



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO



**HONGOS MICORRÍZICOS COMO
BIOFERTILIZANTES Y AGENTES DE
CONTROL BIOLÓGICO CONTRA
Fusarium oxysporum EN *Agave
tequilana***

Trabajo de Tesis que para Obtener el Título de
Maestro en Ciencias Biológicas

Presenta:

IB Amelia Cristina Montoya Martínez

Luis López Pérez
Doctor
Director de Tesis

Gabriel Rincón Enríquez
Doctor
Co-Director

Morelia, Michoacán, Marzo de 2014.



El trabajo de esta tesis fue realizado como parte del proyecto titulado:

“Utilización de recursos microbianos para el control biológico de la pudrición del cogollo de agave tequilero en la DOT-Michoacán”

Financiado por el Fondo Mixto (FOMIX) del Estado de Michoacán – CONACYT

(Convocatoria 2010). Clave del proyecto MICH-2010-C01-148208

Líder de proyecto Dr. Gabriel Rincón Enríquez

La presente investigación se desarrolló en conjunto entre la Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del estado de Jalisco (CIATEJ) A.C. y el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la UMSNH bajo la codirección de los Drs. Luis López Pérez y Gabriel Rincón Enríquez, y la asesoría de la Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar.

De resultados de esta tesis se han generado los siguientes trabajos:

Montoya-Martínez A. C., Rincón-Enríquez G., Quiñones -Aguilar E. E., López-Pérez L., Hernández-Cuevas L. V. *DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASOCIADOS AL *Agave tequilana* EN LA DOT – MICHOACÁN*. 2012. Memoria del III Foro Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Michoacana. Morelia, México. (**Autor de correspondencia MMAC**).

Montoya-Martínez A. C., Rincón-Enríquez G., Quiñones -Aguilar E. E., **López-Pérez L.** *HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NATIVOS DE *Agave tequilana* EN EL CRECIMIENTO DE PAPAYA*. 2013. Memoria del XV Congreso Nacional y 1er Internacional de Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A. C. Puebla, México. (**Autor de correspondencia LPL**).

Montoya-Martínez A. C., Rincón-Enríquez G., Quiñones -Aguilar E. E., López-Pérez L. *PROPUESTA DE ESCALA DE PATOGENICIDAD DE *Fusarium oxysporum* EN *Agave tequilana**. 2013. En García-Garibay E., mesa de trabajo de Ciencias Agrícolas y Biotecnología, Memoria del 8º Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y el 2do. Encuentro de Jóvenes Investigadores. Morelia, México. pp 939-943. ISSN pendiente. (**Autor de correspondencia MMAC**).

Montoya-Martínez A. C., Rincón-Enríquez G., Quiñones -Aguilar E. E., López-Pérez L. *HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NATIVOS DE PLANTACIONES DE LA DOM-MICHOACÁN EN EL CRECIMIENTO DE *Agave tequilana**. 2013. Memoria del XXXVIII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. La Paz, México. (**Autor de correspondencia MMAC**).

Quiñones-Aguilar E. E., Trinidad-Cruz J., Montoya-Martínez A. C., López-Pérez L., **Rincón-Enríquez G.** *SELECCIÓN DE PROPÁGULOS DE HONGOS MICORRÍZICOS NATIVOS PARA LA ELABORACION DE BIOFERTILIZANTES PARA PAPAYA*. 2013. Memoria del XXXVIII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. La Paz, México. (**Autor de correspondencia REG**).

Rincón-Enríquez G., Montoya-Martínez A. C., Trinidad-Cruz J., López-Pérez L., Quiñones-Aguilar E. E. 2013. *SELECCIÓN DE PROPÁGULOS DE HONGOS MICORRÍZICOS NATIVOS PARA LA ELABORACIÓN DE BIOINOCULANTES PARA AGAVE*. Memoria del XXXVIII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. La Paz, México. (**Autor de correspondencia QAEE**).

Montoya-Martínez A. C., Rincón-Enríquez G., Quiñones-Aguilar E. E., Qui-Zapata J., Lobit P., López-Pérez L. 2013. *HONGOS MICORRÍZICOS COMO BIOFERTILIZANTES Y AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO CONTRA *Fusarium oxysporum* EN *Agave tequilana**. Memoria del IV Foro Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Michoacana. Morelia, México. (**Autor de correspondencia MMAC**).

Quiñones-Aguilar E. E., Qui-Zapata J. A., Rincón-Enríquez G., **Montoya-Martínez A. C.**, Reyes-Tena A. y López-Pérez L. 2012. CRECIMIENTO DE PLANTAS DE FRIJOL POR EFECTO DE HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES AISLADOS DE *Agave cupreata* DE MICHOACÁN. *In*: Blanco M. F., A. G. Bravo L., J. Hernández M., A. Lara H., R. Magallanes Q., S. J. Méndez G., R. D. Valdez Z. (comps). Tópicos edafológicos de actualidad, memoria del XXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Zacatecas, México. p. 9-13. ISBN 978-607-7678-76-2. (**Autor Responsable LLP**).

MMAC: cristina_montoya14@hotmail.com

LPL: lexquilax@yahoo.com.mx

REG: grincone@gmail.com

QAEE: eqaguilar08@gmail.com

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Ma. Auxiliadora Martínez y Benjamín Montoya, por su apoyo y por motivarme a seguir superándome. Por darme todas las herramientas necesarias para lograr las metas que me he puesto y sobrellevar todas las dificultades que se me presentan.

A mis hermanas, Sofía y Andrea Montoya, y a mi prima Iris Montoya, quienes, a su manera, me han ayudado a llegar hasta aquí y que, a pesar de la distancia, siempre me acompañaron.

A mis tíos, Laura Rodríguez y Marco Martínez, quiero agradecer el haberme recibido en su casa y quienes se convirtieron en una segunda familia y un gran apoyo durante estos dos años.

A Samuel Medina, que nos encontramos por causalidad en este camino y te volviste una persona muy importante para mí. Me enseñaste muchas cosas, dentro y fuera del laboratorio. Gracias por ser mi fitopatólogo personal y siempre tener un ratito para resolver mis dudas. Y más que nada gracias por apoyarme siempre en los momentos más difíciles de este viaje. Te amo.

Al Dr. Luis López, quiero agradecer su asesoría y su apoyo. Por resolver mis dudas, tenerme paciencia y por estar disponible siempre que algún problema surgiera, dentro y fuera de lo académico. Sin su guía y sus palabras de aliento, este logro no habría sido posible.

A los Dres. Gabriel Rincón y Evangelina Quiñones, quienes me impulsaron a ver más allá de los resultados y a siempre estar haciéndome preguntas a mí misma. Gracias a ustedes aprendí a realmente emocionarme con mi trabajo y a querer aprender más.

A los Dres. Philippe Lobit y Joaquín Qui, por sus observaciones y su apoyo, por el tiempo invertido en ser parte de mi comité, por sus consejos y sus palabras de ánimo.

A mis compañeros de trabajo en IIAF, Susana García, Alfredo Reyes y Claudia Álvarez, quienes compartieron este viaje conmigo desde el principio y a quienes les aprendí muchas cosas que me fueron muy útiles en mi trabajo. A Dael Camacho, Iván Valladares, Emilio Butragueño, Edgar García, Oneida García, Yolanda Medrano, Patricia Fuentes, Andrea González, Flor Acosta, Ana Raquel Cortez, Nayda Bravo y, quienes siempre me apoyaron. Sin su ayuda esta meta no se hubiese cumplido a tiempo, y sin su compañía el trabajo en el laboratorio sería muy tedioso.

A mis compañeros y amigos de CIATEJ, Jesús Trinidad, Alejandra Pérez, Ismael Román, Adrián Palacios, quienes me apoyaron en una etapa de transición muy importante y se convirtieron en una pequeña familia para mí.

A mis amigas Viri, Lluvia, Diva, Akemi, Fernanda y Flor, quienes en la distancia siempre estuvieron conmigo, y cuando estamos juntas es como si apenas ayer hubiésemos salido de la carrera. Gracias por siempre estar ahí para escucharme y darme palabras de aliento en medio de mis crisis. Realmente las amo y espero que podamos continuar esta amistad por mucho tiempo.

A Lupita, a ella le debo mi cordura y dos tallas que no puedo bajar. Gracias por acompañarme en mis momentos de crisis. Por estar a mi lado aunque estemos a kilómetros de distancia. Gracias por ser mi aliada, mi amiga, mi psicóloga, mi hombro para llorar y mi “para que te digo, si igual vas a hacer lo que quieras, mejor vamos a beber”. Te amo y para mí siempre serás una gran amiga.

Finalmente a Dios, porque en esos momentos difíciles, no permitiste que me rindiera y siempre me mostraste el camino indicado. Me siento bendecida al haber llegado hasta aquí.

"Hay un libro abierto siempre para todos los ojos: la naturaleza."

Jean Jacques Rousseau

ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras	iv
Índice de cuadros	v
I RESUMEN	1
II ABSTRACT	2
III INTRODUCCIÓN GENERAL	4
3.1 El Agave	6
3.1.1 <i>Agave cupreata</i>	7
3.1.2 <i>Agave inaequidens</i>	8
3.1.3 <i>Agave tequilana</i>	9
3.2 Enfermedades del Agave	11
3.3 Marchitez del Agave	11
3.4 <i>Fusarium oxysporum</i>	14
3.5 La Micorriza Arbuscular	15
3.6 Propagación de HMA	19
3.7 La Micorriza Arbuscular como Biofertilizante	21
3.8 La Micorriza Arbuscular como Agente de Control Biológico y Bioprotector	24
IV HIPÓTESIS	29
4.1 Hipótesis general	29
4.2 Hipótesis específicas	29
V OBJETIVOS	30
5.1 Objetivo General	30
5.2 Objetivos Específicos	30
VI RESULTADOS	31
6.1 Propagación de HMA provenientes de la DOT-Michoacán en diferentes sustratos y su efecto en el crecimiento de <i>Agave tequilana</i> y <i>Carica papaya</i> L	33
6.1.1 Resumen	33
6.1.2 Abstract	33
6.1.3 Introducción	34

6.1.4 Materiales y Métodos	35
6.1.5 Resultados y Discusión	41
6.1.5.1 Producción de esporas y colonización micorrízica	41
6.1.5.2 Resultados en Papaya	48
6.1.5.3 Resultados en Agave	53
6.1.6 Conclusiones	58
6.1.7 Literatura Citada	59
6.2 Efecto de HMA provenientes de la DOM-Michoacán en crecimiento de <i>Agave tequilana</i> , <i>A. cupreata</i> y <i>A. inaequidens</i>	62
6.2.1 Resumen	62
6.2.2 Abstract	63
6.2.3 Introducción	63
6.2.4 Materiales y Métodos	66
6.2.5 Resultados y Discusión	71
6.2.5.1 Efecto de los HMA nativos en el crecimiento de agave	71
6.2.5.2 Resultados en <i>Agave tequilana</i>	77
6.2.5.3 Resultados en <i>Agave cupreata</i>	79
6.2.5.4 Resultados en <i>Agave inaequidens</i>	82
6.2.6 Conclusiones	87
6.2.7 Literatura Citada	88
6.3 Efecto de HMA como bioprotector contra <i>Fusarium oxysporum</i> en <i>Agave tequilana</i>	91
6.3.1 Resumen	91
6.3.2 Abstract	92
6.3.3 Introducción	92
6.3.4 Materiales y Métodos	94
6.3.4.1 Prueba de Patogenicidad y Sintomatología de la Enfermedad Causada por <i>F. oxysporum</i> en <i>A. tequilana</i>	94
6.3.4.2 Efecto de HMA como bioprotector del <i>Agave tequilana</i>	96
6.3.5 Resultados y Discusión	98

6.3.5.1 Prueba de Patogenicidad y Sintomatología de la Enfermedad Causada por <i>F. oxysporum</i> en <i>A. tequilana</i>	98
6.3.5.2 Efecto de HMA como bioprotector del <i>Agave tequilana</i>	101
6.3.6 Conclusiones	104
6.3.7 Literatura Citada	105
VII DISCUSIÓN GENERAL	107
VIII PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES	110
IX BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA	111
X ANEXOS	119
Anexo 1. Análisis de suelos de plantaciones de agave tequilero.	119
Anexo 2. Trabajos de investigación publicados en eventos científicos	122

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto general de plantas de <i>Agave cupreata</i> en cultivos de Michoacan.	8
Figura 2. Aspecto general de plantas de <i>Agave inaequidens</i> creciendo de manera silvestre.	9
Figura 3. Aspecto general de plantas de <i>Agave tequilana</i> en cultivos de Michoacan.	10
Figura 4. Estructuras fúngicas dentro de las raíces de papaya y <i>Agave tequilana</i>	44
Figura 5. Plantas de <i>A. cupreata</i> , <i>A. inaequidens</i> y <i>A. tequilana</i> creciendo en cultivo o silvestres en Michoacán.	65
Figura 6. Plantas de <i>Agave tequilana</i> , <i>A. cupreata</i> y <i>A. inaequidens</i> con los tratamientos BN-MT (Barranca de las Nueces) y Sin HMA.	72
Figura 7. Efecto de los inóculos de HMA nativos de la DOM-Michoacán sobre la densidad de esporas de HMA en <i>A. tequilana</i> , <i>cupreata</i> e <i>inaequidens</i> .	76
Figura 8. Efecto de los inóculos de HMA nativos de la DOM-Michoacán sobre el porcentaje de colonización micorrízica en <i>A. tequilana</i> , <i>cupreata</i> e <i>inaequidens</i> .	76
Figura 9. Efecto de los inóculos de HMA en plantas de <i>Agave tequilana</i> .	78
Figura 10. Efecto de los inóculos de HMA en plantas de <i>Agave cupreata</i> .	81
Figura 11. Efecto de los inóculos de HMA en plantas de <i>Agave inaequidens</i> .	84
Figura 12. Efecto de los HMA nativos en las variables de biomasa fresca y área foliar para <i>A. tequilana</i> , <i>A. cupreata</i> y <i>A. inaequidens</i> .	86
Figura 13. Plantas de <i>Agave tequilana</i> clasificadas en la escala de severidad de marchitez por <i>F. oxysporum</i>	100

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Sitios de muestreo para obtención de inóculos nativos de HMA en plantaciones de agave tequilero (DOT-Michoacán).	36
Cuadro 2. Características químicas de los suelos muestreados en la DOT-Michoacán.	37
Cuadro 3. Diseño de tratamientos evaluados en el experimento de HMA nativos de la DOT Michoacán con diferentes sustratos en agave tequilero y papaya.	38
Cuadro 4. Densidad de esporas iniciales en el suelo-inóculo.	41
Cuadro 5. Efecto del inóculo de HMA, sustratos y especie vegetal en el número y producción de esporas y colonización al final del experimento.	43
Cuadro 6. Efecto de los distintos tratamientos en el número y producción de esporas y colonización micorrízica al final del experimento.	47
Cuadro 7. Efecto de HMA nativos de la DOT Michoacán y diferentes sustratos sobre variables de crecimiento en plantas de <i>Carica papaya</i> a los 90 días después del trasplante.	49
Cuadro 8. Efecto de los tratamientos sobre variables de crecimiento en plantas de <i>Carica papaya</i> a los 90 días después del trasplante.	50
Cuadro 9. Efecto de HMA nativos de la DOT-Michoacán, sustratos y su interacción sobre el número de esporas, producción de esporas y colonización de raíces en plantas de <i>Carica papaya</i> a los 90 días después del trasplante.	52
Cuadro 10. Efecto de los tratamientos sobre el número de esporas, producción de esporas y colonización de raíces en plantas de <i>Carica papaya</i> a los 90 días después del trasplante.	53
Cuadro 11. Efecto de HMA nativos de la DOT Michoacán, sustratos y su interacción sobre la biomasa y el número de hojas de plantas de <i>Agave tequilana</i> a los seis meses después del trasplante en condiciones de invernadero.	54
Cuadro 12. Efecto de los tratamientos sobre la biomasa y el número de hojas de plantas de <i>Agave tequilana</i> a los seis meses después del trasplante en condiciones de invernadero.	55
Cuadro 13. Efecto de HMA nativos de la DOT Michoacán y el sustrato sobre el número y producción de esporas y colonización de raíces en plantas de <i>Agave tequilana</i> a los seis meses después del trasplante en condiciones de invernadero.	56
Cuadro 14. Efecto los tratamientos sobre el número y producción de esporas y colonización de raíces en plantas de <i>Agave tequilana</i> , a los seis meses después del trasplante en condiciones de invernadero.	57
Cuadro 15. Sitios de muestreo para obtención de consorcios nativos de HMA de la DOM-Michoacán.	67
Cuadro 16. Diseño de tratamientos evaluados en el experimento del efecto de HMA nativos de la DOM-Michoacán en agaves.	69

Cuadro 17. Efecto de los HMA nativos en las variables de crecimiento de las plantas agave 300 después del trasplante.	73
Cuadro 18. Géneros dominantes presentes en los inóculos de HMA provenientes de la DOM-Michoacán.	74
Cuadro 19. Efecto de los inóculos de HMA nativos de la DOM-Michoacán sobre las variables de crecimiento en <i>Agave tequilana</i> .	77
Cuadro 20. Efecto de los HMA nativos en variables de crecimiento y microbiológicas en <i>Agave cupreata</i> .	80
Cuadro 21. Efecto de los inóculos de HMA sobre las variables de crecimiento en <i>Agave inaequidens</i> .	83
Cuadro 22. Diseño de tratamientos evaluados en la prueba de patogenicidad de <i>F. oxysporum</i> en agave tequilero.	96
Cuadro 23. Diseño de tratamientos evaluados en el experimento de bioprotección.	97
Cuadro 24. Efecto de los HMA sobre las variables de crecimiento al inicio del experimento y después de cuatro meses de micorrización.	101
Cuadro 25. Porcentaje de colonización micorrízica antes de Inoculación con <i>F. oxysporum</i> .	102
Cuadro 26. Temperaturas promedio registradas en el invernadero durante el experimento.	103

HONGOS MICORRÍZICOS COMO BIOFERTILIZANTES Y AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO CONTRA *Fusarium oxysporum* EN *Agave tequilana*

I. RESUMEN

El agave es una especie de gran importancia económica y cultural en México. Internacionalmente, el agave es conocido por su empleo en bebidas destiladas como el mezcal y el tequila. En 2012 la producción de agave en Michoacán fue de 47,015 t, la cual fue empleada para la producción de mezcal y tequila, por lo que su producción representa un gran ingreso económico para el estado. Además que, la actual inclusión de la Michoacán en la Denominación de Origen del Mezcal suponen el crecimiento económico de este cultivo. Por otro lado, la tendencia de los mercados internacionales hacia el uso de tecnologías verdes, demanda la generación de conocimiento para la creación de estrategias para un manejo orgánico de la producción, en este caso de agave para producir mezcal y tequila. Una alternativa para dar solución a estas demandas es el uso de biofertilizantes, como lo son los hongos micorrízicos arbusculares, los cuales, además de beneficiar nutrimentalmente a la planta, producen un efecto negativo sobre fitopatógenos al activar mecanismos de defensa de la planta. De este modo incrementan la resistencia de las plantas a enfermedades, por lo que podrían considerarse como agentes de control biológico o como bioprotectores contra enfermedades. Por lo que en este trabajo, se evaluó la respuesta de plantas de agave a la micorrización con diversos inóculos de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) nativos de plantaciones de agave de Michoacán como biofertilizantes y su potencial uso en la bioprotección de la marchitez (*Fusarium oxysporum*) en *Agave tequilana*. Para esto, se realizaron tres experimentos que consistieron en: 1) evaluación de diferentes condiciones para la propagación de inóculos de HMA obtenidos de suelos agaveros, 2) determinación del efecto de la inoculación con HMA en el crecimiento de tres especies de agave de interés económico y 3) evaluación del efecto de los HMA como bioprotectores contra la marchitez de *Agave tequilana* causada por *Fusarium oxysporum*. Los resultados

mostraron que la producción de esporas depende de las condiciones de propagación. Se encontró que el mejor sustrato para la propagación de los inóculos micorrízicos fue la arena, utilizando como cultivo trampa plantas de agave y/o papaya. Por otro lado, se encontró un efecto positivo de la micorrización en el crecimiento de las plantas de *A. tequilana*, *A. cupreta* y *A. inaequidens*. Los mejores resultados se encontraron cuando se utilizó un inóculo nativo Barranca de las Nueces (obtenido de la región de Tzitzio, Michoacán) que incrementó significativamente el crecimiento de las plantas respecto a plantas sin inoculación. Finalmente, respecto al efecto bioprotector de los HMA, a los 100 días después de la inoculación con *F. oxysporum* los resultados no mostraron efecto bioprotector de los HMA nativos de Michoacán. Tanto plantas inoculadas como no inoculadas mostraron los mismos síntomas de la enfermedad. Como conclusión de este trabajo se puede mencionar que, el mejor sustrato para la propagación de los inóculos micorrízicos fue arena, hubo un efecto positivo de la micorrización en el crecimiento de las plantas de agave y finalmente no se observó algún efecto de bioprotección de los HMA contra *F. oxysporum* a los 100 días después de su inoculación a nivel de invernadero.

