

Identificación genética-molecular de microorganismos en silos de maíz nativo

Genetic-molecular identification of microorganisms in native maize silage

Ricardo Serna-Lagunes ^{1,5}, José Luis del Rosario-Arellano ^{1,6}, Felipe Jesús García-Juárez ^{1,7}, Pablo Andrés-Meza ^{1,8}, Otto Raúl Leyva-Ovalle ^{1,9}, Viridiana Borbonio-Fernández ^{1,10}, Juan Salazar-Ortiz ^{12,11}, Gregorio Hernández-Salinas ^{13,12}, Juan del Rosario-Arellano ^{14,13}.

¹Universidad Veracruzana. Veracruz, México. ²Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. ³Instituto Tecnológico Superior de Zongolica. Veracruz, México. ⁴Universidad Interserrana del Estado de Puebla. Puebla, Chilchotla, México. ⁵ rserna@uv.mx; ⁶ jdelrosario@uv.mx; ⁷ zs18004478@estudiantes.uv.mx; ⁸ pandres@uv.mx; ⁹ oleyva@uv.mx; ¹⁰ gs19006041@egresados.uv.mx; ¹¹ salazar@colpos.mx; ¹² gregorio_hs@zongolica.tecnm.mx; ¹³ juan_rosario@uich.edu.mx



DOI: <https://doi.org/10.15446/acag.v73n4.121618>

2024 | 73-4 p 412-419 | ISSN 0120-2812 | e-ISSN 2323-0118 | Rec.: 2025-07-16 Acep.: 2025-11-22

Resumen

La identificación de microorganismos en ensilado de maíz (*Zea mays* L.) nativo de México es importante como indicador de inocuidad. El objetivo del estudio fue describir los microorganismos presentes durante el proceso de ensilado de 3 variedades de maíz: criollo carrillo puerto, crema carrillo puerto y criollo Amatlán. Se realizaron aislamientos bacterianos y fungos en cajas Petri con diferentes medios de cultivo, de los 10 silos de cada variedad, a partir de muestreos semanales. Para el caso de bacterias, se amplificó la subunidad pequeña del μ DNA con los iniciadores de amplificación (8F/1492R) y secuenciación (518F/800R) mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR); y para el caso de hongos se amplificó mediante PCR el espacio transcrito interno del μ DNA con los iniciadores de amplificación y secuenciación (ITS5/ITS4). En el GenBank se identificó la cantidad de bases, el porcentaje de cobertura y la identidad. Con las secuencias se construyó un árbol filogenético para establecer las relaciones genéticas usando el software *Molecular Evolutionary Genetics Analysis*. Los microorganismos genéticamente identificados se agruparon en el árbol filogenético como: hongos (*Penicillium steckii* y *Aspergillus nonius* con *Meyerozyma guilliermondii*), lactobacilos (*Levilactobacillus brevis* 1 y 2 con mutación) y un complejo parasitario (*Pichia occidentalis*), los cuales formaron grupos independientes. La presencia de los microorganismos en los silos de maíz nativo evaluados, podrían representar un riesgo de inocuidad, que se disminuye al deshidratar el silo antes de ofrecerse como alimento al ganado.

Palabras clave: complejo parasitario, espacio transcrito interno del μ DNA; hongos, lactobacilos.

Abstract

Identifying the microorganisms in native Mexican corn silage is important for safety indicator. The objective of this study was to describe the microorganisms present during the ensiling process of 3 corn varieties: Criollo Carrillo Puerto, Crema Carrillo Puerto, and Criollo Amatlán. Bacterial and fungal isolates were obtained from 10 silos of each variety in Petri dishes containing various culture media based on weekly samples. The small subunit of μ DNA was amplified using polymerase chain reaction (PCR) with amplification primers (8F/1492R) and sequencing primers (518F/800R) for bacteria, and the internal transcribed spacer of μ DNA was amplified using PCR with amplification and sequencing primers (ITS5/ITS4) for fungi. The number of bases, percentage coverage, and identity were identified in GenBank. A phylogenetic tree was constructed from the sequences using *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* software to establish genetic relationships. The genetically identified microorganisms were grouped 3 categories: fungi (*Penicillium steckii* and *Aspergillus nonius* with *Meyerozyma guilliermondii*), lactobacilli (*Levilactobacillus brevis* 1 and 2, which have mutations), and a parasitic complex (*Pichia occidentalis*). The presence of these microorganisms in the evaluated native corn silos represents a food safety risk, which can be mitigated by dehydrating the silo before feeding it to livestock.

Keywords: Internal transcribed space of μ DNA; food security; fungi; lactobacilli; parasitic complex.

Introducción

El ensilado es un proceso de conservación y manejo de cultivos para la alimentación del ganado en época de estiaje; los cultivos más utilizados son leguminosas y gramíneas, especialmente alfalfa (*Medicago sativa* L.), soya (*Glycine max* L.), trigo (*Triticum* spp.) y maíz (*Zea mays* L.) (Keady y Hanrahan, 2021). El ensilado es el producto obtenido de la fermentación de residuos de estos cultivos, y se caracteriza principalmente por la condición anaeróbica, donde bacterias ácido-lácticas fermentan los azúcares (glucosa y fructosa) hasta la formación de una mezcla de ácidos, entre los que predomina el láctico y acético (Morand y Balbi, 2020).

