



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA
EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD-OAXACA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y
APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES
(PROTECCIÓN Y PRODUCCIÓN VEGETAL)**

**CONSORCIOS BACTERIANOS SOLUBILIZADORES DE
FOSFATOS EN EL DESARROLLO Y CRECIMIENTO INICIAL
DE MAGUEY ESPADÍN (*Agave angustifolia* Haw.) EN
CONDICIONES DE CAMPO**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

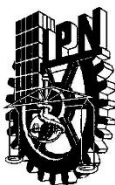
PRESENTA

BETSY ANTONIO REVUELTA

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARTHA ANGÉLICA BAUTISTA CRUZ

SANTA CRUZ XOXOCOTLÁN, OAXACA. JUNIO DEL 2018



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca siendo las 10:00 horas del día 28 del mes de mayo del 2018 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR OAXACA para examinar la tesis titulada:
Consortios bacterianos solubilizadores de fosfatos en el desarrollo y crecimiento inicial de maguey espadín (Agave angustifolia Haw.) en condiciones de campo

Presentada por el alumno:

Antonio Reuelta
Apellido paterno Apellido materno
Nombre(s) Betsy

Con registro:

A	1	6	0	2	5	5
---	---	---	---	---	---	---

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISOR

Director(a) de tesis

Dra. Martha Angélica Bautista Cruz

Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez

Dr. David Martínez Sánchez

Dr. Teodulfo Aquino Bolaños

Dr. Cirenio Escambrasa Tinoco

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE
PROFESORES

Dr. Salvador Isidro Belmonte
Jiménez



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.




INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca el día 28 del mes mayo del año 2018, el (la) que suscribe Betsy Antonio Revuelta alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales con número de registro A160255, adscrito a Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Martha Angélica Bautista Cruz y cede los derechos del trabajo intitulado **Consortios bacterianos solubilizadores de fosfatos en el desarrollo y crecimiento inicial de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) en condiciones de campo**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección volesig10_gar@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


Betsy Antonio Revuelta

Nombre y firma



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
IPN

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme terminar un propósito más en mi vida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo económico brindado que me permitió culminar mis estudios.

Al Instituto Politécnico Nacional, por brindarme el apoyo económico como becario PIFI, en el proyecto: Bacterias celulolíticas y diazotróficas asociadas a maguey espadín con clave del proyecto 20160846.

Al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca del Instituto Politécnico Nacional, que fue parte importante de mi formación académica.

A la Dra. Martha Angélica Bautista Cruz, mi directora de tesis, por sus sugerencias, comentarios y dedicación en la conducción de este trabajo.

A los miembros del comité de tesis integrado por: Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez, Dr. Teodulo Aquino Bolaños, Dr. Cirenio Escamirosa Tinoco y Dr. David Martínez Sánchez por la revisión del escrito, comentarios y sugerencias para mejorar el trabajo de investigación.

A la MC Verónica Martínez Gallegos, por el apoyo y capacitación en los métodos de laboratorio.

Al laboratorio de Análisis de Suelos y el laboratorio de Microbiología y Bioquímica de Suelos, por facilitar los equipos y material necesarios.

A mis compañeros de generación y además amigos Jonás Álvarez, Jair San Juan Martínez, Gabriela Castruita, Manuel Flores, Hugo Von Thanden y Ángel Santiago, de quienes recibí apoyo, comentarios y críticas valiosas.

DEDICATORIA

A mis padres Mario Antonio y María del Carmen Revuelta, por sus infinitas muestras de amor, cariño, enseñanzas, consejos, apoyo, confianza y compromiso en el transcurso de mi vida.

A mi esposo, Salvador Ochoa, por todo el apoyo, motivación, confianza y amor que has brindado.

A mis hermanos Mario Alberto Antonio, Luis Enrique Antonio, Liliana Antonio y Giselle Antonio, por todo el apoyo, amor y alegría que me brindan.

A mis amigas, Karla Lucia Villanueva, Cecilia Urbina y Fabiola Vargas por toda la alegría y complicidad en la vida.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL	3
1.1 Objetivo general	6
1.2 Objetivos específicos.....	6
1.3 Hipótesis.....	7
CAPITULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1 Antecedentes	7
2.2 Marco teórico	9
2.2.1 Agave y mezcal	9
2.2.2 Fósforo en el suelo y en la nutrición vegetal.....	10
2.2.3 Bacterias solubilizadoras de fosfato	12
2.2.4 Producción de ácidos orgánicos	13
2.2.5 Importancia de los biofertilizantes bacterianos	14
2.2.6 Impacto de los fertilizantes.....	15
2.3 Literatura citada.....	17
CAPÍTULO 3. CONSORCIOS BACTERIANOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATOS EN EL DESARROLLO Y CRECIMIENTO INICIAL DE MAGUEY ESPADÍN (<i>Agave angustifolia</i> Haw.) EN CONDICIONES DE CAMPO	23
3.1 INTRODUCCIÓN.....	23
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.2.1 Área de estudio.....	25
3.2.2 Obtención de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato	26
3.2.3 Obtención de hijuelos rizomatosos de plantas de <i>A. angustifolia</i>	28
3.2.4. Desarrollo experimental	29
3.2.5 Variables respuesta.....	30
3.2.6 Análisis estadísticos	31
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
3.3.1 Evaluación del efecto de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de <i>Agave angustifolia</i> Haw.....	32

3.3.2 Efecto de los consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre la actividad enzimática de la fosfatasa ácida y alcalina en la rizósfera de <i>Agave angustifolia</i> Haw.	37
3.4 Conclusiones	39
3.5 Literatura citada.....	40

RESUMEN

Los suelos calacearos cultivados con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) son deficientes en fósforo (P) disponible, por lo tanto, requieren de una contribución adicional para cubrir las necesidades de las plantas. Las bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSF) tienen la capacidad de incrementar la disponibilidad de P para las plantas a través de la solubilización de los fosfatos insolubles del suelo a formas asimilables y disponibles. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre la disponibilidad de P y la actividad de fosfatasa (ácida y alcalina) en el suelo, crecimiento y desarrollo de plantas de 2-3 años de maguey espadín en condiciones de campo. Para ello, se utilizó un diseño completamente al azar con 5 tratamientos y 25 repeticiones. Los tratamientos evaluados fueron: T1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1), T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.), T3 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Acinetobacter* sp.), T4 (*Pseudomonas putida*) y control sin inocular. Con respecto al control T2 incrementó 22.98% la altura de la planta, 183.75% el peso fresco de las hojas, 391.44% el peso seco de las hojas, 49.61% el diámetro del tallo, 213.65% el peso fresco del tallo y 193.98% el peso seco de raíces. Los °Brix aumentaron 50% con T1. La actividad de fosfatasa ácida incrementó 20.37% con T3, 14.81% con T4 y 11.11% con T1. Las plantas de agave son plantas de ciclo largo, por lo cual, se sugiere confirmar el efecto positivo de estos bioinoculantes en la planta por un periodo mayor a 12 meses.

Palabras clave: Bacterias solubilizadoras de fosfato, fosfatasa ácida, maguey espadín, parámetros de crecimiento

ABSTRACT

Calacearian soils cultivated with maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) Are deficient in available phosphorus (P), therefore, they require an additional contribution to cover the needs of the plants. Phosphate-solubilizing bacteria (BSF) have the ability to increase the availability of P for plants through the solubilization of insoluble phosphates from the soil to available and assimilable forms. The aim of this work was to evaluate the effect of phosphate solubilizing bacterial consortiums on the availability of P and the phosphatase activity (acid and alkaline) in the soil, growth and plant development of 2-3 years of maguey sprat in conditions of field. For this, a completely randomized design with 5 treatments and 25 repetitions was used. The treatments evaluated were: T1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1), T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.), T3 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Acinetobacter* sp.), T4 (*Pseudomonas putida*) and control without inoculate. With respect to the control T2 increase, the height of the plant increased by 22.98%, the fresh weight of the leaves was 183.75%, the dry weight of the leaves was 391.44%, the diameter of the stem was 49.61%, the fresh weight of the stem was 193.65%, and 193.98% the fresh weight of the stem. dry weight of roots. ° Brix increased 50% with T1. Acid phosphatase activity increased 20.37% with T3, 14.81% with T4 and 11.11% with T1. Agave plants are long-cycle plants, so it is suggested to confirm the positive effect of these bio-inoculants in the plant for a period longer than 12 months.

Key words: Phosphate solubilizing bacteria, acid phosphatase, maguey sprat, growth parameters

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En la rizósfera un alto número de especies bacterianas son capaces de ejercer un efecto benéfico mediante diferentes mecanismos sobre el crecimiento de las plantas, y han sido llamadas Bacterias Promotoras del Crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés) (Acevedo *et al.*, 2014). Dentro de estas, las bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF) desempeñan una función importante en la nutrición de las plantas a través de un incremento en la disponibilidad de fósforo (P) (Liu *et al.*, 2015). Estas bacterias pueden mineralizar y solubilizar el P de fuentes orgánicas e inorgánicas insolubles respectivamente, y liberar el P de forma soluble a la solución del suelo en donde puede ser absorbido por las raíces de las plantas (Anzuay *et al.*, 2017).

Después del nitrógeno, el P es el elemento más importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Oufdou *et al.*, 2016). Está involucrado en varias funciones clave como metabolismo energético, fotosíntesis, respiración, fijación de nitrógeno y regulación enzimática (Viruel *et al.*, 2014). Por lo tanto, el P es un componente esencial en el metabolismo de las plantas comenzando desde la división celular a la regulación de las rutas metabólicas y procesos de crecimiento (Panda *et al.*, 2016). La concentración de P disponible para las plantas es inherentemente baja, se considera que el P en el suelo tiene dos orígenes, P nativo que es liberado a la solución del suelo por desgaste del material parental del suelo (minerales primarios) y restos de P como resultado de aplicaciones pasadas de fertilizantes-P y abonos orgánicos (Owen *et al.*, 2015).

En suelos calcáreos y alcalinos una gran cantidad de P se encuentra precipitado con iones de calcio (Ca) y magnesio (Mg) (Liu *et al.*, 2015). La indisponibilidad de P en suelos ácidos se debe a su precipitación con cationes altamente reactivos de hierro (Fe) y aluminio (Al) (Liu *et al.*, 2014).

El mecanismo más importante de solubilización de fosfatos inorgánicos es la producción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular tales como ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, ácido succínico, ácido láctico, ácido fumárico y ácido tartárico, entre otros. La producción de ácidos puede conducir a la secreción de H^+ , intercambio de aniones de PO_4^{2-} por ácido aniónico (Oufdou *et al.*, 2016). Las enzimas fitasa y fosfatasa son responsables de la mineralización de fosfatos orgánicos (Zheng *et al.*, 2017). En la agricultura moderna, se aplican frecuentemente fertilizantes-P a los campos de cultivo para aumentar la producción, debido a que la mayoría de los suelos agrícolas son deficientes en P y por lo tanto requieren una contribución de P para cubrir las necesidades de las plantas (Oufdou *et al.*, 2016; Anzuay *et al.*, 2017).

