Universidad Autónoma de Sinaloa

Colegio en Ciencias Agropecuarias

Maestría en Ciencias Agropecuarias

TESIS:

"Bacterias fitopatógenas asociadas al cultivo de maíz *(Zea mays* L.*)* en el norte de Sinaloa, México"

para obtener el grado de Maestro en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA:

Luis Fernando Osuna Salas

DIRECTOR(A) DE TESIS:

Dra. Celia Selene Romero Félix

CO-DIRECTOR(A) DE TESIS:

M.C. Araceli Ruiz Fierro

ASESORES:

Dr. Gabriel Antonio Lugo García

M.C. Gabriel Herrera Rodríguez

Culiacán, Sinaloa, México; a noviembre de 2024

Universidad Autónoma de Sinaloa

Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International

Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C.P. 80010 Culiacán Sin. Méx.
Tel (667) 713 78 32 y (667) 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

AGRADECIMIENTOS.

Al **Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT)**, por el apoyo económico otorgado para la realización de mis estudios de maestría.

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa** y al **Colegio de Ciencias Agropecuarias**, por aceptarme en su programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias.

Con admiración y respeto, a mi comité de Tesis:
A **Dra. Celia Selene Romero Félix**: por haberme dado la confianza de realizar esta investigación bajo su cargo, por sus enseñanzas y consejos. A

M.C. Araceli Ruiz Fierro: por brindarme valiosos conocimientos y su apoyo durante el desarrollo de esta investigación.

Al **Dr. Gabriel A. Lugo García** y Al **M.C. Gabriel Herrera Rodríguez**: por sus invaluables asesorías, correcciones, enseñanzas y su apoyo durante mis estudios.

Quiero agradecer a mis amigos que me estuvieron apoyando en el transcurso de mi tesis, agradezco a **Anyela Cruz Cervantes**, **Mariajosé Fierro Orozco** por su apoyo además de agradecer a **Arantxa Valle García**, **Brenda Lizbeth Méndez Baldenebro** y **Kenia Paola Galaviz Galaviz** por su importante ayuda durante la realización de esta investigación.

DEDICATORIA

A **mi madre** y a **mi padre** que, aunque ya no están conmigo siempre les estaré agradecido por todo y por siempre ser un ejemplo para mí.

A **mis hermanas** por ser un apoyo incondicional, hacerme sentir orgullo de lo que estoy logrando y sobre todo confiar siempre en mí.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN 1

II. OBJETIVOS 2

III. HIPÓTESIS 3

IV. REVISIÓN DE LITERATURA 3

4.1 El cultivo de maíz 3

4.1.1 Enfermedades en el cultivo de maíz 3

4.1.2 Dispersión de las bacterias en el cultivo de maíz. 4

4.2 Identificación de bacterias 6

4.3 Género *Pseudomonas* sp. 7

4.4 Género *Pantoea* sp. 8

4.5 Diversidad dentro de las especies bacterianas 9

4.6 Manejo y control de bacterias en maíz 9

V. MATERIALES Y MÉTODOS 10

5.1 Recolecta de muestras en plantas de maíz 10

5.2 Aislamiento bacteriano de tejido de maíz. 12

5.3 Caracterización morfológica de los aisladas bacterianos. 13

5.4 Patogenicidad de los aislados bacterianos. 13

5.4.1 Reacción de hipersensibilidad en tabaco (*Nicotiana tabacum*). 15

5.4.2 Pudrición de tubérculo de papa. 15

5.5 Identificación de los aislados bacterianos. 15

5.6 Extracción de ADN y PCR. 16

5.6.1 Extracción de ADN (CTAB 2%) 16

5.6.2 PCR y secuenciación 16

5.7 Diseño experimental y tratamientos 17

5.8 Variables evaluadas: 18

5.8.1 Germinación, incidencia y severidad. 18

5.8.2 Peso fresco y peso seco de raíz, tallo y hoja (g). 20

5.9 Análisis de datos 21

VI. RESULTADOS Y DISCUSION 21

6.1 Síntomas bacterianos presentes en las plantas de maíz de los predios muestreados. 21
6.2 Pruebas de patogenicidad en maíz 23
6.3 Pruebas morfológicas, bioquímicas e identificación molecular 25
6.3.1 Pruebas de diferenciación de género entre bacterias. 25
6.3.2 Identificación morfológica y molecular del género *Pseudomonas* aisladas en plantas de maíz. 25
6.3.3 Identificación morfológica, bioquímica y molecular de *Pantoea* spp. 30
6.4 Efectos de las bacterias fitopatógenas en el desarrollo de las plantas de maíz. 34
6.4.1 Germinación de semilla, incidencia y severidad 34
6.4.2 Crecimiento de las plántulas de maíz. 39
6.4.2.1 Peso fresco de raíz, tallo y hoja. 39
6.4.2.2 Peso seco de raíz, tallo y hoja. 45
VII. CONCLUSIONES 52
VIII. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA 53
IX. ANEXO 60
9.1 Medios de cultivo 60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Pruebas LOPAT para la división de grupos dentro del género *Pseudomonas* 7
Cuadro 2. Clasificación del género *Pseudomonas* 8
Cuadro 3. Clasificaciones género *Pantoea* 9
Cuadro 4. Datos de las zonas de muestreo. 11
Cuadro 5. Muestreo de plantas de maíz y aislamiento de bacterias 21
Cuadro 6. Características bioquímicas de *Pseudomonas simiae* aisladas de plantas de maíz. 26
Cuadro 7. Características morfológicas de *Pseudomonas simiae* aisladas de plantas de maíz 27

Cuadro 8. Características bioquímicas de *Pseudomonas simiae* cepa C5 aisladas de plantas de maíz. 28

Cuadro 9. Características morfológicas de *Pseudomonas simiae* (cepa C5) aisladas de plantas de maíz. 29

Cuadro 10. Características bioquímicas de *Pantoea agglomerans* y *Pantoea ananatis* aisladas de plantas de maíz. 33

Cuadro 11. Análisis de varianza y comparación de medias de germinación de semilla (G), incidencia (INC) y severidad (SEV) a los 20, 30 y 40 días después de la siembra (dds) de maíz. 35

Cuadro 12. Peso fresco de raíz (PFR), Tallo (PFT) y hoja (PFH) a los 20, 30 y 40 días después de la siembra (dds) en tres híbridos de maíz inoculados con bacterias fitopatógenas. 40

Cuadro 13. Peso seco de raíz (PSR), Tallo (PST) Y Hoja (PSH) a los 20, 30 y 40 días después de sembrado (dds) en tres híbridos de maíz inoculados con bacterias fitopatógenas 47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de la enfermedad de la marchitez de Goss en cultivo de maíz (Butzen, 2011). 6

Figura 2. Imágenes de estructuras de la planta de maíz donde se obtuvieron los aislados bacterianos. **a)** Pudrición húmeda en jilote, **b)** planta con necrosis en la parte superficial del tallo, **c)** tallo con manchas necroticas y clorosis, **d)** tallos y hojas de maíz con clorosis superficial **e**) tallos y hojas de maíz con manchas necróticas superficial, **f)** tallo con necrosis 13

Figura 3. Inoculación de la suspensión bacteriana por medio de infiltración 14

Figura 4. Temperatura y humedad relativa registrada en el invernadero durante las pruebas de patogenicidad en maíz. 14

Figura 5. Suspensiones bacterianas de *P. simiae* en concentraciones de 10^4, 10^6, 10^8, con las cuales se realizó la inoculación de semillas de maíz de los híbridos DK 4050, DK 5021, Hipopótamo. 18

Figura 6. Escalas de severidad: 1) planta sana; 2) Muy pocas rayas en las hojas, ligera clorosis; 3) Rayas moderadas, observación de clorosis o necrosis en hoja; 4) Rayas extendidas en aproximadamente el 60-75% del área de las hojas; 5) Planta muerta. 20

Figura 7: Resultados de pruebas de patogenicidad en raíces de plántulas de maíz inoculadas con bacterias por infiltración, **a**) Raíz de las plántulas testigo, **b**) Raíz inoculada con la cepa C1 de *Pseudomonas simiae*, **c**) Raíz inoculada con la cepa C2 de *Pantoea* agglomerans. **d)** de lado izquierdo hoja de planta sin inocular lado derecho hoja inoculada, **e**) efectos de la bacteria en hojas verdaderas de la plántula. **f**) Primera hoja inoculada con *Pantoea ananatis*, **g**) Primera hoja inoculada con *Pseudomonas simiae*, **h**) Primera hoja inoculada con *Pseudomonas simiae* desde el estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20 24

Figura 8. Pruebas de diferenciación de géneros de bacterias. a: Fluorescencia de la bacteria medio B de King; b: Crecimiento bacteriano de color amarillo en medio YDC; c: medio Hugh and Leifson, coloración amarilla positivo a producción de ácido a partir de glucosa en condiciones anaeróbicas. 25

Figura 9. Morfología del género *Pseudomonas.* a: *P. simiae* C1; b: *P. simiae* C1 en medio BK; c: *P. simae* C4, observadas en un estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20; d: *P*. *simiae* C4 en medio BK. 28

Figura 10. Morfología colonial del género *Pseudomonas*. A: *Pseudomonas simiae* C5 observada desde el estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20 con el objetivo 10x; b: Fotografía de *Pseudomonas simiae* C5 en medio BK. 29

Figura 11. Morfología colonial del género *Pantoea* (C2). a: *P. ananatis* C2 observada desde el estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20 con el objetivo 10x; b. Fotografía de *P. ananatis* C2 en medio AN. 31

Figura 12. Morfología colonial del género *Pantoea*. a: *P. agglomerans* C3, observada desde el estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20 con el objetivo 10x; b: *P. agglomerans* C3, en medio AN. 32

Resumen

El maíz (*Zea mays* L.) es un cereal alimentario importante en todo el mundo, sin embargo, su crecimiento y rendimiento se ven afectados por distintos patógenos como son las bacterias fitopatógenas. El presente estudio tuvo como objetivo identificar de manera morfológica, bioquímica y molecular especies de bacterias fitopatológicas y evaluar su incidencia y severidad en plántulas de tres híbridos de maíz. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x5x3 (tres híbridos de maíz: DK 4050, DK 5021 e Hipopótamo; cinco cepas: tres de *Pseudomonas simiae*, dos *Pantoea agglomerans* y una de *Pantoea ananatis,* y tres diluciones: 10^4, 10^6 y 10^8) y tres repeticiones (unidad experimental de cuatro plantas por repetición). Se realizó un muestreo en 22 lotes del Valle del Fuerte, Sinaloa, utilizando la técnica cinco de oro, en el cual se colectaron plantas con síntomas causados por las bacterias. Se hicieron pruebas bioquímicas y moleculares, donde las secuencias de nucleótidos obtenidas se analizaron en BLAST system. Se evaluó la germinación de semilla, severidad, incidencia, peso fresco y seco de raíz, tallo y hoja. Para determinar la severidad, se inocularon las cinco cepas en semillas de los tres híbridos de maíz. A partir de los tejidos sintomáticos, se aislaron en total cinco bacterias fitopatógenas asociadas a los órganos aéreo y radicular de la planta, de las cuales tres cepas corresponden al género *Pseudomonas* y dos cepas a *Pantoea*. Las secuencias de las tres cepas del género *Pseudomonas* coincidieron con la especie de *P. simiae* con porcentajes de identidad de 100, 100 y 99 %. Para el género *Pantoea* se identificó a *P. agglomerans* con un 94% y *P. ananatis* con un 90%. La inoculación de estas cepas bacterianas tuvo un efecto adverso en las variables evaluadas.

Palabras clave: Bacterias fitopatógenas, *Pseudomonas simiae, Pantoea sp.*

I. INTRODUCCIÓN

El maíz *Zea mays* L. (Poaceae) es de los cereales más importantes del mundo, desde el punto de vista social, cultural, económico y alimenticio, además, es un cultivo con gran historia por ser de los más antiguos, data desde hace 6,250 años (ASERCA, 2018). Es importante por su uso como alimento humano y animal por los minerales, y vitaminas que aporta (CONABIO, 2020). Además, desempeña un papel importante por los macronutrientes que contiene, como almidón, polisacáridos, proteínas y lípidos, situación que propició el desarrollo de nuevas variedades e híbridos de maíz que contengan mayor cantidad de nutrientes (Ai y Jane, 2016; Loy *et al*., 2019).

A nivel mundial, en 2023 este cultivo tuvo una producción de 1,232,570 t, donde los principales países productores fueron Estados Unidos con 389,694 t (32%), China con 288,842 t (23%) y Brasil con 124,000 t (10%). México se encuentra en octavo lugar con una producción de 25,000 t (2%), siendo los estados de Sinaloa (23%), Jalisco (14%) y Michoacán (77%) los principales estados productores (USDA, 2024).

En México, se siembran siete millones de hectáreas de maíz tanto de riego como de temporal, pero lo afectan diversas enfermedades en distintas etapas de su desarrollo, donde destacan las bacterias fitopatógenas, las cuales son ampliamente distribuidas en todo el mundo. Se estima que dentro de las 7,000 bacterias clasificadas sólo se tiene registro de 150 especies que son responsables de diferentes enfermedades de las plantas cultivadas (Rajesh-Kannan *et al*., 2016; Bar-On *et al*., 2018). Las bacterias se dispersan por la lluvia, semillas, trasplantes, tubérculos infectados, etc, y sus mecanismos de acción varían con la genética de cada especie y su patogenicidad (Navarrete *et al.*, 2014). Están en contacto con sus plantas hospedantes, y sólo en períodos de clima desfavorable viven en el suelo o en restos de plantas (Nazarov *et al*., 2020), causan daños desde que ingresan a plantas huésped, pero la severidad se incrementa si la temperatura y humedad son favorables porque aceleran la infección (Rajesh-Kannan *et al*., 2016).

Dentro de un mismo género, distintas especies pueden ocasionar diferentes daños, por ejemplo, *Pseudomona*s sp. causa manchas en hojas, otras especies causan pudrición blanda y muerte regresiva (Paliwal, 2001). Las bacterias que integran los géneros *Erwinia* sp. y *Pseudomonas* sp. ocasionan pudriciones en el tallo de maíz

(Paliwal, 2001), así mismo, algunos microorganismos fitopatógenos como *Pantoea agglomerans* pueden alcanzar una incidencia considerable del 15% en el cultivo, mientras que enfermedades como la podredumbre del tallo causada por *Dickeya zeae* puede ocasionar 82% de perdida de rendimiento al presentarse en forma de estrías necróticas en las hojas, las cuales impiden que la planta obtenga los nutrientes necesarios para su desarrollo y mejor tamaño de elote. Cuando se presentan patógenos como hongos y bacterias en las parcelas establecidas con maíz pueden reducir el rendimiento entre un 30 y 50% (Ruíz, 2018; Gonçalves da Silva *et al*., 2024), por este motivo es importante conocer los patógenos que causan las enfermedades para disminuir las pérdidas económicas. Por estos antecedentes mencionados, los objetivos del presente trabajo de investigación fueron los siguientes:

II. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar de manera morfológica, bioquímica y molecular especies de bacterias fitopatológicas y evaluar su incidencia y severidad en plántulas de tres híbridos de maíz.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar morfológica, bioquímica y molecularmente las especies de bacterias fitopatológicas presentes en distintos lotes de maíz en el norte de Sinaloa.
- Determinar la patogenicidad de especies de bacterias en plántulas de maíz en invernadero.
- Evaluar el efecto de cinco cepas y tres concentraciones sobre la germinación de semilla y crecimiento en biomasa acumulada en la parte aérea y radicular de plántulas de tres híbridos de maíz en condiciones de invernadero.

III. HIPÓTESIS

Las bacterias presentes en las plantas de maíz de predios comerciales afectan el crecimiento y germinación de semilla de tres híbridos de maíz DK 4050, DK 5021 e Hipopótamo.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 El cultivo de maíz

El origen maíz (*Zea mays* L.) data aproximadamente 10,000 años. En culturas antiguas, el maíz tomo tal relevancia y se consideró como algo sagrado, por ejemplo, en culturas como la zapoteca exhibían urnas que contenían mazorcas y las ofrecían como ofrenda en sus ceremonias ancestrales para agradecer a sus dioses por las bendiciones otorgadas como tener tierra, aire, fuego y agua (Eubanks, 2001). El maíz pertenece a la familia de las Poáceas dentro de la tribu *Maydeas* (Serratos-Hernández *et al.*, 2003). En términos botánicos el maíz es una planta anual de porte robusto, con un tallo simple erecto el cual puede alcanzar los cuatro metros de altura, sus hojas son largas de gran tamaño con una forma lanceolada y en disposición alterna (CIBIOGEM, 2013). La planta de maíz requiere temperaturas de 14 a 26 °C, suelos con un pH de entre 6 a 7, ricos en materia orgánica con buena circulación de drenaje además de necesitar ciertas cantidades de elementos minerales como puede ser el Nitrógeno, Fosforo y potasio para su desarrollo (CIBIOGEM, 2013; SIAP, 2018).

4.1.1 Enfermedades en el cultivo de maíz

El maíz es afectado por diversas enfermedades que se presentan en diferentes etapas y dañan distintas partes de las plantas, por ejemplo, los hongos *Phytium* y *Fusarium*, causan daños de pudrición de raíz situación que afecta el movimiento de nutrientes de la planta y pueden ocasionar el acame de las plantas (Paliwal, 2001).

La roya común del maíz *Puccinia* sp. enfermedad importante en maíz. Los primeros síntomas son pequeños puntos cloróticos en la superficie de la hoja, rápidamente se desarrollan en cultivares susceptibles en pústulas pulverulentas de color marrón, las cuales se activan por temperaturas moderadas (25°C) y una alta humedad relativa (80%) (Paliwal, 2001; Quintero, 2014). Este patógeno afecta el área foliar y rendimiento ya que reduce el número y peso de grano (Díaz *et al*., 2007).

Los daños por bacterias en el cultivo de maíz se observan principalmente en las hojas, por ejemplo, *Acidovorax avenae* debilita las hojas y se presenta en forma de rayas con borde marrón, así mismo, las bacterias del género *Burkholderia* causa rayas paralelas de color verde olivo a amarillo y lesiones humedad, que de igual manera la especie *Pseudomonas syringae* la cual se divide en distintos patovares o subespecies, en el maíz se conocen a *P. syringae* pv. *striafaciens* que provoca lesiones con manchas acuosas en hojas que con el tiempo se convierten en una franja larga color café. Mientras que *P. Syringae* pv*. Coronafaciens* presenta un halo de color amarillo brillante conocido como “escalduras” y. *P. syringae pv. syringae* presenta manchas aisladas y claras, es forma circular e irregular con un contorno color café (Pérez *et a*l., 2015; SENASICA, 2015).

La enfermedad de Stewart es ocasionada por la bacteria *Pantoea stewartii* se divide en dos subespecies *P. stewartii* subsp. *stewartii.* que causa marchitez en plántulas de maíz donde aparecen lesiones acuosas en las hojas jóvenes y en la etapa madura se presentan lesiones largas de color amarillo con un margen ondulado en las hojas y *P. stewartii* subsp. *indologenes* presenta rayas que van de color verde pálido a amarillo con márgenes irregulares (SENASICA, 2015).