Por otra parte, en los ensilados se ha reportado una amplia diversidad de microorganismos, los cuales pueden ser divididos en dos grupos: los microorganismos benéficos y los indeseables (Zhang et al., 2025). Entre los microorganismos benéficos destacan las bacterias ácido-lácticas (BAC), principalmente del género *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*.

Los microorganismos indeseables son aquellos que causan el deterioro anaeróbico del ensilado, como los del género *Clostridium* (bacterias Gram positivas), productores de toxinas (*Clostridium botulinum*, que produce botulismo; *C. tetani*, que causa tétanos; *C. difficile*, asociada a diarrea); y enterobacterias de la familia Enterobacteriaceae, que son especies de bacterias Gram negativas con alta patogenicidad (*Escherichia coli*, causantes de diarreas y sepsis; *Salmonella enterica*, responsable de salmonelosis), o causantes de deterioro aeróbico, como levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), bacilos (*Bacillus subtilis*), *Listeria* spp. y mohos (*Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp.) que pueden, o no, tener potencial de uso biotecnológico (Panahiha et al., 2022; Liu et al., 2024).

Los estudios donde se han implementado técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la secuenciación de regiones conservadas del rDNA, tienen como objetivo el identificar microorganismos en ensilados de maíz y determinar su presencia posterior a la exposición del ensilado al aire libre (Hu et al., 2018); otros estudios determinan, a partir de regiones genéticas, la comunidad de microorganismos presentes en ensilados frescos de maíz (Bernardi et al., 2019). Esta biotecnología innovadora se considera una herramienta molecular novedosa en la identificación genética de especies, en el conocimiento de la interacción ecológica de estos microorganismos en los procesos de ensilaje del maíz (McAllister et al., 2018) y en la comprensión del proceso de sucesión y el establecimiento del rol ecológico de las comunidades microbianas ante condiciones aeróbicas/anaeróbicas en ensilados de maíz (Guan et al., 2021).

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue describir los tipos de microorganismos presentes durante el proceso de ensilado de 3 variedades de maíz nativo: criollo carrillo puerto, crema carrillo puerto y criollo Amatlán, mediante secuenciación y PCR. Los resultados generados en este estudio pueden transferirse a productores a través de cursos y talleres para su capacitación en técnicas eficientes e higiénicas para conservar forraje de calidad y con inocuidad, y que este sea ofrecido al ganado sin que se vea afectado su proceso ruminal.

Metodología

Ubicación del sitio de estudio

El ensayo se estableció en los terrenos experimentales de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Veracruzana, México; ubicados a los 18.854361LN; -96.903191LO y a una elevación de 729 m s. n. m.

Para el estudio, se cultivaron 3 variedades de maíz nativo de la región centro de Veracruz: 1) criollo carrillo puerto, 2) crema carrillo puerto y 3) criollo Amatlán, las cuales forman parte del proyecto "Productividad de maíces nativos de la zona centro de Veracruz, para un programa de mejoramiento genético" (Figura 1).

La parte vegetativa fresca de 2 meses de edad de la planta de maíz de cada variedad se trituró en partículas de 1-2 cm, las cuales se colocaron en 10 bolsas de polietileno negro (50 x 50 cm), que generaron un microensilado (sin presencia de oxígeno, es decir, anaerobio). El proceso de ensilado se desarrolló durante el periodo de verano del año 2023, a una temperatura ambiente de 26 °C y humedad relativa del 45 %. Se hicieron muestreos para observar colonias durante el desarrollo de los ensilados, las cuales que se aislaron en 3 medios de cultivo: 1) PDA (agar de papa y dextrosa) para el desarrollo de hongos y levaduras, 2) MRS (man, rogosa y sharpe) para el crecimiento de lactobacilos y 3) agar bilis y rojo violeta para coliformes.

Extracción de DNA, secuenciación e identificación genético-molecular por PCR

De las colonias puras de lactobacilos, coliformes, hongos y levaduras, se realizó la extracción de DNA con el método de CTAB al 2 %. Para el caso de bacterias, se amplificó la subunidad pequeña del rDNA con los iniciadores de amplificación 8F/1492R y secuenciación 518F/800R. Mientras que, para el caso de hongos, se amplificó el espacio transcrito interno del rDNA con los iniciadores de amplificación y secuenciación ITS5/ITS4. Las condiciones del ciclo de PCR fueron las siguientes: desnaturalización inicial

Mapa de Ubicación: FCBA Universidad Veracruzana

Carrera Peineulas Amalán Kilómetro 177, 94500 Coróba, Ver.