Agave angustifolia Haw., planta conocida regionalmente en Oaxaca (México) como “maguey espadín” es una especie cultivada de gran valor socioeconómico para esta entidad, debido a su uso como ingrediente básico en la producción de mezcal, una bebida alcohólica tradicional. Se estima que existen más de 8422.7 hectáreas cultivadas con este maguey (OIEDRUS, 2011). Sin embargo, a pesar de su importancia económica existe muy poca información relacionada al manejo de la fertilidad de los suelos y nutrición de las plantas (Chagoya-Méndez, 2004). Bautista-Cruz *et al.* (2007) reportaron las condiciones de fertilidad de los suelos cultivados con maguey espadín en el distrito de Tlacolula, Oaxaca (México) de acuerdo a las condiciones topográficas de los agrosistemas y a la edad de las plantas y concluyeron que en general, los suelos son pobres en materia orgánica, nitrógeno y P.

La búsqueda de PGPR, así como la investigación sobre sus propiedades biológicas están aumentando a un ritmo acelerado, muchos trabajos han informado de una mejora significativa en el crecimiento y el rendimiento de los cultivos en respuesta a la inoculación microbiana, las aplicaciones de estas asociaciones se han investigado en maíz, avena, cebada, frijol, soja, papas,

lenteja, tomate, trigo y pepino (Gouda *et al.*, 2018). Sin embargo, los estudios enfocados en plantas de agave son escasos. Bautista-Cruz *et al.* (2015) encontraron efectos positivos de la inoculación de BSF en maguey espadín sobre el crecimiento de las plantas, principalmente en el contenido de materia seca de la parte aérea, biomasa radical, diámetro del tallo, longitud de la raíz, número de hojas desplegadas y aumento en la cantidad de P disponible en el suelo en comparación con las plantas de maguey sin inocular.

Similarmente Torre-Ruiz *et al.* (2016) aisló BSF de la rizósfera de *A. americana*, y encontraron un efecto positivo de estos aislados sobre el peso seco, diámetro del tallo, número de hojas desplegadas, longitud de la raíz y contenido de azúcar en comparación con plantas control sin inocular de *A. americana*. Otros estudios realizados por Ruiz *et al.* (2011) informaron que la aplicación de tres cepas BSF [*Gluconoacetobacter diazotrophicus* (Pal5), los diazotrófos (11B) y Pachaz (008)] y un hongo micorrízico arbuscular [*Glomus intraradices* (AMF)] a las raíces de *A. tequilana* Weber var. Azul. mostró un aumento significativo en el peso fresco, seco y altura de las plantas en comparación con plantas no inoculadas.

Martínez-Rodríguez *et al.* (2014) detectaron capacidad de fijación de nitrógeno, producción de auxinas y solubilización de fosfatos en bacterias endófitas aisladas de las bases de hojas de *A. tequilana* Weber var. Azul pertenecientes a los géneros *Acinetobacter*, *Bacillus* y *Pseudomonas* y sugirieron su potencial para usarlas como bioinoculantes en *A. tequilana* Weber var. Azul

Otros trabajos realizados con cactáceas como el de López *et al.* (2011); Lopez *et al.* (2012) mostraron efectos positivos de la inoculación de BSF en *Mammillaria fraileana*, las plantas aumentaron significativamente el peso seco con respecto a las plantas no inoculadas. Así mismo, Bashan y Puente (1999) encontraron que la inoculación de BSF a plantas jóvenes de tres especies

de cactus *Pachycereus pringlei*, *Stenocereus thurberi* y *Lophocereus schottii* les indujo una alta tasa de supervivencia y se desarrollaron más rápido en comparación con plantas control no inoculadas. Chávez-Ambriz *et al.* (2016) evaluaron la inoculación de cepas bacterianas sobre el crecimiento de plantas de *Mammillaria zeilmanniana* Boed. y encontraron un efecto positivo sobre la floración con un incremento en el porcentaje de plantas con flor con respecto al testigo sin inocular.

1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre la disponibilidad de fósforo y la actividad de fosfatasa (ácida y alcalina) en el suelo, crecimiento y desarrollo de plantas de 2-3 años de *Agave angustifolia* Haw. en condiciones de campo, como una posible estrategia agroecológica que permita incrementar la fertilidad del suelo y el rendimiento de este cultivo.

1.2 Objetivos específicos

Evaluar la respuesta en el crecimiento y desarrollo de plantas de *Agave angustifolia* a la aplicación de bioinoculantes bacterianos solubilizadores de fosfato

Cuantificar el contenido de fósforo disponible en el suelo y el contenido de este nutriente en el tejido foliar

Cuantificar la actividad enzimática de las fosfatasas (ácida y alcalina) en la rizósfera de *A. angustifolia*

1.3 Hipótesis

La aplicación de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato al suelo rizosférico de *A. angustifolia* aumenta la disponibilidad de P y promueve su desarrollo y crecimiento

CAPITULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

La investigación de cepas de Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR) aisladas de diferentes suelos con el potencial de ser utilizadas como bioinoculantes ha aumentado en los últimos años, sin embargo, los estudios enfocados a agaves son escasos. Bautista-Cruz *et al.* (2015) reportaron la efectividad de aislados BSF nativos de la rizósfera de *A. angustifolia* para promover el crecimiento de estas plantas en suelos deficientes en P bajo condiciones de invernadero, las cuales incrementaron significativamente su contenido de biomasa aérea seca, biomasa radical, diámetro del tallo, longitud de la raíz, número de hojas desplegadas y cantidad de P disponible en el suelo.

Martínez-Rodríguez *et al.* (2014) evaluaron bacterias endófitas pertenecientes a los géneros *Acinetobacter*, *Bacillus* y *Pseudomonas* aisladas de las hojas de *Agave tequilana* Weber var. Azul. y encontraron que las bacterias examinadas en su estudio tenían rasgos promotores del crecimiento vegetal por su capacidad de solubilización de fosfato de un cultivo “*in vitro*” y sugirieron su potencial para usarlas como bionoculantes para el crecimiento de *A. tequilana*.

Rhizobium daejeonense, *Acinetobacter calcoaceticus* y *Pseudomonas mosselii* aislados de la rizósfera de *Agave americana* demostraron ser capaces de sintetizar ácido indol-3-acético (AIA), solubilizar fosfato y tener actividad nitrogenasa, estas cepas tuvieron un efecto positivo sobre el peso seco, diámetro del tallo, número de hojas desplegadas, longitud de la raíz y contenido de azúcar en comparación con plantas control sin inocular de *A. americana* (Torre-Ruiz *et al.*, 2016).

Lopez *et al.* (2012) reportaron que la inoculación de *Mammillaria fraileana* con bacterias endófitas solubilizadoras de fosfato incrementó el peso seco de la planta y éste fue mayor en los cactus inoculados con *Enterobacter sakazakii* M2PFe.

Puente *et al.* (2009) inocularon plántulas de un cactus *Pachycereus pringlei* de lento crecimiento con bacterias endófitas solubilizadoras de fosfato, *Klebsiella* sp. SENDO 2, *Acinetobacter* sp. SENDO 1, *Pseudomonas* sp. SENDO2 y *Bacillus* sp SENDO 6. y encontraron con cualquier bioinoculante aplicado de manera individual o en consorcios, un crecimiento significativamente mayor en los cactus en comparación con las plantas control sin bioinoculante.

2.2 Marco teórico

2.2.1 Agave y mezcal

México es el centro de origen de la familia de las *Agavaceas*, a la cual pertenece el maguey, incluye 288 especies, 166 de las cuales son magueyes, agrupados en el género *Agave*. En el país se han encontrado 125 especies de agaves lo que representa el 75% del total mundial (Cervantes, 2002), el mayor número se concentra en Oaxaca con 23% (García-Mendoza *et al.*, 2004).

Los magueyes son plantas que necesitan mucho tiempo en desarrollarse, generalmente tardan entre cinco y catorce años en alcanzar la madurez reproductiva, siendo el momento en el cual, la cantidad azúcares almacenados en su tallo, llega a su máximo contenido (Illsey *et al.*, 2005). Los productores de maguey prefieren utilizar *Agave angustifolia* Haw. debido que esta especie es de ciclo corto de aprovechamiento pues tarda de 5 a 7 años en llegar a la madurez, produce piñas de mayor tamaño, por lo que se cultiva en mayor extensión con fines comerciales (Espinosa *et al.*, 2002).

En México, el cultivo de agave es de gran importancia ecológica, socio-cultural y económica porque su tallo conocido como “piña” y sus hojas, se aprovechan de diversas formas, como fuente de alimento humano, bebida, medicina, combustible, cobijo, ornato, forraje, fibras duras, textiles, abono, construcción, implementos agrícolas entre otros y principalmente en la producción de bebidas alcohólicas como el mezcal (García-Mendoza, 2007). El “Mezcal” es el nombre genérico que viene del náhuatl *mexcalli* que significa *Agave* horneado, esta bebida es obtenida de los azúcares fermentados de las cabezas cocidas de más de 50 especies del género *Agave* el cual se produce en aproximadamente en 26 estados de México (Aguirre y Eguiarte, 2013; Torres *et al.*, 2015).

La industria del mezcal es la más importante del estado de Oaxaca ya que genera anualmente 29,000 empleos directos e indirectos (Pérez *et al.*, 2016). Esta es una actividad económica que es un eje potencial de desarrollo de las regiones productoras de agave. De acuerdo con cifras del COMERCAM (2015) Oaxaca es el estado con mayor producción de mezcal, con un 93.7 %, siendo la mayor producción (77%) elaborada con *A. angustifolia* (Pérez *et al.*, 2016).

Para el 2015 el mercado de exportación de mezcal envasado aumentó 79 % con 116 marcas, las cuales se exportan a 42 países, siendo Oaxaca el estado que tiene mayor preponderancia con un 78.2 % del total del mezcal envasado en México. El mezcal presenta un ascenso en las cumbres internacionales y sus estadísticas son prometedoras (COMERCAM, 2015).

2.2.2 Fósforo en el suelo y en la nutrición vegetal

El P representa ~0.7% de la corteza terrestre, lo que lo convierte en el undécimo elemento más abundante (Owen *et al.*, 2015). Es uno de los macronutrientes vegetales esenciales que afecta profundamente el crecimiento y desarrollo de las plantas (Nobahar *et al.*, 2017). Participa en los procesos metabólicos comenzando desde la división celular a la regulación de las rutas metabólicas y procesos de crecimiento (Panda *et al.*, 2016). La mayoría de los suelos agrícolas contienen grandes reservas de P tanto en forma orgánica como inorgánica (Pereira and Castro, 2014). El P tiene dos orígenes: P nativo, que es liberado a la solución del suelo por desgaste natural del material parental (minerales primarios) y restos de P como resultado de aplicaciones pasadas de fertilizantes y abonos orgánicos (Sharpley *et al.*, 2013).