Palabras clave: *biofertilizante, marchitez, micorriza, agave, biocontrol*

II. ABSTRACT

The agave is a species of great economic and cultural importance in Mexico. Internationally, the agave is known for its use in distilled spirits such as tequila and mezcal. In 2012 the production of agave in Michoacán was 47,015 t, which was used for the production of mezcal and tequila, so production is a major income to the state. Also, the current inclusion of Michoacán to the Mezcal Origin Denomination assume economic development to this crop. Moreover, the trend in international markets towards the use of green technologies, demands generation of knowledge for the creation of strategies for organic management, in this case of agave to produce mezcal and tequila. An alternative, to these demands, is the use

of bio-fertilizers, such as arbuscular mycorrhizal fungi, which, in addition to nutritionally benefit the plant, have a negative effect on plant pathogens by activating defense mechanisms of the plant. This increase the resistance of plants to disease so they could be considered as biological control agents against disease or bioprotectors. So in this work, the response of agave plants to mycorrhizal colonization with different inoculum native of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) from agave plantations in Michoacán, as biofertilizers and their potential use as bioprotector or biocontrol of the wilt disease (*Fusarium oxysporum*) in *Agave tequilana* were evaluated. To achieve this, this study was made into three experiments: 1) evaluation of different conditions for the propagation of AMF inoculums obtained from agave plantations soil, 2) determination of the effect of AMF inoculation on the growth of three species of agave economic interest and 3) evaluation of the AMF effect as bioprotectors against wilt disease in *Agave tequilana* caused by *Fusarium oxysporum*. The results showed that the production of spores depends upon the propagation conditions. We found that the best substrate for the propagation of mycorrhizal inoculum was sand, using as trap crop agave and/or papaya plants. Furthermore, a positive effect on growth mycorrhizal plants *A. tequilana*, *A. cupreta* and *A. inaequidens* were found. The best results were found when the native inoculum Barranca de las Nueces (obtained from Tzitzio, Michoacán) was used, that significantly increased plant growth compared to plants without inoculation. Finally, regarding the effect of AMF bioprotection, at 100 days after inoculation with *F. oxysporum*, the results showed no effect of AMF native of. Both plants are inoculated and non-inoculated showed the same symptoms of the disease. As a conclusion of this work may be mentioned that the best substrate for the propagation of mycorrhizal inoculum was sand, there was a positive effect of mycorrhizal colonization on growth of agave plants and finally not an effect of bioprotector of AMF was observed against *F. oxysporum* after 100 days of inoculation, in greenhouse.

Key words: *biofertilizer, wilt disease, mycorrhiza, agave, biocontrol*

III. INTRODUCCIÓN GENERAL

El agave tequilero y mezcalero es un cultivo de gran importancia para Michoacán debido a los ingresos económicos y fuentes de empleo que genera. En 2012, la producción de agave en general, fue de 47,015 t en una superficie de 5,028.20 ha, con un valor de producción de 45. 622 millones de pesos. De la producción total, 42,640 t fueron de agave mezcalero en solo una superficie cultivada de 1,429 has representando 42.968 millones de pesos en valor de producción y 4,375 t fueron de agave tequilero (2.654 millones de pesos) en una superficie cultivada de 3,599 ha (SAGARPA 2012). En los últimos años hubo una tendencia a incrementar la superficie cultivada de *Agave tequilana*, por ser la materia prima en la producción de tequila (Pimienta *et al.* 2006). Además con el reciente ingreso del Estado de Michoacán a la Denominación de Origen del Mezcal (en 2012), se espera que la producción de agaves mezcaleros se intensifique. Sin embargo una amenaza importante a esta actividad generadora de riqueza son los problemas fitosanitarios del cultivo, dado que alrededor de un tercio de las plantaciones de agave tequilero están enfermas por pudrición del cogollo, pudrición del tallo, marchitez, enrollamiento y decoloración de la hoja, en algún grado (CRT 2010). El tratamiento más común para estas enfermedades es la aplicación de agroquímicos como pesticidas, fungicidas o bactericidas. Sin embargo estas prácticas conllevan a un deterioro de los recursos agua y suelo, además, representan un riesgo para la salud humana, la microfauna y la flora silvestre benéfica. Así mismo, la aplicación de pesticidas y fertilizantes químicos demerita el valor del producto final. Es por esto, que es necesario buscar alternativas que sean más amigables e inocuas al hombre y al medio ambiente. Una de las alternativas más prometedoras a dicho problema, es el control biológico o biocontrol, el cual consiste en el uso de microorganismos antagonistas que interactúan con el patógeno para reducir su efecto o su virulencia (Russell y Wild 1992). El interés en el control biológico se ha incrementado recientemente, gracias a la preocupación pública sobre el uso de químicos en el ambiente en

general, y la necesidad de encontrar alternativas al uso de químicos para el control de enfermedades de las plantas (Whipps 2001).

La creciente tendencia de los mercados internacionales hacia el uso de tecnologías sustentables, sobre todo aquellas relacionadas con la producción de bienes alimenticios, demanda la generación de conocimiento científico que de soporte a la creación de estrategias innovadoras para el manejo de enfermedades y fertilización en cultivos de interés económico. La prevención y control biológico mediante recursos microbianos, representa una alternativa que podría dar solución a los problemas fitosanitarios y de contaminación ambiental por agroquímicos, ayudando a la conservación de los recursos naturales y contribuyendo a dar soluciones viables a las demandas de los sectores vinculados a la producción, distribución y consumo del producto final del agave. Dentro de estos recursos microbianos, está el uso de hongos micorrízicos arbusculares los cuales, además de tener un efecto en el control biológico o bioprotección, contribuyen al crecimiento y mejoran el estado nutrimental de las plantas.

El estudio de los HMA en simbiosis con agave se ha limitado a estudios de diversidad ecológica (Ochoa 2009) y pruebas con inoculantes micorrízicos comerciales (Pimienta *et al.* 2009) o cepas aisladas de otros cultivos como biofertilizante (Martínez *et al.* 2009). Por lo cual, resulta importante estudiar aspectos de la inducción de la resistencia en plantas por medio de estos microorganismos (Resistencia Inducida por Micorrizas RIM) y por ende el empleo de los HMA como bioprotectores contra fitopatógenos, con el fin de proponer nuevas biotecnologías para resolver problemas fitosanitarios en el cultivo del agave.

Ante la función tan importante que desempeñan las asociaciones de HMA, tanto en el crecimiento y en el control de fitopatógenos, a los pocos estudios que hay sobre la protección de los HMA contra fitopatógenos en plantas de agave, se planteó en este trabajo, estudiar el efecto de los HMA en el crecimiento de agaves

y además su potencial uso como bioprotector contra hongos fitopatógenos (*Fusarium oxysporum*).

3.1 El Agave

Los agaves son plantas semi-perennes, con hojas dispuestas en espiral y arregladas en rosetas en el ápice de un tallo, el cual puede ser corto y apenas sobrepasar unos centímetros del suelo, o bien, largo y erecto. Las hojas por lo regular son suculentas, fibrosas, con la base dilatada y carnosas; su forma varía de linear a lanceolada u ovalada. Los márgenes tienen una gran diversidad morfológica, los dientes córneos sobresalen como proyecciones de tejido, o bien, se ubican sobre una banda cornea continua, mientras que en otras especies es filífero y se desprende en delgadas fibras o bien muestra dienteillos microscópicos, semejantes a filosas sierras. El sistema de la raíz es superficial, lo cual facilita la absorción de agua (García 2007). Estos producen una de las inflorescencias mas grandes conocidas en el reino vegetal y son predominantemente monocarpicas, reproduciendose solo una vez y despues mueren (Good 2006).

Las especies grandes alcanzan su madurez entre los 10 y 25 años, mientras que las especies pequeñas lo hacen despues de crecer de cuatro a cinco años. Los agaves son plantas xerofitas, adaptadas a crecer en condiciones con largos periodos de sequia y altas temperaturas (García 2007).

El género *Agave* es una pieza clave en las especies de regiones semiaridas a aridas, cuyo centro de origen es México, pero se extiende desde el suroeste de Estados Unidos a Centro America, el Caribe, incluso en regiones del norte de Sudafrica (Good 2006).

El género *Agave* tiene aproximadamente 200 especies, de la cuales 150 (75%) se encuentran en México (García 2004).

Los agaves han sido utilizados desde tiempos remotos como fuente de alimento, forraje, medicina, fibra y como material de construcción, entre otros usos. Actualmente su principal utilidad es la elaboración de bebidas alcohólicas como el pulque, el mezcal, el bacanora y el tequila (Granados 1993).

La producción de tequila en México, en el año 2011, fue de 261 millones de litros (volúmenes expresados a 40% Alcohol) (CRT 2011), mientras que el de mezcal fue de 1.59 millones de litros (volúmenes expresados a 45% Alcohol) (SAGARPA 2011).

El mezcal es producido de diversas especies de agave, según la región (ej. *A. salmiana* en San Luis Potosí y Zacatecas, *A. angustifolia* en Jalisco y Puebla, *A. cupreata* en Michoacán y Guerrero, entre otros). En Michoacán, existen ocho especies de agave mezcalero (*Agave angustifolia* Haw, *Agave cupreata* Trel & Berger, *Agave filifera* Salm-Dyck, *Agave Hookeri* Jacobi, *Agave inaequidens* K. Koch, *Agave schindigera* Lem y el *Agave tequilana* Weber var. azul), pero de estos los mas utilizados son el *Agave cupreata* conocido comúnmente como maguey chino o papalote y el *Agave inaequidens* conocido como maguey alto o lechugilla (modificación a la NOM-070-SCFI-1994 2012).

3.1.1 *Agave cupreata*

El *Agave cupreata* (Fig. 1) es un agave de tamaño mediano, de mayor tamaño que el *A. tequilana*, pero menor que el *A. inaequidens* y el *A. angustifolia*, de un color verde brillante, sus hojas miden de 40 a 80 cm de largo por 12 a 20 cm de ancho. Crecen en roseta abierta y ampliamente lanceoladas u ovaladas, muy reducidas en la base, planas y ligeramente concavas en las puntas. Sus espinas son de color cobrizo a gris y llegan medir de 3 a 5 cm (Gentry 1982).



Figura 1. Aspecto general de plantas de *Agave cupreata* en cultivos de Michoacán.

Esta ampliamente distribuido en las pendientes de las montañas cercanas a la cuenca del Río Balsas en Michoacán y Guerrero, entre los 1220 y 1850 m de elevación. Su habitat se encuentra en una zona bajo el Tropic de Cancer con 73 - 86 mm de lluvia anual, principalmente entre mayo y noviembre. Durante el periodo de sequia en invierno y primavera, este agave florece y da frutos (Gentry 1982). Es de crecimiento silverstre, pero se utiliza un poco de manejo, ya que se recuperan las semillas y se echan al voleo para repoblar o bien se germinan en viveros para reforestacion (Aguirre 2005).

3.1.2 *Agave inaequidens*

El *A. inaequidens* Koch (Fig. 2), es usado comunmente para la elaboracion de pulque, pero tambien se utiliza para el mezcal. Este agave es de tamaño mediano a grande, de mayor tamaño que el *A. curpeata* y muy asociado con *A. hookeri*. Con hojas en roseta que crecen abiertamente de 75 a 150 cm de largo por 11 a 21 cm de ancho, poco lanceoladas u oblanceoladas, concavas en la parte superior, carnosas y gruesas en la base, de color verde claro a amarillo verdoso. Sus espinas del apice son robustas de 2.5 a 5.5 cm, de color café oscuro, sobresalientes de la hoja y afiladas (Gentry 1982).



Figura 2. Aspecto general de plantas de *Agave inaequidens* creciendo de manera silvestre.

Es el agave predominante en las montañas transversales de México, desde Morelos, pasando por Michoacán hacia Colima y Jalisco. Su habitat principal son las pendientes boscosas de 1850 a 2480 m de elevacion (Gentry 1982).

3.1.3 *Agave tequilana*

El *Agave tequilana* Weber var. Azul, (Fig. 3) del cual se produce el tequila, tiene menor porte que los magueyes, como el lechugilla (*A. maximiliana*, *A. inaequidens*), el tobala (*A. potatorum*) y el papalote (*A. cupreata*). Sus hojas son de color verde azulado, de 90 a 120 cm de largo, casi siempre rígidamente estiradas, concavas en la parte superior, su parte mas gruesa se encuentra hacia el medio de la hoja y es angosta y gruesa en la base. Sus espinas del apice son generalmente cortas, de 1 a 2 cm, de color café oscuro y los dientes son de tamaño regular espaciados irregularmente (Gentry 1982).



Figura 3. Aspecto general de plantas de *Agave teuilana* en cultivos de Michoacan.

Los requerimientos ecológicos del *Agave tequilana* en los que prospera bien son regímenes de lluvia de 700 a 1100 mm; tiene poca tolerancia a las bajas temperaturas y puede tolerar hasta 55° C. Es muy sensible a las temperaturas nocturnas, pues la asimilación diaria de CO₂ es mayor cuando la temperatura diurna/nocturna es de 15/5 °C. El agave tequilero responde bien a condiciones de días soleados, pero la actividad fotosintética depende más de la temperatura nocturna que de la disponibilidad de luz (Flores *et al.*, 2010).

El *Agave tequilana* requiere suelos de textura media con buena aireación (suelos francos, franco arenosos o franco arcillosos), aunque en regiones de baja precipitación son más adecuados suelos con características que le permitan mayor retención de humedad. El pH requerido es de 6 a 8, con tolerancia ligera a intermedia a sales (Flores *et al.* 2010).

La producción de *Agave tequilana* en 2012 fue de 47,015 t producidas en Denominación de Origen del Tequila (DOT) del estado de Michoacán. La DOT-Michoacán cuenta con 30 municipios localizados al noroeste del estado, destacando los municipios de La Piedad, Los Reyes, Zamora, Tocumbo, Maravatio y Jiquilpan con alrededor de 7 162 869 plantas para el año 2008 (CRT

2010). De estas plantas, entre un 20 y 30% se encuentran afectadas por enfermedades como marchitez, pudrición del cogollo y el tallo, enrollamiento y decoloración de las hojas.

3.2 Enfermedades del agave

Las enfermedades del agave se pueden clasificar en enfermedades bióticas y abióticas. Las enfermedades abióticas o no parasitarias se consideran enfermedades porque existe una desviación anormal en la estructura o fisiología de la planta afectada, siendo producida ya sea por factores físicos o químicos. Entre estas enfermedades se encuentran: daño por herbicidas, daño por heladas, entre otras (Rubio 2007).

Las enfermedades bióticas o parasitarias son causadas por organismos vivos y se da cuando existe un hospedante (planta) susceptible, un patógeno virulento y las condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo de la enfermedad (Agrios 1978).

Algunos ejemplos de enfermedades bióticas son: mancha gris o tizón foliar (*Cercospora* sp), mancha anular (*Didymosphaeria* sp), pudrición del cogollo (*Erwinia* grupo carotovora), pudrición de hojas y planta completa, mancha foliar (*Rhizoctonia solani*, *Botryodiplodia* sp y *Didymosphaeria* sp), enfermedades por *Phytophthora* sp, *Alternaria* sp y marchitez seca por *Fusarium* sp (Rubio 2007).

3.3 Marchitez del Agave

El agente causal de la marchitez del agave es el hongo *Fusarium oxysporum*. La marchitez que se presenta en el cultivo de agave se debe a una deshidratación de los tejidos y esto se da a su vez porque hay una reducción, muerte o destrucción del sistema radical, o bien porque hay destrucción o taponamiento del tejido vasculares (floema y xilema) (Ávila *et al.* 2010, González

et al. 2012). Una temperatura de 28°C es óptima para el desarrollo de la enfermedad. Por debajo de los 20°C los síntomas se ven reducidos. El hongo puede colonizar hierba no susceptible y sobrevivir saprófitamente en los restos de las raíces en el suelo (Brayford 1992), el tiempo seco y el suelo ácido (pH 5-5.6) también favorecen el desarrollo de la enfermedad (González *et al.* 2012).

En una planta, la marchitez inicia con un enrollamiento de hojas de manera acelerada y posterior deshidratación de las pencas basales e intermedias de la piña con presión sobre el cogollo, cambio de color azul a un verde opaco y finalmente pérdida del anclaje por la pudrición de las raíces (Flores *et al.* 2010).

Los síntomas reportados en la marchitez del agave son, clorosis (hojas amarillo claro), enrollamiento de los bordes de las hojas, secado de las hojas más viejas del ápice a la base, pudrición extensiva de color marrón en la corona, marchitez y finalmente si la planta es empujada, esta se cae fácilmente por la pudrición de las raíces (Ávila *et al.* 2010).

En 2012, Ávila *et al.* analizaron la diversidad de 25 cepas de *F. oxysporum* aisladas del tallo de plantas de *Agave tequilana* con y sin síntomas de marchitez. Los resultados del análisis del fragmento ITS1 mostraron que nueve de estos aislados coincidían con las secuencias de diversas *formae speciales* (f. sp) de *F. oxysporum*. El análisis de Grupos de Compatibilidad Vegetativa encontró dos grupos compatibles, integrados con sólo cepas del grupo de diecisiete aislados; las nueve cepas restantes no evidenciaron compatibilidad vegetativa. Este estudio indicó que existe un grupo de cepas de *F. oxysporum*, dentro de las que se incluyen dos positivas a pruebas de patogenicidad capaces de inducir síntomas de marchitez en agave, que constituyen una población homogénea producto de co-evolución patógeno-hospedero.

En 2013, Vega *et al.* determinaron la variabilidad genética de aislamientos *F. oxysporum* de las raíces de *Agave tequilana* que manifestaban síntomas de marchitez. Se caracterizaron 115 aislamientos, usando métodos morfológicos y

moleculares. Se generaron 14 grupos, los cuales estaban altamente correlacionados con la locación geográfica y el tipo de muestra (suelo rizosférico y raíz). Se encontró que, tanto en raíces de plantas sanas como enfermas, existían aislamientos de *F. oxysporum* con perfil genético similar, lo cual sugiere la posibilidad de alguna relación endófito no patogénica.

En general, casi cualquier planta de agave en la cual se tomen algunas muestras de raíz, se aislará *Fusarium* sp aunque no se manifiesten los síntomas en la planta. Esto es debido a que este hongo es habitante natural del suelo, además de ser un parasito facultativo, es decir, puede sobrevivir en materia orgánica sin que exista un hospedante establecido. Es más probable que penetre en las raíces por medio de heridas a que lo haga de manera natural (Rubio 2007).

El control para esta enfermedad es mediante el uso de fungicidas a base de cobre, sin embargo es poco efectivo. Debido a que el problema se encuentra en la raíz y no en el follaje, se recomienda el uso de plantas sanas o hijuelos obtenidos de suelos donde no se ha presentado la marchitez como medidas de control. También, se recomienda la aplicación de materia orgánica como la composta ya que, además de mejorar la estructura del suelo, funciona como un buffer que evita cambios en el pH y sirve de sustrato para microorganismos que la descomponen, lo que permite incrementar las poblaciones de los mismos y muchos de estos son antagonistas de diversos patógenos (Fückikovsky 2000). La aplicación de cal también es una práctica de control común, ya que *Fusarium* sp puede desarrollarse mejor cuando el pH del suelo es ácido (de 5 a 5.5), así que al aplicar cal (alcaliniza el pH) se crea un ambiente desfavorable para el desarrollo de este hongo (González *et al.* 2012).

3.4 *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum es un hongo cosmopolita que tiene la capacidad de existir como saprofito y degradar lignina y carbohidratos complejos. También son persistentes endófitos que colonizan las raíces de las plantas (Sutherland 1990). Existe en muchas formas patogénicas, parasitando más de 100 especies de plantas Gimnospermas y Angiospermas, gracias a los diversos mecanismos que tiene el hongo para vencer las defensas de muchas plantas (Garcés de Granada *et al.* 2001). Produce macro y microconidiosporas dentro y sobre el tejido enfermo, las macroconidiosporas son multiseptadas, con forma de hoz. Las microconidiosporas son unicelulares, ovaladas o en forma de riñón. Las clamidosporas son unicelulares, redondas, con pared gruesa. Se producen en abundancia en el tejido muerto o en materia orgánica colonizada en el suelo. Le permiten al patógeno permanecer inactivo en el suelo cuando no hay un hospedero adecuado o cuando las condiciones no son favorables (Sutherland 1990).

Este fitopatógeno se vuelve activo cuando una raíz crece cerca de las clamidosporas (Sutherland 1990). Los hongos penetran por la raíz y colonizan en el tallo de las plantas el sistema vascular. Sin embargo, la colonización, se restringe tanto en cultivares resistentes como susceptibles, a la región de entrada inicial del patógeno, debido a la oclusión de los vasos por geles, deposiciones de calosa y tilosas. En los cultivares susceptibles, la colonización continúa (distribución secundaria) cuando los geles y calosas son degradados por el efecto de enzimas pectolíticas del patógeno y el crecimiento de las tilosas es inhibido. En los cultivares resistentes, flavonoides del tipo de las catequinas y sus productos de oxidación inactivan las enzimas y la distribución secundaria es confinada a los puntos de infección inicial (González *et al.* 2012).

