

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA EDUCATIVO DE BIOINGENIERÍA



BACTERIAS RIZOSFÉRICAS Y SU FUNCIÓN EN LA TOLERANCIA A LA
SALINIDAD Y ESTRÉS HÍDRICO EN AVENA, CEBADA Y TRIGO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIOINGENIERA PRESENTA:

KARYME ANDREA LEPE TERRAZAS

DIRECTOR DE TESIS

DR. FERNANDO AMÍLCAR SOLÍS DOMÍNGUEZ

CO-DIRECTORA DE TESIS

DRA. ASENETH HERRERA MARTÍNEZ

Mexicali, B.C. a 09 de junio de 2025.

Dedicatoria

A mis padres, Luis Arcadio Lepe Rodríguez y Elizabeth Terrazas Díaz, mis pilares fundamentales, no hay palabras suficientes para demostrar el amor, respeto y gratitud que les tengo, pero dedicarles este primer gran logro, que es también suyo, espero que les llene de orgullo tanto como a mí me honra ser su hija. Su ayuda constante, sus enseñanzas y la confianza que siempre han depositado en mí han sido esenciales para alcanzar esta meta. Sin ustedes, nada de esto habría sido posible.

A la memoria de mi abuela Manuela, a quien recuerdo y extraño cada día. Estoy segura que de estar presente celebrarías este triunfo como propio, porque lo es. Sé que desde el cielo me cuidas y celebras a lo grande.

A mis hermanos Martha y José Luis, quienes me enseñaron el valor del esfuerzo y la perseverancia, sin proponérselo. Aunque a veces lo nieguen, sé que estarían dispuestos a darlo todo por mí, incluso un riñón, sin pensarlo dos veces.

A mi pareja Juan Pablo, por estar a mi lado en cada uno de mis proyectos, por levantarme cuando sentía que no podía continuar y por ser mi lugar seguro en todo momento. Sin tí, tu amor y apoyo incondicional, nada habría sido igual.

A mi amiga Nova, por estar en las buenas, en las malas y las peores, quien hizo mi vida universitaria un poco más llevadera.

A mi director de tesis, el Dr. Solís, por confiar en mí para este proyecto y guiarme en el camino de la investigación; su ejemplo es y será siempre una fuente de inspiración para mí.

Y a todos aquellos familiares, amigos y docentes que, de una u otra manera, estuvieron presentes durante mis años de carrera.

Agradecimientos

Agradezco a mi *alma mater* la Universidad Autónoma de Baja California, a la Facultad de Ingeniería, principalmente al Programa Educativo de Bioingeniería que a través del Laboratorio de Proyectos en Bioingeniería me facilitaron el uso de equipos de laboratorio para el desarrollo de ésta tesis.

Al Dr. Fernando Amilcar Solis Dominguez, encargado del área de conocimientos de Biotecnología del programa de Bioingeniería y a su vez director de la presente tesis, por su confianza en mi persona para desarrollar esta investigación y su orientación durante todas las fases de la misma, desde la recolección de muestras, enseñanza de métodos y procesos, facilitando el uso de equipos, material de laboratorio y en general por su entera disposición para llevar a cabo este proyecto.

A la Dra. Aseneth Herrera Martinez encargada del área de conocimiento de biotecnología y biología molecular del programa de Bioingeniería, a su vez co-directora de la presente tesis, por su colaboración y compromiso con la investigación.

Al M.C. Jorge Iván Alvarado Padilla del INIFAP-Mexicali, por su apoyo en la recolección de muestras en el sitio de estudio y proporcionar datos de las características del suelo estudiado.

Al equipo de trabajo de proyectos de investigación del programa de Bioingeniería, por su apoyo y colaboración en todo momento, especialmente a M.C. Anatolio Félix y M.C. Maria Rangel, por sus enseñanzas siendo una gran red de apoyo durante toda la investigación.

Índice

Resumen	4
1. Introducción	5
2. Marco teórico	6
2.1. Valle de Mexicali, Baja California	6
2.2. Microorganismos extremófilos	6
2.2.1. Hongos tolerantes al estrés hídrico y a la salinidad.	6
2.2.1.1. Hongos endófitos septados oscuros (ESO)	7
2.2.1.2. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	7
2.3. Gramíneas (cereales)	8
2.4. Rizosfera	8
2.5. Auxinas	8
2.5.1. Producción de ácido indolacético (AIA)	9
2.6. Fijadores de nitrógeno	9
3. Planteamiento del problema	10
4. Justificación	11
5. Objetivo general	12
5.1 Objetivos particulares	12
6. Hipótesis	12
7. Materiales y métodos	13
7.1. Sitio de muestreo	13
7.2. Muestreo	13
7.3. Análisis físicos y químicos	14
7.3.1. Cuantificación de bacterias heterótrofas cultivables	14
7.3.2. Cuantificación de hongos filamentosos	14
7.3.3. Cuantificación de hongos micorrízicos arbusculares y hongos septados oscuros	14
7.3.4. Bacterias productoras de ácido indolacético (AIA)	15
7.3.5. Bacterias fijadoras de nitrógeno	15
7.3.6 Análisis estadístico	16
8. Resultados y discusiones	17
8.1 Características físicas y químicas del suelo	17
8.2 Cuantificación de bacterias y hongos	17
8.3 Bacterias productoras de ácido indolacético (AIA)	24
8.4 Bacterias fijadoras de nitrógeno	27
9. Conclusiones	34
10. Literatura citada	35

Resumen

Este proyecto de tesis responde, en parte, el porqué tres especies de cereales sobrevivieron y completaron su ciclo de vida hasta el llenado de granos con un solo riego en un suelo altamente salino. El estudio se realizó en la parcela agrícola de la Estación Experimental Chapultepec del INIFAP, en el desierto del Valle de Mexicali. La zona se caracteriza por su clima extremo y alta presencia de sales debido al Río Colorado. Registros previos indican una conductividad eléctrica del suelo entre 17 y 44 dS m⁻¹. En esta parcela se estudiaron tres especies vegetales de importancia agrícola: *Avena sativa* (avena), *Hordeum vulgare* (cebada capuchona) y *Triticum sp.* (trigo). El objetivo fue seleccionar microorganismos promotores del crecimiento en plantas de un suelo agrícola, bajo condiciones de salinidad y estrés hídrico. A partir de las muestras de suelo de la rizosfera de las plantas, se determinó el pH, y la conductividad eléctrica (C.E.), se realizó un análisis microbiológicos donde se aislaron, y clasificaron las bacterias heterótrofas por tinción de Gram. Los hongos filamentosos, se cuantificaron. Para la detección de hongos endófitos septados oscuros (ESO) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se tiñeron las raíces con azul de tripano para observar la simbiosis y cuantificar la colonización. Con los aislados bacterianos se realizaron pruebas para determinar si son promotoras del crecimiento vegetal, se utilizaron como indicadores: la prueba de fijación de N₂ atmosférico y la prueba de producción de ácido indol-3-acético. El suelo tuvo pH en un intervalo de 8.10 ± 0.04 a 8.33 ± 0.22, no existe diferencia significativa entre el suelo control (sin plantas) y el suelo rizosférico ($p > 0.05$); La C.E. disminuyó significativamente ($p < 0.05$) entre el suelo control (85.6) y las especies vegetales (avena: 53; cebada: 17.35 y trigo: 17.82 mS/cm). Se determinó mayor cantidad de bacterias en el suelo control que en la rizosfera de avena; sin diferencia significativa del control con las otras especies. Fue menor la cantidad de hongos filamentosos en la rizosfera de los cultivos que en el control. Las UFC bacterianas fueron significativamente predominantes en comparación con los hongos filamentosos. La morfología recurrente fueron tipo cocos en el control, trigo y cebada, siendo excepción la avena con tipo bacilos; la tinción fue 60% Gram positiva (cebada y trigo) y 40% Gram negativa (avena), el control está de forma equitativa en ambos. No se encontraron HMA en las raíces de las plantas estudiadas pero se observó un porcentaje alto (entre 85 y 92 %) de colonización por hongos ESO, desconocemos su función. El porcentaje de bacterias productoras de AIA fue: avena 42%, cebada 71%, trigo 37%, control 50%; el porcentaje de fijadoras de N₂ fue: avena 75%, cebada 71%, trigo 100%, control 100%. **Conclusiones:** Las especies vegetales estudiadas pudieron completar el llenado de grano beneficiadas, en parte, por la asociación con microorganismos como bacterias productoras de AIA y fijadoras de N₂ que permiten mejorar el crecimiento de las plantas. Se desconoce la función de los hongos ESO en las raíces de las plantas, pero al ser una colonización alta, superando el 80 %, podría indicar una dependencia de las plantas con estos hongos, que posiblemente les beneficia ante la salinidad y el estrés hídrico.

