

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco
División de ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento de Producción Agrícola y Animal
Licenciatura en Agronomía

Informe de Servicio Social Legal

Riesgo de contaminación biológica en maíz nativo (*Zea mays* L.) cultivado con Biol a base de heces de cerdo criollo (Ts'üdi xirgo)

Presentador de Servicio Social

Eslava De Jesús Elizabeth

Matricula 2172029697

Asesores



Dr. Daniel Ruiz Juárez

No. Económico 29691

Lugar de Realización: Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, Ciudad de México, México. C.P. 04960.

Fecha de Inicio y Terminación: septiembre de 2022 a marzo del 2023

ÍNDICE

	Pág.
Resumen	3
I. Introducción	4
II. Justificación	4
III. Objetivos	5
3.1. Generales	5
3.2. Específicos	5
IV. Revisión de literatura	5
4.1. Fertilizantes	5
4.2. Microorganismos en el suelo	6
4.3. Biodigestores	6
4.4. Biol de cerdo	6
4.5. Microorganismos asociados al Biol de cerdo	7
4.6. Bacterias coliformes	7
4.7. El maíz	7
4.8. Microorganismos patógenos asociados al maíz	8
4.9. Bacterias asociadas al maíz	8
4.10. Traslocación de microorganismos patógenos en plantas de maíz	8
V. Materiales y Métodos	9
5.1. Tipo de investigación	9
5.2. Sitio de trabajo	9
5.3. Contaminación biológica durante la germinación y el tejido de plántulas de maíz	10
5.4. Evaluación de las instalaciones	10
5.5. Análisis microbiológico de la granja	11
5.6. Tinción de Gram	11
5.7. Riesgo de contaminación biológica en la cadena de producción primaria de maíz	12
5.8. Muestreo de material vegetal	12
5.9. Análisis microbiológico de las estructuras vegetales del maíz	13
5.10. Análisis estadístico	13
VI. Actividades realizadas	13
6.1. Producción de Biol	13
6.2. Diseños experimentales	13
6.3. Medios específicos	14
VII. Objetivos y metas alcanzados	14
7.1. Objetivos	14
7.2. Metas	14
VIII. Resultados y Discusión	14
8.1. Contaminación biológica durante la germinación y tejido de plántulas de maíz	14
8.2. Evaluación de Biol en la cadena de producción	15
8.3. Análisis microbiológico de las estructuras vegetales de maíz	19
IX. Conclusiones	20
X. Bibliografía	21

Índice de Figuras

	Pág.
Figuras	
1. Parcela experimental	9
2. Unidades experimentales de maíz fertilizadas con Biol a y b) Semillas de maíz en almácigos; y c) Plántulas de maíz	10
3. Granja <i>Ts'udi xirgo</i> .	11
4. Toma de muestras biológicas a) Biodigestor, b) La salida de heces y c) La pared de la jaula.	11
5. Presencia de <i>Salmonella</i> y <i>E. coli</i> en plántula de maíz cultivado con Biol.	15
6. Presencia de <i>E. coli</i> en fruto de maíz	19
7. Presencia de <i>E. coli</i> en hoja de maíz	20

Índice de cuadros

	Pág.
Cuadros	
1. Representación de las parcelas experimentales con maíz nativo y concentraciones de Biol de cerdo (<i>Ts'udi xirgo</i>) en forma aleatorizada	12
2. Pruebas microbiológicas durante el proceso de producción del Biol en medios de cultivos MacConkey, Eosina Azul de Metileno, Verde Brillante y Hektoen Entérico con 2 repeticiones.	16
3. Características morfológicas típicas de las Colonias bacterianas	18

RESUMEN

Los brotes de *Salmonella* sp. y *E. coli* en alimentos vegetales frescos se deben al uso de abonos de ganado estabulado. En esta investigación se evaluó el riesgo de contaminación biológica en maíz nativo (*Zea mays* L.) fertilizado con Biol a base de heces de cerdo criollo (Ts'üdi xirgo). En la cadena de producción de Biol se analizó la calidad e inocuidad, se tomaron muestras por triplicado y se analizaron con medios de cultivo específicos. En cultivo de maíz nativo, 30 días después de la siembra se aplicaron dosis de fertilización con cinco tratamientos T0:0-T1:25-T2:50-T3:75-T4:100% de Biol, con diseño experimental al azar. La contaminación en tejido de maíz se estudió durante la germinación, fructificación y maduración del fruto. Los datos se trataron con ANOVA ($P \leq 0.0001$). Las medias se evaluaron con prueba Tukey-Kramer ($\alpha = 0.05$). En el biodigestor se aisló *Salmonella* sp. y *E. coli*. (16.7%). La presencia de *E. coli* en Plántula, hoja y fruto presentaron diferencias significativas (11.6, 4.8 y 5.2% respectivamente). Se observó *Salmonella* sp. en plántula (15.6%). La contaminación en tejido de maíz fertilizado con Biol a base de heces de cerdo representa riesgo epidemiológico, al no realizar buenas prácticas de manejo en preparación de Biol.

Palabras clave: Biol, Maíz nativo, *Salmonella* sp., *E.coli*.

I. INTRODUCCIÓN

El uso de fertilizantes sintéticos tiene impactos en el ambiente afectando principalmente la calidad del suelo, el agua, el aire y la biodiversidad por malas prácticas agrícolas, así mismo dañando la salud humana y animal. La alta concentración de estos compuestos genera un desequilibrio en los ciclos biogeoquímicos y cadenas tróficas de las zonas agrícolas, teniendo como efecto la disminución de la capacidad productiva, la dificultad en el control de plagas y enfermedades (Manal et al., 2020). En muchas ocasiones los desechos de las actividades agrícolas o pecuarias cumplen una participación importante para nuevas actividades agrícolas con la fabricación de mejoradores de suelo como los abonos o biofertilizantes, los cuales se pueden considerar como importantes fuentes de microorganismos patógenos (Herrera et al. 2015).

En la actualidad las cargas contaminantes de origen biológico por residuos líquidos y sólidos de animales han ido en aumento con la creciente demanda de alimentos. Frente a esta crisis se han contemplado diferentes técnicas para su reducción, por efecto de esto se ha expuesto a la actividad agropecuaria como una de las principales actividades productoras de desechos, dentro de esta área se encuentra la producción porcina, que produce impactos significativos por los residuos que genera, los riesgos de contaminación de aguas, suelos y la transmisión de enfermedades a humanos (Soberats et al., 2019). Se ha reportado que la extracción de heces porcinas puede llegar hasta 1.35kg de material fresco por cada kg de materia seca ingerida (Ruvalcaba et al., 2019). Los tratamientos biológicos tienen un gran interés en la depuración de contaminantes y su utilización se basa en el aprovechamiento de microorganismos neutralizadores de la carga orgánica presentes en biodigestores, sobre todo cuando se emplean procesos anaeróbicos para su tratamiento (Escobar 2018).

El uso del Biol de cerdo sin tratamiento o evaluación microbiológica pueden ocasionar contaminación patológica, teniendo el riesgo de transmitir enfermedades tanto en el cultivo, animales y humanos (Soberats et al., 2019), entre los que destacan *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., y *Klebsiella* sp., causantes de enfermedades gastrointestinales (Ramos et al., 2018). razón por la que se quiere analizar la calidad e inocuidad del biol a base de heces de cerdo (*Ts'udi xirgo*) tanto en el biodigestor, aplicación y translocación de la planta de maíz nativo (*Zeamays* L.).