3.5 La Micorriza Arbuscular

De entre la gran diversidad de microorganismos benéficos presentes en la rizósfera, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son el componente más importante. El término micorriza fue acuñado por el botánico alemán Albert Bernard Frank en 1885 y procede del griego *mykos* que significa hongo y *rhiza* que significa raíz, es decir, que literalmente quiere decir “hongo-raíz”, definiendo así la asociación simbiótica entre el micelio de un hongo y las raíces de una planta terrestre (Smith y Read 1997).

La historia de las Micorrizas, se remonta a unos 400 millones de años, especialmente al período devónico, a partir del cual las plantas acuáticas con la ayuda de las micorrizas, consiguieron colonizar el medio terrestre hasta lo que son hoy en día (Simon 1996).

Los HMA se encuentran distribuidos en prácticamente todos los agroecosistemas y se asocian simbióticamente con aproximadamente el 80% de las especies vegetales, ya sean cultivadas o silvestres (Hijri *et al.* 2006, Dandan y Zhiwei 2007). Las micorrizas arbusculares tienen tres componentes importantes: la raíz de la planta, las estructuras fúngicas dentro de las células corticales de la raíz denominados arbusculos y el micelio extrarradical en el suelo (Smith y Read 1997). Los HMA, son simbioses obligados y no pueden prosperar fuera de las raíces vivas de las plantas por lo que dependen totalmente de ellas (Smith y Read 1997, Riveros 2010). La mutua dependencia entre organismo hospedero y el huésped consiste en que el primero, representa una fuente directa de carbono y nitrógeno indispensables para el desarrollo del hongo (Safir 1990). Por su parte, el huésped forma una red fúngica con desarrollo intra e intercelular en la corteza radical de la planta, que se extiende hacia su entorno. Mediante este retículo, las raíces se favorecen, ya que pueden absorber agua y minerales que son transportados a los diferentes órganos del vegetal (Kyde y Gould 2000).

El mecanismo de colonización de los HMA en las raíces de las plantas consiste de cuatro etapas que son la germinación de la espora, el crecimiento y ramificación de las hifas, la formación de apresorios y penetración a la raíz y, finalmente, la formación de arbusculos y vesículas (Smith y Read 1997, Kyde y Gould 2000).

Germinación: Los HMA son incapaces de completar su ciclo de vida sin colonizar las raíces de su hospedero. Las esporas germinan en el suelo (o agar) y producen poco micelio (20-30 mm por espora). Hay tres tipos de germinación: Escudos de germinación (Acaulospora y Scutellospora), directamente por la pared de la espora (*Gigaspora* y algunas especies de *Glomus*) y por rebrote de las hifas de germinación (*Glomus*). No se forma un micelio extenso si no ocurre una colonización exitosa de una raíz vegetal, si la espora se desprende, el crecimiento de la hifa se detiene (Smith y Read 1997).

Las especies de HMA varían en el pH óptimo y temperatura para su germinación y desarrollo (Smith y Read 1997).

Las altas concentraciones de fósforo (P) y metales pesados (zinc, manganeso, cadmio), ácidos orgánicos y algunos carbohidratos son inhibitorios de la germinación, mientras que los exudados de la raíz y otros extractos del hospedero la estimulan. En algunas ocasiones la germinación se incrementa en la presencia de otros microorganismos (Smith y Read 1997).

Ramificación y Crecimiento de la Hifa: La colonización primaria se puede dar desde 13 mm de distancia de la raíz. Después de la germinación de la espora y el crecimiento de la hifa, la ramificación de las hifas sucede cerca de las raíces de la planta. La hifa hace contacto estimulada por sustancias como flavonoides y estrigolactonas excretadas por la raíz. Se encontró que las estrigolactonas inducen un rápido incremento en la densidad mitocondrial y cambios en la forma y movimiento de los organelos de los HMA. Dentro de las estrigolactonas, la 5-

desoxiestrigol fue originalmente aislada de los exudados de la raíz de *Lotus japonicus* como un factor de ramificación de hifas de HMA (Yoneyama *et al.* 2008).

Las estrigolactonas son un grupo de apocarotenoides que se producen en la planta, son exudados por la raíz y actúan como compuestos de señalización en la rizósfera (García *et al.* 2009). Se ha encontrado que las estrigolactonas inducen la expresión de genes mitocondriales fúngicos, incrementan la respiración mitocondrial y aceleran su reorganización antes de la ramificación fúngica. Estos efectos, asociados con un rápido incremento en el metabolismo oxidativo de las mitocondrias, en la concentración de NADH, en la actividad de la NADH deshidrogenasa y el contenido de ATP en la célula fúngica, sugieren la existencia de un mecanismo activo para la captación de estrigolactona y la amplificación de la señalización (Yoneyama *et al.* 2008).

Esta activación de las mitocondrias puede llevar a una oxidación de lípidos, que son la forma en la que las esporas almacenan carbono. Por lo tanto las estrigolactonas pueden ser componentes cruciales de los exudados de la raíz que activan el catabolismo de lípidos en la etapa presimbótica del hongo (Yoneyama *et al.* 2008).

Formación de Apresorios: Después del contacto de la hifa con la raíz, sigue la adhesión y después de 2-3 días, se forma el apresorio. Los apresorios son elongados y elípticos, alineados paralelamente a las células de la epidermis. No se forman apresorios en raíces muertas. No se ha identificado el estímulo morfogenético, pero no parece ser tigmotrópico. No hay contacto o formación de apresorios en plantas no hospederas (Smith y Read 1997).

Penetración y formación de arbusculos y vesículas: La hifa adelgaza su diámetro y forma una clavija cuando penetra la pared celular y se expande de nuevo a medida que entra en el lumen de la célula. La pared celular puede presentar abultamiento mientras la hifa penetra, lo que indica que una presión

mecánica toma parte en este proceso. Se producen enzimas hidrolíticas para degradar la pared. En la planta, se engruesan las paredes de las células de la epidermis, lo que indica un reconocimiento del contacto con el hongo (Smith y Read 1997).

Las células vegetales modifican su membrana plasmática de manera que da espacio al arbusculo en formación y se crea una interfase (apoplasto intracelular) donde se lleva a cabo el intercambio de nutrientes. En las células vegetales que contienen a los arbusculos, el núcleo migra de la periferia al centro. Hay cambios en la localización de las enzimas ATPasas. No hay evidencia de que las hifas inter e intracelulares (con paredes gruesas y bien formadas) eliciten algún sistema de defensa en las células del hospedador. En cambio en el desarrollo de los arbusculos (con pared delgada) existe una respuesta de defensa localizada. Se ha encontrado la actividad de dos fosfatasas en los arbusculos: fosfatasas acidas en las ramificaciones inmaduras del arbusculo y fosfatasas alcalinas en arbusculos maduros y en la hifa intercelular (Smith y Read 1997).

A medida que la hifa envejece se pueden formar vesículas. Son órganos de almacén para el hongo y contiene lípidos y numerosos núcleos. Los géneros *Scutellospora* y *Gigaspora* no forman vesículas. A concentraciones altas de P o baja irradiación se reduce la cantidad de vesículas (Smith y Read 2008).

Actualmente se conocen los efectos que ocasiona esta asociación mutualista sobre las plantas. Entre los cuales se sabe que, promueven el crecimiento vegetal a través de diferentes mecanismos de acción como la producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, mejoran la absorción de agua, incrementan la captación de nutrimentos minerales, especialmente el fósforo, cobre y zinc (Smith y Read 1997). Aumentan la tolerancia a distintos estreses abióticos como la sequía (Sylvia 1998) y el estrés salino (Harris 2012), aumentan la diversidad y población de microorganismos rizosféricos, ocasionando un efecto de supresividad de microorganismos

fitopatógenos en el suelo (De la Noval 2007, Jung *et al.* 2012). Además activan mecanismos de defensa de la planta a nivel genético (De la Noval 2007) e incrementan la resistencia a enfermedades (Aguilera *et al.* 2007, Kapoor 2008; Jung *et al.* 2012). En particular, esta cualidad ha sido ampliamente utilizada como control biológico contra diversos fitopatógenos (Kapoor 2008). Así pues, la composición y dinámica de los HMA, tiene un gran impacto sobre la estructura, diversidad y productividad de las comunidades vegetales con las que se asocia. Por lo que una disminución o pérdida del potencial micorrízico y de la diversidad morfológica y funcional de HMA puede tener efectos adversos sobre el establecimiento y funcionamiento de la comunidad vegetal (Hart y Reader 2002, Munkvold *et al.* 2004).

3.6 Propagación de HMA

Actualmente el uso de HMA en sistemas agrícolas se ha incrementado, sin embargo la naturaleza de simbiote obligado de éstos ha complicado el desarrollo de una producción a gran escala que sea eficiente, rentable y a la vez, producir un inóculo de calidad. Existen tres tipos de propagación de inóculos micorrízicos, cada uno con sus ventajas y desventajas.

El primero es el sistema con base de sustrato. Este es el sistema de producción clásico, donde se cultivan las plantas trampa y el simbiote micorrízico que se quiere propagar en un sustrato a base de arena o suelo (Ijdo 2011). Se requiere de la esterilización y/o desinfección (solarización, fumigación, vaporización) del sustrato con el fin de evitar posibles daños por la presencia de microorganismos fitopatógenos (Ferrera 1993). El proceso de producción normalmente se lleva a cabo bajo condiciones controladas o semicontroladas en invernaderos o cámaras de crecimiento. El inóculo que se propaga es comúnmente, una especie identificada o un consorcio de especies conocidas, aunque en algunos casos se propagan especies que son nativas del lugar en donde serán utilizadas. En producción de HMA a gran escala, se utilizan plantas

como cebolla, poro, sorgo, maíz, pasto, entre otras ya que estas especies vegetales presentan diversas ventajas como ciclos de vida cortos, buen nivel de colonización y tolerancia a bajas concentraciones de P (Ijdo 2011). Las características químicas de los sustratos utilizados son fundamentales para abastecer de nutrimentos a las plantas. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que sustratos altamente ricos en materia orgánica y particularmente fósforo, pueden inhibir la simbiosis micorrízica. No se requiere utilizar sustratos ricos en nutrientes, sino que es posible utilizar sustratos con limitación nutrimental de modo que la simbiosis establecida funcione adecuadamente. No obstante, es importante tener en cuenta aspectos adecuados como el pH que debe de ser 5.8–7.5, contenido de fósforo disponible menor de $20 \mu\text{g g}^{-1}$ de sustrato, materia orgánica menor al 2.0% y tener una conductividad eléctrica o contenido de sales menor a 1.0 dS m^{-1} , que no sólo afectan la simbiosis, sino también a las plantas (Ferrera 1993, Ijdo 2011). El sustrato debe tener características adecuadas para el crecimiento de las plantas (aireación, retención de humedad y disponibilidad de nutrimentos). Con base a esto, el uso de diversos materiales tanto orgánicos como inorgánicos debe de considerar la elaboración de mezclas en proporciones tales, que permitan a las plantas crecer sin problemas. Como materiales orgánicos que pueden ser utilizados se tienen los productos derivados del composteo y vermicomposteo, cachaza, etc. Sin embargo, estos materiales son muy ricos en materia orgánica y para tener un efecto benéfico por la simbiosis, se recomienda utilizar estos productos en dosis menores al 12% (Ferrera 1993).

Otro sistema de producción de inóculos de HMA a gran escala es el sistema libre de sustrato, los cuales pueden ser hidropónicos o aeropónicos. Estos difieren en la forma de aireación y de aplicación de nutrientes. Es sistemas estáticos hidropónicos, en los cuales la solución no fluye, la solución nutritiva debe ser aireada con una bomba para prevenir que a las raíces no les falte oxígeno, pero esta aireación puede dañar las delgadas hifas extrarradicales. Otra opción del sistema sin sustrato es el sistema de flujo de nutrientes, donde la solución nutritiva fluye en canales donde las raíces de la planta y el HMA se desarrollan. Los

sistemas aeropónicos, son una forma de sistema hidropónico, en el que las raíces colonizadas son bañadas en una niebla de solución nutritiva. Para ambos sistemas de producción (hidroponía y aeroponía) es necesario que las plantas pasen por una etapa previa de micorrización durante su estancia en semilleros. Además que se tiene que utilizar especies de HMA que formen esporas dentro de la raíz de la planta, como lo es *Rhizophagus intraradices* (Ijdo 2011).

También existen los sistemas de producción de inóculo de HMA *in vitro*, donde, comúnmente se usa un sistema de raíces transformadas de zanahoria (Mugnier y Mosse 1987, Bécard y Fortin 1988) aunque existen otros tipos de sistemas en los cuales se utilizan plántulas completas cultivadas *in vitro* dentro de tubos estériles. Aunque especies de HMA son cultivables *in vitro*, pocas de ellas son rápidas colonizadoras y que produzcan suficientes propágulos para ser consideradas para una producción a gran escala. Comúnmente se utilizan dos diferentes medios de cultivo, un medio mínimo o medio Strullu Romand (MSR) modificado. Una de las mayores desventajas de este sistema es su elevado costo de producción (Ijdo 2011).

3.7 La Micorriza Arbuscular como Biofertilizante

La disponibilidad, toma e intercambio de nutrientes, mediada por interacciones biotróficas, modulan el crecimiento y la acumulación de biomasa en las plantas, parámetros que son cruciales para el rendimiento del cultivo y producción. Las micorrizas tienen un rol muy importante en estas interacciones, junto con otros microorganismos promotores del crecimiento vegetal.

El papel que juegan los HMA en el desarrollo de los sistemas agrícolas ha sido probado en diversos trabajos y es muy claro el beneficio que le otorgan a las plantas que colonizan (Reyes *et al.* 2002, Castillo *et al.* 2006, Quiñones *et al.* 2012, Rincón *et al.* 2012 Reyes 2012). Se ha estudiado esta simbiosis y se han encontrado beneficios de los HMA en numerosas especies de importancia

económica como lo es el frijol (Daft y El 1974, Bethlenfalvay *et al.* 1982, Ibijbijen *et al.* 1996, Montoya *et al.* 2012, Mortimer *et al.* 2012), donde las plantas micorrizadas presentaban un mayor crecimiento que las no inoculadas, además de presentar sinergia con rizobacterias fijadoras de nitrógeno. En papaya se ha encontrado una alta dependencia este cultivo a la micorrización, debido a sus requerimientos de nutrientes, sobre todo el fósforo (Alarcón 2002, Mamatha *et al.* 2002, Rodríguez *et al.* 2011, Quiñones *et al.* 2012). Para maíz, se reportó un incremento de rendimiento de grano por efecto de los HMA nativos del suelo, sobre todo en suelos con baja fertilización de fósforo (Montaño *et al.* 2001, Díaz *et al.* 2008, Rincón *et al.* 2012).

La aplicación de micorrizas en la producción de frutales ha tomado gran importancia, gracias a los beneficios en crecimiento que los HMA otorgan a las plantas. En 2011, Wu *et al.* evaluaron el efecto de los HMA en el crecimiento de durazneros y encontraron aumento de crecimiento de hasta 45% en biomasa seca, con *Funneliformis mosseae*, en comparación con las plantas no micorrizadas. En 2011, Abd El-Wahab *et al.* estudiaron la influencia de HMA nativos y salinidad en el crecimiento de uva, encontrando un aumento en las variables de crecimiento vegetal (longitud de tallo, diámetro de tallo, área foliar y biomasa) cuando las plantas fueron inoculadas con HMA y una disminución de estos parámetros a mayor concentración salina. También se han encontrado efectos beneficiosos por HMA en palma datilera (Diatta *et al.* 2014) donde hubo diferencias significativas en altura de plantas, en comparación con los controles no inoculados.

Existen diversos trabajos donde se ha investigado la relación entre los HMA y diferentes especies de agave. Dentro de estos trabajos se encuentra el estudio de Pimenta *et al.* (2009) donde se evaluó el efecto de la simbiosis micorrízica en la fotosíntesis, desarrollo foliar y crecimiento *Agave tequilan*, inoculadas plantas jóvenes con dos cepas de HMA (*Glomus fasciculatum* y *Glomus intraradices*). Los resultados mostraron un incremento de la fotosíntesis en plantas inoculadas

(mayor en plantas donde se usó *G. intraradices*), que relacionaron con un aumento en el mesófilo (grosor de la hoja). Sin embargo, la micorrización no tuvo gran efecto en las variables relacionadas con el crecimiento como longitud y ancho de las hojas.

Martínez *et al.* (2009) evaluaron la calidad nutricional de *Agave americana* basados en el contenido de fibra, proteína y minerales, además estimaron la biomasa seca de estas especies en relación con la inoculación de HMA. Se inoculó una cepa nativa de *Glomus intraradices* de la zona de pastizales de Marín, Nuevo León, México y una cepa comercial INIFAP®. La biomasa, cenizas y contenido de P fue más alto en agaves inoculados independientemente del tipo de inóculo utilizado. Estos resultados sugieren una mejor calidad de follaje y producción de biomasa en agave asociado con HMA.

En 1992, Cui y Nobel midieron la concentración de nutrientes de plantas de *Agave desertii*, después de inocularlos con HMA, en condiciones de invernadero. Reportaron que, después de 5 meses de inoculación, el P en las raíces de agaves micorrizados fue significativamente mayor que en plantas sin inoculación. El porcentaje de colonización de agaves micorrizados fue del 8 al 64%.

La absorción de nutrientes por micorrizas no difiere mucho de otros sistemas de absorción. Es activa, depende de energía metabólica y se reduce en presencia de inhibidores. La transferencia de P cargado negativamente, requiere un balance de cargas. Transferencia simultánea de iones positivos (K o arginina). La transferencia de C orgánico al hongo no representa un gasto energético para la planta. El C es desviado del crecimiento de raíz al crecimiento del hongo, resultando en raíces más pequeñas (Smith y Read 1997).

Por otro lado, la hifa extrarradical crece en el suelo no colonizado por la raíz y son más eficaces que la raíz en competencia con otros microorganismos del suelo por el fósforo inorgánico (Pi). La cinética de absorción del P en las hifas es

diferente a la de las raíces y tiene mayor afinidad. Se incrementa la solubilidad del Pi o se hidroliza el fósforo orgánico (Po), por alteraciones del pH, producción de aniones orgánicos y fosfatasas (Smith y Read 1997).

3.8 La Micorriza Arbuscular como agente de control biológico y bioprotector

La utilización de HMA puede prevenir el ataque de bacterias y hongos fitopatógenos asociados a las enfermedades que afectan el agave. La prevención de enfermedades mediante el uso de HMA tiene sus bases en que esta simbiosis da como resultado plantas mejor nutridas, sanas y vigorosas por la adquisición de nutrientes poco disponibles para las plantas pero accesibles a los hongos micorrízicos y por el aumento de las poblaciones microbianas, lo que genera una serie de interacciones benéficas (Riveros 2010).

El efecto de bioprotección otorgada por las micorrizas puede deberse a diferentes mecanismos de acción, como lo son:

Mejora del estado nutricional de la planta: la simbiosis micorrízica otorga una mejora en la toma de nutrientes, lo que resulta en plantas más vigorosas. Por esto, la planta por sí misma es más resistente o tolerante al ataque de fitopatógenos (Azcón y Barea 1996).

Competencia por fotosintatos con patógenos: Al igual que los HMA, los patógenos aprovechan los fotosintatos de la planta para su desarrollo. Cuando el HMA accede primero a los carbohidratos de la planta, la mayor demanda de carbono por parte del HMA inhibe el crecimiento del patógeno (Azcón y Barea 1996).

Cambios en la micorrizósfera: La formación de la simbiosis micorrízica induce cambios en la fisiología de su hospedador que son decisivas en los patrones de los exudados radicales y en consecuencia, causan alteraciones

cuantitativas y cualitativas en las poblaciones microbianas de la rizósfera (Azcón y Bago 1994).

Cambios anatómicos y fisiológicos en la raíz: Se ha demostrado que la colonización por HMA induce cambios en la morfología del sistema radical, así como en la actividad meristemática y nuclear de las células de la raíz. Esto afecta las interacciones de la rizósfera, especialmente el desarrollo de infecciones patogénicas (Azcón y Bago 1994).

Activación de los mecanismos de defensa de la planta (Resistencia Inducida por Micorriza, RIM): El establecimiento de asociaciones mutualistas involucra reconocimiento mutuo y un alto grado de coordinación basada en un continuo dialogo molecular entre ambos simbioses. En cuanto a la percepción de cualquier organismo extraño, diferentes vías de señalización operan en la planta para coordinar la respuesta apropiada. Estas cascadas de señales están coordinadas por “señales de alarma” que regulan diferentes conjuntos de genes relacionados con la defensa de la planta (Pozo y Azcón 2007).

Como biótrosos obligados los HMA comparten similitudes con los patógenos biótrosos, incluyendo su sensibilidad a las defensas reguladas por el Ácido Salicílico (AS). Se ha visto que se activan solo respuestas de defensa locales y débiles durante las primeras etapas de la interacción de la micorriza. Es posible que los HMA repriman la respuesta dependiente del AS en el hospedador para poder lograr una colonización exitosa, lo cual podría explicar el retraso en la acumulación sistémica de proteínas PR (Relacionadas a la patogénesis) (Pozo y Azcón 2007).