1. Introducción

Se estudiaron especies vegetales de importancia agrícola que crecieron de manera aislada en un campo agrícola con suelo salino, que completaron el llenado de granos con un solo riego. Se presenta un análisis sobre la relación entre los microorganismos rizosféricos encontrados y su función en la tolerancia a la salinidad y el estrés hídrico en tres especies de plantas agrícolas del Valle de Mexicali: *Avena sativa* (avena), *Hordeum vulgare* (cebada capuchona) y *Triticum sp.* (trigo).

Se estudiaron los microorganismos rizosféricos para entender su función en el crecimiento de estas especies vegetales bajo condiciones extremas de temperatura, estrés hídrico y salinidad.

En el suelo y en la rizosfera de las plantas se encontraron diversos microorganismos como hongos y bacterias. Se realizaron pruebas con bacterias, para seleccionar a aquellas que produjeran ácido indolacético y fijaran nitrógeno atmosférico. Ambas pruebas sirvieron para seleccionar microorganismos promotores del crecimiento en plantas que sean ideales para generar un inoculante microbiano que permita reducir el consumo de agua por ciclo agrícola en suelos salinos.

2. Marco teórico

2.1. Valle de Mexicali, Baja California

El Valle de Mexicali (en adelante VMxl) es una región al sureste de la capital del estado de Baja California, Mexicali. Esta localidad al ser un desierto se caracteriza por sus climas extremos que pueden alcanzar hasta los 52° C en el verano y un promedio mínimo de 7 °C en invierno. Su estrecha relación con el agua del río Colorado que se ha sido utilizada para riego agrícola, ha aumentado significativamente la salinidad de la zona a lo largo de los años.

2.2. Microorganismos extremófilos

Los microorganismos pueden sobrevivir en condiciones extremas, aunque prefieren ambientes más moderados (extremotolerantes), mientras que otros necesitan obligatoriamente dichos entornos extremos para vivir (extremófilos). De esta manera podemos entender a los microorganismos extremófilos como organismos capaces de vivir y desarrollarse en ambientes que normalmente se consideran inhóspitos para la vida, como zonas con temperaturas extremas, altos niveles de salinidad, acidez, presión o radiación. Se clasifican según el tipo de condición extrema que toleran o requieren, por ejemplo: los termófilos (temperatura óptima superior a 45 °C), hipertermófilos (más de 80 °C), psicrófilos (menos de 10 °C), acidófilos (pH inferior a 5), alcalófilos (pH superior a 8), halófilos (altas concentraciones de sal entre 5 y 30 %), osmófilos (altas presiones osmóticas), radiófilos (resistentes a la radiación), metalófilos (tolerantes a metales pesados) y piezófilos (también llamados barófilos, toleran o requieren presiones hidrostáticas entre 40 y 60 atm) (Oliart-Ros *et al.*, 2016).

Estos seres abarcan desde microorganismos unicelulares hasta algunos pluricelulares, y se han encontrado en todos los ecosistemas extremos estudiados. Su capacidad de adaptación se debe a la estabilidad de sus moléculas esenciales, lo que también les permite producir enzimas resistentes de gran valor industrial.

2.2.1. Hongos tolerantes al estrés hídrico y a la salinidad.

El ambiente idóneo para la reproducción de la mayoría de los hongos consta en una fuente de humedad, un lugar oscuro con una temperatura adecuada (entre los 0 y 30°C) y de ser posible un sustrato orgánico. Pero, existen varias especies termófilas (por ejemplo, los hongos del género *Aspergillus* crecen a temperaturas cercanas a 50 °C), mientras que otras son psicrófilas y crecen a temperaturas relativamente bajas (por debajo de 10 °C).

Por otro lado, los hongos prefieren medios ácidos para su crecimiento; un pH de 6 es el más adecuado para la mayoría de las especies estudiadas. El rango de pH del medio de crecimiento es relativamente amplio, pero en general, la tasa de crecimiento en un medio inclinado a lo alcalino es más lenta y las células son menos robustas. (Bueno & Silva, 2014)

Debido a la gran variedad de especies fúngicas que existen, algunas salen de la norma y optan por desarrollarse en lugares desérticos, salinos, con un pH que tiende a lo alcalino, como es el caso de dos especies altamente estudiadas por su capacidad simbiótica con las raíces de diversas plantas como son los: hongos endófitos septados oscuros (ESO) y los hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

2.2.1.1. Hongos endófitos septados oscuros (ESO)

Los endófitos septados oscuros son endófitos fúngicos septados conidiales o estériles, generalmente aislados de plantas sanas, que forman estructuras melanizadas, incluyendo hifas intercelulares e intracelulares y microesclerocios en las raíces. Muestran baja especificidad del hospedador y cubren un amplio rango geográfico. Los endófitos septados oscuros han demostrado una capacidad para mitigar y reducir los efectos nocivos del cambio climático en la agricultura, como la salinidad, la sequía y la menor disponibilidad de nutrientes en el suelo. Los ESO no proporcionan tantos beneficios como los hongos micorrízicos; sin embargo, muestran una mayor tasa de colonización en condiciones de estrés abiótico. A pesar de esto, la colonización de ESO en plantas disminuye bajo la ocurrencia simultánea de alta temperatura y sequía; sin embargo, no conduce a la pérdida de diversidad. Varios estudios muestran que su asociación con las plantas ayuda a reducir los efectos nocivos del estrés abiótico y aumenta la disponibilidad de nutrientes, lo que permite que las plantas prosperen en condiciones adversas. (Huertas *et al.*, 2024)

2.2.1.2. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microorganismos del suelo que establecen relaciones simbióticas e incrementan la asimilación de nutrientes y la tolerancia a diversos tipos de estrés biótico y abiótico en las plantas. Por su parte, los hongos adquieren fotoasimilados de las plantas para su mantenimiento (Smith y Read, 2008). Los HMA tienen un efecto en las relaciones hídricas de la planta y del suelo en condiciones de estrés, que modifican la conductividad estomática, la tasa fotosintética y la transpiración en las plantas, mientras que los exudados fúngicos promueven la cohesión de

las partículas del suelo e incrementan la retención de agua en el sustrato (Rillig y Mummey, 2006). (Harris-Valle *et al.*, 2009)

2.3. Gramíneas (cereales)

Dentro de las diferentes tipos de cosechas que se realizan en la localidad, existe un grupo muy importante que son las gramíneas o coloquialmente conocidas como cereales, esta es una familia diversa que comprende al arroz, maíz, sorgo, centeno, trigo, avena y cebada, entre otros.

La mayor parte del trigo en México se siembra en 457,419 hectáreas, las cuales cuentan con diferentes tipos de climas, suelos, problemas fitosanitarios y calidades de agua, esto se debe a que se cultivan en territorio dentro de Baja California, Baja California Sur, Sonora y Sinaloa representando el 63.18% de la producción del trigo del país. (Hernández Vázquez *et al.*, 2011) La magnitud y extensión de este cultivo demuestra el gran impacto que tiene en nuestra sociedad, miles de productores agroindustriales requieren de estos cultivos todo el tiempo bajo cualquier circunstancia, por consecuencia requieren de métodos efectivos y constantes para cumplir con la demanda.

2.4. Rizosfera

El término conceptual "rizosfera" se usa comúnmente para describir el volumen de suelo influenciado por las raíces, pero también puede extenderse para describir las interfaces raíz-suelo que pueden separarse en ectorizosfera (suelo de la rizosfera), rizoplano (superficie de la raíz) y endorizosfera (raíz interna). Las rizosferas son entornos complejos y altamente dinámicos donde una inmensa cantidad de interacciones entre raíces, minerales, compuestos orgánicos, solutos, gases y microorganismos impulsan el ciclo biogeoquímico de los elementos. (Oburger & Schmidt, 2016)

2.5. Auxinas

Las auxinas son hormonas de crecimiento de plantas, debido a su capacidad de estimular el crecimiento diferencial en respuesta a estímulos de luz. Son las fitohormonas que juegan el rol más importante en el desarrollo de las plantas. Se han descrito cuatro auxinas naturales sintetizadas por plantas: ácido indolacético (AIA), ácido indol-3-butírico (IBA), ácido 4-cloroindol-3-acético (4-Cl-AIA) y ácido fenilacético (PAA). Ensayos *in vitro* han permitido determinar que el AIA es una de las principales auxinas que participan en el desarrollo de las plantas.

2.5.1. Producción de ácido indolacético (AIA)

El AIA es la principal auxina nativa de las plantas superiores. El AIA está involucrado en el crecimiento y desarrollo de las plantas, principalmente en una serie de procesos fisiológicos que incluyen el alargamiento y división celular, diferenciación de tejido, fototropismo, gravitropismo y en respuestas defensivas, destacando un importante rol en la formación del xilema y la raíz.