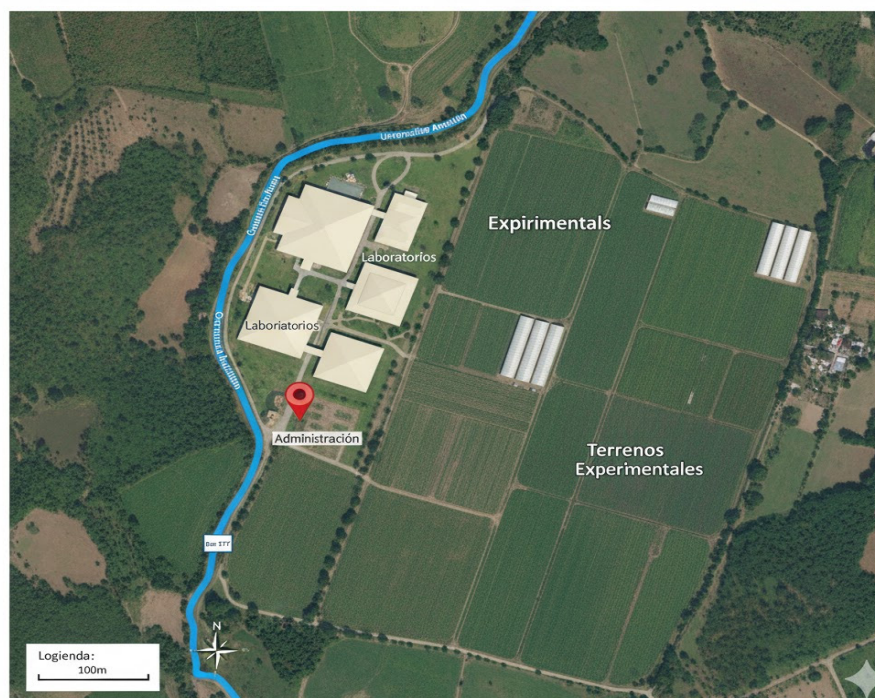


Figura 1. Ubicación de los cultivos de 3 variedades de maíz nativo de la región centro de Veracruz en los terrenos experimentales de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.

a 95 °C durante 3 min; 27 ciclos de 95 °C durante 30 s; 55 °C durante 30 s; 72 °C durante 45 s; y una extensión final a 72 °C durante 10 min.

Cada mezcla de reacción de PCR tuvo un volumen total de 20 µL, que consistió en 4.0 µL de tampón; 2 µL de mezcla de desoxinucleósido trifosfato (2.5 mM cada una); 0.4 µL de ADN polimerasa; 10 ng de ADN molde; 0.8 µL del iniciador *forward* (5 µM); 0.8 µL del iniciador *reversa* (5 µM); 0.2 µL de albúmina de suero bovino; y el restante de H₂O bidestilada. Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 5 % y las amplificaciones fueron secuenciadas mediante la técnica de Sanger (Valencia *et al.*, 2013). Con el objetivo de ejemplificar la metodología, se realizó un diagrama del proceso en Google Gemini IA (Figura 2).

La identificación genética de las secuencias se realizó mediante comparación en la base de datos del GenBank usando el algoritmo Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), con las que se estimó la cantidad de bases, el porcentaje de cobertura y la identidad. Asimismo, los nombres de las bacterias y hongos mencionados en los resultados se validaron en las bases de datos List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature (LPSN, <https://www.bacterio.net/>) y MYCOBANK Database (2025) (<https://www.mycobank.org/>).

Las secuencias fueron alineadas con el algoritmo ClustalW, y con el alineamiento se estimaron los sitios conservados (C); sitios altamente variables (V); sitios altamente parsimoniosos e informativos (Pi); y la composición proporcional de nucleótidos que contienen las secuencias. Posteriormente, se probaron 24 modelos de sustitución de nucleótidos para determinar la evolución molecular de las secuencias de los microorganismos; se utilizó el criterio de información bayesiana (BIC) para considerar el ajuste de las secuencias al patrón de sustitución de nucleótidos.

Para cada modelo, se obtuvo el criterio de información de Akaike (AIC) mediante *Maximum Likelihood* (Nei y Kumar 2000; Tamura *et al.*, 2021). Asimismo, se construyó un árbol filogenético con el algoritmo *Maximum Likelihood* y 1000 repeticiones *bootstrap* para establecer las relaciones genéticas entre las bacterias y los hongos identificados. Estos procedimientos se implementaron en el software *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* versión 11 (MEGA11) (Tamura *et al.*, 2021).

Resultados

Al comparar en GenBank las secuencias obtenidas en las colonias de microorganismos de los microensilados de maíz nativo evaluados en este estudio, se identificaron mediante características moleculares a

5 especies, en los 10 microsilos de 3 variedades de maíz nativo (Tabla 1). La cobertura de identificación de las secuencias comparadas en el GenBank cubrió entre el 99 y 100 % de identidad en la mayoría de los casos y con un alto puntaje, resultados confirmatorios que fueron determinados por la homología genética.

La longitud promedio de las secuencias de las 5 especies de microorganismos analizadas fue de 904 bases, y la secuencia más larga fue de 1569 bases. Es importante señalar que las secuencias presentaron 235 sitios conservados (15 %), es decir, son segmentos de la secuencia genética que permanecen prácticamente sin cambios a lo largo de la evolución de las diferentes especies, y pueden deberse a la estabilidad evolutiva, porque pueden ser regiones fundamentales que regulan procesos biológicos importantes.

