

## ASLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE MICROORGANISMOS OBTENIDOS DE NÓDULOS DE FRIJOL EN EL NORTE DE SINALOA, MÉXICO

### ISOLATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF MICROORGANISMS OBTAINED FROM BEAN NODULES IN NORTHERN SINALOA, MEXICO

Nataly **López-Soto** y Araceli **Ruiz-Fierro**

#### Resumen

La agricultura es una de las actividades más importantes en el estado de Sinaloa, pero existen varios estudios sobre ciertos problemas ambientales consecuencia de esta práctica, destacando aquellos relacionados con el uso del agua, el impacto ambiental causado por las prácticas agrícolas, contaminación y el uso desmedido de agroquímicos, siendo este último objeto de debate por las consecuencias al medio ambiente, a la salud humana y al suelo. En los cultivos agrícolas sembrados en el año 2017, se empleó fertilización química casi en un 100% de su superficie lo cual, trae como consecuencia alteraciones en los flujos de nutrientes hacia las costas, así como, en el ciclo global del nitrógeno. El cultivo del frijol es una actividad económica y de subsistencia fundamental para muchas familias en el país, es parte la dieta de la población mexicana, por lo cual, la sociedad busca

satisfacer las demandas de alimentos a través de la agricultura para erradicar el hambre en el mundo de acuerdo con los objetivos del desarrollo sustentable, pero se requiere de estrategias para mejorar la producción y el respeto a la diversidad de los procesos, el buen manejo de suelo y de los nutrientes. El uso de biofertilizantes contribuye a la absorción y asimilación de nutrientes sin contaminar al medio ambiente disminuyendo los efectos de la fertilización sintética sin perder la rentabilidad de la actividad a través del uso microorganismos de vida libre y simbióticos que fijan el nitrógeno en las plantas, el cual es un proceso de bajo costo y ambientalmente sustentable. Por tal motivo, se colectaron muestras de raíces de frijol con nódulos de los municipios de Ahome y El Fuerte, se incubaron en medio ELMARC a una temperatura de 28°C, en un periodo de 2 a 10 días para su identificación morfológica y molecular de

los aislados encontrados. Se identificaron 4 aislados dentro del género *Pseudomonas*, afirmando que otras bacterias inductoras de nódulos no rizobiales que habitan dentro de los nódulos de las leguminosas participando en la expresión de algunos genes reportados que desencadenan la formación nódulos y fijación de nitrógeno atmosférico que puedan ser usados en los sistemas agrícolas y con ello contribuir en un futuro a minimizar el uso de fertilizantes nitrogenados inorgánicos, mejorar la sustentabilidad de la tierra y la reducción de los gases de efecto invernadero.

**Palabras clave:** fijación de nitrógeno, biofertilizantes, agricultura.

### Abstract

Agriculture is one of the most important activities in the state of Sinaloa but there are several studies on certain environmental problems resulting from this practice, highlighting those related to the use of water, the environmental impact caused by agricultural practices, pollution and the use excessive. of agrochemicals, the latter being the subject of debate due to the consequences to the environment, human health and the soil. In the agricultural crops planted in 2017, chemical fertilization was used on almost 100% of their surface, which results in alterations in nutrient flows to the coasts as well as in the global nitrogen cycle. Bean cultivation is a fundamental economic and subsistence activity for many families in the country; it is part of the diet of the Mexican

population, which is why society seeks to satisfy food demands through agriculture to eradicate hunger. in the world in accordance with the objectives of sustainable development, but strategies are required to improve production and respect for the diversity of processes, good soil and nutrient management. The use of biofertilizers contributes to the absorption and assimilation of nutrients without contaminating the environment, reducing the effects of synthetic fertilization without losing the profitability of the activity through the use of free-living and symbiotic microorganisms that fix nitrogen in plants, which is a low-cost and environmentally sustainable process. For this reason, samples of bean roots with nodules were collected from the municipalities of Ahome and El Fuerte, they were incubated in ELMARC medium at a temperature of 28°C, in a period of 2 to 10 days for their morphological and molecular identification of the isolates found. 4 isolates are identified within the genus *Pseudomonas*, stating that other non-rizobial nodule-inducing bacteria that live within the nodules of legumes participate in the expression of some reported genes that trigger the formation of nodules and fixation of atmospheric nitrogen that can be used in agricultural systems and thereby contribute in the future to minimizing the use of inorganic nitrogen fertilizers, improving the sustainability of the land and the reduction of greenhouse gases.

**Keywords:** nitrogen fixation, biofertilizers, agriculture.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos principales de la agricultura es el satisfacer las necesidades alimentarias actuales de la sociedad, con la cantidad excedente de disponibilidad para exportación y futuros propósitos (Garcés y Quiroz, 2019). Para aumentar los rendimientos en la producción agrícola, el productor ha recurrido al uso de insumos químicos, desde la llamada

“revolución verde”, que causó un aumento en el rendimiento por unidad de área en la producción de cultivos, para dar respuesta a las demandas alimentarias de una población que aumentaba cada vez más (Kumar et al., 2019). Sin embargo, con el surgimiento de los Objetivos de Desarrollo Sustentable (ODS), los cuales están relacionados con todos los desafíos actuales que enfrentamos en cuestiones ambientales, políticas y económicas, además de la importancia que tiene la gestión de los recursos naturales.

