1}$) registrado en diferentes momentos de cosecha (dep) del híbrido de tomate Cid tipo saladette. Celaya, Guanajuato, México. Fuente: elaborado por los autores.

Sol. Nut.	97	108	120
50	14,251 b	15,081 b	12,039 c
75	15,598 b	17,929 ab	15,429 bc
100	18,459 ab	17,989 ab	16,279 abc
125	22,698 a	20,466 a	19,983 ab
150	22,765 a	18,891 ab	21,666 a
DSH	5,608	4,1353	6,235
Sustrato			
Tezontle	18,707 a	17,8805 a	17,098 a
Fibra de coco	18,802 a	18,2600 a	17,058 a
DSH	2,4724	1,8231	2,748

Valores con literales distintas en la misma columna son significativamente diferentes (Tukey, 0,05). DSH: diferencia significativa honesta.

CONCLUSIONES

El estudio experimental comprobó que las concentraciones diseñadas a partir de la solución nutritiva Steiner tienen mayor relevancia que la función desempeñada por el sustrato en altura de planta y producción de frutos de tomate en hidroponía e invernadero. No obstante, la fibra de coco representa una alternativa por influir positivamente en altura de planta y provocar mayor concentración de clorofila.

Concentraciones de la solución Steiner superiores al testigo comercial (125 y 150%) condujeron a la mayor altura de planta y tienen mayor impacto en la producción de fruto de tomate el cid, cultivado en hidroponía en condiciones de invernadero.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad M et al (2002). Physico-chemical and chemical properties of some coconut coir dusts for use as a peat substitute for containerized ornamental plants. *Bioresource Technology*, 82(3): 241-245. [https://doi.org/10.1016/s0960-8524\(01\)00189-4](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(01)00189-4)
- ACEA, Asesores en Construcción y Extensión Agrícola (2020). Ventajas y Desventajas del Uso de Invernaderos. <https://www.acea.com.mx/articulos-tecnicos/alex-j-pacheco/43-i-introduccion-114-ventajas-y-desventajas-del-uso-de-invernaderos>
- Arnon DI; Hoagland DR (1940). Crop production in artificial culture solution and in soil with special referent to factor influency yield and absorption of inorganic nutrient. *Soil Science*, 50: 463-485. https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Arnon%2C+D.+I.%2C+%26+Hoagland%2C+D.+R.+%281940%29&btnG=
- Bhushan KS et al. (2017). Spectral reflectance dynamics for nutrient stress assay. A brief review. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 6(2): 215-219. <http://www.bepls.com>

- Castellanos RJ (2004). Manual de Producción de Tomate Bajo Invernadero. (2ª. Edición). México: INTAGRI.
- Castellanos RJ; Vargas TP (2003). El Uso de Sustrato en la Horticultura bajo Invernadero. En: Castellanos JZ (org). Manual de Producción Hortícola en Invernaderos. (2^{da}. Edición). INTAGRI. México. 124-150p.
- Cruz-Crespo E et al (2013). Sustratos en la horticultura. Revista Bio Ciencias. 2(2): 17-26. <http://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/issue/view/9/showToc>
- De la Rosa-Rodríguez R et al. (2017). Agentes fitopatógenos en la solución nutritiva para el cultivo de jitomate en un sistema hidropónico cerrado. Interciencia, 42(4): 236-241. <https://www.interciencia.net/volumen-42/numero-04/>
- Delaide B et al. (2019). Effect of water from a pikeperch (*Sander luciperca* L.) recirculated aquaculture system on hydroponic tomato production and quality. Agricultural Water Management, 226: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.105814>
- Dong T et al. (2019). Assesment of portable chlorophyll meter for measuring crop leaf chlorophyll concentration. Remote Sensing, 11(22): 2706e. <https://doi.org/10.3390/rs11222706>
- FAO (2017). Productividad Agrícola e Innovación. Tendencia 5. En FAO (org.), El Futuro de la Alimentación y la Agricultura. Tendencias y Desafíos. Versión resumida. Roma, Italia. 20-21p. [En línea]. Disponible: <https://www.fao.org/3/a-i6881.pdf>.
- FIRA (2019). Tomate rojo 2019. Panorama Agroalimentario. México: Dirección de Investigación y Evaluación Económica Sectorial. 25 p. <https://www.inforural.com.mx/fira-panorama-agroalimentaria-tomate-rojo-2019/>.
- Islam MZ et al. (2018). Iron, iodine and selenium effects on quality, shelf life and microbial activity of cherry tomatoes. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 46(2): 388-392. <https://doi.org/10.15835/nbha46211012>
- Jasso ChC et al. (2011). Guía para Cultivar Jitomate en Condiciones Hidropónicas de Invernadero en San Luis Potosí. Folleto Técnico No. 41. INIFAP-CIRNE-Campo Experimental San Luis. 44 p. <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/881.pdf>
- Jerónimo VB (2015). Proyecto de Inversión para la Producción de Jitomate Hidropónico en la Comunidad de Santiago Apóstol, Ocotlán, Oaxaca. Universidad Iberoamericana Puebla. Puebla, México. 114 p. <https://www.remeri.org.mx/portal/REMERI.jsp?id=oai:repositorio.iberopuebla.mx:20.500.11777/938>.
- Liu J et al. (2019). Tomato yield and water use efficiency change with various soil moisture and potassium levels during different growth stages. PLoS ONE, 14(3): e0213643. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213643>


- Mata-Vázquez H et al. (2010). Producción de tomate en sistema hidropónico con solución nutritiva reciclable en sustrato de tezontle. *CienciaUAT*, 4(4): 50-54.
<https://revistaciencia.uat.edu.mx/index.php/CienciaUAT/article/view/256/122>
- Ojodeagua AJL et al. (2008). Eficiencia de suelo y tezontle en sistemas de producción de tomate en invernadero. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(4): 367-374.
<https://www.revistafitotecniamexicana.org/31-4.html>
- Ortega, LD et al. (2016). Eficiencia de sustratos en el Sistema hidropónico y de suelo para la producción de tomate en invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(3): 643-653.
<https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/publicaciones>
- Ortega-Torres AE (2020). Hidrogel acrilato de potasio como sustrato en cultivo de pepino y jitomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(6): 1447-1455.
<https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/publicaciones>
- Ramírez VC; Nienhuis J (2012). Evaluación del crecimiento y productividad del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo cultivo protegido en tres localidades de Costa Rica. *Tecnología en Marcha*, 25(1): 3-15. https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/172/170
- Santos C B; Ríos MD (2016). Cálculo de Soluciones Nutritivas en Suelo y Sin Suelo. Cabildo Insular de Tenerife, Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural. Area de Agricultura y Pesca, España, 113 p. http://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/otro_622_soluciones_nutritivas.pdf
- Segura S (2003). Divergencias Morfológicas Interespecíficas del Subgénero Tacsonia (Passiflora). En: Franco TL; Hidalgo R (org.). *Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos*. Boletín Técnico No. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (PGRI). Cali, Colombia, 79-84p.
https://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/An%C3%A1lisis_estad%C3%ADstico_de_datos_de_caracterizaci%C3%B3n_morfol%C3%B3gica_de_recursos_fitogen%C3%A9ticos_894.pdf
- Statistical Analysis System [SAS] (2002). *SAS/STAT Guide for Personal Computer (Ver. 9.2.)* [Computer Software]. Cary, United States of America: SAS Institute Inc.
- Steiner AA (1984). The universal nutrient solution. *Proceedings of the Sixth International Congress on Soilless Culture*. Wageningen, Netherlands: International Society of Soilless Culture, 633-649p.
https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Steiner%2C+A.+A.+%281984%29&btnG=
- Suvo T et al. (2017). Impact of substrate on soilless tomato cultivation. *International Journal of Agricultural Research, Innovation and Technology*, 6(2): 82-86.
<https://doi.org/10.3329/ijarit.v6i2.31710>

- Valenzuela M et al. (2014). Respuesta del tomate cultivado en hidroponía con soluciones nutritivas en sustrato humus de lombriz-fibra de coco. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(5), 807-818. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v5n5/v5n5a7.pdf>
- Vargas-Tapia,P et al. (2008). Efecto del tamaño de partícula sobre algunas propiedades físicas del tezontle de Guanajuato, México. *Agricultura Técnica en México*, 34(3): 323-331. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172008000300007
- Zhang Y et al. (2015). Influence of nutrient concentration and composition of the growth, uptake patterns of nutrient elements and fruit coloring disorder for tomatoes grown in extremely low-volume substrate. *The Horticulture Journal*, 84(1): 37-45. <https://doi.org/10.2503/hortj.MI-003>

Isolation and characterization of endophytic bacteria from maize and giant reed with biotechnological and biocontrol potential against *Rhizoctonia zeae*

Recibida em: 15/09/2022


Aprobado em: 20/09/2022

 10.46420/9786581460594cap7

Estefanía Morales-Ruiz^{1,4} 

Gloria M. Zamudio-Aguilasocho² 

Carmen Martínez-Valenzuela³ 

Ignacio E. Maldonado-Mendoza¹ 

Jesús Damián Cordero-Ramírez^{2*} 

ABSTRACT

Bacterial endophytes provide beneficial effects such as growth promotion and protection against phytopathogens to their host plants. The objective of this study was to isolate endophytic bacteria from maize (*Zea mays* L.) and giant reed (*Arundo donax* L.) to evaluate both their plant growth promotion traits and antagonistic potential against *Rhizoctonia zeae*, an emergent maize pathogen. In total, 133 bacteria from the leaves, stems and roots of giant reed and maize were isolated, and the 10 strains that had the highest percentage of growth inhibition of the phytopathogenic fungus *R. zeae* were selected for further characterization. The strains were identified by 16S rDNA sequencing as belonging to the genera *Rhizobium*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, and *Pseudomonas*. Phenotypic characterization showed that six strains produced endoglucanases, proteases, and lipases; one produced chitinase; five produced siderophores; seven produced IAA; and five produced solubilized phosphate, all of which are important plant-growth promotion and antagonistic traits. In conclusion, this suggests the potential biotechnological use of naturally occurring bacterial endophytes obtained from wild plants for use in agronomically important crops. Additionally, our findings highlight the importance of working with native organisms to

¹ Departamento de Biotecnología Agrícola, CIIDIR Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional, Boulevard Juan de Dios Bátiz Paredes 250, 81101, Col. San Joaquín Guasave, Sinaloa, México.

² Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Guasave. Guasave, Sinaloa, México. Avenida Universidad S/N Colonia Villa Universidad, Guasave, Sinaloa, CP 81048

³ Unidad de investigación en Ambiente y Salud. Boulevard Macario Gaxiola y Carretera Internacional S/N Col. Conrado Espinosa. CP. 81273, Los Mochis Sinaloa México.

⁴ Present address: Unidad Académica de Sistemas Arrecifales, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Puerto Morelos, México.

* Corresponding author e-mail: elcofra@yahoo.com.mx

fight local fungal infections and reaffirm the need to protect ecological preservation zones as reservoirs of bacterial biodiversity.

INTRODUCTION

One of the most important agricultural crops worldwide, maize (*Zea mays*), is used to feed both humans and livestock and is used in diverse industrial applications, such as biofuel production. In terms of global maize production, Mexico, at 28 million tons, is ranked just behind the USA, China, Brazil, Argentina, Ukraine, and India (FAOSTAT, 2017). Maize is certainly one of the most profitable crops and has experienced increased demand over the past decade (Shiferaw et al., 2011). This has favored its monoculture but has also led to the appearance and increase in fungal diseases such as those caused by *Rhizoctonia* and *Fusarium* (Castro del Ángel et al., 2017).

The genus *Rhizoctonia* comprises phytopathogenic fungi that infect the roots and leaves of many host plants, including various important agricultural crops such as maize, tomato, rice, and common bean (Devi and Thakur, 2018). It includes a heterogeneous group of filamentous saprophytes and necrotrophic fungi that share several characteristics: they do not form spores but grow by hyphae, some of which specialize into monilioid cells that fuse together to form hard resistant sclerotia that persist in the soil until the conditions are favorable for colonizing a host plant (González García et al., 2006). *R. solani* is considered the most important pathogen in this group and has been isolated from over 200 hosts ranging from ornate plants to agricultural crops. Importantly, in recent decades, *R. solani* and other species, such as *R. zeae* (teleomorph *Waitea circinata*), have been more frequently isolated from agricultural crops with which they do not typically associate (Blanco et al., 2018). This phenomenon has occurred despite agricultural management practices such as crop rotation (i.e., soy-maize, potato-maize, or rice-maize), suggesting that what were once considered to be host-specific strains can actually adapt to new hosts (González-Vera et al., 2010; Ajayi-Oyetunde and Bradley, 2017) with severe consequences for plants that have not evolved mechanisms to contend with this specific fungus (Anderson et al., 2016).

In Mexico, *Rhizoctonia* research has focused mainly on potatoes since this crop suffers the greatest economic damage from this pathogen. *Rhizoctonia*-infected potatoes were previously identified in the northern region of the Mexican state of Sinaloa (Fernández-López, 2011). In recent growing seasons, growers and field advisors have observed the increased incidence and severity of *Rhizoctonia* stem canker and black scurf in potato; dry sunken lesions on stems and roots near the soil line, such as those caused by *Rhizoctonia*, have also been observed on common bean (Rábago-Zavala, 2017). Moreover, maize at the silking stage has been seen to develop blight on the first and second leaf sheaths that spreads and causes nodal cankers in the first and second basal leaves. As stated above, the incidence and severity of these

diseases are more relevant in commercial fields subject to crop rotation, such as potato, common bean, and maize.

Rábago-Zavala (2017) identified 14 *Rhizoctonia* spp. isolates from maize plants in northern Sinaloa, in which ten were identified as *R. zeae* and three as *R. solani*. One of these isolates from *R. zeae* and another from *R. solani* were applied to maize seeds in an earlier study, resulting in 100% and 37% disease severity, respectively, five days after germination; furthermore, the endophytic bacterium *Bacillus cereus sensu lato* B25 inhibited the growth of both fungi in vitro by 35.71% (*R. zeae*) and 43.75% (*R. solani*) (Carreño-Chávez, 2014).

The biological control of *Rhizoctonia* (and phytopathogenic fungi in general) is an attractive, environmentally friendly approach, and several studies have reported the success of endophytic bacteria as biocontrol agents (Rahman et al., 2018; De Silva et al., 2019; White et al., 2019). Endophytic bacteria are a subclass of rhizospheric plant-associated bacteria that live inside plant tissues without causing any damage to the host. Aside from acting as biocontrol agents, some of these bacteria can promote host plant growth and are therefore characterized as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) (De Silva et al., 2019). Endophytic bacteria provide beneficial effects to plants by directly obtaining nutrients and modulating growth-related hormones, while they indirectly affect the growth of pathogens that produce lytic enzymes or scavenge nutrients (Afzal et al., 2019).

The use of endophytic microorganisms to specifically control *Rhizoctonia* infections has been demonstrated broadly. For example, *Trichoderma harzianum* inhibits mycelial growth and sclerotia formation of *R. solani* f. sp. *sasakii* during maize infection (Devi and Thakur, 2018); *T. harzianum* inoculated with *B. megaterium* increases maize yield in the presence of *R. solani* (Kubheka et al., 2018); and *T. atroviride*, *Phomopsis* sp., *Epicoccum nigrum* and *Alternaria longipes* have shown antagonistic activity in greenhouse experiments against *R. solani* in potato (Lahlali and Hijri, 2010).

The efficacy of endophytes depends greatly on host specificity. Indeed, endophytic colonization of plants is determined by a set of plant and bacterial traits in a complex process that requires very strict communication between the two partners. The endophytic diversity present in a plant depends on several factors, including the species of the host plant. Evidence suggests that endophytes are only capable of plant growth promotion in plants closely related to their natural host (Long et al., 2008). In contrast, other reports have shown that endophytes can promote growth in diverse plant hosts (Compant et al., 2005; Sessitsch et al., 2005; Ma et al., 2011). Thus, it is important to test the host range of endophytes to learn about their potential as growth-promoting or biocontrol agents.

It has been observed that different plant species growing in the same soil can have very different endophytic communities (Afzal et al., 2019). This highlights the importance of isolating and using native – rather than exotic or foreign – microorganisms to fight local infections (Long et al., 2008). Indeed, in

Sinaloa, Mexico, the native endophytic bacterium *Bacillus cereus* B25 has been applied to biologically control maize ear and root rot caused by the fungus *Fusarium verticillioides* (Lizárraga-Sánchez et al., 2015).

Thus, in the present work, we aimed to isolate endophytic bacteria from maize native to the state of Sinaloa and from wild-growing giant reed (*Arundo donax* L.) – a close relative of maize – to test their biocontrol potential against *Rhizoctonia zeae* isolated from infected maize crops in Sinaloa. Those bacteria that inhibited the growth of the fungus in higher percentages were molecularly identified and phenotypically characterized according to their plant growth-promoting traits. Our observations open new possibilities for endophytes obtained from wild-growing plants and their application to become biotechnologically relevant in agriculturally important crops such as maize.

MATERIALS AND METHODS

Isolation of endophytic bacteria

Wild-growing giant reed plants (*Arundo donax* L.) were collected (February 2018) in the Ecological Preservation Zone known as “La Uba”, located 26 km south of the municipality of Guasave in the state of Sinaloa, Mexico (25° 29' 42" north latitude, 108° 27' 12" west longitude). Maize (*Zea mays* L.) Voluntary plants (growing in between crops) at approximately 40 to 55 days post-emergence (from vegetative stage V4 up to tasseling stage VT) were harvested adjacent to La Uba. This preservation zone represents the last relict area of endemic natural vegetation of the region and was therefore selected for the isolation of endemic bacteria.

The leaves, stems and roots of five maize plants and five giant reed plants were superficially disinfected by washing them with fresh water and commercial soap for 5 min. Subsequently, tissue sections 1-2 cm in length were disinfected by soaking in 70% ethanol for 1 min and were then immersed in a 1% sodium hypochlorite solution for 10 min, washed with a 10% v/v Tween-20 solution (Sigma, Cat. P7949), rinsed three times with sterile distilled water, and dried over sterile filter paper (Abdallah et al., 2016).

Transverse and longitudinal cuts were made in the tissue fragments, which were then plated onto LB (Sigma, Cat. L3022), King B (Sigma, Cat. 6078) and actinomycete isolation agar (AIA) (Fluka, Cat. 17117) plates and incubated at 30°C for 2 days. Morphologically distinct colonies were replated until they were fully purified. All isolates were cryopreserved in 15% glycerol.

Fungal isolate

The *Rhizoctonia zeae* strain was kindly provided by Dr. Rubén Félix-Gastélum (Universidad Autónoma de Occidente; Los Mochis, Sinaloa, Mexico). The strain was isolated from maize crops, preserved on PDA (BD Bioxon, Cat. 211900) slant cultures that were incubated for five days at 25°C in

the dark and then covered with a 1-cm layer of mineral oil (Faga-Lab, Cat. 1300) (Montesinos-Matías et al., 2015) and kept at 4°C until use.