Por su parte, las secuencias presentaron 1318 sitios altamente variables (85 %), que son regiones donde la secuencia de nucleótidos cambia debido a regiones no codificantes, como intrones o secuencias intergénicas. Otro dato importante que aportaron las secuencias fueron 411 sitios parsimoniosamente informativos (26 %), que son los que aportan información útil para construir el flujograma entre las especies.

La mayor proporción de nucleótidos fue para las guaninas (28.1 %), seguido las adeninas (25.3 %), citocinas (23.6 %) y las timinas (22.8 %), lo que significa que la composición de las bases nitrogenadas no es uniforme y se debe a la variación de bases entre especies; también indica que la proporción GC suele ser más estable puesto que los pares de G-C están consolidados por 3 enlaces de hidrógeno, y pertenecen a islas de genes de zonas reguladoras ricas en GC (Tabla 2).

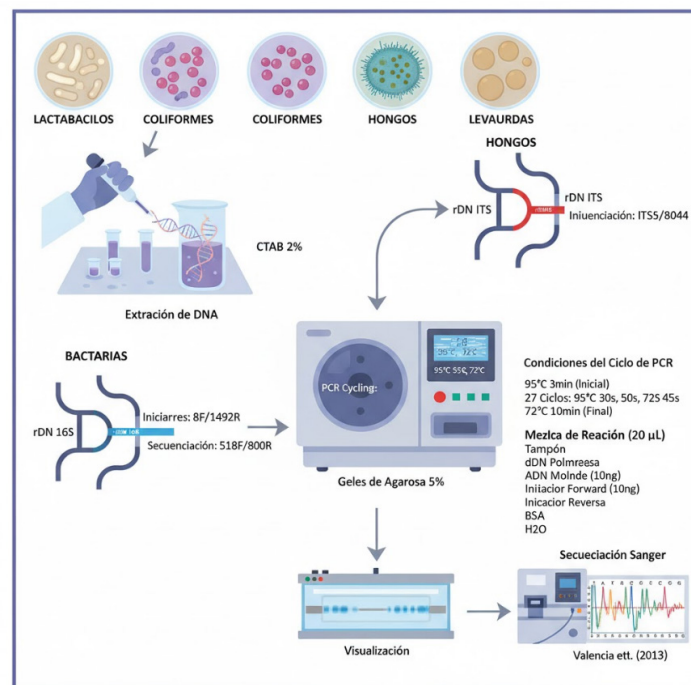


Figura 2. Diagrama de proceso de extracción de ADN y secuenciación molecular por PCR de microorganismos presentes en microensilados de maíz nativo.

Tabla 1. Identificación de secuencias de microorganismos presentes en microsilos de 3 variedades de maíz nativo mediante BLAST en el GenBank

| Muestra | Especie identificada | Bases | Cobertura% | Identidad | Máximo puntaje |
|---------|-----------------------------------|-------|------------|-----------|----------------|
| 5-7 | <i>Levilactobacillus brevis</i> 1 | 1553 | 0.99 | 1 | 14 307 |
| 9-5 | <i>L. brevis</i> 2 | 1569 | 0.99 | 0.9994 | 14 341 |
| 3-2 | <i>Penicillium steckii</i> | 621 | 1 | 0.9984 | 1142 |
| 7-7 | <i>Pichia occidentalis</i> | 458 | 0.99 | 1 | 839 |
| 4-7-1 | <i>Aspergillus nonius</i> | 604 | 1 | 1 | 1116 |
| 4-7-2 | <i>Meyerozyma guilliermondii</i> | 619 | 0.99 | 1 | 1146 |

De acuerdo con el análisis de los 24 modelos de sustitución de nucleótidos para evaluar el ajuste de las secuencias de los microorganismos aislados de los microensilados de maíz nativo, el modelo el Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) fue el que presentó un menor criterio de información bayesiana (BIC) y un menor criterio de información de Akaike (AICc); este modelo evalúa las frecuencias desiguales de

Tabla 2. Características nucleotídicas de las secuencias de los microorganismos presentes en silos de maíz nativo de México

| Microorganismos | T | C | A | G | Total |
|-----------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| <i>Levilactobacillus brevis</i> | 21.95 | 22.08 | 26.27 | 29.68 | 1553 |
| <i>Levilactobacillus brevis</i> 2 | 22.17 | 21.98 | 26.32 | 29.50 | 1569 |
| <i>Penicillium steckii</i> | 20.61 | 30.43 | 20.12 | 28.82 | 621 |
| <i>Aspergillus nomius</i> | 21.35 | 29.47 | 20.69 | 28.47 | 604 |
| <i>Meyerozyma guilliermondii</i> | 30.59 | 19.80 | 27.21 | 22.38 | 621 |
| <i>Pichia occidentalis</i> | 22.27 | 23.14 | 29.47 | 25.10 | 458 |
| Promedio | 22.81 | 23.66 | 25.34 | 28.17 | 904.33 |

T= timinas; C= citocinas; A= adeninas; G= guaninas.

los nucleótidos y distingue una mayor tasa de transiciones que las transversiones, lo que significa que, en la evolución molecular, los cambios en las bases del mismo tipo ocurren con más frecuencia que los cambios entre tipos diferentes de bases (Tabla 3).