Actualmente, en la mayoría de los cultivos agrícolas se emplean de manera excesiva los fertilizantes químicos pero su uso es objeto de debate entre la población por las consecuencias al medio ambiente y a la salud humana (Galaviz y Fontalvo, 2024). El exceso de estos compuestos tiene efectos negativos sobre el ambiente como la erosión de suelo, la contaminación y la eutrofización de las aguas causado por los residuos de los fertilizantes químicos ocasionando la muerte de peces y otros seres vivos, generando pérdida de la diversidad biológica incluyendo la microbiota de los suelos. Además, que estos químicos afectan negativamente al suelo en términos de agotamiento de la capacidad de retención de agua, fertilidad, aumento de la salinidad y disparidad en los nutrientes (Apáez et al., 2019; Cuadras et al., 2021), todas estas actividades van en contra de lo planteado en el ODS 15, que establece “detener e invertir la degradación de las tierras y detener la pérdida de biodiversidad”, por lo que se deben tomar las medidas requeridas en los sistemas agrícolas para apoyar a la seguridad alimentaria con las mínimas afectaciones a los ecosistemas.

Para contribuir con el desarrollo sustentable se requiere de estrategias en donde estos insumos agrícolas se reduzcan, para continuar asegurando su rendimiento sin el deterioro de la fertilidad del suelo y otros factores involucrados (Cruz et al., 2021). Particularmente, en la región norte del estado de Sinaloa se ha observado que la actividad agrícola es el factor más importante en la alteración de los flujos de nutrientes provenientes de los eventos de fertilización principalmente de nitrógeno y fósforo hacia las costas (De Calidad, 2019). Algunos fertilizantes químicos también tienen impactos negativos sobre la salud, como es el caso de la urea, la cual es usada como la principal fuente de nitrógeno en los cultivos agrícolas (Morales et al., 2019). Así como, las actividades humanas han alterado el ciclo global del nitrógeno, debido a su elevado aporte asociado a la agricultura ocasionando cambios en diversos ecosistemas. Sin embargo, los impactos ambientales asociados repercuten en el agotamiento de los recursos naturales, en términos de suelo, nutrientes, agua y energía; en la interrupción de los ciclos biogeoquímicos debido al impacto causado a los ecosistemas terrestres con actividades agrícolas intensivas (ODS 15), y

todos los demás efectos característicos en cualquier etapa de la cadena de suministro de alimentos como lo menciona el objetivo 12 del desarrollo sustentable (Naciones Unidas, 2024).

Por tal motivo en el estado de Sinaloa que destaca por sus prácticas agrícolas. En la actualidad, se tienen varios estudios sobre la problemática ambiental entorno al uso del agua, al impacto y la contaminación que ocasiona el uso desmedido de agroquímicos (Cuadras et al., 2021); principalmente de compuestos de nitrógeno, que visto desde el punto ambiental tienen graves efectos secundarios para el medio ambiente, daños al subsuelo y la pérdida del microbioma natural tanto del suelo como de la planta (Bernal, 2021).

La sociedad busca satisfacer las demandas de alimentos a través de la agricultura para erradicar el hambre en el mundo de acuerdo con los objetivos del desarrollo sustentable pero esta actividad depende en gran medida de la fertilización química, considerando un hecho relevante que en el año 2017 en la entidad casi en un 100% de la superficie sembrada se empleó fertilización química de acuerdo con los datos que reportó el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER-SIAP, 2018).

Dentro de los cultivos que se siembran en el estado, destaca principalmente el cultivo del frijol por ser uno de los alimentos más antiguos que el hombre conoce y se encuentra entre las primeras plantas alimenticias domesticadas, es un cultivo central en la dieta de la población mexicana por su alto contenido proteico, la cantidad de carbohidratos, vitaminas y minerales, además de ser, una actividad económica y de subsistencia fundamental para muchas familias en el país (Cantaro et al., 2019; Maqueira et al., 2021).

Por tal motivo, la agricultura actual tiene que implementar prácticas más amigables con el medio ambiente; la renovación de las prácticas agrícolas para cumplir con el ODS 12, es un paso hacia la sustentabilidad del sector agrícola en cuanto a su “producción y consumo” para sostener los medios de subsistencia de las generaciones actuales y futuras, sin olvidar que es urgente reducir la huella ecológica mediante un cambio en los métodos de producción y consumo de bienes y recursos.

Una estrategia para mitigar todos los efectos antes mencionados, es el uso de microorganismos benéficos (biofertilizantes), que contribuyen a la absorción y asimilación de nutrientes, los cuales ofrecen efectos favorables que influyen en la adecuada nutrición de las plantas acelerando los procesos microbianos (Chávez et al., 2020; Cruz et al., 2021) y su rendimiento sin contaminar al medio ambiente; siendo considerada una estrategia

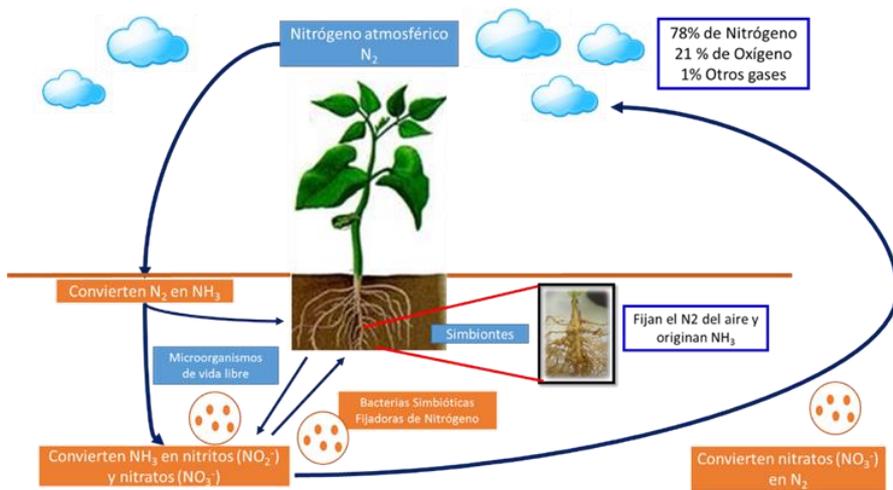
sustentable para disminuir los efectos de la fertilización sintética sin perder la rentabilidad de la actividad (Guillén et al., 2023).