In vitro antifungal activity/antagonism assays

The interaction between the bacterial isolates and *R. zea* was assayed using a dual culture technique (Prince et al., 2011). *R. zea* was grown on PDA for seven days at 25°C in the dark. On day seven, 5-mm disks containing mycelia were extracted with a sterilized cork borer. Prior to assaying, the bacterial isolates were grown on LB broth for 24 h at 30°C with 200 rpm shaking. For the assay, a 5-mm PDA disk with *R. zea* mycelia was placed at the center of a PDA agar plate, and 10 µL of a bacterial isolate was inoculated on opposite (yet equidistant) sides of the plate in the shape of a cross. One PDA plate could thus be used to assay four different bacterial strains. The plates were then incubated at 25°C for three days in the dark. As a control, a plate was inoculated with *R. zea* alone in LB broth. Each assay was performed in triplicate. The percent inhibition was calculated using the formula:

$$\% \text{ inhibition} = \frac{r - r_1}{r} \times 100$$

in which r = fungal growth measured in mm from the center of the colony radially toward the edge of the plate in the absence of the antagonist, and r_1 = fungal growth measured in mm from the center of the colony radially toward the antagonist.

Enzyme activity assays

All growth conditions were the same in the following assays, with single colonies grown in 5 mL of LB broth at 30°C and 200 rpm for 24 h. When needed, 1 mL of culture was centrifuged for 10 min at 16,000 x g , and the supernatant was recovered for use. All assays were performed in triplicate.

Total protease production was tested using skim milk agar plates (Jones et al., 2007). Fifty microliters of the supernatant was inoculated inside 6-mm diameter holes previously made in skim milk agar plates (LB agar with 10% w/v of a 10% w/v skim milk solution (Svelty, Nestle®) both previously sterilized at 121°C for 15 min and mixed while still warm) and incubated for 24 h at 30°C. *B. subtilis* (B7TA16) was used as a positive control (Khalil et al., 2021). Protease activity was identified by the formation of a clear halo around the well.

Chitinase production was evaluated on colloidal chitin agar plates. Ten microliters of the culture was spotted onto colloidal chitin agar plates: (NH₄)₂SO₄, 0.5 g (Faga Lab, Cat. 2332); K₂HPO₄, 0.1 g (Fermont, Cat. 35842); NaCl, 1 g (Faga Lab, Cat. 2153); MgSO₄·7H₂O, 0.01 g (Faga Lab, Cat. 2344); yeast extract, 0.05 g (BD Bioxon, Cat. 230900); colloidal chitin, 0.5 g (Roberts and Selitrennikoff, 1988); and agar, 1.5 g (BD Bioxon, Cat. 215000) in 50 mL of distilled water and sterilized at 121°C for 20 min. *B.*

cereus sensu lato B25 was used as a positive control. Chitinase enzyme activity was identified by the formation of a clear zone around bacterial cells after 5 days of growth at 30°C (Figueroa-López et al., 2017).

β -1,4-endoglucanase activity was qualitatively evaluated using carboxy methyl cellulose (CMC) (Sigma Aldrich, Cat. 419273) as a substrate and 1% (w/v) CMC agar plates. For this test, 50 μ L of each supernatant was inoculated into 6-mm diameter holes previously made in 1% CMC agar plates. Next, the plates were incubated for 24 h at 50°C (Ramírez and Cocha, 2003). Cellulase enzyme from *Trichoderma reesei* (Sigma Aldrich, Cat. C8546) was used as a positive control. β -1,4-endoglucanase activity was revealed by adding 5 mL of 1% (w/v) Congo red dye (Sigma, Cat. C6767) for 15 min. The dye was subsequently removed, and the excess was washed with 5 mL of 2 M NaCl (Faga Lab Cat. 2153) for 5 min. Finally, glucanase activity was determined according to the presence of a clear halo around the well, measured in centimeters (Teather and Wood, 1982). Microorganisms were grouped according to the glucanase activity (hydrolysis halo size) criterion described in Ramírez and Cocha (2003), with some modifications: absent, 0.6 – 0.79 cm; scarce, 0.80 – 0.99 cm; regular, 1.00 – 1.19 cm; good, 1.20 – 1.39; very good, \geq 1.4.

Lipolytic activity was qualitatively evaluated on glyceryl tributyrinate (Sigma Aldrich, Cat. T8626) (1% (w/v) tributyrin) agar plates (Stead, 1984). Fifty microliters of each culture supernatant was transferred and placed into 6-mm diameter holes previously made in the plates and incubated for 48 h at 30°C. Lipolytic activity was identified by the formation of a clear halo around the well. *Serratia liquefaciens* was used as a positive control.

Hemolysis tests were performed to rule out isolates with a potential pathogenic effect on humans, *i.e.*, bacteria that partially (α -hemolysis) or totally (β -hemolysis) lyse erythrocytes. For the assay, 50 μ L of each supernatant was transferred and placed into 6-mm diameter holes previously made in blood agar plates (MCD LAB, Cat. 7504). LB broth was used as a negative control. The plates were then incubated at 37°C for 48 h. The strains were classified according to the observed lysis halos as follows: α (partial lysis), β (total lysis), or γ (absence of hemolysis) (Tille, 2013).

Indole acetic acid (IAA) production

IAA production was assayed colorimetrically, as described by Loper and Schroth (1986). Single colonies of each strain were grown on LB broth for 48 h at 30°C with 200 rpm shaking. After 10 min of centrifugation at 12,000 $\times g$, the culture supernatants were recovered. One hundred microliters of each supernatant was incubated with 100 μ L of Salkowski's reagent (0.2 g of ferric chloride (Faga Lab, Cat. 2143), 4.23 mL of sulfuric acid (Faga Lab, Cat. 2047) in a final volume of 10 mL) for 30 min in the dark, after which the absorbance was recorded at 530 nm. A calibration curve ($R^2 = 0.9962$) was performed with IAA (Sigma, Cat. 12886) concentrations ranging from 0 to 60 μ mol l⁻¹ in LB broth to extrapolate the obtained data. Each assay was performed in triplicate.

Phosphate solubilization

The phosphate solubilization ability of the strains was assayed on Pikovskaya agar plates (for 1 L: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 2.5 g (Sigma, Cat. 693898); glucose, 13 g (Faga Lab, Cat. 2165); $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.5 g (Faga Lab, Cat. 7738); NaCl, 0.2 g (Faga Lab, Cat. 2153); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g (Faga Lab, Cat. 2344); KCl, 0.2 g (Faga Lab, Cat. 1062); yeast extract, 0.5 g (Sigma, Cat. 8213); agar, 15 g (BD Bioxon, Cat. 215000); pH 7.2).

Single colonies of each strain were grown on LB broth for 24 h at 30°C with 200 rpm shaking. Next, 10 μL of each culture was spotted onto Pikovskaya agar plates in triplicate and incubated for 7 days at 30°C. A clear halo surrounding the colony indicates a positive reaction. The solubilization index (SI) was calculated using the following formula (Edi Premono et al., 1996):

$$SI = \frac{\text{colony diameter} + \text{halo zone diameter}}{\text{colony diameter}}$$

Siderophore production

Siderophore production was tested using the overlaid chrome azurol S (O-CAS) method (Pérez-Miranda et al., 2007) with slight modifications. First, all tested strains were grown in LB broth for 24 h at 30°C with 200 rpm shaking. Next, 10 μL of each culture was spotted onto LB agar plates supplemented with 200 $\mu\text{mol l}^{-1}$ 2,2-bipyridyl (Sigma, Cat. D216305) to generate an iron-deprived state (Kalidasan et al., 2018). The agar plates were then incubated at 30°C for 24 h.

The CAS medium to be poured as an overlay was prepared as two different solutions: a PIPES solution (PIPES, 6.048 g (Sigma, Cat. P6757) in 180 mL of double-distilled water, pH 5.8) and a chrome azurol S (CAS) solution, which is a mix of three different solutions: solution A (chrome azurol S (Pfaltz and Bauer, Cat. C21430), 30 mg in 25 mL of ddH₂O); solution B (FeCl_3 (Faga Lab, Cat. 2143), 2.7 g in 10 mL of 10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ HCl (J. T. Baker, Cat. 9535-02)); and solution C (hexadecyltrimethylammonium bromide (HDTMA, Sigma, Cat. H6269), 36 mg in 40 mL of ddH₂O). The three solutions were mixed in the following proportions: 4.5 mL of solution B and 40 mL of solution C were added to 25 mL of solution A for a final volume of 69.5 mL. Both the PIPES and CAS solutions were autoclaved at 121°C for 15 min. Subsequently, 20 mL of the CAS solution was added to the PIPES solution. Finally, 1% (w/v) agarose (Nara Biotec, Cat. NR-90125) was added as a gelling agent and heated to dissolve it. Then, 10 or 30 mL (for 80- or 150-mm diameter petri dishes) was poured over the previously inoculated LB + bipyridyl agar plates. With this assay, after 25 min to a maximum of 24 h, a change in color from blue to purple or orange can be observed exclusively surrounding catechol- or hydroxamate-producing microorganisms, respectively. *Acinetobacter calcoaceticus* (AcDB3) was used as a positive control for siderophore production (Khalil et al., 2021), and LB broth was used as a negative control.

Molecular identification

Genomic DNA (gDNA) extraction was performed on the selected bacterial isolates using the DNeasy® Blood and Tissue kit (QIAGEN, Cat. 69506), according to the supplier's instructions. The gDNA concentration was quantified using a NanoDrop® spectrophotometer (Thermo Fisher, Cat. ND2000).

The gDNA was then used as a template for PCR amplification of the 16S region of the ribosomal DNA with the universal oligonucleotides F2C (5'-AGAGT*TTGATCATGGCTC-3') and C (5'-ACGGGCGGTGTGTAC-3') (Shi et al., 1997) and the GoTaq® Flexi DNA Polymerase enzyme (Promega, Cat. M3005). The PCR conditions were as follows: one denaturing cycle at 95°C for 4 min; 33 cycles of denaturing at 95°C for 30 s, annealing at 60°C for 30 s, and polymerization at 72°C for 45 s; and a final extension cycle at 72°C for 7 min. The amplicons obtained were sequenced at the Laboratorio de servicios genómicos (Labsergen), LANGEBIO, CINVESTAV (Irapuato, Mexico), and a BLAST search of the sequences was performed using the NCBI database.

RESULTS

Isolation and selection of endophytic bacteria with antagonistic potential toward Rhizoctonia

A total of 133 endophytic bacteria were isolated from maize (43 isolates: 10 from leaves, 6 from stems, and 27 from roots) and giant reed (90 isolates: 23 from leaves, 17 from stems, and 50 from roots). To avoid the possibility of working with potential human pathogens, all α - (33) and β -hemolytic (18) strains were discarded, leaving 79 γ -hemolytic strains (6 from maize and 73 from giant reed).

The antifungal activity of the 79 γ -hemolytic strains was evaluated *in vitro* in PDA plates using a dual culture technique. Ten strains (4 from maize and 6 from giant reed) decreased the growth of *R. zeae* (Figure 1), with inhibition percentages ranging from 21 to 50% (Table 1).

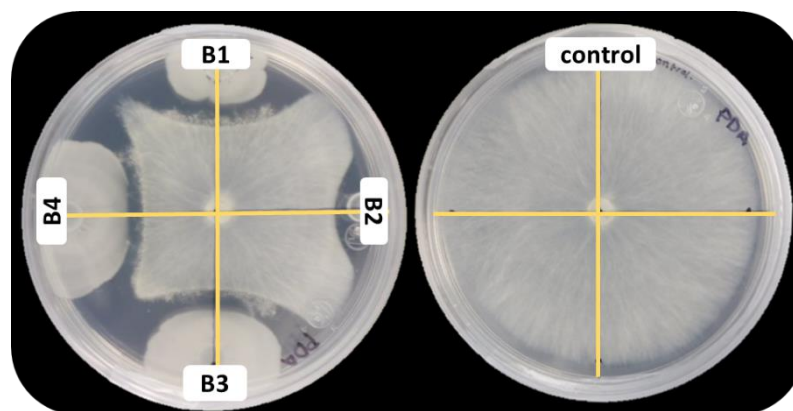


Figure 1. *Bacteria-fungus antagonism assays.* Dual culture assays were performed to determine if any of the isolated bacterial strains inhibited the growth of *Rhizoctonia zeae*. Left plate: *R. zeae* (center of the plate) and 4 different bacteria forming a cross (B1-B4) were grown on PDA plates. An inhibition halo is formed

around the colony if a bacterium inhibits fungal growth. Right plate: as a control, *R. zeae* was grown alone in LB broth without any bacterial inoculum.

Molecular identification of endophytic isolates

The 10 strains that inhibited the growth of *R. zeae* were identified by 16S rDNA amplification and sequencing. The sequences were submitted to BLAST searches using the NCBI database, and the results are summarized in Table 1. We found species belonging to *Rhizobium*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, and *Pseudomonas*, with an identity percentage at the sequence level above 98%.

Table 1. BLAST results for the sequences from the 10 bacterial isolates that inhibited the growth of *Rhizoctonia zeae*.

Strain	Query Cover (%)	E value	Identity (%)	Accession no.
<i>Rhizobium pakistanense</i>	96	0	100	NR_145565.1
<i>Staphylococcus warneri</i>	100	0	100	NR_025922.1
<i>Bacillus aryabhatai</i>	100	0	99	NR_118442.1
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	100	0	100	NR_113405.1
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	98	0	100	NR_114074.1
<i>Bacillus velezensis</i>	100	0	100	NR_075005.2
<i>Pseudomonas guariconensis</i>	96	0	98	NR_135703.1
<i>Bacillus velezensis</i>	100	0	100	NR_075005.2
<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	94	0	100	NR_114226.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	98	0	99	NR_117678.1

Characterization of plant growth promotion and antagonism traits

Next, the ten strains were evaluated for their ability to produce protease, chitinase, endoglucanase, lipase, siderophores, and IAA and to solubilize phosphate. These traits are related to both plant growth-promoting and antagonistic activities, and their results are summarized in Table 2. Examples of the phenotypic characterization are shown in Figure 2.

Only *Staphylococcus warneri* produced chitinase on colloidal chitin agar. β -1,4-endoglucanase activity was observed in the maize strain *B. velezensis* and the giant reed strain *B. aryabhatai* with good activity and in four other strains with very good activity, including *S. warneri*, *S. saccharolyticus*, *B. velezensis* and *Rhizobium pakistanense*.

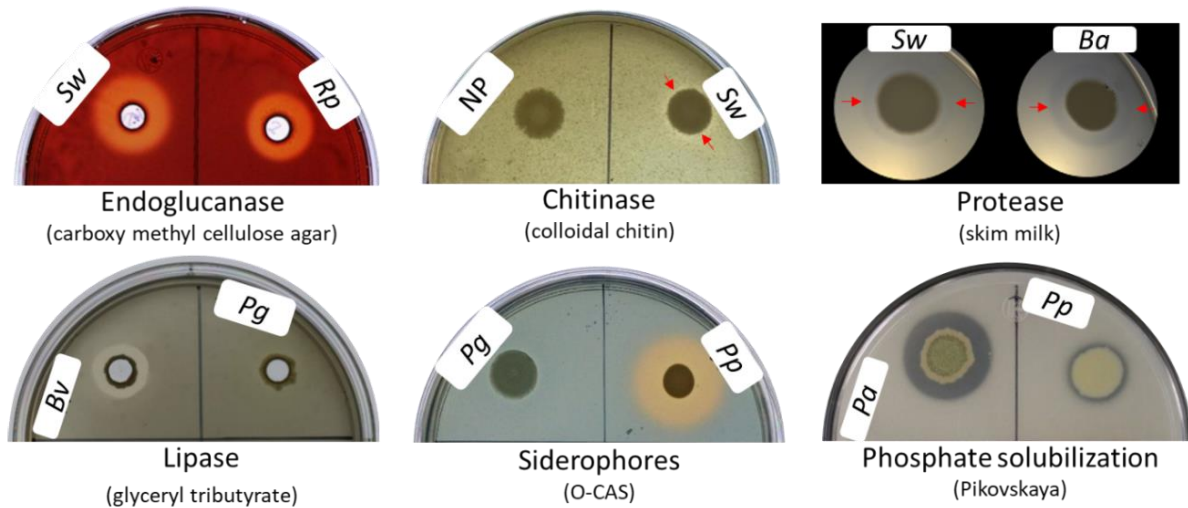


Figure 2. Examples of the phenotypic characterization of bacteria that antagonize fungal growth. Phosphate solubilization, protease production, lipase activity, endoglucanase activity, and chitinase production were all revealed by the formation of a clear halo around the colony on their respective plates. Siderophore production was revealed by the formation of an orange halo around the colony. Abbreviations: *Pa*, *Pseudomonas aeruginosa*; *Pp*, *P. plecoglossicida*; *Sw*, *Staphylococcus warneri*; *Ba*, *Bacillus aryabhatai*; *Bv*, *B. velezensis*; *Pg*, *P. guariconensis*; *Rp*, *Rhizobium pakistanense*; NP, nonproducer unidentified strain.

Protease activity was found in six out of the 10 strains, i.e., *S. saccharolyticus*, *S. warneri*, *B. aryabhatai*, *B. velezensis* (both strains isolated from maize and giant reed), and *P. aeruginosa*, of which *B. aryabhatai* and *P. aeruginosa* had the highest activity according to the production of clear halos (>4 mm) in the skim milk assay. Lipase activity was detected in the six strains *A. radioresistens*, *S. saccharolyticus*, *S. warneri*, *B. velezensis* (both strains isolated from maize and giant reed), and *P. aeruginosa*, which formed 2-4.5 mm hydrolysis halos on glycerol tributyrata agar plates, with *S. warneri* displaying the highest activity.

Regarding siderophore production, five strains, *A. radioresistens*, *S. warneri*, *P. guariconensis*, *P. plecoglossicida*, and *P. aeruginosa*, produced 3-6 mm orange halos, corresponding to hydroxamate siderophores in the O-CAS experiment. All the strains except *S. saccharolyticus*, *B. velezensis* and *R. pakistanense* produced IAA as determined by the Salkowski reaction, with the strain *P. aeruginosa* displaying the highest IAA production (9.17 μM).

Finally, the phosphate solubilization assay on Pikovskaya agar plates revealed that five strains, *S. saccharolyticus*, *B. velezensis*, *P. guariconensis*, *P. plecoglossicida*, and *P. aeruginosa*, were able to solubilize phosphate (solubilization index > 1), of which *P. aeruginosa* from maize and *B. velezensis* from giant reed had the highest SI values (1.83 and 1.47, respectively).

Table 1. Plant growth promotion and antagonistic traits of the bacterial isolates evaluated.