II. JUSTIFICACIÓN

La elaboración del Biol porcino genera impactos positivos en el aspecto cultural, económico y ambiental. La relevancia cultural de la investigación busca concientizar a los porcicultores acerca del interés de aprovechar el estiércol de cerdo. En cuanto a la relevancia económica, ayuda a disminuir egresos por medio de la compra de productos sintéticos, en cambio sirve como emprendimiento en el ramo de la adopción de nuevas tecnologías como los biodigestores obteniendo abono de cerdo (Biol) y de esta manera generar nuevos ingresos a los porcicultores y a los agricultores. Por otra parte, ambientalmente contribuye con la conservación de los recursos naturales, disminuyendo las emisiones de gases de efecto invernadero y promueve la agricultura sostenible, debido a que este producto se obtiene a partir del aprovechamiento de desechos orgánicos. Sin embargo, existen diferentes agentes patógenos que se asocian al cultivo de maíz, como los hongos, los cuales son organismos que se alimentan de

materia orgánica y compuestos de carbono, o bacterias, provocando disminución en el rendimiento del fruto (Chávez, 2019), estos organismos pueden llegar al cultivo por distintos vectores, uno de ellos son los biofertilizantes mal procesados, ocasionando la entrada de importantes fuentes de microorganismos patógenos (Herrera et al., 2015). Por otra parte, se han reportado resultados en los que se menciona que existen bacterias asociadas a la producción de Biol que funcionan como control biológico en cultivos de interés agrícola (Rodríguez, 2021).

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivos General

- Evaluar el riesgo de contaminación biológica en maíz nativo (*Zea mays* L.) cultivado con Biol a base de heces de cerdo criollo (Ts'üdi xirgo)

3.2. Objetivos específicos

- Determinar la calidad e inocuidad durante la cadena de producción de Biol a base de heces de cerdo criollo (Ts'üdi xirgo).
- Evaluar el riesgo de contaminación biológica presente en la cadena de producción primaria de maíz nativo azul (*Zea mays* L.) cultivado con Biol a base de heces de cerdo criollo.
- Valorar el riesgo de contaminación biológica presente en la hoja y fruto de maíz nativo

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Fertilizantes

La fertilización mineralizada, impacta directamente sobre la producción de biomasa y el rendimiento del cultivo. Esta actividad consiste en la introducción de nutrientes al suelo para que estos se encuentren disponibles para las plantas y puedan ser aprovechados (Tello, 2018).

La aplicación excesiva de fertilizantes mineralizados produce la contaminación de aguas subterráneas, la eutrofización y toxicidad; contaminación del aire, degradación del suelo y de los ecosistemas (variación del pH, deterioro de la estructura del suelo y deterioro de la microfauna), así como desequilibrios biológicos y reducción de la biodiversidad (González, 2019).

4.2. Microorganismos en el suelo

La rizosfera, parte del suelo inmediata a las raíces vivas de las plantas tiene influencia a través de sus exudados, se encuentra mayor biodiversidad de microorganismos, los cuales compiten por espacio y nutrientes; estas interacciones microbianas impactan directamente la relación suelo-planta-microorganismo-ambiente que pueden traer cambios positivos o negativos en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Cano, 2011).

Los cultivos están en constante interacción con el ambiente, principalmente con el suelo, el cual es un amplio y complejo ecosistema en el que habitan grandes poblaciones microbianas; los suelos de >2% de materia orgánica contiene alta diversidad de microorganismos, conformados principalmente por bacterias, actinomicetos, hongos y algas (Jacoby et al., 2019), cuya labor está relacionada con la fertilidad y estabilidad del recurso edáfico (De los Santos et al., 2019). De esta manera, el suelo puede llegar albergar una población de 10^8 hasta 10^9 células bacterianas por gramo, Si el suelo se somete a cualquier tipo de estrés como escasez de agua o nutrientes, salinidad del suelo, puede disminuir la población a 10^4 células bacterianas por gramo de suelo (Valenzuela et al., 2019).

La biodiversidad de microorganismos en el suelo involucra los que hacen el trabajo de ciclaje de nutrientes, los descomponedores de materia orgánica, los encargados de la fotosíntesis y biorremediación, además del manejo de microorganismo causantes de enfermedades de los vegetales de interés agrícola (De los Santos et al. 2019)

4.3. Biodigestores

Una de las alternativas para atenuar los diferentes conflictos de contaminación por los desechos de granjas agropecuarias y los problemas que la fertilización genera durante la vida productiva de cultivos, es el uso de biodigestores, este utiliza los desechos agrícolas y los transforma, por medio de procesos de digestión anaerobios (biogás), en compuestos útiles para el humano. Este producto tiene diferentes utilidades, como fuente de energía térmica y eléctrica actuando también como reductor de emisiones de gases de efecto invernadero. Además, de las energías que brindan los biodigestores, estos también ayudan a la obtención del Biol, el cual es un subproducto, como complemento de fertilizantes por su contenido de elementos minerales (Tello, 2018).

4.4. Biol de cerdo

El estiércol de cerdo, en forma de Biol, es la mezcla de heces sólidas (60%), orina (40%) (Gallo, 2021), escurrimiento de agua por la limpieza de los corrales y el alimento; para la agricultura es de valor por sus propiedades como abono orgánico, mismo que pretende tener efecto benéfico durante la producción de cultivos sin impactos ambientales significativos. Sin embargo, sí no se realiza el manejo adecuado de este producto puede impactar negativamente (Moreno et al., 2018). El Biol puede utilizarse como acondicionador de suelos y fertilizantes por sus características fisicoquímicas las cuales se expresan, principalmente en el crecimiento de raíces y frutos (Guzmán 2021). Otra de las

cualidades del Biol es el potencial de intercambio catiónico en el suelo, lo cual da pie a la disponibilidad de los nutrientes en el suelo; los Bioles obtenidos de la fermentación anaeróbica, pueden usarse como biofertilizantes para diversos cultivos, si se conoce su calidad del producto y cantidad requerida del cultivo (Cano et al., 2016)

También se han reportado que la extracción de heces porcinas puede llegar hasta 1.35kg de material fresco por cada kg de materia seca ingerida, en este sentido, la cantidad y composición del estiércol porcino dependerá de factores como la edad, tipo de alimentación y condiciones de confinamiento (Ruvalcaba et al., 2019).

Las heces de cerdo tienen alto contenido de nitrógeno, el cual contribuye para la formación de estructuras celulares y fibras, también, contienen carbono, que sirve como fuente de energía. La relación C:N

(Carbono-Nitrógeno) adecuada en el biodigestor debe ser de 15 a 30:1 (15 a 30 unidades de Carbón por una de Nitrógeno) (Armas, 2016).

4.5. Microorganismos asociados en Biol de cerdo

En las granjas de crianza porcina, los residuos sólidos orgánicos favorecen el crecimiento de organismos no benéficos, lo que se convierte en un foco de contaminación (Ramírez et al., 2016). La microbiología del estiércol porcino incluye diversas especies de patógenos (bacterias coliformes) causantes de enfermedades gastrointestinales, como *Escherichia coli*, *Enterococcus sp.*, *Clostridium sp.*, *Bacillus sp.*, *Listeria sp.*, *Salmonella sp.*, *Campylobacter sp.*, hongos y levaduras, en algunos casos la contaminación por partículas virales (Ruvalcaba et al., 2019).

4.6. Bacterias coliformes

Existen las bacterias coliformes totales y fecales, su diferencia radica en que esta última puede crecer a mayor temperatura bajo condiciones de laboratorio. Las bacterias coliformes fecales son bacilos cortos, anaerobios y aerobios, gram negativos, con forma de bastón, no formadoras de esporas, que pueden fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, facultativas, estrechamente relacionadas al suelo, agua y el tracto intestinal de los animales; con gran importancia en el área de salud; en la calidad, sanidad e inocuidad de los alimentos, ya que se relaciona con patógenos. Su presencia en alimentos puede ser indicador de una mala calidad en la producción de cultivos fertilizados con biol de cualquier animal (Orozco et al., 2022).