La biosíntesis de AIA no está limitada a las plantas superiores. Organismos como bacterias, hongos y algas son capaces de sintetizar AIA, lo que puede afectar el crecimiento y el desarrollo de las plantas. En bacterias, la producción de AIA es una capacidad relevante, tanto de bacterias promotoras del crecimiento de las plantas, por sus siglas en inglés: PGPBs, como de bacterias fitopatógenas. Las plantas superiores exudan, entre otros componentes: el aminoácido triptófano, que es el principal precursor para la biosíntesis de AIA microbiano.

Se ha propuesto que el 80 % de las bacterias de la rizósfera son capaces de producir AIA. Se ha observado un alto grado de similitud en las vías de síntesis de AIA de plantas y bacterias. Los microorganismos de rizósfera que interactúan con las plantas, interfieren con su desarrollo, mediante el desbalance de auxinas, de manera que pueden afectar a la planta en forma positiva o negativa (Vega-Celedón *et al.*, 2016)

2.6. Fijadores de nitrógeno

Los fijadores de nitrógeno son microorganismos principalmente bacterias y cianobacterias, que tienen la capacidad de convertir el nitrógeno atmosférico (N_2) en amoníaco (NH_3), un compuesto fundamental para el desarrollo de las plantas, ya que estos se caracterizan por mejorar la fertilidad del suelo, aumentar la productividad de los cultivos, fortalecer la sostenibilidad e impulsar la conservación del medio ambiente.

Su aplicación orgánica constituye una opción amigable con el medio ambiente. Algunos ejemplos de fertilizantes nitrogenados utilizados por los productores son: el estiércol, composta, esquilmos, abonos verdes, desechos agroindustriales y efluente de biodigestores. (“Fijadores De Nitrógeno Y Su Impacto En La Fertilidad Del Suelo – Faros Agroecológicos,” 2024)

3. Planteamiento del problema

Los suelos del Valle de Mexicali han estado contaminados por sales (NaCl , MgCl_2 y CaCl_2) desde 1961, dicha problemática se intensifica debido a los cambios ambientales que provocan aumentos de temperatura anuales drásticos, lo que a su vez acelera la acumulación salina y la pérdida de cultivos (Fig 1) (Félix, 2024).



Figura 1. Campos agrícolas del Valle de Mexicali afectados por la salinidad.

El problema de la salinidad en el valle de Mexicali en Baja California cuenta con registros desde 1961 a 1965 con repercusiones actuales (Ward, 2001). De 1960 a 1964 la salinidad en la zona aumentó de 60 mil toneladas de sales a 1,244,081.6 toneladas. Las parcelas se han convertido en incultivables debido a aguas vertidas desde EE.UU. Payne *et al.* (1979) comprobaron que la contaminación salina de la crisis de años atrás siguió latente. La clasificación de los suelos del Valle de Mexicali corresponde a aridisoles (suelos de color castaño o gris que se encuentran en zonas áridas y semiáridas)(Judkins y Myint (2012)), de textura generalmente arenosa, con algunas zonas con mayor concentración de arcilla. Actualmente es preocupante la salinidad en los suelos del valle de Mexicali lo que ha obligado a abandonar parcelas y buscar zonas que aún sean cultivables.

4. Justificación

Es necesario desarrollar un inoculante microbiano que se pueda utilizar como promotor del crecimiento en cultivos de la región y recuperar suelos no cultivables debido a problemas de salinidad o escasez de agua.

Un estudio previo ha demostrado mediante experimentos en maceta, utilizando arena como sustrato y bajo condiciones de invernadero, que los hongos micorrízicos arbusculares aislados de un ambiente salino ayudan a la supervivencia de zanahoria y lechuga cuando se regaron con una solución altamente salina de NaCl (60 y 120 mM de NaCl) (Félix *et al.*, 2023). Es importante investigar la aplicación de un biofertilizante en los suelos impactados por la salinidad y con los cultivos de interés de la región. Es necesario estudiar a los microorganismos rizosféricos de ambientes salinos para seleccionarlos y generar un biofertilizante que permita el crecimiento de plantas de interés agrícola en ambientes desérticos como el del Valle de Mexicali. Esto es vital debido a que la situación del Valle de Mexicali va evolucionando a una situación de mayor acumulación de sales.

5. Objetivo general

Seleccionar microorganismos promotores del crecimiento en plantas de un suelo agrícola, bajo condiciones de salinidad y estrés hídrico.

5.1 Objetivos particulares

- Aislar diferentes tipos de microorganismos del suelo que sean potenciales promotores del crecimiento en plantas.
- Identificar simbiosis de microorganismos en las raíces de las plantas.

6. Hipótesis

Los microorganismos asociados a las especies vegetales estudiadas, les confieren resistencia al estrés hídrico y salinidad.

7. Materiales y métodos

7.1. Sitio de muestreo

El sitio de muestreo correspondió a una parcela agrícola de la Estación Experimental Chapultepec, perteneciente al campo experimental del Valle de Mexicali del INIFAP en el Ejido Chapultepec, del Valle de Mexicali (Fig. 2). Esta parcela ha mostrado cambios en la concentración de sales a lo largo del tiempo. Registros previos indican una conductividad eléctrica entre 17 y 44 dS m⁻¹ (información personal, M.C Jorge Ivan Alvarado Padilla-INIFAP)



Figura 2. Ubicación de la parcela de estudio

7.2. Muestreo

Se recolectaron muestras de suelo rizosférico y no rizosférico. Para las muestras de suelo rizosférico se consideraron tres especies vegetales, avena (*Avena sativa*), cebada capuchona (*Hordeum vulgare*) y trigo (*Triticum* sp) (Fig. 3). Las muestras se recolectaron de la rizosfera de cada especie vegetal, se colocaron en bolsas de plástico estériles y se transportaron al laboratorio en una hielera a 4 °C para análisis microbiológicos. Otra

porción de suelo, aproximadamente un kg, se recolectó a una profundidad 0-20 cm con una barrena de acero inoxidable tipo Riverside, para análisis físicos y químicos. Las muestras de suelo control se recolectaron en zonas de la parcela sin crecimiento de plantas.



Figura 3. Muestreo de suelo no rizosférico y rizosférico. a) Suelo no rizosférico (control); b) Muestreo de suelo rizosférico en plantas de avena; c) Plantas de trigo; d) Plantas de cebada capuchona.

7.3. Análisis físicos y químicos

Las muestras de suelo se secaron a la sombra y se tamizaron en una malla de tamaño de poro < 2 mm. Se determinaron las variables pH en base a la NOM 021 RECNAT 2000 y conductividad eléctrica (C.E.) por el método de la pasta saturada de Anderson e Ingram (1990).

7.3.1. Cuantificación de bacterias heterótrofas cultivables

Se determinó la cantidad de bacterias heterótrofas en todos los tratamientos, utilizando el medio de cultivo R2A (Reasoner's 2A agar) (Mendez *et al.*, 2007; Solís-Dominguez *et al.*, 2012).

7.3.2. Cuantificación de hongos filamentosos

Los hongos cultivables del suelo se determinaron utilizando el medio de cultivo PDA adicionado con 200 ppm de estreptomycin, antibiótico que inhibe el crecimiento de las bacterias para favorecer el de los hongos.

7.3.3. Cuantificación de hongos micorrízicos arbusculares y hongos septados oscuros

Las raíces de cada especie vegetal muestreada en campo se separaron del suelo, se lavaron con agua de la llave y posteriormente se clarearon y tiñeron con azul tripano (Phillips &

Hayman, 1970), posteriormente se determinó el porcentaje de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (McGonigle *et al.*, 1990), se utilizó la misma técnica para determinar hongos endófitos septados oscuros (ESO).

7.3.4. Bacterias productoras de ácido indolacético (AIA)

Se preparó el reactivo Salkowsky (indicador a la presencia de AIA), adicionando 0.6 M FeCl_3 y H_2SO_4 7.9 M (Glickmann & Dessaux, 1994). Una vez elaborado el reactivo los aislados bacterianos se cultivaron en 50 ml de caldo R2A a 35°C en una incubadora Thermo SCIENTIFIC, MAXQ 4000 a 100 rpm durante 72 h. Posteriormente, las células bacterianas se separaron del medio de cultivo por centrifugación a 4000 rpm durante 15 min. Después el sobrante se filtró en un sistema de filtración VWR de 47 mm de diámetro (Scientific Products) y se emplearon filtros de celulosa de 47 mm de diámetro (Millipore) con tamaño de poro de 22 μm . Lo anterior se realizó con el propósito de tener los metabolitos excretados en el medio de cultivo, libre de bacterias.

Del medio de cultivo filtrado y libre de células se tomó 1 mL de cada muestra y se colocó en tubos de ensaye de 12x75 mm con tapa de rosca, posteriormente se adicionó 1 mL de reactivo Salkowsky y se agitó vigorosamente durante 1 minuto, inmediatamente las muestras se incubaron a temperatura ambiente en ausencia de luz durante 30 min. Pasado este tiempo las muestras fueron comparadas visualmente con el control negativo (1 mL de caldo R2A adicionado con 1 mL de reactivo Salkowsky) y el control positivo (1 mL de ácido indolacético [1 mg/mL] adicionado con 1 mL de reactivo Salkowsky).