Los biofertilizantes se definen como formulaciones, productos biológicamente activos o inoculantes microbianos que contiene una o más bacterias u hongos benéficos (Beltrán y Bernal, 2022) y se pueden incluir las algas verdes azules (Araujo y Collahuazo, 2019). Estos productos contienen células vivas o latentes de cepas de microorganismos que colonizan a la rizósfera de las plantas incrementando la disponibilidad de los nutrientes principales y promoviendo el crecimiento del cultivo utilizados para su aplicación en semillas, suelo o áreas de compostaje (Florez et al., 2021).

En los últimos años, estos productos han ganado popularidad debido a que se agregan a las plantas, otorgándole beneficios para su crecimiento, son respetuosos con el medio ambiente y su uso prolongado mejora sustancialmente la fertilidad del suelo e incluyen una fuente económica de nutrientes, excelentes proveedores de micronutrientes y de materia, destacando su importancia por la reducción de las aplicaciones de agroquímicos y sus impactos negativos (Beltrán y Bernal, 2022).

Algunos microorganismos que habitan la zona de las raíces (rizósfera) pueden ser aislados y utilizados en beneficio de los sistemas agrícolas, principalmente los microorganismos antagonistas a fitopatógenos y los que promueven el crecimiento vegetal (Loera y Caamal, 2023), como es el caso de las bacterias fijadoras de nitrógeno (Beltrán y Bernal, 2022). La fijación biológica de nitrógeno (FBN), es un mecanismo que consiste en la reducción enzimática del dinitrógeno atmosférico en forma gaseosa ( $N_2$ ) a formas inorgánicas como nitrato ( $NO_3^-$ ) y amonio ( $NH_4^+$ ) forma en que solamente las plantas toman el nitrógeno directamente desde el suelo por microorganismos de vida libre (*Azotobacter*, *Cianobacterias* y *Pseudomonas*) y simbióticos (*Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium* y *Sinorhizobium*) (Morales et al., 2019; Cruz et al., 2021; Beltrán y Bernal, 2022), estos últimos, se asocian a las leguminosas a través del intercambio de carbono por nitrógeno entre ambos simbioses, ya que para las plantas el nutriente más limitado es el nitrógeno (Morales et al., 2019) y los transforman en compuestos absorbibles y metabolizables (Figura 1), dicha reacción se lleva a cabo en estructuras que se forman en las raíces de las plantas, resultado de la interacción con las bacterias fijadoras de nitrógeno, llamadas nódulos; considerándose un proceso de bajo costo, ambientalmente sustentable y que ha llevado a algunos agricultores a buscar estrategias de manejo de nitrógeno en los suelos (Mora et al., 2018; Isidra y Valdés, 2022).

El presente estudio tuvo como objetivo el aislamiento y caracterización de microorganismos nativos del suelo del frijol, se realizaron muestreos en campo para coleccionar raíces de frijol con nódulos, en la región norte del estado de Sinaloa, México; las cuales fueron identificadas morfológica y molecularmente para su uso potencial en la fijación biológica de frijol en el cultivo de frijol.



**Figura 1.** Representación esquemática del proceso de fijación biológica del nitrógeno por microorganismos de vidas libres y simbióticas.

**Fuente:** Mora et al., (2018).

## MÉTODOS Y TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN

### a) Recolección de nódulos de raíces de frijol

Se tomaron muestras de suelos agrícolas con siembra de frijol con 50 a 60 días post siembra (en etapa de floración) ubicados en diferentes lotes de los municipios de Ahome y El Fuerte, para ello se realizó un muestreo dirigido de cinco de oros con guía de la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte, el cual consistió en trazar un cuadrante y tomar cinco puntos equidistantes, cuatro puntos en los extremos y un punto al centro de la parcela a muestrear. Se tomaron 5 plantas por cada punto de muestreo; así mismo, se tomó referencia de la coordenada geográfica. Las plantas de frijol

fueron analizadas de su sistema radicular y las raíces que presentaban nódulos (Figura 2) fueron colectadas en tubos Falcón de 50 ml con gel de sílice y algodón para resguardarlas, se refrigeraron a 4°C para su posterior tratamiento.