4.7. El Maíz

Uno de los cultivos más producidos en Centroamérica es el maíz (*Z. mays*), ya que se trata de un alimento básico en la dieta de esta región; En México, la producción alcanzó 1.012.442 toneladas para el año 2020 de maíz forrajero (FAOSTAT 2022). La importancia de este cultivo no solo radica en su valor económico, también por su contenido nutricional y su aporte al PIB nacional (IICA, 2021).

4.8. Microorganismos patógenos asociados a maíz

La asociación de microorganismos al maíz es de gran espectro, los cuales llegan a provocar serios daños a pequeña escala, e incluso lograr pérdidas devastadoras, estos organismos se pueden encontrar en la parte apical de la planta o en tallos. Los organismos que causan más pérdidas están asociados a la parte comercial de la planta, al grano, estos microorganismos se pueden describir como virus, bacterias y hongos (Chavarri et al. 2014).

Los patógenos del maíz son favorecidos por las condiciones ambientales, el tipo suelo, la nutrición, la susceptibilidad del material genético; en el caso de patógenos de origen fúngico, virales o bacterianos se dan por las condiciones que favorezcan la migración, establecimiento y supervivencia del vector (Uribe et al., 2020). Las enfermedades pueden ser transmitidas de forma directa, a través de la semilla, granos de elote, o por contaminación cruzada a partir de malezas hospederas asociadas a los cultivos (MINAM, 2016).

Los microorganismos patógenos comunes en maíz son *Fusarium* sp. quien causa marchitamiento, pudrición de raíces y tallos (Uribe et al., 2020); *Aspergillus* sp. atacando principalmente la mazorca y los granos del maíz; *Sporisorium* sp. afectando la floración, la raíz y primeras etapas de desarrollo de la plántula (González, 2019).

La evaluación del daño causado por microorganismos fitopatógenos se basa en la incidencia y la severidad de la enfermedad; el procedimiento se inicia con la detección de la enfermedad en campo, la evaluación de la intensidad del daño, la toma de muestras y el traslado al laboratorio (Flores, 2016).

4.9. Bacterias asociadas al maíz

Las bacterias fitopatógenas en el maíz se encuentran alojadas en las semillas dentro o fuera de ellas, causando daños en el desarrollo de la planta; las semillas se consideran la fuente más importante para la perpetuación de las bacterias y su longevidad es mayor en las semillas que en el suelo o en los residuos de cosechas, lo que favorece a infecciones tempranas (Navarrete et al., 2016).

4.10. Translocación de microorganismos patógenos en plantas de maíz

Los microorganismos por lo general pueden ingresar a las plantas por medio de los estomas, multiplicándose entre los espacios intercelulares del parénquima, translocación común de las bacterias, sin embargo existe la posibilidad de ser infectados por vectores (insectos), en específico los artrópodos; la temperatura y la humedad relativa alta son factores indispensables de la incidencia y virulencia de la enfermedad (MINAM, 2016). En el caso de microorganismos fúngicos, el micelio invade sistema vascular de las plantas, hasta llegar al meristemo apical, al madurar liberan las teliosporas, mismas que caen al suelo y el aire transporta a nuevas plantas hospederas (Quezada 2017).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Tipo de investigación

Esta es una investigación de campo y exploratoria, ya que no hay documentos registrados comparativos de aplicación de Biol en maíz, con el enfoque de microorganismos patógenos, estos permitirán experimentar con más seguridad la relación de causa y efecto.

5.2. Sitio de trabajo

La investigación se realizó en una parcela experimental (Figura 1) de 364.96 m², que se encuentra ubicada en Santo Tomas Ajusco, Tlalpan, CDMX, con coordenadas 19.230394,-99.215987, en la cual se sembró maíz nativo azul, observando todo su desarrollo vegetativo, aplicando los tratamientos con las dosis de Biol a base de heces de cerdo asperjando directamente al follaje del maíz.



Figura 1. Parcela experimental.

Esta localidad tiene un clima templado subhúmedo (García, 1964), con temperatura que oscila entre 5° a 25° C, sin embargo, en los reportes la mínima llega a los -3° C así como las máximas de 28° C, las precipitaciones se encuentran alrededor de 1200 mm anuales, con 2900 msnm, presenta suelos andosoles y litosoles debido por ser una zona volcánica.

Etapa I. Evaluar el riesgo de contaminación biológica presente en la cadena de producción primaria de maíz nativo azul (*Zea mays* L.) cultivado con Biol a base de heces de cerdo criollo (*Ts'udi xirgo*).

5.3. Contaminación biológica durante la germinación y tejido de plántulas de maíz

Se realizó un ensayo de germinación con las semillas de maíz nativo azul en almácigos con sustrato húmedo (Turba y argolita) (Figura 2 – a y b). El sustrato se mantuvo a capacidad de campo con riegos a base de Biol. A partir de los T1-25%, T2-50%, T3-75%, T4-100% de Biol y un testigo T0 (agua) se establecieron unidades experimentales con distribución al azar. Una vez germinadas las semillas (Figura 2 – c), las plántulas fueron sometidas a un análisis microbiológico para saber si existe la presencia de microorganismos patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales.



Figura 2. Unidades experimentales de maíz fertilizadas con Biol a y b) Semilla de maíz en almácigos; y c) Plántulas de maíz.

Etapa II. Determinar la calidad e inocuidad durante la cadena de producción de Biol a base de heces de cerdo criollo (Ts'üdi xirgo).

5.4. Evaluación de las instalaciones

Se realizó la visita a la granja *Ts'üdi xirgo* (Figura 3) ubicada en C. Luis Villarreal, San Juan Tepa, Hidalgo, con coordenadas 20.1328.9, -99.0529.0, en donde se obtuvo el Biol a base de cerdo (*Ts'üdi xirgo*), se realizó un muestreo (Figura 4) en las instalaciones donde se lleva a cabo el proceso de preparación del Biol y monitorear si existe la presencia de microorganismos patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales. Las muestras se tomaron con hisopo estéril, humedecido con medio Stuart, y el hisopo con la muestra se conservó en medio de transporte Stuart del personal: manos y calzado, jaulas: paredes, comederos, bebederos y heces, alimento porcino: lactancia, inicio, desarrollo y engorda, del biodigestor: entrada y salida del biol, paredes, almacenamiento, entrada y salida de heces, así como las herramientas de trabajo y del producto final denominado Biol en sus diferentes concentraciones (T1-25%, T2-50%, T3-75%, T4-100% de Biol), y las muestras se preservaron en hielera a 4°C hasta su análisis microbiológico.



Figura 3. Granja Ts'udi xirgo.

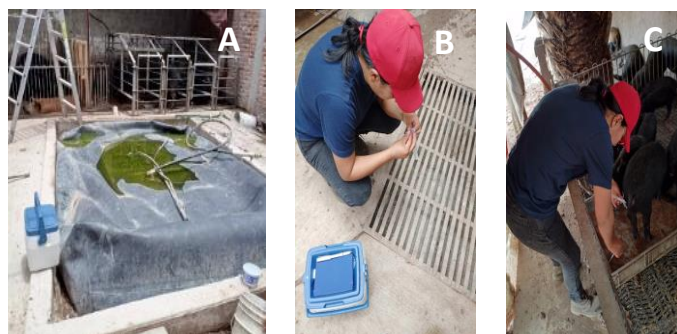


Figura 4. Toma de muestras biológicas a) Biodigestor, b) La salida de heces y c) La pared de la jaula.

