

Análisis comparativo de la colonización microbiana en caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.)

G. F. Álvarez-Sánchez¹

J. B. Ponce-Noguez^{*}

H. L. Arias-de la Cruz^{2*}

Abstract:

Soil is the habitat of a great diversity of microorganisms that live in consortia, interacting with the ecosystem and intervening in edaphic processes for ecological balance. Microorganisms can adhere in surface of soil particles or interact with plant roots (rhizosphere). Therefore, to design strategies that increase soil fertility and crop yield, it's important characterize the rhizosphere microbial communities. Microbial characterization is performed using microscopic counting and serial dilution methods. The aim of this study was to evaluate the microorganisms density and diversity in non-rhizospheric soil and sugarcane rhizosphere using microscopic counting and serial dilution methods. The best population and diversity results were obtained with the serial dilution method. This method allows obtaining the population of microorganisms CFU counting, and determine the diversity of microorganisms in specific culture media for bacteria, fungi and actinomycetes.

Keywords: Rhizosphere, Microbial count, Soil, Microbiota

¹Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad Maya de Estudios Agropecuarios.

²Universidad Popular de la Chontalpa. División de Ciencias Básicas e Ingenierías.

³Colegio Superior Agropecuario Del Estado de Guerrero.

*Autores de correspondencia
H. L. Arias-de la Cruz
heydi.arias@upch.mx

Jesús-Benjamín Ponce-Noguez
jesus.ponce@unach.mx

Fecha de envío: 13/09/2024

Resumen:

En el suelo habitan el mayor número de microorganismos que se adaptan a microhábitats y viven en consorcios que interactúan con el ecosistema e intervienen en diversos procesos edáficos que mantienen el equilibrio ecológico del sistema. Los microorganismos se pueden encontrar adheridas a la superficie de las partículas del suelo como agregados o interactuando específicamente con las raíces de las plantas (rizosfera). Por ello, es de gran importancia la caracterización de las comunidades microbianas asociadas a los cultivos agrícolas para el diseño de estrategias que mejoren la fertilidad del suelo y el rendimiento de los cultivos. Existen diversos métodos para la caracterización microbiana, como el recuento microscópico y la cuenta viable por dilución seriada. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la densidad y diversidad de microorganismos en el tiempo en suelo no rizosférico y rizosfera de caña de azúcar bajo dos técnicas de recuento microbiano. Los mejores resultados tanto de población como diversidad se obtuvieron con la técnica de cuenta viable por dilución seriada, pues esta técnica permite establecer la población de microorganismos por medio del número de UFC, y determinar la diversidad de microorganismos en medios de cultivo específicos para bacterias, hongos y actinomicetos.

Palabras clave: Rizosfera, Recuento microbiano, Suelo, Microbiota

Introducción

El suelo es el lugar biológicamente más diverso y complejo de la tierra, pues en él habitan el mayor número de microorganismos que se adaptan a microhábitats y viven en consorcios que interactúan con el ecosistema e intervienen en diversos procesos edáficos que mantienen el equilibrio ecológico del sistema (Ayan *et al.*, 2021; Abakumov *et al.*, 2013).

La acción microbiana del suelo depende de la temperatura, aireación, pH y condiciones de humedad, así como de la competencia y antagonismos que se establecen entre los propios grupos de microorganismos. Las bacterias del género *Rhizobium* vive en simbiosis con leguminosas, fijando el nitrógeno en nódulos de las raíces de estas. Otras no-simbióticas, obtienen el sustrato del aire y la energía de la descomposición de residuos vegetales. La micorriza define la simbiosis entre un hongo y las raíces de una planta. En este caso, la planta recibe del hongo nutrientes minerales y agua, y el hongo obtiene hidratos de carbono y vitaminas que es incapaz de sintetizar (Ayan *et al.*, 2021; Pérez *et al.*, 2023).

Si hablamos del hábitat específico de las bacterias, algunas se pueden encontrar adheridas a la superficie de las partículas de suelo como agregados o interactuando específicamente con las raíces de las plantas (rizosfera), donde la concentración de bacterias por gramo de suelo



es mucho mayor, puesto que, las interacciones entre microorganismos y la rizosfera, satisfacen requerimientos nutritivos básicos para la planta y para las comunidades microbianas asociadas a ella (Cruz-Cárdenas *et al.*, 2021; Pérez *et al.*, 2023).