Strain	R. <i>zeae</i> inhibition*	% Endoglucana se†	Chitinas e‡	Proteas e‡	Lipas e‡	Siderophor es‡	IAA (μ M)	SI
Giant reed								
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	50.57±0.05	0.6	-	-	++	+++	0.075	-
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	45.71±0.1	1.46	-	+	++	-	-	1.3
<i>Staphylococcus warneri</i>	45.71±0.1	1.8	+	++	+++	++	0.31	-
<i>Bacillus aryabhattai</i>	44±0.05	1.26	-	+++	-	-	4.3	-
<i>Bacillus velezensis</i>	44±0.05	1.93	-	+	+	-	-	1.4
<i>Rhizobium pakistanense</i>	21.14±0.05	1.46	-	-	-	-	-	7
Maize								
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40±0.05	0.6	-	+++	+	+	9.17	1.8
<i>Bacillus velezensis</i>	34.28±0.05	1.26	-	++	++	-	3.49	3
<i>Pseudomonas guariconensis</i>	29.71±0.05	0.6	-	-	-	+++	6.2	1.0
<i>Pseudomonas plecoglossicida</i>	25.71±0.1	0.6	-	-	-	+++	5.3	8

*The values correspond to the mean \pm SD. †Hydrolysis halo size in centimeters. Corresponding glucanase activity: absent, 0.6 – 0.79 cm; scarce, 0.80 – 0.99 cm; regular, 1.00 – 1.19 cm; good, 1.20 – 1.39; very good, \geq 1.4. ‡The results are expressed as a function of the diameter of the halos formed around the colonies: +, <3 mm; ++, >3<4 mm; +++, >4 mm. IAA, indole acetic acid; SI, phosphate solubilization index.

DISCUSSION

One of the most important cereals grown around the world, maize, is susceptible to fungal infections that inflict important economic losses. *Fusarium verticillioides* is the most commonly found fungus to infect maize, and a number of biocontrol strategies have been successfully applied to control this pathogen (Lizárraga-Sánchez et al., 2015; Figueroa-López et al., 2016; Martínez-Álvarez et al., 2016). With this in mind, we aimed to find a native endophyte that could antagonize *Rhizoctonia zeae* in maize, as the incidence of this emerging pathogen has been increasing in maize fields in the Mexican state of Sinaloa (Rábago-Zavala, 2017). In the municipality of Guasave (Sinaloa), we collected giant reed plants (*Arundo donax* L.) from the ecological preservation zone known as La Uba, an area of endemic relictual vegetation, and voluntary maize plants were collected from an adjacent maize field. Giant reed is a promising grass

for use in the production of biofuel (Antal, 2018). Since both giant reed and maize are members of the family Poaceae, we isolated endophytes of giant reed to determine if they could also colonize maize and be used as a possible source of biocontrol agents, as well as contribute to our understanding of endophyte-plant host specificity.

We isolated a total of 133 endophytes from maize and giant reed. After discarding α - and β -hemolytic isolates, 79 γ -hemolytic strains were retained to evaluate their potential to antagonize the growth of *R. zeae*. Ten strains inhibited fungal growth by 21-50%, similar to the inhibition percentages reported for other maize endophytes used as biocontrol agents (Mousa et al., 2015; Figueroa-López et al., 2016; Marag and Suman, 2018). We amplified and sequenced the 16S rDNA region of these strains and found species belonging to *Rhizobium*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, and *Pseudomonas*. Among these genera, all strains have been reported as endophytes, except *S. saccharolyticus*. For example, *Rhizobium pakistanense* was previously isolated from peanut (*Arachis hypogaea* L.) nodules (Khalid et al., 2015); *S. warneri* has been reported as an endophyte of maize (Bodhankar et al., 2017), rice (Chaudhry et al., 2017), and common bean (*Phaseolus vulgaris*) (Costa et al., 2012); *B. aryabhatai* has been isolated from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) (Kruasuwan and Thamchaipenet, 2016), maize (Marag and Suman, 2018), and tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Jiabao) (Tian et al., 2017); *A. radioresistens* has been shown to be an endophyte of both tomato (Rashid et al., 2012) and maize (Thanh and Diep, 2014). *B. velezensis* is reported to be a maize endophyte with biocontrol activity against *Sclerotinia sclerotium* (Massawe et al., 2018) and has also been found in peanut (Chen et al., 2019). *P. guariconensis* is a sugarcane (Kruasuwan and Thamchaipenet, 2016) and tomato endophyte (Ramírez-Bahena et al., 2015). *P. plecoglossicida* improves banana yield and reduces the severity of *Mycosphaella fijiensis* infections (Marcano et al., 2016) and has also been reported as a poplar tree (*Populus trichocarpa*) endophyte (Moore et al., 2006). Finally, *P. aeruginosa* has been reported as an endophyte in black pepper, where it controls the oomycete plant pathogen *Phytophthora capsici* (Kumar et al., 2013), and in chili (*Capsicum annum* L.), where it has shown antagonism against the fungus *Colletotrichum capsica* (Allu et al., 2014).

We then evaluated several traits related to plant growth promotion and antagonism. Only *S. warneri* produced chitinase on colloidal chitin agar. Chitinase, an enzyme that degrades the chitin found on the cell wall of fungi, is produced by several biocontrol bacteria and fungi (Banerjee and Mandal, 2019). The production of other hydrolytic enzymes with biocontrol activity, such as protease, glucanase and lipase, has also been described for several bacteria (Afzal et al., 2019). Accordingly, we found that several of our isolates produced some of these enzymes to some extent (Table 1).

Siderophore production is both an antagonistic and a plant growth-promoting trait, and we found that some of our isolates produce hydroxamate siderophores. IAA and phosphate solubilization traits were also present in some of our strains. None of the ten isolates produced every trait that we evaluated, not

even those isolates that had the highest percentages of *R. zeae* growth inhibition. Nevertheless, it has been reported that the antagonism displayed by biocontrol agents is the result of the synergistic mode of action of different mechanisms (White et al., 2019). In our group, we are currently working to develop biocontrol/biofertilizer agents based on native bacteria for commercial purposes.

CONCLUSION

This report highlights the importance of working with native organisms to resolve local problems caused by fungal pathogens. Our results also reaffirm the need to protect ecological preservation zones, which are an important reservoir of bacterial biodiversity that harbor biotechnological potential for use as biofertilizers in agronomically important crops.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by a National Council for Science and Technology of Mexico (CONACyT) grant from the Institutional Fund (FOINS) Fronteras de la Ciencia FC-2016-01-2510. EMR (Registration No. 27198) received an assistant from the same project. GMZA received a CONACyT fellowship (Registration No. 894763).

REFERENCES

- Afzal I et al. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221(2019): 36–49.
- Ajayi-Oyetunde OO; Bradley CA (2017). Identification and characterization of *Rhizoctonia* species associated with soybean seedling disease. *Plant Disease*, 101(4): 520–523.
- Allu S et al. (2014). Isolation, biochemical and PGP characterization of endophytic *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chilli red fruit antagonistic against chilli anthracnose disease. *International Journal of Microbiology and Applied Science*, 3(2): 318–329.
- Anderson JP et al. (2016). Proteomic analysis of *Rhizoctonia solani* identifies infection specific, redox associated proteins and insight into adaptation to different plant hosts. *Molecular and Cell Proteomics*, 15(4): 1188–1203.
- Antal G (2018). Giant reed (*Arundo donax* L.) from ornamental plant to dedicated bioenergy species: review of economic prospects of biomass production and utilization. *International Journal of Horticulture Science*, 24(1–2): 39–46.
- Abdallah RAB et al. (2016). Biocontrol of *Fusarium* wilt and growth promotion of tomato plants using endophytic bacteria isolated from *Nicotiana glauca* organs. *Biological Control*, 97(2016): 80–88.

- Banerjee S; Mandal NC (2019). Diversity of Chitinase-Producing Bacteria and Their Possible Role in Plant Pest Control. Satyanarayana T et al. Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications. Volume 1. Microbial Diversity in Normal & Extreme Environments. Singapore, Springer, 457–491p.
- Blanco AJV et al. (2018). Diversity and pathogenicity of *Rhizoctonia* species from the Brazilian Cerrado. Plant Disease, 102(4): 773–781.
- Bodhankar S et al. (2017). Maize seed endophytic bacteria: dominance of antagonistic, lytic enzyme-producing *Bacillus* spp. 3 Biotech, 7(4): 1–13.
- Carreño-Chávez J (2014). *Bacillus cereus* cepa B25 para el control de la pudrición de raíz en maíz y frijol causado por *Macrophomina phaseolina* y *Rhizoctonia zeae*, en Sinaloa. Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-Sinaloa (Master's Thesis).
- Castro del Ángel E et al. (2017). Endophytic bacteria controlling *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* in *Solanum tuberosum*. European Journal of Physical and Agricultural Sciences, 5(1): 29–39.
- Chaudhry V et al. (2017). Glimpse into the genomes of rice endophytic bacteria: Diversity and distribution of firmicutes. Frontiers in Microbiology, 7(2017): 2115.
- Chen L et al. (2019). Antimicrobial, plant growth-promoting and genomic properties of the peanut endophyte *Bacillus velezensis* LDO2. Microbiological Research, 218(2019): 41–48.
- Compant S et al. (2005). Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. Applied and Environmental Microbiology, 71(4): 1685–1693.
- Costa LEDO et al. (2012). Isolation and characterization of endophytic bacteria isolated from the leaves of the common bean (*Phaseolus vulgaris*). Brazilian Journal of Microbiology, 43(4): 1562–1575.
- De Silva NI et al. (2019). Use of endophytes as biocontrol agents. Fungal Biology Reviews, 33(2): 133–148.
- Devi B; Thakur BR (2018). Integrated management of banded leaf and sheath blight of maize caused by *Rhizoctonia solani* f. sp. *sasakii*. Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences, 88(2): 769–777.
- Edi Premono M et al. (1996). Effect of phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. Indonesian Journal of Crop Science, 11(1996):13–23.
- FAOSTAT I. (2017). Statistical databases and data-sets of the food and agriculture organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Fernández-López LA (2011). Identificación molecular de grupos anastomóticos de *Rhizoctonia solani* asociados a la costra negra y cancro del tallo en el cultivo de papa en Sinaloa. Instituto Politécnico Nacional. CIIDIR-Sinaloa (Master's thesis).

- Figueroa-López AM et al. (2016). Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. SpringerPlus, 5(1): 1-12.
- Figueroa-López AM et al. (2017). Induction of *Bacillus cereus* chitinases as a response to lysates of *Fusarium verticillioides*. Romanian Biotechnology Letters, 22(4): 12722–12731.
- González-Vera AD et al. (2010). Divergence between sympatric rice-and maize-infecting populations of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA from Latin America. Phytopathology, 100(2): 172–182.
- González García V et al. (2006). Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. Spanish Journal of Agricultural Research, 4(1): 55–79.
- Jones BV et al. (2007). Using skimmed milk agar to functionally screen a gut metagenomic library for proteases may lead to false positives. Letters in Applied Microbiology, 45(4): 418-420.
- Kalidasan V et al. (2018). Putative iron acquisition systems in *Stenotrophomonas maltophilia*. Molecules, 23(8): 2048.
- Khalid R et al. (2015). *Rhizobium pakistanensis* sp. nov., isolated from groundnut (*Arachis hypogaea*) nodules grown in rainfed Pothwar, Pakistan. Antonie van Leeuwenhoek, 107(1): 281–290.
- Khalil MMR et al. (2021). Native rhizospheric bacteria as potential biocontrol agents of *Fusarium oxysporum* ff. spp. *lycopersici* race 3 and *radicis-lycopersici* in tomato. Saudi Journal of Biological Sciences, 28(12): 7460-7471.
- Kruasuwat W; Thamchaipenet A (2016). Diversity of culturable plant growth-promoting bacterial endophytes associated with sugarcane roots and their effect of growth by co-inoculation of diazotrophs and actinomycetes. Journal of Plant Growth Regulation, 35(4): 1074–1087.
- Kubheka BP et al. (2018). An integrated approach to managing *Rhizoctonia solani* on maize in marginal soils: field studies. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 51(7–8): 373–386.
- Kumar A et al. (2013). Friend or foe: Genetic and functional characterization of plant endophytic *Pseudomonas aeruginosa*. Environmental Microbiology, 15(3): 764–779.
- Lahlali R; Hijri M (2010). Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Rhizoctonia solani* AG3 on potato plants. FEMS Microbiological Letters, 311(2): 152–159.
- Lizárraga-Sánchez GJ et al. (2015). *Bacillus cereus sensu lato* strain B25 controls maize stalk and ear rot in Sinaloa, Mexico. Field Crops Research, 176: 11–21.
- Long HH et al. (2008). Native bacterial endophytes promote host growth in a species-specific manner; phytohormone manipulations do not result in common growth responses. PLoS ONE, 3(7): e2702.
- Loper JE; Schroth MN (1986). Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. Phytopathology, 76(4): 386–389.

- Ma Y et al. (2011). Inoculation of endophytic bacteria on host and non-host plants – effects on plant growth and Ni uptake. *Journal of Hazardous Materials*, 195(2011): 230–237.
- Marag PS; Suman A (2018). Growth stage and tissue specific colonization of endophytic bacteria having plant growth -promoting traits in hybrid and composite maize (*Zea mays* L.). *Microbiological Research*, 214 (2018): 101–113.
- Marcano IE et al. (2016). Assessment of bacterial populations associated with banana tree roots and development of successful plant probiotics for banana crop. *Soil Biology and Biochemistry*, 99 (2016): 1–20.
- Martínez-Álvarez JC et al. (2016). Development of a powder formulation based on *Bacillus cereus sensu lato* strain B25 spores for biological control of *Fusarium verticillioides* in maize plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(5): 75.
- Massawe VC et al. (2018). Volatile compounds of endophytic *Bacillus* spp. have biocontrol activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, 108(12): 1373–1385.
- Montesinos-Matías R et al. (2015). Manual para la conservación y mantenimiento de hongos entomopatógenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Dirección General de Sanidad Vegetal. SAGARPA-SENASICA. Tecomán, Colima, México, 11-30p.
- Moore FP et al. (2006). Endophytic bacterial diversity in poplar trees growing on a BTEX-contaminated site: The characterization of isolates with potential to enhance phytoremediation. *Systematic and Applied Microbiology*, 29(7): 539–556.
- Mousa WK et al. (2015). Bacterial endophytes from wild maize suppress *Fusarium graminearum* in modern maize and inhibit mycotoxin accumulation. *Frontiers in Plant Science*, 6(2015): 805.
- Pérez-Miranda S et al. (2007). O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *Journal of Microbiological Methods*, 70(1): 127–131.
- Prince L et al. (2011). Antagonistic potentiality of some soil mycoflora against *Colletotrichum falcatum*. *World Journal of Science and Technology*, 1(4): 39–42.
- Rábago-Zavala, K. (2017). Caracterización morfológica, molecular y patogénica de aislados de *Rhizoctonia* spp., de papa, frijol, y maíz dulce en el Norte de Sinaloa. Universidad Autónoma de Occidente, Los Mochis. Master's thesis.
- Ramírez-Bahena MH et al. (2015). *Pseudomonas endophytica* sp. nov., isolated from stem tissue of *Solanum tuberosum* L. in Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(7): 2110–2117.
- Ramírez P; Cocha JM (2003). Enzymatic degradation of cellulose for thermophilic actinomycete: isolation, characterization and cellulolytic activity determination. *Revista Peruana de Biología*, 10(1): 67–77.

- Rashid S et al. (2012). Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. *Applied Soil Ecology*, 61(2012): 217–224.
- Roberts WK; Selitrennikoff CP (1988). Plant and bacterial chitinases differ in antifungal activity. *Microbiology*, 134(1): 169–176.
- Sessitsch A et al. (2005). *Burkholderia phytofirmans* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with plant-beneficial properties. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(3): 1187–1192.
- Shi T et al. (1997). Characterization of viable bacteria from Siberian permafrost by 16S rDNA sequencing. *Microbial Ecology*, 33(3): 169–179.
- Shiferaw B et al. (2011). Crops that feed the world. 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. *Food Security*, 3(3): 307-327.
- Stead, D. (1984). Evaluation of a fluorimetric assay on the lipases from strains of milk psychrotrophic bacteria. *Journal of Dairy Research*, 51(1): 123–130.
- Syed-Ab-Rahman SF et al. (2018). Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*, 267(2018): 102–111.
- Teather RM; Wood PJ (1982). Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied Environmental Microbiology*, 43(4): 777–780.
- Thanh DTN; Diep CN (2014). Isolation, characterization and identification of endophytic bacteria in maize (*Zea mays* L.) cultivated on Acrisols of the southeast of Vietnam. *American Journal of Life Science*, 2(4): 224-233.
- Tian B et al. (2017). Beneficial traits of bacterial endophytes belonging to the core communities of the tomato root microbiome. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 247(2): 149–156.
- Tille P (2013). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. In Elsevier Health Sciences.
- White JF et al. (2019). Endophytic microbes and their potential applications in crop management. *Pest Management Science*, 75(10): 2558–2565.





Ciencias Ambientales

Use of nitrogen fertilizers in the Yaqui Valley: a compilation of three decades of knowledge


Recibida em: 15/09/2022

Aprobado em: 18/09/2022

 10.46420/9786581460594cap8

Oscar Parra-Camara¹ 

Maria Fernanda Avila-Mascareño¹ 

Juan C. Álvarez-Yépiz¹ 

Zulia M. Sanchez-Mejia^{1*} 

ABSTRACT

The Yaqui Valley is known for its intense agricultural activity since the Green Revolution. In this region, several scientific studies regarding the use of agrochemicals have been performed, particularly regarding nitrogen fertilizers. In this study, we compiled published research papers about the use of nitrogen fertilizers in the Yaqui Valley. As a result of the search, 97 publications published in 36 databases were found; these were mainly scientific articles (80%). Most of the studies fall within the subject of conservation agriculture (32.4%), followed by conventional agriculture (27%), leaching (22.5%), and emissions of nitrogen compounds (18%). Approximately 50% of the studies focused on soil and 36% on urea, which is a nitrogen compound of widespread use. Most of the studies to date have focused on wheat (87.5%). The worldwide challenge of food security urges more research about the nitrogen cycle in general and how sustainable agricultural practices in particular may decrease the negative effects of nitrogen fertilizers on agroecosystems.

INTRODUCTION

In Mexico, agriculture is a primary activity with an important cultural legacy and great economic value. Annually, approximately 20 million hectares are cultivated, with a production of approximately 260 million tons.(SIAP, 2019). Despite the arid and semiarid climate in northwestern Mexico, in the state of Sonora, the past five years, an area of 622,475 hectares was cultivated, and in 2019, an agricultural productivity of 8,457,748 Mg was generated where the municipalities of Cajeme, Hermosillo, Etchojoa, Navojoa, and Huatabampo reported the higher productivity of wheat (1,449,714 t), watermelon (627,268 t), potato (417,850 tons), grapes (338,267 t), and asparagus (174,811 t), respectively.