5.5. Análisis microbiológico de la granja

A partir de las muestras y diluciones de Biol, tomando como base las NOM-112-SSA1-1994. Determinación de Bacterias Coliformes. Técnica del Número más Probable. NOM-113-SSA1-1994. Método para la cuenta de Microorganismos Coliformes totales en placa. NOM-210-SSA1-2014. Métodos de prueba microbiológicos-determinación de microorganismos indicadores-determinación de microorganismos patógenos y NOM-114-SSA1-1994. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos, por estría cruzada se realizaron cultivos en medios MacConkey, Eosina Azul de Metileno, Verde Brillante y Hektoen Entérico con tres repeticiones, los aislamientos se cultivaron a 36°C en oscuridad total.

5.6. Tinción de gram

A los cultivos puros de 24h se realizaron tinción de Gram. Por cultivo puro con asa bacteriológica se tomó muestra y se depositó en una gota de agua estéril sobre un portaobjetos estéril, dejando secar al aire libre para que las células bacterianas se fijaran al portaobjeto, una vez seco se agregó una gota de cristal violeta por 1 min, enseguida se realizó el enjuague con agua potable abundante para retirar el exceso de del cristal violeta, se colocó una gota de yodo dejándolo actuar por un min, retirando el exceso con alcohol y por último se colocó una gota de safranina por 30 seg Para después enjuagar con agua potable, la muestra se dejó secar al aire libre y posteriormente se realizó la lectura de los

frotis en un microscopio con el objetivo 100x y aceite de inmersión.

5.7. Riesgo de contaminación biológica en la cadena de producción primaria de maíz

En esta parcela se realizó la aplicación de Biol a base de cerdo (Ts'udi xirgo) en diferentes concentraciones más agua estéril, con cinco repeticiones como se muestra en Cuadro 1, en donde se evaluó la presencia de microorganismos existentes en el Biol y su translocación a la planta o frutos.

El cálculo para las concentraciones de los tratamientos T0 (testigo) y T1, T2, T3 y T4 (Cuadro 1) se obtuvo a partir del gasto de agua total que ocupa una planta promedio de maíz para cubrir el área foliar (T1, T2, T3 y T4). Por cada tratamiento se estableció cinco repeticiones distribuidas al azar dentro de la parcela, cada unidad experimental tuvo una distancia de 6 metros de largo y 4 surcos de 80 cm entre surcos.

Cuadro 1. Representación de las parcelas experimentales con maíz nativo y concentraciones de Biol de cerdo (Ts'udi xirgo) en forma aleatorizada

Tratamientos	Distribución de los tratamientos por Repetición				
	R1	R2	R3	R4	R5
Concentraciones de Biol (%)					
T0 = 0 Agua (Testigo)	T4	T3	T2	T3	T1
T1 = 25 + 75 Agua	T2	T0	T4	T1	T4
T2 = 50 + 50 Agua	T0	T2	T1	T4	T2
T3 = 75 + 25 Agua	T1	T4	T3	T0	T0
T4 = 100 Biol	T3	T1	T0	T2	T3

Etapa III. Valorar el riesgo de contaminación biológica presente en la hoja y fruto de maíz nativo.

5.8. Muestreo de material vegetal

Al término de las evaluaciones se tomaron muestras de frutos y hojas de maíz. Por muestra se realizaron análisis microbiológicos. Las muestras de tejido vegetal se tomaron de cada planta experimental, a partir de la tercera hoja de la parte apical hacia abajo, con el objetivo de obtener hojas bien desarrolladas. Por unidad experimental se extrajo el líquido de una hoja. El fruto se tomó de la tercera planta de cada unidad experimental, a partir de cada fruto se tomó 50 g de grano, asimismo se realizó la molienda y extracción del fruto completo donde se incluyó solo los granos del elote.

5.9. Análisis microbiológico de las estructuras vegetales del maíz

Con base en la NOM-114-SSA1-1994 Método para la determinación de enterobacterias en alimentos y la NOM-210-SSA1-2014 Métodos de prueba microbiológicos-Determinación de microorganismos indicadores-Determinación de microorganismos patógenos, por triplicado se determinó la presencia (1) o ausencia (0) de microorganismos patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales. El análisis microbiológico se desarrolló en cuatro etapas sucesivas: 1ª Etapa. Pre-enriquecimiento con agua peptonada, 2ª Etapa. Enriquecimiento selectivo (a base de caldo selenito), 3ª Etapa. Aislamiento en medios de cultivo selectivos y 4ª Etapa. Identificación bioquímica y confirmación serológica de microorganismos. Cada etapa se evaluó en intervalos de 15 días después de cada tratamiento. A partir de cada estructura vegetal y fruto de maíz evaluados, al azar se tomaron muestras de tejido de tallo y hojas, mismas que se desinfectaron con hipoclorito de sodio a 250 ppm y finalmente se maceraron en mortero. Bajo condiciones asépticas se tomaron muestra macerada con asa bacteriológica estéril y se estrío en cajas Petri con medios solidos de Agar Ektoen entérico, Salmonella-Shigella, Verde brillante y Agar MacConkey. Asimismo, con base en los cinco tratamientos a base de Biol la siembra se realizó por triplicado en los medios sólidos. Las muestras con tejido vegetal y los tratamientos de Biol se incubaron a 37 °C por 24 h.

5.10. Análisis estadístico

Las variables evaluadas en las plantas de maíz se registraron en base de datos formato Excel. Los datos de los tratamientos se analizaron con el programa JMP V8, se expresaron como la media \pm desviación estándar. Se realizó análisis de varianza de una vía (Oneway ANOVA) para obtener la diferencia entre las medias de las variables ($P \leq 0.0001$). La comparación de las medias evaluadas entre tratamientos se obtiene con la prueba de Tukey-Kramer HDS ($\alpha=0.05$).

VI. ACTIVIDADES REALIZADAS

6.1. Producción de Biol

Se visito la granja **Ts'udi xirgo** productora de Biol a partir de estiércol de cerdo criollo (*Ts'udi xirgo*) para el reconocimiento de los puntos críticos durante la cadena de producción del Biol.

Se tomaron muestras en puntos estratégicos de control, para el procesamiento del Biol, así como del personal a cargo, herramientas y producto.

6.2. Diseños experimentales

Se realizó un bioensayo de germinación de maíz con la aplicación del producto. Se planto un diseño experimental de maíz a diferentes dosis de tratamientos de Biol de cerdo en una parcela.

6.3. Medios específicos

Para el aislamiento e identificación de *E. coli* y *Salmonella* spp. presentes en los Bioles se realizaron medios de cultivo específicos

Aislamiento de bacterias patógenas en medios específicos.

Descripción morfológica de colonias bacterianas en diferentes medios selectivos.

Descripción morfológica de bacilos de diferentes aislados bacterianos.

Preparación de una base de datos del crecimiento de colonias bacterianas y presencia de bacilos.

VII. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADOS

7.1. Objetivos

- Se evaluó el riesgo de contaminación biológica en maíz nativo
- Se determinó la calidad e inocuidad en la cadena de producción del Biol
- Se evaluó la contaminación biológica del Biol en su cadena de producción
- Se valoró el riesgo de contaminación biológica en hoja y fruto del maíz

7.2. Metas

En esta investigación se logró determinar la presencia de dos géneros de coliformes, por medio de análisis microbiológico, utilizando medios específicos en tres intervalos, cadena de producción del Biol, en la aplicación en plántula y planta de maíz, sacando extractos de hoja y fruto como resultados.

En la cadena de producción de Biol se resaltaron los riesgos de contaminación microbiológica. En plántula, hoja y fruto se identificó las bacterias contaminadas mediante la previa aplicación del Biol.

- Evaluó cuatro dosis Biol de cerdo en plantas de maíz.
- Determinó la presencia de microorganismos presentes en el Biol.
- Diagnosticó la población de los microorganismos presentes en el Biol, plántula, hoja y fruto.