Por ello, es de gran importancia la caracterización de las comunidades microbianas asociadas a los cultivos agrícolas para el diseño de estrategias que mejoren la fertilidad del suelo y la producción de los cultivos, pues a través de las múltiples interacciones en la rizosfera, se ha probado su eficacia en el control de plagas, su efecto como organismos promotores de crecimiento vegetal y su incidencia en la mejora de la absorción de nutrientes como N y Ca (Viera-Arroyo, 2020; Cruz-Cárdenas *et al.*, 2021).

Existen diversos métodos para la caracterización microbiana. El recuento microscópico es una técnica común, rápida y poco costosa que permite determinar el número de células microbianas por observación directa en el microscopio, su gran ventaja es que la muestra puede utilizarse sin realizar diluciones. La técnica de cuenta viable es utilizada para determinar el número de microorganismos viables en un medio líquido, por lo general se realizan diluciones seriadas de 10^{-7} . pequeñas alícuotas de esas diluciones son sembradas en medio nutritivo en placa Petri para su posterior cuantificación (Madigan *et al.*, 2015).

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la densidad y diversidad de microorganismos en el tiempo en suelo no rizosférico y rizosfera de caña de azúcar bajo dos técnicas de recuento microbiano.

Material y Métodos

1. Descripción y características del sitio de muestreo

El sitio de estudio fue un cultivo de caña de azúcar, ubicado en las coordenadas 17°58'35.8" Norte, 93°23'14.7" Oeste, carretera Cárdenas-Huimanguillo km 3, en un suelo Fluvisol Éutrico (Salgado *et al.*, 2005). Presenta un clima cálido húmedo con abundantes lluvias en verano, la temperatura media anual es de 26-28°C y una precipitación media anual de 2000-2500 mm, con una altura promedio de 10 msnm (INEGI, 2010).

2. Establecimiento del experimento

Fue seleccionado un área de 100 m² cubierta de plantas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) en etapa de rápido crecimiento (ocho meses aproximadamente).

Se utilizó un diseño factorial 2x2x2; dos técnicas de evaluación (PE: portaobjeto enterrado y CV: cuenta viable), dos espacios (R: rizosfera y S: suelo no rizosférico) y dos tiempos de evaluación (T1: 7 días y T2: 21 días). La unidad experimental para la técnica de PE, consistió

de un campo microscópico (tres campos por portaobjeto). Para la técnica de CV, la unidad experimental fue la caja Petri en la dilución seriada. En total se generaron ocho tratamientos con tres repeticiones cada una.

En campo se ubicaron 24 puntos alrededor de las plantas amacolladas. En cada punto se delimitó la rizosfera (R) y el suelo no rizosférico (S), en donde se enterraron los portaobjetos y se realizaron las tomas de muestra de R y S para la evaluación microbiana.

3. Colecta de muestras

Al día 7 y 21 de establecido el experimento, se colectaron seis portaobjetos (tres en rizosfera y tres en suelo no rizosférico) y una muestra directa de suelo rizosférico y suelo no rizosférico para su análisis en el laboratorio de microbiología agrícola del Colegio de Postgraduados campus Tabasco.

4. Población y diversidad de microbiana

4.1. Técnica de portaobjeto enterrado de Rossi-Cholodny

Una vez desenterrados los portaobjetos, se etiquetaron y trasladaron al laboratorio de microbiología, donde se realizó la técnica de Tinción con Rosa de bengala, la cual consistió en; lavar los portaobjetos para remover el suelo, sumergirlos en ácido acético al 40 % (v/v) durante tres minutos, teñir con Rosa de bengala

a baño maría durante siete minutos, enjuagar y dejar secar durante una hora aproximadamente, para finalmente observar al microscopio en tres campos usando el objetivo de 40X, para determinar la población de formas microscópicas siguiendo el manual de Aquiahuatl et al. (2010).