¹ Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de Febrero 818 Sur, Col. Centro, Ciudad Obregón, Sonora, México. CP. 850002

* Autor(a) correspondente: zulia.sanchez@itson.edu.mx

The present study focuses on the Yaqui Valley, since it represents one of the most productive areas in Sonora and particularly in the municipality of Cajeme, which has a crop area of 219,813 hectares, and its main production is cereals, vegetables, and oilseeds.(SIAP, 2019).

Analyzing the socioeconomic context and agricultural management in the Yaqui Valley relies on the fact that high yields depend on the application of synthetic nitrogen fertilizers, whose use intensified by 25% (263 kg ha⁻¹) from 1980 to 2000.(Matson, 2012). The use of agrochemicals and the semiarid climate of the Yaqui Valley have negatively affected the chemistry of the soil, which has a low content of organic matter (<1%) and an alkaline pH (pH 8.1).(Ibarra-Villarreal et al., 2020). Additionally, in the Yaqui Valley, the predominant soils are vertisol or aridisol, characterized by a reduced amount of organic matter and a soil texture composed mostly of mixed montmorillonite clays, silty clays and clay loams.(Ahrens et al., 2008; Matson, 2012).

Table 1. Impacts of nitrogen fertilizers reported by various authors on agroecosystems.(Grageda-Cabrera et al., 2000; Altieri, 2009; Armenta-Bojórquez et al., 2012; Parra-Cota et al., 2018; Ibarra-Villarreal et al., 2020).

Biocenosis	Soil	Atmosphere
Crop loss and loss of biodiversity and genetic resources	Soil erosion	N ₂ O emissions
	Fertility loss	Global warming
Plagues	Salinization and alkalization	Ozone layer depletion
	Nutrient leaching	
Loss of natural control mechanisms	Microbiota changes and losses	
	Organic matter loss	

The impact of the use of nitrogenous fertilizers has been observed in the soil and air systems, which are essential components of agroecosystems (Table 1). Nitrogen is a basic element present in the molecules responsible for the growth and development of the plant; it is also a vital nutrient for photosynthesis, carbon fixation, and the accumulation of organic matter and promotes the increase in agricultural yield.(Ballesteros et al., 2015). The most commonly used technique to apply nitrogen is direct sowing, which requires extreme care when defining the appropriate dose of fertilizer for the plant to take advantage of this nutrient efficiently (Ballesteros et al., 2015; Hamilton & Casey, 2016) and to reduce chemical losses. Although there have been notable increases in agricultural productivity generated by the use of nitrogenous fertilizers, the applied fertilizer is not 100% used. Approximately 50% of these

nitrogenous compounds end up in the harvested crops, while the rest accumulates in the soil or is lost in the agroecosystem.(Andraski et al., 2000; Smil, 1999).

Nitrogen is lost or transported in various ways through harvesting, leaching into soil horizons and underground aquifers, surface runoff, erosion, and gaseous emissions, and these losses have significant and undesirable consequences for the atmosphere, water systems, oceans, and human health (Table 1).(Carpenter et al., 1998; Matson et al., 1998; Townsend et al., 2003; Galloway et al., 2003; Beman et al., 2005).

The Green Revolution was inspired in the Yaqui Valley by the work of Norman E. Borlaug and his colleagues in the mid-20th century.(Matson, 2012). To secure food production, the main objective was to increase productivity per planted area, and some of the strategies included the use of improved crops, application of chemical products, and water management through irrigation.(Ahrens et al., 2008; Duchemin et al., 2015). The result of such measures was a planned region in the coastal plain of southern Sonora, between the sea and the mountains, with approximately 225,000 hectares and irrigation canals laid out in a grid (Figure 1).(Parra-Cota et al., 2018). After decades of research in this region, there is no study that compiles the information generated to date on the state of knowledge of the use of nitrogenous fertilizers in the different reservoirs of the Yaqui Valley agroecosystem.

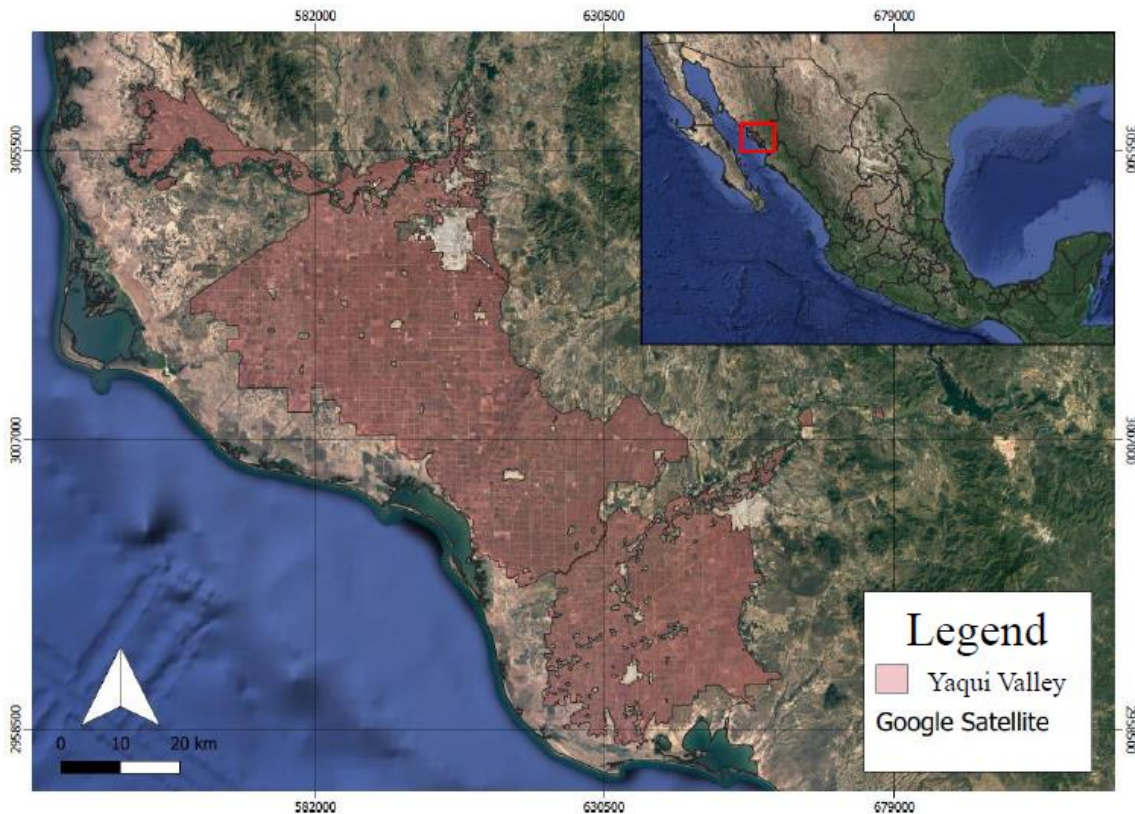


Figure 1. The Yaqui Valley is located in the State of Sonora in the semiarid zone of Northwest Mexico. Geographic coordinates UTM 12N WGS 84.

The general objective of this study was to compile information from the investigations carried out on the use of nitrogenous compounds in the Yaqui Valley in the last 30 years, which were organized in a database and analyzed considering criteria such as year of publication, type of fertilizer, biogeochemical reservoir of impact, and type of agriculture used.

MATERIAL AND METHODS

Compilation of scientific information

The literary research to develop this work consisted of a systematic search of different scientific materials published in databases and repositories of Springer (<https://www.springer.com/la>), Science Direct (<https://www.sciencedirect.com/>), SciELO (<https://scielo.org/>), Redalyc (<https://www.redalyc.org/>), Repository of the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT) (<https://www.cimmyt.org/>) and library of the Technological Institute of Sonora (ITSON) (<http://sib2.itson.mx/cgi-bin/koha/opac-main.pl>). The Google Scholar search engine was also used. The search for publications was carried out using the keywords Valle del Yaqui and nitrogen, alternating the words soil, water and atmosphere, and type of agriculture. The search yielded a total of 97 publications, where scientific articles, theses, reports, summaries, reports and book chapters in Spanish and English were found. The information of each publication was captured (Microsoft Excel®), including the source database, document title, type of document, year of publication, subject, reservoir studied (e.g., soil, water, atmosphere), compound nitrogen studied, type of crop, and type of agriculture. The database is published in Zenodo <https://zenodo.org/record/4474323#.YBya6uj0nIU>

Categorization criteria

The categories defined below were used for the analysis, and they were stated in consensus based on previous literature.(Claus-Peter, 2010; FAO, 2017; Garzón & Cárdenas, 2013; Matson, 2012; Schlesinger & Bernhardt, 2013; Tarbuck & Lutgens, 2005; Vasquez & Vignolles, 2015).

Reservoir

- Atmosphere: The gaseous layer that surrounds the planet; in this work, it is the closest portion of the troposphere, that is, the planetary boundary layer, where the hydrological cycle and transport of gases such as N₂O take place.
- Water: In agriculture, part of the hydrosphere that is used in irrigation moves through evapotranspiration, runoff, leaching and infiltration.
- Plant: Autotrophic organisms that perform photosynthesis represent the biosphere reservoir.

- Soil: Matrix composed of organic and mineral matter, and in its pores water and air; Multiple biogeochemical processes are carried out in it, it is susceptible to weathering and wind and water erosion.

Nitrogenous compound

- Anhydrous ammonia: Fertilizer with a high nitrogen content (82%) and commonly used.
- Ammonium: Inorganic nitrogen compound.
- Poultry Manure: Poultry excreta used as fertilizer.
- Gas (NH_3): Ammonia is used in the manufacture of fertilizers, is composed of hydrogen and nitrogen and is very soluble in water.
- N_2O : Nitrous oxide is the third most important greenhouse gas (after carbon dioxide and methane). In agriculture, it is the result of microbiological activity in the soil.
- Nitrogen (N): N is an essential element for life; in combination with sugars, N promotes the vegetative growth of plants.
- NO: Mixture of nitrogen and oxygen. May evaporate from water or form nitric acid.
- NO_2 : Nitrogen dioxide is a reddish-brown gas denser than air with a pungent odor. It is taken as a reference to measure the levels of contamination in the air.
- NO_3 : Nitrate is easily transported in water, so it is mobile in agricultural fields.
- Organonitrogenated: They are amines, amides, nitriles, and nitro compounds.
- Ammonium sulfate: Ammonium sulfate is a readily available soluble source of nitrogen and sulfur (S). Ammonium sulfate is an acidifying fertilizer, so its use is recommended in alkaline soils.
- Urea: Urea is a plant metabolite; in agriculture, urea is intensively used as a nitrogenous fertilizer.

Context scheme

- Conventional agriculture: it is a production system dependent on external inputs such as fossil fuels and chemicals, the technology can vary, and the general idea is to maximize production.
- Conservation agriculture is a farming system that encourages the maintenance of permanent soil cover and the diversification of crops.
- Emission of nitrogenous compounds: Transport of nitrogenous compounds from the agrosystem to the atmosphere.
- Leaching: Transport of water and solutes to deep layers in the soil.

Analysis of data

Qualitative statistics were performed using Microsoft Excel® and R-Studio.

RESULTS AND DISCUSSION

Trends in nitrogen studies

Of the 97 investigations analyzed, 16% were found in the Springer database, 13% in Science Direct, 8% in the Wiley Online Library, and 6% in the Stanford University Repository database and ResearchGate (Figure 2). On the other hand, less than 5% were found in the Repository of the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), SciELO, Agris FAO, American Geophysical Union (AGU), International Atomic Energy Agency (IAEA), Astrophysics Data System, Library of the Technological Institute of Sonora (ITSON), Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), and Repository of the University of Sonora (UNISON) (Figure 2).

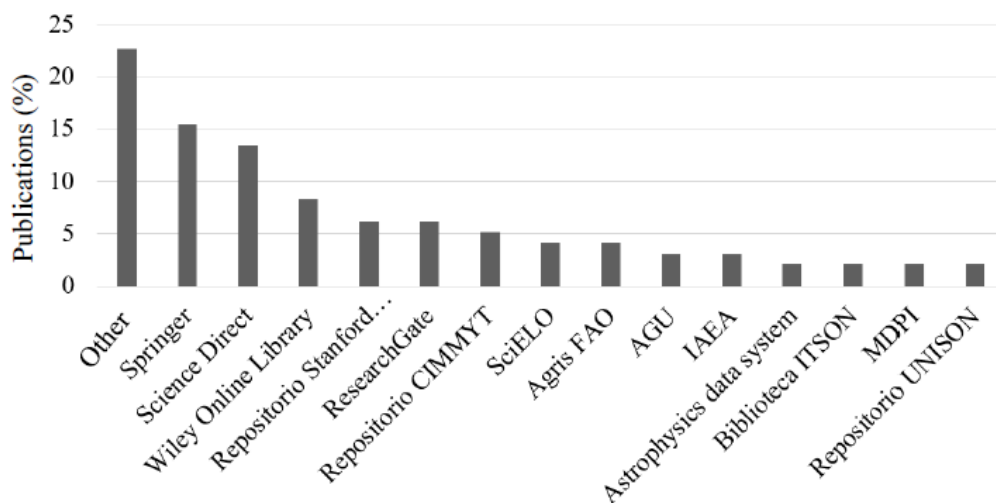


Figure 2. Percentage of publications found in each database on the use of nitrogen fertilizers. The category Others represents 22 databases.

In others (23%), we categorized databases with less than 5% and included AgEcon Search, Biblioteca Unikkassel, CiteSeer, Digital University of Nebraska, Ecological Society of America (ESA), Elsevier, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA), India Environment Portal, JSTOR, National Center for Biotechnology Information (NCBI), PeerJ, Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), Redalyc, CIBNOR Repository, CINVESTAV Repository, COLPOS Repository, Iowa State University Repository, Oxford University Repository, Weninger Repository University, Whitman College Repository, ScienceMag, Taylor & Francis Online (Figure 2).

Nearly ~30% of all publications were found in Springer and Science Direct, which are world-class databases. This makes sense since a significant number of researchers from the International Maize and

Wheat Improvement Center (CIMMYT) collaborate with various institutions around the world; it should be noted that it is one of the 15 scientific research centers in the agricultural sector. In addition, Figure 2 shows publications found in the database of the Stanford University Repository. This result is due to the scientific contribution of the researcher Pamela Matson and her interest in the Yaqui Valley.

The publications were divided according to the type of document and topic (Figure 3.a). Eighty percent of the publications related to the use of nitrogen in this agricultural area are scientific articles. The large number of articles can be explained by the institutions that motivate this work. (Burbules, 2020).

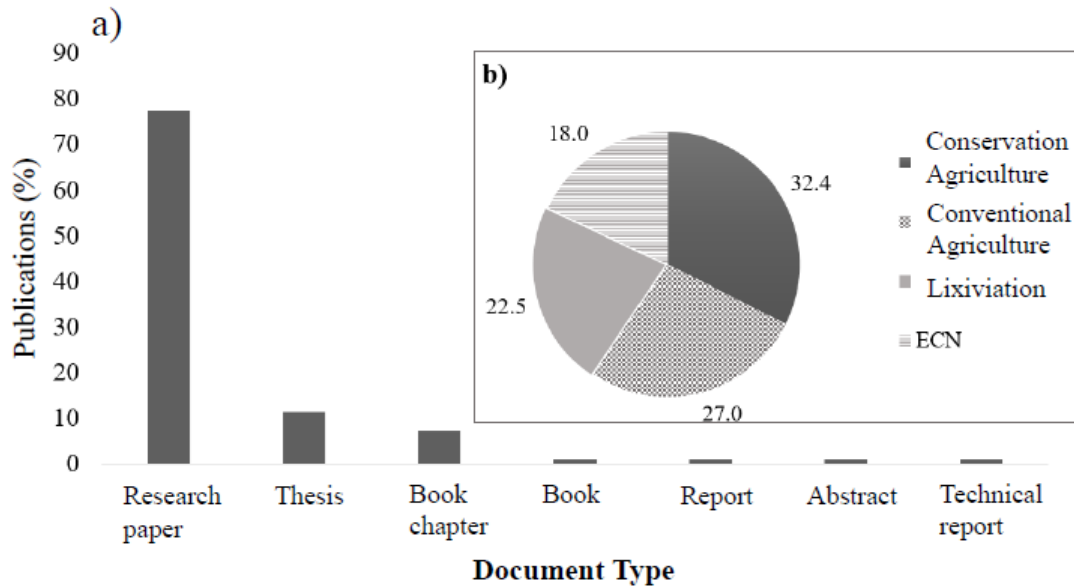


Figure 3. a) Percentage of the document type on the use of nitrogen fertilizers in the Yaqui Valley. b) Percentage of the topics of the publications found on the use of nitrogen fertilizers in the Yaqui Valley. ECN refers to emissions of nitrogen compounds.

Regarding the four topic categories (Figure 3.b), 32.4% of the publications focused on conservation agriculture, 27% on conventional agriculture, 22.5% studied the losses of nitrogenous fertilizers due to leaching toward agricultural drains and irrigation canals and 18% studied the losses of nitrogenous compounds due to emissions into the atmosphere (NCE), such as nitric oxide (NO) and nitrous oxide (N₂O).

The excess of nitrates acidifies the soil, and its leaching can reach the water table, (Jandl et al., 2004), a topic that has generated interest. On the other hand, the transformations and transfers of nitrogen from the continent to the sea in the agricultural region of the Yaqui Valley in northwestern Mexico highlight that approximately 50% of the applied N is lost. (Riley et al., 2001). For approximately 15 years, various scientists, including Pamela Matson and Toby D. Ahrens, have conducted research focused on the study of the use of nitrogenous fertilizers in the Yaqui Valley. These investigations aim to achieve the transition toward the sustainability of water and nutrient resources in the agricultural region of the Yaqui Valley. (Beman et al., 2005; McCullough & Matson, 2016).

In this investigation, the oldest document found was from 1990. The general trend from that period was an increase in publications, with a maximum of 16 publications per period (3 years). The oldest document found in this research addresses the topic of agronomic research and the growth of agricultural productivity after the Green Revolution.(Traxler, 1990). Between 1950 and 1990, there was an increase in the industrial fixation of N due to the demand for the use of nitrogenous fertilizers, which caused an alteration to the nitrogen cycle at a global level. In addition, in this same decade, awareness began to be raised about the effects of the losses of these fertilizers and their impacts on ecosystems.(McCullough & Matson, 2016). At the beginning of the 1990s, industrialized countries began to develop environmental strategies and policies to maintain the control of greenhouse gas emissions such as SO₂ and NO_x.(Rodríguez & Sánchez, 2010). In turn, this gave way to ratifying the Protocol that is part of the aforementioned agreement; the Montreal Protocol aims to protect the ozone layer by reducing the generation and consumption of substances that react with ozone, and it is proven that they are responsible for its depletion.(DOF, 1987, 2018).

For the above reasons, the behavior of research on nitrogen deposition has continued to rise. There is a growing need to know the effects and movement of these compounds in the environment, which has led to research on crop yields with the efficient use of nitrogen, as well as the loss and transport from agricultural fields to other areas.