La producción de una coloración roja indicó positivo a producción de ácido indol-3-acético (AIA, IAA), y una coloración violeta intenso a púrpura puede indicar la producción de indol-3-acetamida.

7.3.5. Bacterias fijadoras de nitrógeno

Los aislados bacterianos se cultivaron en 50 ml de caldo R2A a 35°C en una incubadora Thermo SCIENTIFIC, MAXQ 4000 a 100 rpm durante 72 h. Posteriormente, las células bacterianas se centrifugaron a 4000 rpm durante 15 min, para separarlas del medio de cultivo. El paquete celular se lavó dos veces con agua destilada estéril repitiendo el procedimiento de centrifugación y se ajustó la suspensión celular en agua destilada con la ayuda de un espectrofotómetro BIO RAD, SmartSpec™ Plus hasta tener una densidad celular de 1 de absorbancia equivalente a 1×10^9 células mL^{-1} . Las muestras se leyeron a una longitud de onda de 600 nm.

La actividad nitrogenasa se evaluó según Croes *et al.*, 2013. Se utilizó medio semisólido malato-sacarosa adicionado con 3 ml de azul de bromotimol L^{-1} (indicador de pH), al cual se le agregó 50 μL de pre inóculo bacteriano lavado. La actividad nitrogenasa anaerobia se observó como un cambio de color de azul a amarillo comparadas visualmente con el control

negativo (medio semisólido adicionado con 50 μ L de caldo R2A). Se evaluarán los resultados en relación a la escala colorimétrica del pH para el Azul de bromotimol, donde: $\text{pH} < 6.0$ vira a amarillo (altamente positivo), $6.0 > \text{pH} < 7.6$ es un transición de azul a amarillo pasando por verde (ligera y mediamente positivo) y un $\text{pH} > 7.6$ es azul (negativo) (Vallejos, 2018).

7.3.6 Análisis estadístico

Los datos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza para determinar diferencias significativas entre los datos obtenidos en cada especie vegetal y el control. Se realizó una comparación de medias por el método de Tukey para determinar el mejor efecto en las variedades vegetales y el control ($\alpha = 0.05$).

8. Resultados y discusiones

8.1 Características físicas y químicas del suelo

El pH del suelo corresponde a un suelo alcalino en un intervalo de 8.10 ± 0.04 a 8.33 ± 0.22 , sin que existiera diferencia significativa entre el suelo control y el suelo rizosférico de las especies vegetales estudiadas. La conductividad eléctrica (C.E) disminuyó significativamente entre el suelo control (85.6) y las especies vegetales estudiadas que tuvieron los siguientes valores: avena 53; cebada 17.35 y trigo 17.82 mS/cm (Fig. 4) (fuertemente salinos) NOM 021 RECNAT 2000.

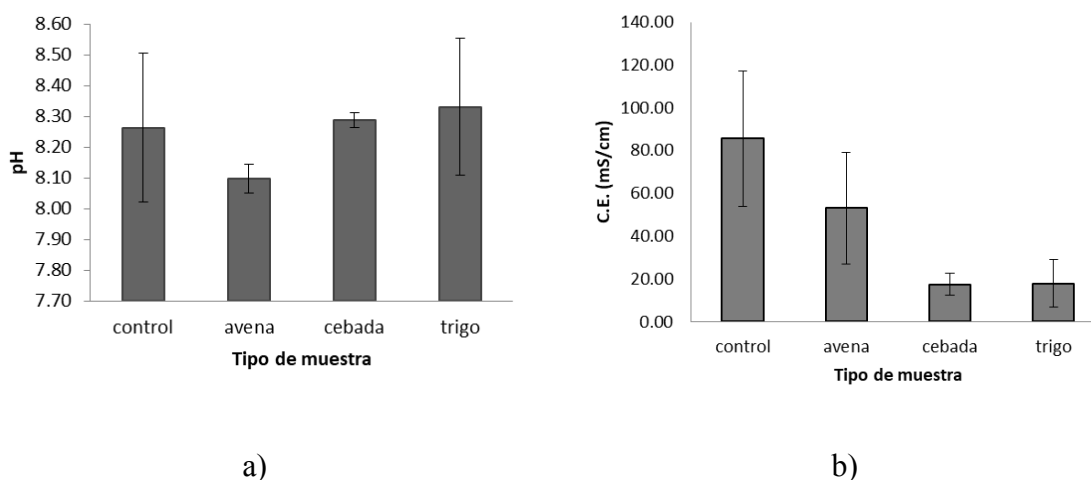


Figura 4. a) Nivel de pH en los cultivos agrícolas y en el suelo control. b) Conductividad eléctrica (C.E.) en los cultivos agrícolas y en el suelo control.

8.2 Cuantificación de bacterias y hongos

Se observó mayor cantidad de bacterias en el suelo control que en la rizosfera de avena, mientras que en cebada capuchona y trigo no hubo diferencia significativa con el control. En el caso de los hongos filamentosos hubo menor cantidad en la rizosfera de los cultivos que en el control, sin que hubiera diferencia entre la cantidad de hongos entre los cultivos agrícolas (Fig. 5). Las bacterias fueron significativamente predominantes en relación con los hongos filamentosos.

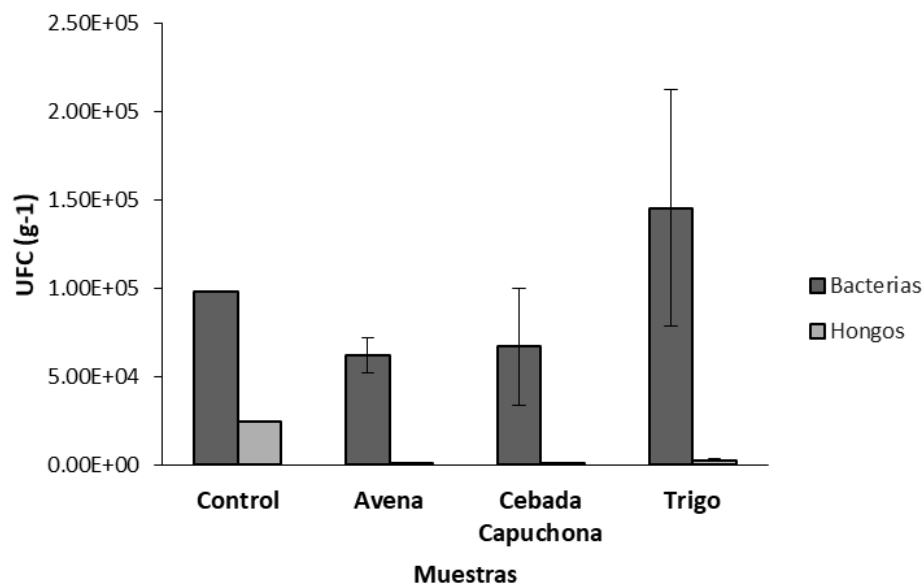
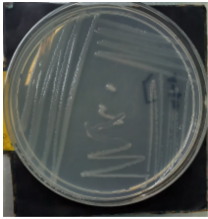
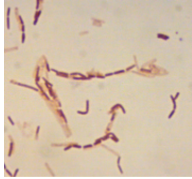
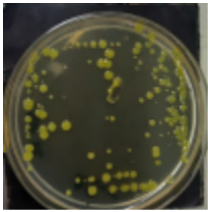
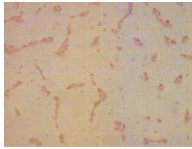
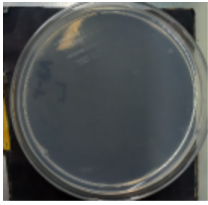
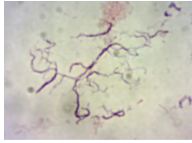
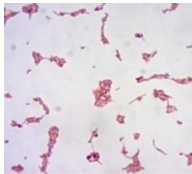
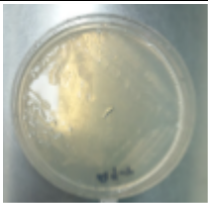
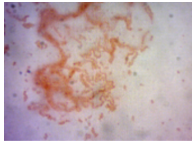
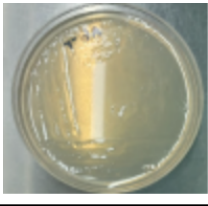
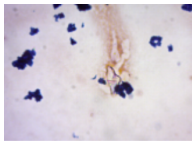
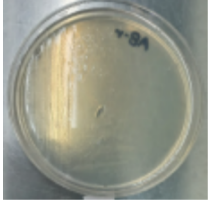
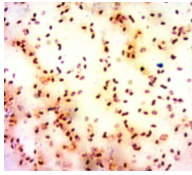


Figura 5. Bacterias y hongos filamentosos en la rizósfera de los cultivos agrícolas y en el suelo control.