En los suelos el P existe de muchas formas químicas complejas que difieren notablemente en su comportamiento, movilidad y resistencia a la biodisponibilidad, por lo tanto, el destino y transporte del P varía en gran medida según sus formas (Nobahar *et al.*, 2017). Las plantas solo pueden obtener el P presente en la solución del suelo (predominantemente como iones de ortofosfato primario y secundario cargados negativamente) (Zhu *et al.*, 2018). Solo una pequeña fracción del P existente se encuentra en la solución del suelo (1 ppm o 0.1 %) que está soluble y disponible para las plantas (Awais *et al.*, 2017), el resto se encuentra en forma no disponible debido a su fijación en el suelo, con iones de calcio (Ca) y magnesio (Mg) en suelos alcalinos (Bhattacharyya and Jha, 2012; Liu *et al.*, 2015; Panda *et al.*, 2016) (con iones de hierro (Fe) y aluminio (Al) en suelos ácidos (Liu *et al.*, 2014). Los iones de fosfato solubles pueden ser adsorbidos por óxidos de estos metales y por superficies de minerales arcillosos (Park *et al.*, 2011).

La deficiencia de P es una de las principales limitaciones para el rendimiento de los cultivos en muchos suelos del mundo (Panda *et al.*, 2016; Anzuay *et al.*, 2017). En consecuencia, la disponibilidad de P controla el crecimiento y desarrollo de todos los cultivos (Zhu *et al.*, 2018). Aproximadamente 5.7 billones de hectáreas cultivadas en todo el mundo tienen condiciones de deficiencia de P (Oufdou *et al.*, 2016). Para superar este problema, la mayoría de los agricultores utilizan fertilizantes químicos fosfatados que se incorporan al suelo. Este P aplicado se transforma fácilmente en una forma insoluble y estable con disponibilidad limitada para las plantas y solo el 5% o menos de la cantidad total de P aplicado en el suelo está disponible para la nutrición vegetal (Panda *et al.*, 2016).

El P en el suelo a menudo debe reabastecerse repetidamente para satisfacer la demanda de la planta, en parte porque se elimina rápidamente de la forma disuelta (disponible para la planta) por sorción, precipitación e inmovilización microbiana, se pierde por escorrentía superficial (en partículas y formas disueltas), flujo subsuperficial (lixiviación y flujo a través de la matriz del suelo y macroporos), flujo de drenaje e incluso agua subterránea que puede acelerar la eutrofización de las aguas (Zhu *et al.*, 2018).

2.2.3 Bacterias solubilizadoras de fosfato

La rizósfera es una estrecha región de suelo en proximidad inmediata al sistema radicular habitada por un gran grupo de bacterias beneficiosas llamadas rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Iyer *et al.*, 2017). Las bacterias que residen en la rizósfera mejoran la salud de las plantas (Goswami *et al.*, 2016) y son capaces de ejercer un efecto benéfico por diferentes mecanismos, sobre el crecimiento y rendimiento de las plantas (Acevedo *et al.*, 2014). Dentro de estos, las BSF desempeñan una función importante en la nutrición de las plantas a través de un incremento en la absorción de P por las plantas (Anzuay *et al.*, 2017). Estas bacterias de forma natural pueden solubilizar y mineralizar el P de fuentes insolubles inorgánicas y orgánicas, respectivamente, y liberar el P de forma soluble a la solución del suelo, a través de diferentes mecanismos (Liu *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2016).

Las BSF son componentes importantes del suelo e influyen directa o indirectamente en la salud de las plantas a través de sus actividades útiles (Panda *et al.*, 2016). Las BSF tienen la habilidad para disolver parte del P fijado y convertirlo en disponible para los cultivos mediante la secreción de

ácidos orgánicos de bajo peso molecular y enzimas (Rodríguez and Fraga, 1999; Tilak *et al.*, 2005). La actividad de la rizósfera permite la transformación, movilización y solubilización de nutrientes de un área limitada en el suelo y subsecuentemente la absorción de nutrientes esenciales por las plantas que mejoran el potencial genético (Viruel *et al.*, 2014).

A pesar de los beneficios agronómicos que pueden ser proporcionados por BSF, su abundancia en los suelos no es siempre suficiente para competir con otros organismos estabilizados en la rizósfera, esta situación requiere la inoculación de plantas con BSF para incrementar la densidad encontrada en el suelo y tomar ventaja de sus propiedades para incrementar la productividad (Anzuay *et al.*, 2017).

Los procesos de solubilización de fosfatos son un fenómeno complejo, que son severamente afectados por muchos factores como la temperatura, pH, concentración de oxígeno, materia orgánica, etc. (Zhu *et al.*, 2012), especialmente bajo condiciones de estrés (Anzuay *et al.*, 2017). Bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Serratia* y algunos hongos filamentosos del suelo, como *Aspergillus* y *Penicillium* son capaces de solubilizar fosfatos (Rodríguez and Fraga, 1999).

2.2.4 Producción de ácidos orgánicos

La solubilización del fosfato mineral por las BSF está ampliamente asociado con la producción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular como ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, ácido succínico, ácido láctico, ácido fumárico y ácido tartárico, entre otros Pande *et al.*, 2017. La producción de ácidos puede conducir a disminución del pH, quelar cationes

principalmente calcio ligado al fosfato a través de sus grupos hidroxilo y carboxilo o competir con el fosfato por los sitios de adsorción (Khan *et al.*, 2007; Wei *et al.*, 2018), la liberación de protones (H⁺), intercambio de aniones de PO₄²⁻ por ácido aniónico principalmente ácido glucónico y 2-cetoglucónico (Oufdou *et al.*, 2016). Los ácidos orgánicos convierten el fosfato tricálcico a fosfato di y mono básico, resultando en una mayor disponibilidad de P para las plantas. El tipo de ácidos orgánicos producidos y sus cantidades difieren con diferentes organismos (Awais *et al.*, 2017). Muchos informes sugieren una correlación positiva entre la disminución del pH y la concentración de P soluble en el medio (Nohabar *et al.*, 2016; Pande *et al.*, 2017). El P puede ser liberado de compuestos orgánicos en el suelo por fitasas que específicamente causan liberación del P de ácido fítico, por fosfatasas no específicas que realizan desfosforilación de fosfoester o fosfoanhídrido en materia orgánica y por fosfonatasas y liasas C-P que realizan la escisión en organofosfatos (Oufdou *et al.*, 2016).

2.2.5 Importancia de los biofertilizantes bacterianos

Los biofertilizantes son mezclas de cultivos de cepas microbianas que son actualmente el ejemplo más ecológicamente amigable y económicamente viable de aplicaciones prácticas al suelo para el beneficio de los agricultores de hoy en día. (Gupta *et al.*, 2016). La liberación de estas formas insolubles y fijas de fósforo es un importante aspecto no solo para incrementar la disponibilidad de fósforo y la fertilidad del suelo sino también para reducir el impacto ambiental negativo (Panda *et al.*, 2016). La aplicación de BSF al suelo puede remplazar o reducir parcialmente el uso de los fertilizantes fosfatados inorgánicos y podría ser uno de los más bajos costos, alta eficiencia y

aprovechamiento sustentable para la conservación de las fuentes de P y evitar la contaminación por P (Liu *et al.*, 2015). Debido a los impactos ambientales negativos de los fertilizantes químicos y sus costos crecientes, el uso de BSF es ventajoso en las prácticas agrícolas sostenibles (Pande *et al.*, 2017). Hoy en día se pueden encontrar productos comerciales de BSF, sin embargo, aún existen limitaciones asociadas con la calidad, la confiabilidad y el rendimiento que están obstaculizando su progreso en el mercado, debido a estas limitaciones, las bioformulaciones carecen muy por detrás de los productos químicos, por lo tanto, se debe explorar más a fondo el empleo de BSF para incrementar la confiabilidad entre los usuarios finales/agricultores (Kumar *et al.*, 2016).

Hay pocos estudios de BSF aisladas de suelos calcáreos con altas cantidades de carbonato de calcio. Los suelos calcáreos presentan condiciones de estrés para el crecimiento de BSF y son uno de los mayores tipos de suelo para la producción de cultivos en el mundo (Liu *et al.*, 2015).

Muchos nuevos aislamientos de BSF han atraído la atención de los agricultores para mejorar el crecimiento y rendimiento de los cultivos. Sin embargo, la eficacia en campo de estos biofertilizantes está restringida en algún momento principalmente debido a la competencia en la rizósfera y la supervivencia que varía en diferentes condiciones del suelo (Kumar and Mishra, 2016).

2.2.6 Impacto de los fertilizantes

Fertilizantes fosfatados son frecuentemente aplicados particularmente en suelos agrícolas para superar la limitación de P. Desafortunadamente, la mayoría de los fertilizantes fosfatados pueden ser inmovilizados por Ca^{2+} , Fe^{3+} y Al^{3+} que conducen a la rápida formación de fosfatos insolubles

después de su aplicación, por ello, sólo del 5 al 30% del fertilizante fosfatado aplicado a los suelos es recuperado por las plantas (Wei *et al.*, 2018).

Las actividades antropogénicas y el uso indiscriminado de productos químicos en forma de fertilizantes y pesticidas causan un gran impacto sobre la fertilidad del suelo, la diversidad e incluso sobre la salud de los animales y humanos. Por otra parte, la producción de fertilizantes y pesticidas en sí mismo está dando lugar a problemas tales como la emisión de gases de efecto invernadero y contaminación ambiental (Kumar and Mishra, 2016). La producción de fertilizantes está basada en procesos químicos de fosforo mineral insoluble (mineral de alto grado) tratándolos con ácido sulfúrico a altas temperaturas lo que resulta en un proceso es ambientalmente indeseable y costoso (Yadav *et al.*, 2017).

Las reservas de roca fosfórica extraíble para la producción de fertilizantes inorgánicos, son relativamente pequeños (reservas mundiales actuales estimadas en 260 mil millones de toneladas, principalmente en el norte de África) (Nobahar *et al.*, 2017). Además, las reservas de P se están agotando, algunos estudios afirman que, con las tasas de extracción actuales, las reservas mundiales de fosfato comercial se agotarán en 50-100 años y no habrá reservas en el suelo. Es una amenaza potencial para la producción sostenible de cultivos (Balemi and Negisho, 2012).