4.1.2 Dispersión de las bacterias en el cultivo de maíz.

Las bacterias causan graves problemas en cultivos agrícolas, los cuales se reflejan en lo económico, desde su control que incrementa los costos de producción por la aplicación de bactericidas o por los bajos rendimientos dependiendo de la severidad de la enfermedad (Paliwal, 2001; Pérez-y-Terrón *et al*., 2014). El control o manejo de las bacterias radica en que pueden sobrevivir en residuos vegetales, insectos, huéspedes alternos o incluso semillas, ya sea de maleza o semillas restantes

del cultivo que fue establecido (Pedraza *et al*., 2022). Hay registros de bacterias que sobreviven en objetos inertes como maquinaria agrícola o en el empaque dependiendo del cultivo. Para la diseminación se necesitan lesiones, ya sean causadas por el viento que levanta partículas del suelo que terminan lesionando a las hojas, lo que permite que la bacteria infecte a la planta y esta se desarrolle al tener las condiciones ambientales favorables como temperatura y humedad, por ejemplo la bacteria *Clavibacter nebraskensis,* causante de la marchitez de goss, donde su principal fuente de inoculo son residuos de cultivos infectados esperando el momento en que una planta de maíz presente alguna herida para poder infectarla (Figura 1) (Vidaver y Lambrecht, 2004, Osdaghi *et al.*, 2023). En semillas es común la transmisión de enfermedades por bacterias, ya que la infección ocurre al nivel intra embrional a la infección sistemática, en infecciones locales o a nivel extra embrional (Navarrete, 2014). El maíz no está exento de bacterias, en grano se tiene registro de *Pantoea ananatis, Burkholdera gladioli, Acidovorax avenae, P. avenae.* No todas las bacterias presentes en la semilla se consideran con potencial para ser transmitidas por semilla, se tiene registro de otros grupos de patógenos débiles que no representan una fuente de inoculo más que de dispersión (Aranda, 2013).

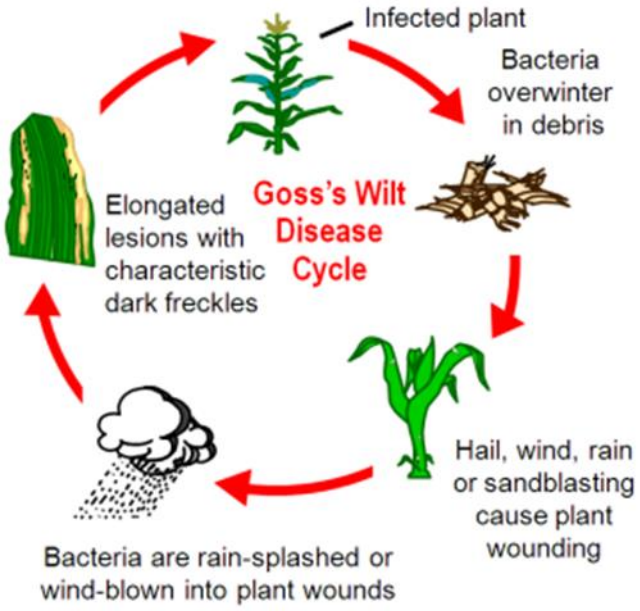

Figura 1. Ciclo de la enfermedad de la marchitez de Goss en cultivo de maíz (Butzen, 2011).

4.2 Identificación de bacterias

La identificación de bacterias es importante en los ámbitos de investigación, para esto existen diversas técnicas convencionales donde se toma en cuenta la disposición, tamaño, forma y pigmentación de las colonias bacterianas. Las observaciones microscópicas en las que las bacterias se tiñen como por la técnica de tinción gran que permite a las bacterias separarlas en dos grupos que son las gram positivas que se tiñen de un color violeta y gran negativas que toman una coloración rosada, además permite observar la forma de la bacteria, agrupación, capsula, flagelos etc. También se incluyen las pruebas bioquímicas que permiten determinar las características metabólicas como objeto de identificación; como ejemplos de pruebas bioquímicas está la de catalasa, que identifica si la bacteria presenta la enzima catalasa presente en las bacterias que poseen citocromos, la prueba de oxida la cual determina la presencia de enzimas oxidasas, pruebas lentas como son las oxido-fermentativas, las pruebas de reducción de nitrato y fermentación de azucares (Bou *et al.,* 2010; Pahlow *et a*l., 2015)

Para la identificación de géneros en las bacterias se utiliza una combinación de estas pruebas, pruebas como la tinción gram para dividirlos en gram negativo (géneros como *Erwinia*, *Pantoea*, *Pseudomonas*) y gram positivo (géneros como *Streptomyces* y *bacillus*), si pueden crecer en medios ausentes de oxígeno como las bacterias del género *Erwinia* y *Pantoea*, o bacterias que pueden producir fluorescencia en medio especifico como el caso del género *Pseudomonas* (Schaad *et al.*, 2001).

4.3 Género *Pseudomonas* sp.

Pseudomonas es un género de bacterias gram negativas que se caracteriza por formar colonias blanco grisáceas, transparentes, blanco lechosas y opacas, generan pigmentos fluorescentes en medio B de King al exponerse bajo luz ultravioleta (SENASICA, 2021).

Para la identificación de especies de *Pseudomonas* se utilizan una serie de pruebas bioquímicas principalmente conocidas como LOPAT (L=Levana, O= Oxidasa, P= Actividad pectolítica, A= Dihidrilosa de arginina y T= Hipersensibilidad en tabaco). De acuerdo a Goszczynska *et al*. (2000) las *Pseudomonas* con capacidades fitopatógenas son clasificadas en cinco grupos de acuerdo a sus resultados en las pruebas LOPAT (Cuadro 1).

Cuadro 1. Pruebas LOPAT para la división de grupos dentro del género *Pseudomonas*

Prueba LOPAT	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V
Levana	+	-	-	+	-
oxidasa	-	-	+	+	+
Actividad pectolítica	-	+	-	+	-
Dihidrolasa de arginina	-	-	-	+	+
Hipersensibilidad en tabaco	+	-	+	-	-

Además, un criterio importante para la identificación a nivel especies de este género son las pruebas de utilización de fuentes de carbono.

Otro criterio que debe considerarse con el género *Pseudomonas* son las diferencias entre los fenotipos que puede haber, porque estas se adaptan de acuerdo al entorno

en que se encuentran, por lo que sus pruebas bioquímicas pueden variar incluso con las pruebas LOPAT, un ejemplo de esta es *P. marginalis,* que en diferentes claves de pruebas bioquímicas la colocan en el grupo IV, pero en ciertos aislados estas pruebas varían, por ejemplo en aislados de cebollas algunas cepas de *P. marginalis* resultan negativas a la prueba de levana, por lo que su identificación con las claves pueden resultar difícil en este género de bacterias (Kim *et a*l., 2002).

Cuadro 2. Clasificación del género *Pseudomonas*

Bacterias	Reino Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Pseudomonadlaes
Familia	Pseudomonadaceae
Genero	*Pseudomonas*

4.4 Género *Pantoea* sp.

Pantoea, anteriormente asignadas en el grupo herbicola del género *Erwinia,* son bacterias gram negativas que presentan colonias de color amarillo, estas bacterias tienen la capacidad de fermentar glucosa en medio Hugh and Leifson características que comparte con el género *Erwinia*, la característica que divide a *Pantoea* de *Erwinia* es la capacidad de producir pigmentación amarilla en el medio YDC (Goszczynska *et al.*, 2000; Schaad *et al.,* 2001). Las pruebas bioquímicas para la identificación de las especies del género *Pantoea* de acuerdo con Schaad (2001) son la fermentación de glucosa en medio Hugh and Leifson, una coloración amarilla en el medio YDC (excepto la especie *Pantoea citrea*, la cual tiene una coloración gris pardo), en la diferenciación de especies se utilizan pruebas como la producción de indol en el que especies como *P. ananatis, P. stewartii subesp. indologenes* son positivas, pero en cepas de *P. agglomerans* pueden variar entre negativas y positivas a las pruebas de licuefacción de gelatina, reducción de nitrato y movilidad son algunas pruebas de diferenciación.

Cuadro 3. Clasificaciones género *Pantoea*

Bacterias	Reino Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	*Pantoea*

4.5 Diversidad dentro de las especies bacterianas

La reproducción bacteriana se realiza dentro de muy poco tiempo debido al ciclo de vida tan rápido que estas pueden llegar a tener, una replicación mayor del ADN en un ciclo de vida tan rápido en ocasiones causa mutaciones, y por ende un cambio en las características genéticas y fenotípicas de la bacteria. En la naturaleza, las bacterias se deben adaptar a diferentes entornos, lo que provoca un cambio fenotípico debido a mutaciones principalmente dadas por selección natural. Las mutaciones introducen variabilidad genética entre las células clonales de una bacteria causando una alteración en un clon que debería ser idéntico a la célula “madre” (Van *et al.*, 2020), estos cambios también pueden ser observados dependiendo del entorno en que se encuentran, por ejemplo cuando una colonia bacteriana tiene que adherirse a un lugar esta expresará el gen que le permite crear la célula pegajosa, en cambio las colonias hijas que crezcan sobre la bacteria aunque sea de la misma especie no expresará este gen para así ahorrar energía (Van y nowak, 2016).

Estas mutaciones también afectan las identificaciones convencionales, en las pruebas bioquímicas, estas bacterias al mutar pierden o adquieren ciertas propiedades como pueden ser la utilización de alguna fuente de carbono crecer en la presencia de un nutriente en particular (Maloy, 2013). Por eso es importante tener en cuenta estas variaciones genéticas al momento de identificar las bacterias.

4.6 Manejo y control de bacterias en maíz

Las enfermedades en distintos cultivos han generado grandes pérdidas económicas a lo largo del tiempo en la historia del maíz se encuentran grandes

impactos causados por microorganismos, por eso es importante establecer un manejo integrado de enfermedades para mitigar los daños que puedan llegar a ocasionar los distintos microorganismos relacionados con los cultivos. El manejo de bacterias fitopatógenas depende principalmente de prácticas de control cultural el cual consiste en prácticas agrícolas comunes que prevengan la dispersión y la interacción de los patógenos con su planta huésped (Sharma *et al*., 2022). La dispersión de las bacterias fitopatógenas se pueden dar por medio de maquinaria como pueden ser los equipos de cosecha y labranza, la ropa, en los zapatos incluso pueden transportarse por el viento por eso importante tener un buen control en la limpieza de los equipos o tener cuidado al usar la maquinaria entre cultivos para evitar la propagación de las enfermedades, también es importante la rotación de cultivos para reducir la cantidad de sobrantes de maíz como pueden ser hojas, tallos o granos de maíz que quedan en la superficie del suelo y permitan la supervivencia de la enfermedad hasta el establecimiento del nuevo ciclo del maíz, una labranza profunda es importante para enterrar los residuos infectados, otro control cultural es la eliminación de malezas que puedan resultar como huéspedes alternativos y permitan la supervivencias de las bacterias. Hay que tener en cuenta que estas prácticas no eliminan los patógenos, pero si permite minimizar el inoculo causante de las enfermedades (Butzen, 2011).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Recolecta de muestras en plantas de maíz

Se recolectaron muestras de plantas de maíz durante la etapa de crecimiento del cultivo de noviembre de 2023 a abril de 2024 en 22 lotes ubicados en los municipios de Ahome y El Fuerte, correspondientes al Valle del Fuerte en el norte de Sinaloa (Cuadro 4). Se recolectaron plantas sanas y/o con síntomas característicos de enfermedades bacterianas. Para para el muestreo se utilizó la técnica o el patrón de “cinco de oros” considerando cuatro esquinas y un punto central del campo de cultivo, en cada punto se muestrearon 10 plantas para un total de 50 plantas por zona de muestreo.

Cuadro 4. Datos de las zonas de muestreo.

Híbrido	Localidad	Fecha de siembra	Etapa	Riegos
DK-4050	La despensa	20/12/2022	Grano Macizo	2
DK-4050	Ej. México	21/11/2022	Grano dentado	4
DK-4050	Ej. Plan de Ayala	17/12/2022	Grano Macizo	4
DK-4050	Ej. Macapul	08/12/2022	Grano Macizo	1 y 4 de auxilio
DK-4050	Llano de los Soto	21/12/2022	Lechoso	4
DK-4050	Bateve	02/02/2023	Inicio Jiloteo	3
DK-4050	Las Estacas	25/02/2023	Vll	Riego por goteo
DK-4050	Cuchilla Cachoana	06/03/2023	Hoja bandera	2
DK-4050	Binoramas	05/12/2022	Grano lechoso	2 auxilio
DK-4050	Santa Rosa	11/02/2023	Floración	2
DK-4050	Arrocera	02/02/2002	Formación y llenado	2
Hipopótamo	El Garbanzo	02/12/2022	Mazorca	3
Hipopótamo	San Blas	10/12/2022	Mazorca	4
Hipopótamo	Arrocera	13/12/2022	Formación y llenado	2
RINOCERONTE	Isleta	02/03/2023	Polinización	2
P3230W	Ej. Águila Azteca	08/12/2022	Grano Macizo	2 asiento y 4 de auxilio
P3270W	San Lorenzo	17/12/2022	Mazorca	3
Asgrow 7573	Ej. México	30/01/2023	Floración	2
KEPLER 5000	Ej. Garbanzo	24/02/2023	Jilote	2
SYNGENTA 925W	Bagojo del Rio	22/02/2023	Floración	2 auxilio
SYNGENTA 925W	Bagojo del Rio	24/02/2023	Hoja bandera	2 auxilio

SYNGENTA 925W	Agua Nueva	01/03/2023	Floración	2 auxilio

5.2 Aislamiento bacteriano de tejido de maíz.

Las muestras de plantas con síntomas se trasladaron al laboratorio de diagnóstico fitosanitario en el área de bacteriología de la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte. Para realizar los aislados se utilizó una versión modificada de SENASICA (2020). En estas plantas se realizaron pequeños cortes de tejido sobre el avance de los síntomas, en condiciones asépticas, los cortes fueron lavados con hipoclorito de sodio al 1% durante 1:30 min, se decantó el hipoclorito y después se enjuagó el tejido tres veces con agua destilada estéril. El tejido fue colocado en tubos eppendorf de 1.5 mL, se les añadió 1 mL de agua destilada estéril y se maceró con un pistilo estéril para facilitar la salida de las bacterias del tejido hacia el agua, con un asa bacteriológica se sembró mediante estría cruzada en medio B de King, se incubó a 28 °C durante 48 h en una incubadora (Yamato IN604/804). Posteriormente las colonias fueron observadas en el estereoscopio y bajo luz UV, se procedió a purificar las bacterias a partir de una sola colonia (Figura 2).

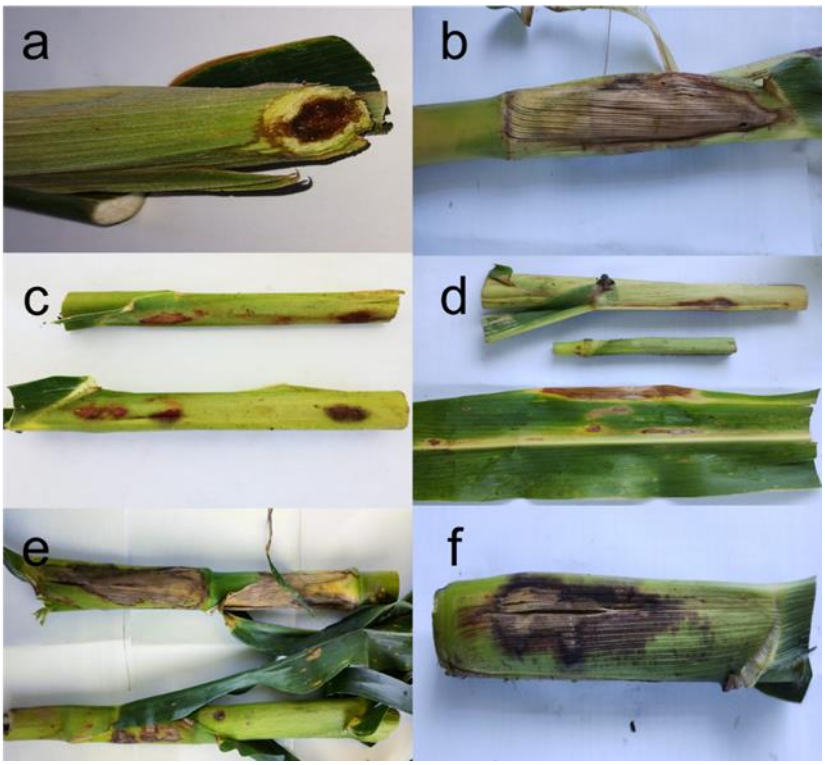

Figura 2. Imágenes de estructuras de la planta de maíz donde se obtuvieron los aislados bacterianos. a) Pudrición húmeda en jilote, b) planta con necrosis en la parte superficial del tallo, c) tallo con manchas necróticas y clorosis, d) tallos y hojas de maíz con clorosis superficial e) tallos y hojas de maíz con manchas necróticas superficial, f) tallo con necrosis

5.3 Caracterización morfológica de los aisladas bacterianos.

Las colonias bacterianas aisladas se caracterizaron morfológicamente de acuerdo con la metodología propuesta por Rodríguez (2012) donde se consideró el color, forma, borde, elevación y superficie de las colonias, a las cuales se les realizó la prueba de tinción gram, prueba de catalasa y la prueba de oxidasa

5.4 Patogenicidad de los aislados bacterianos.

Después de que cada aislado se purificó y se sembró en medios de cultivo se realizaron pruebas de patogenicidad a los 10 días después de germinadas las semillas. Los aislados se aplicaron sobre 10 hojas y 10 raíces de cada planta de los híbridos DK 4050, DK 5021 e Hipopótamo en condiciones de invernadero. Para la inoculación se utilizó una solución bacteriana (10^8 UFC/mL) de la cual se aplicó 10 mL de inoculó en

el envés de las hojas y raíz con una jeringa sin aguja y aguja, respectivamente (Figura 3) (Aini *et al*., 2013). Posteriormente las plantas se colocaron en una cámara húmeda con una humedad relativa del 75% y una temperatura de 27°C (Figura 4). Las plantas que presentaron los síntomas bacterianos fueron aisladas a partir de tejido para observar la morfología colonial y confirmar si presentaban la bacteria inoculada.

Figura 3. Inoculación de la suspensión bacteriana por medio de infiltración.

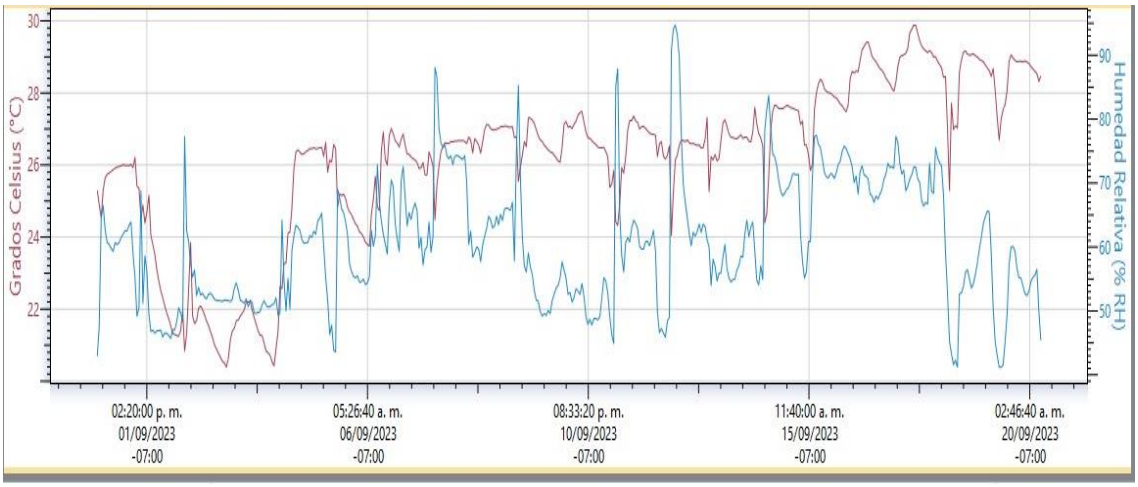

Figura 4. Temperatura y humedad relativa registrada en el invernadero durante las pruebas de patogenicidad en maíz.