La atenuación de las defensas de la planta no es lo único que se necesita para una interacción mutualista exitosa con los HMA. Después del reconocimiento, se activa un programa que permite la redistribución de nutrientes y activa la distribución espacial del hongo dentro de las células de la raíz. Ambos aspectos

podrían estar regulados por jasmonatos. Los genes involucrados en la biosíntesis de Ácido Jasmónico (JA) se expresan en las células que contienen arbusculos, las raíces micorrizadas están asociadas con un aumento endógeno de los niveles de JA (Smith y Read 1997, Pozo y Azcón 2007). Este incremento ocurre después del comienzo de la colonización por los HMA (Pozo y Azcón 2007).

Se han realizado estudios en diversos cultivos, investigando la relación entre la inoculación de HMA y la disminución de enfermedades producidas por patógenos. En muchos de ellos se hacen análisis de las concentraciones de sustancias reguladoras de los sistemas de resistencia. En otros casos, solo se observa la sintomatología de la enfermedad y se estima si hay una disminución de la severidad de esta por efecto de las micorrizas.

Jaiti *et al.* (2007) evaluaron la efectividad de los HMA contra *F. oxysporum*, causante de la marchitez y la inducción de algunas reacciones bioquímicas relacionadas con la defensa de las plantas (peroxidasas y polifenoloxidasas) en palma datilera (*Phoenix dactylifera*). Utilizando tres cepas de HMA (*Glomus monosporus*, *G. desertícola* y *G. clarum*) y un consorcio nativo de las plantaciones de palma, encontraron que la actividad de peroxidasa (POX) no fue afectada por la micorrización. Sin embargo, después de la infección por *Fusarium* se incrementó la actividad POX en plantas micorrizadas con el consorcio nativo comparadas con las no micorrizadas. La actividad polifenoloxidasa (PFOX) fue similar en plantas micorrizadas y no micorrizadas antes de la inoculación con *Fusarium oxysporum*; después de la infección con *Fusarium* se presentó un incremento de la PFOX similar a POX solo en plantas inoculadas con el consorcio nativo. Así mismo, las plantas asociadas con el consorcio nativo presentaron el mejor crecimiento y redujeron la incidencia de la marchitez provocada por *F. oxysporum*, en comparación con las plantas sin HMA. Los HMA indujeron cambios en la actividad de enzimas relacionadas con la defensa de la planta cuando estas eran infectadas por el fitopatógeno.

En 2008, Kapoor realizó un estudio donde evaluó el potencial de *Glomus macrocarpum* y *G. fasciculatum* en el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, el agente causal de la marchitez del tomate. Se infectaron con *F. oxysporum* plántulas de tomate y 20 días después se trasplantaron a macetas con arena y suelo estéril y se inocularon con las dos cepas de HMA. Al final del experimento, evaluaron la incidencia de la enfermedad, el crecimiento de las plantas, actividad de fenilalanina amonía liasa (PAL) y concentración de Ácido Jasmónico. Las dos cepas de HMA fueron capaces de colonizar las raíces infectadas con *F. oxysporum*. Estas redujeron la extensión del patógeno y la enfermedad en más del 75%. Se observó un incremento y mejor nutrición en las plantas inoculadas con HMA. La colonización micorrízica en plantas infectadas con *F. oxysporum* indujo hasta 6 veces más la actividad PAL. El nivel de JA en las plantas sin micorrización fue de 0.49 nM g^{-1} . La micorrización incrementó significativamente la concentración, obteniéndose 9.3 nM g^{-1} . El incremento de ácido jasmónico (AJ) endógeno en plantas micorrizadas fue correlacionado con una mejora en las respuestas de defensa (medidas con la actividad PAL). Los resultados sugieren que el AJ está implicado en la resistencia sistémica inducida por micorrizas.

Al-Askar y Rashad (2010) evaluaron la efectividad de los HMA para proteger a la planta de frijol contra la pudrición de la raíz causada por *Fusarium*. Utilizaron una mezcla de *Glomus mosseae*, *G. intrarradices*, *G. clarum*, *Gigaspora gigantea* y *Gigaspora margarita* en suspensión a 10^6 unidades L^{-1} . Sus resultados demostraron que la micorrización redujo significativamente el porcentaje de la severidad de la enfermedad y la incidencia en plantas infectadas. Por otro lado, la micorrización incremento el crecimiento y la concentración de nutrientes. Finalmente, la colonización micorrízica llevo a un incremento en el contenido fenólico y en las actividades de enzimas relacionadas con la defensa de la planta (PAL, Polifenoloxidasa y peroxidasas). Estos resultados llevaron a la conclusión de que la aplicación de HMA como agente de biocontrol juega un rol importante en

la resistencia de la planta y exhibe un gran potencial como bioprotector contra infecciones fúngicas.

Los trabajos que se han realizado con plantas del género *Agave* en simbiosis con micorrizas han demostrado que éstos tienen una influencia benéfica en su crecimiento (Cui y Nobel 1992, Martínez *et al.* 2009, Pimienta *et al.* 2009). Sin embargo, no existen estudios en cuanto a la relación de las micorrizas y la protección contra patógenos. Los trabajos de protección realizados en otras especies han mostrado tener buenos resultados, probando que en efecto existe una protección para estas especies vegetales. Por lo que es de gran importancia evaluar el probable efecto bioprotector de los HMA en agave.

IV HIPÓTESIS

4.1 Hipótesis General

Los sustratos pobres en nutrientes promoverán una mayor producción de esporas de hongos micorrízicos arbusculares nativos usando como planta trampa el agave y la inoculación con HMA nativos promoverá el crecimiento de las plantas de agave y disminuirá los síntomas de la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* en *Agave tequilana*.

4.2 Hipótesis específicas

El uso de sustratos con pocos nutrientes junto con la planta de agave como cultivo trampa, promoverá eficientemente la producción de esporas de HMA nativos.

La inoculación con HMA nativos de Michoacán promoverá el crecimiento de *A. cupreata*, *A. inaequidens* y *A. tequilana* respecto a plantas no inoculadas.

La inoculación con HMA nativos disminuirá los síntomas de la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* en *Agave tequilana*.

V OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Evaluar diferentes mezclas de sustratos y plantas trampas en la producción de esporas de HMA nativos y determinar la respuesta en crecimiento de tres especies de agaváceas a la micorrización con diversos inóculos de HMA nativos de plantaciones de agave en Michoacán y su efecto bioprotector contra *Fusarium oxysporum* en *Agave tequilana*.

5.2 Objetivos Específicos

- Aislar HMA autóctonos de suelos de regiones productoras de *A. tequilana* de la región de la Denominación de Origen del Tequila (DOT) en Michoacán.
- Propagar los inóculos de los HMA autóctonos aislados de suelos empleando diferentes sustratos.
- Evaluar el efecto de los inóculos de HMA nativos propagados sobre el crecimiento y desarrollo de tres especies de agave en condiciones de invernadero.
- Evaluar el efecto de los HMA nativos propagados como bioprotectores de enfermedades de tipo fúngico (*Fusarium oxysporum*) en agave tequilero bajo condiciones de invernadero.

VI RESULTADOS

Para cumplir los objetivos de este trabajo, se realizaron tres experimentos. En el primero de ellos, se realizó un muestreo de suelo en plantaciones de *Agave tequilana* en la Denominación de Origen del Tequila de Michoacán (municipios de Jiquilpan, Villamar y Venustiano Carranza), de los cuales se obtuvieron los inóculos micorrízicos que posteriormente se propagaron en diferentes sustratos con plantas de *Agave tequilana* y papaya. Este experimento se llevó a cabo en el Unidad de Biotecnología Vegetal de Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) A. C., en la ciudad de Guadalajara, Jal. El objetivo de este experimento fue determinar una combinación de sustratos y especie vegetal efectiva para la propagación de inóculos nativos de la DOT-Michoacán, así como determinar en qué sitio se encontraban HMA autóctonos que fueran efectivos para promover el crecimiento de agave.

El segundo experimento consistió en evaluar el efecto de inóculos micorrízicos nativos de plantaciones de agave de Michoacán sobre el crecimiento de tres especies de agave. Debido al lento crecimiento de los agaves y por cuestiones de tiempo, se decidió utilizar inóculos micorrízicos provenientes de plantaciones de *Agave cupreata* obtenidos en la Denominación de Origen del Mezcal en Michoacán. Estos inóculos fueron previamente propagados en macetas trampa durante ocho meses en CIATEJ (Trinidad *et al.* 2012) y evaluados en cultivos de chile, maíz, frijol (Reyes 2012) y papaya (Quiñones *et al.* 2012, Alvarez 2013), donde se obtuvieron buenos resultados en el crecimiento de las plantas y se observó un beneficio por parte de la micorrización con estos inóculos. Este experimento se llevó a cabo en el Instituto de Investigaciones Agrícolas y Forestales (IIAF) de la UMSNH, en Tarímbaro, Mich. con inóculos provenientes de CIATEJ.

El tercer experimento se dividió en dos partes. En la primera se estableció un experimento para generar una escala ordinal de severidad o virulencia (síntomas de la enfermedad) provocada por *Fusarium oxysporum* en plantas jóvenes, provenientes de bulbilos de *Agave tequilana*. Este experimento se llevó a cabo en IIAF y se utilizó la cepa de *F. oxysporum* (Clave FPC) provista por la Unidad de Biotecnología Vegetal de CIATEJ. La segunda parte consistió en evaluar el efecto bioprotector de los HMA contra esta enfermedad. Para esta parte se utilizó un consorcio micorrízico de los que se evaluaron en el segundo experimento y una cepa comercial. Se utilizó como patógeno la misma cepa de *F. oxysporum* que se utilizó para establecer la escala de severidad. Este experimento se llevó a cabo en IIAF.

A continuación, se presentan los resultados de cada experimento, con su metodología, resultados, discusión y conclusiones. Posteriormente se discuten los resultados de manera general y finalmente se proponen sugerencias y expectativas para futuras investigaciones.

6.1 Propagación de HMA provenientes de la DOT-Michoacán y su efecto en el crecimiento de *Agave tequilana* y *Carica papaya* L.

6.1.1 Resumen

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) forman una de las asociaciones importantes con las plantas, por lo que la producción inoculantes de HMA es fundamental para lograr implementarlos como biofertilizante y cubrir la demanda de insumos agrícolas ecológicos. En este estudio se buscó una combinación de sustratos (arena, agrolita y vermicomposta) y especies vegetales (*Agave tequilana* y *Carica papaya* L.) efectiva para la propagación de inóculos nativos de plantaciones de agave tequilero de Michoacán, de los municipio de Jiquilpan, Villamar y Venustiano Carranza. Para esto se realizó un experimento completamente al azar con arreglo factorial 4x2x4 evaluando cuatro diferentes combinaciones de sustrato, dos especies vegetales (agave y papaya) y tres inóculos nativos de la DOT-Michoacán y un control sin HMA. Se evaluó la producción de esporas, la colonización micorrízica y diferentes variables de crecimiento en las plantas como altura, número de hojas, diámetro del tallo y biomasa. Se realizó un análisis de varianza y prueba de Tukey con un IC de 95%. Los resultados mostraron que el sustrato arena tuvo la mayor producción de esporas con 315.35 esporas producidas en 600 g de sustrato. Los tratamientos con plantas de agave resultaron tener la mayor producción de esporas que las plantas de papaya (358.812 y 158.5, respectivamente). Se registró un incremento en el crecimiento de las plantas micorrizadas el cual fue mayor cuando, estuvieron creciendo en sustratos donde se adicionó materia orgánica.

6.1.2 Abstract

The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) form one of the more important associations with plants, making the production of AMF inoculum essential to achieve implement as biofertilizer and meet the demand for organic agricultural

inputs. In this study a combination effective of substrates (sand, perlite and vermicompost) and vegetables species (*Agave tequilana* and *Carica papaya* L.) for the propagation of native inoculum from agave tequilero plantations of Michoacán from the municipality of Jiquilpan, Villamar and Venustiano Carranza was founded. To achieve this, an experiment was conducted in a completely randomized 4x2x4 factorial arrangement with four different combinations of substrate, three native inoculum of the DOT- Michoacán and a control without AMF and two plant species (agave and papaya). Spore production, mycorrhizal colonization and height, number of leaves, stem diameter and biomass as growth variables in plants were evaluated. Analysis of variance and Tukey test with 95% of confiability was performed. We found that sand substrate had the highest production of spores with 315.35 produced spores. Treatments with agave plants have increased production of spores more than papaya plants (358.812 and 158.5 spores produced, respectively). An increase in the growth of mycorrhizal plants was observed, which was higher when growing on substrates added with organic material.

6.1.3 Introducción

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) forman una de las asociaciones importantes con las plantas: las micorrizas. Estudios fisiológicos y nutrimentales de esta asociación han revelado que se promueve el crecimiento vegetal, debido a una mayor captación de agua, absorción de nutrimentos, aumento en la diversidad de microorganismos de la rizósfera y formación de agregados en el suelo (Smith y Read 1997).

La producción de inoculantes de HMA a gran escala es fundamental para lograr implementarlos como biofertilizante y cubrir la demanda de insumos agrícolas ecológicos que poco a poco se incrementa. Hasta la fecha, existen tres tipos de producción de inóculos de HMA: Clásico (en base de sustrato suelo), libre de sustrato (hidropónia y aeropónia) e *in vitro* (Ijdo *et al.* 2011). El tipo de producción más utilizada es aquel donde se utiliza una base de sustrato. La mayor

desventaja de este tipo de producción es que no se puede garantizar la ausencia de contaminantes y patógenos, incluso con los más estrictos sistemas de control de calidad. Además, este es un método que utiliza mucho espacio para la producción de esporas, debido al uso de camas e invernaderos (Ijdo *et al.* 2011).

El sustrato de crecimiento para las plantas tiene relevante importancia en función del contenido nutrimental y características físicas y biológicas. De esta misma forma, el sustrato es fundamental en el establecimiento y funcionalidad de la simbiosis micorrízica y para que el efecto benéfico de la simbiosis se exprese.

En la producción clásica, la composición del sustrato es lo más importante para una producción exitosa. Varios sustratos se han probado para la propagación de inóculos, ya sean puros o mezclados. El suelo y la arena son los más utilizados (Douds y Schenck 1990). Los substitutos para el sustrato se han utilizado con diferentes propósitos. Por ejemplo, sustratos relativamente inertes (vermiculita, perlita, agrolita) se han utilizado para diluir suelo y composta ricos en nutrientes (Douds *et al.* 2006). En contraste, la composta y otros sustratos orgánicos, como peat moss, se pueden añadir a suelos deficientes de nutrientes (Gaur y Adholeya 2002). Por lo cual buscar una combinación adecuada de sustratos y substitutos es el primer y paso para una propagación de inóculos de HMA exitosa.

El objetivo de este trabajo fue encontrar el mejor sustrato y especie vegetal para la propagación de inóculos nativos de plantaciones de agave de Michoacán; además de evaluar su influencia sobre el crecimiento de agave y papaya.

6.1.4 Materiales y Métodos

Para la obtención de los consorcios nativos de HMA se colectó suelo rizosférico de plantaciones de *Agave tequilana* de tres municipios dentro de la zona de denominación de origen del tequila (DOT) del estado de Michoacán (Jiquilpan de Juárez, Villamar y Venustiano Carranza), los días 13 y 14 de

septiembre de 2012. En esta región domina la vegetación de pradera con mezquite (*Prosopis laevigata*), nopal (*Opuntia ficus-indica*), huisache (*Acacia farnesiana*) y yuca (*Manihot esculenta*). Los puntos de muestreo y ubicación de las parcelas se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Sitios de muestreo para obtención de inóculos nativos de HMA en plantaciones de agave tequilero (DOT-Michoacán).

Municipio	Localidad	Sitio de muestreo	Tipo de plantación/ Edad (plantación)	Ubicación geográfica	Altitud (msnm)	Clave consorcio HMA
Jiquilpan de Juárez	Totalán	Cebadas 8	<i>A. tequilana</i> cultivado/ 5 años	N 19°58'45.01" O 102°39'30.76"	1628	CE8-MJ
	Jiquilpan	El Tepehuaje	<i>A. tequilana</i> cultivado/ 3 años	N 19° 24' 20.1" O 101° 11' 57"	1645	ET-MJ
Villamar	San Antonio Guaracha	La Presa "parcela escolar"	<i>A. tequilana</i> cultivado/ 3 meses	N 19°58'24.39" O 102°33'59.32"	1602	LPE-MVM
Venustiano Carranza	La Palma	La Palma	<i>A. tequilana</i> cultivado / 3 años	N 20° 8'0.23" O 102°46'16.37"	1575	LP-MVC
		La Nueva Palma	<i>A. tequilana</i> cultivado/ 2 años	N 20° 8'14.09" O 102°46'5.93"	1555	LNP-MVC

De estos cinco sitios de muestreo, se seleccionaron tres para la realización de este experimento, uno de cada municipio y procurando tener sitios con agaves de diferentes edades. Por lo cual, se seleccionaron los sitios de Cebadas 8 (CE8-MJ), La Presa Escolar (LPE-MVM) y La Nueva Palma (LNP-MVC).

Siguiendo la metodología propuesta por Trejo *et al.* (2008) se seleccionaron cuatro plantas de agave de cada predio para efectuar los muestreos de rizósfera. Se obtuvieron muestras de suelo de aproximadamente 2 kg de cada una, las cuales fueron depositadas en bolsas de polietileno debidamente etiquetadas. De cada planta se extrajo suelo rizosférico entre 0 a 20 cm de profundidad. Se eligieron las plantas de mayor tamaño.

Al suelo obtenido de campo se le realizaron análisis fisicoquímicos (Anexo 1) (Laboratorio SEANA, Servicios Analíticos Agroindustriales, Tarímbaro Mich.) donde se obtuvieron las siguientes características de cada suelo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características químicas de los suelos muestreados en la DOT-Michoacán.

Sitio de muestreo	pH	Conductividad (dS.m ⁻¹)	% Materia Orgánica	N Amon. (ppm)	N orgánico (kg.ha ⁻¹)	P (ppm)	K (ppm)
CE8-MJ	7.11	0.191	2.8	15	30	75	85
LPE-MVM	6.08	0.29	2.45	10	15	65	75
LNP-MVC	4.09	0.424	2.6	15	17.5	25	50

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma

Las plantas empleadas en el experimento de *Agave tequilana* se obtuvieron a partir de bulbilos, recolectados en octubre de 2012, en Guadalajara, Jal. Las plantas de papaya se obtuvieron por germinación de semillas en charolas con arena esterilizada en autoclave durante 8 horas a 121°C.

Se utilizaron cuatro mezclas de sustratos esterilizados que consistieron en Arena, Arena y Agrolita (proporciones 80:20, respectivamente), Arena y Materia Orgánica (Vermicomposta) (80:20) y Arena, Agrolita y Materia Orgánica (60:20:20). Los sustratos se tamizaron para homogenizarlos y se esterilizaron en caldera tipo autoclave a 120°C por 8 horas.

Se usaron macetas de unicel de 1 L, las cuales se llenaron con las diferentes proporciones de sustratos, completando un total de 500 g. Además, se agregaron 100 g de suelo-inóculo proveniente de las plantaciones de agave y un control negativo sin HMA (100 g de arena estéril). Se mezcló el sustrato con el inóculo hasta obtener una mezcla homogénea. Se regaron las macetas y se colocó un bulbilo de agave o se trasplantó una plántula de papaya en cada una, según correspondía.

Se obtuvieron 32 tratamientos (Cuadro 3) generados de cuatro niveles de sustrato, cuatro niveles de inóculo y dos especies vegetales, en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4x4x2.

Cuadro 3. Diseño de tratamientos evaluados en el experimento de HMA nativos de la DOT Michoacán con diferentes sustratos en agave tequilero y papaya.

Especie vegetal empleada	Inóculo de HMA	Sustratos (proporción)	Tratamiento
<i>A. tequilana</i>	CE8-MJ	Arena	1
		Arena+MO (80:20)	2
		Arena+Agro (80:20)	3
		Are+Agro+MO(60:20:20)	4
	LPE-MVM	Arena	5
		Arena+MO (80:20)	6
		Arena+Agro (80:20)	7
		Are+Agro+MO(60:20:20)	8
	LNP-MVC	Arena	9
		Arena+MO (80:20)	10
		Arena+Agro (80:20)	11
		Are+Agro+MO(60:20:20)	12
	Sin HMA	Arena	13
		Arena+MO (80:20)	14
		Arena+Agro (80:20)	15
		Are+Agro+MO(60:20:20)	16
<i>C. papaya</i>	CE8-MJ	Arena	17
		Arena+MO (80:20)	18
		Arena+Agro (80:20)	19
		Are+Agro+MO(60:20:20)	20
	LPE-MVM	Arena	21
		Arena+MO (80:20)	22
		Arena+Agro (80:20)	23
		Are+Agro+MO(60:20:20)	24
	LNP-MVC	Arena	25
		Arena+MO (80:20)	26
		Arena+Agro (80:20)	27
		Are+Agro+MO(60:20:20)	28
	Sin HMA	Arena	29
		Arena+MO (80:20)	30
		Arena+Agro (80:20)	31
		Are+Agro+MO(60:20:20)	32

CE8-MJ= Cebadas 8, LPE-MVM= La Presa Escolar, LNP-MVC= La Nueva Palma, MO= Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro= Agrolita.

Para papaya el experimento finalizó a los 90 días después del trasplante (DDT) y para agave a los 180 DDT.