2.3 Literatura citada

- Acevedo, E., T. Galindo-Castañeda., F. Prada., M. Navia., H. M. Romero. 2014. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Colombia. *Applied Soil Ecology*. 80: 26-33.
- Aguirre, D., L. Eguiarte. 2013. Genetic diversity, conservation and sustainable use of Wilde *Agave cupreata* and *Agave potatorum* extracted for mezcal production in Mexico. *Journal of Arid Enviroments*. 90: 36-44.
- Anzuay, M. S., M. G. Ruiz., L. Mercedes., J. G. Angelini., G. Barros., N. Pastor., Tania Taurian. 2017. Growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants by single and mixed cultures of efficient phosphate solubilizing bacteria that are tolerant to abiotic stress and pesticides. *Microbiological Research*. 199: 98-109.
- Awais, M., M. Tariq., A. Ali., Q. Ali., A. Khan., B. Tabassum., I. N. Ahmad., T. Husnain. 2017. Isolation, characterization and their and inter-relationship of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of sugarcane and rice. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 11: 312-321.
- Balemi, T., K. Negisho. 2012 Management of soil phosphorus and plant adaptation mechanisms to phosphorus stress for sustainable crop production: a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 12 (3): 547-561.
- Bashan Y., A. Rojas., M.E. Puente. 1999. Improved establishment and development of three cactus species inoculated with *Azospirillum brasilense* transplanted into disturbed urban desert soil. *Candian Journal Microbiology*. 45:441–451.
- Bautista-Cruz, A., R. Carrillo-González., M. R. Arnaud-Viñas, C. Robles and F. de León-González. 2007. Soil fertility properties on *Agave angustifolia* Haw. plantations. *Soil and Tillage Research*. 96: 342-349.
- Bautista-Cruz, A., V. Martínez-Gallegos., L. Martínez-Martínez and G. Martínez-Gutiérrez. 2015. Effect of Phosphate Solubilizing Bacteria on the Growth of *Agave angustifolia* Haw. (Maguey Espadín). *Pakistan Journal a Botany*. 47 (3): 1033-1038.

- Bhattacharyya, P. N. and D. K. Jha. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal Microbiol Biotechnology*. 28: 1327-1350
- Cervantes, M. 2002. Plantas de importancia económica en las zonas áridas y semiáridas de México. México: UNAM, Instituto de Geografía. [Versión electrónica]. Recuperado de: URL (<https://books.google.com.mx>). 73: 63-66.
- Chagoya-Méndez, V. 2004. Diagnóstico de la cadena productiva del sistema producto maguey mezcal. SAGARPA. SEDAF. COMMAC. 206.
- Chávez-Ambriz, LL. A., A. Hernández-Morales., J. A. Cabrera-Luna., L. Luna-Martínez., J. R. Pacheco-Aguilar. 2016. Aislados de *Bacillus* provenientes de la rizósfera de cactus incrementan la germinación y la floración en *Mammillaria* spp. (Cactaceae). *Revista Argentina de Microbiología*. 48 (4): 333-341.
- COMERCAM. 2015. (Consejo Mexicano Regulador de la calidad del Mezcal). Informe de actividades.
- Espinosa, P. H., V. C. Arredondo., G. M.A. Cano., L.A. Canseco., Q. F. Vásquez. 2002. La materia prima para producir el mezcal Oaxaqueño. Catálogo de la diversidad de agaves. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Centro de Investigación Regional del Pacífico Sur (CIRPS). Campo Experimental Valles Centrales de Oaxaca. Oaxaca.
- García-Mendoza, A. 2007. Los agaves de México. *Ciencias*. Universidad Autónoma de México. 087: 14-23.
- García-Mendoza, A., M. Ordoñez., M. Briones. 2004. Agaváceas. Biodiversidad de Oaxaca. 159-169.
- Goswami, D., J. N. Thakker., P. C. Dhandhukia. 2016. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Soil and Crop Sciences*. 2: 1-19.
- Gouda, S., R G. Kerry., G. Das., S. Paramithiotis., H. S. Shin., J. K. Patra. 2018. Revitalización of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research*. 206: 131-140.

- Gupta, R., V. S. Bisaria., S. Sharma. 2016. Response of rhizospheric bacterial communities of *Cajanus cajan* to application of bioinoculants and chemical fertilizers: A comparative study. *European Journal a Soil Biology*. 75: 107-114.
- Illsey G. C., A. T. Gómez., G. Rivera., M. M. del P. Morales., B. J. García., S. A. Ojeda., R. M. Calzada., N. S. Mancilla. 2005. Conservación in situ y manejo campesino de magueyes mezcaleros. Grupo de Estudios Ambientales AC. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. V028. México D. F.
- Iyer, B., M. S. Rajput., S. Rajkumar. 2017. Effect of succinate on phosphate solubilization in nitrogen fixing bacteria harbouring chick pea and their effect on plant growth. *Microbiological Research*. 202: 43-50.
- Khan M. S. A. Zaidi., P. A. Waini. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganism in sustainable agriculture: a review. *Agronomy for Sustainable Development*. 27: 29-43.
- Kumar, N. A. and J. Mishra. 2016. Prospecting the roles of metabolites and additives in future bioformulations for sustainable agriculture. *Applied Soil Ecology*. 107: 405-407.
- Liu, F. P., H. Q. Liu., H. L. Zhou., Z. G. Dong., X. H. Bai., P. Bai., J. J. Qiao. 2014. Isolated and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from betel nut (*Areca catechu*) and their effects on plant growth and phosphorus mobilization in tropical soils. *Biology and Fertility Soils*. 50: 927-937.
- Liu, Z., Y. C. Li., S. Zhang., Y. Fu., X. Fan., J. S. Patel., M. Zhang. 2015. Characterization of phosphate-solubilizing bacteria isolated from calcareous soils. *Applied Soil Ecology*. 96: 217-224.
- Lopez B.R., C. Tinoco-Ojanguren., M. Bacilio., A. Mendoza., Bashan. 2012. Endophytic bacteria of the rock-dwelling cactus *Mammillaria fraileana* affect plant growth and mobilization of elements from rocks. *Environmental and Experimental Botany*. 81:26–36.
- Lopez, B. R., Y. Bashan., M. Bacilio. 2011. Endophytic bacteria of *Mammillaria fraileana*, an endemic rock-colonizing cactus o the southern Sonoran Desert. *Archives of Microbiology*. 193: 527-541.
- Martínez-Rodríguez, J. del C., M. de la Mora-Amutio., L. A. Plascencia-Correa., E. Audelo-Regalado., F. R. Guardado., E. Hernández-Sánchez., Y. J. Peña-Ramírez., A. Escalante., M. J. Beltrán-García.,

- T. Ogura. 2014. Cultivable endophytic bacteria from leaf bases of *Agave tequilana* and their role as plant growth promoters. *Brazilian Journal of Microbiology*. 45 (4): 1517-8382
- Nobahar, A., M. S. Reza., N. Chalabianlou. 2017. Buffering capacity affects phosphorus solubilization assays in rhizobacteria. *Rhizosphere*. 4: 119-125.
- OEIDRUS, O. e. 2011. *Maguey mezcal, regiones productoras de Oaxaca*. Oaxaca de Juárez.
- Oufdou, K. N. Bechtaoui., A. El Alaoui., L. Benidire., K. Daoui., M. Göttfert. 2016. Symbiotic Rhizobacteria for Improving of the Agronomic Effectiveness of Phosphate Fertilizers. “SYMPHOS 2015” 3rd International Symposium on Innovation and Technology in the phosphate Industry. *Procedia Engineering*. 138: 325-331
- Owen, D., A. P. Williams., G. W. Griffith., P. J. A. Withers. 2015. Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition. *Applies Soild Ecology*. 86: 41-54.
- Panda, B., H. Rahman., J. Panda. 2016. Phosphate solubilizing bacteria from the acidic soils of Eastern Himalayan region and their antagonistic effect on fungal pathogens. *Rhizosphere*. 2: 62-71.
- Pande, A., P. Pandey., S. Mehra., M. Singh., S. Kaushik. 2017. Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the grow of maize. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2: 379-391.
- Park, J. H., N. Bolan., M. Megharaj., R. Naidu. 2011. Isolation of phosphate solubilizing bacteria and their potential for lead immobilization in soild. *Journal of Hazardous Materials*. 185: 829-836.
- Pereira, S. I. A., P. M. L. Castro. 2014. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance *Zea mays* growth in agricultural P-deficient soils. *Ecological Engineering*. 73: 526-535.
- Pérez, H. E., P. M. C. Chávez., H. J. C. Gonzales. 2016. Revisión del agave y el mezcal. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 1: 148-164.
- Puente, M. E., C. Y. Li. Bashan. 2009. Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings. *Environmental and Experimental Botany*. 66:402–408.

- Rodríguez, H. R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol Advances*. 17: 319-339.
- Ruiz, S., L. Adriano., I. Ovando., C. Navarro., M. Salvador. 2011. Biofertilization of micropropagated *Agave tequilana*: Effect on plant growth and production of hydrolytic enzymes. *African Journal of Biotechnology*. 10 (47): 9623-9630.
- Sharpley, A., H. P. Jarvie., A. Buda., L. May., B. Spears., P. Kleinman. 2013. Phosphorus legacy: overcoming the effect of past management practices to mitigate future water quality impairment. *Journal Environmental Quality*. 42: 1308-1326.
- Tilak, K. V. B. R., N. Ranganayaki., K. K. Pal., R. De., A. K. Saxena., C. S. Nautiyal., S. Mittal., A. K. Tripathi., B. N. Johri. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science*. 89: 136-150.
- Torre-Ruiz, N. de la T., V. M. Ruiz-Valdiviezo., C. I. Rincón-Molina., M. Rodríguez-Mendiola., C. Arias-Castro., F. A. Gutiérrez-Miceli., H. Palomeque-Dominguez, R. Rincón-Rosales. 2016. Effect of plant growth-promoting bacteria on the growth and fructan production of *Agave Americana L.* *Brazilian Journal of Microbiology*. 47: 587-596.
- Torres, I., J. Blancas., A. Leon., A. Casas. 2015. TEK, local perceptions of risk, and diversity of management practices of *Agave inaequidens* in Michoacán, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 11(1) 1.
- Viruel, E., L. E. Erazzú., L. Martínez Calsina., M. A. Ferrero., M. E. Lucca., F. Siñeriz. 2014. Inoculation of maize with phosphate solubilizing bacteria: effect on planta growth and yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 14 (4): 819-831.
- Wei, Y., Y. Zhao., M. Shi., Z. Cao., Q. Lu., T. Yang., Y. Fan., Z. Wei. 2018. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresource Technology*. 247: 190-199.
- Yadav, H., R. Fatima., A. Sharma, S. Mathur. 2017. Enhancement of applicability of rock phosphate in alkaline soils by organic compost. *Applied Soil Ecology*. 113: 80-85.

- Zheng, B. X., A. L. Hao., K. Ding., G. W. Zhou., Q. L. Chen., J. B. Zhang., Y. G. Zhu. 2017. Long-Term nitrogen fertilization decreased the abundance of inorganic phosphate solubilizing bacteria in an alkaline soil. *Scientific Reports*. 1- 10.
- Zhu, H., L. L. Sun., Y. Zhang., X. Zhang., J. Qiao. 2012. Conversion of. Spent mushroom substrate to biofertilizer using a stress-tolerant phosphate solubilizing *Pichia farinose* FL7. *Bioresource Technology*. 111: 410-416.
- Zhu, J., M. Li., M. Whelan. 2018. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: A review. *Science of Total Environment*. 612: 522-537.