**Figura 2.** Raíces con frijol con nódulos muestreadas en lotes de Ahome y El Fuerte.

### **b) Aislamiento de bacterias a partir de nódulos de frijol**

La desinfección de nódulos de raíces de frijol se realizó por inmersión sucesiva en etanol al 95% (v/v) por un minuto, seguido por una desinfección en hipoclorito de sodio al 3% (v/v) durante 3 minutos, posteriormente, se enjuagaron los nódulos con agua destilada estéril hasta retirar el olor a lejía (Somasegaran y Hoben, 2012). Los nódulos desinfectados fueron macerados en tubos eppendorf de 1.5 ml estériles con un pistilo, se tomó una asada de la muestra macerada, la cual fue sembrada por estría de acotamiento en cajas Petri con medio de cultivo ELMARC (10.0 g de manitol, 0.5 g de  $K_2HPO_4$ , 0.2 g de  $MgSO_4$ , 0.1 g de NaCl, 0.5 g de extracto de levadura y 15 g de agar bacteriológico para un litro de agua destilada), se ajustó el pH a 6.8 y se agregó 10 ml de rojo congo a una concentración de 25 ppm, las cajas Petri se incubaron a una temperatura de 28°C, en un periodo de 2 a 10 días (Robledo et al., 2012).

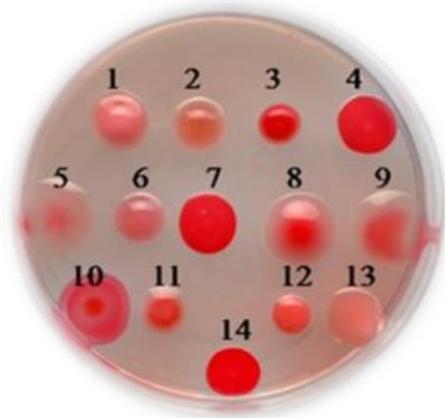
### c) Identificación morfológica de los aislados obtenidos de los nódulos de frijol

Las cajas Petri con medio ELMARC se incubaron a una temperatura de 28°C, en un periodo de 2 a 10 días, se observó el crecimiento diario de las colonias bacterianas (Figura 3 y Figura 4) de acuerdo a la morfología descrita en la literatura por Fendri et al., (2010) y Robledo et al., (2012) en la Figura 3 se representan las colonias 1. *R. phaseoli*, 2. *E. meliloti*, 3. *M. loti*, 4. *B. elkanii*, 5. *P. trifolii*, 6. *A. caulinodans*, 7. *D. neptuniae*. En la Figura 4 se describen los géneros: 1. *R. hainanense*, 2. *R. leguminosarum*, 3. *R. galegae*, 4. *R. etli*, 5. *R. lusitanum*, 6. *R. loessense*, 7. *R. giardinii*, 8. *R. mongolense*, 9. *R. indigoferae*, 10. *R. tropici*, 11. *R. yanglingense*, 12. *R. huautlense*, 13. *R. gallicum*, 14. *R. cellulosilyticum*; las colonias características del género en estudio fueron aisladas y purificadas, para su uso y conservación.



**Figura 3.** Representación de tipo de cepas representativa de diferentes géneros del proceso de fijación biológica del nitrógeno.

Fuente: Robledo et al., (2012).



**Figura 4.** Representación de tipos de cepas representativas del género *Rhizobium* del proceso de fijación biológica del nitrógeno.

**Fuente:** Robledo et al., (2012).

#### d) Caracterización molecular de las cepas nativas

Las cepas obtenidas fueron crecidas en placas con medio agar nutritivo durante 48 horas para extraer el ADN genómico con DNAzol®, de acuerdo a la metodología descrita por el fabricante (Invitrogen, catalogo número 10503-027; Lote número 52561707). La integridad del ADN fue por electroforesis y calidad en el NanoDrop One/One© UV-VIS, y se almacenó a -20°C. Posteriormente, el ADN extraído fue utilizado como templado para amplificar un fragmento la región 16S rDNA por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con los oligos F2C (5'-AGA GTT TGA TCA TGG CTC-3') y C (5'-ACG GGC GGT GTG TAC-3') para amplificar un fragmento de aproximadamente ~1500 pb de 16S rDNA de cada aislado (Shi et al., 1997). La amplificación se llevó a cabo en una reacción de 25 µl que contenía 5 µl de Buffer de Taq 10X, 2 µl de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 0.5 µl de una mezcla de dNTP's (10 mM), 0.5 µl de Taq Polimerasa (50 U/µl), 2 µl de cada oligo (10 µM) y 2 µl de ADN, el programa de amplificación consistió en 1 ciclo (95°C, 4 min), 32 ciclos (95°C, 1 min; 52°C, 1 min; 72°C, 2 min) y 1 ciclo (72°C, 5 min) en un termociclador (Bio-Rad C1000). Los productos de PCR se visualizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1% (p/v), teñido con GelRed, se utilizó un sistema de foto-documentación Chemidoc (Bio-Rad). Posteriormente, se realizó la purificación de los productos de PCR, utilizando el kit QIAquick® PCR Purification, siguiendo las indicaciones del fabricante, y su respectiva cuantificación

espectrofotométrica, en un NanoDrop One/One®, para su envío al proceso de secuenciación.

### e) **Análisis filogenético**

Las secuencias obtenidas fueron comparadas con el banco de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI; <http://www.ncbi.gov>), utilizando la plataforma BLASTn para determinar la similitud de las secuencias obtenidas con organismos que mostraran una identidad mayor al 90%, como criterio de identificación. El árbol filogenético se construyó en el programa MEGA X con el método de máxima verosimilitud (Tavaré, 1986) y el modelo de sustitución de dos parámetros (Kimura, 1980). La solidez de la topología se evaluó mediante la prueba de bootstrap usando 1000 réplicas, se incluyeron las secuencias de cuatro aislados (A4, A8, A9 y A33) y cepas de referencia de los géneros más cercanos, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* y *Pseudomonas*.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la mayoría de los cultivos agrícolas que se siembran en la región, se emplean de manera excesiva fertilizantes químicos causando daños irreversibles pero estas sustancias, al no ser absorbidas por las plantas, comienzan a acumularse en el agua subterránea (Galindo et al., 2020).