VARIABLES DE RESPUESTA EVALUADAS

Crecimiento Vegetal: Se registró el peso fresco de cada órgano en ambas especies vegetales con ayuda de una balanza analítica. Para el peso seco, la parte aérea y radical de las plantas se envolvieron por separado en papel aluminio y se colocaron en estufa a 60° C hasta obtener un peso constante.

Para papaya se midió altura de planta, diámetro del tallo y número de hojas y para agave solo se registró el número de hojas. La altura de la planta en cm, se midió de forma manual con una regla, partiendo desde la base del tallo hasta el ápice de la última hoja. El diámetro del tallo (mm), se midió con un vernier digital a la altura de la base. El conteo de hojas se hizo de manera directa, considerando una hoja completamente formada.

Microbiológicas: se realizó un conteo de la densidad de esporas. La extracción de esporas se realizó por medio de la técnica de tamizado y decantado húmedo (Gerdemann y Nicolson 1963) y gradiente de sacarosa (Walker 1997). Para esto se pesaron 60 g de suelo y se colocaron en un vaso de precipitados de 1 L. Se agregó agua y se agitó vigorosamente por tres minutos. Se dejó reposar por 15 segundos y se pasó el sobrenadante por una serie de tamices ordenados de mayor a menor (600 μm , 75 μm y 45 μm). Se recogió el contenido de los tamices de 75 y 45 μm con ayuda de una piseta con agua desionizada, para ser colocados en tubos para centrifuga. Se centrifugó a 2500 rpm por cinco minutos y se desechó el sobrenadante. Al precipitado se agregó solución de sacarosa al 50% y se agitó. Se volvió a centrifugar a 2000 rpm por un min y se pasó el sobrenadante por el tamiz de 45 μm . Se recolectó lo que quedó en el tamiz y se observó en un estereoscopio para hacer el conteo de esporas.

Con base en el conteo de esporas al final del experimento, se calculó la producción total de esporas de HMA en los diferentes tratamientos. Para esto, del

total de esporas encontradas en cada maceta al final del experimento (600 g) se le restó la cantidad de esporas del conteo inicial.

Se cuantificó el porcentaje de colonización de las raíces utilizando la técnica de clareo y tinción de raíces de Phillips y Hayman (1970) con modificaciones y el método de estimación de colonización de Mcgonigle *et al.* (1990). Para esto se cortó una porción de raíz y se colocó en cassettes de inclusión para tejidos y estos se colocaron en un vaso de precipitados. Se añadió KOH al 10% hasta cubrir los cassettes y se colocó el vaso a baño María a 50°C por 30 min. Se decantó el KOH y se lavaron con agua desionizada. Después, se agregó agua oxigenada al 9% para raíces de agave y al 5% para raíces de papaya. Se volvió a colocar en el baño María por 30 min y se decantó el agua oxigenada. Posteriormente se añadió HCl 0.1 N y se dejó actuar por ocho minutos. Se decantó el HCl y se agregó azul de tripano al 0.05%. Se colocó en el baño María por 30 min y se decantó el azul de tripano. Se colocaron las raíces en lactoglicerol para conservarlas hasta su observación al microscopio. Para ser observadas al microscopio, las raíces se cortaron en fragmentos de 1 cm y se colocaron 30 fragmentos en cada portaobjetos. Se cuantificó el porcentaje de colonización de la siguiente manera:

$$\% \text{ CM} = \frac{(\text{TCO} - \text{CNoC})}{\text{TCO}}$$

Donde % CM es el porcentaje de colonización micorrízica, TCO es el total de campos observados y CNoC es el número de campos observados no colonizados por estructuras fúngicas.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete STATGRAPHICS Centurion XV. Se realizó un análisis de varianza, con tres factores, especie vegetal, inóculo de HMA y sustrato, con dos, cuatro y cuatro niveles, respectivamente. Se realizó

una prueba de Tukey con intervalo de confianza de 95%, en los casos donde el ANOVA resultó significativo.

6.1.5 Resultados y Discusión

Se buscó el mejor sustrato y especie vegetal para la propagación de inóculos nativos de plantaciones de agave de Michoacán; además se evaluó su influencia sobre el crecimiento de agave y papaya. Se encontraron los siguientes resultados.

6.1.5.1 Producción de esporas y colonización micorrízica

Después de obtener las muestras de suelo de campo, se le realizó un conteo de esporas a cada una para obtener la densidad de esporas iniciales (Cuadro 4). La mayor cantidad de esporas se encontró en el sitio La Nueva Palma (LNP-MVC), este sitio respecto a los otros tuvo un pH menor (4.09) y más vegetación acompañante, lo cual podría indicar que las esporas encontradas pudiesen estar en simbiosis con las raíces de estas plantas y no precisamente con los agaves.

Cuadro 4. Densidad de esporas iniciales en el suelo-inóculo.

Inoculo	Esporas en 100 g de suelo
CE8-MJ	790
LPE-MVM	429
LNP-MVC	1441

CE8-MJ= Cebadas 8, LPE-MVM= La Presa Escolar, LNP-MVC= La Nueva Palma.

En 2009, Pérez y Fuentes obtuvieron una función de probabilidad, la cual permite medir las posibilidades de ocurrencia del evento esporulación de HMA nativos en función del pH y el potasio del suelo.

$$\hat{p} = \frac{e^{15.048 - 2.879 * PH + 5.077 * K}}{1 + e^{15.048 - 2.879 * PH + 5.077 * K}}$$

Calculando la probabilidad de esporulación con la fórmula propuesta a los sitios muestreados, se tendría que la mayor probabilidad la tendría en el sitio LNP, lo cual concuerda con los datos del análisis de densidad de esporas.

Respecto al número y producción de esporas, los resultados mostraron efecto significativo de cada una de las variables evaluadas así como de sus interacciones (excepto en la interacción especie X sustrato). En cuanto al factor inóculo de HMA, el proveniente del sitio CE8-MJ tuvo la mayor cantidad y producción de esporas con 273.055 en 100 g y 848.333 esporas en los 600 g de sustrato, siendo estadísticamente mejor que los tratamientos LPE-MVM, LNP-MVC y sin HMA (Cuadro 5). En el sitio LNP-MVC se obtuvo una producción negativa ya que se obtuvo una menor cantidad de esporas al final del experimento, que las iniciales.

Para el factor sustrato, se encontró la mayor producción de esporas en el sustrato de arena+agrolita+MO con 315.52 esporas producidas en 600 g (Cuadro 5) aunque resultó ser estadísticamente similar al sustrato de arena. Finalmente para el factor especie vegetal, en agave se obtuvo la mayor producción de esporas que en papaya, con 358.812 esporas producidas en 600 g (Cuadro 5).

Para la colonización micorrízica (Fig. 4), se encontró efecto significativo para los factores inóculo y sustrato, no así para el factor especie vegetal y la interacción especie X inóculo (Cuadro 5). El porcentaje de colonización donde se utilizaron inóculos fue estadísticamente igual entre ellos y en promedio obtuvieron un 43%, en el tratamiento sin HMA no se obtuvo colonización. En el sustrato arena, se obtuvo la mayor colonización con 39.2575 % (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto del inóculo de HMA, sustratos y especie vegetal en el número y producción de esporas y colonización al final del experimento.

Factor	Núm. de esporas / 100 g de suelo	Producción de esporas	Porcentaje de Colonización
CE8-MJ	273.0555 a	848.333 a	45.0754 a
LPE-MVM	113.4226 c	251.8690 b	43.3876 a
LNP-MVC	195.4013 b	-268.2593 c	41.8750 a
Sin HMA	24.2261 d	145.3571 b	0 b
Sustrato			
Arena	162.5926 a	315.3580 a	39.2575 a
Are+MO	134.1071 b	139.8095 b	31.8135 b
Are+Agro	140.0926 b	204.4568 ab	31.5278 b
Are+Agro+MO	163.3928 a	315.5238 a	27.7392 b
Especie			
Agave	170.608 a	358.812 a	31.115 a
Papaya	137.222 b	158.500 b	34.054 a
Probabilidad de F			
Especie Vegetal	***	***	NS
Inoculo de HMA	***	***	***
Sustrato	***	***	***
Especie*Inóculo	***	***	NS
Especie*Sustrato	NS	NS	***
Inóculo*Sustrato	***	***	***
Especie*Inóculo*Sustrato	***	***	***

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma, MO = Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro = Agrolita. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para inóculo, sustrato y especie vegetal según Tukey ($P \leq 0.05$). ***, Significativo ($P \leq 0.001$), NS, No significativo.

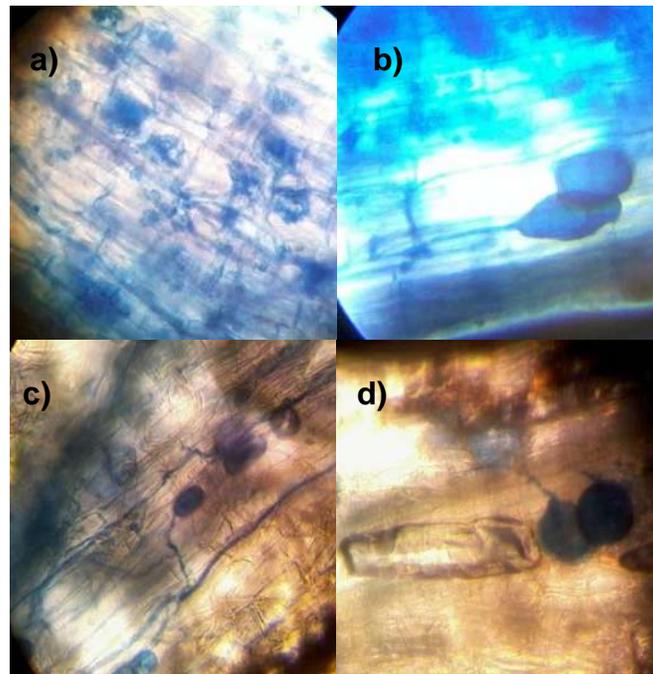


Figura 4. Estructuras fúngicas dentro de las raíces de papaya (a,b) y *Agave tequilana* (c, d).

El efecto del factor inóculo de HMA sobre la producción y densidad de esporas podría ser explicado con las condiciones de las plantaciones de agave de donde se colectaron los inóculos. En la parcela Cebadas 8 (Jiquilpan) los agaves sembrados eran de mayor edad que en los otros sitios, mientras que en el sitio de La Nueva Palma (Venustiano Carranza) los agaves tenían una edad de 2 años y los de La Presa “Escolar” (Villamar) los agaves estaban recientemente transplantados con 3 meses de edad (Cuadro 1). Es posible que los HMA presentes en la rizosfera de Cebadas 8 tuvieron más tiempo para adaptarse a la simbiosis con las raíces de agave (Hetrick y Bloom, 1986). El sitio de La Nueva Palma (Venustiano Carranza) fue un sitio donde había gran cantidad de vegetación acompañante, por lo que es posible que muchas de las esporas encontradas al inicio hayan estado en simbiosis con las raíces de éstas y no con las plantas de agave y cuando fueron inoculadas en el experimento, tuvieron dificultad para asociarse a las plantas de agave. Esto podría explicar la baja producción de esporas encontradas con este inóculo, en comparación con la carga inicial de esporas que había.

Los niveles del factor especie (agave y papaya) resultaron ser significativos estadísticamente, probablemente porque los inóculos utilizados provenían de plantaciones de *Agave tequilana* y las esporas ya estaban adaptadas a la simbiosis con esta especie vegetal. En 1986, Hetrick y Bloom, tuvieron un resultado similar en cuanto a la influencia del cultivo trampa y los HMA. Ellos probaron la influencia de la planta hospedadora en la producción de esporas y la colonización micorrízica. Utilizando como plantas trampa, tomate, sorgo, esparrago, trébol rojo y caléndula, probaron tres especies de *Glomus* (*G. fasciculatum*, *G. macrocarpum* y *G. mosseae*) propagadas con sorgo. No encontraron diferencias en la producción de esporas entre ninguna de las plantas trampa con los HMA *G. macrocarpum* y *G. mosseae*, pero con *G. fasciculatum* se encontró que hubo una mayor producción de esporas por maceta en las plantas de sorgo. Esto sugiere que los HMA difieren en su respuesta a su planta hospedadora; mientras algunos HMA parecen menos afectados por la planta trampa, la producción de esporas de algunos otros está altamente afectada por la planta trampa en la que fueron cultivados (Hetrick y Bloom 1986). Al igual que los resultados encontrados, los inóculos probados, tuvieron una mayor esporulación en la planta trampa de la cual provenían originalmente, en este caso agave.

En cuanto al efecto del sustrato sobre la esporulación, se sabe que sustratos altamente ricos en materia orgánica y particularmente fósforo, pueden inhibir la simbiosis micorrízica. Como materiales orgánicos que pueden ser utilizados se tienen los productos derivados del composteo y vermicomposteo, cachaza, bonote de coco, etc. Sin embargo, estos materiales son muy ricos en materia orgánica y para tener un efecto inhibitorio en la simbiosis, se recomienda utilizar estos productos en dosis menores al 12%. (Ferrera 1993). Esto explicaría el porque el sustrato que contenía materia orgánica (en un 20%) fue el sustrato con menor producción de esporas. Pero se observó que al adicionarse agrolita, la producción de esporas se incrementó significativamente. Esto pudo deberse a las

propiedades físicas que le confirió la agrolita al sustrato, como mejor aereación y drenaje, parámetros que tienen influencia en la esporulación (Ijdo *et al.* 2011).

Se esperaba que la colonización en papaya fuera mayor, al ser esta una planta altamente micotrófica. En 2011, Vázquez *et al.* encontraron, en campo, colonización de hasta 91.5% en papaya inoculada con *Glomus mosseae* (*Funnelformis mosseae* en la clasificación de Schubler y Walker, 2010) a los 210 días después del trasplante (Vázquez *et al.* 2011). El tiempo que duró el trabajo aquí presentado, tuvo una duración de 90 días; posiblemente de haber extendido la duración, la colonización hubiese avanzado más y se encontrarían porcentajes de colonización micorrízica más altos.

El mayor porcentaje de colonización obtenidos en agave (tratamiento LNP-MVC en arena con 54.25%) (Cuadro 6) fue menor que los obtenidos por Cui y Nobel (1992), quienes consiguieron colonizaciones de hasta 64% raíces laterales de *Agave desertii* en condiciones de invernadero.

Respecto a los tratamientos, se encontraron diferencias significativas, la mayor densidad y producción de esporas (Tuckey $P \leq 0.05$) fue en CE8-MJ con arena y agave con 422.778 esporas en 100 g de suelo y 1746.667 esporas producidas en 600 g de sustrato, respectivamente. El tratamiento que tuvo la menor producción de esporas fue el tratamiento LNP-MVC en arena+agrolita+MO con plantas de agave (Cuadro 6). Con respecto a la colonización micorrízica de las raíces, los tratamientos que resultaron tener mayor colonización fueron, CE8-MJ en arena+agrolita+MO con papaya y el tratamiento LNP-MVC en Arena con papaya (70.1 y 68.9%, respectivamente). Los tratamientos que tuvieron más baja colonización fueron en los cuales no se inóculo HMA.

Cuadro 6. Efecto de los distintos tratamientos en el número y producción de esporas y colonización micorrízica al final del experimento.

Especie vegetal	Inóculo de HMA	Sustrato	Núm. de esporas /100 g ⁻¹ de suelo	Producción de esporas	Porcentaje de Colonización
Agave	CE8-MJ	Arena	422.778 a	1746.67 a	41.11 cdefg
		Are+MO	307.222 bcd	1053.33 bcd	51.296 abcd
		Are+Agro	335.0 abc	1220.0 abc	31.11 defg
		Are+Agro+MO	400.278 ab	1611.67 ab	38.52 cdefg
	LPE-MVM	Arena	192.22 efghij	724.667 cdef	47.59 abcdef
		Are+MO	85.2778 klmnop	83.0 ghijkl	46.35 abcdef
		Are+Agro	81.6667 lmnop	61.3333 ghijkl	38.89 cdefg
		Are+Agro+MO	177.2 fghijkl	634.667 cdefg	43.15 cdefg
	LNP-MVC	Arena	128.889ghijklmn	-667.333 m	54.26 abcd
		Are+MO	204.722 efgh	-212.333 ijklm	42.41 cdefg
		Are+Agro	154.167 ghijklm	-515.667 lm	36.85 cdefg
		Are+Agro+MO	166.9 fghijklm	-439.0 klm	26.29 efg
	Sin HMA	Arena	24.4444 op	146.667 fghijkl	0 h
		Are+MO	17.2222op	103.333 ghijk	0 h
		Are+Agro	16.1111p	96.6667ghijk	0 h
		Are+Agro+MO	15.5556 p	93.3333 ghijk	0 h
Papaya	CE8-MJ	Arena	256.111 cdef	746.667cde	41.65 cdefg
		Are+MO	177.1 fghijk	272.5 efghi	41.29 cdefg
		Are+Agro	217.916 defg	517.5 defgh	45.55 bcdef
		Are+Agro+MO	157.083 ghijklm	152.5 ghij	70.06 a
	LPE-MVM	Arena	98.75 jklmnop	163.833 fghij	60.55 abc
		Are+MO	75.4165 mnop	23.8333 hijkl	40.92 cdefg
		Are+Agro	106.667 ijklmnop	211.333 efghi	49.25 abcde
		Are+Agro+MO	110.833 hijklmno	236.333 efghi	20.37 fgh
	LNP-MVC	Arena	201.667 efg	-230.667 ijklm	68.88 ab
		Are+MO	187.917 fghi	-313.167 jklm	32.22 defg
		Are+Agro	212.778 defg	-164.0 ijklm	50.55 abcde
		Are+Agro+MO	278.75 cde	231.833 efghi	23.51 fgh
	Sin HMA	Arena	28.75 op	172.5 fghij	0 h
		Are+MO	37.4997 nop	225.0 efghi	0 h
		Are+Agro	21.25 p	127.5 ghij	0 h
		Are+Agro+MO	27.0833 op	162.5 fghij	0 h

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma, MO = Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro = Agrolita. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para inóculo, sustrato y especie vegetal según Tukey ($P \leq 0.05$).

El tratamiento CE8-MJ en arena con plantas de agave, resultó con el mayor número y producción de esporas, posiblemente porque en la parcela Cebadas 8 los agaves eran de mayor edad que en los otros sitios y los HMA presentes en la rizósfera de Cebadas 8 tuvieron más tiempo para adaptarse a la simbiosis con las raíces de agave (Hetrick y Bloom 1986). Es probable que este factor haya sido razón por la cual el agave resulto ser mejor planta trampa para este inóculo.

Además un sustrato con baja disponibilidad de nutrientes y buena retención de agua como lo es la arena, brinda las condiciones adecuadas para la esporulación de HMA (Ferrera 199, Ijdo *et al.* 2011).

6.1.5.2 Resultados en Papaya

Variables de Crecimiento

Se encontró efecto significativo (Tukey $P \leq 0.05$) del factor inóculo solo para las variables de altura, diámetro del tallo y número de hojas a los 90 días después de la inoculación. El inóculo LNP-MVC tuvo los valores más altos para estas variables con 106.667 mm, 5.495 mm y 13.041 hojas, respectivamente. El inóculo CE8-MJ fue el que presentó la menor altura (93.3 mm), LPE-MVM tuvo el menor diámetro (4.64 mm) y el tratamiento sin HMA tuvo solo 11 hojas (Cuadro 7).

Para los sustratos, aquellos que contenían materia orgánica presentaron el mayor crecimiento. En cuanto a la producción de biomasa seca, los menores valores se encontraron en el sustrato de arena (0.2183 g), mientras que el sustrato de arena con materia orgánica tuvo la mayor producción de biomasa seca (1.9473 g). Se observó un comportamiento similar en las variables de pesos fresco y seco de tallo y raíz. En cuanto a las variables de altura, diámetro y número de hojas, los sustratos que contenían vermicomposta mostraron tener un mejor efecto, siendo el de arena+MO el que tuvo un mayor incremento con respecto al control sin HMA obteniendo 138.25 mm, 6.7825 mm y 16.25 hojas, respectivamente (Cuadro 7).

Cuadro 7. Efecto de HMA nativos de la DOT Michoacán y diferentes sustratos sobre variables de crecimiento en plantas de *Carica papaya* a los 90 días después del trasplante.

Factor	Altura (mm)	Diámetro (mm)	Núm. Hojas	Biomasa (g)
Inóculo de HMA				
CE8-MJ	93.3 b	4.69 b	12.312ab	1.082 a
LPE-MVM	95.1 b	4.64 b	11.75 ab	0.996 a
LNP-MVC	106.6 a	5.49 a	13.04 a	1.090 a
Sin HMA	94.5 b	4.73 b	11.0 b	0.894 a
Sustrato				
Arena	57.3 b	2.99 b	8.18 b	0.218 c
Are+MO	138.2 a	6.78 a	16.25 a	1.947 a
Are+Agro	61.3 b	3.26 b	8.85 b	0.285 c
Are+Agro+MO	132.7 a	6.52 a	14.81 a	1.613 b
Probabilidad de F				
Inóculo de HMA	**	***	*	NS
Sustrato	***	***	***	***
Inóculo*Sustrato	NS	NS	**	NS

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma, MO = Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro = Agrolita. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para inóculo, sustrato y especie vegetal según Tukey ($P \leq 0.05$). *, Significativo ($P \leq 0.05$), **, Significativo ($P \leq 0.01$), ***, Significativo ($P \leq 0.001$), NS, No significativo.