CAPÍTULO 3. CONSORCIOS BACTERIANOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATOS EN EL DESARROLLO Y CRECIMIENTO INICIAL DE MAGUEY ESPADÍN (*Agave angustifolia* Haw.) EN CONDICIONES DE CAMPO

3.1 INTRODUCCIÓN

Las bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF) tienen la capacidad de solubilizar fosfatos insolubles y ponerlos a disposición de las raíces de las plantas para su absorción. Estas bacterias pueden mineralizar y solubilizar el P de fuentes orgánicas e inorgánicas insolubles respectivamente, y liberar el P de forma soluble a la solución del suelo (Liu *et al.*, 2015; Anzuay *et al.*, 2017). Las BSF constituyen del 1 al 50% de la población total respectiva en el suelo (Chen *et al.*, 2006). Las cepas de géneros bacterianos *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* y *Enterobacter* son las solubilizadoras de fosfato más potentes (Panda *et al.*, 2016; Awais *et al.*, 2017).

El P es uno de los principales macronutrientes esenciales de las plantas que regula la síntesis de proteínas y desempeña una función importante en el desarrollo biológico. Junto con estas funciones esenciales, el P también se asocia con la transducción de señales complejas, la biosíntesis macromolecular, las transformaciones de energía, la respiración y la fijación de nitrógeno (Khan *et al.*, 2010). Aunque la cantidad total de P es alta en muchos suelos, la deficiencia de P es una limitación para el crecimiento de las plantas en todo el mundo debido a su baja disponibilidad en el suelo (Wei *et al.*, 2016). La mayor parte del P presente en el suelo (95-99%) forma parte de un compuesto insoluble y por lo tanto no puede ser utilizado por las plantas (Sharpley *et al.*, 2013). Los compuestos de P en el suelo son altamente reactivos y reaccionan rápidamente con iones de Al^{3+} , Ca^{2+} y Fe^{3+} , que se vuelven cada vez más insolubles en el suelo (Pande *et al.*, 2017). El

principal mecanismo de solubilización de fosfato es la producción de ácidos orgánicos producto del metabolismo microbiano, que da como resultado la disminución del pH en el entorno (Maliha *et al.*, 2004 Goswami *et al.*, 2016). Algunos de los mecanismos alternativos sugeridos son la producción de compuestos quelantes, ácidos inorgánicos, ácidos sulfúrico, nítrico y carbónico (Pande *et al.*, 2017).

En el estado de Oaxaca, al sur de México, se han cultivado aproximadamente 8 422.7 hectáreas con *Agave angustifolia* Haw. por más de 100 años (OIEDRUS, 2011). *A. angustifolia* es coloquialmente referido como “maguey espadín” y es usado como ingrediente básico en la producción de mezcal, una bebida alcohólica tradicional en Oaxaca. Estudios realizados por Bautista-Cruz *et al.* (2007), muestran que en general, los suelos cultivados con *A. angustifolia* son predominantemente calcáreos, con valores altos de pH, pobres en materia orgánica y bajos niveles de P disponible. La precipitación y fijación de P en el suelo es altamente dependiente del pH y del tipo de suelo, las características de los suelos cultivados con maguey espadín sugieren que el P probablemente es fijado por el ión calcio, formando fosfatos de calcio insolubles (Alia *et al.*, 2013). En la actualidad existen pocos estudios de BSF aisladas de suelos calcáreos con altas cantidades de carbonato de calcio (Liu *et al.*, 2015). Los suelos calcáreos presentan condiciones de estrés para el crecimiento de BSF y son uno de los mayores tipos de suelo para la producción de cultivos en el mundo (Duarah *et al.*, 2011). Bautista-Cruz *et al.* (2015) reportaron que el empleo de BSF nativas puede promover el crecimiento e incrementar la disponibilidad de P para las plantas de *A. angustifolia* bajo condiciones semicontroladas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre la disponibilidad de fósforo y la actividad de fosfatasa (ácida y alcalina) en el suelo, crecimiento y desarrollo de plantas de 2-3 años de *Agave angustifolia* Haw. en condiciones de campo.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Área de estudio

El área de estudio se localiza en las áreas agaveras de Ejutla de Crespo, Oaxaca (México) a los $16^{\circ} 69' N$ y $96^{\circ} 71' W$ (Figs. 1 y 2), la precipitación media anual es de 675.7 mm (INEGI, 2005). Los principales tipos de suelo son Cambisoles, Luvisoles y Regosoles con una altitud de 1545 m. La temperatura media anual varía entre los 15.9 a 22.9 $^{\circ}C$. Presenta un clima seco extremoso tipo Ganges canícula (Clave climática: BS1hw(w)(e)gw”). Los datos climáticos se obtuvieron de la estación climatológica número 20202 “Santa Ana Tlapacoyan” del Servicio Meteorológico Nacional, la cual se ubica a una distancia de 11.7 km de la zona de estudio. Se utilizó la clasificación climática de García (1988).

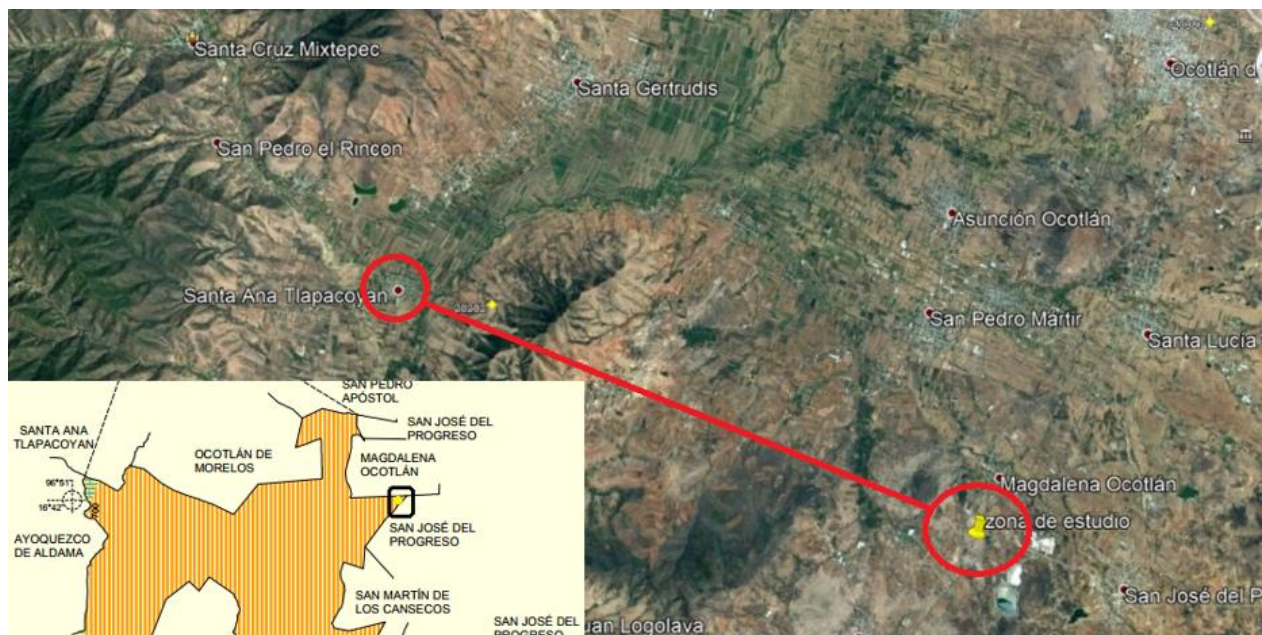


Figura 1. Ubicación del sitio de estudio. Los círculos rojos indican la interpolación del sitio de estudio y la estación climatológica número 20202 Tlapacoyan del “servicio meteorológico nacional”.



Figura 2. Sitio experimental localizado en Ejutla de Crespo, Oaxaca (México).

3.2.2 Obtención de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato

Los consorcios BSF usados en este estudio se seleccionaron: i) por su eficiente capacidad solubilizadora de fosfato tricálcico *in vitro*, la cual se determinó cuantitativamente mediante la cantidad de P solubilizado, la producción de ácidos orgánicos y el cambio en el pH del filtrado del cultivo bacteriano y, ii) por su efecto positivo en el desarrollo y crecimiento de *Agave angustifolia* Haw. bajo condiciones semi-controladas. Las cepas bacterianas empleadas en la preparación de estos coinóculos se aislaron de suelos semiáridos cultivados con *A. angustifolia* en el distrito de Tlacolula, Oaxaca, México (Martínez-Gallegos *et al.*, 2018) y pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* y *Bacillus*.

La reactivación de estas cepas se realizó mediante siembra masiva en medio selectivo agar Sundara Rao y Sinha (SRS) (Sundara y Sinha, 1963) y se verificó su pureza mediante tinción de Gram.

Para evaluar el efecto de la inoculación de las BSF sobre el crecimiento y desarrollo de *A. angustifolia* se prepararon consorcios bacterianos compuestos por dos cepas de BSF diferentes. En la obtención del pre-coinóculo se tomó 1 ml de cultivo bacteriano de cada cepa solubilizadora de fosfato no antagónica y se inoculó conjuntamente en caldo nutritivo. De cada pre-coinóculo se tomaron 5 ml y se inocularon en caldo nutritivo para posteriormente incubarse a 30 °C y 150 rpm durante 48 h en una incubadora-agitadora. Transcurrido el tiempo de incubación el pre-coinóculo se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 min. El pellet celular obtenido se diluyó con solución salina estéril (SSE) a una concentración aproximada de 15×10^8 UFC ml⁻¹ de acuerdo con la escala de McFarland. Los consorcios utilizados se describen en el Cuadro 1. Se obtuvieron tres consorcios BSF y aparte se utilizó una cepa individual comercial de *Pseudomonas putida*.

Cuadro 1. Tratamientos bioinoculantes de cepas nativas de bacterias solubilizadoras de fosfatos inoculadas en *Agave angustifolia* Haw. en condiciones de campo.

Tratamiento	Cepas bacterianas
T1	<i>Pseudomonas</i> sp. 1 + <i>Enterobacter</i> sp. 1
T2	<i>Pseudomonas</i> sp. 1 + <i>Bacillus</i> sp.
T3	<i>Pseudomonas</i> sp. 1 + <i>Acinetobacter</i> sp.
T4	<i>Pseudomonas putida</i>
Control	Sin inóculo

3.2.3 Obtención de hijuelos rizomatosos de plantas de *A. angustifolia*

Los hijuelos rizomatosos se obtuvieron de plantas de 7-9 años de *A. angustifolia* de un cultivo establecido en el Distrito de Tlacolula, Oaxaca (Fig. 3). Se seleccionaron hijuelos rizomatosos que presentaron características similares en edad (aproximadamente 1 año), altura y libres de plagas y enfermedades., a los cuales se les eliminó la raíz, dejando únicamente el rizoma. Las plantas se dejaron 5 días en un invernadero para su secado y cicatrización. Posteriormente se sembraron en almacigo (Fig. 4), se regaron durante dos meses hasta la formación de raíces nuevas.