Una estrategia ambiental para reducir los efectos de la fertilización química surge de manera natural de la asociación entre las especies del género *Rhizobium* y las leguminosas como el frijol ofreciendo una fuente renovable de nitrógeno para la agricultura, razón por la cual este estudio fue dirigido principalmente a nódulos de esta planta. Se colectaron 25 raíces con nódulos de frijol en un total de 83 lotes muestreados (63 del Municipio de Ahome y 20 del municipio de El Fuerte). De las cuales se obtuvieron 4 aislados a partir de nódulos de frijol, que fueron analizados de acuerdo a su crecimiento, color, forma, textura, elevación y margen de las colonias obtenidas del aislamiento (Tabla 1), basados solo en la caracterización morfológica dichos aislados con similitud al género *Rhizobium*, siguiendo la descripción en la literatura de Robledo et al., (2012).

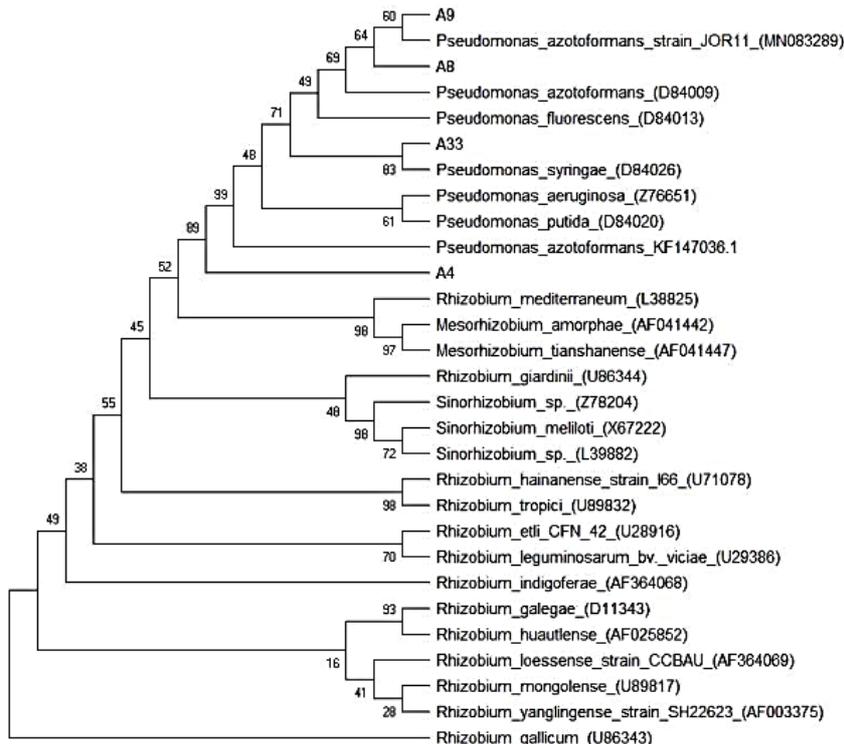
Tabla 1. Características de crecimiento de aislados de nódulos de frijol en el Norte de Sinaloa.

Aislados	Crecimiento (2 a 5 días)	Color	Forma	Textura	Elevación	Margen
A8	Moderado	Rojo	Granular	Suave- Mucilag inosa	Convexa	Ondulad a
A33	Abundante	Rojo	Puntiforme	Suave	Plana	Lobulad a
A4	Ligero	Rojo	Granular	Suave	Elevada	Ondulad a
A9	Ligero	Coral	Circular	Suave	Convexa	Entera

Fuente: construcción propia

Sin embargo, al llevar a cabo la identificación molecular se observa que los aislados caracterizados corresponden al género *Pseudomonas* con un 100% de identidad. El análisis de las secuencias de la zona 16S del ADN ribosomal de los aislados A4, A8, A9 y A33 mostró una identidad del 100% a especies del género *Pseudomonas* lo cual se confirmó al realizar un árbol filogenético con las secuencias de los aislados y con las secuencias de referencia obtenidas del Genbank; donde, el aislado A4 corresponde a *Pseudomonas sp.*, A8 y A9 a *Pseudomonas azotoformans*, mientras que el aislado A33 a *Pseudomonas syringae* (Figura 5).

De acuerdo con la literatura revisada, por mucho tiempo se describió a los rizobios como los únicos microorganismos presentes en los nódulos de leguminosas (Ramírez et al., 2019; Bernal, 2021) per aunque también, habitan otras bacterias como son las endófitas de géneros *Rhizobium*, *Bacillus* y *Enterobacter*, que se encuentran dentro de los nódulos de las leguminosas (Isidra y Valdés, 2022), las cuales pueden agruparse como bacterias inductoras de nódulos no-rizobiales y endófitos no formadores de nódulos (Castro et al., 2021; Delgado et al., 2022).



**Figura 5.** Relaciones filogenéticas de aislados basados en la secuencia 16S rDNA obtenidas con máxima verosimilitud con el modelo de sustitución de dos parámetros de Kimura y 1000 bootstraps.