5.4.1 Reacción de hipersensibilidad en tabaco (*Nicotiana tabacum*).

Para registrar esta prueba se utilizó una suspensión bacteriana de cada bacteria que dio efecto positivo en las pruebas de patogenicidad. Con una jeringa estéril sin aguja, se aplicaron 10 mL de inoculo a una concentración de 10^8 UFC/mL en el envés de las hojas de plantas de tabaco. Las plantas se mantuvieron a una temperatura de 28 °C y se registraron los resultados a las 72 h.

5.4.2 Pudrición de tubérculo de papa.

En un vaso de precipitado con hipoclorito de sodio al 1% se colocaron tubérculos de papa sanos durante 10 min, se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar, se desinfectó la superficie del tubérculo y se desinfectó la superficie del tubérculo con alcohol al 70% y pasándolo ligeramente por la flama de un mechero. Posteriormente se cortaron rodajas de 5 mm de grosor, se colocaron en cajas Petri con papel secante estéril y dos portaobjetos en forma de cruz previamente desinfectados con alcohol al 70% y flameados; a cada rodaja de papa se le hizo una incisión en el centro con un bisturí, sin tocar los bordes y con un asa bacteriológica se inoculó la bacteria. Después a cada caja Petri se le añadió de 2 a 3 mL de agua destilada estéril sobre el papel secante y se incubo a 28 °C durante 72 h en la incubadora Yamato IN604/804.

5.5 Identificación de los aislados bacterianos.

Las cepas aisladas con el procedimiento descrito se identificaron utilizando pruebas bioquímicas siguiendo los lineamientos propuestos por Schaad *et al.* (2000) y Rodríguez (2012), las bacterias del género *Pseudomonas*, se sembraron en medio B de King para observar la presencia de pigmentos fluorescente en UV y se realizaron las pruebas LOPAT (producción de levana (L), presencia de oxidasa (O), actividad pectolítica en papa (P) presencia de dihidrolasa de arginina (A) e hipersensibilidad en tabaco (T). Mientras que para las bacterias del género *Pantoea* se utilizó la metodología propuesta por Schaad *et al*. (2000) para las características de pigmentación en medio YDC (por sus siglas en ingles de levadura-dextrosa- carbonato

de calcio), hipersensibilidad en tabaco, producción de indol, reducción de nitrato, licuefacción de gelatina y movilidad.

5.6 Extracción de ADN y PCR.

5.6.1 Extracción de ADN (CTAB 2%)

Para la extracción de ADN se utilizó la metodología de Doyle y Doyle (1987), las colonias bacterianas previamente purificadas se colocaron en tubos eppedorf estériles de 2 mL, se les adicionó 1.5 mL de buffer CTAB 2%, la cual se calentó a 80 °C durante 15 minutos, se les adicionó 100 µL de SDS al 10%, se homogenizó y se incubaron los tubos con las muestras a 80 °C durante 15 minutos en baño María. Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente por 5 minutos y se centrifugaron por 15 minutos a 13,000 fuerzas G. Después se cambió 1 mL del sobrenadante a otro tubo estéril de 2 mL. Se le agregó 500 µL de fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (25:24:1) y se mezcló por inversión para homogenizar la muestra. Esta muestra se centrifugó a 13,000 fuerzas G durante 15 minutos y se transfirió de 500 a 700 µL del sobrenadante a un tubo estéril de 1.5 mL, se le agregó ½ volumen de etanol: metanol: ácido acético glacial (9:3:1) se mezcló por inversión y se dejó reposar 60 min a -20 °C. los tubos se centrifugaron a 13,000 fuerzas G por 10 minutos. El sobre nadante se decantó el sobrenadante y se lavó con 500 µL de etanol: agua: metanol: acetato de sodio 3M (30:9:5:1), se centrifugó a 13,000 fuerzas G por 5 minutos. Se decantó el sobrenadante sin perder la pastilla y se lavó con 500 µL de etanol al 70%, estos se centrifugaron a 13,000 fuerzas G por 5 minutos, se dejó secar la pastilla y se resuspendió en 50 µL de agua libre de nucleasas. La calidad y concentración del ADN se verificó mediante espectrofotometría usando un NANODROP ONE.

5.6.2 PCR y secuenciación

La identificación molecular para la amplificación del ADN se realizó con los cebadores 16s1 (5′ TGAGAATGGATAAGAGGCTC 3′) y 16s2 (5′ TGTTGTTCCCCTCCAAGGG 3′), los cuales amplifican 300 pares de bases.

La amplificación se hizo con el equipo C1000™ Thermal Cycler, la reacción de PCR se realizó en 25 µL que constó de 5 µL de Buffer de PCR 1X, 1.5 µL de $MgCl_2$ 1.5 Mm, 0.5 µL de dNTP´s 200 µM, 1 µL de cada primer, 0.3 µL de Taq. ADN polimerasa (0.06U/ µL), 5 µL de ADN y 11.7 µL de agua grado molecular. Para la desnaturalización inicial de un ciclo de cinco minutos a 95 °C, después 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 minuto a 57 °C y un minuto a 72 °C y una extensión final de 10 minutos a 72 °C.

Los productos obtenidos del PCR se verificaron en un gel de agarosa al 1.5%, los productos de cada reacción se enviaron para su secuenciación al laboratorio de Servicios de Secuenciación de la Empresa de Biotecnología Publica de Corea del Sur (MACROGEN). Posterior a obtener las secuencias, estas se procesaron con la aplicación BIOEDIT y fueron analizadas en BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

5.7 Diseño experimental y tratamientos

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3 x 5 x 3; tres híbridos de maíz (DK 4050, Hipopótamo y DK 5021), cinco cepas (*Pseudomonas simiae, P. ananatis, P. aglomerans, P. simiae cepa 2 y P. simiae cepa 3*) y tres diluciones (10^4, 10^6 y 10^8) con un total de 45 tratamientos con tres repeticiones y unidad experimental de nueve charolas por repetición, de las cuales se realizó un muestreo destructivo de cuatro plántulas. Las semillas de estos híbridos se inocularon con cinco cepas de bacterias fitopatógenas aisladas de maíz, las cuales se sembraron en agar nutritivo durante 24 h a 28 °C, estas bacterias fueron resuspendidas en 150 mL de agua destilada estéril en tres concentraciones 10^4, 10^6 y 10^8 (Figura 5), las concentraciones fueron ajustadas por medio de espectrofotometría OD600 en NANODROP ONE, posteriormente las semillas se colocaron en las diferentes suspensiones contenidas en matraces, se dejaron en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de ser sembradas en charolas de unicel de 128 cavidades, el sustrato donde se sembraron estas semillas fue previamente esterilizado en autoclave a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos (Gutiérrez *et al.*, 2022), el sustrato fue humedecido con agua corriente y posteriormente se sembraron las semillas inoculadas, la temperatura promedio durante el proyecto fue de 20.15 °C con

un promedio de humedad del 67.07%, para mantener la humedad durante el establecimiento del proyecto se asperjó agua corriente con ayuda de un atomizador sobre las plántulas de maíz, para el riego de maíz se utilizó una piseta para evitar la salpicadura y contaminación entre los tratamientos.

Figura 5. Suspensiones bacterianas de *P. simiae* en concentraciones de 10^4, 10^6, 10^8, con las cuales se realizó la inoculación de semillas de maíz de los híbridos DK 4050, DK 5021, Hipopótamo.

5.8 Variables evaluadas:

5.8.1 Germinación, incidencia y severidad.

Para el porcentaje de germinación se utilizó la formula;

$$\%Germinación = \frac{Número\ de\ semillas\ germinadas}{Total\ de\ semillas} x100$$

Para el cálculo de incidencia se utilizó la siguiente ecuación:

$$\%Incidencia = \frac{Número\ de\ plantas\ enfermas}{Número\ de\ plantas\ sanas} x100$$

Para establecer las escalas de severidad se utilizaron las escalas propuestas por Hernández y Sandoval, 2016 para la Mancha de Asfalto del Maíz. Para el cálculo de severidad se utilizó la fórmula de Bernaschina *et al.* (2015).

$$Indice\ de\ severidad\ medio\ de\ la\ enfermedad\ (ISE) = \Sigma\ (\ n_{¡} * s_{¡}\ )\ /\ N$$

- Donde “n¡” es el número de hojas en cada clase
- Donde “s¡” el valor de severidad de la clase
- Donde N es el número total de hojas evaluadas

En el caso de severidad se realizó una escala de acuerdo a los efectos de las bacterias en la planta (Figura 6).

Figura 6. Escalas de severidad: 1) planta sana; 2) Muy pocas rayas en las hojas, ligera clorosis; 3) Rayas moderadas, observación de clorosis o necrosis en hoja; 4) Rayas extendidas en aproximadamente el 60-75% del área de las hojas; 5) Planta muerta.

5.8.2 Peso fresco y peso seco de raíz, tallo y hoja (g).

El peso fresco de hoja, tallo y raíz (PFH, PFT, g) se registró, después de extraer las plántulas de las charolas, luego se procedió a secar las muestras en una incubadora Felissa (Felissa, México) a 70 ºC durante 48 h, para obtener el peso seco de hoja, tallo y raíz (PSH, PST, g), usando una balanza analítica (Ohaus Pioneer).

5.9 Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) con el uso del software estadístico infostat® (v2020) para todos los procedimientos.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 Síntomas bacterianos presentes en las plantas de maíz de los predios muestreados.

De los 22 sitios muestreados, solo en 11 de ellos se observó la presencia de bacterias en las plantas muestreadas, en promedio de los cuales los híbridos DK 4050, Hipopótamo, RINOCERONTE, P3270W y KEPLER 500 mostraron 50.54%, 18.18%, 9.09%, 9.09% y 9.09%, respectivamente (Cuadro 5). Con el cambio climático se están presentando con mayor agresividad los síntomas ocasionados por distintos patógenos, y no son la excepción las bacterias fitopatógenas, por lo cual es importante incluir en los paquetes de mejoramiento genético híbridos y/o variedades resistentes a estos. Al respecto, Boyd *et al*. (2013) mencionan que es importante conocer la susceptibilidad de los híbridos que se utilizan en la región, ya que los cambios del entorno, clima y la variabilidad genética de las enfermedades se vuelve cada día un problema recurrente.

Cuadro 5. Muestreo de plantas de maíz y aislamiento de bacterias.

Híbrido	Riegos	Plantas sanas	Plantas enfermas	Plantas enfermas (%)	Bacteria aislada
					Pseudomonas sp.
DK-4050	2	38	12	24%	*Pantoea* sp.
DK-4050	4	49	1	2%	*Pantoea* sp.
DK-4050	4	50	0	0	
DK-4050	1 asiento y 4 de auxilio	48	2	4%	*Pseudomonas* sp.

DK-4050	Cuarto riego	49	1	2%	*Pseudomonas* sp.
DK-4050	3	49	1	2%	*Pseudomonas* sp.
DK-4050	Riego por goteo	50	0	0	
DK-4050	2	48	2	4%	*Pseudomonas* sp.
DK-4050	2 auxilio	50	0	0	
DK-4050	2	50	0	0	
DK-4050	2	50	0	0	
Hipopótamo	3	48	2	4%	*Pseudomonas* sp.
Hipopótamo	4	47	3	6%	*Pseudomonas* sp.
Hipopótamo	2	50	0	0	
RINOCERONTE	2	43	7	14%	*Pseudomonas* sp.
P3230W	2 asiento y 4 de auxilio	50	0	0	
P3270W	3	41	9	18%	*Pseudomonas* sp.
Asgrow 7573	2	50	0	0	
KEPLER 5000	2	45	5	10%	*Pseudomonas* sp.
SYNGENTA 925W	2 auxilio	50	0	0	
SYNGENTA 925W	2 auxilio	50	0	0	
SYNGENTA 925W	2 auxilio	50	0	0	

6.2 Pruebas de patogenicidad en maíz

Las bacterias aisladas se inocularon en raíces y hojas de plántulas de maíz; en la raíz, a los 20 días después de inocular las bacterias, se observaron lesiones de color café con pudrición húmeda en comparación las raíces de las plantas testigo, el cual tuvo una coloración blanquecina (Figura 7 a, b, c). Mientras que, en las hojas, a partir de siete días de inocular las bacterias, los síntomas fueron lesiones cloróticas (Figura 7 d). Las plántulas inoculadas con *P. agglomerans* presentaron una coloración amarillenta en la primera hoja, y en las hojas verdaderas se presentó una ligera clorosis a través de las nervaduras de las hojas (Figura 7 e), en las plántulas inoculadas con *P. ananatis* se observó una ligera clorosis en las nervaduras de las hojas (Figura 7 f). En las plántulas inoculadas con las cepas de *P. simiae* se observaron características similares a las cepas de las bacterias del género *Pantoea,* los primeros síntomas se presentaron en la primera hoja de la plántula (Figura 7 g, h), las cuales comenzaron con una coloración amarillenta hasta marchitarse, mientras que en las hojas verdaderas se pudo observar una clorosis en las nervaduras de las hojas, las cuales fueron tomando una coloración blanquecina. La clorosis ocasionada por estas bacterias fue similar a la sintomatología causada por *Pantoea stewartii* y *Pantoea agglomerans* reportadas como especies causantes de clorosis en hojas de maíz (Rahma y Sinaga, 2014; Ruíz *et a*l., 2018).

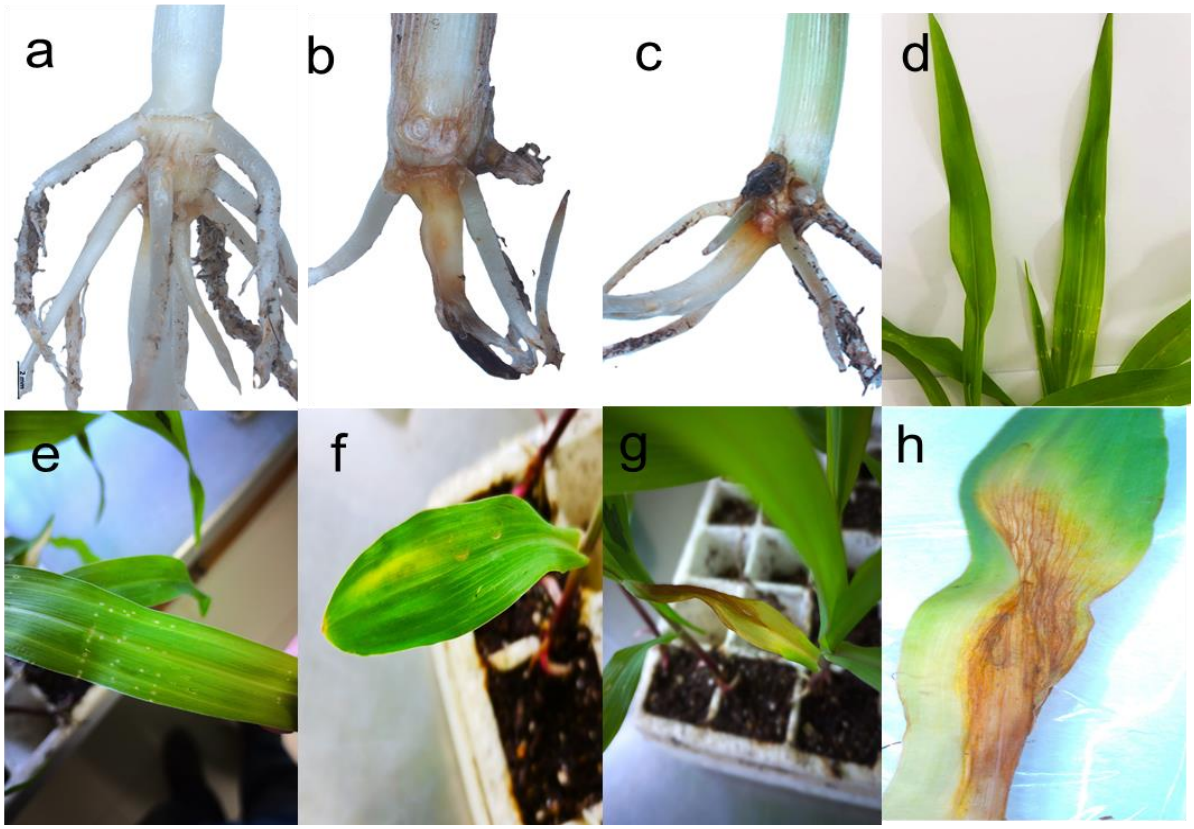

Figura 7: Resultados de pruebas de patogenicidad en raíces de plántulas de maíz inoculadas con bacterias por infiltración, a) Raíz de las plántulas testigo, b) Raíz inoculada con la cepa C1 de *Pseudomonas simiae*, c) Raíz inoculada con la cepa C2 de *Pantoea* agglomerans. d) de lado izquierdo hoja de planta sin inocular lado derecho hoja inoculada, e) efectos de la bacteria en hojas verdaderas de la plántula. f) Primera hoja inoculada con *Pantoea ananatis*, g) Primera hoja inoculada con *Pseudomonas simiae*, h) Primera hoja inoculada con *Pseudomonas simiae* desde el estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20.

6.3 Pruebas morfológicas, bioquímicas e identificación molecular

6.3.1 Pruebas de diferenciación de género entre bacterias.

Para la identificación de las bacterias cuyo resultado fue positivo a las pruebas de patogenicidad, se les realizaron pruebas bioquímicas empleando las claves de Schaad *et al*. (2000), las bacterias aisladas fueron gram negativas en el que las cepas bacterianas C1, C4 y C5 fueron negativas a condiciones anaeróbicas en el medio Hugh and Leifson y presentaron pigmentación fluorescente en el medio B de King (Figura 8 a), de acuerdo a OECD (2006) se identifican como bacterias del género *Pseudomonas.*

Las cepas bacterianas C2 y C3 crecieron en condiciones anaeróbicas fermentando la glucosa en CO_2 haciendo virar de color azul a amarillo el medio de cultivo Hugh and Leifson (Figura 8 b); en el medio YDC presentaron un crecimiento de color amarillo (Figura 8 c), por lo cual, de acuerdo con esa coloración se identificaron como bacterias pertenecientes al género *Pantoea* (Morin, 2014).

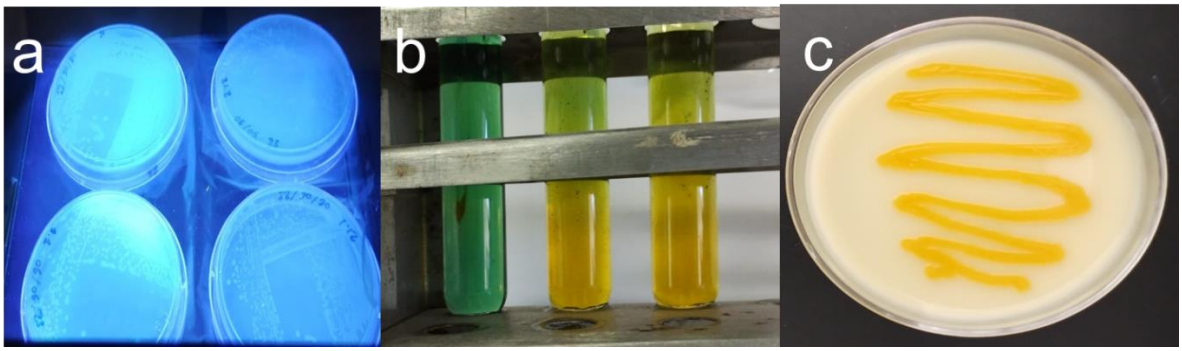

Figura 8. Pruebas de diferenciación de géneros de bacterias. a: Fluorescencia de la bacteria medio B de King; b: Crecimiento bacteriano de color amarillo en medio YDC; c: medio Hugh and Leifson, coloración amarilla positivo a producción de ácido a partir de glucosa en condiciones anaeróbicas.