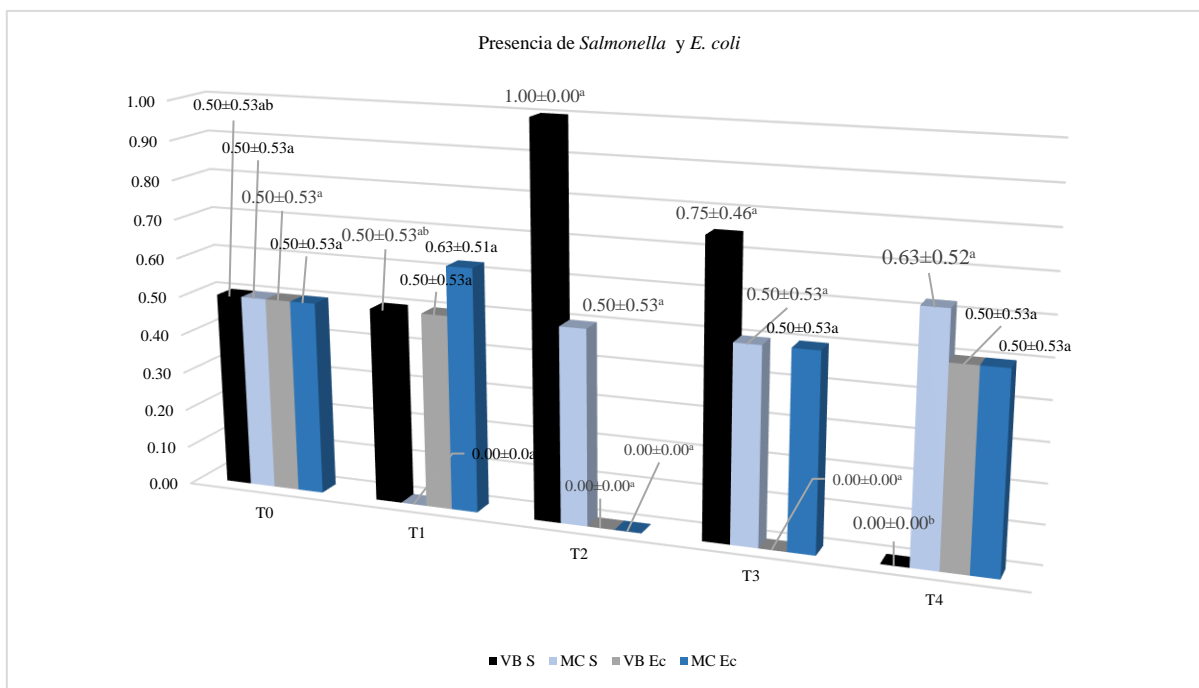
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapas I. Evaluar el riesgo de contaminación biológica presente en la cadena de producción primaria de maíz nativo azul (*Zea mays* L.) cultivado con Biol a base de heces de cerdo criollo (*Ts'udi xirgo*).

8.1. Contaminación biológica durante la germinación y tejido de plántulas de maíz

Se observó mayor porcentaje de presencia de colonias de *Salmonella* en medios Verde brillante 8.8%, tuvo un desarrollo en forma circular, con bordes enteros y ligeramente

irregulares con superficie lisa pigmentado de amarillo; MacConkey 6.8% con colonias de forma circular, superficie lisa, bordes enteros y ligeramente irregulares incoloros, también hubo presencia de *E. coli* predominando en MacConkey con 6.8% con colonias en forma circular, superficie lisa, ligeramente irregulares de consistencia mucoide, planas y pigmento rosa-fucsia; y en Verde brillante 4.8% aparecieron colonias de forma circular de color negro, con superficie lisa, borde entero y continuo (Cuadro 4), en el medio Salmonella-Shigella hubo cero presencia de estas bacterias. Estadísticamente al arrojar los datos en el programa jmp, se puede destacar la presencia de *Salmonella* en los tratamientos 2 y 3 en Verde brillante como se muestra en la Figura 5.



MC: MacConkey, VB: Verde Brillante, S: *Salmonella* y Ec: *E. coli*

Figura 5. Presencia de *Salmonella* y *E.coli* en plántula de maíz cultivado con Biol.

Etapa II. Determinar la calidad e inocuidad durante la cadena de producción de Biol a base de heces de cerdo criollo (Ts'üdi xirgo).

8.2. Evaluación del Biol en la cadena de producción

Los análisis microbiológicos realizados a las instalaciones de la granja demostraron que existe la presencia de bacterias coliformes en la producción del Biol. Esta respuesta se fundamenta con el aislamiento de estos organismos en las muestras recolectadas durante la producción del Biol a base de heces de cerdo, quienes encuentran las condiciones aptas para su reproducción, pH, temperatura y disponibilidad de nutrientes. De acuerdo con Quijano (2022), cuando existe abundante materia orgánica disponible, es sinónimo de una gran variedad de microorganismos, entre los que están los organismos patógenos; en este sentido podemos decir que en esta investigación se obtuvo un crecimiento de coliformes en todas las etapas del proceso para la producción de Biol, en particular se detectó la presencia de dos posibles bacterias gastrointestinales de la familia Enterobacteriácea (*Salmonella* spp. y

Escherichia coli). Siendo esta última una de las bacterias coliformes fecales de mayor importancia patógena para los humanos y animales (Casanovas et al. 2021), también *Salmonella* spp. presentó un elevado porcentaje de persistencia en las diferentes superficies inertes de la producción de Biol.

El Cuadro 2 se muestra cómo se desglosaron las muestras de la granja en cuatro secciones, Biodigestor, Personal, Jaulas y Alimentos, donde se observa mayor presencia de colonias de posible *Salmonella* sp. en medio de cultivo Verde Brillante (16.7%) en zonas importantes de la producción del Biol (biodigestor), también en jaulas y en las muestras tomadas del personal a cargo de la granja; y el crecimiento de posibles colonias de *Escherichia coli* fue más abundante en medios Eosina Azul de Metileno así como en Verde Brillante con 5.9% respectivamente, con mayor aparición en las muestras del biodigestor y jaulas. Se dice que son posibles estas bacterias ya que presentaron estructuras morfológicas típicas de organismos patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales en estos medios de cultivos específicos, presentándose en la tinción de gram bacilos gran negativos (cuadro 4) (BD HE agar, VB agar, MacC agar, EAM agar, 2013).

Cuadro 2. Pruebas microbiológicas durante el proceso de producción del Biol en medios de cultivos MacConkey, Eosina Azul de Metileno, Verde Brillante y Hektoen Entérico con 2 repeticiones.




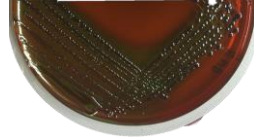

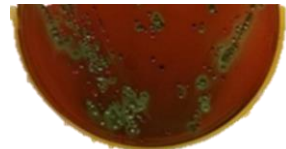
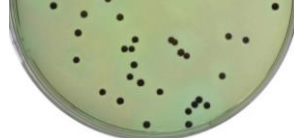
R	Muestra	<i>Salmonella</i> sp.				<i>Escherichia coli</i>			
		Mac	EAM	VB	HE	Mac	EAM	VB	HE
Biodigestor									
	1 Tanque de almacenamiento Paredes	0	1	1	0	0	1	0	0
	1 Tanque de almacenamiento Biol	1	1	1	0	0	0	1	0
	1 Entrada del biodigestor	1	1	1	0	0	1	0	0
	1 Salida del biodigestor	0	0	1	0	0	0	0	0
	1 Canaleta 1 Entradas de heces	0	1	1	1	0	0	1	1
	1 Canaleta 2 salida de heces	0	0	1	0	0	0	0	0
	1 Material de proceso de biodigestor	1	1	1	0	0	0	0	0
Jaulas									
	1 Jaula 1 Paredes	0	1	0	1	0	0	1	0
	1 Jaula 1 Comedero	0	1	0	0	0	0	1	0
	1 Jaula 1 bebedero	0	0	1	0	0	0	0	0
	1 Jaula 1 Heces	1	0	1	1	0	0	0	1
	1 Jaula 2 Paredes	1	0	1	0	0	0	0	0
	1 Jaula 2 Comedero	1	0	1	0	0	0	0	0
	1 Jaula 2 bebedero	1	0	1	0	0	1	0	0
	1 Jaula 2 Heces	1	1	1	1	0	0	0	1
Personal									
	1 Persona 1 Manos	0	0	0	0	0	0	1	0
	1 Persona 1 Calzado	0	1	1	0	0	1	0	0
	1 Persona 2 Manos	0	0	1	0	0	0	0	0