Se encontraron 6 morfotipos de bacterias en la rizósfera de avena predominando los bacilos seguidos de estreptococos y estafilococos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Morfología macroscópica y microscópica de las bacterias asociadas a las raíces de avena y su clasificación según la tinción de Gram.

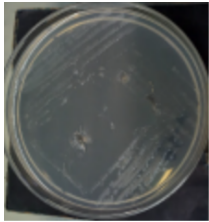
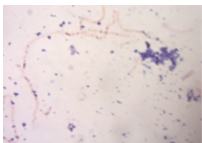
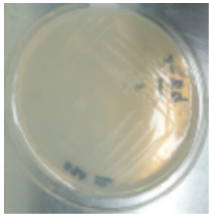
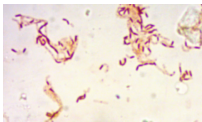
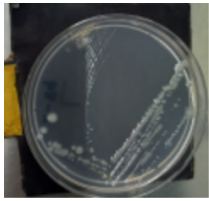
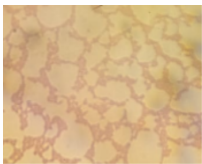
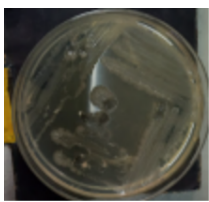
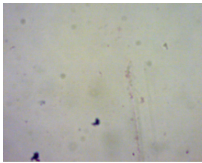
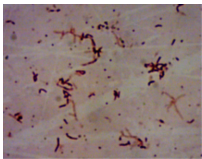
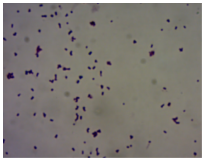
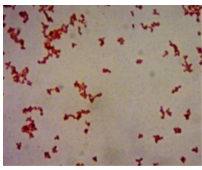
Muestra	Nombre /código	Morfología macroscópica		Morfología microscópica	
		Aislamiento	Descripción	Tinción Gram	Resultado
Avena	a1		Forma: pequeño, circular, no pigmentado. Elevación: convexa, suave. Margen: entero, liso, transparente.		Bacilos Gram negativos
	A2		Forma: Puntiforme, circular, amarillo. Elevación: convexa, suave. Margen: entero, liso, opaco.		Estreptococos Gram negativos

	A3		Forma: Puntiforme, irregular, no pigmentado. Elevación: plana, membranosa o dura. Margen: entero, rugoso, transparente.		Bacilos Gram positivos
	a3		Forma: grande, irregular, amarillo. Elevación: monticular, membranoso o dura. Margen: ondulada, rugosa, opaca.		Bacilos Gram negativos
	A4		Forma: grande, circular, no pigmentado. Elevación: umbilicada, viscosa o mucóide. Margen: entero, liso, transparente.		Estreptococos Gram negativos
	A6		Forma: grande, circular, no pigmentado. Elevación: convexa, viscosa o mucóide. Margen: entero, liso, transparente.		Estafilococos Gram positivos
	A8		Forma: Puntiforme, circular, no pigmentado. Elevación: convexa, suave. Margen: entero, rugoso, transparente.		Cocos Gram negativos

En la rizosfera de cebada se encontraron 7 morfotipos de bacterias asociadas a las raíces, predominando los de forma microscópica de cocos (Cuadro 2)

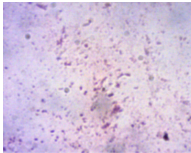
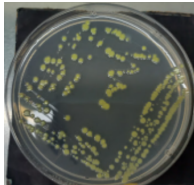
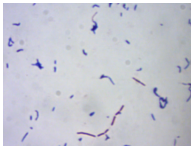
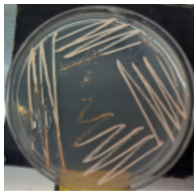
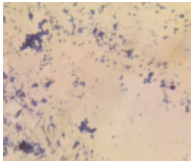
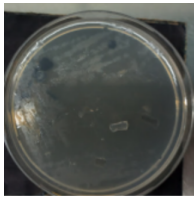
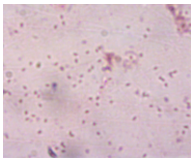
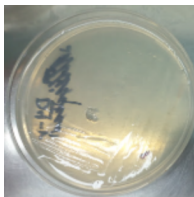
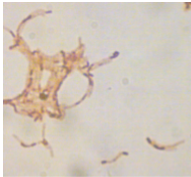
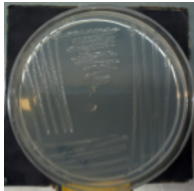
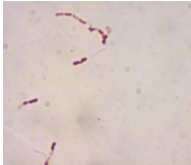
Cuadro 2. Morfología macroscópica y microscópica de las bacterias asociadas a las raíces de cebada y su clasificación según la tinción de Gram.

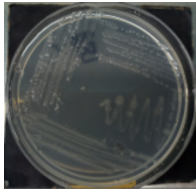
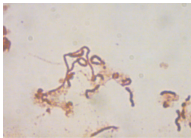
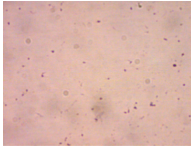
Muestra	Nombre/ código	Morfología macroscópica		Morfología microscópica	
		Aislamiento	Descripción	Tinción Gram	Resultado

Cebada capuchona	B2		Forma: mediano, irregular, no pigmentado. Elevación: monticular, membranoso o dura. Margen: ondulada, rugosa, transparente.		Cocos Gram positivo
	b2		Forma: pequeño, circular, no pigmentado. Elevación: plana, suave. Margen: entero, rugoso, transparente.		Bacilos Gram negativos
	b3		Forma: Puntiforme, circular, blanco. Elevación: convexa, viscosa o mucoide. Margen: entero, liso, transparente.		Estafilococos Gram negativos
	B3		Forma: grande, fusiforme, no pigmentado. Elevación: monticular, suave. Margen: entero, rugoso, opaco.		Cocos Gram positivo
	b5		Forma: Puntiforme, circular, blanco. Elevación: monticular, suave. Margen: entero, rugoso, opaco.		Bacilos Gram positivos
	B5		Forma: Puntiforme, circular, blanco. Elevación: convexa, viscosa o mucoide. Margen: entero, liso, opaco.		Cocos Gram positivo
	B6		Forma: Puntiforme, circular, naranja. Elevación: convexa, viscosa o mucoide. Margen: entero, liso, opaco.		Cocos Gram negativos

En la rizósfera del trigo se encontraron 8 morfotipos de bacterias (Cuadro 3).

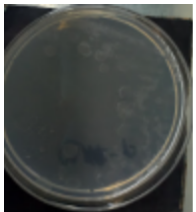
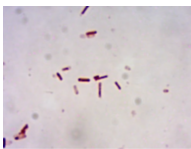
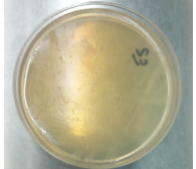
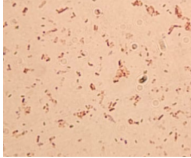
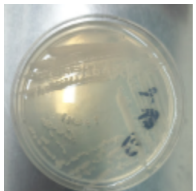
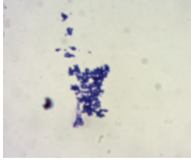
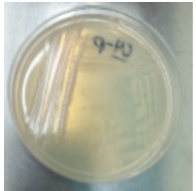
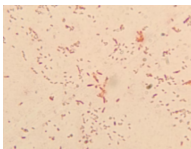
Cuadro 3. Morfología macroscópica y microscópica de las bacterias asociadas a las raíces de trigo y su clasificación según la tinción de Gram.