6.3.2 Identificación morfológica y molecular del género *Pseudomonas* aisladas en plantas de maíz.

Los resultados de las características bioquímicas se compararon con las claves propuestas por Schaad *et al*. (2000) y Rodríguez (2012) identificando a las cepas C1 Y C4 como *P. fluorescens* bv. III. (Cuadro 6).

Cuadro 6. Características bioquímicas de *Pseudomonas simiae* aisladas de plantas de maíz.

Prueba bioquímica	***P. simiae* (C1)**	***P. simiae* (C4)**	***Pseudomonas fluorescens* bv. III Schaad *et al*. (2000)**
Fluorescencia en medio BK	+	+	+
Levana	-	-	-
Oxidasa	+	+	+
Dihidrolasa de Arginina	+	+	+
Actividad Pectolítica	-	-	-
Hipersensibilidad en Tabaco	-	-	-
Reducción de Nitrato	+	+	+
Licuefacción de Gelatina	+	+	+
Crecimiento en medio enriquecido con;			
L-arabinosa	+	+	+
D-galactosa	+	+	+
Sorbitol	+	+	+

Las características morfológicas de las cepas C1 y C4 fueron similares entre sí, sus colonias presentaron una coloración blanco grisáceo con forma circular, con un borde convexo en elevación colonial (Figura 9), las cepas C1 y C4 mostraron una colonia bacteriana elevada y pulvinada (Cuadro 7).

Cuadro 7. Características morfológicas de *Pseudomonas simiae* aisladas de plantas de maíz

Morfología colonial	***P. simiae* (C1)**	***P. simiae* (C4)**
Color	Blanco Grisáceo	Blanco Grisáceo
Forma	Circular	Circular
Borde	Entero	Entero
Elevación	Pulvinada	Pulvinada
Superficie	Lisa brillante	Lisa brillante

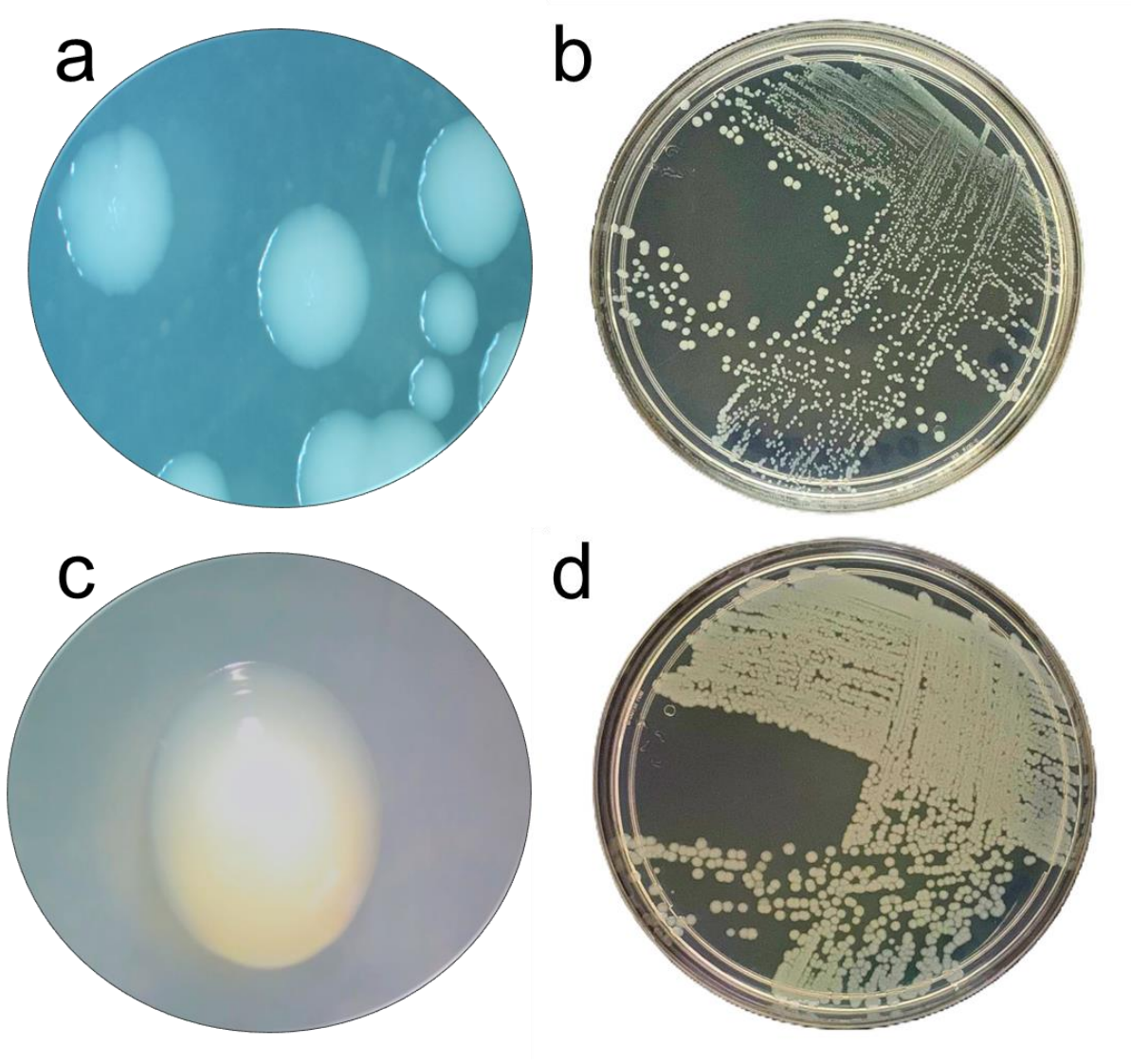

Figura 9. Morfología del género *Pseudomonas.* a: *P. simiae* C1 en un estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20; b: colonias de *P. simiae* C1 en medio BK; c: *P. simae* C4, observadas en un estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20; d: Colonias de P. *simiae* C4 en medio BK.

La identificación de *P. simiae* de la cepa C5 fue positiva a todas las pruebas bioquímicas utilizadas, excepto para la prueba de levana, la cual mostró un resultado negativo (Cuadro 8). Al respecto, Schaad (2000) determinó una respuesta similar con las mismas pruebas utilizadas en este estudio, al analizar la bacteria de la especie *Pseudomonas marginalis*. Por su parte, Whistler *et a*l. (2019) indican que distintos factores abióticos pueden afectar la respuesta de las bacterias a las pruebas bioquímicas, como fue el caso de las colonias de la cepa C5 que presentaron una coloración blanco grisáceo con una forma circular, borde convexo con una elevación convexa (Cuadro 9) (Figura 10).

Cuadro 8. Características bioquímicas de *Pseudomonas simiae* cepa C5 aisladas de plantas de maíz.

Pruebas bioquímicas	***Pseudomonas simiae* (C5)**	***Pseudomonas marginalis* Schaad *et al.* (2000)**
Fluorescencia en medio BK	+	+
Levana	-	+
Oxidasa	+	+
Dihidrolasa de arginina	+	+
Actividad pectolítica	+	+
Hipersensibilidad en Tabaco	+	V
Reducción de Nitrato	-	V
Licuefacción de Gelatina	-	ND
Utilización de;		

Manitol	+	+
Sorbitol	+	+
Celobiosa	-	-
Sacarosa	+	+

Cuadro 9. Características morfológicas de *Pseudomonas simiae* cepa C5 aisladas de plantas de maíz.

Morfología colonial	***Pseudomonas simiae* (C5)**
Color	Blanco grisáceo
Forma	Circular
Borde	Entero
Elevación	Convexa
Superficie	Lisa brillante

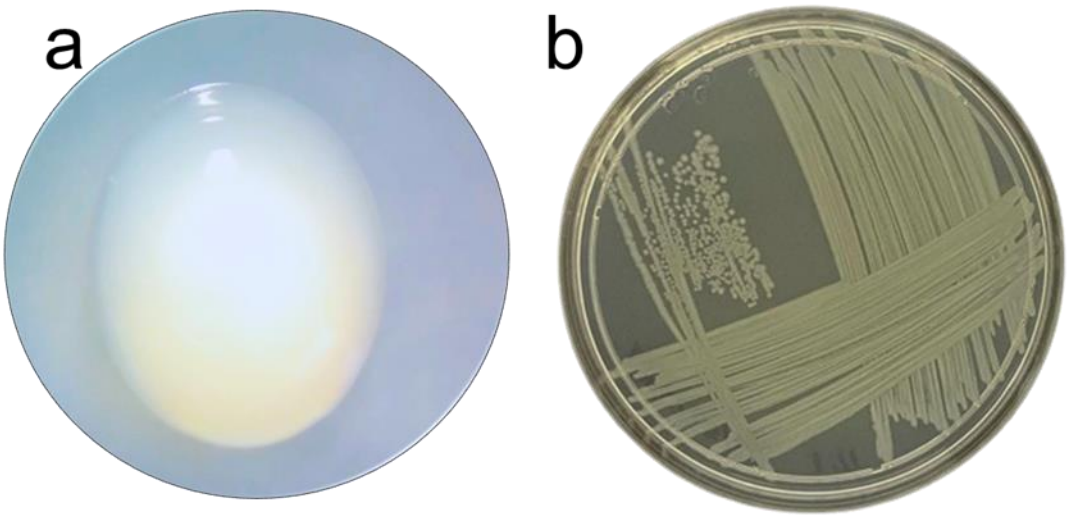

Figura 10. Morfología colonial del género *Pseudomonas*. A: *P. simiae* C5 observada desde el estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20 con el objetivo 10x; b: Colonias de *P. simiae* C5 en medio BK.

En la identificación molecular el mejor porcentaje de identidad en BLAST fue con la secuencia CP152476.1 en el que la cepa C1 y C4 obtuvieron 100% de similitud

y la cepa C5 un 99.76% de identidad con respecto a *Pseudomonas simiae*, es decir, que las tres cepas son de la misma especie con características fenotípicas diferentes en comparación con algunas pruebas bioquímicas. En la secuenciación se identificaron como *P. simiae*, nombre actual de algunas cepas de *P. fluorescens*, en la que sus características fenotípicas y moleculares la agrupan dentro del subgrupo de *Pseudomonas fluorescens* (Beiki *et al*., 2016; Osuna *et al.*, 2021). *P. simiae* es una especie de *Pseudomonas* conocida por sus capacidades benéficas para las plantas, algunas cepas estudiadas de esta especie poseen características que promueven el crecimiento de las plantas, así como funciones de biocontrol contra patógenos (Álvarez *et al*., 2015; Baliah, 2018; Godebo *et al.*, 2021). No obstante, algunas cepas también tienen roles patogénicos en plantas, como es el caso de *P. fluorescens* biovar III identificada con pruebas bioquímicas, sin embargo, con la secuenciación molecular realizada en este trabajo se identificó como *P. simiae*. Al respecto, Molan e Ibrahim (2007) y Dimartino *et al.* (2011) determinaron que algunas cepas de *P. fluorescens* biovar III pueden ser patogénicas en el cultivo de tomate. Beiki *et al.* (2016) y Sawada *et al*. (2020) reportan que cepas identificadas como *P. simiae* son patogénicas en cultivos de cítricos y cebollas.

6.3.3 Identificación morfológica, bioquímica y molecular de *Pantoea* spp.

Las pruebas bioquímicas de la cepa C2 tuvieron correspondencia con la especie *Pantoea ananatis* la cual fue evaluada por *Schaad et al. (2000)*, mientras que las pruebas bioquímicas de la cepa C3 coincidió con la especie *Pantoea agglomerans* de acuerdo con las claves propuestas por Schaad *et al.* (2000) (Cuadro 10). Las características morfológicas de las colonias bacterianas de estas especies fueron de color amarillo en el medio agar nutritivo, la forma fue circular con borde entero, pero difieren en el tipo de elevación, las colonias de *P. ananatis* fueron elevadas (Figura 11) y *P. agglomerans* convexa (Figura 12). *P. ananatis* es una bacteria versátil con la capacidad de causar enfermedad en un gran rango de hospederos como lo son el maíz, arroz, y cebolla (Weller-stuart *et a*l., 2017; Bragard *et al.*, 2023). Tanto *P. ananatis* y *P. agglomerans* han sido reportadas en el cultivo de maíz como especies problema, principalmente por causar clorosis en las hojas (Butsenko *et al.*, 2018)

La identificación molecular indicó que el mejor porcentaje en BLAST para la cepa C2 fue con la especie *P. ananatis* en relación con la secuencia DQ777968.1 con un 90.48% de identidad para *Pantoea ananatis* y un 94.59% con la secuencia OW970315.1 para la cepa C3 como *P. agglomerans*

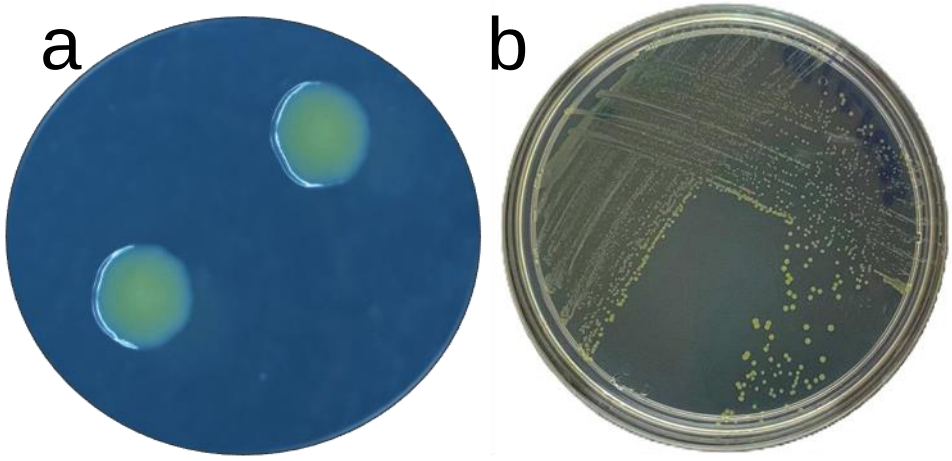

Figura 11. Morfología colonial del género *Pantoea* (C2). a: *P. ananatis* C2 observada desde el estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20 con el objetivo 10x; b. Colonias de *P. ananatis* C2 en medio AN.

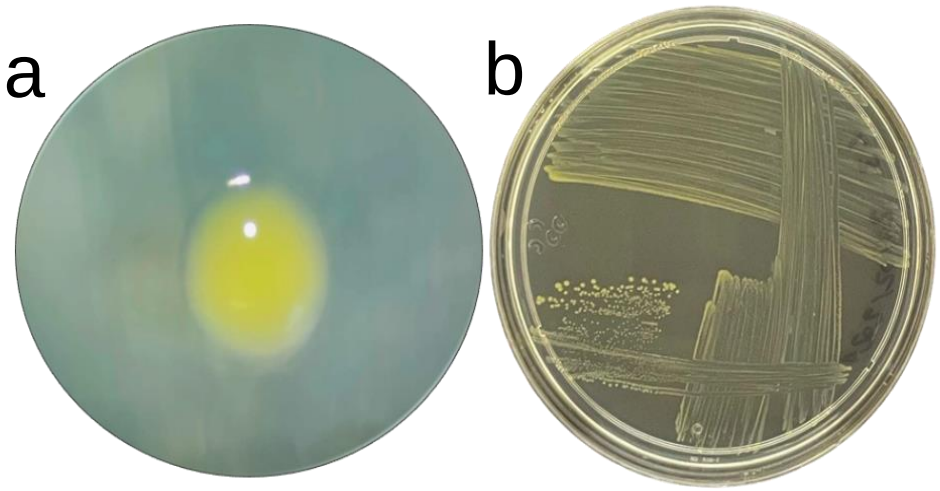

Figura 12. Morfología colonial del género *Pantoea*. a: *P. agglomerans* C3, observada desde el estereomicroscopio Carl Zeizz Discovery V20 con el objetivo 10x; b: Colonias de *P. agglomerans* C3, en medio AN.

Cuadro 10. Características bioquímicas de *Pantoea agglomerans* y *Pantoea ananatis* aisladas de plantas de maíz.

Pruebas bioquímicas	***Pantoea agglomerans*** (C3)	***Pantoea agglomerans*** Schaad *et al*. (2000)	***Pantoea ananatis*** (C2)	***Pantoea ananatis*** Schaad *et al.* (2000)
Hipersensibilidad en tabaco	+	N/D	+	N/D
Pigmentación amarilla en YDC	+	+	+	+
Producción de Indol	+	V	+	+
Licuefacción de gelatina	-	-	-	-
Reducción de nitratos	-	-	-	-
Utilización de;				
Citrato	+	+	+	+
Producción de ácido en medio enriquecido con;				
Celobiosa	+	+	+	+
Sacarosa	+	+	+	+
Melobiosa	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	+
Sorbitol	-	-	+	+

6.4 Efectos de las bacterias fitopatógenas en el desarrollo de las plantas de maíz.

6.4.1 Germinación de semilla, incidencia y severidad

De acuerdo con el análisis de varianza, solo se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre híbridos (H) para la germinación de semilla; el híbrido DK 4050 mostró 22.28 y 21.4 % menor germinación de semilla que DK 5021 e hipopótamo, respectivamente. Waterworth *et al.* (2015) y Carrera-castaño *et al.* (2020) mencionan que la germinación de semilla es una etapa crítica del ciclo de vida de la planta, la cual si se ve afectada impacta en la productividad de los cultivos, además, la resistencia de la semilla al ambiente y a los patógenos son punto clave en la agricultura. No se observaron diferencias ($p > 0.05$) en incidencia y severidad a los 20, 30 y 40 dds, excepto para la severidad a los 20 dds, donde el híbrido DK 4050 obtuvo 12 y 10 % mayor severidad que Hipopótamo y DK 5021. La resistencia de los híbridos de maíz es importante para mantener el rendimiento y la calidad del cultivo, la detección de genotipos resistentes a enfermedades es importante para garantizar la producción de los cultivos (Oleszczuk *et al*., 2020).

En el factor Cepas (C) se dieron diferencias significativas en el que las semillas testigos registraron un 14% de mayor germinación en comparación con el promedio de las plantas inoculadas con las cinco cepas. Las bacterias fitopatógenas tienen diferentes mecanismos de acción en el caso de *Pseudomonas* está demostrado que cepas patógenas de especies como *Pseudomonas aeruginosa* inhiben la germinación de *Arabidopsis thaliana* ya que estas bacterias producen L-2-amino-4- methoxy-trans-3-butenoic acid (AMB) el cual es tóxico para la semilla, en el caso de genero *Pantoea*, *P. ananatis* y *P. agglomerans* han demostrado un efecto negativo en la germinación en semillas de arroz y avena (Chahtane *et al.*, 2018; Azizi *et al.,* 2020; Wang *et al*., 2021). Por su parte, Bustos-Meza *et al*. (2024) comprobaron mediante pruebas de germinación que las fitobacterias *Burkholderia andropogonis* y *Pseudomonas syringae* no inciden en la germinación de las semillas de maíz, sin embargo, si influyen en síntomas de la enfermedad en las hojas verdaderas y en las raíces.

Se observaron diferencias significativas en incidencia a los 20, 30 y 40 dds. En promedio, la incidencia fue de 52.83, 65.74 y 100% a los 20, 30 y 40 dds respectivamente. En la variable severidad se encontraron diferencias significativas a los 20, 30 y 40 dds. En el índice de severidad en promedio fue de 1.4, 1.5 y 2.6 a los 20, 30 y 40 dds, respectivamente (Cuadro 11). La incidencia y severidad de las enfermedades se debe a diversos factores ambientales como puede ser la temperatura y la humedad, factores como la resistencia de las plantas o en la etapa fenológica de la planta, especies como *P. ananatis* en plantas de maíz necesitan alta humedad y temperatura moderada para tener un mayor efecto en incidencia y severidad, en el caso de *P. agglomerans* una humedad entre el 45 % y 85 % y una temperatura de entre 16 a 19 °C aumenta la incidencia en cultivos de maíz (Coutinho y venter, 2009; Ruíz *et al*., 2018).