El efecto positivo de los inóculos concuerdan con los resultados encontrados por Constantino *et al.* (2010) quienes encontraron diferencias significativas con respecto al control sin HMA en las variables de diámetro y biomasa seca y fresca en plantas de papaya inoculadas con *Glomus intrarradices*. También Castillo *et al.* (2006), encontraron un aumento en el peso seco de las raíces de duraznero utilizando composta inoculada con endomicorrizas Nococon® con respecto al testigo sin inoculación de HMA. El sustrato que utilizaron como base fue una mezcla de suelo, turba, fibra de coco y agrolita.

El efecto de incremento de los sustratos con materia orgánica era de esperarse. Reyes *et al.* (2002) encontraron que la aplicación de vermicomposta al sustrato forestal tenía un efecto positivo en el crecimiento de portainjertos de aguacate, adicional al efecto que tuvo la micorriza.

En la combinación los factores inóculo de HMA y sustrato, se observó que para la biomasa seca los tratamientos que contenían materia orgánica tuvieron los mayores valores estadísticamente. El tratamiento LNP-MVC en arena+MO obtuvo 2.02 g. Lo mismo sucedió para altura y diámetro del tallo donde este tratamiento tuvo 145.75 mm y 7.37 mm, respectivamente. Para número de hojas el mejor tratamiento fue LPE-MVM con arena y materia orgánica con 18 hojas en promedio (Cuadro 8).

Cuadro 8. Efecto de los tratamientos sobre variables de crecimiento en plantas de *Carica papaya* a los 90 días después del trasplante.

Inóculo de HMA	Sustrato	Altura (mm)	Diámetro (mm)	Núm. Hojas	Biomasa (g)
CE8-MJ	Arena	54.66 b	3.0 bc	9.0 def	0.172 c
	Are+MO	132.25 a	6.5 a	13.75 abcd	1.999 a
	Are+Agro	55.5 b	3.0 bc	9.5 def	0.247 c
	Are+Agro+MO	130.75 a	6.29 a	17.0 ab	1.883 a
LPE-MVM	Arena	54.0 b	3.0 bc	7.5 f	0.199 c
	Are+MO	139.0 a	6.52 a	18.0 a	2.007 a
	Are+Agro	63.0 b	3.05 bc	8.5 ef	0.281 c
	Are+Agro+MO	124.5 a	6.0 a	13.0 bcde	1.497 ab
LNP-MVC	Arena	65.0 b	3.61 bc	10.25 cdef	0.400 c
	Are+MO	145.75 a	7.37 a	16.75 ab	2.02 a
	Are+Agro	67.66 b	4.0 b	10.66 cdef	0.540 bc
	Are+Agro+MO	148.25 a	7.0 a	14.5 abc	1.445 ab
Sin HMA	Arena	55.5 b	2.37 c	6.0 f	0.073 c
	Are+MO	136.0 a	6.73 a	16.5 ab	1.762 a
	Are+Agro	59.25 b	3.0 bc	6.75 f	0.117 c
	Are+Agro+MO	127.25 a	6.80 a	14.75 abc	1.625 a

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma, MO = Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro = Agrolita. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Variables Microbiológicas

El factor inóculo tuvo un efecto significativo en el número de esporas (Cuadro 9), donde se encontró que el inóculo proveniente del sitio LNP-MVC tuvo una mayor densidad (220.278 esporas / 100 g de suelo), pero no fue el que tuvo la

mayor producción de esporas durante el experimento. Probablemente, por su elevada densidad de esporas inicial y que posiblemente no todas establecieron una simbiosis exitosa con las raíces de papaya. El inóculo donde se encontró la mayor producción de esporas fue el inóculo CE8-MJ (422.292 esporas en 600 g de suelo). En cuanto al porcentaje de colonización, todos los tratamientos con micorrización resultaron estadísticamente iguales; sin embargo, el inóculo CE8-MJ obtuvo el mayor valor con 49.6%. El hecho de que todos los inóculos tuvieron el mismo efecto en la colonización de las raíces de plantas de papaya, pudo deberse a que la papaya es una planta altamente micotrófica (Quiñones *et al.* 2012).

No se encontraron diferencias significativas de los diferentes sustratos sobre el número de esporas, pero sí sobre la producción de estas, siendo el sustrato de arena (213.083 esporas) y el sustrato de arena+agrolita+MO (249.333 esporas) donde se encontró el mayor número de esporas. El menor fue el sustrato de arena+MO con 52.04 esporas (Cuadro 7). Como se mencionó anteriormente, sustratos ricos en nutrientes y particularmente fósforo, pueden inhibir la simbiosis micorrízica (Ferrera 1993). Se dice que existe una relación entre la senescencia de la planta y la reproducción de los HMA a través de esporas (Morton *et al.* 1993), por lo que es posible que si el experimento se hubiese prolongado, se hubieran producido más esporas de HMA.

Respecto a la colonización, hubo diferencia significativas entre los diferentes sustratos y la arena presentó la mayor colonización con 42.8%, mientras que el sustrato de arena+agrolita+MO tuvo la menor colonización con 28.5%. Se esperaba encontrar una mayor colonización, al ser la papaya una planta altamente micotrófica. En 2011, Vázquez *et al.* encontraron colonización de hasta 91.5% en papaya inoculada a los 210 días después del trasplante. Es posible que si este experimento hubiese tenido la misma duración, se hubiesen alcanzado niveles de colonización más altos. Por otro lado, elevadas concentraciones de nutrientes como P, en papaya afecta el desarrollo de la

micorrización, con lo cual se reduce la proporción de raíz colonizada (Constantino *et al.* 2010). Lo cual podría explicar la baja colonización en los sustratos con materia orgánica.

Cuadro 9. Efecto de HMA nativos de la DOT-Michoacán, sustratos y su interacción sobre el número de esporas, producción de esporas y colonización de raíces en plantas de *Carica papaya* a los 90 días después del trasplante.

Factor Inoculo	Núm. de esporas 100 / g de suelo	Producción de esporas	Porcentaje de Colonización
CE8-MJ	202.049 a	422.292 a	49.6 a
LPE-MVM	97.916 b	158.833 b	42.8 a
LNP-MVC	220.278 a	-65.4583 c	43.8 a
Sin HMA	28.645 c	171.875 b	0 b
Sustrato			
Arena	146.319 a	213.083 a	42.8 a
Are+MO	119.479 a	52.0417 b	36.3 ab
Are+Agro	139.653 a	173.083 ab	28.6 b
Are+Agro+MO	143.437 a	249.333 a	28.5 b
Probabilidad de F			
Inóculo de HMA	***	***	***
Sustrato	NS	**	***
Inóculo*Sustrato	***	***	***

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma, MO = Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro = Agrolita. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para inóculo, sustrato y especie vegetal según Tukey ($P \leq 0.05$). *, Significativo ($P \leq 0.05$), **, Significativo ($P \leq 0.01$), ***, Significativo ($P \leq 0.001$), NS, No significativo.

Para los diferentes tratamientos, en LNP-MVC con el sustrato arena+agrolita+MO fue el tratamiento que tuvo mayor número de esporas con 278.75 esporas por 100 g de suelo seco en promedio. Pero fue en el tratamiento CE8-MJ con arena donde se obtuvo la mayor producción con 746.667 esporas producidas. Los mayores porcentajes de colonización fueron en CE8-MJ con arena+agrolita+MO y en LNP-MVC con arena con 70.1 y 68.9%, respectivamente (Cuadro 10).

Cuadro 10. Efecto de los tratamientos sobre el número de esporas, producción de esporas y colonización de raíces en plantas de *Carica papaya* a los 90 días después del trasplante.

Inóculo de HMA	Sustrato	Núm. de esporas / 100 g de suelo	Producción de esporas	Porcentaje de Colonización
CE8-MJ	Arena	256.111 ab	746.667 a	41.6 bcde
	Are+MO	177.084 bcde	272.5 bcd	41.3 bcde
	Are+Agro	217.916 abc	517.5 ab	45.5 abcde
	Are+Agro+MO	157.083 cdef	152.5 bcde	70.1 a
LPE-MVM	Arena	98.75 efghi	163.833 bcde	60.5 ab
	Are+MO	75.416 fghi	23.8333 cdef	40.9 bcde
	Are+Agro	106.667 defgh	211.333 bcd	49.3 abcd
	Are+Agro+MO	110.833 defg	236.333 bcd	20.4 ef
LNP-MVC	Arena	201.667 abc	-230.667 ef	68.9 a
	Are+MO	187.917 cd	-313.167 f	32.2 cde
	Are+Agro	212.778 abc	-164.0 def	50.5 abc
	Are+Agro+MO	278.75 a	446.0 abc	23.5 def
Sin HMA	Arena	28.75 ghi	172.5 bcde	0 f
	Are+MO	37.499 ghi	225.0 bcd	0 f
	Are+Agro	21.25 i	127.5 bcde	0 f
	Are+Agro+MO	27.083 hi	162.5 bcde	0 f

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma, MO = Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro = Agrolita. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según Tukey ($P \leq 0.05$).

6.1.5.3 Resultados en Agave

VARIABLES DE CRECIMIENTO

Para las plantas de *Agave tequilana*, las variables respuesta se midieron a los 180 días después de la inoculación.

Para el factor inóculo, el análisis estadístico no mostró efecto significativo para la biomasa fresca y seca. Sin embargo para el número de hojas si se encontró, siendo el inóculo LNP-MVC quién registró la mayor cantidad de hojas con 10.72 hojas en promedio. En el inóculo LPE-MVM se registró la menor cantidad de hojas con 9.8 (Cuadro 11).

En cuanto al factor sustrato se encontraron diferencias estadísticas significativas para todas las variables evaluadas. Aquellos sustratos que contenían materia orgánica fueron los que obtuvieron los mayores valores de biomasa fresca, seca y número de hojas. Obteniendo en promedio 58 g, 9 g y 10 hojas respectivamente.

Cuadro 11. Efecto de HMA nativos de la DOT Michoacán, sustratos y su interacción sobre la biomasa y el número de hojas de plantas de *Agave tequilana* a los seis meses después del trasplante en condiciones de invernadero.

Factor	Biomasa fresca (g)	Biomasa seca (g)	Número de hojas
Inóculo			
CE8-MJ	46.38 a	8.22 a	9.9 ab
LPE-MVM	43.83 a	7.84 a	9.8 b
LNP-MVC	52.40 a	8.65 a	10.7 a
Sin HMA	44.52 a	8.06 a	10.0 ab
Sustrato			
Arena	39.07 b	7.95 ab	9.75 b
Are+MO	63.56 a	10.56 a	10.5 a
Are+Agro	31.76 b	5.88 b	9.81 b
Are+Agro+MO	52.73 a	8.38 ab	10.48 a
Probabilidad de F			
Inóculo de HMA	NS	NS	*
Sustrato	***	***	*
Inóculo*Sustrato	NS	NS	NS

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma, MO = Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro = Agrolita. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para inóculo, sustrato y especie vegetal según Tukey ($p \leq 0.05$). *Efecto significativo $p \leq 0.05$, ** Efecto significativo $p \leq 0.01$, *** Efecto significativo $p \leq 0.001$, ^{NS} No significativo.

Los resultados indican que el aumento de la biomasa estuvo determinado principalmente por el sustrato. Los resultados encontrados respecto a la biomasa, no muestran efecto por la inoculación con los diferentes HMA, similares resultados reportaron Pimienta *et al.* (2009), donde evaluaron el efecto de la simbiosis micorrízica en plantas jóvenes de *Agave tequilana*. Estos autores reportaron que no hubo incremento en la biomasa seca de los agaves cuando estuvieron micorrizados.

No se encontraron diferencias significativas entre la combinación de los tratamientos para la biomasa seca ni en número de hojas. En cuanto a la biomasa fresca se encontraron diferencias estadísticas significativas, donde el tratamiento LNP-MVC en arena+ MO fue el que tuvo mayor biomasa fresca con 78.51 g (Cuadro 12).

Cuadro 12. Efecto de los tratamientos sobre la biomasa y el número de hojas de plantas de *Agave tequilana* a los seis meses después del trasplante en condiciones de invernadero.

Inóculo de HMA	Sustrato	Biomasa fresca (g)	Biomasa seca (g)	Número de hojas
CE8-MJ	Arena	34.61 bc	7.038 a	9.5 a
	Are+MO	56.02 abc	9.647 a	10.25 a
	Are+Agro	36.48 bc	7.606 a	9.5 a
	Are+Agro+MO	58.4 abc	8.612 a	10.5 a
LPE-MVM	Arena	39.34 bc	8.161 a	9.25 a
	Are+MO	63.54 ab	11.111 a	10.25 a
	Are+Agro	26.94 c	4.427 a	9.75 a
	Are+Agro+MO	45.48 abc	7.687 a	10.0 a
LNP-MVC	Arena	44.82 abc	8.945 a	10.75 a
	Are+MO	78.51 a	11.686 a	11.25 a
	Are+Agro	26.84 c	4.577 a	9.25 a
	Are+Agro+MO	59.44 abc	9.421 a	11.66 a
Sin HMA	Arena	37.51 bc	7.676 a	9.5 a
	Are+MO	56.18 abc	9.832 a	10.25 a
	Are+Agro	36.78 bc	6.932 a	10.75 a
	Are+Agro+MO	47.60 abc	7.809 a	9.75 a

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma, MO = Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro = Agrolita. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según Tukey ($P \leq 0.05$).

Variables Microbiológicas

Para las variables microbiológicas evaluadas, se encontró efecto significativo de los factores. En cuanto al factor inóculo, se encontró que el inóculo proveniente del sitio CE8-MJ tuvo el mayor número de esporas con 366.319 esporas en 100 g de suelo y producción con 1407.92 esporas producidas. Para la

colonización micorrízica, el factor inóculo no fue significativo en los tratamientos con inóculo y en promedio obtuvieron un 44% de colonización (Cuadro 13).

Los sustratos que tuvieron un mejor efecto sobre el número de esporas y la producción de las mismas fueron el sustrato de arena y el sustrato de arena+agrolita+MO. Se encontró un efecto significativo de los diferentes sustratos en la colonización de las raíces. El sustrato de arena presentó una mayor colonización con 35.7%, mientras que el sustrato de arena+agrolita+MO y el de arena+agrolita tuvieron la menor colonización (26.99% y 26.71%, respectivamente).

Cuadro 13. Efecto de HMA nativos de la DOT Michoacán y el sustrato sobre el número y producción de esporas y colonización de raíces en plantas de *Agave tequilana* a los seis meses después del trasplante en condiciones de invernadero.

Factor	Núm. de esporas/ 100 g de suelo	Producción de esporas	Porcentaje de Colonización
Inoculo			
CE8-MJ	366.319 a	1407.92 a	40.5093 a
LPE-MVM	134.097 b	375.917 b	43.9974 a
LNP-MVC	163.681 b	-458.583 d	39.9537 a
Sin HMA	18.3333 c	110.0 c	0 b
Sustrato			
Arena	192.083 a	487.667 a	35.74 a
Are+MO	153.611 b	256.833 b	35.01 a
Are+Agro	146.736 b	215.583 b	26.71 b
Are+Agro+MO	190.0 a	475.167 a	26.99 b
Probabilidad de F			
Inóculo de HMA	***	***	***
Sustrato	***	***	***
Inóculo*Sustrato	***	***	**

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma, MO = Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro = Agrolita. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas para inóculo, sustrato y especie vegetal según Tukey ($P \leq 0.05$). *, Significativo ($P \leq 0.05$), **, Significativo ($P \leq 0.01$), ***, Significativo ($P \leq 0.001$), NS, No significativo.

Se encontraron diferencias significativas en la variable de densidad de esporas y producción de espora en la interacción inóculo de HMA y sustrato. El

tratamiento CE8-MJ con arena fue el mejor tratamiento para estas dos variables con 422.778 esporas en 100g de sustrato y 1746.67 esporas producidas. Respecto a la colonización de las raíces, los tratamientos que tuvieron la mayor colonización fueron LNP-MVC con arena y CE8-MJ en el sustrato arena+MO con 54.26 % y 51.29%, respectivamente (Cuadro 14).

Cuadro 14. Efecto los tratamientos sobre el número y producción de esporas y colonización de raíces en plantas de *Agave tequilana*, a los seis meses después del trasplante en condiciones de invernadero.

Inóculo de HMA	Sustrato	Núm. de esporas/ 100 g de suelo	Producción de esporas	Porcentaje de Colonización
CE8-MJ	Arena	422.778 a	1746.67 a	41.11 abc
	Are+MO	307.222 b	1053.33 bc	51.29 a
	Are+Agro	335.0 ab	1220.0 ab	31.11 bc
	Are+Agro+MO	400.278 a	1611.67 a	38.52 abc
LPE-MVM	Arena	192.222 c	724.667 bc	47.59 ab
	Are+MO	85.2778 de	83.0 ef	46.36 ab
	Are+Agro	81.6667 de	61.3333 ef	38.89 abc
	Are+Agro+MO	177.222 c	634.667 cd	43.15 abc
LNP-MVC	Arena	128.889 cd	-667.333 g	54.26 a
	Are+MO	204.722 c	-212.333 efg	42.40 abc
	Are+Agro	154.167 cd	-515.667 g	36.85 abc
	Are+Agro+MO	166.944 cd	-439.0 fg	26.29 c
Sin HMA	Arena	24.4444 e	146.667 de	0 d
	Are+MO	17.2222 e	103.333 def	0 d
	Are+Agro	16.1111 e	96.6667 def	0 d
	Are+Agro+MO	15.5556 e	93.3333 def	0 d

CE8-MJ = Cebadas 8, LPE-MVM = La Presa Escolar, LNP-MVC = La Nueva Palma, MO = Materia Orgánica (Vermicomposta), Agro = Agrolita. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según Tukey ($P \leq 0.05$).

Los porcentajes de colonización obtenidos aquí fueron menores que los obtenidos por Cui y Nobel (1992), quienes consiguieron colonizaciones de hasta 64% raíces laterales de *Agave desertii* en condiciones de invernadero. Pimienta *et al.* encontraron colonizaciones de más del 70% en cuatro meses de colonización. Estas diferencias podrían deberse a la adición de materia orgánica, que como ya

se mencionó, en concentraciones elevadas puede llegar a inhibir la simbiosis micorrízica (Constantino *et al.* 2010).

6.1.6 Conclusiones

Como se pudo constatar en los resultados, la producción de esporas dependió de la procedencia del inóculo de HMA, el sustrato de propagación y la especie vegetal que se usa como planta trampa.

Se encontró que el mejor sustrato para la propagación de esporas de HMA nativos de la DOT- Michoacán es la arena con agave como planta trampa con 487.667 esporas producidas.

Para ambas especies vegetales el mejor sustrato para la producción de esporas fue la arena, donde se obtuvo en promedio 315.3580 en 600 g de suelo.

Los sustratos con materia orgánica tuvieron una mayor influencia benéfica en el crecimiento de las plantas, tanto de agave como de papaya, pero resultaron no ser tan buenos para la producción de esporas.

Para las plantas de agave en la variable de biomasa fresca, el mejor tratamiento fue el inóculo LNP-MVC en el sustrato arena+MO con 78.51 g. En las plantas de papaya el tratamiento con el mayor efecto benéfica en el crecimiento fue el inóculo LNP-MVC en el sustrato de arena+MO con 145.75 mm de altura, 7.37 mm de diámetro de tallo, 16.75 hojas y 2.02 g de biomasa seca.

6.1.7 Literatura Citada

- Castillo Gonzáles, A., Avitia García, E. y T. Corona Torres. 2006. **Inoculación en duraznero con productos micorrízicos comerciales.** *Terra Latinoamericana* 24: 293-297.
- Constantino, M., Gómez Álvarez, R., Álvarez Solís, J., Pat Fernandez, J. y G. Espín. 2010. **Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de *Carica papaya* L.** *Revista Colombiana de Biotecnología* 12: 103-115.
- Cui, M. y P. Nobel. 1992. **Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi.** *New Phytol* 122: 643-649.
- Douds, D. y N. Schenck. 1990. **Increased sporulation of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi by manipulation of nutrient regimens.** *Applied and Environmental Microbiology*: 413-418.
- Douds, D., Nagahashi, G., Pfeffer, P., Reider, C. y W. Kayser. 2006. **On-farm production of AM fungus inoculum in mixtures of compost and vermiculite.** *Biores Tech* 97: 809-818.
- Ferrera Cerrato, R. 1993. **Manual de agromicrobiología.** Editorial Trillas. México. 142 pp.
- Gaur, A. y A. Adholeya. 2000. **Effects of the particle size of soil-less substrates upon AM fungus inoculum production.** *Mycorrhiza*: 43-48.
- Gaur, A. y A. Adholeya. 2002. **Arbuscular mycorrhizal inoculation of five tropical fodder crops and inoculum production in marginal soil amended with organic matter.** *Biol Fertil Soils* 35: 214-218.
- Gerdemann, J. y T. Nicolson. 1963. **Spores of mycorrhizal endogene species extracted by wet sieving and decanting.** *Transactions of British Mycological Society* 46: 235-244.
- Hetrick, B. y J. Bloom 1986. **The influence of host plant on production and colonization ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores.** *Mycologia* 78: 32-36.