Agrosystem reservoir and compounds

This classification shows the reservoirs that were studied according to the bibliographic review of 97 documents. On some occasions, a product was studied in more than one reservoir; therefore, for the purposes of this study, the reservoir was considered an independent variable of the total number of publications found and was classified individually by the type of impacted reservoir.

The most studied reservoir in relation to nitrogen in the Yaqui Valley was the soil (50.8%). In this case, edaphic studies of different kinds were carried out to define the impacts of agricultural practices on nitrogen in the soil. In second place, water has been studied more frequently (18.8%), followed by the atmosphere (15.5%) and finally plants referring to crops (14.7%).

The soil, which is the most studied reservoir in this area, has been mostly studied since it is the support of the vegetation and the place where processes of transformation and nutrient cycling were developed. In the Yaqui Valley, extensive planting of monocultures is widely used, so farmers and researchers are interested in its long-term sustainability. This includes social and ecological well-being, capacities for adaptation and mitigation to climate change, food security, and ecosystem services such as biological diversity, nutrient cycling, and the hydrological cycle.(Nelson et al., 2013). On the other hand, in agriculture, mechanical tillage and the use of agrochemicals are the cause of soil degradation. Soil

degradation results in the decline of physical, chemical and biological properties, (Karlen & Rice, 2015), leading to an increase in bulk density (porous spaces), less stability of aggregates, susceptibility to compaction, loss of fertility, nutrient leaching, decreased productivity and microbial activity, and increased greenhouse gas emissions such as CO₂ and N₂O. (Soane & van Ouwerkerk, 1995; Shah et al., 2017; De Los Santos et al., 2018). All this makes it of great importance to study this reservoir in the Yaqui Valley to seek its conservation and maintain food production.

In terms of water, this was the second most studied reservoir, in part because of the hydrological basin (Yaqui River) and because of the contribution of the dams to these nonrainfed fields. These water bodies can be seriously impacted by agricultural practices and the intensive use of fertilizers. It is important to mention that almost 66% of the N applied in fertilizers is lost from the Yaqui Valley, of which approximately 20–40% is lost to surface waters. (Harrison & Matson, 2003; Riley et al., 2001). Following each irrigation event, runoff flows through a network of artificial drainage channels to coastal waters. The drainage rate of the Yaqui Valley is influenced by management practices. Data such as electrical conductivity and temperature increase, and the increase in water salinity is associated with soil fertilization processes, (Beman et al., 2005), which suggests that being able to monitor water to know its quality is a fundamental piece to avoid its deterioration.

In the air, due to the agronomic management of this activity, gases such as nitrous oxide (N₂O) can be released, which comes from the volatilization of the applied fertilizer and acts as a powerful greenhouse gas (GHG) that contributes to atmospheric warming and stratospheric ozone depletion. Agriculture contributes approximately 60% of global anthropogenic N₂O emissions, mainly due to the application of nitrogenous (N) fertilizers to cropland. The second largest source of GHG emissions is N₂O from cultivated soils. Hence, it is important to study them in such an important agro-system for Mexico. (Millar et al., 2018). Additionally, in the atmosphere, due to connectivity and atmospheric circulation, these nitrogenous compounds are transported away from agricultural areas, impacting natural systems through acid deposition. (Granados Sánchez et al., 2010).

In Figure 4.a, the types of fertilizers, such as urea, anhydrous ammonia, N₂O, ammonium sulfate, ammonium, NO₃, NO, chicken manure, gas (NH₃), NO₂ and organonitrogenated fertilizers, were considered. In addition, the articles did not mention a specific type of nitrogenous fertilizer but units of "Nitrogen".

One of the main and most polluting activities in agricultural management is fertilization. The most applied fertilizer is nitrogen. It has been determined that in cereals, a lack of nitrogen (N) availability can produce a decrease in the efficiency of the leaf area index, which harms the dry weight of the spikes, therefore affecting the number of grains, which is the main component of crop yield. In such a way, the productivity of a crop is connected with the management and use of fertilizers. (Reussi & Echeverría, 2006).

On the other hand, the way in which the fertilizer is applied in the Yaqui Valley results in the use of 10 to 60%, which represents an economic expense and environmental problems since the rest of the fertilizer is transported down the basin.(Peña et al., 2002).

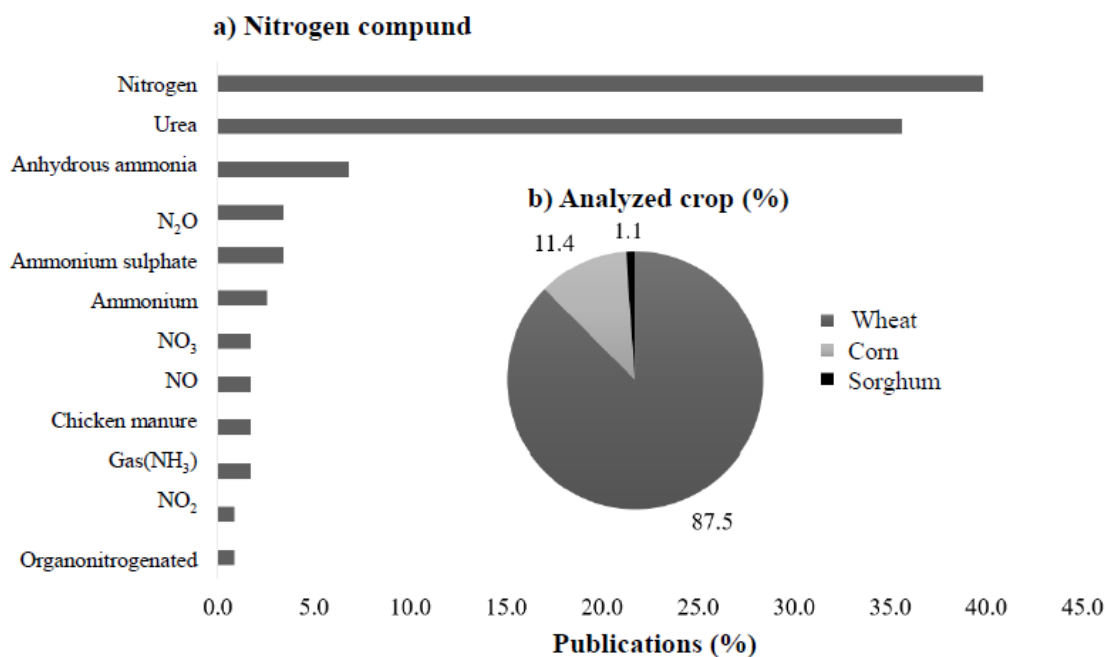


Figure 4. a) Percentage of nitrogen compounds studied in publications on the use of nitrogen fertilizers in the Yaqui Valley, Sonora. b) Percentage of the type of crop studied in the publications on the use of nitrogen fertilizers in the Yaqui Valley, Sonora.

In the studies carried out in the Yaqui Valley that mention some nitrogenous compound present in the site, 39.8% is presented as "Nitrogen" that can refer to any type of fertilizer, which is done to generalize the behavior of N inputs to the system. Regarding the type of fertilizer used, urea is the most common at 35.6%; it contains 46% of N in amine form and is the cheapest per unit of N; therefore, it is the most used in the region.

In the Yaqui Valley, the nitrogen that is not used by the crop represents a reduction in economic income and generates emissions into the atmosphere either as nitrous oxide or nitric oxide, leaching under the root zone and runoff toward surface waters of the river to the Gulf of California, resulting in the proliferation of algae.(Ortiz-Monasterio & Raun, 2007). In the studies evaluated, it was observed that they mentioned compounds such as nitrous oxide (3.4%) and nitrogen dioxide (0.8%) due to their enormous environmental impact.

Unfortunately, we are far from a pragmatic solution; world production is growing at a fast pace, increasing the demand for food.(Godfray et al., 2010). This means that agricultural production per hectare needs to be extended, resulting in pressure on the already depleted soils of the Yaqui Valley, which will increase the use of fertilizers.

Cereals play a very important role in diets worldwide due to their nutritional, caloric, and protein content; wheat is a great example. In the Yaqui Valley, research has focused on improving wheat crops to increase yield and productivity, resulting in success stories since the Green Revolution promoted by Dr. Norman E. Borlaug in the late sixties. Therefore, it is not surprising to find that 87.5% of the studies reviewed in the Yaqui Valley refer to wheat crops (Figure 4.b). Wheat has economic and historical importance in the area because varieties and practices have been generated here that favor the growth and yield of this crop.

Among the main crops produced in the Yaqui Valley are wheat (173,495 ha), soybeans (48,695 ha), corn (21,082 ha), safflower (17,923 ha) and sorghum (10,327 ha). As shown in Figure 4, within the studies found, publications were obtained that studied corn (11.4%) and sorghum (1.1%) due to the low planting density that each one represents. The rest of the crops are studied with a smaller proportion due to the smaller extension and low planting density that they present compared to that of wheat.

CONCLUSIONS

In this review, a compendium of scientific information was made, and 97 publications were found on the use of nitrogenous fertilizers in the Yaqui Valley over a period of 30 years. These articles address topics such as conservation agriculture, conventional agriculture, leaching, nitrogenous compound emissions and their impact on water bodies and greenhouse gas emissions into the atmosphere. In the publications found, the soil reservoir that is subjected to agricultural practices is studied because it is the support of the crop. To better understand the impact of nitrogenous compounds on the agroecosystem, it is necessary to increase studies directed at other components of the agroecosystem, such as the atmosphere and water, which are also impacted by the chemical products applied. Almost 80% of the studies found are about the cultivation of wheat. At the global level, we face the challenge of food security, which is why it is necessary to continue conducting research on the nitrogen cycle in the Yaqui Valley agroecosystem. In particular, it remains to be analyzed how sustainable agricultural practices could reduce the negative effects of nitrogen fertilizers on agroecosystems.

ACKNOWLEDGMENT

O.P.C. (2020-000026-02NACF-00862) and M.F.A.M (2020-000026-02NACF-00538) thank the Instituto Tecnológico de Sonora and the Maestría en Ciencias en Recursos Naturales (PNPC), and the Mexican National Science Council for funding to achieve a graduate degree. We appreciate funding via CONACYT Ciencia-Básica 286494

REFERENCES

- Ahrens TD et al. (2008). A synthesis of nitrogen transformations and transfers from land to the sea in the Yaqui Valley agricultural region of northwest Mexico. *Water Resources Research*, 44(7).
- Altieri M (2009). *Impactos ambientales en la agricultura moderna*. Department of Environmental Science, Policy and Management. University of California, Berkeley. 1-19p.
- Andraski TW et al. (2000). Crop Management and Corn Nitrogen Rate Effects on Nitrate Leaching. *Journal of Environmental Quality*, 29(4): 1095-1103. <https://doi.org/10.2134/jeq2000.00472425002900040009x>
- Armenta-Bojórquez AD (2012). Impacto de la fertilización nitrogenada en agua para consumo humano en el municipio de Guasave Sinaloa, México. *Ra Ximhai Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, 8(3): 11-16.
- Ballesteros E et al. (2015). Manejo de fertilización nitrogenada sobre los componentes del rendimiento de triticale. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(4): 721. <https://doi.org/10.29312/remexca.v6i4.614>
- Beman JM et al. (2005). Agricultural runoff fuels large phytoplankton blooms in vulnerable areas of the ocean. *Nature*, 434(7030): 211-214. <https://doi.org/10.1038/nature03370>
- Burbules NC (2020). Why Publish? *Journal of Philosophy of Education*, 11. <https://doi.org/10.1111/1467-9752.12436>
- Carpenter SR et al. (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*, 8(3): 559–568. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(1998\)008\[0559:NPOSWW\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(1998)008[0559:NPOSWW]2.0.CO;2)
- Claus-Peter W (2010). Urea metabolism in plants. *Science Direct*, 180(3): 431-438. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.11.010>
- De Los Santos S et al. (2018). Colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos para contribuir a la seguridad alimentaria nacional. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(1):191-202.
- DOF (1987). *Diario Oficial de la Federación*.
- DOF (2018). *Diario Oficial de la Federación*.
- Duchemin B et al. (2015). Impact of sowing date on yield and water use efficiency of wheat analyzed through spatial modeling and FORMOSAT-2 images. *Remote Sensing*, 7(5): 5951–5979. <https://doi.org/10.3390/rs70505951>
- FAO (2017). *Conservation agriculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2.
- Galloway JN et al. (2003). The nitrogen cascade. *BioScience*, 53(4): 341–356. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2003\)053\[0341:TNC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2003)053[0341:TNC]2.0.CO;2)


- Garzón JE; Cárdenas EA (2013). Emisiones antropogénicas de amoníaco, nitratos y óxido nítrico: Compuestos nitrogenados que afectan el medio ambiente en el sector agropecuario colombiano. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 60(2): 121–138.
- Godfray H et al. (2010). Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Sciencemag*, 327: 812–818. <https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2018.02.030>
- Grageda-Cabrera OA (2000). Effect of Soil Type, Moisture and N Source on the N₂ and N₂O Emissions. 18(1): 1-9.
- Granados Sánchez D et al. (2010). La lluvia ácida y los ecosistemas forestales. *Revista Chapingo serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, XVI(2): 187-206. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2010.04.022>
- Hamilton SE; Casey D (2016). Creation of a high spatiotemporal resolution global database of continuous mangrove forest cover for the 21st century (CGMFC-21). *Global Ecology and Biogeography*, 25(6): 729-738. <https://doi.org/10.1111/geb.12449>
- Harrison J; Matson P (2003). Patterns and controls of nitrous oxide emissions from waters draining a subtropical agricultural valley. *Global Biogeochemical Cycles*, 17(3).
- Ibarra-Villarreal AL et al. (2020). Impact of a Shift from Conventional To Organic Wheat Farming on Soil Cultivable Fungal Communities in the Yaqui Valley, Mexico. *Agrociencia*, 54(5): 643–659.
- Jandl R et al. (2004). Cambios en la química de los suelos forestales de centroeuropa: acidificación y eutrofización. 18: 285–293.
- Karlen D; Rice C (2015). Soil Degradation: Will Humankind Ever Learn? *Sustainability*, 7(9): 12490-12501. <https://doi.org/10.3390/su70912490>
- Matson P (2012). *Seeds of Sustainability Lessons from the Birthplace of the Green Revolution*. Island Press.
- Matson P et al. (1998). Integration of environmental, agronomic, and economic aspects of fertilizer management. *Science*, 280(5360): 112–115. <https://doi.org/10.1126/science.280.5360.112>
- McCullough EB; Matson PA (2016). Evolution of the knowledge system for agricultural development in the Yaqui Valley, Sonora, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(17): 4609–4614. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011602108>
- Millar N et al. (2018). Nitrous oxide (N₂O) flux responds exponentially to nitrogen fertilizer in irrigated wheat in the Yaqui Valley, Mexico. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 261: 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.04.003>
- Nelson EJ et al. (2013). Climate change's impact on key ecosystem services and the human well-being they support in the US. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(9): 483-493. <https://doi.org/10.1890/120312>


- Ortiz-Monasterio JI; Raun W (2007). Reduced nitrogen and improved farm income for irrigated spring wheat in the Yaqui Valley, Mexico, using sensor based nitrogen management. *Journal of Agricultural Science*, 145: 215-222. <https://doi.org/10.1017/S0021859607006995>
- Parra-Cota FI et al. (2018). Diversidad metabólica de microorganismos edáficos asociados al cultivo de maíz en el Valle del Yaqui, Sonora. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(2): 431-442. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i2.1083>
- Peña J et al. (2002). Manejo de los fertilizantes nitrogenados en México: uso de las técnicas isotópicas (15n). *Terra Latinoamericana*, 20(1): 51-56.
- Reussi NI; Echeverría HE (2006). Estrategias de fertilización nitrogenada en trigo: Balance hídrico para el sur Bonaerense. *Ciencia Del Suelo*, 24(2): 115-122.
- Riley WJ et al. (2001). Nitrogen leaching and soil nitrate, nitrite, and ammonium levels under irrigated wheat in Northern Mexico. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 61: 223-236. <https://doi.org/10.1023/A:1013758116346>
- Rodríguez A; Sánchez C (2010). Lluvia ácida y sus efectos. Universidad Mayor de San Simón UMSS. Facultad de Ciencias y Tecnología, 14.
- Schlesinger WH; Bernhardt E (2013). *Biogeochemistry. An Analysis of Global Change*.
- Shah AN et al. (2017). Soil compaction effects on soil health and cropproductivity: an overview. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(11): 10056-10067. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8421-y>
- SIAP (2019). *Panorama Agroalimentario 2019*. Servicio de información agroalimentaria y pesquera.
- Smil V (1999). Nitrogen in crop production: An account of global flows. *Global Biogeochemical Cycles*, 13(2): 647-662.
- Soane BD; van Ouwerkerk C. (1995). Implications of soil compaction in crop production for the quality of the environment. *Soil and Tillage Research*, 35(1-2): 5-22. [https://doi.org/10.1016/0167-1987\(95\)00475-8](https://doi.org/10.1016/0167-1987(95)00475-8)
- Tarbuck EJ; Lutgens FK (2005). *Ciencias de la Tierra Una introducción a la geología física*.
- Townsend AR et al. (2003). Human health effects of a changing global nitrogen cycle. *The Ecological Society of America*, 1(5): 240-246.
- Traxler GJ (1990). *Agronomic research and productivity growth in post green revolution agriculture*. Iowa State University Capstones.
- Vasquez P; Vignolles M. (2015). Establecimiento Agroproductivo Ecologico Vs. Agricultura Convencional: Partido De Tandil, Provincia De Buenos Aires. *Sociedade & Natureza*, 27(2): 267-280. <https://doi.org/10.1590/1982-451320150206>

Are there atmospheric conditions for water loss at night in wheat canopies in the Yaqui Valley, Sonora, Mexico?

Recibida em: 20/09/2022


Aprobado em: 21/09/2022

 10.46420/9786581460594cap9

Leticia Isabel Martínez García^{1,2} 

Reyna Suzuky Pinto Gonzalez² 

Zulia Mayari Sánchez-Mejía² 

Jaime Garatuza Payán² 

Enrico Arturo Yopez Gonzalez^{2*} 

ABSTRACT

Global warming and drought are the result of climate change, which can negatively affect wheat grain yield, potentially increasing food insecurity and poverty. It has been reported that for every 1 °C increase in global mean temperature, grain production can decrease by 6% across all continents. The temperature increase at night is 1.4 times greater than daytime temperatures. The objective of this research is to determine if the conditions exist for the loss of water during the night in the wheat crop in the Yaqui Valley, Sonora, under experimental conditions of climate change. During the 2019-2020 cycle, wheat plots were experimentally exposed at 2 °C above reference plots under nocturnal environmental conditions. The period of observation and data recording included four phenological stages in the development of the crop. We adapted a water stress index of wheat that considers temperature and atmospheric humidity to test for potential conditions of water loss at night. Determining the water stress index, it was possible to observe an important difference between the heat and control plots, since in heat plots during the stages of heading, anthesis and beginning of grain filling, 14.28% of the time showed conditions for the loss of water at night, and up to 28.57% of the time in the stage of physiological maturity, while in the control plots there were no conditions for nocturnal water loss. We conclude that the increase in nighttime temperatures due to climate change could have important consequences for the loss of water during the night in the wheat crop.