No hubo diferencias significativas entre concentraciones, en las interacciones híbrido x cepas, híbrido x concentración, cepas x concentración y entre híbrido x cepas x concentración para la germinación de semillas, incidencia y severidad (Cuadro 11).

Cuadro 11. Análisis de varianza y comparación de medias de germinación de semilla (G), incidencia (INC) y severidad (SEV) a los 20, 30 y 40 días después de la siembra (dds) de maíz.

	G (%)	INC (%)			SEV		
		20 dds	30 dds	40 dds	20 dds	30 dds	40 dds
Híbridos (H)							
DK 4050 (H1)	73.70 b	37.06 a	67.71 a	93.75 a	1.27 b	1.57 a	2.45 a
Hipopótamo (H2)	93.75 a	49.55 a	63.02 a	93.75 a	1.44 a	1.42 a	2.48 a
DK 5021 (H3)	94.79 a	61.98 a	54.17 a	93.75 a	1.41 a	1.49 a	2.55 a
Media general	87.41	49.53	61.63	93.75	1.37	1.49	2.49
Cepas (C)							
Pseudomonas. simiae (C1)	83.80 b	53.78 b	65.74 b	100.00 b	1.42 b	1.60 b	2.54 b
Pantoea ananatis (C2)	91.90 b	48.18 b	64.81 b	100.00 b	1.32 b	1.50 b	2.64 b
Pantoea agglomerans (C3)	84.72 b	49.13 b	76.85 b	100.00 b	1.38 b	1.53 b	2.58 b
Pseudomonas simiae(C4)	88.89 b	55.61 b	55.56 b	100.00 b	1.39 b	1.43 b	2.60 b
Pseudomonas simiae (C5)	83.56 b	57.47 b	65.74 b	100.00 b	1.49 b	1.57 b	2.61 b
TES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a

Media general	88.81	44.03	54.78	83.33	1.33	1.44	2.33
Concentraciones (D)							
10^8 (D1)	89.31 a	56.72 a	67.22 a	100.00 a	1.40 a	1.50 a	2.48 a
10^6 (D2)	85.69 a	58.40 a	65.56 a	100.00 a	1.46 a	1.47 a	2.66 a
10^4 (D3)	84.72 a	43.38 a	64.44 a	100.00 a	1.34 a	1.62 a	2.64 a
TES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
Media general	89.93	39.63	49.31	75.00	1.30	1.40	2.20
HxC							
H1xC1	68.75 a	47.33 a	63.89 a	100.00 a	1.38 a	1.48 a	2.44 a
H1xC2	80.56 a	41.72 a	77.78 a	100.00 a	1.30 a	1.78 a	2.62 a
H1xC3	68.75 a	36.25 a	72.22 a	100.00 a	1.18 a	1.47 a	2.67 a
H1xC4	78.47 a	33.44 a	72.22 a	100.00 a	1.25 a	1.55 a	2.56 a
H1xC5	63.19 a	38.92 a	75.00 a	100.00 a	1.33 a	1.77 a	2.46 a
H1xTES	100 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
H2xC1	88.89 a	44.56 a	61.11 a	100.00 a	1.35 a	1.48 a	2.45 a
H2xC2	99.31 a	50.03 a	63.89 a	100.00 a	1.35 a	1.33 a	2.67 a
H2xC3	90.97 a	55.58 a	97.22 a	100.00 a	1.55 a	1.52 a	2.50 a
H2xC4	93.06 a	66.72 a	50.00 a	100.00 a	1.47 a	1.44 a	2.57 a
H2xC5	94.44 a	47.39 a	63.89 a	100.00 a	1.63 a	1.49 a	2.73 a
H2xTES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
H3xC1	93.75 a	69.44 a	72.22 a	100.00 a	1.52 a	1.85 a	2.72 a
H3xC2	95.83 a	52.78 a	52.78 a	100.00 a	1.31 a	1.39 a	2.63 a
H3xC3	94.44 a	55.56 a	61.11 a	100.00 a	1.41 a	1.61 a	2.58 a
H3xC4	95.14 a	66.67 a	44.44 a	100.00 a	1.45 a	1.31 a	2.67 a
H3xC5	93.06 a	86.11 a	58.33 a	100.00 a	1.52 a	1.47 a	2.65 a
H3xTES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
Media general	88.81	44.03	54.78	83.33	1.33	1.44	2.33
HxD							
H1xD1	77.92 a	35.13 a	68.33 a	100.00 a	1.30 a	1.47 a	2.44 a
H1xD2	68.75 a	50.08 a	70.00 a	100.00 a	1.36 a	1.53 a	2.60 a
H1xD3	69.17 a	33.38 a	78.33 a	100.00 a	1.21 a	1.82 a	2.60 a
H1/TES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
H2xD1	93.75 a	68.35 a	78.33 a	100.00 a	1.49 a	1.58 a	2.42 a
H2xD2	93.75 a	53.45 a	60.00 a	100.00 a	1.57 a	1.32 a	2.59 a
H2xD3	92.50 a	36.77 a	63.33 a	100.00 a	1.36 a	1.46 a	2.74 a
H2xTES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
H3xD1	96.25 a	66.67 a	55.00 a	100.00 a	1.41 a	1.45 a	2.59 a
H3xD2	94.58 a	71.67 a	66.67 a	100.00 a	1.45 a	1.55 a	2.79 a
H3xD3	92.50 a	60.00 a	51.67 a	100.00 a	1.47 a	1.57 a	2.57 a
H3xTES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
Media general	89.93	39.63	49.31	75.00	1.30	1.40	2.20

CxD							
C1xD1	88.89 a	52.89 a	61.11 a	100.00 a	1.46 a	1.48 a	2.42 a
C1xD2	81.94 a	58.39 a	77.78 a	100.00 a	1.36 a	1.72 a	2.69 a
C1xD3	80.56 a	50.06 a	58.33 a	100.00 a	1.43 a	1.61 a	2.49 a
C2xD1	97.22 a	63.94 a	75.00 a	100.00 a	1.44 a	1.44 a	2.42 a
C2xD2	90.97 a	44.44 a	69.44 a	100.00 a	1.33 a	1.49 a	2.69 a
C2xD3	87.50 a	36.14 a	50.00 a	100.00 a	1.18 a	1.56 a	2.82 a
C3xD1	83.33 a	50.03 a	77.78 a	100.00 a	1.32 a	1.47 a	2.46 a
C3xD2	84.72 a	66.78 a	80.56 a	100.00 a	1.49 a	1.53 a	2.68 a
C3xD3	86.11 a	30.58 a	72.22 a	100.00 a	1.32 a	1.60 a	2.62 a
C4xD1	88.89 a	52.83 a	58.33 a	100.00 a	1.35 a	1.53 a	2.67 a
C4xD2	88.89 a	75.08 a	33.33 a	100.00 a	1.55 a	1.19 a	2.63 a
C4xD3	88.89 a	38.92 a	75.00 a	100.00 a	1.28 a	1.57 a	2.49 a
C5xD1	88.19 a	63.89 a	63.89 a	100.00 a	1.41 a	1.58 a	2.44 a
C5xD2	81.94 a	47.31 a	66.67 a	100.00 a	1.56 a	1.42 a	2.62 a
C5xD3	80.56 a	61.22 a	66.67 a	100.00 a	1.51 a	1.73 a	2.78 a
TES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
Media general	87.41 a	49.53	61.63	93.75	1.37	1.49	2.49
HxCxD							
H1xC1xD1	81.25 a	50.25 a	41.67 a	100.00 a	1.49 a	1.33 a	2.23 a
H1xC1xD2	56.25 a	33.33 a	75.00 a	100.00 a	1.25 a	1.67 a	2.52 a
H1xC1xD3	68.75 a	58.42 a	75.00 a	100.00 a	1.39 a	1.43 a	2.57 a
H1xC2xD1	91.67 a	25.17 a	83.33 a	100.00 a	1.24 a	1.52 a	2.27 a
H1xC2xD2	81.25 a	66.67 a	75.00 a	100.00 a	1.56 a	1.71 a	2.65 a
H1xC2xD3	68.75 a	33.33 a	75.00 a	100.00 a	1.11 a	2.10 a	2.95 a
H1xC3xD1	60.42 a	25.08 a	75.00 a	100.00 a	1.22 a	1.29 a	2.63 a
H1xC3xD2	72.92 a	66.92 a	66.67 a	100.00 a	1.22 a	1.38 a	2.67 a
H1xC3xD3	72.92 a	16.75 a	75.00 a	100.00 a	1.09 a	1.74 a	2.72 a
H1xC4xD1	85.42 a	41.83 a	58.33 a	100.00 a	1.33 a	1.33 a	2.58 a
H1xC4xD2	79.17 a	58.50 a	75.00 a	100.00 a	1.43 a	1.48 a	2.63 a
H1xC4xD3	70.83 a	0.00 a	83.33 a	100.00 a	1.00 a	1.83 a	2.45 a
H1xC5xD1	70.83 a	33.33 a	83.33 a	100.00 a	1.19 a	1.88 a	2.49 a
H1xC5xD2	54.17 a	25.00 a	58.33 a	100.00 a	1.33 a	1.44 a	2.55 a
H1xC5xD3	64.58 a	58.42 a	83.33 a	100.00 a	1.47 a	2.00 a	2.33 a
H1xTES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
HxC1xD1	89.58 a	33.42 a	83.33 a	100.00 a	1.25 a	1.70 a	2.43 a
H2xC1xD2	95.83 a	58.50 a	66.67 a	100.00 a	1.38 a	1.48 a	2.62 a
H2xC1xD3	81.25 a	41.75 a	33.33 a	100.00 a	1.43 a	1.25 a	2.30 a
H2xC2xD1	100.00 a	66.67 a	75.00 a	100.00 a	1.42 a	1.23 a	2.53 a
H2xC2xD2	97.92 a	50.00 a	66.67 a	100.00 a	1.39 a	1.38 a	2.68 a
H2xC2xD3	100.00 a	33.42 a	50.00 a	100.00 a	1.24 a	1.38 a	2.80 a
H2xC3xD1	91.67 a	91.67 a	100.00 a	100.00 a	1.57 a	1.56 a	2.43 a

H2xC3xD2	87.50 a	50.08 a	100.00 a	100.00 a	1.69 a	1.33 a	2.45 a
H2xC3xD3	93.75 a	25.00 a	91.67 a	100.00 a	1.38 a	1.66 a	2.62 a
H2xC4xD1	91.67 a	83.33 a	66.67 a	100.00 a	1.58 a	1.83 a	2.43 a
H2xC4xD2	89.58 a	66.75 a	0.00 a	100.00 a	1.58 a	1.00 a	2.52 a
H2xC4xD3	97.92 a	50.08 a	83.33 a	100.00 a	1.25 a	1.50 a	2.75 a
H2xC5xD1	95.83 a	66.67 a	66.67 a	100.00 a	1.61 a	1.56 a	2.25 a
H2xC5xD2	97.92 a	41.92 a	66.67 a	100.00 a	1.81 a	1.40 a	2.70 a
H2xC5xD3	89.58 a	33.58 a	58.33 a	100.00 a	1.47 a	1.50 a	3.23 a
H2xTES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
H3xC1xD1	95.83 a	75.00 a	58.33 a	100.00 a	1.64 a	1.40 a	2.60 a
H3xC1xD2	93.75 a	83.33 a	91.67 a	100.00 a	1.44 a	2.00 a	2.95 a
H3xC1xD3	91.67 a	50.00 a	66.67 a	100.00 a	1.46 a	2.17 a	2.60 a
H3xC2xD1	100.00 a	100.00 a	66.67 a	100.00 a	1.67 a	1.58 a	2.47 a
H3xC2xD2	93.75 a	16.67	66.67 a	100.00 a	1.06 a	1.38 a	2.73 a
H3xC2xD3	93.75 a	41.67 a	25.00 a	100.00 a	1.19 a	1.21 a	2.70 a
H3xC3xD1	97.92 a	33.33 a	58.33 a	100.00 a	1.17 a	1.54 a	2.30 a
H3xC3xD2	93.75 a	83.33 a	75.00 a	100.00 a	1.56 a	1.88 a	2.92 a
H3xC3xD3	91.67 a	50.00 a	50.00 a	100.00 a	1.50 a	1.42 a	2.52 a
H3xC4xD1	89.58 a	33.33 a	50.00 a	100.00 a	1.14 a	1.44 a	2.99 a
H3xC4xD2	97.92 a	100.00 a	25.00 a	100.00 a	1.64 a	1.10 a	2.75 a
H3xC4xD3	97.92 a	66.67 a	58.33 a	100.00 a	1.58 a	1.38 a	2.27 a
H3xC5xD1	97.92 a	91.67 a	41.67 a	100.00 a	1.42 a	1.29 a	2.58 a
H3xC5xD2	93.75 a	75.00 a	75.00 a	100.00 a	1.56 a	1.42 a	2.60 a
H3xC5xD3	87.50 a	91.67 a	58.33 a	100.00 a	1.59 a	1.69 a	2.77 a
H3xTES	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
Media general	87.41	49.53	61.63	93.75	1.37	1.49	2.49
Significancia							
H	***	ns	ns	ns	*	ns	ns
C	***	***	***	***	*	*	***
D	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(HxC)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(HxD)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(CxD)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(HxCxD)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	11.75%	67.18	46.1	9.6	23.91	26.27	22.78
Tukey	(P≤0.05)	(P≤0.05)	(P≤0.05)	(P≤0.05)	(P≤0.05)	(P≤0.05)	(P≤0.05)

TES=Testigo, CV= coeficiente de variación, Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes al aplicar la prueba de Tukey Nivel de significancia, ns = no significativo ($p \geq 0.05$), * ($p \leq 0.05$), ** ($p \leq 0.01$), *** ($p \leq 0.001$).

6.4.2 Crecimiento de las plántulas de maíz.

6.4.2.1 Peso fresco de raíz, tallo y hoja.

El análisis de varianza no detectó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre híbridos (H) para el peso fresco de raíz, peso fresco de tallo y peso fresco de hoja a los 20, 30 y 40 dds, ni en concentraciones, excepto para el peso fresco de tallo a los 40 dds; así mismo, no se observó diferencias en las interacciones HxD, CxD y HxCxD para los pesos frescos de raíz, peso fresco de tallo y peso fresco de hoja a los 20, 30 y 40 dds (Cuadro 12).

En el factor cepas (C), en promedio de las cinco cepas, el peso fresco de raíz a los 20, 30 y 40 dds fue 25, 30 y 37 %; el peso fresco de tallo a los 30 y 40 dds fue 39 y 42 %; y el peso fresco de hoja a los 30 y 40 dds 30 y 25 % fueron mayores en las plantas testigo con respecto al promedio de las cinco cepas (Cuadro 12).

En concentraciones (D) hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) a los 40 dds para el peso fresco de tallo, donde las plantas testigo mostraron mayor valor comparadas con aquellas que fueron inoculadas con las concentraciones de 10^8, 10^6 y 10^4.

En la interacción híbridos x cepas (HXC), se observó efecto significativo en el peso fresco de raíz a los 40 dds; el peso fresco de raíz fue mayor en los híbridos que no fueron inoculados comparados con los mismos híbridos inoculados con cada una de las cepas. De acuerdo con estos resultados, se pudo observar el efecto negativo que causan estas bacterias fitopatógenas en etapas iniciales de las plantas de maíz, las cuales afectan órganos esenciales de las plantas, tales como las raíces y hojas, estos problemas generan pérdidas económicas de hasta el 100%, como es el caso del cultivo de maíz infectado por *P. ananatis* que provoca senescencia en las hojas (Coutinho y Venter, 2009; Wang *et al.*, 2021).

Cuadro 12. Peso fresco de raíz (PFR), Tallo (PFT) y hoja (PFH) a los 20, 30 y 40 días después de la siembra (dds) en tres híbridos de maíz inoculados con bacterias fitopatógenas.

	PFR (g)			PFT (g)			PFH (g)		
	20 dds	**30 dds**	**40 dds**	**20 dds**	**30 días**	**40 dds**	**20 dds**	**30 dds**	**40 dds**
Híbridos (H)									
DK 4050 (H1)	0.9464 a	0.7744 a	1.0419 a	0.0206 a	0.0209 a	0.0212 a	0.532 a	0.6477 a	0.6656 a
Hipopótamo (H2)	1.0019 a	0.7483 a	0.9749 a	0.0190 a	0.0201 a	0.0205 a	0.5642 a	0.6263 a	0.6513 a
DK 5021 (H3)	1.0020 a	0.7968 a	1.0297 a	0.0200 a	0.0194 a	0.0195 a	0.5539 a	0.6349 a	0.6662 a
Media general	0.9834	0.7732	1.0155	0.0199	0.0202	0.0204	0.5500	0.6363	0.6610
Cepas (C)									
Pseudomonas simiae (C1)	0.9539 b	0.7502 b	0.9839 b	0.0200 a	0.0203 b	0.0205 b	0.5430 a	0.6330 b	0.6612 b
Pantoea ananatis (C2)	0.9706 b	0.7556 b	0.9822 b	0.0198 a	0.0195 b	0.0188 b	0.5482 a	0.6134 b	0.6289 b
Pantoea agglomerans (C3)	0.9775 b	0.7601 b	0.9182 b	0.0186 a	0.0191 b	0.0201 b	0.5357 a	0.6387 b	0.6486 b
Pseudomonas simiae(C4)	0.9816 b	0.7463 b	1.0001 b	0.0217 a	0.0189 b	0.0197 b	0.5795 a	0.5924 b	0.6655 b
Pseudomonas simiae (C5)	0.9345 b	0.7537 b	1.0100 b	0.0197 a	0.0192 b	0.0185 b	0.5253 a	0.6213 b	0.6332 b
TES	1.2808 a	1.0734 a	1.5648 a	0.0185 a	0.0317 a	0.0339 a	0.6054 a	0.8842 a	0.8644 a
Media general	1.0165	0.8065	1.0765	0.0197	0.0214	0.0219	0.5562	0.6638	0.6836
Concentraciones (D)									
10^8 (D1)	0.9984 a	0.7696 a	1.0009 a	0.0193 a	0.0196 a	0.0197 b	0.5442 a	0.6384 a	0.6454 a
10^6 (D2)	0.9464 a	0.7582 a	0.9783 a	0.0203 a	0.0199 a	0.0194 b	0.5498 a	0.6179 a	0.6360 a
10^4 (D3)	0.9460 a	0.7317 a	0.9574 a	0.0203 a	0.0187 a	0.0194 b	0.5451 a	0.6029 a	0.6610 a
TES	1.2808 a	1.0734 a	1.5648 a	0.0185 a	0.0317 a	0.0339 a	0.6054 a	0.8842 a	0.8644 a
Media general	1.0429	0.8332	1.1253	0.0196	0.0225	0.0231	0.5611	0.6859	0.7017
(HxC)									
H1xC1	0.9159 a	0.7326 a	0.9958 b	0.0205 a	0.0188 a	0.0229 a	0.5135 a	0.6267 a	0.6574 a
H1xC2	0.9796 a	0.7604 a	1.1345 b	0.0218 a	0.0214 a	0.0221 a	0.5110 a	0.6343 a	0.6472 a