Los microorganismos genéticamente identificados mediante sus características moleculares, de acuerdo con el flujograma de relaciones evolutivas, se agruparon conforme con su similitud, con soporte de nodos del 100 %; los hongos filamentosos como *Penicillium steckii* y *Aspergillus nomius* se agruparon con *Meyerozyma guilliermondii*, lo que indica que son muy cercanos entre sí; mientras que lactobacilos como *Levilactobacillus brevis* 1 y 2 formaron un grupo independiente con 2 cepas muy similares. Su diferencia se debe a una mutación: igual que *Pichia occidentalis*, al ser un complejo parasitario, se conformó como un grupo independiente, y al ser el más distante del resto, se considera como un grupo basal, ya que la distancia más larga en las ramas del flujograma indica el mayor número de cambios (mutaciones) y, por lo tanto, están más lejanas en cuanto a sus diferencias nucleotídicas (Figura 3).

Tabla 3. Modelos de sustitución de nucleótidos para probar la evolución molecular de las secuencias de microorganismos presentes en silos de maíz nativo de México

| Modelo | Parámetro | BIC | AICc | lnL | Freq A | Freq T | Freq C | Freq G |
|----------|-----------|-----------|-----------|----------|--------|--------|--------|--------|
| HKY | 13 | 15 110.68 | 15 024.96 | -7499.44 | 0.253 | 0.228 | 0.2366 | 0.281 |
| JC | 9 | 15 119.31 | 15 059.95 | -7520.96 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| HKY+G | 14 | 15 119.50 | 15 027.19 | -7499.55 | 0.253 | 0.228 | 0.236 | 0.281 |
| T92 | 11 | 15 120.08 | 15 047.54 | -7512.74 | 0.240 | 0.2407 | 0.259 | 0.259 |
| K2 | 10 | 15 120.26 | 15 054.31 | -7517.13 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| TN93 | 14 | 15 122.49 | 15 030.18 | -7501.05 | 0.253 | 0.228 | 0.236 | 0.281 |
| HKY+I | 14 | 15 124.92 | 15 032.61 | -7502.26 | 0.253 | 0.228 | 0.236 | 0.281 |
| JC+I | 10 | 15 127.19 | 15 061.24 | -7520.60 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| JC+G | 10 | 15 127.86 | 15 061.91 | -7520.93 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| TN93+G | 15 | 15 128.16 | 15 029.27 | -7499.59 | 0.253 | 0.228 | 0.236 | 0.281 |
| K2+G | 11 | 15 128.98 | 15 056.44 | -7517.20 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| T92+G | 12 | 15 130.97 | 15 051.84 | -7513.89 | 0.240 | 0.240 | 0.259 | 0.259 |
| TN93+I | 15 | 15 132.87 | 15 033.97 | -7501.94 | 0.253 | 0.2281 | 0.236 | 0.281 |
| HKY+G+I | 15 | 15 133.05 | 15 034.15 | -7502.03 | 0.253 | 0.228 | 0.236 | 0.281 |
| JC+G+I | 11 | 15 134.39 | 15 061.85 | -7519.9 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| K2+I | 11 | 15 134.58 | 15 062.04 | -7519.99 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| GTR | 17 | 15 135.51 | 15 023.44 | -7494.66 | 0.253 | 0.228 | 0.2366 | 0.281 |
| T92+I | 12 | 15 136.26 | 15 057.13 | -7516.53 | 0.240 | 0.2407 | 0.2592 | 0.259 |
| TN93+G+I | 16 | 15 141.09 | 15 035.61 | -7501.75 | 0.253 | 0.228 | 0.2366 | 0.281 |
| K2+G+I | 12 | 15 142.63 | 15 063.50 | -7519.72 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| GTR+I | 18 | 15 144.12 | 15 025.47 | -7494.67 | 0.253 | 0.228 | 0.2366 | 0.281 |
| T92+G+I | 13 | 15 144.42 | 15 058.70 | -7516.32 | 0.2407 | 0.240 | 0.2592 | 0.259 |
| GTR+G | 18 | 15 148.20 | 15 029.54 | -7496.71 | 0.253 | 0.228 | 0.23 | 0.281 |
| GTR+G+I | 19 | 15 153.48 | 15 028.24 | -7495.05 | 0.253 | 0.228 | 0.236 | 0.281 |

Discusión

La evaluación de bacterias ácido-lácticas de silos de maíz en otros estudios ha identificado la presencia de *Levilactobacillus buchneri*, *L. brevis* y *L. fermentum* (Okoye et al., 2023), una cantidad y diversidad de especies diferentes a las reportadas en este estudio. Por otra parte, la presencia de microorganismos fúngicos como *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp. en ensilado de maíz adicionado con una fuente proteica, se relaciona con un aumento en la cantidad de microorganismos, lo que demuestra que, independientemente de adicionar alguna fuente proteica, la presencia y diversidad de microorganismos puede variar (Panahiha et al., 2022).