4.2. Técnica de cuenta viable por dilución seriada (Madigan et al., 2015)

La muestra de suelo rizosférico y rizosfera, se colocaron en bolsas de polietileno, se etiquetaron y trasladaron al laboratorio de microbiología. Se utilizaron 10 g de cada muestra para determinar el peso de seco, las cuales se colocaron en contenedores de aluminio en un horno de aire forzado por 48 horas a 105°C (NOM-021-SEMARNAT-2000). Posteriormente, se realizó la técnica de cuenta viable, la cual consistió en pesar 10 g de cada muestra, agregarlas en frascos de dilución con 90 mL de agua destilada (dilución 101) y agitar de forma horizontal durante 10 minutos. Seguido de esto, se realizaron cuatro diluciones consecutivas (102, 103, 104 y 105) tomando una alícuota de 1 mL de cada frasco de dilución para colocarlos en tubos de ensayo con 9 mL de agua destilada. De cada una de las diluciones, se tomó una alícuota de 100 µL para inocular en medio de cultivo Agar nutriente (BD BIOXON) para el crecimiento de bacterias heterótrofas, medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (BD BIOXON) para el crecimiento de hongos heterótrofos y medio



Agar Czapek (DIBICO) para el crecimiento de actinomicetos, con tres repeticiones cada una, las cuales se incubaron en posición invertida a 37 °C durante 72 horas, para después realizar un conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) en la dilución más grande donde fuera posible realizarlo, así como evaluar su morfología siguiendo los parámetros siguientes: forma, tamaño, borde, elevación y color, según Aquiahuatl et al. (2010).

4.3. Interpolación de UFC

La interpolación de UFC se realizó tomando como base las UFC obtenidas con la técnica de cuenta viable respecto a la técnica de portaobjeto enterrado. La escala que se utilizó fue: + = muy escaso, ++ = escaso, +++ = medianamente abundante, ++++ = abundante, +++++ muy abundante, el cual se interpoló de la siguiente manera; + = 10^1 , ++ = 10^2 , +++ = 10^3 , ++++ = 10^4 , +++++ = 10^5 .

Resultados y Discusiones

1. Población de bacterias, hongos y actinomicetos mediante la técnica de portaobjeto enterrado

La población de microorganismos fue similar en los cuatro tratamientos, la mayor población de bacterias se obtuvo con el tratamiento 2 (10^3 UFC), el resto de los tratamientos obtuvieron una

población de 10^2 UFC. Para el caso de los hongos, no se observó ninguna forma microscópica. En lo que respecta a la población de actinomicetos, estos resultaron ser los microorganismos con menor población, debido a que, los tratamientos 1, 2 y 4 obtuvieron una población de 10^1 UFC y en contraste, en el tratamiento 3 no se observó ninguna forma microscópica.

2. Población de bacterias, hongos y actinomicetos mediante la técnica de cuenta viable por dilución seriada

En la determinación del peso seco, las muestras de rizosfera a los 7 y 21 días obtuvieron el menor peso seco (6.04 y 4.9 g respectivamente), determinado por su mayor contenido de humedad, en contraste, las muestras de suelo no rizosférico a los 7 y 21 días, contenían una menor cantidad de humedad al obtener un peso seco de 8.29 y 7.48 g respectivamente (Tabla 1). Estos datos de peso seco de las muestras, fueron utilizados para obtener el número de UFC por cada gramo de muestra seca.

La mayor población de bacterias, hongos y actinomicetos en suelo no rizosférico, se encontró a los 21 días, en contraste, la mayor población de bacterias y actinomicetos en rizosfera se observó a los 7 días, en lo que respecta a la población de hongos en rizosfera, la mayor población se observó a los 21 días (Tabla 2).

Tratamiento	Peso del crisol (PC)	Peso de la muestra húmeda (PMH)	C+PMH	Peso de la muestra seca + PC	Peso de la muestra seca
5. S + T1	45.34 g	10 g	55.34 g	53.63 g	8.29 g
6. S + T2	30.41 g	10 g	40.41 g	37.89 g	7.48 g
7. R + T1	30.4 g	10 g	40.4 g	36.44 g	6.04 g
8. R + T2	32.06 g	10 g	42.06 g	36.96 g	4.9 g