Figura 3. Colecta de hijuelos rizomatosos de *Agave angustifolia* de un cultivo establecido en el Distrito de Tlacolula, Oaxaca (México).



Figura 4. Almacigo de hijuelos rizomatosos de *Agave angustifolia*.

El muestreo para la caracterización del suelo antes del establecimiento del experimento se realizó a una profundidad de 0-20 cm, se colectó una muestra de suelo en el centro del terreno y cuatro más en las esquinas. Las muestras de suelo se colocaron en bolsas de polietileno de 1 kg y se mantuvieron a una temperatura de 4-5 °C. Las características físicas y químicas del suelo evaluadas se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo utilizado en el experimento y su clasificación de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 (DOF, 2002).

Características	Valor	Valor de referencia
pH	8.2	7.4-8.5 Medianamente alcalino
Materia orgánica (%)	1.25%	0.6-1.5 Contenido bajo
Fosforo extraíble (mg kg ⁻¹)	1.65 mg kg ⁻¹	< 5.5 mg kg ⁻¹ baja disponibilidad
Nitrógeno total (%)	0.092%	0.05-0.10 Contenido bajo
Textura (arena-limo-arcilla)	81.68%-8.0%-10.32%	Franco arenoso

3.2.4. Desarrollo experimental

El experimento se realizó en condiciones de campo abierto bajo un diseño completamente al azar, con cinco tratamientos y 25 repeticiones para cada uno. Las raíces de los hijuelos de *A. angustifolia* se lavaron con abundante agua estéril para eliminar el suelo adherido, se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio al 0.624 % por cinco minutos, posteriormente se lavaron con agua destilada estéril y se trasplantaron a una parcela experimental de 500 m². Las plantas de *A. angustifolia* se distribuyeron en 25 columnas, separadas por dos metros de distancia, y cinco filas

con dos surcos de separación (120 cm) (Fig. 5). Se aplicaron 100 ml de coinóculo BSF a cada una de las plantas al momento del trasplante y 6 meses después. El cultivo se mantuvo en condiciones de temporal durante los 12 meses del periodo experimental.



Figura 5. Establecimiento del experimento en campo abierto.

3.2.5 Variables respuesta

Las variables biométricas de respuesta evaluadas bimensualmente fueron i) altura de la planta (AP) la cual se midió con un flexómetro, se tomó como inicio la base de la hoja de la planta de *A. angustifolia* hacia la parte superior, ii) Número de hojas desplegadas (NHD) contando de manera visual. El diámetro del tallo (DT) se midió al inicio y a los 12 meses al final del experimento, para ello se utilizó un vernier digital. Al finalizar el periodo de evaluación se determinó el contenido de

sólidos solubles (°Brix) en el tallo con ayuda de un refractómetro de mano, peso fresco (PFH) y seco de hojas (PSH), peso fresco (PFR) y seco de raíces (PSR), y el contenido de P foliar por el método vanadato molibdato amarillo (Cottenie, 1984). Así mismo, se determinó en suelo rizosférico al inicio, a los 6 meses y al final del experimento el pH, el contenido de P disponible, el cual se extrajo con una solución de NaHCO_3 0.5 M ajustada a pH 8.5 siguiendo el método modificado de Murphy-Riley (Olsen and Sommers, 1982). La actividad de fosfatasa tanto ácida como alcalina se determinó mediante la cuantificación espectrofométrica del p-nitrofenol liberado en 1 g de suelo incubado a 37 °C por 1 h con una disolución tamponada (pH 6.5 para la fosfatasa ácida y pH 11.0 para la alcalina) de p-nitrofenilfosfato, siguiendo el método descrito por Tabatabai and Bremner (1969).

3.2.6 Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y a una prueba de comparación de medias (Tukey $p \leq 0.05$). Los datos registrados fueron transformados por raíz cuadrada. Previo al análisis de varianza se determinó la homogeneidad de varianza y la normalidad de los datos a través de la prueba Shapiro-Wilk. El análisis estadístico se realizó empleando el paquete (Rcmdr) del software R Project 3.3.4.

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1 Evaluación del efecto de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de *Agave angustifolia* Haw.

Con respecto al control, se observó un efecto significativo de los consorcios BSF sobre las siguientes variables: AP, PFH, PSH, DT, PT, PSR y °Brix. El resto de las variables analizadas no tuvieron una respuesta significativa a la aplicación de consorcios BSF.

Con respecto al control el T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.) incrementó 22.98% la altura de la planta, 183.75% el peso fresco de las hojas, 391.44% el peso seco de las hojas, 49.61% el diámetro del tallo, 213.65% el peso fresco del tallo y 193.98% el peso seco de raíces. El efecto positivo de los consorcios BSF en el desarrollo y crecimiento de *A. angustifolia* se puede atribuir (i) a la capacidad de las BSF para mejorar la disponibilidad de nutrientes, particularmente de P (Martínez-Rodríguez *et al.*, 2014; (ii) a la producción de hormonas del crecimiento vegetal como auxinas y giberelinas, con lo cual le proporcionan a la planta condiciones necesarias para su desarrollo y crecimiento (Sariah *et al.*, 2012).

Similarmente, Ruiz *et al.* (2011) reportaron que al inocular cepas bacterianas endófitas solubilizadoras de fosfato a las raíces de *Agave tequilana* Weber var. Azul, se observó un aumento significativo en la AP. De igual forma Angulo *et al.* (2014) inocularon cepas bacterianas rizosféricas solubilizadoras de fosfato sobre plántulas de *Eucalyptus nitens* y detectaron un aumento de hasta 50% en la AP, 89% en PSH y 98% en PSR con respecto a plantas control no inoculadas.

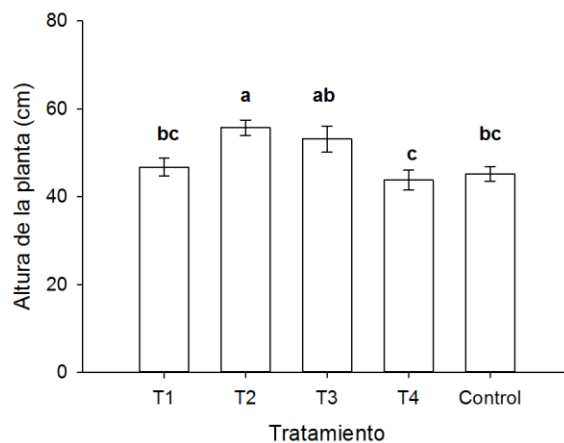


Figura 6. Efecto de la inoculación de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre la altura de la planta de *Agave angustifolia* Haw. T1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1), T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.) T3 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Acinetobacter* sp.), T4 (*Pseudomonas putida*), control (sin inocular). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($p \leq 0.05$ Tukey). Las barras representan el error estándar.

Por su parte, Bautista-Cruz *et al.* (2015) bajo condiciones de invernadero inocularon plantas de *A. angustifolia* con algunas cepas BSF utilizadas en este estudio (*Enterobacter* sp. 1, *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. y *Acinetobacter* sp.) y observaron un incremento de 12.1% en la biomasa aérea seca, 13.6% en el DT y 11.6% en el PSR con respecto a las plantas de *A. angustifolia* sin inocular.

Torre-Ruiz *et al.* (2016) reportaron que la inoculación de plantas de *Agave americana* con cepas promotoras del crecimiento vegetal como *Acinetobacter calcoaceticus* y *Pseudomonas mosselii* aisladas de la rizósfera de este agave, tuvieron un efecto significativo en el peso seco de la planta y DT en comparación con las plantas de agave sin inocular.

Teixeira *et al.* (2007) encontraron incrementos de hasta 223% en la biomasa de raíces de *Eucalyptus* spp. con una cepa de *Bacillus subtilis*. Días *et al.* (2009) observaron un incremento de 168% en la biomasa de raíces de *Eucalyptus globulus* al ser tratadas con *Bacillus Mycoides* (C2T18).

Lopez *et al.* (2012) encontraron que la inoculación con bacterias endofitas solubilizadoras de fosfato en plantas de *Mammillaria fraileana* incrementó el peso seco, y que éste fue mayor en los cactus inoculados con *Enterobacter sakazakii* M2PFe. Santos *et al.* (2013) aislaron bacterias solubilizadoras de fosfato de la rizósfera de plantas de *Agave sisalana* y probaron su potencial para promover el crecimiento en plantas de pepino, encontraron un efecto significativo sobre el crecimiento y biomasa de la raíz de las plantas de pepino, que aumentó hasta en un 95% y 48%, respectivamente.

Puente *et al.* (2009) inocularon semillas de un cactus *Pachycereus pringlei* de lento crecimiento con bacterias endófitas solubilizadoras de fosfato *Klebsiella* sp. SENDO 2, *Acinetobacter* sp. SENDO 1, y *Bacillus* sp. SENDO 6, y como control utilizaron *Pseudomonas* sp. SENDO2 y encontraron que la aplicación de las BSF en cualquier combinación de consorcios promovió un efecto significativo en el crecimiento y la cepa control individual tuvo la misma tendencia de crecimiento que las BSF.

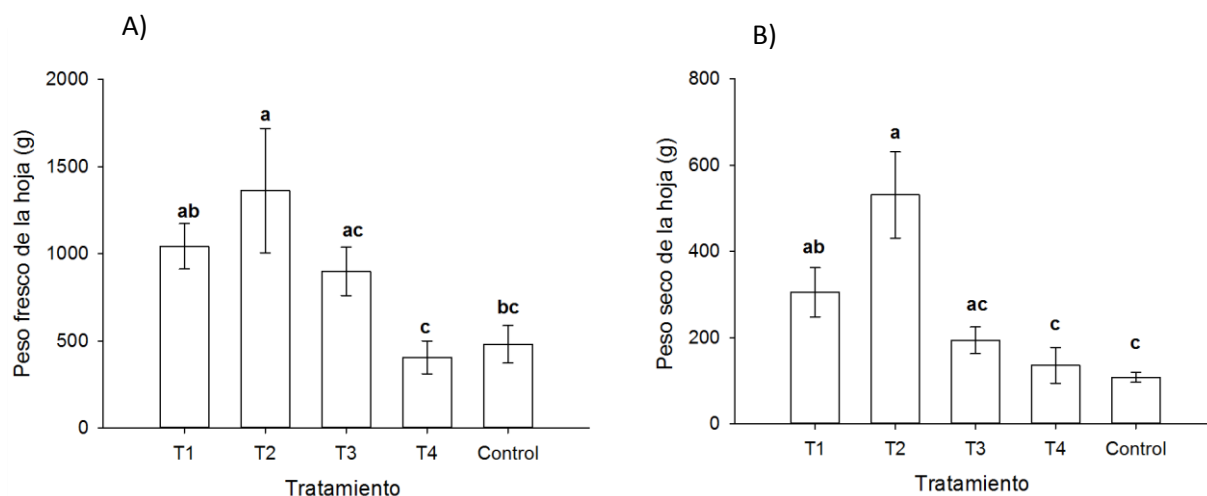


Figura 7. Efecto de la inoculación de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre A) Peso fresco de la hoja y B) peso seco de hoja de *Agave angustifolia* Haw. T1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1), T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.), T3 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Acinetobacter* sp.), T4 (*Pseudomonas putida*), control (sin inocular). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($p \leq 0.05$ Tukey). Las barras representan el error estándar.