H1xC3	0.9611 a	0.8192 a	0.8712 b	0.0183 a	0.0216 a	0.0197 a	0.4904 a	0.6427 a	0.6207 a
H1xC4	0.8171 a	0.7046 a	1.0853 b	0.0213 a	0.0174 a	0.0188 a	0.5677 a	0.6135 a	0.6893 a
H1xC5	0.9382 a	0.7516 a	0.9546 b	0.0204 a	0.0217 a	0.0186 a	0.5510 a	0.6494 a	0.6411 a
H1xTES	1.3074 a	1.0856 a	1.5453 a	0.0235 a	0.0320 a	0.0332 a	0.6110 a	0.8627 a	0.8817 a
H2xC1	1.0168 a	0.7698 a	0.8668 b	0.0193 a	0.0228 a	0.0198 a	0.5708 a	0.6352 a	0.6741 a
H2xC2	1.0278 a	0.7508 a	0.9052 b	0.0197 a	0.0202 a	0.0194 a	0.5764 a	0.6334 a	0.6094 a
H2xC3	0.9300 a	0.6519 a	0.8932 b	0.0182 a	0.0175 a	0.0198 a	0.5590 a	0.6017 a	0.6252 a
H2xC4	1.0097 a	0.7831 a	0.9710 b	0.0191 a	0.0202 a	0.0194 a	0.5711 a	0.5689 a	0.6493 a
H2xC5	0.9233 a	0.6787 a	1.0580 b	0.0195 a	0.0163 a	0.0194 a	0.5216 a	0.6010 a	0.6291 a
H2xTES	1.3074 a	1.0699 a	1.5162 a	0.0162 a	0.0312 a	0.0344 a	0.6311 a	0.9002 a	0.8589 a
H3xC1	0.9290 a	0.7481 a	1.0892 b	0.0202 a	0.0191 a	0.0187 a	0.5449 a	0.6370 a	0.6521 a
H3xC2	0.9042 a	0.7556 a	0.9068 b	0.0180 a	0.0170 a	0.0147 a	0.5574 a	0.5723 a	0.6299 a
H3xC3	1.0414 a	0.8093 a	0.9901 b	0.0192 a	0.0183 a	0.0207 a	0.5577 a	0.6719 a	0.7000 a
H3xC5	0.9422 a	0.8308 a	1.0173 b	0.0193 a	0.0196 a	0.0174 a	0.5034 a	0.6136 a	0.6294 a
H3xTES	1.2277 a	1.0647 a	1.6330 a	0.0157 a	0.0320 a	0.0340 a	0.5741 a	0.8898 a	0.8527 a
media general	1.0165	0.8065	1.0765	0.0197	0.0214	0.0219	0.5562	0.6638	0.6836
(HxD)									
H1xD1	0.9871 a	0.8232 a	1.0641 a	0.0194 a	0.0224 a	0.0196 a	0.5453 a	0.6927 a	0.6480 a
H1xD2	0.8825 a	0.7307 a	0.9969 a	0.0208 a	0.0196 a	0.0212 a	0.5214 a	0.6051 a	0.6359 a
H1xD3	0.8975 a	0.7071 a	0.9639 a	0.0211 a	0.0186 a	0.0205 a	0.5134 a	0.6021 a	0.6697 a
H1xTES	1.3074 a	1.0856 a	1.5453 a	0.0235 a	0.0320 a	0.0332 a	0.6110 a	0.8627 a	0.8817 a
H2xD1	1.0701 a	0.7497 a	0.9363 a	0.0189 a	0.0192 a	0.0194 a	0.5472 a	0.5793 a	0.6447 a
H2xD2	0.9580 a	0.7214 a	0.9776 a	0.0184 a	0.0208 a	0.0193 a	0.5619 a	0.6286 a	0.6354 a
H2xD3	0.9164 a	0.7094 a	0.9026 a	0.0203 a	0.0182 a	0.0200 a	0.5702 a	0.6163 a	0.6322 a
H2xTES	1.3074 a	1.0699 a	1.5162 a	0.0162 a	0.0312 a	0.0344 a	0.6311 a	0.9002 a	0.8589 a
H3xD1	0.9380 a	0.7360 a	1.0023 a	0.0196 a	0.0171 a	0.0201 a	0.5400 a	0.6433 a	0.6435 a
H3xD2	0.9988 a	0.8224 a	0.9603 a	0.0216 a	0.0194 a	0.0175 a	0.5660 a	0.6202 a	0.6369 a
H3xD3	1.0240 a	0.7785 a	1.0058 a	0.0195 a	0.0193 a	0.0179 a	0.5517 a	0.5902 a	0.6811 a
H3xTES	1.2277 a	1.0647 a	1.6330 a	0.0157 a	0.0320 a	0.0340 a	0.5741 a	0.8898 a	0.8527 a
Media general	1.0429	0.8332	1.1253	0.0196	0.0225	0.0231	0.5611	0.6859	0.7017

(CxD)									
C1xD1	0.9754 a	0.7353 a	1.0005 a	0.0180 a	0.0188 a	0.0199 a	0.4989 a	0.6379 a	0.6829 a
C1xD2	0.9689 a	0.7390 a	1.0302 a	0.0214 a	0.0220 a	0.0219 a	0.5561 a	0.6299 a	0.6647 a
C1xD3	0.9175 a	0.7761 a	0.9210 a	0.0207 a	0.0200 a	0.0196 a	0.5741 a	0.6311 a	0.6360 a
C2xD1	0.9836 a	0.7918 a	1.0823 a	0.0216 a	0.0223 a	0.0207 a	0.5839 a	0.6782 a	0.6305 a
C2xD2	0.9548 a	0.7503 a	0.9222 a	0.0210 a	0.0184 a	0.0164 a	0.5331 a	0.5389 a	0.6095 a
C2xD3	0.9733 a	0.7247 a	0.9421 a	0.0169 a	0.0177 a	0.0192 a	0.5277 a	0.6230 a	0.6465 a
C3xD1	1.0943 a	0.7787 a	0.8497 a	0.0181 a	0.0175 a	0.0185 a	0.4961 a	0.6360 a	0.6539 a
C3xD2	0.8635 a	0.7076 a	0.9540 a	0.0168 a	0.0207 a	0.0199 a	0.5404 a	0.6591 a	0.6130 a
C3xD3	0.9746 a	0.7940 a	0.9508 a	0.0207 a	0.0192 a	0.0219 a	0.5705 a	0.6211 a	0.6791 a
C4xD1	1.0180 a	0.7745 a	1.0409 a	0.0193 a	0.0207 a	0.0196 a	0.5385 a	0.6033 a	0.6449 a
C4xD2	0.9833 a	0.7956 a	0.9717 a	0.0229 a	0.0180 a	0.0203 a	0.5805 a	0.5867 a	0.6351 a
C4xD3	0.9434 a	0.6688 a	0.9876 a	0.0227 a	0.0179 a	0.0192 a	0.6194 a	0.5871 a	0.7164 a
C5xD1	0.9209 a	0.7679 a	1.0311 a	0.0196 a	0.0185 a	0.0199 a	0.6034 a	0.6368 a	0.6148 a
C5xD2	0.9617 a	0.7985 a	1.0132 a	0.0192 a	0.0203 a	0.0182 a	0.5388 a	0.6751 a	0.6580 a
C5xD3	0.9211 a	0.6948 a	0.9856 a	0.0204 a	0.0187 a	0.0173 a	0.4338 a	0.5521 a	0.6268 a
TES	1.2808 a	1.0734 a	1.5648 a	0.0185 a	0.0317 a	0.0339 a	0.6054 a	0.8842 a	0.8644 a
Media general	0.9834	0.7732	1.0155	0.0199	0.0202	0.0204	0.5500	0.6363	0.6610
(HxCxD)									
H1xC1xD1	0.9811 a	0.6945 a	0.8831 a	0.0192 a	0.0168 a	0.0211 a	0.4901 a	0.6190 a	0.6736 a
H1xC1xD2	0.8252 a	0.7966 a	1.0829 a	0.0199 a	0.0234 a	0.0226 a	0.5077 a	0.6414 a	0.6544 a
H1xC1xD3	0.9414 a	0.7067 a	1.0214 a	0.0224 a	0.0163 a	0.0251 a	0.5426 a	0.6197 a	0.6442 a
H1xC2xD1	0.9878 a	0.8844 a	1.3235 a	0.0238 a	0.0283 a	0.0235 a	0.5736 a	0.8382 a	0.5985 a
H1xC2xD2	1.055 a	0.7083 a	1.0057 a	0.0226 a	0.0194 a	0.0207 a	0.5122 a	0.5187 a	0.5928 a
H1xC2xD3	0.8962 a	0.6885 a	1.0745 a	0.0188 a	0.0165 a	0.0222 a	0.4471 a	0.5461 a	0.7505 a
H1xC3xD1	1.0994 a	0.9324 a	0.9440 a	0.0184 a	0.0232 a	0.0182 a	0.5115 a	0.6641 a	0.6740 a
H1xC3xD2	0.7916 a	0.7586 a	0.8035 a	0.0166 a	0.0212 a	0.0210 a	0.4619 a	0.5970 a	0.5720 a
H1xC3xD3	0.9921 a	0.7665 a	0.8660 a	0.0198 a	0.0204 a	0.0200 a	0.4978 a	0.6669 a	0.6162 a
H1xC4xD1	0.6989 a	0.7362 a	1.1525 a	0.0153 a	0.0225 a	0.0179 a	0.4725 a	0.6723 a	0.6915 a
H1xC4xD2	0.9465 a	0.6400 a	1.1718 a	0.0274 a	0.0141 a	0.0218 a	0.6258 a	0.6036 a	0.6652 a

H1xC4xD3	0.8061 a	0.7377 a	0.9318 a	0.0213 a	0.0155 a	0.0167 a	0.6048 a	0.5648 a	0.7113 a
H1xC5xD1	1.1685 a	0.8684 a	1.0175 a	0.0204 a	0.0211 a	0.0174 a	0.6788 a	0.6700 a	0.6023 a
H1xC5xD2	0.7943 a	0.7502 a	0.9207 a	0.0177 a	0.0197 a	0.0200 a	0.4994 a	0.6648 a	0.6949 a
H1xC5xD3	0.8517 a	0.6363 a	0.9256 a	0.0231 a	0.0242 a	0.0184 a	0.4748 a	0.6132 a	0.6262 a
H1xTES	1.3074 a	1.0856 a	1.5453 a	0.0235 a	0.0320 a	0.0332 a	0.6110 a	0.8627 a	0.8817 a
H2xC1xD1	1.0548 a	0.8045 a	0.9870 a	0.0168 a	0.0217 a	0.0195 a	0.5194 a	0.6447 a	0.7572 a
H2xC1xD2	1.1379 a	0.6490 a	0.8876 a	0.0207 a	0.0224 a	0.0218 a	0.6332 a	0.5995 a	0.6774 a
H2xC1xD3	0.8578 a	0.8558 a	0.7258 a	0.0205 a	0.0244 a	0.0180 a	0.5597 a	0.6615 a	0.5878 a
H2xC2xD1	0.9791 a	0.7748 a	0.9324 a	0.0208 a	0.0221 a	0.0203 a	0.5691 a	0.5767 a	0.6435 a
H2xC2xD2	0.9903 a	0.7187 a	0.9633 a	0.0205 a	0.0206 a	0.0178 a	0.5354 a	0.6456 a	0.5879 a
H2xC2xD3	1.1141 a	0.7590 a	0.8200 a	0.0179 a	0.0179 a	0.0202 a	0.6246 a	0.6780 a	0.5968 a
H2xC3xD1	1.1683 a	0.6615 a	0.7285 a	0.0192 a	0.0160 a	0.0159 a	0.4504 a	0.5378 a	0.5713 a
H2xC3xD2	0.7323 a	0.6211 a	0.9612 a	0.0146 a	0.0193 a	0.0177 a	0.6324 a	0.6625 a	0.6076 a
H2xC3xD3	0.8894 a	0.6730 a	0.9900 a	0.0208 a	0.0170 a	0.0257 a	0.5940 a	0.6048 a	0.6968 a
H2xC4xD1	1.3048 a	0.8925 a	1.0902 a	0.0161 a	0.0224 a	0.0214 a	0.6138 a	0.5861 a	0.6232 a
H2xC4xD2	0.9054 a	0.8346 a	0.8315 a	0.0185 a	0.0203 a	0.0177 a	0.4873 a	0.5111 a	0.6023 a
H2xC4xD3	0.8188 a	0.6222 a	0.9913 a	0.0227 a	0.0180 a	0.0191 a	0.6121 a	0.6097 a	0.7224 a
H2xC5xD1	0.8438 a	0.6156 a	0.9435 a	0.0214 a	0.0136 a	0.0198 a	0.5832 a	0.5510 a	0.6283 a
H2xC5xD2	1.024 a	0.7835 a	1.2444 a	0.0175 a	0.0213 a	0.0216 a	0.5213 a	0.7243 a	0.7018 a
H2xC5xD3	0.9021 a	0.6370 a	0.986 a	0.0196 a	0.0138 a	0.0169 a	0.4603 a	0.5277 a	0.5572 a
H2xTES	1.3074 a	1.0699 a	1.5162 a	0.0162 a	0.0312 a	0.0344 a	0.6311 a	0.9002 a	0.8589 a
H3xC1xD1	0.8902 a	0.7069 a	1.1316 a	0.0178 a	0.0177 a	0.0190 a	0.4872 a	0.6500 a	0.6177 a
H3xC1xD2	0.9436 a	0.7714 a	1.1201 a	0.0236 a	0.0203 a	0.0214 a	0.5274 a	0.6488 a	0.6624 a
H3xC1xD3	0.9533 a	0.7659 a	1.0159 a	0.0191 a	0.0193 a	0.0158 a	0.6200 a	0.6122 a	0.6761 a
H3xC2xD1	0.9838 a	0.7162 a	0.9912 a	0.0201 a	0.0167 a	0.0182 a	0.6091 a	0.6197 a	0.6496 a
H3xC2xD2	0.8192 a	0.8239 a	0.7974 a	0.0198 a	0.0154 a	0.0106 a	0.5518 a	0.4525 a	0.6478 a
H3xC2xD3	0.9095 a	0.7266 a	0.9318 a	0.0141 a	0.0188 a	0.0153 a	0.5114 a	0.6448 a	0.5924 a
H3xC3xD1	1.0153 a	0.7422 a	0.8765 a	0.0166 a	0.0132 a	0.0213 a	0.5264 a	0.7061 a	0.7164 a
H3xC3xD2	1.0665 a	0.7431 a	1.0973 a	0.0194 a	0.0215 a	0.0210 a	0.5269 a	0.7178 a	0.6592 a
H3xC3xD3	1.0424 a	0.9425 a	0.9965 a	0.0216 a	0.0202 a	0.0199 a	0.6198 a	0.5917 a	0.7243 a

H3xC4xD1	1.0504 a	0.6949 a	0.8800 a	0.0267 a	0.0172 a	0.0195 a	0.5291 a	0.5515 a	0.6200 a
H3xC4xD2	1.0979 a	0.9121 a	0.9119 a	0.0228 a	0.0195 a	0.0214 a	0.6285 a	0.6455 a	0.6378 a
H3xC4xD3	1.2052 a	0.6464 a	1.0396 a	0.0242 a	0.0201 a	0.0219 a	0.6413 a	0.5868 a	0.7156 a
H3xC5xD1	0.7503 a	0.8196 a	1.1322 a	0.0169 a	0.0208 a	0.0224 a	0.5483 a	0.6892 a	0.6138 a
H3xC5xD2	1.0668 a	0.8617 a	0.8746 a	0.0224 a	0.0200 a	0.0131 a	0.5956 a	0.6363 a	0.5772 a
H3xC5xD3	1.0095 a	0.8111 a	1.0451 a	0.0185 a	0.0180 a	0.0167 a	0.3661 a	0.5154 a	0.6971 a
H3xTES	1.2277 a	1.0647 a	1.6330 a	0.0157 a	0.0320 a	0.0340 a	0.5741 a	0.8898 a	0.8527 a
Media general	0.9834	0.7732	1.0155	0.0199	0.0202	0.0204	0.5500	0.6363	0.6610
Significancia									
H	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C	*	***	***	ns	***	***	ns	***	***
D	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
HxC	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
HxD	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CxD	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
HxCxD	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	24	20.11	14.98	24.64	22.83	18.3	20.71	21.17	14.17
Tukey	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)

TES=Testigo, CV= coeficiente de variación, Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes al aplicar la prueba de Tukey Nivel de significancia, ns = no significativo (p ≥ 0.05), * (p ≤ 0.05), ** (p ≤0.01), *** (p ≤ 0.001).

,

6.4.2.2 Peso seco de raíz, tallo y hoja.

De acuerdo con el análisis de varianza, solo se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre híbridos (H) para el peso seco de raíz y peso seco de hoja a los 20 dds (Cuadro 13). Los híbridos DK 4050 y DK 5021 mostraron menor peso seco de raíz y peso seco de hoja, 4.41 y 7%, con respecto al híbrido Hipopótamo.

En el factor cepas (C) en promedio de las cinco cepas, las plántulas de maíz acumularon menos biomasa en comparación con el promedio del testigo; el peso seco de raíz, peso seco de tallo y peso seco de hoja fueron mayores en las plantas testigo que en cada una de las plantas que fueron inoculadas con las cepas, a los 20 dds (19 %), 30 dds (19 %) y 40 dds (27%); 30 (39 %) y 40 dds (26 %); y 20 dds (18 %), 30 dds (30 %) y 40 dds (25 %), respectivamente. Valencia-Botín *et al*. (2007) al evaluar tres métodos de inoculación de bacterias en plántulas de trigo, determinaron que las cepas 150-3 (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*), 169-2 (*Pseudomonas fuscovaginae*) y 150-4 (*Stenotrophomonas maltophilia*) fueron las más agresivas, al reducir la acumulación de biomasa aérea de las plántulas en 18 % respecto al promedio del testigo.

Las bacterias inoculadas tuvieron efectos negativos en los pesos secos de las plántulas de maíz; es conocido que las plantas presentan resistencia genética para evitar el desarrollo de enfermedades, lo cual es importante en la agricultura moderna para evitar las pérdidas económicas por enfermedades (Zhu *et al.,* 2021), pero en este caso se observó susceptibilidad en los tres híbridos de maíz inoculados con estas bacterias al tener un menor peso en las plántulas inoculadas en comparación con el testigo.

Las bacterias fitopatógenas pueden vivir en el entorno sin causar un daño a las plantas, sin embargo, cuando estas sufren algún daño mecánico que les ocasione una herida, las bacterias utilizan esa lesión como oportunidad para ocasionar daño (Kunkel y Chen, 2006).

Para el factor concentración (D) solo se obtuvo diferencias significativas para el peso seco de raíz a los 40 dds, donde el testigo mostró mayor peso (27%) comparado con las concentraciones utilizadas. van der Wolf y De Boer (2015), mencionan que la densidad poblacional es importante para las bacterias fitopatógenas, ya que una alta

concentración les permite superar la respuesta de defensa de la planta, es probable que a partir de una concentración de 10^4 unidades formadoras de colonias les permita activar sus factores virulentos, de acuerdo con los resultados de este estudio, no hubo diferencias entre las concentraciones.

No se observó efecto en las interacciones híbrido x concentración (HxD), cepa x concentración (CxD) y HxCxD. Excepto para la interacción híbrido x cepa (HxC), en la cual, el híbrido DK 5021 que no fue inoculado (testigo) tuvo mayor peso seco de raíz a los 40 dds en comparación con los otros híbridos inoculados con cada una de las cepas (Cuadro 13).

Cuadro 13. Peso seco de raíz (PSR), Tallo (PST) Y Hoja (PSH) a los 20, 30 y 40 días después de sembrado (dds) en tres híbridos de maíz inoculados con bacterias fitopatógenas.