- Ijdo, M., Cranenbrouck, S. y S. Declerck. 2011. **Methods for large-scale production of AM fungi: past, present and future.** *Mycorrhiza* 21: 1-16.
- Mcgonigle, T., Miller, M., Evans, D., Fairchild, G. & J. Swan. 1990. **A new method wich gives and objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi.** *New Phytologist* 115, 495-501.
- Morton , J., S. Bentivenga, y W. Wheeler, 1993. **Germ plasm in the international collection of arbuscular and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (INVAM) and procedures for culture development, documentation and storage.** *Mycotaxon* 48: 491-528.
- Pérez C., A. y C., J. Fuentes 2009. **Regresión Logística en la Evaluación de la Esporulación de Micorrizas en Pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus.** *Rev. Colombiana cienc. Anim.*1: 1-18.
- Phillips, J. y D. Hayman. 1970. **Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection.** *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-160.
- Pimienta Barrios, E., Zañudo Hernández, J. y E. López Alcocer. 2009. **Efecto de las micorrizas arbusculares en el crecimiento, fotosíntesis y anatomía foliar de plantas jóvenes de *Agave tequilana*.** *Acta Botanica Mexicana* 89: 63-78.
- Quiñones Aguilar, E., Hernández Acosta, E., Rincón Enríquez, G. y R. Ferrera Cerrato. 2012. **Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya.** *Terra Latinoamericana* 30: 165-176.
- Reyes Aleman, J., Ferrera Cerrato, R., Cortés Flores, J. y A. Alarcón. 2002. **Simbiosis micorrízica y vermicomposta en el desarrollo de portainjertos de aguacate crecidos en sustratos agrícola y forestal.** *Memoria Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX S.C.* Coatepec Harinas, México. p. 64-79.
- Schubler, A. y C. Walker. 2010. **The Glomeromycota: A species list with new families and new genera.** Gloucester, Inglaterra.

- Smith, S. y D. Read. 1997. **Mycorrhizal symbiosis**. Academic Press. San Diego, USA. pp. 800
- Trejo, A., Zulueta Rodríguez, R. y L. Lara Capistrán. 2008. **Manual de Prácticas para el Estudio de la Simbiosis Micorrizógena Arbuscular**. Textos Universitarios de la Universidad Veracruzana. Xalapa, México.
- Vázquez Hernández, M., Arévalo Galarza, L., Jaen Contreras, D., Escamilla García, J., Mora Aguilera, A., Hernández Castro, E., Cibrián Tovar, J. y Téliz Ortiz, D. 2011. **Effect of Glomus mosseae and Entrophospora colombiana on plant growth, production, and fruit quality of 'Maradol' papaya (Carica papaya L.)**. *Scientia Horticulturae* 128, 255-260
- Walker, C. 1997. **Spore extraction by centrifugation-sugar flotation**. Milton. New Hampshire.

6.2 Efecto de HMA nativos de Michoacán en el crecimiento de tres especies de *Agave*.

6.2.1 Resumen

El agave es un cultivo de gran importancia para Michoacán; solo en 2012 la producción de agave fue de 47,015 t en una superficie de 5,028.20 ha (SAGARPA 2012). El desarrollo intensivo de la agricultura para la producción de agave ha traído consigo un deterioro ambiental. La utilización de recursos microbianos como biofertilizantes es una alternativa para reducir el uso de productos químicos y disminuir el impacto al medio ambiente. La utilización de hongos micorrízicos arbusculares como biofertilizante es una opción prometedora para mejorar este problema. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de diversos inóculos nativos de HMA en el crecimiento del *Agave tequilana*, *A. cupreata* y *A. inaequidens*, para su uso como biofertilizante. Para esto se inocularon las plantas de agave con ocho consorcios nativos de HMA, una cepa comercial (INIFAP) y un control sin HMA. Se evaluaron diferentes variables de crecimiento en las plantas como altura, número de hojas, biomasa fresca y seca, volumen radical y de follaje, diámetro de la piña, área foliar y longitud de raíz. Se observó un efecto positivo en el crecimiento de las plantas de agave cuando estas se inocularon con los consorcios nativos de HMA, siendo el inóculo de Barranca de las Nueces (BN-MT) el que tuvo un mayor efecto positivo en las tres especies. En la variable de biomasa fresca se encontró que el mejor consorcio para *A. tequilana* y *cupreata* fue BN-MT con 66.502 g y 165.26 g respectivamente. Para *A. inaequidens*, el mejor consorcio fue Cerro del Metate con 101.51 g, aunque resultó estadísticamente igual a BN-MT. En densidad de esporas el inóculo comercial INIFAP fue el que presentó el mayor número de esporas por cada 100 g de sustrato con 351.296 esporas.

6.2.2 Abstract

The agave crop have great importance to Michoacán, only in 2012 the agave production was 47.015 t in an area of 5028.20 ha (SAGARPA 2012). The intensive development of agriculture for the agave production has brought environmental degradation. The use of microbial resources such as biofertilizers is an alternative to reduce the use of chemicals products and the environmental impact. The use of mycorrhizal fungi as biofertilizers is a promising option to improve this problem. The objective of this work was determinate the effect of different native inoculum of AMF in the growth of *Agave tequilana*, *A. cupreata* and *A. inaequidens*. For this, agave plants were inoculated with eight native inoculums of AMF, a commercial strain (INIFAP) and a negative control without AMF. Height, number of leaves, biomass, root and foliage volume, diameter, leaf area and root length were evaluated with growth variables in plants. A positive effect on the growth of agave plants was observed when these were inoculated with native AMF, especially with the inoculum of Barranca de las Nueces (BN-MT) which had a greater positive effect on the three species of agave. For the fresh biomass we founded that the best consortium for *A. tequilana* and *A. cupreata* was BN-MT with 66.502 g and 165.26 g respectively. In *A. inaequidens* the best consortium was Cerro del Metate with 101.51 g, although it was not significantly different from BN-MT. For the spore density, the commercial inoculum INIFAP had higher number of spores per 100 g of substrate with 351.296 spores.

6.2.3 Introducción

El género *Agave* tiene aproximadamente 200 especies, de la cuales 150 (75%) se encuentran en México (García 2004) y es de gran importancia económica y cultural. A finales del siglo XV y principios del siglo XVI, el cultivo de agave se expandió a medida que los españoles conquistaron la región centro y norte de México, llevando el cultivo de agave (comúnmente conocidos como “maguey”), a climas más cálidos y áridos para producir pulque y aguamiel, que se

crece se consumen desde tiempos prehispánicos (Good *et al.* 2006). Internacionalmente el agave es mejor conocido por la producción de bebidas destiladas como el mezcal, producido de diversas especies de agave, según la región (ej. *A. salmiana* en San Luis Potosí y Zacatecas, *A. angustifolia* en Jalisco y Puebla, *A. cupreata* en Michoacán y Guerrero, entre otros) y tequila producido de *A. tequilana* (Nobel 1988).

En Michoacán, la especie más usada para la producción de mezcal es *A. cupreata* Trel. & Berger (Fig. 5 a), que es un agave de tamaño mediano de mayor tamaño que el *A. tequilana*, pero menor que el *A. inaequidens* y el *A. angustifolia* respecto a quien, de un color verde brillante, sus hojas miden de 40 a 80 cm de largo por 12 a 20 cm de ancho, crecen en roseta abiertamente y ampliamente lanceoladas u ovaladas, muy reducidas en la base, planas y ligeramente concavas en las puntas. Sus espinas son de color cobrizo a gris y llegan medir de 3 a 5 cm (Gentry 1982).

El *A. inaequidens* Koch (Fig. 5 b) es usado comúnmente para la elaboración de pulque, pero también se utiliza para el mezcal. Este agave es de tamaño mediano a grande, de mayor tamaño que el *A. cupreata* y muy asociado con *A. hookeri* con hojas en roseta que crecen abiertamente de 75 a 150 cm de largo por 11 a 21 cm de ancho, poco lanceoladas u oblanceoladas, concavas en la parte superior, carnosas y gruesas en la base, de color verde claro a amarillo verdoso. Sus espinas del ápice son robustas de 2.5 a 5.5 cm, de color café oscuro, sobresalientes de la hoja y afiladas (Gentry 1982).

El *Agave tequilana* Webber var. Azul (Fig. 5 c), que es utilizado para la producción de tequila en la región noroeste del estado de Michoacán (Denominación de Origen del Tequila DOT), tiene menor porte que los magueyes, como el lechugilla (*A. maximiliana*, *A. inaequidens* Fig. 5 b), el tobala (*A. potatorum*) y el papalote (*A. cupreata* Fig. 5 a) y sus hojas son de color verde azulado, de 90 a 120 cm de largo, casi siempre rígidamente estiradas, concavas

en la parte superior, su parte mas gruesa se encuentra hacia el medio de la hoja y es angosta y gruesa en la base. Sus espinas del ápice son generalmente cortas, de 1 a 2 cm, de color café oscuro y los dientes son de tamaño regular espaciados irregularmente (Gentry 1982). De esta especie se cultivan más de 7 millones de plantas por año (CRT 2008) y en los ultimos años se ha observado un incremento de la superficie cultivada de *Agave tequilana* (Pimienta *et al.* 2009). En 2012, la producción de agave en Michoacán fue de 47,015 t en una superficie de 5028.20 ha (SAGARPA 2012).

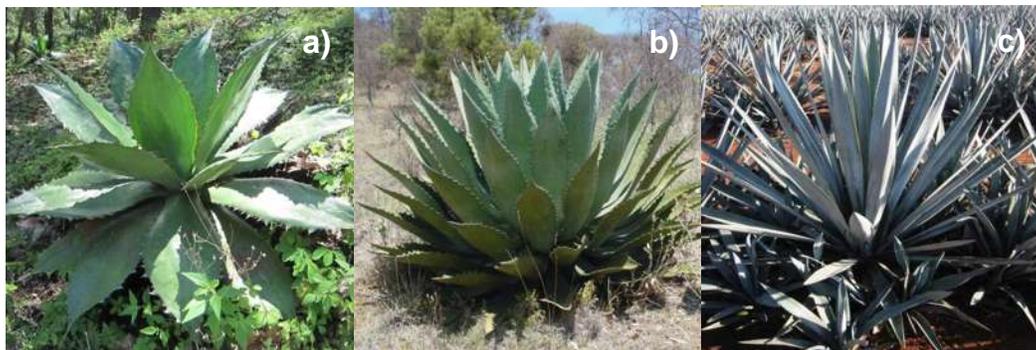


Figura 5. Plantas de *A. cupreata* (a), *A. inaequidens* (b) *A. tequilana* (c) creciendo en cultivo o silvestres en Michoacán.

Actualmente, existe una tendencia de los mercados internacionales hacia el uso de tecnologías sustentables y amigables con el medio ambiente, sobre todo aquellas relacionadas con la producción de bienes alimenticios y esto demanda la generación de conocimiento científico que de soporte a la creación de estrategias innovadoras para aumentar la producción de cultivos de interés económico y a la vez minimizar el impacto ambiental. Además, una producción más ecológica le brinda al producto final un valor agregado.

Esto puede lograrse con el uso de biofertilizantes, como lo son los hongos micorrizicos arbusculares, los cuales forman una asociación simbiótica con las raíces de las plantas, intercambiando agua y nutrientes, lo que resulta en plantas más vigorosas (Azcón *et al.* 1996, Smith y Read1997).

Se ha observado, en trabajos previos, que el uso de micorrizas en el cultivo de agave, beneficia el crecimiento de las plantas. Estos estudios sugieren que una mejor calidad de follaje, incremento en la fotosíntesis (Pimienta *et al.* 2009) y producción de biomasa en agave asociado con HMA (Martínez *et al.* 2009). Por lo cual este trabajo tuvo como objetivo evaluar los efectos que tienen diversos consorcios nativos de HMA de plantaciones de la DOM-Michoacán en el crecimiento de agave tequilero y mezcaleros a nivel de invernadero.

6.2.4 Materiales y Métodos

Para la obtención de los consorcios nativos de HMA de plantaciones de *A. cupreata* de la Denominación de Origen del Mezcal (DOM) Michoacán, se hizo un muestreo en esta zona (muestreo realizado en temporada de secas de Mayo 2011) como parte del proyecto de investigación del FOMIX Michoacán, dicho muestreo se realizó por el equipo de trabajo de CIATEJ e IIAF. Los consorcios micorrízicos se propagaron en macetas trampa durante 8 meses en la Unidad de Biotecnología Vegetal del CIATEJ. Para esto, primero se homogenizaron las muestras de suelo rizosférico extraídas por sitios y se establecieron macetas trampa de 1.2 L y se rellenaron con aproximadamente 700 mL de arena esterilizada. Posteriormente se pusieron 100 g de inóculo y se sembraron semillas de sorgo, cebolla y poro, se agregaron otros 200 mL de arena estéril para cubrir las semillas. Las macetas se regaron durante las primeras dos semanas a capacidad de campo, con agua destilada estéril con la finalidad de disminuir la entrada de contaminantes como hongos y bacterias patógenas y posteriormente los riegos continuaron con agua corriente. Los inóculos fueron designados según su origen como se muestra en el siguiente cuadro.

Cuadro 15. Sitios de muestreo para obtención de consorcios nativos de HMA de la DOM-Michoacán.

Municipio	Localidad	Sitio de muestreo	Tipo de plantación	Clave consorcio HMA
Madero	Etúcuaro	El Huizachal	<i>A. cupreata</i> cultivado	EH-ME
		Las Campesinas	<i>A. cupreata</i> cultivado	LC-ME
		Rancho Carlos Rojas	<i>A. cupreata</i> silvestre	CR-ME
Morelia-Madero	Tumbisca	El limón	<i>A. cupreata</i> cultivado	EL-MTu
		Agua Dulce	<i>A. cupreata</i> , <i>A. tequilana</i> cultivados	AD-MTu
Tzitzio	Tzitzio	Paso Ancho	<i>A. cupreata</i> cultivado	PA-MT
		Barranca de las Nueces	<i>A. cupreata</i> cultivado	BN-MT
		Cerro del Metate	<i>A. cupreata</i> silvestre	CM-MT

Se identificaron las especies presentes en los diferentes consorcios (Cuadro 18) en el Laboratorio de Micorrizas del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas (CICB) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, por la M. C. Laura Verónica Hernández Cuevas, especialista en sistemática de HMA.

Se utilizaron 80 esporas de HMA por cada consorcio micorrízico como inóculo para este experimento.

Las plantas de *Agave cupreata* y *Agave inaequidens* se obtuvieron por germinación de semillas. Éstas se pusieron a germinar en sustrato peat moss estéril en el mes de Junio de 2012. Al momento del trasplante tenían 4 meses de edad y con un peso promedio de 2.73 g para *A. cupreata* y 2.3 para *A. inaequidens*. Las plantas de *Agave tequilana* se consiguieron por bulbilos, recolectados en octubre de 2012, tenían un peso promedio de 2.8 g.

Se utilizaron como macetas bolsas de polietileno negras y se llenaron con 1.5 kg de sustrato que fue una mezcla de arena y suelo estériles proporción 1:1 v/v. El suelo se esterilizó durante 3 horas por tres días en un esterilizador a 100°C. Se regaron las macetas hasta capacidad de campo y se procedió al trasplante.

Se colocó el inóculo micorrízico en el orificio de trasplante y sobre las raíces de los agaves, para asegurar un buen contacto con éstas. En el caso de *A. tequilana*, que proviene de bulbilos, el inóculo se colocó solo en el agujero de trasplante.

El diseño experimental fue en bloques al azar con cinco bloques, 10 tratamientos de HMA (ocho consorcios de HMA provenientes de las plantaciones, un HMA comercial INIFAP® como control positivo y un control negativo sin HMA) y tres especies de agaves (Cuadro 16). El experimento se estableció bajo condiciones de invernadero en las instalaciones del IIAF y permaneció allí durante 300 días después del trasplante.

Cuadro 16. Diseño de tratamientos evaluados en el experimento del efecto de HMA nativos de la DOM-Michoacán en agaves.

Especie	Inóculo	Tratamiento
<i>A. tequilana</i>	EH-ME	1
	LC-ME	2
	CR-ME	3
	EL-Mtu	4
	AD-Mtu	5
	BN-MT	6
	PA-MT	7
	CM-MT	8
	INIFAP®	9
	Sin HMA	10
<i>A. cupreata</i>	EH-ME	11
	LC-ME	12
	CR-ME	13
	EL-Mtu	14
	AD-Mtu	15
	BN-MT	16
	PA-MT	17
	CM-MT	18
	INIFAP®	19
	Sin HMA	20
<i>A. inaequidens</i>	EH-ME	21
	LC-ME	22
	CR-ME	23
	EL-Mtu	24
	AD-Mtu	25
	BN-MT	26
	PA-MT	27
	CM-MT	28
	INIFAP®	29
	Sin HMA	30

EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate.

Variables de respuesta

Se analizaron variables de respuesta microbiológicas (colonización de raíz y número de esporas) además de variables morfológicas de las plantas de agave: número de hojas y altura de planta a los 90, 180 y 270 días después de la inoculación; biomasa fresca y seca de las plantas, diámetro de la piña, área foliar, longitud y volumen de raíz, al final del experimento.

Variables de crecimiento: Las variables morfológicas se midieron de la siguiente manera: para la altura de los agaves se tomó en cuenta desde la base hasta la punta de la hoja más alta sin estirla. Diámetro de la piña, expresado en mm, se midió con un vernier digital a la altura de la base. La medición del área foliar se realizó en un planímetro marca LI-COR modelo LI-3100. El volumen radical se midió por desplazamiento, sumergiendo las raíces en una probeta y se expresó en mL. La longitud de la raíz más larga se midió de forma manual con una regla.

Variables microbiológicas: El porcentaje colonización de raíces se determinó por la técnica de clareo y tinción de raíces con de Phillips y Hayman de 1970 con modificaciones y el método de estimación de colonización de Mcgonigle et al. (1990), en el cual se montan fragmentos de raíces teñidas en portaobjetos para ser observadas al microscopio. El número de esporas se determinó con la técnica de decantado y tamizado húmedo (Gerdemann y Nicolson 1963) en combinación con centrifugación en gradiente de sacarosa (Walker 1997), como se describió en el apartado 6.1.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete STATGRAPHICS Centurion XV. Se realizó un análisis de varianza de dos vías (especie de agave e inóculo de

HMA). Se realizó una prueba de Tukey con intervalo de confianza de 95%, en los casos donde el ANOVA resultó significativo.

6.2.5 Resultados y Discusión

Se evaluó el efecto de los HMA nativos en el crecimiento de tres especies de agave, *A. tequilana*, *A. cupreata* y *A. inaequidens*, utilizando diferentes consorcios obtenidos de la DOM-Michoacán, para su potencial utilización como biofertilizante.

6.2.5.1 Efecto de los HMA nativos en el crecimiento de agave

Variables de crecimiento

Se encontró que en el factor inóculo Barranca de las Nueces (BN-MT) tuvo los valores mas altos en las variables de crecimiento de las plantas de agave (Fig. 6), seguido del inóculo de Agua Dulce (AD-MTu). En todas las variables evaluadas, el tratamiento Sin HMA, obtuvo los valores más bajos, excepto en la longitud de raíz. En biomasa, tanto fresca como seca, se encontró que el inóculo BN-MT fue el que tuvo mejor efecto (110.167 g y 14.3062 g, respectivamente), mientras que el tratamiento con menor biomasa fue el tratamiento sin HMA. De manera similar ocurrió para volumen de raíz y follaje. No se encontraron diferencias significativas en la variable longitud de raíz (Cuadro 17).

En el factor especie de agave se encontraron diferencias significativas en toda las variables de crecimiento, excepto en las varables de diametro de piña, longitud de raíz y volumen de raíz. El *Agave cupreata* tuvo los valores más altos en las variables de crecimiento donde hubo diferencia significativa, excepto en altura donde el valor más alto lo tuvo *A. tequilana*.



Figura 6. Plantas de *Agave tequilana*, *A. cupreata* y *A. inaequidens* con los tratamientos BN-MT (Barranca de las Nueces) y Sin HMA. a) vista lateral, b) vista superior.

No se encontraron diferencias significativas de la interacción inóculo de HMA y especie de agave (Cuadro 17).

Cuadro 17. Efecto de los HMA nativos en las variables de crecimiento de las plantas agave 300 después del trasplante.