¹ Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui. Calle 600, Block 611, Bácum, San Ignacio Río Muerto, Sonora, México. C. P. 85275.1.

² Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de Febrero 818 Sur Col. Centro, Cd. Obregón, Sonora, México C. P. 85000.

*Corresponding Author: enrico.yopez@itson.edu.mx

INTRODUCTION

Global warming and drought are related to climate change, and both can negatively affect the yield of wheat grain, potentially increasing food insecurity and poverty (Ortiz et al., 2008). For example, it has been reported that for each 1 °C increase in global mean temperature, wheat grain yields may decline by 6% across continents (Asseng et al., 2014). Therefore, improving drought and heat tolerance in plants is considered a promising approach for sustainable food production in water-scarce areas. Under climate change scenarios, the most affected and predictable variable is temperature (García et al., 2016). An increase in temperature can produce a warming effect that can bring yield declines in primary crops and can mostly be attributed to increases in nighttime temperatures, which can increase at a rate that is 1.4 times the daytime temperatures (Russell & van Sanford, 2020; Peng et al., 2004; Ma et al., 2019). This is important because historical data have shown that cereal grain yield is strongly correlated with minimum temperatures (Lobell & Ortiz-Monasterio, 2007), which are often reached at night. Such an increase in nighttime temperatures shortens the grain filling period and can result in larger reductions in grain yield compared to those estimated by the effect of daytime temperatures (Akter & Rafiqul Islam, 2017). However, it is considered that accelerated nighttime warming will be associated with increases in the nighttime vapor pressure deficit (VPD), but variations in VPD under nighttime conditions are still uncertain (Groh et al., 2019).

Plant transpiration is mainly determined by the evaporative demand, leaf-to-air VPD, and water movement resistance in the plant hydraulic continuum to the surrounding atmosphere (Devi & Reddy, 2020). As is known, up to 90% of water absorbed by the plant from the soil is lost by transpiration (Pei et al., 1998; Jasechko et al., 2013; Filipović, 2021). Plants can sense water availability around the roots and respond to the reduced water availability by sending chemical signals to close stomata and over the night (Rawson & Clarke, 1988). Therefore, it is a challenge to separate the impact of temperature on VPD and the effect of temperature directly on plants because saturated vapor pressure is temperature sensitive (Sinclair et al., 2017).

The vapor pressure deficit is an accurate indicator of the real evaporative capacity of air (López-López et al., 2009), and it is calculated as the difference between the vapor pressure in ambient air and the pressure of water vapor held in saturated air (Seager et al., 2015):

$$VPD = e_s - e_a \quad (1)$$

where e_s is the saturation water vapor pressure at a given air temperature and e_a is the current water vapor pressure. When the air is not saturated, the actual vapor pressure will be lower than the saturation vapor pressure. The saturated water vapor pressure e_s , in kPa, is the maximum amount of water vapor that the air can contain at a given temperature and is calculated with the following equation (Weiss, 1977):

$$e_s = 0.6108 \exp \left[\frac{17.27 T}{T+237.3} \right] \quad (2)$$

The current water vapor pressure e_a can be obtained using relative humidity (RH; %):

$$e_a = e_s \left[\frac{RH}{100} \right] \quad (3)$$

Schoppach et al. (2017) have shown that wheat, under increasing VPD, displayed a VPD breakpoint in transpiration rate (TR) such that TR is limited at VPD above 2 kPa. Recent evidence confirmed that in modern wheat, the nighttime transpiration rate (TRn) depends on nighttime VPD, and under soil water deficit, TRn could represent an increasing fraction of crop daily water loss (Claverie et al., 2018). This means that nocturnal transpiration plays an important role in modulating the daytime transpiration response to increasing evaporative demand, enabling drought tolerance in wheat (Tamang et al., 2019). Therefore, a better understanding of the effect of VPD on nighttime plant water relations is important. This may be done by incorporating VPD in the estimation in a crop water stress index.

The crop water stress index (CWSI) is a metric related to plant water content in wheat crops (Jackson et al., 1981) derived from canopy-air temperature differences versus VPD (Idso et al., 1982). Therefore, it is a nondestructive method of plant response to water stress (Jackson et al., 1981; Idso et al., 1981). Since CWSI calculations are based on three environmental variables that influence water used by plants, VPD, canopy temperature, and air temperature, when transpiration decreases, the canopy temperature increases and can reach 4 to 6 °C higher than the air temperature, in which case the value of the CSWI will tend to unity (Lopez-Lopez et al., 2011). When there is no water stress, the plant transpires freely; when plant water loss occurs, the canopy temperature fluctuates from 1 to 4 °C below the air temperature, and the CWSI value tends to zero. Considering this, the CWSI is effective in indicating if conditions for plant water losses exist.

Considering that wheat production in the Yaqui Valley is of regional as well as national importance in Mexico because it represents approximately 50% of the national value of the grain (SIAP, 2020), knowledge advancement on the vulnerabilities of this crop to climate change is important for the design of adaptation strategies in the near future. The objective of this work is to analyze canopy and environmental conditions during a wheat cropping cycle to determine if conditions for water losses can occur at night in wheat canopies at the Yaqui Valley and if experimental nighttime warming conditions (± 2 °C) modify such conditions. We hypothesize that nighttime environmental conditions at the Yaqui Valley do not allow water losses by wheat canopies, but experimentally increased nighttime temperatures (± 2 °C) set conditions for water losses to occur at night. Our tool to reach this goal was a crop water stress index and an experimental temperature manipulation in the Yaqui Valley.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

Measurements were made during the wheat cropping cycle of 2019–2020 at Block 710 of the CENEB in the Yaqui Valley, within the experimental fields of the Patronato para la Investigación y Experimentación Agrícola del Estado de Sonora A.C. near Ciudad Obregon, Sonora, México (27°24'N 109°56'W), 38 m above sea level, with a typical calciorthid soil and low organic matter composition of 0.76% and a slightly alkaline pH of 7.7 (Sayre et al., 1997), under drip irrigation conditions.

In January 2020, four 7.1 by 7.1 meter metal structures were installed; two of them with an array of heaters similar to the ones described in Kimball et al. (2008), to increase 2 °C from reference local canopy temperatures during the nighttime (Figure 1).



Figure 1. The panoramic image of the field experiment, Yaqui Valley season 2019–2020, comprised four plots, two of which were equipped with heaters and two controls, all connected to a power source that provided heat in the handling plots.

The experiment was sown under flat beds with no limitation of water or nutrients; pests were controlled when needed. Each plot comprised 12 selected wheat genotypes that were randomized on each replication. However, this study is focused on the plot-mean performance of the plot, and genotypic variability is not included as an objective of interest. The observation period and data recording comprised the phenological stages that are considered the key stages in the development of the crop. The periods for this study were determined as follows: From March 4th, where the average of the genotypes used had reached heading (HD) and anthesis (At) and ended with the grainfilling reached on March 31st, we divided the stage of beginning of grainfilling into two parts: beginning of grainfilling (BGF) and grainfilling (GF) because this stage is longer than the previous ones. To standardize, 7 days were defined for each study period (Table 1), and nomenclature was according to the decimal code for cereal growth stages (Zadoks et al., 1974). The means presented in the results correspond to the average data for the first seven days

since the beginning of each stage; the starting point of data analysis was set when the wheat reached heading on March 4th and ended with grainfilling on March 31st. The data obtained from the two reps of the heat plots were averaged to obtain a single heat plot datapoint and the same for the control plot, which we will name the heat plot and control plot hereafter.

Table 1. Dates in March 2020 for the different phenological stages of wheat

Heading	Anthesis	Beginning of grainfilling	Grainfilling
4 th – 10 th	11 th – 17 th	18 th – 24 th	25 th – 31 st

Note. Seven days were considered in each stage, these periods were given the name of the stages according to Zadoks et al., (1974).

The heaters were FTE-1000s (1000 W, 240 V, 245 mm long by 60 mm wide) manufactured by Mor Electric Heating Assoc., Inc. (Comstock Park, MI), which were suspended from a squared metal structure 1.2 m above the canopy crop at all times (Figure 2).



Figure 2. a) Field installation of b) infrared radiometers, as a reference in terms of controlling the manipulated temperature, in addition to recording the temperature of the canopy, c) a sensor that records the air temperature and relative humidity, and d) all sensors connected to a data logger (CR1000, Campbell Scientific, Logan, Utah, USA), programmed to record readings every 15 minutes. Maintenance and data management were carried out weekly.

Heaters were turned on from 18:00 to 6:00 hrs local time, 76 days after sowing. Canopy temperatures in the plots were detected using infrared thermometers (IRT; model IRR, Apogee

Instruments, Logan, Utah, USA). The heaters were controlled with a datalogger (CR1000, Campbell Scientific, Logan, Utah, USA), as devised by Kimball (2005). Canopy temperatures were recorded in fifteen-minute averages. The control system followed the same logic previously described in Garatuza-Payan et al. (2018). The meteorological data were obtained from data recorded by climatic implements that were installed on the plot. Measurements were made using sensors for temperature and relative humidity (Vaisala HMP45), radiation (LI200S Pyranometer, Campbell Scientific), wind speed and direction (05103-WS, Young Company, Michigan, USA), and soil humidity (CS-616 Campbell Scientific). For the calculations performed to obtain the water stress index, only the readings obtained from the infrared radiometers, relative humidity and temperature sensors were used.

Crop Water Stress Index

The Crop Water Stress Index (CWSI) was originally used as a nondestructive method of plant response to water stress during the daytime (Jackson et al., 1981; Idso et al., 1981), but we believe that it can also be an indicator of possible conditions for water loss from crop canopies at night. The CWSI is a metric related to plant water content in wheat crops (Jackson et al., 1981) derived from canopy-air temperature differences versus VPD for quantifying crop water stress (Idso et al., 1982). The CWSI can be calculated using the formula described by Nielsen (1990):

$$CWSI = \frac{[(T_c - T_a) - D_2]}{(D_1 - D_2)} \quad (4)$$

where T_c = canopy temperature ($^{\circ}\text{C}$); T_a = air temperature ($^{\circ}\text{C}$); D_1 is the upper limit resulting from the maximum difference between T_c and T_a (Idso et al., 1981); and D_2 is the lower limit expressed in the form:

$$D_2 = a + b (VPD) \quad (5)$$

A linear regression determines a and b , the intercept and slope, respectively. The result of this will be multiplied by VPD. Alderfasi & Nielsen (2001), in their study on scheduling irrigation in wheat with CWSI, concluded that the CWSI should provide a useful tool for the evaluation of crop water status, especially of winter wheat, and concluded that it could be useful for irrigation scheduling. Jackson (1982) suggested that irrigation should be applied when the CWSI for wheat is in the range 0.3-0.5.]

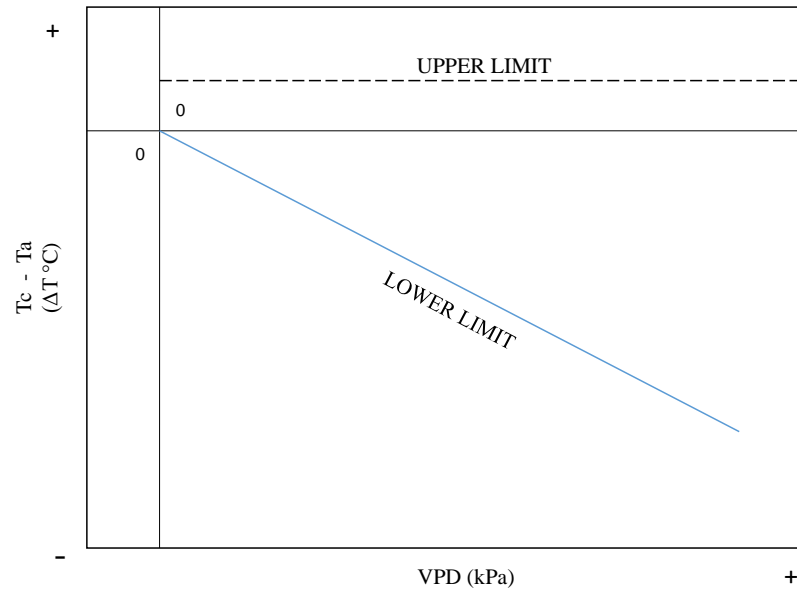


Figure 3. The general form of the relationship between the canopy-air temperature differential ($\Delta T = T_c - T_a$) and air vapor pressure deficit (VPD) for a stand of vegetation sufficiently with water to transpire at the potential rate, i.e., the points above the lower limit line, present conditions for the loss of water from the crop, considering the general form of the relationship between ΔT and VPD (Idso et al., 1982).

To better understand the general form of the relationship between the canopy-air temperature differential and VPD, if a graph is generated with nonstressed daytime data obtained from ΔT and VPD for all phenological stages (blue line in Figure 3), we can then plot the nocturnal values to show when conditions for water loss occur in the crop. If the lower limit (D_2) is drawn from the value of a , (i.e., where it intersects with the axis of ΔT), which means that when canopy temperatures increase and consequently ΔT , VPD points will be located above the lower limit and below the upper limit, suggesting conditions for water loss from wheat canopies during the night period. It should be considered that the upper limit is calculated for each phenological stage, and this is the maximum value of ΔT (Figure 3).

Statistical analysis

All analyses and tests, including the linear regressions to determine the CWSI, were performed using the SPSS 23.0 statistical package (SPSS, Chicago, IL, USA). Data were tested against the Shapiro-Wilk test (Shapiro & Wilk, 1965).

RESULTS AND DISCUSSION

The heat control system to manipulate nighttime temperatures seems to be effective, since an effective mean temperature rise of 1.77 ± 0.09 was achieved in our manipulation across wheat phenological stages (Table 2).

Table 2. Mean nighttime canopy temperatures by phenological stage in wheat exposed to increased nighttime temperature in the Yaqui Valley.

Trait	HD	At	BGF	GF
Heat	15.10 ± 3.20	16.05 ± 2.87	12.83 ± 2.38	14.08 ± 1.51
Control	13.33 ± 3.41	14.40 ± 3.31	10.97 ± 2.49	12.28 ± 1.56

Heading (HD), Anthesis (At), Beginning of grainfilling (BGF), Grainfilling (GF). Data are expressed as the mean across the indicated period ± one standard deviation.

Differences in the nighttime temperature manipulation were reflected in the vapor pressure deficit since marked differences were evident between control and temperature manipulated plots across the study period (Figure 4).

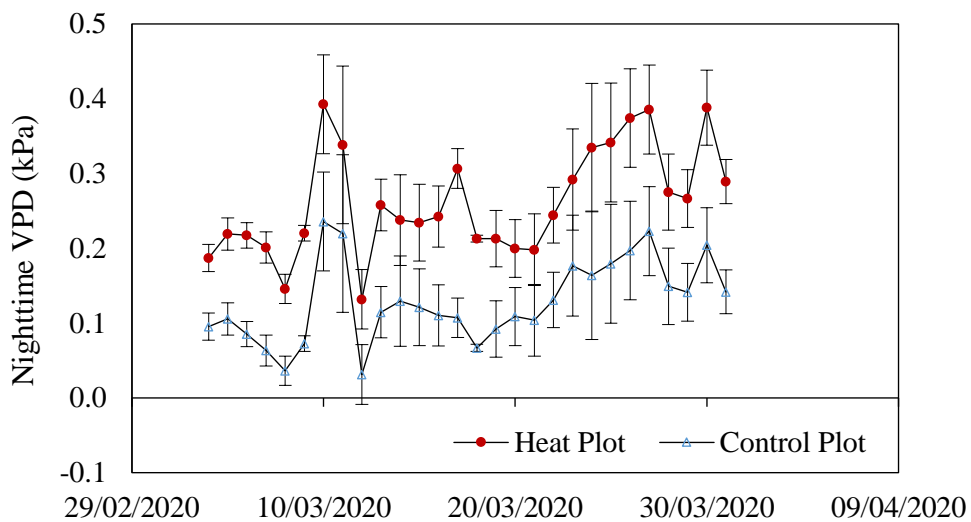


Figure 4. Mean nighttime vapor pressure deficit (VPD) recorded at heat and control experimental plots from February to April during the crop season 2019–2020 in the Yaqui Valley.

Crop water stress index (CWSI) estimation

The variables used to calculate the CWSI for the heat plots appear in Table 3. All calculations were made for each phenological stage during the cropping season. To obtain the upper limit (D_1), the maximum value obtained from $T_c - T_a$ (ΔT) was taken in the seven-day period for each phenological stage; to obtain the lower limit (D_2), a linear regression of ΔT with respect to VPD was performed to determine the coefficients a and b , which were used in the equation (5). Once D_1 and D_2 were obtained, the equation (4) was applied to determine the CWSI, which in this study only refers to periods of plentiful water availability to the crop.

Table 3. Crop water stress index (CWSI) estimation for nighttime heat/experimental conditions in wheat crop at the Yaqui Valley.

	T _c	T _a	VPD	Δt	D ₁	D ₂	CWSI
HD	15.10 ± 3.20	15.79 ± 2.84	0.23 ± 0.08	-0.68 ± 0.41	-0.14	-0.41 ± 0.07	-1.05 ± 1.71
At	16.05 ± 2.87	16.73 ± 2.55	0.25 ± 0.06	-0.69 ± 0.33	-0.20	-0.43 ± 0.06	-1.09 ± 1.51
BGF	12.83 ± 2.38	13.47 ± 2.23	0.24 ± 0.05	-0.64 ± 0.37	-0.21	-0.43 ± 0.05	-1.27 ± 2.06
GF	14.08 ± 1.51	14.58 ± 1.45	0.33 ± 0.05	-0.51 ± 0.12	-0.29	-0.51 ± 0.05	-0.12 ± 0.75

For 12 hours night period heat; Canopy temperature (T_c), air temperature (T_a), vapor pressure deficit (VPD), Regression parameters of ΔT (difference between T_c and T_a) respect VPD (Intercept *a* = -0.2096 °C, and Slope *b* = -0.8966 kPa), upper limit (D₁), lower limit (D₂), and Crop water stress index (CWSI). Data are expressed as the mean ± standard deviation. Heading (HD), Anthesis (At), Beginning of grainfilling (BGF), Grainfilling (GF).