	PSR (g)			PST (g)			PSH (g)		
	20 dds	**30 dds**	**40 dds**	**20 dds**	**30 dds**	**40 dds**	**20 dds**	**30 dds**	**40 dds**
Híbridos (H)									
DK 4050 (H1)	0.1454 a	0.1463 a	0.1428 a	0.0055 a	0.0031 a	0.0032 a	0.0598 a	0.0937 a	0.1209 a
Hipopótamo (H2)	0.1502 a	0.1468 a	0.1409 a	0.0052 a	0.0033 a	0.0041 a	0.0615 a	0.0965 a	0.1145 a
DK 5021 (H3)	0.1417 a	0.1411 a	0.1408 a	0.0054 a	0.0031 a	0.0031 a	0.0581 a	0.0973 a	0.1176 a
Media general	0.1457	0.1447	0.1415	0.0054	0.0032	0.0034	0.0598	0.0958	0.1177
Cepas(C)									
P. simiae (C1)	0.1399 b	0.1436 b	0.1396 b	0.0046	0.0031 b	0.0031 b	0.0617 b	0.0950 b	0.1192 b
P. ananatis (C2)	0.1444 b	0.1433 b	0.1359 b	0.0052	0.0030 b	0.0032 b	0.0585 b	0.0933 b	0.1173 b
P. agglomerans (C3)	0.1478 b	0.1438 b	0.1400 b	0.0051	0.0030 b	0.0036 b	0.0567 b	0.0995 b	0.1110 b
P. simiae(C4)	0.1409 b	0.1418 b	0.1410 b	0.0051	0.0029 b	0.0039 b	0.0584 b	0.0872 b	0.1171 b
P. simiae (C5)	0.1448 b	0.1405 b	0.1353 b	0.006	0.0031 b	0.0031 b	0.0595 b	0.0916 b	0.1120 b
TES	0.1785 a	0.1768 a	0.1886 a	0.008	0.0050 a	0.0045 a	0.0721 a	0.1337 a	0.1529 a
Media general	0.1494	0.1483	0.1467	0.0057	0.0034	0.0036	0.0611	0.1000	0.1216
Concentración (D)									
10^8 (D1)	0.1456 a	0.1415 a	0.1405 b	0.0052 a	0.0031 a	0.0031 a	0.0582 a	0.0920 a	0.1184 a
10^6 (D2)	0.1443 a	0.1441 a	0.1405 b	0.0047 a	0.0031 a	0.0031 a	0.0596 a	0.0935 a	0.1127 a
10^4 (D3)	0.1407 a	0.1423 a	0.1340 b	0.0056 a	0.0029 a	0.0039 a	0.0590 a	0.0945 a	0.1148 a
TES	0.1785 a	0.1768 a	0.1886 a	0.0080 a	0.0050 a	0.0045 a	0.0721 a	0.1337 a	0.1529 a
Media General	0.1523	0.1511	0.1509	0.0059	0.0035	0.0037	0.0622	0.1034	0.1247
(HxC)									
H1xC1	0.1347 a	0.1399 a	0.1348 b	0.0051 a	0.0030 a	0.0030 a	0.0587 a	0.0943 a	0.1089 a

H1xC2	0.1456 a	0.1390 a	0.1440 b	0.0057 a	0.0031 a	0.0031 a	0.0562 a	0.0924 a	0.1253 a
H1xC3	0.1360 a	0.1368 a	0.1328 b	0.0050 a	0.0028 a	0.0029 a	0.0534 a	0.1012 a	0.1087 a
H1xC4	0.1393 a	0.1404 a	0.1421 b	0.0055 a	0.0030 a	0.0029 a	0.0587 a	0.0948 a	0.1213 a
H1xC5	0.1404 a	0.1371 a	0.1357 b	0.0051 a	0.0031 a	0.0030 a	0.0588 a	0.0911 a	0.1118 a
H1xTES	0.1785 a	0.1782 a	0.1839 a	0.0073 a	0.0050 a	0.0042 a	0.0714 a	0.1352 a	0.1545 a
H2xC1	0.1410 a	0.1413 a	0.1399 b	0.0044 a	0.0035 a	0.0033 a	0.0644 a	0.0985 a	0.1278 a
H2xC2	0.1478 a	0.1465 a	0.1327 b	0.0052 a	0.0031 a	0.0033 a	0.0610 a	0.0913 a	0.1103 a
H2xC3	0.1561 a	0.1535 a	0.1405 b	0.0053 a	0.0032 a	0.0051 a	0.0587 a	0.1012 a	0.1076 a
H2xC4	0.1523 a	0.1425 a	0.1419 b	0.0059 a	0.0031 a	0.0054 a	0.0582 a	0.0873 a	0.1095 a
H2xC5	0.1458 a	0.1404 a	0.1296 b	0.0041 a	0.0032 a	0.0029 a	0.0604 a	0.0906 a	0.1042 a
H2xTES	0.1735 a	0.1770 a	0.2010 a	0.0090 a	0.0050 a	0.0052 a	0.0755 a	0.1370 a	0.1540 a
H3xC1	0.1439 a	0.1497 a	0.1440 b	0.0042 a	0.0030 a	0.0030 a	0.0620 a	0.0922 a	0.1209 a
H3xC2	0.1398 a	0.1445 a	0.1310 b	0.0047 a	0.0029 a	0.0031 a	0.0583 a	0.0961 a	0.1163 a
H3xC3	0.1513 a	0.1412 a	0.1466 b	0.0049 a	0.0030 a	0.0029 a	0.0580 a	0.0961 a	0.1168 a
H3xC4	0.1311 a	0.1424 a	0.1390 b	0.0040 a	0.0026 a	0.0033 a	0.0582 a	0.0794 a	0.1205 a
H3xC5	0.1481 a	0.1440 a	0.1404 b	0.0087 a	0.0031 a	0.0033 a	0.0592 a	0.0932 a	0.1201 a
H3xTES	0.1835 a	0.1751 a	0.1810 a	0.0078 a	0.0050 a	0.0041 a	0.0693 a	0.1288 a	0.1503 a
Media general	0.1494	0.1483	0.0057	0.0034	0.0036	0.0611	0.1000	0.1216	0.1494
(HxD)									
H1xD1	0.1411 a	0.1395 a	0.1436 b	0.0058 a	0.0032 a	0.0029 a	0.0546 a	0.0965 a	0.1247 a
H1xD2	0.1387 a	0.1345 a	0.1432 b	0.0046 a	0.0030 a	0.0031 a	0.0572 a	0.0897 a	0.1142 a
H1xD3	0.1377 a	0.1419 a	0.1268 b	0.0054 a	0.0028 a	0.0029 a	0.0597 a	0.0981 a	0.1066 a
H1xTES	0.1785 a	0.1782 a	0.1839 a	0.0073 a	0.0050 a	0.0042 a	0.0714 a	0.1352 a	0.1545 a
H2xD1	0.1528 a	0.1459 a	0.1358 b	0.0045 a	0.0032 a	0.0031 a	0.0595 a	0.0927 a	0.1105 a
H2xD2	0.1469 a	0.1478 a	0.1405 b	0.0048 a	0.0034 a	0.0032 a	0.0610 a	0.0972 a	0.1075 a
H2xD3	0.1461 a	0.1408 a	0.1344 b	0.0056 a	0.0030 a	0.0057 a	0.0612 a	0.0914 a	0.1177 a
H2xTES	0.1735 a	0.1770 a	0.2010 a	0.0090 a	0.0050 a	0.0052 a	0.0755 a	0.1370 a	0.1540 a
H3xD1	0.1429 a	0.1390 a	0.1419 b	0.0053 a	0.0029 a	0.0034 a	0.0605 a	0.0867 a	0.1201 a
H3xD2	0.1474 a	0.1499 a	0.1379 b	0.0047 a	0.0030 a	0.0031 a	0.0608 a	0.0934 a	0.1165 a

H3xD3	0.1382 a	0.1442 a	0.1408 b	0.0059 a	0.0029 a	0.0030 a	0.0561 a	0.0941 a	0.1201 a
H3xTES	0.1835 a	0.1751 a	0.1810 a	0.0078 a	0.0050 a	0.0041 a	0.0693 a	0.1288 a	0.1503 a
(CxD)									
C1xD1	0.1419 a	0.1363 a	0.1400 a	0.0046 a	0.0032 a	0.0032 a	0.0586 bc	0.0838 a	0.1222 a
C1xD2	0.1444 a	0.1480 a	0.1389 a	0.0045 a	0.0032 a	0.0030 a	0.0612 ab	0.1037 a	0.1225 a
C1xD3	0.1334 a	0.1466 a	0.1399 a	0.0046 a	0.0031 a	0.0030 a	0.0653 ab	0.0975 a	0.1129 a
C2xD1	0.1435 a	0.1392 a	0.1434 a	0.0050 a	0.0031 a	0.0033 a	0.0579 ab	0.0955 a	0.1220 a
C2xD2	0.1453 a	0.1537 a	0.1409 a	0.0053 a	0.0031 a	0.0032 a	0.0591 ab	0.0919 a	0.1146 a
C2xD3	0.1444 a	0.1371 a	0.1233 a	0.0052 a	0.0029 a	0.0031 a	0.0584 ab	0.0925 a	0.1152 a
C3xD1	0.1524 a	0.1487 a	0.1352 a	0.0055 a	0.0029 a	0.0028 a	0.0522 ab	0.0984 a	0.1145 a
C3xD2	0.1455 a	0.1392 a	0.1486 a	0.0043 a	0.0031 a	0.0030 a	0.0591 ab	0.0936 a	0.1045 a
C3xD3	0.1454 a	0.1436 a	0.1361 a	0.0054 a	0.0030 a	0.0051 a	0.0588 a	0.1065 a	0.1141 a
C4xD1	0.1435 a	0.1502 a	0.1446 a	0.0055 a	0.0030 a	0.0032 a	0.0610 a	0.0874 a	0.1179 a
C4xD2	0.1417 a	0.1360 a	0.1382 a	0.0048 a	0.0030 a	0.0033 a	0.0581 ab	0.0847 a	0.1073 a
C4xD3	0.1375 a	0.1391 a	0.1402 a	0.0052 a	0.0027 a	0.0052 a	0.0560 ab	0.0894 a	0.1260 a
C5xD1	0.1468 a	0.1329 a	0.1390 a	0.0054 a	0.0032 a	0.0031 a	0.0612 ab	0.0947 a	0.1157 a
C5xD2	0.1449 a	0.1435 a	0.1361 a	0.0046 a	0.0032 a	0.0031 a	0.0608 ab	0.0934 a	0.1147 a
C5xD3	0.1427 a	0.1451 a	0.1307 a	0.0079 a	0.0028 a	0.0030 a	0.0564 ab	0.0867 a	0.1057 a
TES	0.1785 a	0.1768 a	0.1886 a	0.0080 a	0.0050 a	0.0045 a	0.0721 c	0.1337 a	0.1529 a
Media general	0.1523	0.1511	0.1509	0.0059	0.0035	0.0037	0.0622	0.1034	0.1247
(HxCxD)									
H1xC1xD1	0.1417 a	0.1292 a	0.1336 a	0.0043 a	0.0031 a	0.0031 a	0.0520 a	0.0825 a	0.1212 a
H1xC1xD2	0.1347 a	0.1436 a	0.1379 a	0.0050 a	0.0031 a	0.0030 a	0.0589 a	0.1009 a	0.1182 a
H1xC1xD3	0.1278 a	0.1468 a	0.1330 a	0.0061 a	0.0027 a	0.0029 a	0.0652 a	0.0995 a	0.0874 a
H1xC2xD1	0.1425 a	0.1432 a	0.1484 a	0.0060 a	0.0032 a	0.0031 a	0.0505 a	0.1032 a	0.1339 a
H1xC2xD2	0.1476 a	0.1447 a	0.1529 a	0.0053 a	0.0031 a	0.0033 a	0.0544 a	0.0901 a	0.1220 a
H1xC2xD3	0.1467 a	0.1291 a	0.1306 a	0.0057 a	0.0031 a	0.0030 a	0.0637 a	0.0840 a	0.1198 a
H1xC3xD1	0.1303 a	0.1442 a	0.1371 a	0.0054 a	0.0026 a	0.0026 a	0.0473 a	0.1004 a	0.1187 a
H1xC3xD2	0.1366 a	0.1208 a	0.1352 a	0.0039 a	0.0033 a	0.0030 a	0.0572 a	0.0821 a	0.1030 a

H1xC3xD3	0.1411 a	0.1455 a	0.1262 a	0.0057 a	0.0026 a	0.0030 a	0.0557 a	0.1210 a	0.1044 a
H1xC4xD1	0.1409 a	0.1411 a	0.1466 a	0.0068 a	0.0037 a	0.0028 a	0.0618 a	0.0969 a	0.1229 a
H1xC4xD2	0.1435 a	0.1404 a	0.1517 a	0.0042 a	0.0023 a	0.0032 a	0.0585 a	0.0902 a	0.1156 a
H1xC4xD3	0.1336 a	0.1396 a	0.1281 a	0.0055 a	0.0028 a	0.0028 a	0.0558 a	0.0974 a	0.1253 a
H1xC5xD1	0.1504 a	0.1399 a	0.1525 a	0.0067 a	0.0033 a	0.0031 a	0.0614 a	0.0995 a	0.1271 a
H1xC5xD2	0.1314 a	0.1230 a	0.1385 a	0.0047 a	0.0030 a	0.0028 a	0.0568 a	0.0854 a	0.1123 a
H1xC5xD3	0.1395 a	0.1484 a	0.1163 a	0.0039 a	0.0029 a	0.0030 a	0.0582 a	0.0885 a	0.0960 a
H1xTES	0.1785 a	0.1782 a	0.1839 a	0.0073 a	0.0050 a	0.0042 a	0.0714 a	0.1352 a	0.1545 a
H2xC1xD1	0.1409 a	0.1479 a	0.1436 a	0.0047 a	0.0034 a	0.0036 a	0.0600 a	0.0950 a	0.1299 a
H2xC1xD2	0.1460 a	0.1368 a	0.1400 a	0.0041 a	0.0033 a	0.0030 a	0.0631 a	0.1027 a	0.1248 a
H2xC1xD3	0.1360 a	0.1393 a	0.1361 a	0.0044 a	0.0037 a	0.0032 a	0.0700 a	0.0978 a	0.1287 a
H2xC2xD1	0.1392 a	0.1382 a	0.1326 a	0.0042 a	0.0033 a	0.0032 a	0.0616 a	0.0870 a	0.1106 a
H2xC2xD2	0.1482 a	0.1544 a	0.1516 a	0.0053 a	0.0034 a	0.0035 a	0.0629 a	0.0932 a	0.1092 a
H2xC2xD3	0.1560 a	0.1470 a	0.1140 a	0.0060 a	0.0025 a	0.0032 a	0.0584 a	0.0938 a	0.1113 a
H2xC3xD1	0.1808 a	0.1610 a	0.1340 a	0.0044 a	0.0034 a	0.0025 a	0.0552 a	0.0966 a	0.1082 a
H2xC3xD2	0.1438 a	0.1549 a	0.1551 a	0.0041 a	0.0033 a	0.0033 a	0.0578 a	0.1055 a	0.1003 a
H2xC3xD3	0.1435 a	0.1445 a	0.1323 a	0.0073 a	0.0030 a	0.0095 a	0.0632 a	0.1015 a	0.1145 a
H2xC4xD1	0.1589 a	0.1529 a	0.1487 a	0.0054 a	0.0029 a	0.0033 a	0.0601 a	0.0983 a	0.1120 a
H2xC4xD2	0.1494 a	0.1428 a	0.1247 a	0.0062 a	0.0035 a	0.0032 a	0.0605 a	0.0856 a	0.0920 a
H2xC4xD3	0.1486 a	0.1318 a	0.1522 a	0.0061 a	0.0030 a	0.0096 a	0.0539 a	0.0778 a	0.1245 a
H2xC5xD1	0.1441 a	0.1294 a	0.1202 a	0.0037 a	0.0031 a	0.0028 a	0.0604 a	0.0864 a	0.0917 a
H2xC5xD2	0.1470 a	0.1501 a	0.1310 a	0.0044 a	0.0035 a	0.0028 a	0.0606 a	0.0991 a	0.1112 a
H2xC5xD3	0.1464 a	0.1416 a	0.1376 a	0.0042 a	0.0029 a	0.0030 a	0.0602 a	0.0862 a	0.1098 a
H2xTES	0.1735 a	0.1770 a	0.2010 a	0.0090 a	0.0050 a	0.0052 a	0.0755 a	0.1370 a	0.1540 a
H3xC1xD1	0.1430 a	0.1318 a	0.1429 a	0.0049 a	0.0030 a	0.0031 a	0.0637 a	0.0738 a	0.1155 a
H3xC1xD2	0.1525 a	0.1638 a	0.1388 a	0.0044 a	0.0032 a	0.0031 a	0.0616 a	0.1076 a	0.1246 a
H3xC1xD3	0.1363 a	0.1536 a	0.1505 a	0.0034 a	0.0029 a	0.0029 a	0.0607 a	0.0953 a	0.1226 a
H3xC2xD1	0.1489 a	0.1362 a	0.1493 a	0.0049 a	0.0027 a	0.0034 a	0.0616 a	0.0962 a	0.1215 a
H3xC2xD2	0.1400 a	0.1621 a	0.1182 a	0.0054 a	0.0028 a	0.0027 a	0.0600 a	0.0925 a	0.1128 a
H3xC2xD3	0.1306 a	0.1353 a	0.1254 a	0.0037 a	0.0031 a	0.0031 a	0.0532 a	0.0997 a	0.1145 a

H3xC3xD1	0.1462 a	0.1410 a	0.1345 a	0.0067 a	0.0028 a	0.0032 a	0.0543 a	0.0983 a	0.1166 a
H3xC3xD2	0.1560 a	0.1419 a	0.1556 a	0.0049 a	0.0028 a	0.0028 a	0.0622 a	0.0931 a	0.1103 a
H3xC3xD3	0.1517 a	0.1409 a	0.1498 a	0.0032 a	0.0034 a	0.0027 a	0.0575 a	0.0970 a	0.1235 a
H3xC4xD1	0.1307 a	0.1567 a	0.1386 a	0.0043 a	0.0025 a	0.0034 a	0.0611 a	0.0670 a	0.1188 a
H3xC4xD2	0.1323 a	0.1247 a	0.1382 a	0.0040 a	0.0031 a	0.0034 a	0.0553 a	0.0783 a	0.1143 a
H3xC4xD3	0.1304 a	0.1458 a	0.1402 a	0.0039 a	0.0024 a	0.0032 a	0.0583 a	0.0929 a	0.1284 a
H3xC5xD1	0.1459 a	0.1294 a	0.1444 a	0.0057 a	0.0033 a	0.0035 a	0.0618 a	0.0983 a	0.1282 a
H3xC5xD2	0.1562 a	0.1573 a	0.1387 a	0.0049 a	0.0032 a	0.0035 a	0.0649 a	0.0958 a	0.1207 a
H3xC5xD3	0.1421 a	0.1452 a	0.1383 a	0.0055 a	0.0027 a	0.0030 a	0.0508 a	0.0855 a	0.1113 a
H3xTES	0.1835 a	0.1751 a	0.1810 a	0.0078 a	0.0050 a	0.0041 a	0.0693 a	0.1288 a	0.1503 a
Media general	0.1457	0.1447	0.1415	0.0054	0.0032	0.0034	0.0598	0.0958	0.1177
Significancia									
H	*	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
C	***	***	***	ns	***	*	***	***	***
D	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
HxC	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
HxD	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CxD	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
HxCxD	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	10.62	16.75	9.47	58.26	16.75	60.77	9.23	14.75	12.64
Tukey	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)	(p ≤0.05)

TES=Testigo, CV= coeficiente de variación, Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes al aplicar la prueba de Tukey Nivel de significancia, ns = no significativo (p ≥ 0.05), * (p ≤ 0.05), ** (p ≤0.01), *** (p ≤ 0.001).