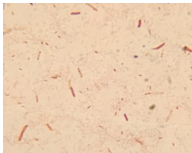
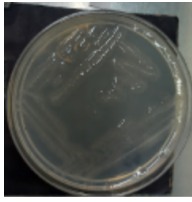
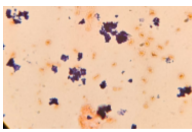
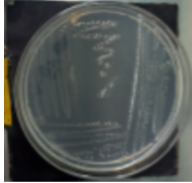
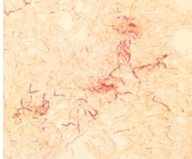
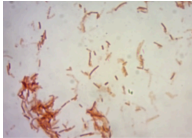
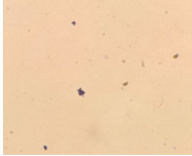
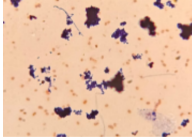
Muestra	Nombre /código	Morfología macroscópica		Morfología microscópica	
		Aislamiento (Medio R2A)	Descripción	Tinción Gram	Resultado
Trigo	D1		Forma: pequeño, irregular, naranja. Elevación: elevada, membranosa o dura. Margen: ondulada, rugosa, transparente.		Cocos Gram negativo
	D2		Forma: Puntiforme, circular, amarillo. Elevación: convexa, viscosa o mucoide. Margen: entero, liso, transparente.		Bacilos Gram positivos
	d2		Forma: Puntiforme, circular, naranja. Elevación: monticular, membranoso o dura. Margen: entero, liso, opaco.		Cocos Gram positivos
	D3		Forma: Puntiforme, irregular, no pigmentado. Elevación: monticular, suave. Margen: rizado, rugoso, opaco.		Cocos Gram negativos
	D4		Forma: mediano, fusiforme, no pigmentado. Elevación: umbilicada, viscosa o mucoide. Margen: entero, lisa, transparente.		Bacilos Gram negativos
	d6		Forma: Puntiforme, circular, no pigmentado. Elevación: elevada, suave. Margen: entero, rugoso, transparente.		Bacilos Gram negativos

	D7		Forma: Puntiforme, circular, no pigmentado. Elevación: convexa, viscosa o mucoide. Margen: entero, liso, transparente.		Estreptobacilos Gram negativos
	D8		Forma: Puntiforme, circular, blanco. Elevación: elevada, viscosa o mucoide. Margen: entero, liso, transparente.		Cocos Gram positiva

El suelo sin plantas (control) tuvo 10 morfotipos de bacterias predominando la forma microscópica de cocos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Morfología macroscópica y microscópica de las bacterias en el suelo libre de plantas (control) y su clasificación según la tinción de Gram.

Muestra	Nombre /código	Morfología macroscópica		Morfología microscópica	
		Aislamiento	Descripción	Tinción Gram	Resultado
Control (Suelo)	C1		Forma: grande, irregular, no pigmentado. Elevación: plana, suave. Margen: lobulado, liso, opaco.		Bacilos Gram negativos
	c2		Forma: grande, irregular, no pigmentado. Elevación: plana, suave. Margen: rizoidea, lisa, transparente.		Cocos Gram negativos
	C3		Forma: mediano, irregular, no pigmentado. Elevación: monticular, membranoso o dura. Margen: lobulado, rugoso, transparente.		Estafilococos Gram positivos
	C4		Forma: mediano, circular, no pigmentado. Elevación: convexa, suave. Margen: entero, lisa, transparente.		Bacilos Gram negativos

	c4		Forma: Puntiforme, irregular, blanco. Elevación: umbilicada, suave. Margen: rizado, rugoso, opaco.		Bacilos Gram negativos
	C5		Forma: grande, circular, no pigmentado. Elevación: umbeliforme, viscosa o mucoide. Margen: entero, rugoso, transparente.		Estafilococos Gram positivos
	c5		Forma: Puntiforme, circular, blanco. Elevación: convexa, suave. Margen: entero, liso, transparente.		Estreptobacilos Gram negativos
	c6		Forma: mediano, irregular, no pigmentado. Elevación: elevada, membranosa o dura. Margen: lobulado, liso, opaco.		Diplobacilos Gram negativos
	c7		Forma: mediano, irregular, no pigmentado. Elevación: monticular, suave. Margen: lobulado, rugoso, transparente.		Estafilococos Gram positivos
	c8		Forma: grande, circular, no pigmentado. Elevación: convexa, viscosa o mucoide. Margen: entero, liso, transparente.		Estafilococos Gram positivos

En cuanto a hongos septados oscuros, las raíces se tiñeron con la técnica para hongos micorrízicos arbusculares (HMA), sin embargo no se encontraron HMA en las raíces de las plantas estudiadas pero sí se observó un porcentaje alto de colonización por hongos endófitos septados oscuros (ESO) de los que desconocemos su función (Fig. 6). El porcentaje de colonización de las raíces por ESO estuvo entre 85 y 92 % (Fig. 7). El elevado porcentaje de colonización de las raíces por éstos hongos puede reflejar una dependencia entre ambos organismos para su supervivencia ante condiciones ambientales extremas.

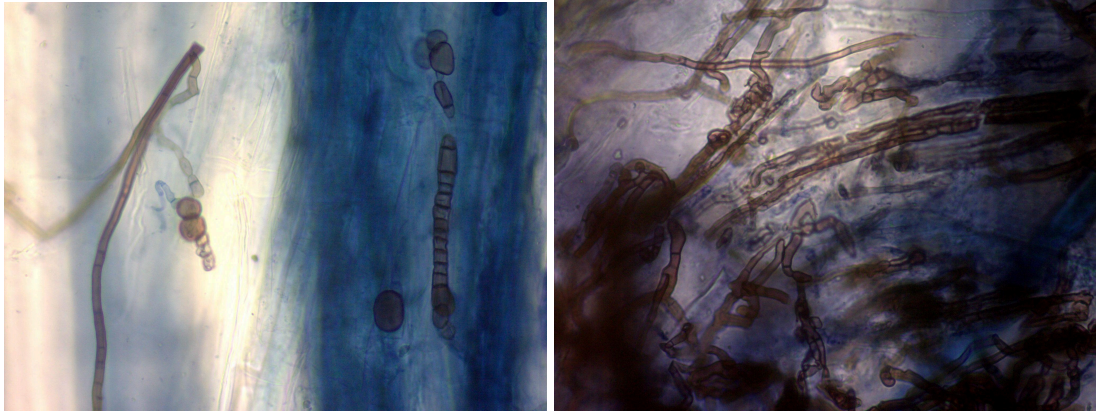


Figura 6. Hongos septados oscuros en las raíces de las especies vegetales estudiadas.

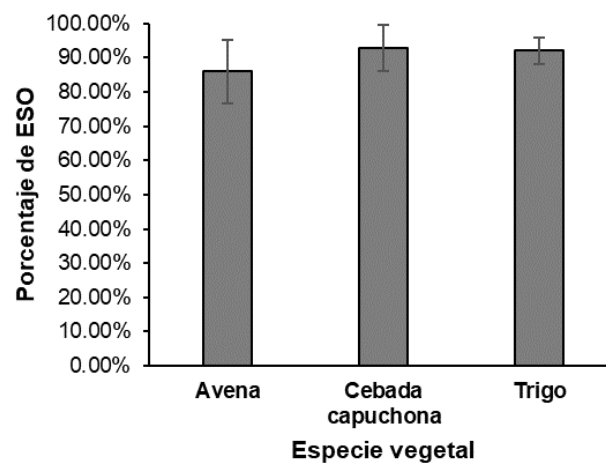


Figura 7. Porcentaje de colonización de hongos endófitos septados oscuros por especie vegetal.

8.3 Bacterias productoras de ácido indolacético (AIA)

Se evaluó por colorimetría la producción de ácido indolacético y se dio una escala cualitativa para determinar cuáles cepas producen más AIA que otras, donde: (-) = negativo, (+) = ligeramente positivo, (++) = medianamente positivo, (+++) = altamente positivo.

Se comparó con los controles tanto positivo como negativo (Fig. 8), algunos ejemplos de las pruebas se muestran a continuación (Fig. 9).



Figura 8. Controles positivo y negativo para la producción de ácido indolacético.

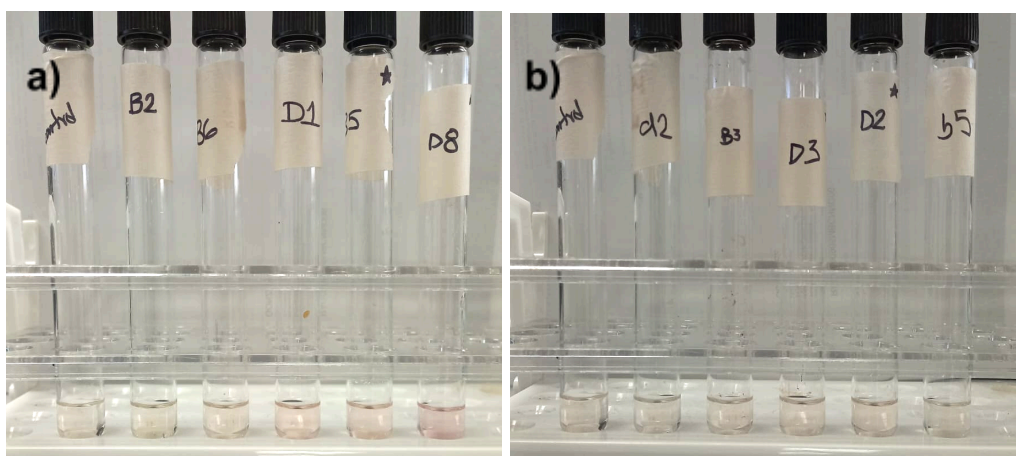


Figura 9. Resultado de la prueba para producción de ácido indolacético, a) positivas, b) negativas.

De los aislados bacterianos asociados a las raíces de avena, el 42% produce ácido indolacético (AIA) que funciona como hormona de crecimiento vegetal (Cuadro 5).

Cuadro 5. Aislados bacterianos en avena productores de AIA (+).