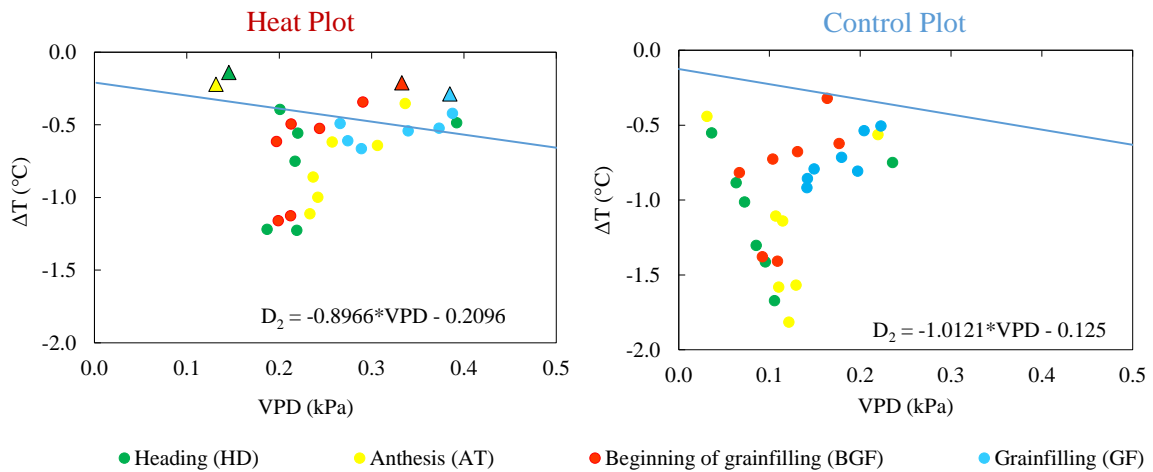


Figure 6. The regression line expresses the relationship of ΔT with respect to VPD during daytime conditions, using the key phenological stages of the crop (colored circles). Symbols are the nighttime data during the 7-day duration of different phenological stages (indicated by different colors). Points above the lower limit (D₂) suggest conditions for water loss by the crop at night; this water loss occurs only at points below the upper limit (D₁; shown as triangles for each phenological stage). The figure on the left shows the behavior in the heat plots, while the figure on the right side shows the control.

Similarly, in Table 4, the components of the CSWI for the control conditions are shown. In this study, CWSI was calculated to determine the upper and lower limits, given the importance that these have in determining the possible loss of water, it can be considered that these limits coincides with the behavior of ΔT respect to the VDP in its general form described by Idso et al., (1982).

Table 4. Crop water stress index (CWSI) estimation for nighttime control/ambient conditions in wheat crop.

	T _c	T _a	VPD	Δt	D ₁	D ₂	CWSI
HD	13.14 ± 3.45	14.23 ± 3.10	0.10 ± 0.06	-1.08 ± 0.40	-0.60	-1.02 ± 0.01	-0.14 ± 0.93
At	14.20 ± 3.38	15.38 ± 2.87	0.12 ± 0.06	-1.17 ± 0.52	-0.40	-1.03 ± 0.01	-0.23 ± 0.84
BGF	10.79 ± 2.48	11.64 ± 2.37	0.12 ± 0.04	-0.85 ± 0.40	-0.30	-1.03 ± 0.00	0.24 ± 0.55
GF	12.14 ± 1.59	12.88 ± 1.49	0.18 ± 0.03	-0.73 ± 0.16	-0.50	-1.03 ± 0.00	0.56 ± 0.30

For 12 hours night period Control; Canopy temperature (T_c), air temperature (T_a), vapor pressure deficit (VPD), Regression parameters of Δt respect VPD (Intercept *a* = -0.125 °C, and Slope *b* = -1.0121 kPa), upper limit (D₁), lower limit (D₂), and Crop Water Stress Index (CWSI). Data are expressed as the mean ± standard deviation. Heading (HD), Anthesis (At), Beginning of grainfilling (BGF), Grainfilling (GF).

In Figure 6, we represent the upper limit with a triangle with the color of its corresponding stage. Based on this figure, it is possible to determine the percentage of time in each phenological stage in which conditions for water loss at night occur in heat plots with respect to its control. Noticeable no apparent conditions for water loss at night seemed to occur in the control plots (Table 5).

Table 5. Percentage of time in each phenological stage were conditions for water lost occur at nighttime.

Phenological stages	Heat Plot	Control Plot
HD	14.28	0
At	14.28	0
BFG	14.28	0
GF	28.57	0

Percentages obtained from the points with possible conditions for water loss in Figure 6. Heading (HD), Anthesis (At), Beginning of grainfilling (BGF), Grainfilling (GF).

A higher VPD in heat plots, compared to the control plots, shows that atmospheric water demand changes when the temperature of the wheat canopy increases 2 °C (Figure 4).

The increase in temperatures under climate change scenarios suggests a warming effect that can bring yield declines in wheat crops; these effects can, in particular, be attributed to increases in nighttime temperatures. This is important because historical data have shown that cereal grain yields are strongly correlated with minimum temperatures, which are often reached at night. This susceptibility, suggest that heating conditions in an experimental treatment, can provide insights into the mechanisms and responses that influence the loss of water during the night by wheat crops in the Yaqui Valley.

One of the most important results observed in this study comes from the use of the water stress index for plants (CWSI) in our experimental treatment. That is, under normal control conditions, it seems that current conditions for water lost at night do not exist. However, because our nighttime ΔT observations in the heat plots plotted below the lower limit defined during the daytime VPD vs. ΔT relationship, our analysis suggests that conditions for water lost at night are plausible by the crop under climate change scenarios; for instance, 28.57% of the time of the phenological stage of grain filling showed conditions for water lost at night, and 14.28% of the time crossed the previous stages of heading, anthesis and the beginning of grain filling.

In previous studies, the CWSI has been used as an indicator of water requirements by crops, and these studies have been carried out in daytime periods (Alderfasi & Nielsen, 2001; López-López et al., 2009; Alghory & Yazar, 2019). To our knowledge, this is the first work where the CWSI is used to explore nighttime conditions that can point to potential water losses in wheat crops. Advancing on the

construction of the general form of a relationship of VPD with ΔT would allow exploring the capacity and sensitivity of the wheat crop to environmental drivers that result in a potential loss of water by the crop during the night, which would give insights about the potential responses of wheat to conditions of climatic change in the Yaqui Valley. Furthermore, this study highlights the importance of VPD behavior as one of the environmental drivers for the observation of water loss at night.

The phenomenon of water loss from the canopy at night may play a role in modulating drought tolerance in the crop, as reported by Tamang et al., (2019), in what they consider a phenomenon called circadian resonance where the canopy could prepare for a gas exchange at the beginning of the next day and improve water use efficiency (Schoppach et al., 2014). On the other hand, water loss could have possible physiological advantages, such as the continuation of the supply of O₂ to the xylem or the maintenance of carbohydrate exports for the needs of dark respiration (Snyder et al., 2003; Marks & Lechowicz, 2007). However, Sadok and Jagadish, 2020 suggest that there is sparse knowledge about the overall consequences of water losses at night and their environmental control since plant water relations are commonly studied during the day, even if nocturnal conditions for water use and demand could alter physiological properties.

CONCLUSION

With this research work, it can be concluded that the nighttime environmental conditions at the Yaqui Valley do not generally allow water losses by wheat canopies, but experimental nighttime warming conditions (± 2 °C) set conditions for water losses to occur at night in wheat canopies. Relaying a crop water stress index and determining the relationship of water potential with canopy and air temperature differentials during nighttime under experimental warming conditions shed light on the potential effects of global warming.

REFERENCES

- Akter N; Rafiqul Islam M (2017). Heat stress effects and management in wheat. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(5). <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0443-9>
- Alderfasi AA; Nielsen DC (2001). Use of crop water stress index for monitoring water status and scheduling irrigation in wheat. *Agricultural Water Management*, 47(1): 69-75. [https://doi.org/10.1016/S0378-3774\(00\)00096-2](https://doi.org/10.1016/S0378-3774(00)00096-2)
- Alghory A; Yazar A (2018). Evaluation of crop water stress index and leaf water potential for deficit irrigation management of sprinkler-irrigated wheat. *Irrigation Science*, 37(1): 61-77. <https://doi.org/10.1007/s00271-018-0603-y>

- Asseng S et al. (2014). Rising temperatures reduce global wheat production. *Nature Climate Change*, 5(2): 143-147. <https://doi.org/10.1038/nclimate2470>
- Claverie E et al. (2018). Increased contribution of wheat nocturnal transpiration to daily water use under drought. *Physiologia Plantarum*, 162(3): 290-300. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ppl.12623>
- Devi M. J; Reddy VR (2020). Stomatal closure response to soil drying at different vapor pressure deficit conditions in maize. *Plant Physiology and Biochemistry*, 154(June): 714-722. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.07.023>
- Filipović A (2021). Filipović.pdf. Soil Moisture Importance. 1–36p. IntechOpen. <https://doi.org/https://doi.org/10.5772/intechopen.93528>
- Garatuza-Payan J et al. (2018). Initial response of phenology and yield components of wheat (*Triticum durum* L., CIRNO C2008) under experimental warming field conditions in the Yaqui Valley. *PeerJ*, 2018(6). <https://doi.org/10.7717/peerj.5064>
- García GA et al. (2016). Post-anthesis warm nights reduce grain weight in field-grown wheat and barley. *Field Crops Research*, 195: 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.06.002>
- Groh J et al. (2019). Quantification and Prediction of Nighttime Evapotranspiration for Two Distinct Grassland Ecosystems. *Water Resources Research*, 55(4): 2961-2975. <https://doi.org/10.1029/2018WR024072>
- Idso SB et al. (1982). Soil- and atmosphere-induced plant water stress in cotton as inferred from foliage temperatures. *Water Resources Research*, 18(4): 1143-1148. <https://doi.org/10.1029/wr018i004p01143>
- Idso SB et al. (1981). Normalizing the stress-degree-day parameter for environmental variability. *Agricultural Meteorology*, 24(C): 45-55. [https://doi.org/10.1016/0002-1571\(81\)90032-7](https://doi.org/10.1016/0002-1571(81)90032-7)
- Jackson RD (1981). Canopy temperature as a crop water stress indicator. *Water Resources Research*, 17(4): 1133-1138. <https://doi.org/10.1029/WR017i004p01133>
- Jackson RD (1982). Canopy Temperature and Crop Water Stress. *Advances in Irrigation* (Vol. 1). Academic Press, Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-024301-3.50009-5>
- Jasechko S et al. (2013). Terrestrial water fluxes dominated by transpiration. *Nature*, 496(7445): 347-350. <https://doi.org/10.1038/nature11983>
- Kimball BA (2005). Theory and performance of an infrared heater for ecosystem warming. *Global Change Biology*, 11(11): 2041-2056. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2005.1028.x>
- Kimball BA et al. (2008). Infrared heater arrays for warming ecosystem field plots. *Global Change Biology*, 14(2):309-320. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01486.x>


- Lobell DB; Ortiz-Monasterio JI (2007). Impacts of day versus night temperatures on spring wheat yields: A comparison of empirical and CERES model predictions in three locations. *Agronomy Journal*, 99(2): 469-477. <https://doi.org/10.2134/agronj2006.0209>
- Lopez-Lopez R et al. (2011). Evapotranspiration and Crop Water Stress Index in Mexican Husk Tomatoes (*Physalis ixocarpa* Brot). *Evapotranspiration - From Measurements to Agricultural and Environmental Applications*, June 2014. <https://doi.org/10.5772/17060>
- López-López R et al. (2009). Índice De Estrés Hídrico Como Un Indicador Del Momento De Riego En Cultivos Agrícolas. *Agricultura Técnica En México*, 35(1): 97-111.
- Ma L et al. (2019). Spatiotemporal variability of asymmetric daytime and night-time warming and its effects on vegetation in the yellow river basin from 1982 to 2015. *Sensors (Switzerland)*, 19(8): 1-12. <https://doi.org/10.3390/s19081832>
- Marks CO; Lechowicz MJ (2007). The ecological and functional correlates of nocturnal transpiration. *Tree Physiology*, 27(4): 577-584. <https://doi.org/10.1093/treephys/27.4.577>
- Nielsen DC (1990). Scheduling irrigation for soy beans with crop water stress index (CWSI). In *Field Crop Research*, 23: 103–116.
- Ortiz R et al. (2008). Climate change: Can wheat beat the heat? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 126(1–2): 46-58. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.01.019>
- Pei ZM et al. (1998). Role of farnesyltransferase in ABA regulation of guard cell anion channels and plant water loss. *Science*, 282(5387): 287-290. <https://doi.org/10.1126/science.282.5387.287>
- Peng S et al. (2004). Rice yields decline with higher night temperature from global warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(27): 9971-9975. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403720101>
- Rawson H; Clarke J (1988). Nocturnal Transpiration in Wheat. *Functional Plant Biology*, 15(3): 397. <https://doi.org/10.1071/pp9880397>
- Russell K; van Sanford DA (2020). Breeding wheat for resilience to increasing nighttime temperatures. *Agronomy*, 10(4): 1-12. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040531>
- Sayre KD et al. (1997). Yield potential progress in short bread wheats in northwest Mexico. *Crop Science*, 37(1): 36-42. <https://doi.org/10.2135/cropsci1997.0011183X003700010006x>
- Schoppach R et al. (2017). Transpiration Sensitivity to Evaporative Demand Across 120 Years of Breeding of Australian Wheat Cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(3): 219-226. <https://doi.org/10.1111/jac.12193>
- Schoppach R et al. (2014). Genotype-dependent influence of night-time vapour pressure deficit on night-time transpiration and daytime gas exchange in wheat. *Functional Plant Biology*, 41(9): 963-971. <https://doi.org/10.1071/FP14067>


- Seager R et al. (2015). Climatology, variability, and trends in the U.S. Vapor pressure deficit, an important fire-related meteorological quantity. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, 54(6): 1121-1141. <https://doi.org/10.1175/JAMC-D-14-0321.1>
- Shapiro SS; Wilk MB (1965). An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). *Biometrika*, 52(3/4): 591. <https://doi.org/10.2307/2333709>
- SIAP. (2020). Panorama Agroalimentario 2020. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2020
- Sinclair TR et al. (2017). Limited-transpiration response to high vapor pressure deficit in crop species. *Plant Science*, 260(April): 109-118. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.04.007>
- Snyder KA et al. (2003). Night-time conductance in C3 and C4 species: Do plants lose water at night? *Journal of Experimental Botany*, 54(383): 861-865. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg082>
- Tamang BG et al. (2019). Variability in temperature-independent transpiration responses to evaporative demand correlate with nighttime water use and its circadian control across diverse wheat populations. *Planta*, 250(1): 115-127. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03151-0>
- Weiss A (1977). Algorithms for the Calculation of Moist Air Properties on a Hand Calculator. *Transactions of the ASAE*, 20(6): 1133-1136. <https://doi.org/10.13031/2013.35716>
- Zadoks JC et al. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14(6): 415-421. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x>

Estimación del carbono en la biomasa aérea del mezquite (*Prosopis spp.*) en la comunidad de Charay, El Fuerte, Sinaloa

Recibida em: 12/09/2022

Aprobado em: 20/09/2022

 10.46420/9786581460594cap10

Elvia Nereyda Rodríguez Saucedá^{1*} 

RESUMEN

La estimación de la capacidad de captura y balance carbonado en los sistemas de producción naturales poblados con especies endémicas contribuye al conocimiento de los ciclos de esta especie y su relación con la promoción del desarrollo vegetal. En este sentido, el mezquite, una de las plantas del semidesierto del noroeste de México, como planta leguminosa no solo contribuye a la fijación biológica del nitrógeno, ya que es un componente importante de la funcionalidad de los ecosistemas. El presente trabajo constituye un aporte al conocimiento del ciclo del carbono en la región semidesértica del estado de Sinaloa, particularmente en la localidad del Charay, El Fuerte, Sinaloa. Para la cuantificación de la biomasa aérea y el carbono se seleccionaron 7 parcelas de 1000 m², con 17.84 m de diámetro, en el cual se midieron 172 árboles en total, durante el año de 2021; dichas parcelas cubren diferentes intervalos de densidad, calidad de sitio y edad de los árboles. Los datos colectados fueron: altura total (*At*, m) de todos los árboles (obtenida con pistola haga), altura de fuste limpio (*Afl*, cm) (obtenida con cinta diamétrica), diámetro normal (medido con forcípula) de todos los árboles (*Dn*, cm). Número de árboles vivos (*Na*), Proyección de Copa Norte-Sur (*Pcns*) y Este Oeste (*Pceo*) (con cinta diamétrica en metros) y edad (*E*, años). Como principal resultado del estudio se objetivo que la Biomasa aérea promedio de la especie registró un promedio total de 71.7 tha⁻¹, con una concentración promedio de carbono acumulado de 33.28 t C ha⁻¹. La reproducción de esta especie pudiera ser una alternativa importante para la mitigación de impactos de cambio climático por concepto de acumulación de carbono que puede genera variaciones en la temperatura regional.

¹ Universidad Autónoma Indígena de México. Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa.

* Autora para correspondencia: elviaro@uaim.edu.mx

INTRODUCCIÓN

El Mezquite (*Prosopis spp.*) es un árbol, a veces hasta de 12 m de altura, aunque generalmente menor; su tronco hasta de 1 m de diámetro, por lo general de 30 a 60 cm; la corteza gruesa, de color café-negruzco, algo fisurada. Respecto a la copa de esta especie es más ancha que alta; ramas glabras o pilosas, armadas de espinas estipulares de 1 a 4 cm de largo; hojas pecioladas con 1 a 3 pares de pinnas, cada una con 10 a 20 pares de folíolos sésiles. Sus flores están dispuestas en espigas densas de 5 a 10 cm de largo; flores blanco-amarillentas; legumbre linear, algo falcada, de 7 a 20 cm de largo por 8 a 15 mm. de ancho, de color café-amarillento, a veces rojizo. Las semillas son oblongas y comprimidas de 8 a 10 mm de largo, de color blanco-amarillento (Rzedowski y Rzedowski, 1979). Los mezquites constituyen parte importante de la flora nacional, alcanzando carácter predominante en ciertas regiones; han estado ligados con la vida del campesino mexicano desde tiempos remotos. Los mezquites se encuentran firmemente establecidos en más de 3.5 millones de hectáreas del norte de México e incluye las siguientes especies autóctonas: *P. glandulosa*, *P. juliflora*, *P. velutina*, *P. pubescens*, *P. reptans*, *P. articulata*, *P. tamaulipana*, *P. palmeri* y *P. laevigata* (Villanueva et al. 2004). Los estados de la república que destacan por su producción forestal de mezquite son: Sonora, San Luis Potosí, Tamaulipas, Guanajuato, Zacatecas, Durango, Coahuila, y Nuevo León; así como Aguascalientes, Baja California Sur, Chihuahua, Jalisco, Oaxaca, Querétaro y Sinaloa (Rodríguez et al., 2014).