1 Persona 2 Calzado	0	1	1	0	0	0	0	0
1 Persona 3 Manos	0	0	1	0	0	0	0	0
1 Persona 3 Calzado	0	0	1	0	0	0	0	0
Alimento								
1 Agua 1	0	0	1	0	0	0	0	0
1 Agua 2	0	0	1	0	0	0	0	0
1 Alimento Lactancia	0	1	1	0	0	0	0	0
1 Alimento Inicio	0	1	1	0	0	1	1	0
1 Alimento Desarrollo	0	0	1	0	0	0	0	0
1 Alimento Engorda	0	0	1	0	0	0	0	0
Biodigestor								
2 Tanque de almacenamiento Paredes	0	1	1	0	0	1	0	0
2 Tanque de almacenamiento Biol	0	0	1	0	0	0	0	0
2 Entrada del biodigestor	0	1	1	0	0	1	1	0
2 Salida del biodigestor	0	1	0	0	0	1	0	0
2 Canaleta 1 Entradas de heces	0	1	0	1	0	1	0	1
2 Canaleta 2 salida de heces	0	1	0	0	0	1	0	0
2 Material de proceso de biodigestor	0	0	0	0	0	0	0	0
Jaulas								
2 Jaula 1 Paredes	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Jaula 1 Comedero	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Jaula 1 bebedero	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Jaula 1 Heces	0	1	0	1	0	0	1	1
2 Jaula 2 Paredes	1	0	0	1	0	0	1	1
2 Jaula 2 Comedero	0	0	0	1	1	0	0	1
2 Jaula 2 bebedero	1	0	0	1	0	0	0	1
2 Jaula 2 Heces	1	1	0	0	1	1	0	0
Personal								
2 Persona 1 Manos	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Persona 1 Calzado	0	0	1	0	0	0	0	0
2 Persona 2 Manos	0	0	1	0	0	0	1	0
2 Persona 2 Calzado	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Persona 3 Manos	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Persona 3 Calzado	0	0	0	0	0	0	0	0
Alimento								
2 Agua 1	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Agua 2	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Alimento Lactancia	0	0	0	0	0	0	0	0
2 Alimento Inicio	0	0	1	0	0	0	0	0
2 Alimento Desarrollo	0	0	0	0	0	0	0	0

2 Alimento Engorda	0	0	1	0	0	0	0	0
Suma	11	19	31	9	2	11	11	8
Total	54	54	54	54	54	54	54	54
% Presencia de microorganismos	5.9	10.3	16.7	4.9	1.1	5.9	5.9	4.3

R: repetición, Mac: MacConkey, EAM: Eosina Azul de Metileno, VB: Verde Brillante y HE: Hektoen Entérico. 1: Presencia y 0: Ausencia.

Cuadro 3. Características morfológicas típicas de las Colonias bacterianas

Medios específicos	Bacteria	Colonias bacterianas		
		Características ¹	Placa con crecimiento bacteriano a 37° C a 24h	Tinción Gram
Agar Mac Conkey	<i>Salmonella sp.</i>	Colonias circulares pequeños incoloras a color beige		<i>Salmonella sp.</i>
	<i>Escherichia coli</i>	colonias circulares grandes rojas con halo turbio		
Agar Verde Brillante	<i>Salmonella sp.</i>	Colonias circulares grandes gris claro a ámbar		Bacilo gram negativos, anaerobios facultativos, miden 0.3 μ x 1.0 a 6.0 μ, móviles
	<i>Escherichia coli</i>	Colonias circulares color negro azulado con brillo verde metálico		
Agar Eosina Azul de Metileno	<i>Salmonella sp.</i>	Colonias alargadas gris claro a ámbar		<i>Escherichia coli</i>
	<i>Escherichia coli</i>	Colonias alargadas de color negro azulado con brillo verde metálico		
Agar Hektoen Entérico	<i>Salmonella sp.</i>	Colonias circulares de color verde a azul verdoso con centro negro		Bacilos gram negativos, forma esporas, móviles, miden 0.5 μ de ancho

Escherichia coli

Colonias circulares grandes, color amarillo o salmón.



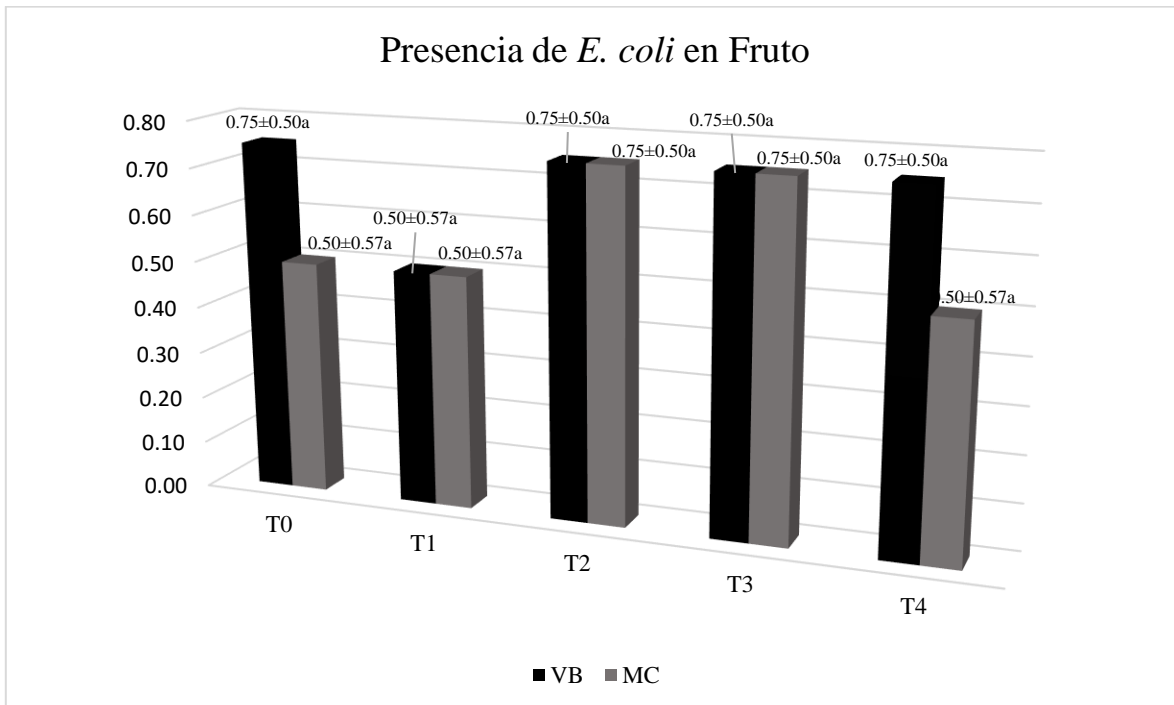
por 3 μ de largo.