Muestra	Nombre/código	Resultado
Avena	a1	-
	A2	+
	A3	-
	a3	-
	A4	+
	A6	-
	A8	+

En el caso de la cebada capuchona, el 71% de los aislados bacterianos asociados a sus raíces producen AIA. (Cuadro 6)

Cuadro 6. Aislados bacterianos asociados a las raíces de cebada capuchona productores de AIA (+).

Muestra	Nombre/código	Resultado
Cebada capuchona	B2	+
	b2	-
	B3	+
	b3	-
	b5	+
	B5	+
	B6	+

En el trigo tuvo 37% de aislados bacterianos productores de AIA asociado a sus raíces (Cuadro 7).

Cuadro 7. Aislados bacterianos productores de AIA (+) asociados a las raíces de trigo.

Muestra	Nombre/código	Resultado
Trigo	D1	+
	D2	-
	d2	-
	D3	-
	D4	+
	d6	-
	D7	-
	D8	+

En el suelo control (sin plantas), el 50% de los aislados bacterianos produjeron AIA (Cuadro 8). Al ser una parcela agrícola donde anteriormente se han cultivado plantas es común encontrar microorganismos como las bacterias que producen AIA.

Cuadro 8. Aislados bacterianos productores de AIA (+) en el suelo control

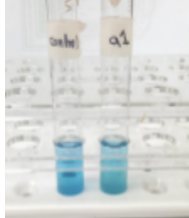
Muestra	Nombre/código	Resultado
Control (suelo)	C1	+
	c2	+
	C3	-
	C4	+
	c4	-
	C5	-
	c5	+
	c6	+
	c7	-
	c8	-

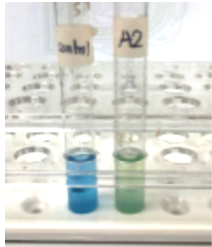
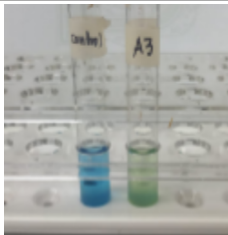
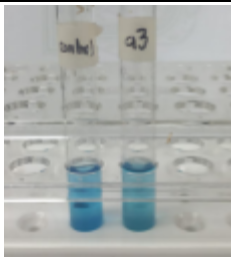
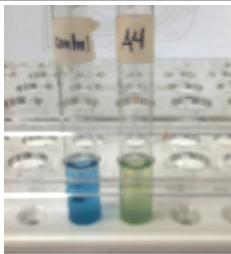
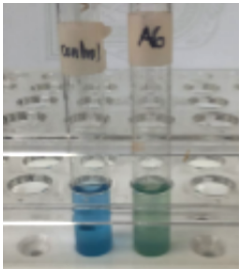
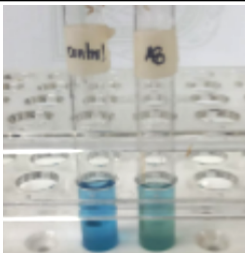
8.4 Bacterias fijadoras de nitrógeno

Se evaluó por colorimetría la fijación de nitrógeno y se dio una escala cualitativa para determinar cuáles bacterias fijan más que otras, donde: (-) = negativo, (+) = ligeramente positivo, (++) = medianamente positivo, (+++) = altamente positivo.

De los 8 morfotipos de bacterias asociadas a las raíces de la avena, el 75% de ellas fueron positivas a la prueba de fijación de nitrógeno (Cuadro 9). Se destacan 3 bacterias por ser significativamente más positivas que las demás.

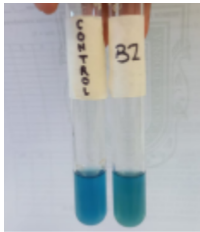
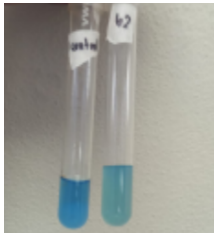
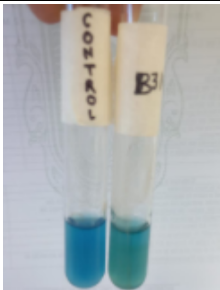
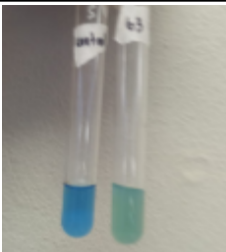
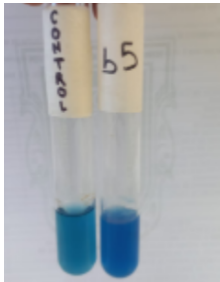
Cuadro 9. Resultado de la prueba para bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico asociadas a las raíces de avena.

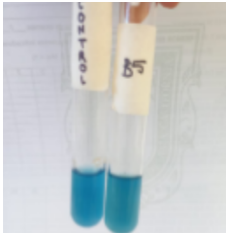
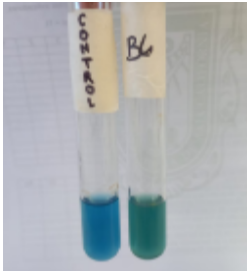
Muestra	Nombre/código	Fotografía (control/bacteria)	Resultado
Avena	a1		-

	A2		+++
	A3		+++
	a3		-
	A4		+++
	A6		++
	A8		+

Para las bacterias asociadas a la cebada se encontró un 71% de cepas positivas a la prueba de fijación de nitrógeno (cuadro 10).

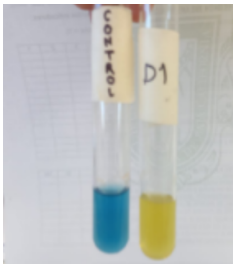
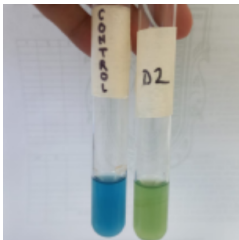
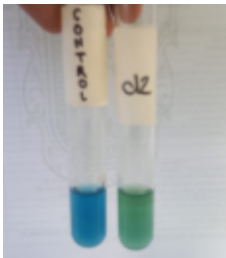
Cuadro 10. Resultado de la prueba para bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico asociadas a las raíces de cebada capuchona.

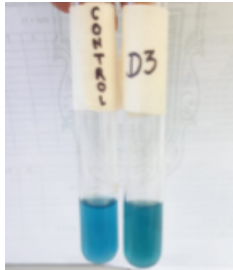
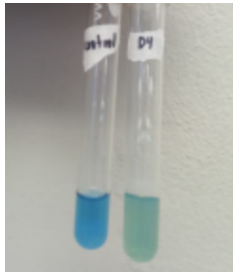
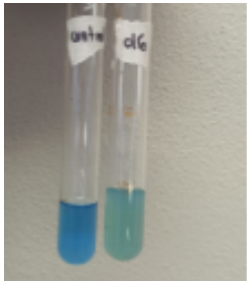
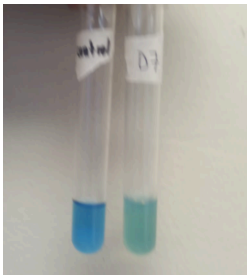
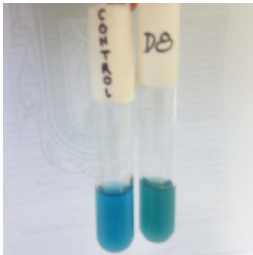
Muestra	Nombre/código	Fotografía (control/bacteria)	Resultado
Cebada capuchona	B2		+
	b2		+
	B3		+
	b3		+
	b5		-

	B5		-
	B6		+

En el caso del trigo el 100% de las bacterias dan positiva a la prueba, en mayor o menor medida (cuadro 11).

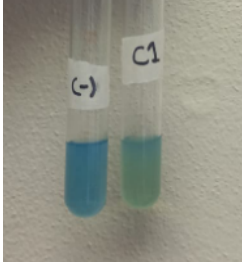
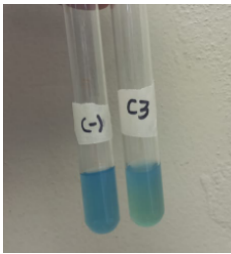
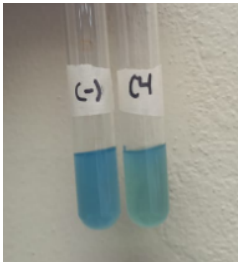
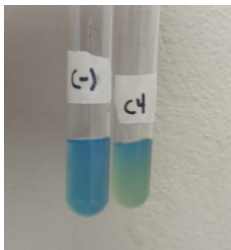
Cuadro 11. Resultado de la prueba para bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico asociadas a las raíces de trigo.