Las especies de microorganismos registrados en los microsilos de maíz nativo tienen un riesgo de patógeno potencial de muy bajo, bajo, oportunista y, en el caso de *A. nonius*, se consideran algunas especies con riesgo patógeno, lo que es indicador que calidad e inocuidad en el ensilado del forraje de maíz nativo que se evaluó en este estudio (Tabla 4). En tal sentido, esta biotecnología se puede transferir a productores

de la región centro de Veracruz mediante cursos de capacitación, talleres, asistencia técnica o a través de un proyecto para la producción de forraje derivado del cultivo de maíz nativo en alta densidad, su ensilado y su ofrecimiento al ganado bovino y ovino, ya que la presencia de microorganismos presenta un indicador de muy bajo a bajo riesgo de cepas patógenicas, lo cual incrementaría la productividad de los hatos ganaderos. Las características de estas especies de microorganismos fueron revisadas en la literatura, como fue su clasificación, hábitat, aplicaciones biotecnológicas y riesgo patógeno (Tabla 4), lo cual permite explicar las relaciones ecológicas y evolutivas entre estas especies de microorganismos que interactúan ante condiciones anaerobias de los ensilados de maíz nativo evaluados en este estudio.

Los microorganismos reportados con mayor frecuencia en silos de maíz son aerobios, como, por ejemplo, estafilococos, enterobacterias, mohos, levaduras y, finalmente, clostridios, cuya presencia varía en función del tipo de silo (Fernández-Lorenzo et al., 2008), no se encontraron en los silos de maíz nativo evaluados en este estudio. Por ejemplo,

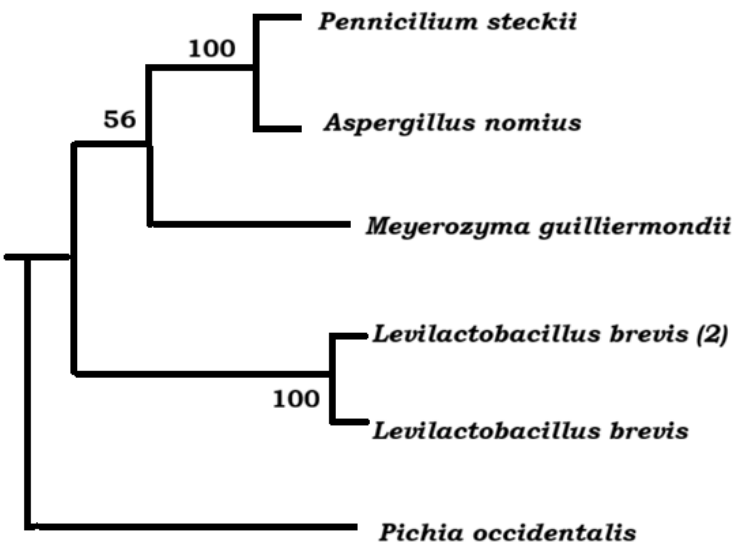


Figura 3. Flujograma de relaciones genéticas entre microorganismos presentes en silos de 3 variedades de maíz nativo elaborado en el software Molecular Evolutionary Genetics Analysis (versión 11), mediante el modelo de evaluación de nucleótidos Hasegawa-Kishino-Yano (HKY).

Tabla 4. Características biológicas de los microorganismos presentes en microensilados de maíz nativo

| Microorganismo | Clasificación | Hábitat | Aplicaciones biotecnológicas | Riesgo patógeno |
|--------------------------|----------------------------------|--|--|----------------------------|
| <i>P. steckii</i> | Hongo filamentoso (Ascomycota) | Ambientes marinos y terrestres | Producción de metabolitos bioactivos (antibacterianos) | Bajo |
| <i>A. nonius</i> | Hongo filamentoso (Ascomycota) | Suelo, materia orgánica en descomposición | Fermentación industrial, producción de enzimas | Algunas especies patógenas |
| <i>M. guilliermondii</i> | Levadura (Ascomycota) | Piel humana, alimentos, ambientes naturales | Fermentación, producción de lípidos, biocombustibles | Oportunista |
| <i>L. brevis</i> | Bacteria Gram+ (Lactobacillales) | Alimentos fermentados, microbiota intestinal | Probiótico, fermentación de vegetales y bebidas | Muy bajo |
| <i>P. occidentalis</i> | Levadura (Saccharomycetales) | Ambientes vegetales y fermentativos | Producción de ácidos orgánicos, biosurfactantes | Bajo |

inóculos de bacterias productoras de ácido láctico en el ensilaje de gramíneas tropicales presentaron un mayor consumo voluntario de ensilado de maíz en comparación con el consumo de heno de distintas gramíneas (Rosario *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2014).