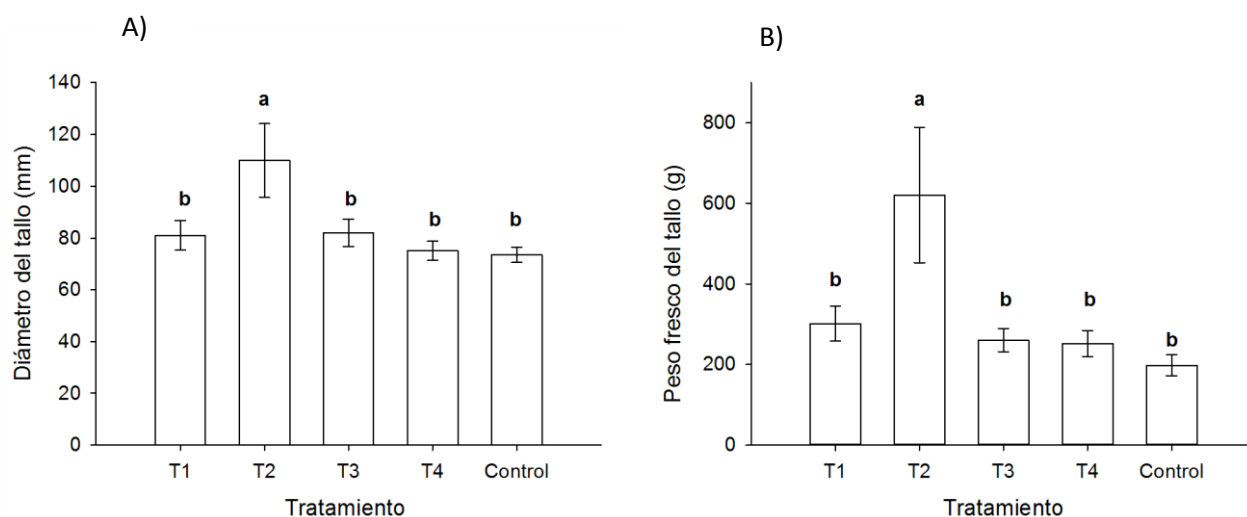


Figura 8. Efecto de la inoculación de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre A) diámetro del tallo y B) peso fresco del tallo de *Agave angustifolia* Haw. T1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1), T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.), T3 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Acinetobacter* sp.), T4 (*Pseudomonas putida*), control (sin inocular). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($p \leq 0.05$ Tukey). Las barras representan el error estándar.

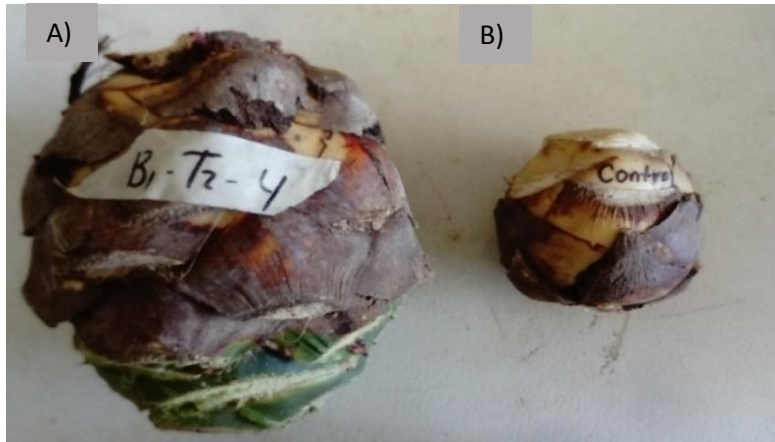


Figura 9. Efecto de la inoculación de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre el diámetro del tallo de *Agave angustifolia* Haw., A) con *Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp. y B) control sin inocular.

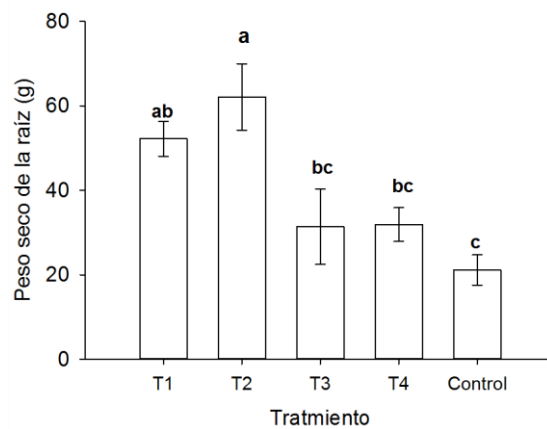


Figura 10. Efecto de la inoculación de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre el peso seco de la raíz de *Agave angustifolia* Haw. T1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1), T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.), T3 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Acinetobacter* sp.), T4 (*Pseudomonas putida*), control (sin inocular). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($p \leq 0.05$ Tukey). Las barras representan el error estándar.

Los °Brix registraron el valor más alto con el T1 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Enterobacter* sp. 1), los cuales incrementaron 50% con respecto al control (Fig. 11). Resultados similares fueron encontrados por Torre-Ruiz *et al*, (2016) aislaron cepas bacterianas solubilizadoras de fosfato *Rhizobium daejeonense*, *Acinetobacter calcoaceticus* y *Pseudomonas mosselii* de la rizósfera de *Agave americana*, y probaron su potencial en plántulas de *A. americana* estas cepas tuvieron un

efecto positivo sobre contenido de azúcar en comparación con plantas control sin inocular de *A. americana*.

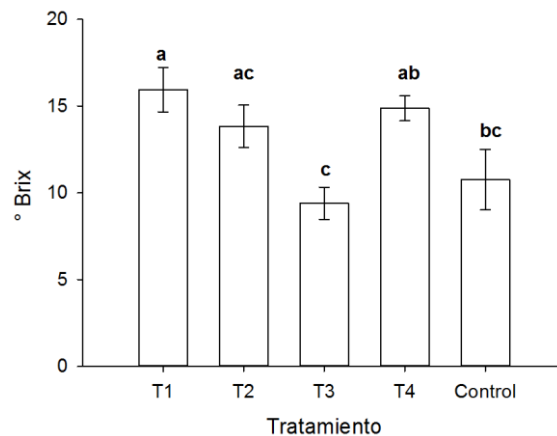


Figura 11. Efecto de la inoculación de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre los °Brix en el tallo de *Agave angustifolia* Haw. T1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1), T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.), T3 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Acinetobacter* sp.), T4 (*Pseudomonas putida*), control (sin inocular). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($p \leq 0.05$ Tukey). Las barras representan el error estándar.

3.3.2 Efecto de los consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre la actividad enzimática de la fosfatasa ácida y alcalina en la rizósfera de *Agave angustifolia* Haw.

La fosfatasa alcalina no respondió significativamente a la aplicación de los consorcios BSF. La actividad de esta enzima fue diferente durante los 12 meses de evaluación del experimento. En el mes número 12 se registró la actividad más alta de esta enzima (Fig. 12). La fosfatasa ácida respondió significativamente a la aplicación de los consorcios BSF. Con respecto al control, la actividad de esta enzima aumentó 20.37% con el T3, 14.81% con el T4 y 11.11% con el T1 (Fig. 13 A). La actividad de esta enzima se incrementó durante los 12 meses que duró el periodo de evaluación del experimento (Fig. 13 B).

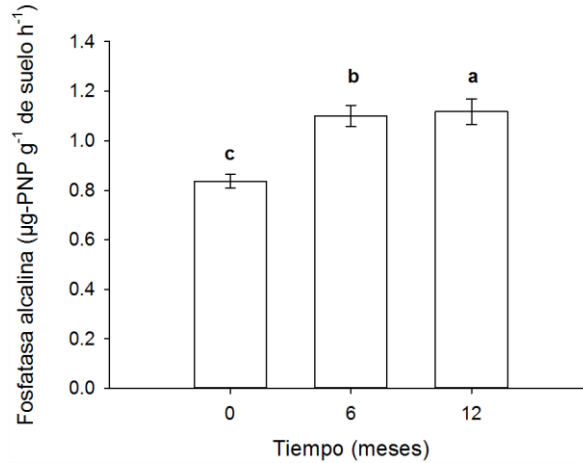


Figura 12. Efecto de la inoculación de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre la actividad de fosfatasa alcalina en la rizósfera de *Agave angustifolia* Haw. durante 12 meses de evaluación en condiciones de campo. T1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1), T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.), T3 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Acinetobacter* sp.), T4 (*Pseudomonas putida*), control (sin inocular). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($p \leq 0.05$ Tukey). Las barras representan el error estándar

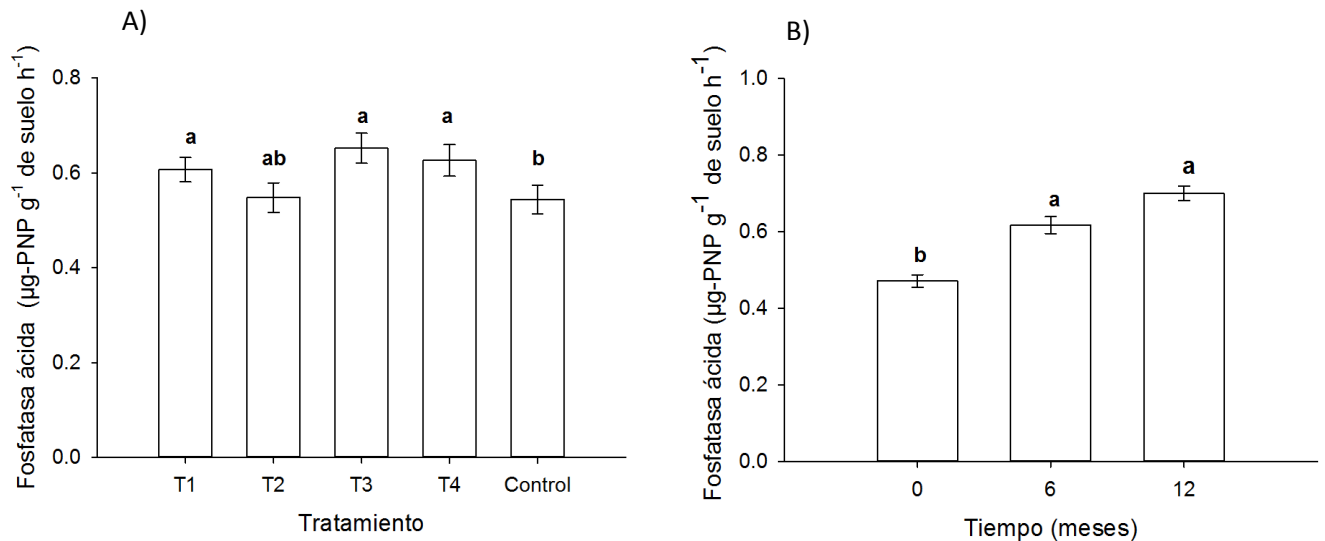


Figura 13. Efecto de la inoculación de consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato sobre la actividad de fosfatasa ácida en la rizósfera de *Agave angustifolia* Haw. durante 12 meses de evaluación en condiciones de campo. T1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1), T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.), T3 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Acinetobacter* sp.), T4 (*Pseudomonas putida*), control (sin inocular). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos ($p \leq 0.05$ Tukey). Las barras representan el error estándar.