Este árbol es un recurso biótico con amplia distribución geográfica y ecológica en zonas áridas mexicanas. Para las etnias nómadas precolombinas fue y sigue siendo muy útil (Rodríguez et al. 2014). Lo utilizan como fuente de alimento, combustible y uso medicinal. El incremento de las temperaturas en el globo terráqueo ha sido modificado por la influencia de los bosques naturales y las masas artificiales, como son las plantaciones forestales comerciales, ya que estas funcionan como un medio regulador, de las temperaturas, y este tema ha sido ampliamente discutido y que se ha documentado (Hughes et al. 2000). La mayor información está centrada principalmente en los bosques tropicales, pero recientemente están tomando importancia en los bosques tropicales secos. El cambio climático cada día cobra mayor importancia y nuevas especies vegetales surgen como opciones para mitigar este problema mundial (Walker et al. 2011). El objetivo de la investigación fue estimar la biomasa y el carbono acumulado en la biomasa aérea de mezquite (*Prosopis spp.*) en poblaciones naturales provenientes de sitios dentro de la comunidad de Charay en el municipio de El Fuerte, Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y descripción del área de estudio

El estudio se realizó en la comunidad de Charay ubicado en el municipio de El Fuerte en el estado de Sinaloa, México y se encuentra en las coordenadas Longitud -108.829444 y Latitud 26.020278 , a una altura de 30 metros sobre el nivel del mar. El clima se considera según la clasificación climática de Köpen modificada para la república mexicana por García (2004), es muy seco, muy cálido y cálido, con precipitaciones totales anuales entre 200 y 400 mm y temperaturas medias anuales de 22° a 26°C . La temperatura media anual es de 24° a 26°C , la del mes más frío mayor a 16.8°C (García, 2004). La precipitación total anual varía entre 600 y 800 mm, para todo el municipio de El Fuerte, pero el área de estudio presenta aproximadamente una precipitación de 200 a 500 mm al año. Presentan dos tipos de suelos. Los suelos recientes son de origen aluvial, con textura de areno-migajosa a migajón-limoso, de intemperismo uniforme, sin horizontes definidos de aluviación e iluviación; son profundos de estructura granular y no estructurados; de consistencia blanda sumamente porosos y con drenaje eficiente. El suelo de las partes bajas es Feozem háplico (Hh), con una capa superficial oscura, suave y rica en materia orgánica, mientras que en las partes con mayor pendiente es Regosol calcárico (Rc). La masa forestal del área de estudio de mezquite se ha orientado hacia el desarrollo de rodales incoetáneos (García, 2004).

Fase campo. Forma y tamaño de la unidad muestral

Las unidades muestrales fueron circulares por su establecimiento sencillo, y recomendadas para procedimientos estándar (Walker et al. 2011), para mediciones de carbono en la Amazonia peruana (Recavarren y Delgado, 2011; Honorio y Baker, 2010), en comunidades indígenas de Costa Rica (Segura y Andrade, 2008) y en estratos con baja densidad de árboles (Rügnitz et al., 2009). Con respecto al área de la unidad muestral, cabe mencionar que, Segura y Andrade (2008) recomiendan un radio de 15 m de circunferencia, que (Recavarren y Delgado, 2011), para árboles de 20 a 49.9 cm con un diámetro normal, recomiendan un radio de 16 m y que Rügnitz et al. (2009) recomiendan una parcela rectangular de 20 m x 1000 m (2000 m^2) para sistemas agroforestales. Con base en los criterios anteriores, en este estudio, las unidades muestrales fueron parcelas de 1000 m^2 , con 17.84 m de diámetro, en el cual se midieron 172 árboles en total, durante el año de 2021; dichas parcelas cubren diferentes intervalos de densidad, calidad de sitio y edad de los árboles.

Datos dasométricos

Los datos colectados fueron: altura total (At, m) de todos los árboles (obtenida con pistola haga), altura de fuste limpio (obtenida con cinta diamétrica), diámetro normal (medido con forcípula) de todos los árboles (Dn , cm). Número de árboles vivos (Na), Proyección de Copa Norte-Sur (Pcns) y Este Oeste

(Pceo) (con cinta diamétrica en metros) y edad (E, años). La unidad muestral se levantó dentro de las parcelas. En el punto central se colocó una estaca y desde este punto se trazó el círculo con una cuerda de 17.84 m. Número de unidades muestrales. De acuerdo con la recomendación de Rüginitz et al. (2009), se registraron datos de 7 unidades muestrales para estimar la biomasa aérea y el carbono.

Diseño de la investigación

La investigación se realizó sin manipular las variables. Es decir, la investigación no experimental es observar fenómenos tal y como se dan en su contexto natural (Hernández et al. 2003). El diseño de investigación transversal recolecta datos en un solo momento, en un tiempo único (Hernández et al. 2003).

Descripción de técnicas e instrumentos de recolección de datos

Según Hernández et al. (2003), la observación científica como método consiste en la percepción directa del objeto de investigación. La observación permite conocer la realidad mediante la percepción directa de los objetos y fenómenos. Los datos de campo se registraron entre las 6:00 am y las 05: 00 pm para cada una de las unidades muestrales. En conversaciones con algunos campesinos y observaciones en las comunidades indígenas mayo-yoremes, se logró identificar 20 parcelas de mezquite en su hábitat natural, los cuales fueron seleccionados al azar 7 parcelas.

Cálculo de la biomasa aérea

Para calcular la biomasa aérea de palmeras y árboles, se emplearon las ecuaciones alométricas recomendadas por Hughes et al. (2000), y Chave et al. (2014), respectivamente. Para Hughes et al. (2000):

$$\text{Biomasa aérea} = 0.0673 \times (\rho \times \text{dap}^2 \times \text{altura total})^{0.976}$$

Dónde:

DAP = diámetro a la altura del pecho (cm).

ρ = densidad básica de las especies.

Cálculo del carbono

De acuerdo con McGroddy et al. (2004), para el cálculo del carbono, a partir de la cantidad de biomasa, se utilizó la fracción de carbono de 0.47, según, (IPCC, 2006) para la biomasa aérea forestal.

$$\text{Cantidad de carbono} = \text{cantidad de biomasa} \times 0.47$$

Tratamiento estadístico

Se empleó estadísticos descriptivos de medida central (media y mediana), variabilidad (percentil, desviación estándar y coeficiente de variabilidad) para las variables medidas; así como, para describir el contenido del carbono y la biomasa aérea del mezquite. Los datos se registraron en un archivo de Excel para su procesamiento y cálculo. Los modelos descritos son intrínsecamente lineales, por lo que la estimación de los parámetros requiere el empleo de un proceso iterativo y se utilizó el algoritmo de Gauss-Newton que está implementado en el procedimiento MODEL de STATA de Excel (STATA Inc., 2021). El tipo de investigación desarrollada clasifica como aplicada, según Reyes y Sánchez (2006) ya que permite la puesta en práctica del conocimiento científico y convertirlo en tecnología. Según Flores y Rodríguez (2011) es una investigación de nivel observacional con enlace descriptivo (Hernández et al., 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN**Análisis descriptivo**

Con el objetivo de conocer la relación que existe entre variables. Se analizó descriptivamente las variables (Cuadro 1).

Cuadro 1. Estadísticos descriptivos.

Variable	Obs.	observaciones		Mínimo	Máximo	Media	Desviación Típica
		Con datos perdidos	Sin datos perdidos				
Edad	172	0	172	5.000	80.00	16.122	12.360
Grosor de Corteza	172	0	172	0.000	16.620	2.470	2.826
Alt. Fuste Limpio	172	0	172	0.100	2.790	0.784	0.540
Altura Total	172	0	172	1.520	15.000	3.978	2.087
Diámetro Normal	172	0	172	0.500	54.500	7.836	6.988
Proyección de Copa. Norte-Sur	172	0	172	0.000	14.900	4.131	2.508
Proyección de Copa Este Oeste	172	0	172	0.000	16.300	3.910	2.344

En el cuadro anterior se observa las variables edad, grosor de corteza, altura de fuste limpio, altura total, diámetro a altura de pecho, proyección de copa norte-sur, y proyección de copa este-oeste, se presentaron 172 observaciones sin datos perdidos, la mínima de las variables fue de 0.000, en grosor de corteza, proyección de copa NS y EO debido a que la mayoría de los individuos son árboles jóvenes y no presentan grandes mediciones, a la más alta que fue la edad con 5.000, la máxima entre las variables fue de 2.790 hasta 80.00 con la variable edad, la media de las variables fue de 0.784 a 16.122 con la media más alta, por último la desviación típica con 0.540 a 12.360 con la variable edad.

Grosor de corteza. El grosor de corteza entre los individuos no fue mayor a 17 mm, resultando en mayor frecuencia relativa de 0 a 4 mm de grosor, con más del 80% aproximadamente. Lo cual nos indica que el mayor porcentaje de individuos son árboles jóvenes que no presentaban una corteza.

Altura de Fuste Limpio. La altura total de fuste limpio en metros, en el cual los individuos observados no presentaban ATF mayor a 3 metros de altura, y en mayor frecuencia relativa de 0.25 m a

0.80 m de altura con más del 50%. Esto indica que los árboles jóvenes presentan más ramas vivas a menor altura del fuste.

Altura Total. No se presentó una altura mayor a 16 m y la mayoría de los individuos presentó una altura total de 3 a 5 m con más del 70 % de frecuencia relativa.

Diámetro a Altura de Pecho. El diámetro a altura de pecho no fue mayor a 55 cm, la mayoría de los individuos presento un diámetro de 5 a 11 cm, con más del 80% de frecuencia relativa.

Proyección de Copa Norte-Sur. La proyección de copa NS no fue mayor a 16 m, siendo de 3 a 5 m la proyección más común, con más del 60% de frecuencia relativa.

Proyección de Copa Este-Oeste. La proyección de copa EO no fue mayor a 17 m, siendo de 3 a 5 la proyección más común, con más del 70% de frecuencia relativa.

Edad. La edad calculada no fue mayor a 80 años, siendo los árboles que más abundan de 9 a 25 años, con más del 80% de frecuencia relativa.

Como resultado de los datos anteriores podemos decir que la mayoría de los individuos resultaron ser árboles jóvenes debido a las variables dasométricas que presentaron mayor frecuencia que son medidas de árboles jóvenes y esto puede ser debido a que estos bosques han sido aprovechados por su recurso maderable y se ha aprovechado la mayoría de árboles que presenta mayores diámetros para su aprovechamiento, por lo que al hacer esta actividad silvícola selectiva de aprovechamiento se están quedando solo poblaciones muy jóvenes en estos rodales.

Biomasa aérea y carbono por unidad muestral

Si analizamos el Cuadro 2, el sitio 1 supera a los demás sitios con respecto a la biomasa aérea, los sitios 3 y 4 están con valores muy similares y el sitio 6 tiene la menor concentración de biomasa aérea. La media de concentración de biomasa aérea es de 71.7 t ha⁻¹ para la masa arbórea de la especie en los diferentes sitios de muestreo.

Respecto a la concentración de carbono del mezquite en su biomasa aérea, vario en los diferentes sitios de muestro (Cuadro 3), podemos observar que el sitio 2 tiene la mayor concentración de carbono por hectárea, seguido por los sitios 3, 5 y 6, y el sitio 7 tiene la menos concentración de carbono en la biomasa aérea. La media de concentración de carbono en la biomasa aérea es de 33.28 t ha⁻¹ para los árboles en los sitios seleccionados.

Cuadro 2. Biomasa aérea por sitio muestral y por hectárea.

Sitio de muestro	T biomasa	T biomasa ha ⁻¹
1	7.3	42.6
2	29.80	150.5
3	14.2	78.1
4	11.9	62.1
5	13.2	70.3
6	5.1	65.2
7	15.9	33.1
Estimadores	Estadísticos descriptivos T biomasa	Estadísticos descriptivos T biomasa ha ⁻¹
Media	13.9142857	71.7
Error típico	3.01736471	14.4119164
Mediana	13.2	65.2
Desviación estándar	7.98319664	38.1303466
Varianza de la muestra	63.7314286	1453.92333
Curtosis	2.83400283	3.76297416
Coefficiente de asimetría	1.39143483	1.70984654
Rango	24.7	117.4
Mínimo	5.1	33.1
Máximo	29.8	150.5

Cuadro 3. Carbono por sitio muestral y por hectárea.

Sitio de muestro	T biomasa	T biomasa ha ⁻¹
1	3.1	19.2
2	13.2	70.1
3	6.1	36.4
4	4.9	28.2
5	5.4	32.7
6	5.2	31.4
7	2.1	15.0
Estimadores	Estadísticos descriptivos T biomasa	Estadísticos descriptivos T biomasa ha ⁻¹
Media	5.71428571	33.2857143
Error típico	1.35496065	6.77447691
Mediana	5.2	31.4
Desviación estándar	3.584888992	17.9235812
Varianza de la muestra	12.8514286	17.9235812
Curtosis	4.08799054	3.59268991
Coefficiente de asimetría	1,79156179	1.65646175
Rango	11.1	55.1
Mínimo	2.1	15
Máximo	13.2	70.1

CONCLUSIONES

La Biomasa aérea promedio de la especie de mezquite en su área natural en la comunidad de Charay, municipio de El Fuerte, Sinaloa registró un promedio total de 71.7 t ha⁻¹. El stock de carbono promedio acumulado de 33.28 t C ha⁻¹ en la especie de mezquite en su hábitat natural en la comunidad de Charay, El Fuerte, Sinaloa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chave JAS et al. (2014). Tree allometry and improved estimation of carbon stocks and balance in tropical forests. *Oecologia*, 145, 87-99.
- Flores GJ; Rodríguez GJ (2011). Metodología de la investigación cualitativa. 2 ed. Aljibe: 367p.
- García E (2004). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen: para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. 12 ed. UNAM: 345p.
- Hernández SR et al. (2003). Metodología de la Investigación. 3 ed. Mc Graw Hill. 676p.
- Honorio ER; Baker TR (2010). Low stocks of coarse woody debris in a southwest Amazonian forest. *Oecología*, 152: 495-504.
- Hughes RF et al. (2000). Ecosystem-scale impacts of deforestation and land use in a humid tropical region of Mexico. *Ecological Applications*, 10: 515-527.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). (2006). Directrices del IPCC para los inventarios nacionales de gases de efecto invernadero. 4(4): 93p.
- McGroddy ME et al. (2004). Scaling of C:N:P stoichiometry in forests worldwide: implications of terrestrial Red-field typeratios. *Ecology*, 85: 2390-2401.
- Recavarren P; Delgado M (2011). Proyecto REDD en Áreas Naturales Protegidas de Madre de Dios. Insumos para la elaboración de la línea base de carbono. Asociación para la Investigación y Desarrollo Integral (AIDER): 185p.
- Reyes MC; Sánchez CH (2006). Metodología y diseños en la investigación científica. *Visión Universitaria*: 222p.
- Rodríguez SE et al. (2014). Análisis técnico del árbol del mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.) Ra Ximhai, 10(3):16.
- Rügnitz M et al. (2009). Guía para la determinación de carbono en pequeñas propiedades rurales. Disponible en: www.katoobagroup.org. Consultado en: 12/05/2022.
- Rzedowski J; de Rzedowski GC, (1979). Flora Fanerogámica del Valle de México, Vol. I. Compañía Editorial Continental, S. A. 403p.
- Segura M; Andrade LP (2008). ¿Cómo construir modelos alométricos de volumen, biomasa o carbono de especies leñosas perennes? *Agroforestería en las Américas* N° 46. 7p.
- Stata (2021). Stata computer software. Texas: StataCorporation: 560p.
- Villanueva DJ et al. (2004). El mezquite en la comarca Lagunera. Alternativa de producción integral para ecosistemas desérticos. Folleto Científico No. 14. INIFAP CENID RASPA.: 35p.
- Walker WL et al. (2011). Field guide for forest biomass and carbon estimation. Versión 1.0. Falmouth, Massachusetts, US: Woods Hole Research Center. Disponible en whrc.org/wp-content/uploads/2016/02/FieldGuide.pdf. Consultado en 20/06/2022.

Índice

B

Bacillus cereus, 34, 35
Biomasa aérea, 124, 129, 130

C

Canopy temperature, 118
Carbono, 130
Criopreservación, 27

D

densidad aparente, 7, 9, 11, 14, 15, 16, 17, 18

E

El Fuerte, 124, 125, 126, 130
Endophytic bacteria, 48, 62

F

Fibra de coco, 80
Fusarium, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 64, 65,
66, 67, 68, 69, 70, 71

M

manglar, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 17
materia orgánica, 7, 8, 9, 11, 14, 16, 17, 18
Mezquite, 125

N

Nitrogen, 96, 97, 99, 103, 104

P

parámetros físico-químicos, 7, 9
Panaeus vannamei, 84, 85, 91
PGPR, 48

S

Salinidad, 84
sedimento, 7, 9, 11, 13, 14, 15, 16, 17
Solanum lycopersicum, 74
Solución nutritiva, 79

T

Tezontle, 77, 80

Y

Yaqui Valley, 95, 96, 97, 98, 101, 102, 103, 104,
105

Sobre los organizadores



 **Dr. Leandris Argentel Martínez**

Profesor e Investigador Titular "C" del Tecnológico Nacional de México, Campus Valle del Yaqui (ITVY). Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1. Profesor Perfil Deseable (PRODEP) de la Secretaría de Educación Pública de México, Líder del Cuerpo Académico ITVAYA-CA-3. Líneas de investigación: Fisiología Vegetal, Bioquímica, Biología Celular y Molecular en plantas y microorganismos. Doctorado en Ciencias Biotecnológicas. Desarrollo de investigaciones sobre mecanismos fisiológicos, rutas anapleróticas y mecanismos moleculares activados por los organismos durante su adaptación estreses abióticos.

Uso de marcadores moleculares de tolerancia de los organismos al estrés abiótico (salinidad, sequía y calor). Manejo de técnicas de isótopos estables para el seguimiento de reacciones bioquímicas en células y tejidos. Aplicación de técnicas experimentales univariadas y multivariadas para el procesamiento de datos. Entre sus principales proyectos, se encuentra vigente en 2022 “Aplicaciones del microbioma y el metaboloma de la *Parkinsonia aculeata* L. Sp. Pl. para la mitigación de estreses biótico y abiótico en el semidesierto y en especies de interés agrícola en México” correo electrónico para contacto: oleinismora@gmail.com



 **Dra. Ofelda Peñuelas Rubio**

Profesor e Investigador Titular "C" del Tecnológico Nacional de México, Campus Valle del Yaqui (ITVY). Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1. Profesora con Perfil Deseable (PRODEP) de la Secretaría de Educación Pública de México, miembro del Cuerpo Académico ITVAYA-CA-3. México. Realizó dos estancias posdoctorales (Enero 2016 - Diciembre 2017) dentro del programa de Estancias Nacionales de CONACYT en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Sinaloa del Instituto Politécnico Nacional en el área de Ecología Molecular de la Rizósfera. Es Doctora en Ciencias especialidad en Biotecnología. Su

quehacer científico lo desarrolla en el área agrícola, principalmente en el manejo sustentable de los recursos implicados en los agroecosistemas y el aprovechamiento de la microbiota del suelo. Ha participado en colaboración con distintos grupos de investigación lo que le ha permitido participar en proyectos multidisciplinarios y en publicaciones científicas. Email para contacto: ofeperub@gmail.com



Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000
Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil
Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp)
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br