S = Suelo no rizosférico, R = Rizosfera, T1 = 7 días, T2 = 21 días

Tabla 1. Peso húmedo y seco de las muestras de rizosfera y suelo no rizosférico

Tratamiento	Bacterias	Hongos	Actinomicetos
	UFC g ⁻¹ muestra seca	UFC g ⁻¹ muestra seca	UFC g ⁻¹ muestra seca
5. S + T1	64.8x10 ³ ±21.6	1.9x10 ³ ±.5	34.5x10 ³ ± 7.7
6. S + T2	23.4x10 ⁴ ± 5.8	11.3x10 ³ ± 1.8	4.6x10 ⁴ ± 2.4
7. R + T1	31.1x10 ⁵ ± 9.6	4.8x10 ³ ± 2	5.2x10 ⁴ ± .9
8. R + T2	13.8x10 ⁵ ± 1	7x10 ⁴ ± 2.3	4.3x10 ⁴ ± 1.6

S = Suelo no rizosférico, R = Rizosfera, T1 = 7 días, T2 = 21 días

Cuadro 2. Población promedio de bacterias, hongos y actinomicetos

3. Diversidad de bacterias, hongos y actinomicetos mediante la técnica de portaobjeto enterrado

Se encontraron cinco tipos de bacterias diferentes, siendo los cocos los de mayor densidad en los cuatro tratamientos a los 21 días de establecido el experimento. En lo que

respecta a los hongos, no se observaron hifas o esporas en ningún tratamiento. Mientras que, para los actinomicetos, no se observaron hifas en el tratamiento 3, para el resto, la densidad de hifas fue muy escasa (Tabla 3).

Tratamientos	Formas microscópicas						
	Bacterias heterótrofas					Hongos	Actinomicetos
	Coco	Diplococo	Estreptococo	Estafilococo	Bacilo	Hifas	Hifas
1. PE + S + T1	+++	+	+	+	+	-	+
2. PE + S + T2	+++++	++	+++	++	++	-	+
3. PE + R + T1	++++	+	++	+	+	-	-
4. PE + R + T2	+++++	++	+	+	++	-	+

+= Muy escasa, ++ = Escasa, +++ = Medio abundante, ++++ = Abundante, +++++ = Muy abundante, - = Sin presencia

Cuadro 3. Diversidad de bacterias, hongos y actinomicetos por la técnica de porta objeto enterrado a los 7 y 21 días (T1 y T2)

4. Diversidad de bacterias, hongos y actinomicetos mediante la técnica de cuenta viable por dilución seriada

La mayor diversidad de bacterias se observó en la rizosfera a los 7 días, con nueve tipos morfológicamente diferentes, en comparación con el suelo no rizosférico y rizosfera a los 21 días (Tabla 4). Se observaron dos géneros de actinomicetos, tanto en suelo no rizosférico y rizosfera a los 7 y 21 (Tabla 5). Para los hongos, se identificaron seis tipos en suelo no rizosférico a los 7 y 21 días, siendo esta la de mayor variabilidad, mientras que en la rizosfera a los 7 y 21 solo se distinguieron cuatro tipos de hongos (Tabla 6).

Tratamiento	Clave	Forma	Tamaño (cm)	Borde	Elevación	Color
5. S + T1	1.1	Puntiforme	.1	Entero	Plano	Beige
	1.2	Circular	.4	Entero	Plano	Beige
	1.3	Circular	.1	Erosionado	Plano	Beige
	1.4	Irregular	1.1	Lobulado	Plano	Beige
	1.5	Irregular	1.3	Lobulado	Elevado	Blanco
	1.6	Irregular	4.8	Lobulado	Plano	Beige
	1.7	Irregular	1.9	Erosionado	Elevado	Blanco
6. S + T2	2.1	Puntiforme	.1	Entero	Plano	Beige
	2.2	Circular	.4	Entero	Plano	Blanco
	2.3	Circular	.8	Lobulado	Plano	Café
	2.4	Irregular	3	Erosionado	Plano	Beige
	2.5	Irregular	3.8	Filamentoso	Plano	Beige
	2.6	Irregular	2.2	Lobulado	Elevado	Beige
7. R + T1	3.1	Puntiforme	.1	Entero	Plano	Beige
	3.2	Puntiforme	.1	Entero	Plano	Beige
	3.3	Circular	.6	Entero	Plano	Blanco
	3.4	Circular	.4	Entero	Elevado	Beige
	3.5	Circular	.5	Entero	Plano	Amarillo
	3.6	Irregular	1.8	Ondulado	Plano	Blanco
	3.7	Circular	1.2	Entero	Elevado	Café
	3.8	Irregular	3	Lobulado	Elevado	Beige
	3.9	Irregular	2.8	Filamentoso	Plana	Blanco
8. R + T2	4.1	Puntiforme	.1	Entero	Plana	Beige
	4.2	Circular	.3	Entero	Plana	Beige
	4.3	Circular	1.2	Lobulado	Plana	Beige
	4.4	Irregular	.9	Lobulado	Plana	Blanco
	4.5	Irregular	3.2	Lobulado	Elevado	Blanco
	4.6	Circular	2.2	Erosionado	Elevado	Café