VII. CONCLUSIONES

- Las bacterias aisladas se identificaron como *Pseudomonas simiae*, *Pantoea ananatis* y *Pantoea agglomerans*.
- Las cepas aisladas mostraron patogenicidad en plántulas de maíz afectando hoja, raíz y tallo en condiciones de invernadero.
- Las cepas bacterianas inoculadas en semillas de los híbridos de maíz DK 4050, DK 5021 e Hipopótamo afectaron en incidencia, severidad, germinación y crecimiento en biomasa o peso fresco y peso seco acumulado en la parte aérea y radicular de los tres híbridos, en condiciones de invernadero.

VIII. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios (ASERCA). (2018). Maíz grano cultivo representativo de México. Disponible en https://www.gob.mx/aserca/articulos/maiz-grano-cultivo-representativo-de-mexico Accesada 20 de junio de 2023

Ai, Y., & Jane, J. (2016). Macronutrients in Corn and Human Nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 581–598. DOI:10.1111/1541-4337.12192

Aranda O. S. (2013). Enfermedades Bacterianas Asociadas a Semillas de Cereales *Revista mexicana de fitopatología*, 31, 75-88. Recuperado en 20 de junio de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092014000200075&lng=es&tlng=es.

Azizi, M. M. F., Ismail, I., Md Yasin, I., Mohd H., E., & Abdullah, M. y Zulperi, D. (2020). The emergence of *Pantoea species* as a future threat to global rice production. *Journal of Plant Protection Research*. DOI: 10.24425/jppr.2020.133958.

Baliah D., Chandrasehar., G y Selvam P. (2018). *Pseudomonas fluorescens*: A Plant-Growth-Promoting Rhizobacterium (PGPR) With Potential Role in Biocontrol of Pests of Crops. 221–243. DOI:10.1016/B978-0-444-63987-5.00010-4

Beiki, F., Busquets, A., Gomila, M., Rahimian, H., Lalucat, J., & García-Valdés, E. (2016). New *Pseudomonas* spp. Are Pathogenic to Citrus. *PLOS ONE,* 11(2), e0148796. DOI: 10.1371/journal.pone.0148796

Bernaschina, Y.; Alaniz, S.; Leoni, C. (2015) Validación de escalas de severidad para evaluar el repilo del olivo (*Fusicladium oleagineum*). *INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria); Programa Nacional Producción Frutícola. Resultados experimentales en olivo. Jornada de Divulgación. Canelones (Uruguay):* INIA, 2015. p. 32-37.

Bou, G., Fernández. A. García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología*. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 29(8),* 601-608. DOI: 10.1016/j.eimc.2011.03.01

Boyd, L. A., Ridout, C., O'Sullivan, D. M., Leach, J. E., & Leung, H. (2013). Plant–pathogen interactions: disease resistance in modern agriculture. *Trends in Genetics, 29(4), 233–240.* DOI: 10.1016/j.tig.2012.10.011

Bragard, C., Baptista, P., Chatzivassiliou, E., Serio, F., Gonthier, P., Miret, J., Justesen, A., MacLeod, A., Magnusson, C., Milonas, P., Navas-Cortés, J., Parnell, S., Potting, R., Stefani, E., Thulke, H., Werf, W., Civera, A., Yuen, J., Zappalà, L., Migheli, Q., Vloutoglou, I., Maiorano, A., Streissl, F., & Reignault, P. (2023). Pest categorisation of *Pantoea ananatis*. EFSA journal. European Food Safety Authority, 21(3), e07849. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7849

Bustos-Meza, S. E., Sánchez Gómez, I. E., Lanuza Rodríguez, E. H., & Moreira Centeno, R. I. (2024). Identificación de bacterias fitopatógenas y su relación con la germinación de semillas de maíz. La Calera, 24(43). DOI: https://doi.org/10.5377/calera.v24i43.18779

Butsenko L., Kalinichenko, A., Pasichnyk, L., NEPRAN, I., y Patyka, V. (2018). identification of phytopathogenic bacteria in maize seeds in ukraine. *Agriculture & Forestry*, 64, 71-80, DOI: 64. 10.17707/AgricultForest.64.4.09.

Butzen S. (2011). Goss's Wilt Management in Corn. *Crop Insights,* vol 21, 1-5. Disponible en; https://www.agry.purdue.edu/ext/corn/pubs/GossWilt-Pioneer.pdf.

Carrera-Castaño, G., Calleja-Cabrera, J., Pernas, M., Gómez, L., & Oñate-Sánchez, L. (2020). An Updated Overview on the Regulation of Seed Germination. *Plants*, (Basel, Switzerland), 9(6), 703. DOI; https://doi.org/10.3390/plants9060703

Chahtane H, Nogueira Füller T, Allard PM, Marcourt L, Ferreira Queiroz E, Shanmugabalaji V, Falquet J, Wolfender JL, Lopez-Molina L. The plant pathogen *Pseudomonas aeruginosa* triggers a DELLA-dependent seed germination arrest in *Arabidopsis*. *Elife* 7, e37082. https://doi.org/10.7554/eLife.37082

CONABIO. (2020). Maíces. Disponible en https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/maices. Accesada el junio 22 de 2023.

Coutinho, T. A., y Venter, S. N. (2009). *Pantoea ananatis: an unconventional plant pathogen. Molecular Plant Pathology, 10(3), 325–335.* DOI:10.1111/j.1364-3703.2009. 00542.x

Dimartino, M.A., Panebianco, S., Vitale, A., Castello, I., Leonardi, C., Cirvilleri, G., & Polizzi, G. (2011). Occurrence and pathogenicity of *pseudomonas fluorescens* and *p. putida* on tomato plants in italy. *Journal of Plant Pathology*, 93, 79-87. http://www.jstor.org/stable/41998940

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. (1987) A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. Phytochemical Bulletin, 19, 11-15.

Eubanks, M. W. (2001). The Mysterious Origin of Maize. *Economic Botany*, *55*(4), 492–514. http://www.jstor.org/stable/4256485

FAOSTAT. (2023). Cultivos Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura.

Godebo, A., MacKenzie, K., Walley, F., Germida, J., & Yost, C. (2021). Complete Genome Sequence of a Pseudomonas simiae Strain with Biocontrol Potential against Aphanomyces Root Rot. *Microbiology Resource Announcements*, 10. DOI; https://doi.org/10.1128/MRA.00222-21.

Gonçalves da Silva, I., Castoldi, R., Tebaldi, N. D., Ramalho Moura, D., Mascarenhas Maciel, G., Pires Jacinto, A. C., & Diniz Graciano, P. (2024). Reaction of sweet corn genotypes to bacterial stalk rot. *Bioagro*, *36*(1), 97-104. DOI: https://doi.org/10.51372/bioagro361.9

Goszczynska T. Serfontein J. J. Serfontein S. (1999). Introduction to practical phytobacteriology : a manual for phytobacteriology. *ARC - Plant Protection Research Institute.*

Hernández R. L., y Sandoval I., J. S. (2015). Escala Diagramática de Severidad para el Complejo Mancha de Asfalto del Maíz. *Revista mexicana de fitopatología*, *33*(1), 95-103. Recuperado en 11 de junio de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000100095&lng=es&tlng=es.

Loy, D. D., & Lundy, E. L. (2019). Nutritional Properties and Feeding Value of Corn and Its Coproducts*. Corn, 633–659.* DOI:10.1016/b978-0-12-811971-6.00023-1

Maloy, S. (2013). Bacterial Genetics. Encyclopedia of Biodiversity, 317–325. DOI:10.1016/b978-0-12-384719-5.00431-7

Molan Y, Ibrahim Y. (2007) First Report of Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Pith Necrosis Caused by *Pseudomonas fluorescens* and *P. corrugata* in the Kingdom of Saudi Arabia. *Plant Dis*. Jan;91(1):110. DOI: 10.1094/PD-91-0110B. PMID: 30781079.

Montes-Osuna, N., Gómez-Lama Cabanás, C., Valverde-Corredor, A., Berendsen, R. L., Prieto, P., y Mercado-Blanco, J. (2021). Assessing the involvement of selected phenotypes of *Pseudomonas simiae* PICF7 in olive root colonization and biological control of *Verticillium dahliae*. *Plants* 10:412. DOI: 10.3390/plants10020412

Morin, A. (2014). Pantoea. Encyclopedia of Food Microbiology, 1028–1032. DOI: 10.1016/b978-0-12-384730-0.00245-7

Mueller, D. S., Wise, K. A., Sisson, A. J., Allen, T. W., Bergstrom, G. C., Bissonnette, K. M., … Wiebold, W. J. (2020). Corn Yield Loss Estimates Due to Diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2016 to 2019. *Plant Health Progress, 238–247.* DOI:10.1094/php-05-20-0038-rs

Nallathambi, P., Umamaheswari, C., Lal, S., Channappa, M., y Jeyaveeran, B. (2020). Mechanism of Seed Transmission and Seed Infection in Major Agricultural Crops in india. *Seed-Borne Diseases of Agricultural Crops: Detection, Diagnosis & Management, Springer Singapore.* 749–791 DOI:10.1007/978-981-32-9046-4_26.

Navarrete M. R, Aranda O S., Rodríguez M, María de Lourdes, Moya H. L., & González O, M . (2014). Bacterias Fitopatógenas en Semillas: Su Detección y Regulación. Revista mexicana de fitopatología, 32(2), 75-88. Recuperado en 04 de junio de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092014000200075&lng=es&tlng=es.

Nazarov P.A, Baleev D.N, Ivanova MI, Sokolova LM, Karakozova MV. (2020) Infectious Plant Diseases: Etiology, Current Status, Problems and Prospects in Plant Protection. *Acta Naturae*. 2020 12(3):46-59. DOI: 10.32607/actanaturae.11026.

OECD (2006), "Section 2 - Pseudomonas", in Safety Assessment of Transgenic Organisms, Volume 2: OECD Consensus Documents, OECD Publishing, Paris, DOI: https://doi.org/10.1787/9789264095403-10-en.

Osdaghi, E., R, A. E., Jackson-Ziems, T.A., Abachi, H., Li, y.Y Harveson, R.M. (2023) *Clavibacter nebraskensis* causing Goss's wilt of maize: Five decades of detaining the enemy in the New World. *Molecular Plant Pathology*, 24, 675–692. DOI: https://doi.org/10.1111/mpp.13268

Pahlow, S., Meisel, S., Cialla-May, D., Weber, K., Rösch, P., y Popp, J. (2015). Isolation and identification of bacteria by means of Raman spectroscopy. *Advanced Drug Delivery Reviews, 89, 105–120.* DOI: 10.1016/j.addr.2015.04.006

Paliwal, R. L., Granados, G., Lafitte, H. R., & violic, A. D. (2001). EL MAÍZ EN LOS TRÓPICOS: Mejoramiento y Producción. Disponible en; https://www.fao.org/3/x7650s/x7650s00.htm#toc Accesada el día 2 de julio de 2023

Pedraza, L., Sánchez, F., Arias, V., Moreno, M. y Sánchez, L. (2022). Enfermedades emergentes y reemergentes de plantas en Latinoamérica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13(2), 15–51. DOI: https://doi.org/10.22490/21456453.4639.

Pérez Á. S, Coto A. O., Echemendía P. M., y Ávila Q. G. (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno? *Revista de Protección Vegetal,* 30(3), 225-234. Recuperado en 10 de marzo de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522015000300008&lng=es&tlng=es.

Pérez-y-Terrón, R., Carmona Díaz, J. C., Cebada Ruíz, J. A., & Munive Hernández, J. A. (2014). Patogenicidad bacteriana en maíz (*Zea mays*). *CIBA Revista Iberoamericana De Las Ciencias Biológicas Y Agropecuarias*, 1(1), 24 - 39.

Quintero Benítez J.A. (2014). LAS ENFERMEDADES DEL MAÍZ EN SINALOA. Disponible en https://www.agrotransfer.org/index.php/articulo-tecnico/694-las-enfermedades-del-maiz-en-sinaloa accesada 19 de enero de 2023

Rahma, H., Sinaga, M.S., Surahman, M., & Giyanto (2014). First report of Stewart's wilt of maize caused by *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* in Bogor district, Indonesia. *Journal of International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences, 20*, 131-141.

Recuperado en 04 de junio de 2024 disponible en: https://www.smf.org.mx/rmf/suplemento/docs/bacterias/8SergioArandaOcampo.pdf

Rodríguez Mejía, M. de L. (2012). Manual para la identificación de Bacterias Fitopatógenas. Universidad Autónoma de Chapingo. P. 56-89

Ruíz J. D., Azaola E. A., Esquivel E., G., Segundo P. E., y Silva R. H. V. (2018). Interaction microenvironment - *Pantoea agglomerans* limits maize yield. *Terra Latinoamericana*, *36*(1), 75-83. DOI; https://doi.org/10.28940/terra.v36i1.374

Sawada, H., Fujikawa, T., Tsuji, M., y Satou, M. (2021). *Pseudomonas allii* sp. nov., a pathogen causing soft rot of onion in Japan. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 71(1), DOI: https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004582.

Schaad N.W. (2000). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Bacteriology Comittee of American, *Phytopatogenic Society*. P. 96-102

SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2021). Ficha técnica para el diagnóstico de *Pseudomonas syringe* subsp. *Syringae.* Tecamac México.

SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2020). Ficha Técnica: Aislamiento de bacterias fitopatógenas y pruebas de patogenicidad 1.0

Sharma, A., Abrahamian, P., Carvalho, R., Choudhary, M., Paret, M. L., Vallad, G. E., & Jones, J. B. (2022). Future of Bacterial Disease Management in Crop Production. Annual Review Of Phytopathology, 60(1), 259-282. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-021621-121806

Sinaloa es primero, Disponible en; https://estadisticas.sinaloa.gob.mx/EE_Sinaloav2.aspx Accesada 3 de Julio de 2023

Valencia-Botín, A. J., Mendoza-Onofre, L. E., Silva-Rojas, H. V., Córdova-Téllez, L., Espinosa-Victoria, D., Valadez-Moctezuma, E. y Villaseñor-Mir, H. E. (2007). Indicadores de agresividad y métodos de inoculación con bacterias fitopatógenas en plántulas y semillas de trigo 'seri m82'. Revista Fitotecnia Mexicana 30(3): 255-259.

Van G. J., & Nowak, M. A. (2016). Phenotypic Heterogeneity and the Evolution of Bacterial Life Cycles*. PLOS Computational Biology, 12(2), e1004764.* DOI: 10.1371/journal.pcbi.1004764

Van Rossum, T., Ferretti, P., Maistrenko, O. M., & Bork, P. (2020). Diversity within species: interpreting strains in microbiomes. *Nature Reviews Microbiology*. 18, 491–506. DOI:10.1038/s41579-020-0368-1

Wang, J., Taixiang, C., White, J., Wei, X., Li, X y Li, Ch. (2021). *Pantoea agglomerans*, a seed-borne plant pathogenic bacterium, decreased seed germination, seedling growth and seed quality of oat. *European Journal of Plant Pathology*. 162, 667–679. DOI: 162. 10.1007/s10658-021-02430-5.

Waterworth, W., Bray, C., & West, C. (2015). The importance of safeguarding genome integrity in germination and seed longevity.. *Journal of experimental botany*, 66, 3549–3558. DOI; https://doi.org/10.1093/jxb/erv080.

Weller-Stuart, T., Maayer, P., & Coutinho, T. (2017). *Pantoea ananatis*: genomic insights into a versatile pathogen. *Molecular plant pathology*, 18 9, 1191-1198. DOI; https://doi.org/10.1111/mpp.12517.

Whistler T, Sangwichian O, Jorakate P, Sawatwong P, Surin U, Piralam B, Thamthitiwat S, Promkong C, Peruski L. (2019). Identification of Gram negative non-fermentative bacteria: ¿How hard can it be? *PLOS Neglected Tropical Diseases*.13(9). 1-16 DOI: 10.1371/journal.pntd.0007729.

Zhu, M., Tong, L., Xu, M., & Zhong, T. (2021). Genetic dissection of maize disease resistance and its applications in molecular breeding*. Molecular Breeding,* 41(5). DOI:10.1007/s11032-021-01219-y

IX. ANEXO

9.1 Medios de cultivo

Medio Agar nutritivo

Volumen final	Para 1000 mL de medio	Para 500 mL de medio
Agua destilada	1000 mL	500 mL
Extracto de carne	3 g	1.5 g
Peptona	5 g	2.5 g
Agar	15 g	7.5 g

Medio B de King

Volumen final	Para 1000 mL de medio	Para 500 mL de medio
Agua destilada	985 mL	492.5 mL
Peptona de proteosa	20 g	10g
Fosfato de potasio dibásico	1.5 g	0.75 g
Sulfato de magnesio	1.5 g	0.75 g
Glicerol	15 mL	7.5 mL
Agar	15 g	7.5 g

Medio YDC

Volumen final	Para 1000 mL de medio	Para 500 mL de medio
Agua destila	1000 mL	500 mL
Extracto de levadura	10 g	5 g
Glucosa[1]	20 g	10 g
Carbonato de calcio	20 g	10 g
Agar	15 g	7.5 g

[1]Agregar glucosa por separado una vez estéril el medio.

Producción de ácido de carbohidratos

Volumen final	Para 1000 mL de medio	Para 500 mL de medio

Agua destilada	999.3 mL	499. 65 mL
Fosfato de amonio	0.5 g	0.25 g
Fosfato de potasio dibásico	0.5 g	0.25 g
Sulfato de magnesio	0.2 g	0.1 g
Cloruro de sodio	5 g	2.5 g
Extracto de levadura	1 g	0.5 g
Agar	12 g	6 g
Azul de bromotimol[1]	0.7 mL	0. 35 mL

[1]Solución al 1.5% en alcohol absoluto.

Ajustar pH 7.0 y esterilizar en autoclave a 121 c durante 15 min y adicionar 0.5% (v/v) de la fuente de carbono del medio y distribuir en tubos estériles.

Medio gelatina

Volumen final	Para 1000 mL de medio	Para 500 mL de medio
Agua destilada	1000 mL	500 mL
Gelatina microbiológica	120 g	60 g

Ajustar pH a 7.0, distribuir en tubos, esterilizar en autoclave y dejar enfriar.

Producción de levana

Volumen final	Para 1000 mL de medio	Para 500 mL de medio
Agua destilada	1000 mL	500 mL
Extracto de carne	3 g	1.5 g
Peptona	5 g	2.5 g
Agar	15 g	7.5 g
Sacarosa[1]	50 g	25 g.

[1]Adicionar sacarosa después de esterilizar.

Reducción de nitratos.

Volumen final	Para 1000 mL de medio	Para 500 mL de medio
Agua destilada	1000 mL	500 mL
Extracto de levadura	1 g	0.5 g
Nitrato de potasio	0.2 g	0.1 g
Agar	0.2 g	0.1 g
Fosfato de amonio	1 g	0.5 g
Cloruro de potasio	3 g	1.5 g
Sulfato de magnesio	0.08 g	0.04 g

Dihidrolasa de arginina

Volumen final	Para 1000 mL de medio	Para 500 mL de medio
Agua destilada	1000 mL	500 mL
Peptona	1 g	0.5 g
Cloruro de sodio	5 g	2.5 g
Fosfato de potasio dibásico	0.3 g	0.15 g
L- Arginina	10 g	5 g
Purpura de bromocresol	0.06 g	0.03 g
Agar	3 g	1.5 g

Antes de esterilizar ajustar pH hasta tomar un color rosa (pH 7.2)