Durante la aplicación en campo de BSF es recomendable evaluar el efecto de estos microorganismos introducidos artificialmente sobre la microflora autóctona edáfica, así como de otros procesos que contribuyen al estado nutricional del suelo (Gupta *et al.*, 2016). La eficacia en campo de estos bioinoculantes podría estar restringida debido a la competencia con la microflora autóctona y a su tasa de supervivencia, la cual puede variar dependiendo de las condiciones del suelo (Kumar *et al.*, 2016). Las plantas de agave tienen un crecimiento lento, son plantas de ciclo largo, por lo cual, es probable que los bioinoculantes puedan tardar en mostrar efectos positivos sobre el desarrollo y crecimiento de estas plantas (Ruiz *et al.* 2011).

3.4 Conclusiones

La inoculación de plantas de *Agave angustifolia* Haw. con consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato tuvo un efecto positivo sobre su crecimiento y desarrollo en condiciones de campo. Con respecto al control el T2 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Bacillus* sp.) incrementó la altura de la planta, el peso fresco y seco de las hojas, el diámetro del tallo, el peso fresco del tallo y el peso seco de raíces. T1 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Enterobacter* sp. 1) aumentó los °Brix en el tallo. La fosfatasa ácida también respondió significativamente a la aplicación de los consorcios bacterianos solubilizadores de fosfato. La mayor actividad de esta enzima se registró con el T3 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Acinetobacter* sp.), seguida del T4 (*Pseudomonas putida*) y T1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1). Las plantas de agave son plantas de ciclo largo, por lo cual, se sugiere confirmar el efecto positivo de estos bioinoculantes en la planta por un periodo mayor a 12 meses.

3.5 Literatura citada

- Alia, A.A., N.K. Shahida, J. Bushra., A.A. Saeed. 2013. Phosphate solubilizing bacteria associated with vegetables roots in different ecologies. *Pakistan Journal of Botany*. 45: 535–544
- Angulo, C. V., E. A. Sanfuentes., F. Rodríguez., K. E. Sossa. 2014. Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. *Revista Argentina de Microbiología*. 46 (4): 338-347.
- Anzuay, M. S., M. G. Ruiz., L. Mercedes., J. G. Angelini., G. Barros., N. Pastor., Tania Taurian. 2017. Growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants by single and mixed cultures of efficient phosphate solubilizing bacteria that are tolerant to abiotic stress and pesticides. *Microbiological Research*. 199: 98-109.
- Awais, M., M. Tariq., A. Ali., Q. Ali., A. Khan., B. Tabassum., I. N. Ahmad., T. Husnain. 2017. Isolation, characterization and their and inter-relationship of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of sugarcane and rice. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 11: 312-321.
- Bautista-Cruz, A., R. Carrillo-González., M. R. Arnaud-Viñas, C. Robles and F. de León-González. 2007. Soil fertility properties on *Agave angustifolia* Haw. plantations. *Soil and Tillage Research*. 96: 342-349.
- Bautista-Cruz, A., V. Martínez-Gallegos., L. Martínez-Martínez and G. Martínez-Gutiérrez. 2015. Effect of Phosphate Solubilizing Bacteria on the Growth of *Agave angustifolia* Haw. (Maguey Espadín). *Pakistan Journal a Botany*. 47 (3): 1033-1038.
- Chen, Y., P. Rekha., A. Arun., F. Shen., W. A. Lai., C. Young. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*. 34: 33-41.
- Cottenie, A. (1984). Los análisis de suelos y de plantas como base para formular recomendaciones sobre fertilizantes. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Suelos. Roma, Italia: Boletín de suelo de la FAO.

- Días, K. C. Valiente., M. Martínez., M. Castillo., E. Sanfuentes. 2009. Root-promoting rhizobacteria in *Eucalyptus globulus* cuttings. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25: 867-873.
- Duarah, I., M. Deka., N. Zaikai., H. P. Boruah. 2011. Phosphate solubilizers enhance NPK fertilizer use efficiency in rice and legume cultivation. *Three Biotechnology*. 1:227-238.
- García, A. E. 1988. Modificaciones al Sistema de clasificación climática de Köppen. (Para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 4^{ta} edición. Offset Larios S. A. México D. F.
- Goswami, D., J. N. Thakker., P. C. Dhandhukia. 2016. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Soil and Crop Sciences*. 2: 1-19.
- Gupta, R., V. S. Bisaria., S. Sharma. 2016. Response of rhizospheric bacterial communities of *Cajanus cajan* to application of bioinoculants and chemical fertilizers: A comparative study. *European Journal a Soil Biology*. 75: 107-114.
- INEGI. 2005. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Heroica Ciudad de Ejutla de Crespo, Oaxaca.
- Khan, M. S., A. Zaidi., M. Ahemad., M. Oves., P. A. Wani. 2010. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi current perspective. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 56: 73-98.
- Kumar, N. A. and J. Mishra. 2016. Prospecting the roles of metabolites and additives in future bioformulations for sustainable agriculture. *Applied Soil Ecology*. 107: 405-407.
- Liu, Z., Y. C. Li., S. Zhang., Y. Fu., X. Fan., J. S. Patel., M. Zhang. 2015. Characterization of phosphate-solubilizing bacteria isolated from calcareous soils. *Applied Soil Ecology*. 96: 217-224.
- Lopez B.R., C. Tinoco-Ojanguren., M. Bacilio., A. Mendoza., Y. Bashan. 2012. Endophytic bacteria of the rock-dwelling cactus *Mammillaria fraileana* affect plant growth and mobilization of elements from rocks. *Environmental and Experimental Botany*. 81:26–36.
- Maliha, R., K. Samina., A. Najma., A. Sadia., L. Farooq. 2004. Organic acids production and phosphate solubilizing microorganisms under in vitro conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 7: 187-196.

- Martínez-Gallegos, V., A. Bautista-Cruz., L. Martínez-Martínez., P. S. Sánchez-Medina. 2018. First report of phosphate-solubilizing bacteria associated with *Agave angustifolia*. *International Journal of Agriculture & biology*. 20: 1298-1302.
- Martínez-Rodríguez, J. del C., M. de la Mora-Amutio., L. A. Plascencia-Correa., E. Audelo-Regalado., F. R. Guardado., E. Hernández-Sánchez., Y. J. Peña-Ramírez., A. Escalante., M. J. Beltrán-García., T. Ogura. 2014. Cultivable endophytic bacteria from leaf bases of *Agave tequilana* and their role as plant growth promoters. *Brazilian Journal of Microbiology*. 45 (4): 1517-8382.
- OEIDRUS, O. e. 2011. *Maguey mezcal, regiones productoras de Oaxaca*. Oaxaca de Juárez.
- Panda, B., H. Rahman., J. Panda. 2016. Phosphate solubilizing bacteria from the acidic soils of Eastern Himalayan region and their antagonistic effect on fungal pathogens. *Rhizosphere*. 2: 62-71.
- Pande, A., P. Pandey., S. Mehra., M. Singh., S. Kaushik. 2017. Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the grow of maize. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2: 379-391.
- Puente, M. E., C. Y. Li., Y. Bashan. 2009. Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings. *Environmental and Experimental Botany*. 66:402–408.
- Ruiz, S., L. Adriano., I. Ovando., C. Navarro., M. Salvador. 2011. Biofertilization of micropropagated *Agave tequilana*: Effect on plant growth and production of hydrolytic enzymes. *African Journal of Biotechnology*. 10 (47): 9623-9630.
- Santos A.F.J., C.Y.S. Martins, P.O. Santos., E. B. Correa., H. R. Barbosa., A. P. S. Sandoval., L. M. Olivera., J. T. de Souza., A. C. F. Soares. 2014. Diazotrophic bacteria associated with sisal (*Agave sisalana* Perrine ex Engelm): potential for plant growth promotion. *Plant and Soil*. 385: 37-48.
- Sariah, M., O. Sariam., O. Radziah., M. A. Zainal Abidin, 2012. Rice seed bacterization for promoting germination and seedling growth under aerobic cultivation system. *Australian Journal of Crop Science*. 6:(1): 170-175.
- Sharpley, A., H. P. Jarvie., A. Buda., L. May., B. Spears., P. Kleinman. 2013. Phosphorus legacy: overcoming the effect of past management practices to mitigate future water quality impairment. *Journal Environmental Quality*. 42: 1308-1326.

- Sundara, R., & Shina, M. (1969). Phosphate dissolving micro organisms in the soil and rhizosphere Indian. *Journal of agricultural* (1), 301-307.
- Tabatabai, M. A., & Bremner, J. M. (1969). Use of p nitrophenylphosphate for assay of phosphatase activity. *Soil Biology & Biochemistry* (1), 301-307.
- Teixeira, A. D., A. Couto., R. Goncalves., E. M. Ferreira., L. de Siqueira., L. A. Maffia., A. H. Munteer. 2007. Promoción de Rhizobacterium de enraizamiento y crecimiento de eucalipto. *Revista Brasileña de Microbiología*. 38: 118-123.
- Torre-Ruiz, N. de la T., V. M. Ruiz-Valdiviezo., C. I. Rincón-Molina., M. Rodríguez-Mendiola., C. Arias-Castro., F. A. Gutiérrez-Miceli., H. Palomeque-Dominguez, R. Rincón-Rosales. 2016. Effect of plant growth-promoting bacteria on the growth and fructan production of *Agave Americana L.* *Brazilian Journal of Microbiology*. 47: 587-596.
- Wei, Y., Y. Zhao., H. Wang., Q. Lu., Z. Cao., H. Cui., L. Zhu., Z. Wei. 2016. An optimized regulating method for composting phosphorus fractions transformation based on biochar addition and phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresource Technology*. 221: 139-146.