**Fuente:** construcción propia.

El género *Pseudomonas* ha sido identificado como las bacterias inductoras de nódulos no rizobiales que habitan dentro de los nódulos de las leguminosas, que intervienen con la expresión de algunos genes reportados que desencadenan la formación nódulos y fijación de nitrógeno atmosférico conocidos como genes nod (Delgado et al., 2022) y nif (Aasfar et al., 2024). Además, de ser un grupo dominante asociadas a nódulos de soya (Irala et al., 2022) e incluir a especies que habitan en los suelos agrícolas con características que las hacen adecuadas para promover el crecimiento vegetal en plantas a través de diferentes mecanismos como la solubilización de fosfatos y mejora en el rendimiento (Prasad et al., 2019; Santoyo et al., 2021) presentando un potencial importante para la realizar preparados de microorganismos o bioinoculantes que pueden ser aplicados al suelo debido

a sus múltiples actividades de biofertilización mejorando el estado de los nutrientes del suelo con el fin de sustituir parcial o totalmente la fertilización inorgánica (González et al., 2021).

Las *Pseudomonas* en la fijación de nitrógeno otorga ciertas ventajas a las plantas, como el aumento de los pelos radiculares, presencia de nódulos y promoción de la actividad de nitrato reductasa la cual permite a la planta obtener el nitrógeno (Fatimah et al., 2021). Así como, son conocidas por su capacidad para oxidar una gran variedad de compuestos orgánicos para su degradación, desnitrificación y fijación de nitrógeno; además de estar presente en diversos nichos ecológicos (Palmero et al., 2020; Aasfar et al., 2024).

El presente trabajo reporta a *Pseudomonas sp.*, *P. azotoformans* y *P. syringae*; *P. azotoformans* las cuales se ha relacionado con fijación de nitrógeno principalmente en cereales (Palmero et al., 2020) y como agente de control biológico (Aasfar et al., 2024). Se atribuye que la presencia de esta bacteria en los suelos del norte de Sinaloa puede deberse a que, en los lotes agrícolas muestreados entre las comunidades de Ahome y El Fuerte, tradicionalmente se siembra maíz durante el ciclo agrícola primavera-verano y seguido por el cultivo de frijol en el ciclo agrícola otoño- invierno, destacando así, que los ecosistemas terrestres, incluyendo los suelos agrícolas, dependen en gran medida de la actividad microbiana del suelo y de los ciclos bioquímicos de los nutrimentos.

Los microorganismos benéficos del suelo, particularmente los del género *Pseudomonas* y otros como *Bacillus*, *Arthrobacter* y *Azotobacter* que intervienen en diversas funciones esenciales para las plantas como la producción de fitohormonas, facilidad en la captación de agua y solubilización de minerales y nutrimentos, incrementan la tolerancia a la sequía y salinidad, protegen a la planta contra organismos patógenos, mejoran la estructura y calidad del suelo y descomponen sustancias tóxicas (Tariq y Latif, 2021).

El análisis de la biodiversidad de microorganismos, presentes en el norte del estado de Sinaloa asociados a nódulos de frijol, con potencial para la fijación biológica de nitrógeno, reporta por primera vez a *P. syringae* y *P. azotoformans* aisladas de nódulos de frijol o también pueden llamarse endófitos de los nódulos pueden ser considerados como agentes de control biológico de enfermedades y promoción del crecimiento de las plantas, la fitorremediación, la solubilización de fosfatos, la fijación de nitrógeno, la modulación del metabolismo de las plantas y la señalización de fitohormonas que conducen a la adaptación del estrés biótico/abiótico ambiental (Castro et al., 2021), pero con estudios adicionales que

comprendan la función de dichos aislados y el potencial para ser utilizados en prácticas agrícolas son requeridos.

## CONCLUSIONES

El nitrógeno es el principal nutriente que limita el crecimiento en las plantas esto se debe por la falta de compuestos disponibles. El interés de reducir los consumos de agroquímicos y la fijación biológica de nitrógeno sea vista por los agricultores como una alternativa para el cuidado del medio ambiente, económica y sustentable, la fertilización a partir de nitrógeno es uno de los más importantes factores en la generación de cultivos con altos rendimientos y debido a la interacción entre las bacterias fijadoras de nitrógeno para el suministro de este elemento a los cultivos de leguminosas y así la planta reduzca la necesidad de aplicaciones de fertilizantes nitrogenados inorgánicos con la aplicación de inoculantes de origen biológico.

La búsqueda de especies bacterianas que puedan ser empleadas en los sistemas agrícolas y con ello contribuir en un futuro a minimizar el uso de fertilizantes nitrogenados inorgánicos, la sustentabilidad de la tierra y la reducción de los gases de efecto invernadero. El presente estudio soporta la evidencia de que especies diferentes a rizobios son capaces de colonizar nódulos; en este caso se reporta a *Pseudomonas sp.*, *P. azotoformans* y *P. syringae*; *P. azotoformans* pueden tener roles en la fijación biológica del nitrógeno y/o en el control de enfermedades de plantas, sin embargo, estudios adicionales son requeridos para demostrar el potencial de estas especies como biofertilizantes, identificar cepas promotoras de crecimiento vegetal con la capacidad de biorremediar suelos contaminados con metales pesados y de incrementar la tolerancia a salinidad en cultivos con cepas de este género.

## LITERATURA CITADA

Aasfar, A., Meftah Kadmiri, I., Azaroual, S. E., Lemriss, S., Mernissi, N. E., Bargaz, A., ... & Hilali, A. (2024). Agronomic advantage of bacterial biological nitrogen fixation on wheat plant growth under contrasting nitrogen and phosphorus regimes. *Frontiers in Plant Science*, *15*, 1388775.