S = Suelo no rizosférico, R = Rizosfera, T1 = 7 días, T2 = 21 días

Cuadro 4. Diversidad de bacterias por la técnica de cuenta viable

Muestra	Clave	Forma	Tamaño (cm)	Borde	Elevación	Color
5. S + T1	1.1	Circular	.2	Entero	Convexo	Blanco
	1.2	Circular	.1	Entero	Convexo	Café
6. S + T2	2.1	Circular	.2	Entero	Convexo	Blanco
	2.2	Circular	.1	Entero	Convexo	Café
7. R + T1	3.1	Circular	.1	Entero	Convexo	Café
	3.2	Circular	.2	Entero	Convexo	Blanco
8. R + T2	4.1	Circular	.1	Entero	Convexo	Blanco
	4.2	Circular	.1	Entero	Convexo	Café

S = Suelo no rizosférico, R = Rizosfera, T1 = 7 días, T2 = 21 días

Cuadro 5. Diversidad de actinomicetos por la técnica de cuenta viable

Muestra	Clave	Color	Muestra	Clave	Color
5. S + T1	5.1	Café	7. R + T1	7.1	Café con centro blanco
	5.2	Café con borde blanco		7.2	Café
	5.3	Blanco		7.3	Blanco
	5.4	Verde	7.4	Verde con borde blanco	
	5.5	Verde con borde blanco	8. R + T2	8.1	Blanco
	5.6	Amarillo		8.2	Gris con borde blanco
6.1	Blanco	8.3		Beige	
6. S + T2	6.2	Anaranjado	8.4	Rosado con borde blanco	
	6.3	Beige			
	6.4	Café con borde blanco			
	6.5	Rosado			
	6.6	Amarillo			

S = Suelo no rizosférico, R = Rizosfera, T1 = 7 días, T2 = 21 días

Cuadro 6. Diversidad de hongos por la técnica de cuenta viable



5. Análisis comparativo de la población microbiana

La técnica de portaobjeto enterrado tanto en suelo no rizosférico como en rizosfera presenta un bajo número de UFC de bacterias, hongos y actinomicetos a los 7 y 21 días de la evaluación. Sin embargo, en la técnica de cuenta viable se aprecia una gran población de bacterias a los 7 y 21 días en suelo no rizosférico y rizosfera (Tabla 7).

Al comparar las técnicas utilizadas en este experimento se puede deducir que los mejores resultados se obtuvieron por la técnica de cuenta viable por dilución seriada, ya que este permite conocer el número de UFC a través de la dilución de la muestra, mientras que en la técnica de portaobjeto enterrado, solo es posible conocer la abundancia de las formas microcopias y realizar una interpolación en un intento de determinar el número aproximado de UFC.

Tratamiento	7 días UFC			21 días UFC		
	Bacterias	Hongos	Actinomicetos	Bacterias	Hongos	Actinomicetos
PE + S	10 ²	-	10 ¹	10 ³	-	10 ¹
PE + R	10 ²	-	-	10 ²	-	10 ¹
CV + S	64.8x10 ³	1.9x10 ³	34.5x10 ³	23.4x10 ⁴	11.3x10 ³	4.6x10 ⁴
CV +R	31.1x10 ⁵	4.8x10 ³	5.2x10 ⁴	13.8x10 ⁵	7x10 ⁴	4.3x10 ⁴

PE= Porta objeto enterrado, CV = Cuenta viable, S= Suelo no rizosférico, R= Rizosfera, - = Sin presencia

Cuadro 7. Unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias, hongos y actinomicetos, en suelo no rizosférico y rizosfera a los 7 y 21 días.