Esto indica que el silo de maíz es preferido por la alta palatabilidad para rumiantes, por lo que se le considera una alternativa de conservación del forraje (Santos *et al.*, 2016). El tipo de ensilado utilizado en este estudio es una técnica de conservación de forraje que puede replicarse, ya que, aunque no se evaluó en este estudio, tiene una excelente aceptación y palatabilidad por el ganado (Martínez-Ávalos *et al.*, 2008), ya que con éste método de conservación de forraje mediante fermentación anaeróbica permite reducir el pH, lo que a su vez evita la putrefacción del material, y permite mantener el valor nutricional en la parte vegetativa del maíz conservado en el ensilado para ser ofrecido al ganado durante la época de estiaje.

Al comparar los resultados obtenidos con los encontrados en otros países, estos cumplen con los criterios que se buscan en un ensilado: a) materia seca entre 30-35 %; b) la variación en el tamaño de la partícula no influye o no tiene un efecto en el contenido bromatológico; c) fermentación rápida para evitar la proliferación de microorganismos indeseados; y d) pH: 3.5 a 6. Estos criterios generaron ventajas en el ensilado de maíz nativo, como es la alta energía y palatabilidad por contenido de almidón y la conservación de nutrientes bromatológicos sin pérdida significativa en un periodo de 6-8 meses, lo que genera un proceso de mecanización cuyo destino es la dieta para rumiantes.

Las razas de maíz nativo evaluadas en este estudio presentaron un comportamiento morfo-agronómico similar a otras variedades de maíz nativo utilizadas para forraje, como las razas tuxpeño norteño x ratón (variedad V-402), ratón x tuxpeño y tuxpeño norteño x elotes occidentales, cultivadas en suelos de condiciones subtropicales, y que han presentado características bromatológicas ideales para la alimentación animal, como el contenido de fibra detergente neutra (FDN= 57.4 %) y fibra detergente ácida (FDA= 26.6 %); además, presentan mayor rendimiento por hectárea y aportan energía por el almidón (Joaquín-Cancino *et al.*, 2022).

En las 3 variedades de maíz nativo se encontró la presencia de una comunidad de microorganismos con similitudes genético-moleculares; por lo tanto, no hubo diferencia entre la presencia de estos en las variedades de maíz nativo, condición que se presenta cuando existe heterogeneidad en las condiciones ambientales durante y posterior al proceso maduración de ensilaje (Ramírez-Vega *et al.*, 2020). Estudios futuros deberían describir las características fisicoquímicas del ensilado de maíz y su relación con la presencia de los microorganismos,

ya que, si las diferentes variedades de maíz nativo presentan similitud en sus características fisicoquímicas, eso quizá pueda explicar la similitud en la presencia de la comunidad de microorganismos (Gharechahi *et al.*, 2017).

Conclusiones

Los microorganismos genéticamente identificados se agruparon en el árbol filogenético como: hongos (*Penicillium steckii* y *Aspergillus nonius* con *Meyerozyma guilliermondii*), lactobacilos (*Levilactobacillus brevis* 1 y 2 con mutación) y un complejo parasitario (*Pichia occidentalis*), que formaron grupos independientes. La presencia de estos microorganismos en los silos de maíz nativo evaluados representa un riesgo de inocuidad, el cual disminuye al deshidratar el silo antes de ofrecerse como alimento al ganado, por ello, el uso de la parte vegetativa de las plantas de maíz nativo es viable para producir forraje para alimentación animal.

Referencias

- Bernardi, A.; Härter, C. J.; Silva, A. W.; Reis, R. A. y Rabelo, C. H. (2019). A meta-analysis examining lactic acid bacteria inoculants for maize silage: Effects on fermentation, aerobic stability, nutritive value and livestock production. *Grass and Forage Science*, 74(4), 596-612.
- Fernández-Lorenzo, B.; Barreal, M. L.; Flores, G.; González-Arráez, A.; Valladares, J.; Pereira, S. y Carelle, M. (2008). Efecto de la fecha de cosecha y el uso de inoculantes sobre la calidad fermentativa, la estabilidad aeróbica y la calidad higiénica en ensilados de maíz. *Producción Vegetal*, 337-345. <https://www.ciam.gal/uploads/publicacions/676archivo.pdf>
- Gharechahi, J.; Kharazian, Z. A.; Sarikhan, S.; Jouzani, G. S.; Aghdasi, M. y Hosseini Salekdeh, G. (2017). The dynamics of the bacterial communities developed in maize silage. *Microbial Biotechnology*, 10(6), 1663-1676. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12751>
- Guan, H.; Ran, Q.; Li, H. y Zhang, X. (2021). Succession of microbial communities of corn silage inoculated with heterofermentative lactic acid bacteria from ensiling to aerobic exposure. *Fermentation*, 7(4), 258. <https://doi.org/10.3390/fermentation7040258>
- Hu, Z.; Chang, J.; Yu, J.; Li, S. y Niu, H. (2018). Diversity of bacterial community during ensiling and subsequent exposure to air in whole-plant maize silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(9), 1464-1473. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0860>
- Joaquín-Cancino, S.; Rocandio-Rodríguez, M.; Álvarez-Vázquez, P.; Hernández-Guzmán, F. J.; Limas-Martínez, A. G. y Garay-Martínez, J. R. (2022). Rendimiento y valor nutritivo del forraje y ensilado de maíces nativos en condiciones subtropicales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(5), 873-881. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i5.3231>
- Keady, T. W. J. y Hanrahan, J. P. (2021). Effects of grass and maize silage feed value, offering soybean meal with maize silage, and concentrate feed level in late pregnancy, on ewe and lamb performance. *Animal*, 15(1), 100068. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2020.100068>