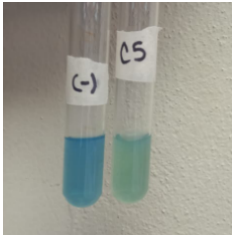
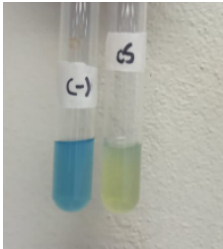
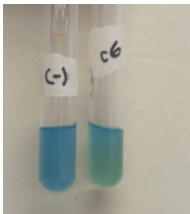
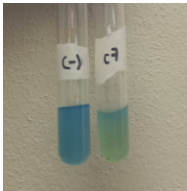
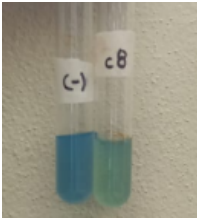
Muestra	Nombre/código	Fotografía (control/bacteria)	Resultado
Trigo	D1		+++
	D2		++
	d2		++

	D3		+
	D4		+
	d6		+
	D7		+
	D8		+

Finalmente, el 100% de las bacterias encontradas en el suelo control dieron positivo a la prueba de fijación de nitrógeno, de la cual solo una destaca por ser significativamente más fijadora que el resto (cuadro 12).

Cuadro 12. Resultado de la prueba para bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico asociadas al suelo control.

Muestra	Nombre/código	Fotografía (control/bacteria)	Resultado
Control (Suelo)	C1		+
	c2		+
	C3		+
	C4		+
	c4		+

	C5		+
	c5		+++
	c6		+
	c7		+
	c8		+

9. Conclusiones

Las especies vegetales estudiadas pudieron completar el llenado de grano beneficiadas, en parte, por la asociación con microorganismos como bacterias productoras de ácido indolacético y bacterias fijadoras de nitrógeno que permiten mejorar el crecimiento de las plantas. A pesar que se desconoce la función de los hongos endófitos oscuros en las raíces de las plantas, el porcentaje de colonización es alta, superando el 80 % de colonización, lo cual podría indicar una dependencia de las plantas por éste tipo de hongos que posiblemente les beneficia ante la salinidad y el estrés hídrico.

En investigaciones futuras se busca trabajar con los microorganismos seleccionados para desarrollar un inoculante microbiano para utilizarse como promotor del crecimiento en cultivos de la región con el fin de recuperar suelos no cultivables debido a problemas de salinidad y escasez de agua de riego.

10. Literatura citada

Anderson, J. M., & Ingram, J. S. I. (1990). Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods. *Journal Of Ecology*, 78(2), 547. <https://doi.org/10.2307/2261129>

Review by: I. C. Baillie

Bueno, D. J., & Silva, J. O. (2014). FUNGI | The Fungal Hypha. In *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd ed.).

[https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/fungus-growth#:~:text=Most%20fungi%20grow%20at%20temperatures,\(below%2010%20%C2%B0C\)](https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/fungus-growth#:~:text=Most%20fungi%20grow%20at%20temperatures,(below%2010%20%C2%B0C))

Croes, S., Weyens, N., Janssen, J., Vercampt, H., Colpaert, J.V., Carleer, R., Vangronsveld, J. (2013). Bacterial communities associated with *Brassica napus* L. grown on trace element-contaminated and noncontaminated fields: a genotypic and phenotypic comparison. *Microb Biotechnol*, 6: 371-384.

Félix R.JA. 2024. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares asociados a raíces de plantas que crecen en un suelo salino. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Baja California. 22 de mayo de 2024.

Félix R.JA., Solís-Domínguez F.A., González-Chávez M.C., Herrera-Martínez A., Carrillo-González R., Reyes L.JA., Ramírez H.J., López I.A., 2023, Hongos micorrízicos arbusculares: promotores del crecimiento en especies vegetales de interés agrícola bajo condiciones altamente salinas. Pp. 130-135, At: Gallegos, A., Mahecha, J.D., and Ramos, S. (Compilers), 2023, El papel de los suelos en la sostenibilidad del medio ambiente y la sociedad. Vol 4. En: Hacia un conocimiento global y multidisciplinario del recurso suelo. Bautista F. and Ayala F. (Eds).

Sociedad mexicana de la ciencia del suelo. Texcoco, Estado de México. 252 pp.

ISBN OBRA COMPLETA: 978-607-95106-5-7 ISBN DEL VOLUMEN 4:

978-607-95106-9-5

Fijadores de nitrógeno y su impacto en la fertilidad del suelo – Faros Agroecológicos.

(2024, June 13). *Faros Agroecológicos – Transición agroecológica para una producción de maíz a escala comercial libre de agrotóxicos.*

<https://farosagroecologicos.ciad.mx/fijadores-de-nitrogeno-y-su-impacto-en-la-fertilidad-del-suelo/>

Glickmann, E., Dessaux, Y. (1995). A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria.

Applied and Environmental Microbiology, 61(2), 793–796.

<https://doi.org/10.1128/aem.61.2.793-796.1995>

Harris-Valle, C., Esqueda, M., Valenzuela-Soto, E. M., Castellanos, A. E. (2009,

December). *Tolerancia al estrés hídrico en la interacción planta-hongo micorrízico arbuscular: metabolismo energético y fisiología.*

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802009000400004#:~:text=Los%20hongos%20micorr%C3%ADzicos%20arbusculares%20mejoran,y%20agua%20en%20la%20planta

Hernández Vázquez, B., Alvarado Padilla, J. I., Valenzuela Palafox, J. A. (2011).

Descripción de las Variedades de Trigo para el Valle de Mexicali, B.C. y Norte de Sonora (1st ed.). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

<https://www.compucampo.com/tecnicos/descripcionvars-trigo-mexicali.pdf>

- Huertas, V., Jiménez, A., Diáñez, F., Chelhaoui, R., Santos, M. (2024). Importance of dark septate endophytes in agriculture in the face of climate change. *Journal of Fungi*, 10(5), 329. <https://doi.org/10.3390/jof10050329>
- Judkins, G., Myint, S. (2012). Spatial variation of soil salinity in the Mexicali Valley, Mexico: Application of a practical method for agricultural monitoring. *Environmental Management*, 50(3), 478–489. <https://doi.org/10.1007/s00267-012-9889-3>
- Kjeldahl, J. (1883). Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Fresenius Zeitschrift Für Analytische Chemie*, 22(1), 366–382. <https://doi.org/10.1007/bf01338151>
- McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115(3), 495–501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- Mendez, M. O., Glenn, E. P., & Maier, R. M. (2007). Phytostabilization Potential of Quailbush for Mine Tailings. *Journal Of Environmental Quality*, 36(1), 245-253. <https://doi.org/10.2134/jeq2006.0197>
- Oburger, E., Schmidt, H. (2016). New methods to unravel rhizosphere processes. *Trends in Plant Science*, 21(3), 243–255. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.12.005>
- Oliart-Ros, R. M., Manresa-Presas, Á., Sánchez-Otero, M. G. (2016, December). Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico.

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-78582016000200079

Olsen, S.R., Cole, C.V. Watanabe, F.S. (1954) Estimation of Available Phosphorus in Soils by Extraction with Sodium Bicarbonate. USDA Circular No. 939, US Government Printing Office, Washington DC.

Payne, B. R., Quijano, L., Carlos Latorre, D. (1979). Environmental isotopes in a study of the origin of salinity of groundwater in the Mexicali Valley. *Journal of Hydrology*, 41(3), [https://doi.org/10.1016/0022-1694\(79\)90062-3](https://doi.org/10.1016/0022-1694(79)90062-3)

Phillips, J., Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158-IN18. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(70)80110-3)

Rillig, M. C., & Mummey, D. L. (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171(1), 41-53. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x>

Secretaría de medio ambiente y recursos naturales (SEMARNAT). (2002).

NOM-021-RECNAT-2000: *Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis*. Estados Unidos Mexicanos: Distrito Federal (Actualmente Ciudad de México).

Smith, S. E., & Read, D. (2008). Mycorrhizal symbiosis. En *Elsevier eBooks* (3.^a ed.). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-370526-6.x5001-6>

Solís-Dominguez, F. A., White, S. A., Hutter, T. B., Amistadi, M. K., Root, R. A., Chorover, J., Maier, R. M. (2012). Response of Key Soil Parameters during

Compost-Assisted Phytostabilization in Extremely Acidic Tailings: Effect of Plant Species. *Environmental Science & Technology*, 46(2), 1019–1027.

<https://doi.org/10.1021/es202846n>

Vallejos, P. (2018). Ácidos y Bases: Indicadores de pH. *www.academia.edu*.

https://www.academia.edu/37092744/%C3%81cidos_y_Bases_Indicadores_de_pH

Vega-Celedón, P., Martínez, H. C., González, M., Seeger, M. (2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*, 37, 33–39. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v37s1/ctr05s116.pdf>

Walkley, A.J., Black, I.A. (1934) Estimation of soil organic carbon by the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37, 29-38.

Ward, E. (2001). Salt of the River, Salt of the Earth: Politics, Science and Ecological

Diplomacy in the Mexicali Valley (1961-1965). *Frontera Norte*, 13(26), Article 26.