¹: Forma, color, borde. (BD HE agar, VB agar, MacC agar, EAM agar, 2013)

Etapa III. Valorar el riesgo de contaminación biológica presente en la hoja y fruto de maíz nativo.

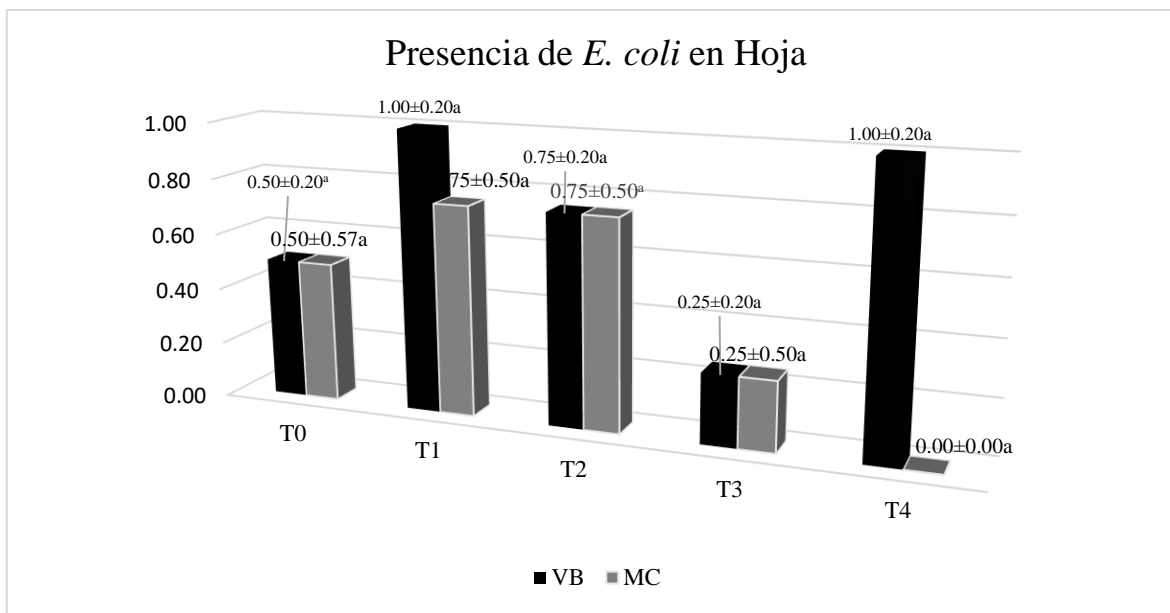
8.3. Análisis microbiológico de las estructuras vegetales de maíz

Se observaron mayor porcentaje de presencia de colonias con morfología típica de *E. coli* (Cuadro 4) en fruto (5.2%), en medios Verde Brillante (2.8%) y MacConkey (2.4%), colonizando en todos los tratamientos, sin tener diferencia significativa entre cada uno de ellos como se muestra en la Figura 6. En el tejido de la hoja de maíz también hubo presencia de *E. coli* con porcentaje total de 4.6%, en medios Verde Brillante (2.8%) y MacConkey (1.8%), teniendo mayor prominencia en los tratamientos T1 y T4 en Verde Brillante estadísticamente a pesar de tener las mismas letras Tukey (Figura 3). Cabe destacar que en medio Salmonella-Shigella hubo cero presencia de esta bacteria.



MC: MacConkey, VB: Verde Brillante

Figura 6. Presencia de *E. coli* en fruto de maíz



MC: MacConkey, VB: Verde Brillante

Figura 7. Presencia de *E. coli* en hoja de maíz

Las implicaciones de los factores externos dentro de la seguridad alimentaria crean afectaciones que ponen en riesgo la inocuidad de los alimentos, la existencia de colonias bacterianas con características morfológicas típicas de organismos patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales son riesgos de contaminación importantes que se pueden presentar en el desarrollo fenológico de las plantas de maíz, cuando la temperatura, pH y O₂ son favorables para su desarrollo (Guzmán et al, 2021) por lo cual es importante que el proceso de producción del Biol se mantenga en buenas condiciones, en especial el biodigestor, que herméticamente se encuentre estable para evitar presencia de O₂ que ayude o sea un factor para la proliferación y sobrevivencia de bacterias anaerobia (Alvarado 2022).

En el 2018, la OMS mencionó que los microorganismos que ocasionan mayor muertes a nivel global en humanos y animales de uso ganadero son las bacterias pertenecientes a los géneros *Salmonella* sp., *Campylobacter* sp., *Yersinia* sp., *E. coli* y *Enterococos*. Las poblaciones más afectadas de enfermedades gastrointestinales por bacterias coliformes de la familia Enterobacteriácea son mujeres embarazadas, niños <5 años, adultos mayores y personas con enfermedades crónicas (IMSS 2015), por lo tanto, la contaminación en tejido de maíz fertilizado con Biol a base de heces de cerdo representa un riesgo epidemiológico, al no realizar buenas prácticas de manejo durante la preparación del Biol.

IX. CONCLUSIONES

El riesgo de contaminación biológica por Enterobacterias presentes en maíz nativo (*Zea mays* L.) fertilizado con Biol a base de heces de cerdo criollo (Ts'üdi xirgo), es latente y puede repercutir en la salud del consumidor.

La calidad e inocuidad durante la cadena de producción de Biol a base de heces de cerdo criollo (Ts'üdi xirgo) debe ser analizada de manera recurrente por la presencia de microorganismos patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales.

El riesgo de contaminación biológica presente en la cadena de producción primaria de maíz nativo azul (*Zea mays* L.) cultivado con Biol a base de heces de cerdo criollo presenta puntos críticos de control, por la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. en las estructuras vegetales de plántula, V1, V2 y R.

X. BIBLIOGRAFÍA

Acosta L.G. 2020. Efecto antibacteriano in vitro de extracto de kion (*zingiber officinale*) en *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* en cerdos, Chachapoyas-Amazonas. Tesis para obtener el título profesional de ingeniera zootecnista. Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza De Amazonas.

Alvarado S.M. 2022. Desarrollo de un método multidiagnóstico para la detección de bacterias causantes de enfermedades gastrointestinales zoonóticas, en muestras de humanos y perros. Tesis. Requisitos para obtener el Diploma de la Maestría en Ciencias en Biomedicina. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Medicina. Maestría en Ciencias en Biomedicina.

Armas Y.L. 2016. Impacto de la inclusión de cerdaza como sustrato en la digestión anaerobia de purines. Tesis para la obtención de Ingeniero en Ambiente y Desarrollo. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras.

Cano, M. A. 2011. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. Colombia. 14(2):15-31. <https://doi.org/10.31910/rudca.v14.n2.2011.771>.

Cano M., Bennet A., Silva E., Robles S., Sainos U. y Castorena H. 2016. Caracterización de Bioles de la fermentación anaeróbica de excretas bovinas y porcinas. Agrociencia, 50(4), 471-479. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952016000400471&lng=es&t_lng=es.

Chavarri M., Rojas V., Rumbos N. y Narcise R. 2014. Detección de microorganismos en maíz tierno molido comercializado en Maracay, estado Aragua, Venezuela. Revista de la Sociedad venezolana de Microbiología, 34 (1): 33-37.

Chávez J. 2019. Identificación y evaluación de las poblaciones de microorganismos patógenos asociadas a la rizosfera en el cultivo de maíz, predio la Loma, Tlaxcala. Informe final de Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco. Ciudad de México.

Chávez I.F., Zelaya L.X., Cruz C.I., Rojas E., Ruíz S. y Santos S. 2020. Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para

la seguridad alimentaria en México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 11(6), 1423-1436.