- Apáez-Barrios, P., Lara-Chávez, M. B. N., Apáez-Barrios, M., & Raya-Montaño, Y. A. (2019). Producción y rentabilidad de calabacita con aplicación de zeolita y fertilizante químico. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(SPE23), 211-221.
- Araujo-Abad, S., & Collahuazo-Reinoso, Y. (2019). Producción de biofertilizantes a partir de microalgas. *Cedamaz*, 9(2), 81-87.
- Beltrán-Pineda, M. E., & Bernal-Figueroa, A. A. (2022). Biofertilizantes: alternativa biotecnológica para los agroecosistemas. *Revista Mutis*, 12(1).
- Bernal, P. (2021). Microorganismos de interés para la agricultura del futuro: agentes de biocontrol y fijadores de nitrógeno. *Revista Alianzas y Tendencias BUAP (AyTBUAP)*, 6(21), 1-11.
- Cantaro-Segura, H., Huaranga-Joaquín, A., & Zúñiga-Dávil, D. (2019). Efectividad simbiótica de dos cepas de *Rhizobium* sp. en cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Perú. *Idesia (Arica)*, 37(4), 73-81.
- Castro-del Ángel, E., Hernández-Castillo, F. D., Gallegos-Morales, G., & Ochoa Fuentes, Y. M. (2021). Bacterias endófitas y su efecto en la inducción de resistencia sistémica en el cultivo de frijol contra *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. *Biotecnia*, 23(3), 167-174.
- Chávez-Díaz, I. F., Zelaya Molina, L. X., Cruz Cárdenas, C. I., Rojas Anaya, E., Ruíz Ramírez, S., & Santos Villalobos, S. D. L. (2020). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(6), 1423-1436.
- Cuadras-Berrelleza, Aldo Alan, Peinado-Guevara, Víctor Manuel, Peinado-Guevara, Héctor José, López-López, José de Jesús, & Herrera-Barrientos, Jaime. (2021). Agricultura intensiva y calidad de suelos: retos para el desarrollo sustentable en Sinaloa. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(8), 1401-1414. Epub 02 de mayo de 2022. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i8.2704>
- Cruz-Cárdenas, C. I., Zelaya Molina, L. X., Sandoval Cancino, G., Santos Villalobos, S. D. L., Rojas Anaya, E., Chávez Díaz, I. F., & Ruíz Ramírez, S. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(5), 899-913.
- DE CALIDAD, B. E. E. Í. (2019). *ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE*

*INVESTIGACIONES Y ESTUDIOS DEL MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO* (Doctoral dissertation, INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL).

- Delgado-Álvarez, A., Martín-Alonso, G. M., & Rivera-Espinosa, R. A. (2022). Beneficios de la coinoculación de Hongos Micorrizógenos Arbusculares y rizobios en el cultivo del frijol. *Cultivos Tropicales*, 43(3), 1-13.
- Fatimah, N., Dar, S. A., Ashraf, S., Rashid, S., Mukhtar, Y., & Mir, S. H. (2021). Biofertilizers for Sustainable Agriculture-An Overview. *Journal homepage: <http://www.ijcmas.com>*, 10(06), 2021.
- Fendri, I., Chaari, A., Dhoub, A., Jlassi, B., Abousalham, A., Carrière, F., ... & Abdelkafi, S. (2010). Isolation, identification and characterization of a new lipolytic *Pseudomonas* sp., strain AHD-1, from Tunisian soil. *Environmental technology*, 31(1), 87-95.
- Florez-Jalixto, M., Roldán-Acero, D., Omote-Sibina, J. R., & Molleda-Ordoñez, A. (2021). Biofertilizantes y bioestimulantes para uso agrícola y acuícola: Bioprocesos aplicados a subproductos orgánicos de la industria pesquera. *Scientia Agropecuaria*, 12(4), 635-651.
- Galaviz, M. A. A., & Fontalvo-Buelvas, J. C. (2024). Conductas de riesgo asociadas al manejo de plaguicidas químicos por parte de agricultores del norte de Sinaloa, México. *Perspectivas Rurales Nueva Época*, 22(43), 1-22.
- Galindo, L. A. G., Rivas, A. C., Melendez, J. P., & Mayorquín, N. (2020). Alternativas microbiológicas para la remediación de suelos y aguas contaminados con fertilizantes nitrogenados. *Scientia et technica*, 25(1), 172-183.
- Garcés, R. P., & Quiroz, Y. S. (2019). Enfoques y factores asociados a la inseguridad alimentaria. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 18(1), 15-24.
- Guillén, P. I. V., Beltrán, B. A. A., Quiróz, P. H. C., & Medina, L. M. V. (2023). Efectos de la fertilización nitrogenada en el cultivo de lechuga (*lactuca sativa*) en el cantón Pedro Carbo, provincia del Guayas. *SATHIRI*, 18(1), 144-157.
- González-Salas, U., Gallegos-Robles, M. Á., Preciado-Rangel, P., García-Carrillo, M., Rodríguez-Hernández, M. G., García-Hernández, J. L., & Guzmán-Silos, T. L. (2021). Efecto de fuentes de nutrición orgánicas e inorgánicas mezcladas con biofertilizantes en la

producción y calidad de frutos de melón. *Terra Latinoamericana*, 39.