6. Análisis comparativo de la diversidad microbiana

La técnica de portaobjeto enterrado, determina que existen cinco tipos de bacterias, que no existe ninguno en hongos y uno en actinomicetos a lo largo de la evaluación del experimento en suelo no rizosférico y rizosfera. Sin embargo, en la técnica de cuenta viable se aprecia una mayor diversidad de bacterias, hongos y actinomicetos a los 7 y 21 días tanto en suelo no rizosférico como en rizosfera (Tabla 8). Basado en lo

anterior, la técnica con la que se obtuvieron los mejores resultados, fue la cuenta viable por dilución seriada, ya que esta permite determinar la diversidad de microorganismos en medios de cultivo específicos para bacterias, hongos y actinomicetos, e incluso aislar e identificar géneros asociados directamente con la rizosfera de diversos sistemas de producción agrícola con la finalidad de inocularlos en sustratos orgánicos y ser aplicados al suelo como biofertilizante.

Tratamiento	7 días			21 días		
	Bacterias	Hongos	Actinomicetos	Bacterias	Hongos	Actinomicetos
PE + S	5	-	1	5	-	1
PE + R	5	-	-	5	-	1
CV + S	7	6	2	6	6	2
CV +R	9	4	2	6	4	2

UFC = Unidades formadoras de colonias, PE= Porta objeto enterrado, CV = Cuenta viable, S= Suelo no rizosférico, R= Rizosfera, - = Sin presencia.

Cuadro 8. Número de especies de bacterias, hongos y actinomicetos, en suelo no rizosférico y rizosfera a los 7 y 21 días.

En un estudio realizado por Escobar *et al.*, (2012), identificaron poblaciones microbianas en diferentes sustratos orgánicos, la diversidad microbiana reportada consistió en ocho tipos de bacterias, dos tipos de actinomicetos y cuatro tipos de hongos. Por otro lado, Hernández-Gómez *et al.*, (2020), reportaron una diversidad promedio de 10 tipos de bacterias en la rizosfera de tres cultivares diferentes de caña de azúcar cultivados en un suelo Cambisol Éutrico Arcílico. Ambos estudios obtuvieron resultados similares a los reportados en esta investigación en las muestras de suelo rizosférico, lo que demuestra la alta capacidad de asociación simbiótica entre los microorganismos del suelo y las raíces de los cultivos agrícolas.

Por ello, es de gran importancia caracterizar los microorganismos asociados a la rizosfera de los cultivos agrícolas para el diseño de estrategias que mejoren la fertilidad del suelo y el rendimiento de los cultivos siendo las

bacterias de los géneros *Pseudomona*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Streptomyces*, *Enterobacter*, y *Azotobacter* los más utilizados para este fin, ya que promueven el crecimiento de las plantas al solubilizar fosfatos, fijar nitrógeno atmosférico y secretar fitohormonas de tipo auxinas y giberelinas (Viera-Arroyo, 2020; Cruz-Cárdenas *et al.*, 2021).

Tamayo-Isaac *et al.*, (2023) determinaron que la microbiota bacteriana de la rizosfera de la caña de azúcar usando diferentes dosis de nitrógeno estuvo principalmente compuesta por Acidobacteriota (26.7%), Actinobacteriota (19.1 %), Proteobacteria (16.2 %), Firmicutes (15.1 %), Myxococcota (5.3 %), Plantomycetota (4.7 %), Methylomirabilota (3.0 %), Gemmatimonadota (2.3 %), Chloroflexi (2.0 %) y Bacteroidota (1.6 %). Siendo los primeros cuatro grupos los más dominantes representando más del 70 % de la abundancia relativa de las comunidades bacterianas.

Cortés *et al.*, (2018) determinaron la presencia de bacterias relacionadas con el género *Clostridium*, nueve con *Bacillus*, seis con *Enterococcus*, dos con *Lysinibacillus*, una *Citrobacter*, *Arthrobacter* y *Pseudomonas* en suelos sembrados de caña de azúcar en la Cuenca del Papaloapan, México.

Conclusiones

En conclusión, de las dos técnicas empleadas en este experimento la que mejor resultados arrojó tanto de población como diversidad fue la técnica de cuenta viable por dilución seriada, ya que, se pudo observar de manera específica la población de microorganismos por medio del número de UFC y permite determinar la diversidad de microorganismos en medios de cultivo específicos para bacterias, hongos y actinomicetos, además, se tiene la posibilidad de aislar las UFC de nuestro interés para establecer estudios específicos. Por otra parte, la técnica de portaobjeto enterrado, es de utilidad, si se desea conocer las formas microscópicas de los microorganismos que estén bajo estudio.