De los Santos S., Robles R.I., Parra F. I., Larsen J., Lozano P. y Tiedaje J.M. 2019. *Bacillus cabrialesii* sp. nov., an endophytic plant growth promoting bacterium isolated from wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) in the Yaqui Valley, Mexico. Inter. J. Systematic Evol. Microbiol. 69(12):3939-3945. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003711>.

Escobar, R. A. 2018. Biodigestor anaeróbico para el tratamiento de las aguas residuales en la Planta de Tratamientos de la Cervecería Bucanero S.A Tesis de pregrado de la Facultad de Ingeniería Civil. Universidad de Holguín. Curso 2017-2018.

Food and Agriculture Organization Statistics. (2020). Recuperado de FAOSTAT: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/OCL>

Flores T. 2016. Guía de instrucciones para recolectar muestras de plantas enfermas con fines de diagnóstico fitopatológico. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina.

Gallo J.I. 2021. manejo de biol porcino obtenido por medio de biodigestor en Rionegro-Antioquia. Tesis para Ingeniero en Ambiente y Desarrollo en el grado académico de Licenciatura. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.

González T. S. 2019. Evaluación del efecto antagónico de hongos y bacterias contra hongos fitopatógenos de maíz (*Zea mays* L.). Tesis para obtener el título de Maestro en Ciencias en Biotecnología Aplicada. Instituto Politécnico Nacional. <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/27364>

González P. 2019. Consecuencias ambientales de la aplicación de fertilizantes. Asesoría Técnica Parlamentaria. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/27059/1/Consecuencias_ambientales_de_la_aplicacion_de_fertilizantes.pdf

Guzmán S.T.J., Ferro V.S.A., Bernal P.M.A., Diaz G.C.A. y Cala D.D.L. 2021. Salmonella sp., Campylobacter sp., E coli., bacterias que colocan en riesgo la seguridad alimentaria: revisión literaria. Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Ciencias de la Salud, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Bucaramanga. <https://repository.ucc.edu.co/items/e876a615-29e8-4dd7-909c-d63c01780b81>

Herrera V., Hernández O. A., González A. C., Nuñez A., Robles L. y Pérez R. 2015. Identificación de bacterias cultivables patógenas al humano en semicompostas de residuos agrícolas. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 6 (6): 1189-1201.

- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2014). Cadena de Valor de maíz forrajero en Centroamérica: Actores, problemas y acciones para su competitividad.
- Jacoby R., Peukert M., Succurro A., Koprivova A. y Kopriva, S. 2017. The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition -current knowledge and future directions. *Frontiers in Plant Science* 8:1-19. <http://doi.org/10.3389/fpls.2017.01617>.
- Mandal A., Sarkar B., Mandal, S., Vithanage M., Patra A. K. y Manna M. C. 2020. Impact of agrochemicals on soil health. In: agrochemicals detection, treatment and remediation. (Ed.). Kuhl, M. and Butterworth-Heinemann, L. (Ed.). Oxford. 161-187.
- Ministerio del Ambiente (MINAM). 2016. Servicio de consultoría para el análisis sobre organismos y microorganismos del aire y suelo del maíz. Perú. https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2018/07/ldb_maiz_organismosuelo_16.pdf
- Moreno A.L. y Cedillo C.J. 2018. Uso del estiércol porcino sólido como abono orgánico en el cultivo de maíz chala. *Anales Científicos*. 79 (2): 415-419.
- Navarrete M. R., Ocampo A., Rodríguez S., Mejía M. L., Moya S.L. y González M. G. 2016. Bacterias Fitopatógenas en Semillas: Su Detección y Regulación *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 32, núm. 2, 2014, pp. 75-88.
- OMS, 2018. Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos 2016. Organización Mundial de la Salud. World Health Organization. ISBN 978 92 4 350976 1 Subject headings are available from WHO institutional repository.
- Orozco R.D., Monroy D.M., Bustos M.J., Ocampo C.J., Barajas G.E. y Ramírez T.J. 2022. Estatus bacteriológico y calidad del agua de cultivo en granjas acuícolas ornamentales de Morelos, México. *Abanico veterinario*, 12, e2020-79. <https://doi.org/10.21929/abavet2022.25>
- [Pedraza G.J., Sanandres P.N., Valere S.Z., Aguirre H.E. y Camacho V.J. 2014. Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. herramientas moleculares para su detección. *Revista Salud Uninorte*, 30\(1\):73-94. http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v30n1/v30n1a09.pdf](http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v30n1/v30n1a09.pdf)
- Quezada A., Moreno M., León C., Nava C. y Solano A.R. (2017). Resistencia genética a *Sporisorium reilianum* f. sp. *zae* en líneas seleccionadas de maíz (*Zea mays* L.) con endospermo blanco y amarillo. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3), 534-548. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1705-2>

Quijano I.M.H., 2022. Fertilización química y biofertilización Biol en el rendimiento del cultivo de zanahoria (*Daucus carota* L.) var. Royal chantenay en independencia huaraz-2019. Tesis para optar el título de profesional de ingeniero agrónomo. Universidad nacional “Santiago Antunez de Mayolo”, facultad de ciencias agrarias: Escuela Académico Profesional de Agronomía.

https://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/5102/T033_4331508_2_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Ramírez D.E., Chipana R. y Echenique M.A. 2016. Aplicación de Biol y riego por goteo en diferentes cultivares de cañahua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) en la Estación Experimental Choquenaira. Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales, 3(1), 30-38.

Ramos, O., L. Vidal, S. Vilaridy y L. Saavedra. 2008. Análisis de la contaminación microbiológica (coliformes totales y fecales) en la Bahía de Santa Marta, Caribe Colombiano. Colombia 13:(3) 87-98.

Rodríguez P.A. 2021. Compatibilidad y tiempo de sobrevivencia de tres bacterias benéficas de uso agrícola (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus laterosporus*), en bioles. Tesis para obtención de título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Técnica de Ambato. Cevallos, Ecuador.

Rodríguez G.O., Armas F.C., y Pacaya C.G. 2021. Efectos de los fertilizantes químicos en el suelo por producción de arroz. Tarapoto: Universidad Peruana Unión.

Ruiz M.J., Ramallo G., Clello R., Villalobo C., Monteavarado C., Echeverría A. y Padola N.I. 2019. Diferentes métodos para aislamiento y detección de *Salmonella* spp. en canales porcinos. Rev. Colomb. Biotecnol. Vol. XX No. 2, 117 – 123.

Ruvalcaba J.M., Artiaga R.I., Domínguez G., Galindo A.J., Salazar G., Martínez M.D. y Delgado R.J. 2019. Uso de bacterias ácido lácticos para descontaminación de estiércol porcino mediante ensilaje experimental. Rev. Int. Contam. Ambie. 35 (1) 247-257, 2019.

Soberats J., Gonzalez I., González S. y Velázquez R. 2019. Valoración de la eficiencia ambiental en biodigestores a nivel territorial. Revista Holguin. 25 (3): 83-93.

Tello B. A. 2018. Evaluación del rendimiento de dos variedades de frijol al aplicar diferentes concentraciones de biol de cerdo como fertilizante orgánico. Tesis para Ingeniero en Ambiente y Desarrollo en el grado académico de Licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano, Honduras.
<https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/e11b1e23-e395-4d27-bfa5-73a2037d4e63/content>

Uribe T.B., Silva H.V., Mendoza L.E., Velázquez C. y Rebollar Á. (2020). Identificación

de especies de *Fusarium* aisladas de semillas sintomáticas y asintomáticas de maíz con base en el gen TEF-1 α . Revista Fitotecnia Mexicana, 43(1), 79-88. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.1.79>

Valenzuela B., Parra F.I., Santoyo G., Arellano G.L. y De los Santos S. 2019. Plant-assisted selection: a promising alternative for *in vivo* identification of wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*) growth promoting bacteria. Plant Soil. 435(1):367-384. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-03901-1>