- Kimura, M. (1980). "A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences." *Journal of molecular evolution* 16(2): 111-120.
- Irala, M. I. F., Fois, D. A. F., & Enciso, C. R. (2022). Aplicación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en el cultivo de soja. *Revista de Investigación Científica y Tecnológica*, 6(1), 4.
- Isidra-Arellano, M. C., & Valdés-López, O. (2022). ¿Cómo controlan las leguminosas el número de nódulos para evitar comprometer su crecimiento y desarrollo? *Revista de Educación Bioquímica*, 41(2), 51-65.
- Kumar, R., Kumar, R., & Prakash, O. (2019). Chapter-5 the impact of chemical fertilizers on our environment and ecosystem. *Chief Ed*, 35(69), 1173-1189.
- Loera-Muro, A., & Caamal-Chan, M. G. (2023). Biopelículas en la rizósfera y su papel en la producción de compuestos antimicrobiales en el suelo. *Terra Latinoamericana*, 41.
- Maqueira-López, L. A., Roján-Herrera, O., Solano-Flores, J., & Milagros-Santana, I. (2021). Germinación de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes temperaturas. *Cultivos Tropicales*, 42(2).
- Mora-Romero, G. A., López-Soto, N., Ramírez, D. C., Martínez-Valenzuela, C., & Longoria-Espinoza, R. M. Fijación biológica de nitrógenos y abonos orgánicos: alternativas para el cultivo sustentable de frijol en Sinaloa. *Sustentabilidad, teoría, perspectivas y realidades*.
- Morales-Morales, E. J., Rubí-Arriaga, M., López-Sandoval, J. A., Martínez-Campos, Á. R., & Morales-Rosales, E. J. (2019). Urea (NBPT) una alternativa en la fertilización nitrogenada de cultivos anuales. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(8), 1875-1886.
- Palmero, F., Hang, S. B., Bigatton, E. D., Lucini, E., Davidenco, V., & Díaz-Zorita, M. (2020). Modificaciones en el crecimiento temprano de trigo (*Triticum aestivum* L.) en presencia de *Azospirillum brasilense* y de *Pseudomonas psychrophila*. *Agriscientia*, 37(1), 53-62.
- Prasad, M., Srinivasan, R., Chaudhary, M., Choudhary, M., & Jat, L. K. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture: perspectives and challenges. *PGPR amelioration in sustainable agriculture*, 129-157.

- Ramírez-Puebla, S. T., Ormeño-Orrillo, E., Rogel, M. A., López-Guerrero, M. G., López-López, A., Martínez-Romero, J., ... & Martínez-Romero, E. (2019). La diversidad de rizobios nativos de México a la luz de la genómica. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90.
- Robledo, M., L. Rivera, J. I. Jiménez-Zurdo, R. Rivas, F. Dazzo, E. Velázquez, E. Martínez-Molina, A. M. Hirsch and P. F. Mateos (2012). "Role of Rhizobium endoglucanase CelC2 in cellulose biosynthesis and biofilm formation on plant roots and abiotic surfaces." *Microbial cell factories* 11(1): 125.
- SADER-SIAP (2018). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Santoyo, G., Urtis-Flores, C. A., Loeza-Lara, P. D., Orozco-Mosqueda, M. D. C., & Glick, B. R. (2021). Rhizosphere colonization determinants by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Biology*, 10(6), 475.
- Shi, T., R. Reeves, D. Gilichinsky and E. Friedmann (1997). "Characterization of viable bacteria from Siberian permafrost by 16S rDNA sequencing." *Microbial Ecology* 33(3): 169-179.
- Somasegaran, P., & Hoben, H. J. (2012). *Handbook for rhizobia: methods in legume-Rhizobium technology*. Springer Science & Business Media.
- Tariq, S., Amin, A., & Latif, Z. (2021). 15. PCR based DNA fingerprinting of mercury resistant and nitrogen fixing Pseudomonas spp. *Pure and Applied Biology (PAB)*, 4(1), 129-136.
- Tavaré, S. (1986). "Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences." *Lectures on mathematics in the life sciences* 17(2): 57-86
- Naciones Unidas en su página de internet <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/>

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONAHCyT (Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología) por la beca otorgada a NLS. También, a la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte y al Laboratorio de Diagnostico Fitosanitario por facilitar los equipos, personal e instalaciones para el desarrollo de este trabajo de investigación. Además, a la M.C Gabriel

Herrera Rodríguez por su contribución especial a este proyecto de investigación y a la Dra. Karla Yeriana Leyva Madrigal por las facilidades otorgadas para el desarrollo de los análisis filogenéticos de los aislados.

## **SÍNTESIS CURRICULAR**

### **Nataly López Soto**

Ingeniera Química (Instituto Tecnológico de Los Mochis), Maestra en Recursos Naturales y Medio Ambiente (IPN), Doctora en Sustentabilidad (Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Guasave). Profesor de medio tiempo en el Centro De Estudios Tecnológicos Industrial y de Servicios No. 108. Profesor de asignatura del Departamento de Ingeniería Química, Bioquímica y Biología del Instituto Tecnológico de Los Mochis. Correo electrónico: [nataly.lopez.soto@gmail.com](mailto:nataly.lopez.soto@gmail.com) ORCID <https://orcid.org/0000-0002-6374-3165>

### **Araceli Ruiz Fierro**

Licenciada en Biología (Instituto Tecnológico de Los Mochis), Maestra en Fitopatología y Medio Ambiente (Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Los Mochis). Gerente técnico y signatario de Bacteriología de la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte. Correo electrónico: [ararf\\_21@hotmail.com](mailto:ararf_21@hotmail.com) ORCID <https://orcid.org/0000-0003-0912-3106>