Referencias y Bibliografía

- Abakumov E. V., Cajthaml T., Brus J., & Frouz J. (2013). *Humus accumulation, humification, and humic acid composition in soils of two post-mining chronosequences after coal mining*. Journal of Soils and Sediments 2013; 13: 39–59. <https://doi.org/10.1007/s11368-012-0579-9>
- Ayan, L. R., Coutiño, P. M., González, M. M., Vázquez, R. L., & Hernández, F. G. (2021). *Microorganismos del suelo y sus usos potenciales en la agricultura frente al escenario del cambio climático*. Magna Scientia UCEVA, 1(1), 104-117. <https://doi.org/10.54502/msuceva.v1n1a14>
- Aquiahuatl R.M.A., Sepúlveda V.T., Vives R.F., Gonzalez S.M., Barragan P.L.A., & Matsumoto S.K. (2010). *Manual de prácticas del laboratorio de microbiología general*. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México. 29 p.
- Cortés-López, N. G., Sachman-Ruiz, B., Montor-Antonio, J. J., Miranda-Sánchez, F., Alcántara-Hernández, R. J., & Moral, S. D. (2018). *Starch- and cellulose-related microbial diversity of soil sown with sugarcane crops in the Papaloapan Basin, a megadiverse region of Mexico*. Nova scientia, 10(20): 222-243. <https://doi.org/10.21640/ns.v10i20.1314>
- 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. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2905>
- Escobar E. N., Mora D. J., & Romero J. N. J. (2012). *Identificación de poblaciones microbianas en compost de residuos orgánicos de fincas cafeteras de Cundinamarca*. Boletín Científico Museo de Historia Natural. 16 (1): 75 – 88. ISSN 0123 – 3068.
- Hernández-Gómez, L. M., Salgado-García, S., Gómez-Leyva, J. F., Córdova-Sánchez, S., Ramírez-May, A. G., Aranda-Ibañez, E. M., & Or-

- tiz-García, C. F. (2020). *Diagnóstico sobre las bacterias rizosféricas asociadas al cultivo de caña de azúcar (Saccharum spp.)* Agroproductividad: 13(4): 33-39. <https://doi.org/10.32854/agrop.vi.1592>
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). (2010). *Compendio de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Cárdenas, Tabasco*. 8 p.
- Madigan T. M., Martinko M. J, Bender S. K., Buckley H. D., & Stahl A. D. (2015). *Brock. Biología de los microorganismos*. 14ª edición. Ed. Pearson. Madrid. 1132 p.
- NOM-021-SEMARNAT-2000. (2000) *Norma oficial mexicana que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudios, muestreos y análisis*. Diario Oficial de la Federación. México. 67 p.
- Pérez, E. G. E., Hidalgo, E. C., Robles, C., Gallegos, V. M., Martínez, G. M. S., & Rodríguez-Ortiz, G. (2023). *Indicadores de calidad como herramientas útiles para evaluar el estado de la fertilidad del suelo*. Revista Mexicana de Agroecosistemas, 10(1); 49-67. <https://doi.org/10.60158/rma.v10i1.376>
- Salgado G.S., Palma-López D.J., Lagunes E.L.C., Ortiz G.C.F., & Ascensio R.J.M. (2005). *Bases para generar un programa sustentable de fertilización en un Ingenio de Tabasco, México*. Interciencia. 30(7): 395-403 pp.
- Tamayo-Isaac, M., Piñón-Gómez, D. D. R., Ramos-Tapia, I., Pablos-Reyes, P. D., Puchades-Izaguirre, Y., Soto-Winckler, J., Barbosa-García, R., Reynosa-Rodríguez, G. & Paneque, M. (2023). *Diversidad microbiana en estudios de fertilización mineral de larga duración en caña de azúcar*. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 26(2): e2511. 1-11. <https://doi.org/10.31910/rudca.v26.n2.2023.2511>
- Viera-Arroyo, W. F. (2020). *Rol de los microorganismos benéficos en la Agricultura Sustentable*. Journal of the Selva Andina Biosphere, 8(2), 67-68. <https://doi.org/10.36610/jisab.2020.080200067>