- Liu, X.; Li, D.; Liu, Q.; Yang, B.; Wang, X.; Zhang, Y.; Niu, Y.; Yang, Ch. y Zhang, Y. (2024). Honeysuckle branches and lactobacillus enhance quality by changing the composition and diversity of microorganisms in alfalfa silage fermentation. *Heliyon*, 10(22), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40013>
- Martínez-Ávalos, A. M. M.; Mendoza-Martínez, G. D.; González-Muñoz, S.; Gómez-Vázquez, A.; Estrada-Botello, M.; de la Cruz-Lázaro, E.; Cruz-Hernández, A.; Brito-Manzano, N. P. y Pinos-Rodríguez, J. M. (2008). Evaluación *in vitro* de un ensilado de estiércol, rastrojo de maíz y melaza. *Universidad y Ciencia*, 24(3), 247-250. <https://www.scielo.org.mx/pdf/uc/v24n3/v24n3a9.pdf>
- McAllister, T. A.; Dunière, L.; Drouin, P.; Xu, S.; Wang, Y.; Munns, K. y Zaheer, R. (2018). Silage review: Using molecular approaches to define the microbial ecology of silage. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 4060-4074. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13704>
- Morand, V. y Balbi, C. N. (2020). Maíz para silo de planta entera: efecto de genotipo y altura de corte en la producción y calidad para alimentación animal. *Información Tecnológica* 31(3), 231-240. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642020000300231>
- Nei, M. y Kumar, S. (2000). *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press.
- MYCOBANK. 2025. *Microbial resource research infrastructure*. European Research Infrastructure Consortium; International Mycological Association; Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, DGfM; European Union's Horizon 2020 - Research and Innovation Programme. <https://www.mycobank.org/>
- Okoye, C. O.; Wang, Y.; Gao, L.; Wu, Y.; Li, X.; Sun, J. y Jiang, J. (2023). The performance of lactic acid bacteria in silage production: A review of modern biotechnology for silage improvement. *Microbiological Research*, 266, 127212. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127212>
- Panahiha, P.; Mirzaei-Alamouti, H.; Kazemi-Bonchenari, M. y Aschenbach, J. R. (2022). Growth performance, nutrient digestibility, and ruminal fermentation of dairy calves fed starter diets with alfalfa hay versus corn silage as forage and soybean oil versus palm fatty acids as fat source. *Journal of Dairy Science*, 105(12), 9597-9609. [10.3168/jds.2022-22165](https://doi.org/10.3168/jds.2022-22165)
- Ramírez-Vega, H.; Arteaga-Garibay, R. I.; Maya-Lucas, O.; Gómez-Rodríguez, V. M.; Chávez-Díaz, I. F.; Ruvalcaba-Gómez, J. M.; Heredia-Nava, D.; Loperena-Martínez, R. y Zelaya-Molina, L. X. (2020). The bacterial community associated with the amarillo zamorano maize (*Zea mays*) landrace silage process. *Microorganisms*, 8(10), 1503. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101503>
- Rodríguez A. A.; Rivera, V.; Solórzano, L. C. y Randel, P. F. (2014). Utilización de inóculos comerciales conteniendo bacterias productoras de ácido láctico sobre las características fermentativas y estabilidad aeróbica de ensilaje de maíz. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 98(1-2), 31-47. <https://core.ac.uk/download/pdf/268235828.pdf>
- Rosario C.; Rodríguez, A. A. y Randel, P. F. (2013). Efecto de la aplicación de inóculos microbianos sobre las características fermentativas, estabilidad aeróbica y consumo voluntario de ensilaje de gramíneas tropicales naturalizadas. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 97(1-2), 33-56. <https://revistas.upr.edu/index.php/jaupr/article/view/3038/2582>
- Santos, A. O.; Ávila, C. L. S.; Pinto, J. C.; Carvalho, B. F.; Dias, D. R. y Schwan, R. F. (2016). Fermentative profile and bacterial diversity of corn silages inoculated with new tropical lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 120(2), 266-279. <https://doi.org/10.1111/jam.12980>
- Tamura, K.; Stecher, G. y Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Valencia, C. A.; Pervaiz, M. A.; Husami, A.; Qian, Y. y Zhang, K. (2013). Sanger sequencing principles, history, and landmarks. In *Next Generation sequencing technologies in medical genetics*. Springer Briefs in Genetics. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9032-6_1
- Zhang, X.; Liang, X. y Zhang, Y. (2025). Advancements in the research and application of whole-plant maize silage for feeding purposes. *Animals*, 15(13), 1922. <https://doi.org/10.3390/ani15131922>