Factor	Altura (cm)	Núm. Hojas	Biomasa Seca (g)	Biomasa Seca (g)	Diámetro de piña (mm)	Longitud de Raíz (cm)	Área Foliar (cm ²)	Volumen de Raíz (mL)	Volumen de Follaje (mL)	Núm. de esporas/ 100 g de suelo	Porcentaje de Colonización
EH-ME	9.65 ab	9.33 ab	9.80 abc	9.80 abc	25.60 ab	29.84 a	177.1 abc	11.4 ab	61.3 abc	277.685 ab	34.737 a
LC-ME	8.80 bc	7.53 bc	4.24 c	4.24 c	19.48 bc	26.27 a	122.28 bc	6.93 b	42.66 bc	211.389 abc	24.6296 a
CR-ME	9.4 abc	9.0 abc	6.14 bc	6.14 bc	22.83 abc	28.87 a	142.12 bc	10.93 ab	54.93 bc	188.611 abc	38.0679 a
EL-Mtu	9.94 ab	10.1 ab	10.83 abc	10.8 abc	25.33 ab	27.96 a	222.86 ab	12.53 ab	78.66 ab	160.0 bc	42.749 a
AD-Mtu	11.42 a	9.6 ab	12.52 ab	12.52 ab	27.26 ab	29.08 a	244.51 ab	15.13 ab	84.53 ab	254.722 ab	32.2346 a
BN-MT	11.37 a	11.66 a	14.30 a	14.30 a	29.76 a	26.62 a	270.39 a	16.06 a	103.66 a	282.315 ab	34.9506 a
PA-MT	10.6 ab	8.8 abc	7.31 abc	7.31 abc	24.25 abc	28.53 a	156.2 abc	9.0 ab	52.2 bc	281.574 ab	38.4286 a
CM-MT	10.2 ab	10.3 ab	10.66 abc	10.7 abc	26.59 ab	30.76 a	219.07 ab	12.0 ab	79.2 ab	155.185 bc	44.6132 a
INIFAP	10.2 ab	8.9 abc	8.63 abc	8.63 abc	24.46 abc	28.66 a	170 abc	10.46 ab	60.5 abc	351.296 a	25.5185 a
Sin HMA	7.20 c	6.26 c	3.83 c	3.83 c	17.25 c	20.87 a	89.33 c	6.6 b	31.93 c	38.0556 c	0.0 b
Especie vegetal											
A. tequilana	13.61 a	6.84 b	6.440 b	6.440 b	22.7856 a	24.656 a	88.0636 c	11.02 a	38.88 c	161.278 b	35.9807 a
A. cupreata	8.626 b	10.66 a	11.36 a	11.36 a	25.6478 a	29.766 a	270.226 a	11.78 a	91.42 a	315.111 a	29.8915 a
A. inaequidens	7.39 c	9.94 a	8.67 ab	8.67 ab	24.4298 a	28.822 a	185.909 b	10.52 a	64.6 b	183.861 b	28.9065 a
Probabilidad de F											
Inóculo	***	***	***	***	***	NS	***	*	***	***	***
Especie Vegetal	***	***	***	***	NS	NS	***	NS	***	***	NS
Inóculo* Especie	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativo para inóculo, sustrato y especie vegetal según Tukey ($P \leq 0.05$). *, Significativo ($P \leq 0.05$), **, Significativo ($P \leq 0.01$), ***, Significativo ($P \leq 0.001$), NS, No significativo.

Estos resultados difieren con los obtenidos por Pimienta *et al.* (2009), quienes inocularon plantas jóvenes de *A. tequilana* con *G. intraradices* y no tuvieron efecto en variables relacionadas con el crecimiento.

Cabe destacar que en los suelos de donde se obtuvieron estos inóculos (BN-MT y AD-MTu) el género mas abundante fue *Acaulospora* (Cuadro 18). Posiblemente los HMA de este género son mas afines a las plantas de agave y por tanto, tuvieron un mejor efecto en el crecimiento de las plantas.

Cuadro 18. Géneros dominantes presentes en los inóculos de HMA provenientes de la DOM-Michoacán.

Localidad	Inóculo	Sitio de Muestreo	Genero de HMA dominante
Etúcuaro	EH-ME	El Huizachal	<i>Glomus</i>
	LC-ME	Las Campesinas	<i>Glomus</i>
	CR-ME	Rancho Carlos Rojas	<i>Glomus</i>
Tumbisca	EL-Mtu	El Limón	<i>Glomus</i>
	AD-Mtu	Agua Dulce	<i>Acaulospora</i>
Tzitzio	BN-MT	Barranca de las Nueces	<i>Acaulospora</i>
	PA-MT	Paso Ancho	<i>Acaulospora</i>
	CM-MT	Cerro del Metate	<i>Glomus</i>
	INIFAP		<i>Glomus sp.</i>

EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate.

En 2009 Martínez *et al.* evaluaron la biomasa seca de *Agave americana* inoculado con cepas nativas de *Glomus intraradices* obtenidas de Nuevo León y una cepa comercial INIFAP, la cual también es *Glomus intraradices*, pero de una cepa diferente. Reportaron que no encontraron diferencias en el efecto del tipo de inóculo (comercial o nativo), en el incremento de biomasa de las plantas de agave. Esto difiere con lo encontrado en este trabajo, donde al menos una cepa nativa resultó ser mejor que la cepa comercial. Esta discrepancia puede deberse sobre todo, a que los inóculos nativos utilizados fueron consorcios y no una sola especie, como en el trabajo de Martínez *et al.* y la interacción entre una o más especies presentes pudo conferirle un mejor resultado en estos tratamientos, comparados con la cepa comercial. La duración del experimento de Martínez *et al.* (2009) fue

de un año y la del experimento aquí presentado fue de 300 días, por lo que esto no tendría influencia en las diferencias encontradas entre ambos trabajos.

Las diferencias en las variables de crecimiento por el factor de especie vegetal podrían deberse a las características propias de cada especie (Gentry 1982).

Variables microbiológicas

En cuanto a densidad de esporas (Cuadro 17), el mejor inóculo resultó ser INIFAP con 351.296 esporas en 100 g de suelo. En cuanto al factor especie de agave, para la densidad de esporas se encontró que *Agave cupreata* tuvo la mayor cantidad de esporas con 315.111 esporas en 100 g de sustrato posiblemente porque los inóculos utilizados se aislaron de plantaciones de esta especie. No hubo efecto de la interacción de ambos factores sobre la densidad de esporas.

En cuanto a la colonización micorrízica (Cuadro 17), no se encontraron diferencias significativas entre los distintos inóculos, ni entre las tres especies de agave. Por lo que se puede pensar que no hay una relación directa entre la colonización y el efecto de crecimiento, al menos para las especies aquí evaluadas.

En la interacción de ambos factores para las variables microbiológicas, se encontraron diferencias significativas. Para la densidad de esporas se encontró que el mejor tratamiento fue el tratamiento del inóculo INIFAP con *A. cupreata* con 556.667 esporas en 100 g de sustrato (Fig.7). En colonización el mejor tratamiento fue el inóculo CM-MT con *A. tequilana* con 49.20% de colonización (Fig.8), que fue estadísticamente igual al resto de los tratamientos con micorrización.

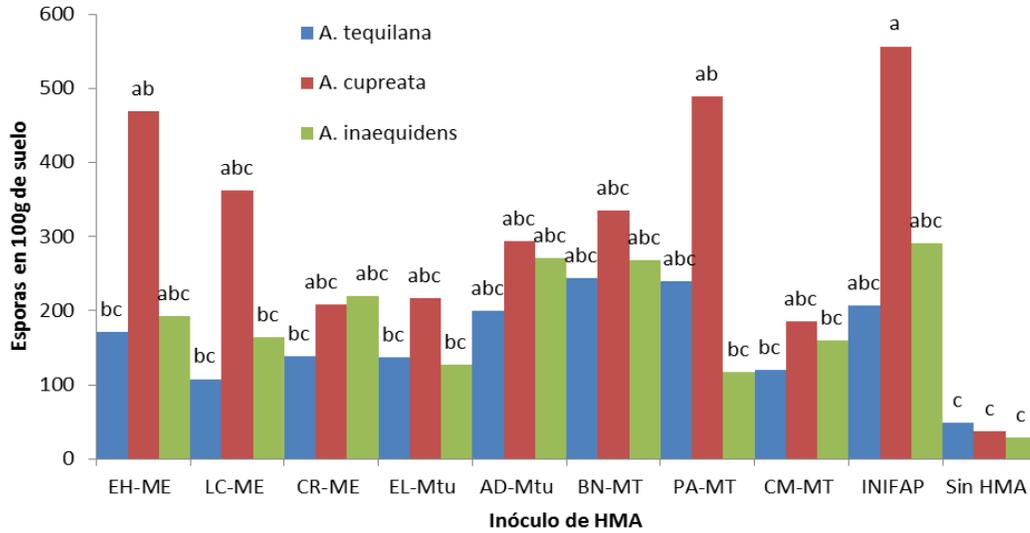


Figura 7. Efecto de los inóculos de HMA nativos de la DOM-Michoacán sobre la densidad de esporas de HMA en *A. tequilana*, *cupreata* e *inaequidens*. EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según Tukey ($P \leq 0.05$).

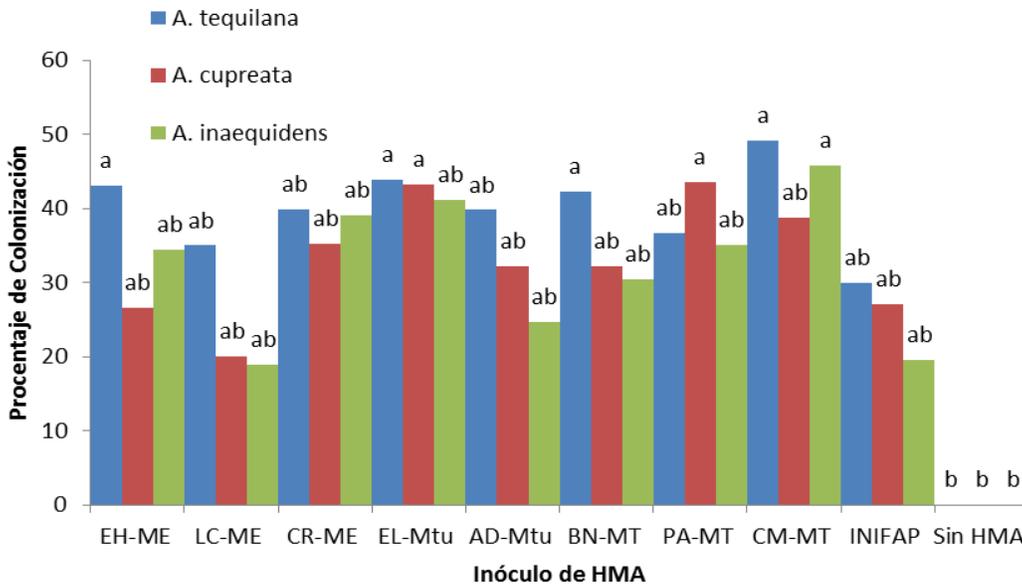


Figura 8. Efecto de los inóculos de HMA nativos de la DOM-Michoacán sobre el porcentaje de colonización micorrízica en *A. tequilana*, *cupreata* e *inaequidens*. EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según Tukey ($P \leq 0.05$).

6.2.5.2 Resultados en *Agave tequilana*

En *Agave tequilana*, se encontraron diferencias significativas entre los distintos inóculos para las variables biomasa fresca, área foliar, volumen de follaje (Fig. 12 a, d), número de hojas, diámetro de la piña y volumen de raíz (Cuadro 19). Para las variables biomasa seca, altura y longitud de raíz, no se encontraron diferencias estadísticas y en promedio obtuvieron 6.44g, 13.61 cm y 24.65, respectivamente.

Cuadro 19. Efecto de los inóculos de HMA nativos de la DOM-Michoacán sobre las variables de crecimiento en *Agave tequilana*.

Inóculo	Núm. Hojas	Diámetro de piña (mm)	Volumen de Raíz (ml)	Volumen de Follaje (ml)	Núm. de esporas /100 g de suelo	Porcentaje de Colonización
EH-ME	7.0 ab	25.15 ab	11.4 ab	36.4 b	171.667 ab	43.15 a
LC-ME	5.4 b	19.194 b	6.4 b	26.0 b	107.778 ab	35.0 ab
CR-ME	7.6 ab	23.078 ab	13.6 ab	43.2 ab	138.056 ab	39.94 ab
EL-Mtu	7.8 ab	22.464 ab	11.4 ab	36.4 b	136.389 ab	43.85 a
AD-Mtu	6.0 b	22.466 ab	10.4 ab	45.6 ab	200.0 ab	39.81 ab
BN-MT	9.0 a	29.1 a	21.0 a	78.0 a	243.611 a	42.22 a
PA-MT	7.0 ab	24.85 ab	10.6 ab	31.0 b	239.444 a	36.63 ab
CM-MT	6.8 ab	20.808 ab	8.0 b	32.6 b	120.0 ab	49.20 a
INIFAP	6.2 b	21.78 ab	10.8 ab	37.4 b	206.667 ab	30.0 ab
Sin HMA	5.6 b	18.966 b	6.6 b	22.2 b	49.1667 b	0 b

EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según Tukey ($P \leq 0.05$).

El inóculo que obtuvo los mayores valores para todas las variables fue el inóculo Barranca de las Nueces (BN-MT) (Fig. 9) y el que tuvo los valores más bajos fue el tratamiento Sin HMA.



Figura 9. Efecto de los inóculos de HMA en plantas de *Agave tequilana*. a) tratamientos EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, b) tratamientos BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate.

Estos resultados difieren con los obtenidos por Pimienta *et al.* (2009) en *Agave tequilana* inoculado con HMA, donde no encontraron diferencias significativas en las variables de crecimiento número de hojas jóvenes, longitud, ancho y grosor de hojas maduras.

El incremento en las variables de crecimiento se puede deber a la mejor captación de nutrientes que la micorriza le brinda a las plantas de agave, al tener una mayor superficie de exploración en el suelo que las propias raíces de la planta y facilitando la movilización de nutrientes (Smith y Read 1997).

Se encontró diferencia significativa en la densidad de esporas. Los inóculos Barranca de las Nueces y Paso Ancho obtuvieron 243.611 y 239.444 esporas por cada 100 g de sustrato, respectivamente (Cuadro 19).

En la colonización micorrízica, los inóculos Cerro del Metate y Barranca de las Nueces obtuvieron los mayores porcentajes. Siendo este último inóculo, donde se obtuvieron los valores más altos en las variables de crecimiento (Cuadro 19).

En 2009, Pimienta *et al.* reportaron colonizaciones de más del 70% después de 8 meses de micorrización, en plantas de *A. tequilana* y aquí la mayor fue de 49% en 10 meses. Esta diferencia podría deberse al tiempo de duración de ambos experimentos y a las diferencias en las condiciones de los mismos.

Se han encontrado resultados similares en otras especies de plantas MAC como lo es el pitayo (*Stenocereus queretaroensis*). En 2002, Pimienta *et al.* encontraron una correlación positiva entre la colonización micorrízica y el crecimiento de éstas plantas. Este estudio fue realizado en campo, con duración de un año.

6.2.5.3 Resultados en *Agave cupreata*

Al igual que en *A. tequilana*, para *A. cupreata* el mejor inóculo resultó ser BN-MT (Fig. 10) y el que tuvo los valores más bajos en las diferentes variables de crecimiento fue el tratamiento sin HMA (Cuadro 20). Se encontraron diferencias significativas para las variables de biomasa fresca, área foliar (Fig. 12 b, e), volumen de follaje y altura (Cuadro 20).

No se encontraron diferencias significativas para las variables biomasa seca, número de hojas, diámetro de piña, longitud y volumen de raíz, para las cuales se obtuvieron en promedio 11.36 g, 10.6 hojas, 25.64 mm, 29.76 cm y 11.78 mL, respectivamente.

Cuadro 20. Efecto de los HMA nativos en variables de crecimiento y microbiológicas en *Agave cupreata*.

Inóculo	Altura (cm)	Volumen de Follaje (ml)	Núm. de esporas / 100 g de suelo	Porcentaje de Colonización
EH-ME	7.42 ab	71.0 ab	468.611 ab	26.6184 ab
LC-ME	7.22 ab	43.0 b	361.667 ab	20.0 ab
CR-ME	8.44 ab	64.8 ab	208.056 ab	35.1852 ab
EL-Mtu	9.38 ab	101.6 ab	217.222 ab	43.2841 a
AD-Mtu	10.06 a	127.0 ab	293.333 ab	32.2222 ab
BN-MT	10.3 a	160.0 a	334.722 ab	32.2222 ab
PA-MT	8.46 ab	76.0 ab	488.611 ab	43.5185 a
CM-MT	8.68 ab	116.0 ab	185.556 ab	38.8272 ab
INIFAP	9.6 ab	87.8 ab	556.667 a	27.037 ab
Sin HMA	6.7 b	67.0 ab	36.6667 b	0 b

EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según Tukey ($P \leq 0.05$).



Figura 10. Efecto de los inóculos de HMA en plantas de *Agave cupreata*. a) Tratamientos EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, b) tratamientos BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate.

El inóculo con la mayor densidad de esporas fue INIFAP (556.667 esporas en 100 g de sustrato), aunque no fue el de mayor colonización micorrízica. El tratamiento sin HMA tuvo los valores más bajos para número de esporas (Cuadro 20).

El inóculo que tuvo una mayor colonización fue el inóculo de Paso Ancho (43.51%), el cual fue estadísticamente igual al tratamiento Barranca de las Nueces que fue el que tuvo mejor efecto para las variables de crecimiento.

El incremento de biomasa fresca y follaje observado, se pudo deber a una mejor captación de nutrientes y agua, facilitado por la simbiosis micorrízica, lo que trae consigo plantas de mayor tamaño y peso. Cui y Nobel (1992), estudiaron el estado nutrimental, la adquisición de agua y el intercambio de gases en plantas de *Agave deserti* inoculadas. Los resultados mostraron un incremento en el contenido de P en raíces y hojas, una mayor conductividad hidráulica en raíces y toma de CO₂. Llegaron a la conclusión de que la simbiosis con HMA incremento la toma de agua y nutrientes, para las plantas de agave.

6.2.5.4 Resultados en *Agave inaequidens*

En *Agave inaequidens*, el efecto del inóculo de HMA resulto significativo en las variables de crecimiento de biomasa fresca, área foliar (Fig. 12 c, f), biomasa seca, volumen de follaje, altura, número de hojas y diámetro de la piña (Cuadro 19). En esta especie, el inóculo Cerro del Metate (CM-MT) resultó ser el mejor en la mayoría de las variables de crecimiento y el tratamiento Sin HMA resulto tener los valores más bajos (Fig. 11).

Cuadro 21. Efecto de los inóculos de HMA sobre las variables de crecimiento en *Agave inaequidens*.

Inóculo	Volumen de Follaje (ml)	Biomasa Seca (g)	Altura (cm)	Núm. Hojas	Diámetro de piña (mm)	Núm. de esporas / 100 g de suelo	Porcentaje de Colonización
EH-ME	76.6 ab	14.431 a	8.06 ab	12.2 a	28.396 a	192.778 ab	34.4444 a
LC-ME	59.0 ab	5.4824ab	6.24 bc	9.4 ab	22.3 ab	164.722 ab	18.8889 ab
CR-ME	56.8 ab	5.535 ab	7.06 abc	10.0 ab	24.12 ab	219.722 ab	39.0741 a
EL-Mtu	98.0 a	11.160ab	7.46 ab	9.8 ab	25.51 ab	126.389 ab	41.1111 a
AD-Mtu	81.0 ab	11.77 ab	10.42 a	10.4 a	28.47 a	270.833 a	24.6667 ab
BN-MT	73.0 ab	12.53 ab	7.86 ab	12.2 a	28.142 a	268.611 a	30.4074 a
PA-MT	49.6 ab	5.82 ab	6.88 abc	10.0 ab	23.03 ab	116.667 ab	35.1389 a
CM-MT	89.0 a	10.35 ab	8.96 ab	11.2 a	29.22 a	160.0 ab	45.8148 a
INIFAP	56.4 ab	9.152 ab	7.62 ab	9.8 ab	24.04 ab	290.556 a	19.5185 ab
Sin HMA	6.6 b	0.5342 b	3.34 c	4.4 b	11.048 b	28.3333 b	0 b

EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según Tukey ($P \leq 0.05$).



Figura 11. Efecto de los inóculos de HMA en plantas de *Agave inaequidens*. a) Tratamientos EH-ME = El Huizachal, LC-ME = Las Campesinas, CR-ME = Rancho Carlos Rojas, EL-MTu = El Limón, AD-MTu = Agua Dulce, b) tratamientos BN-MT = Barranca de las Nueces, PA-MT = Paso Ancho, CM-MT = Cerro del Metate.

Se encontraron diferencias significativas en la variable densidad de esporas. El inóculo de INIFAP, seguido por Agua Dulce y Barranca de las Nueces fueron los que presentaron una mayor densidad de esporas con 290.556, 270.833 y 268.611, esporas por 100 g de suelo, respectivamente.

Mientras que en colonización el mejor inóculo fue Cerro del Metate (Cuadro 21). Cabe destacar que este es el mismo tratamiento que resultó tener mejores efectos sobre las variables de crecimiento evaluadas, por lo que es posible que el incremento en la colonización del agave influyera en su crecimiento como se muestran en el Cuadro 21.

Estos resultados son menores que los encontrados por Armenta *et al.* (2003), donde se encontraron densidades de esporas desde 400 hasta 700 esporas por 100 g de suelo pero asociadas a plantas de *Agave angustifolia*, esto en condiciones de campo en la zona serrana central de Sonora, México. Tanto las condiciones de suelo y ambiente y la edad de las plantas son diferentes, entre ambos trabajos, por lo que estos factores pueden estar interviniendo en la densidad de esporas.

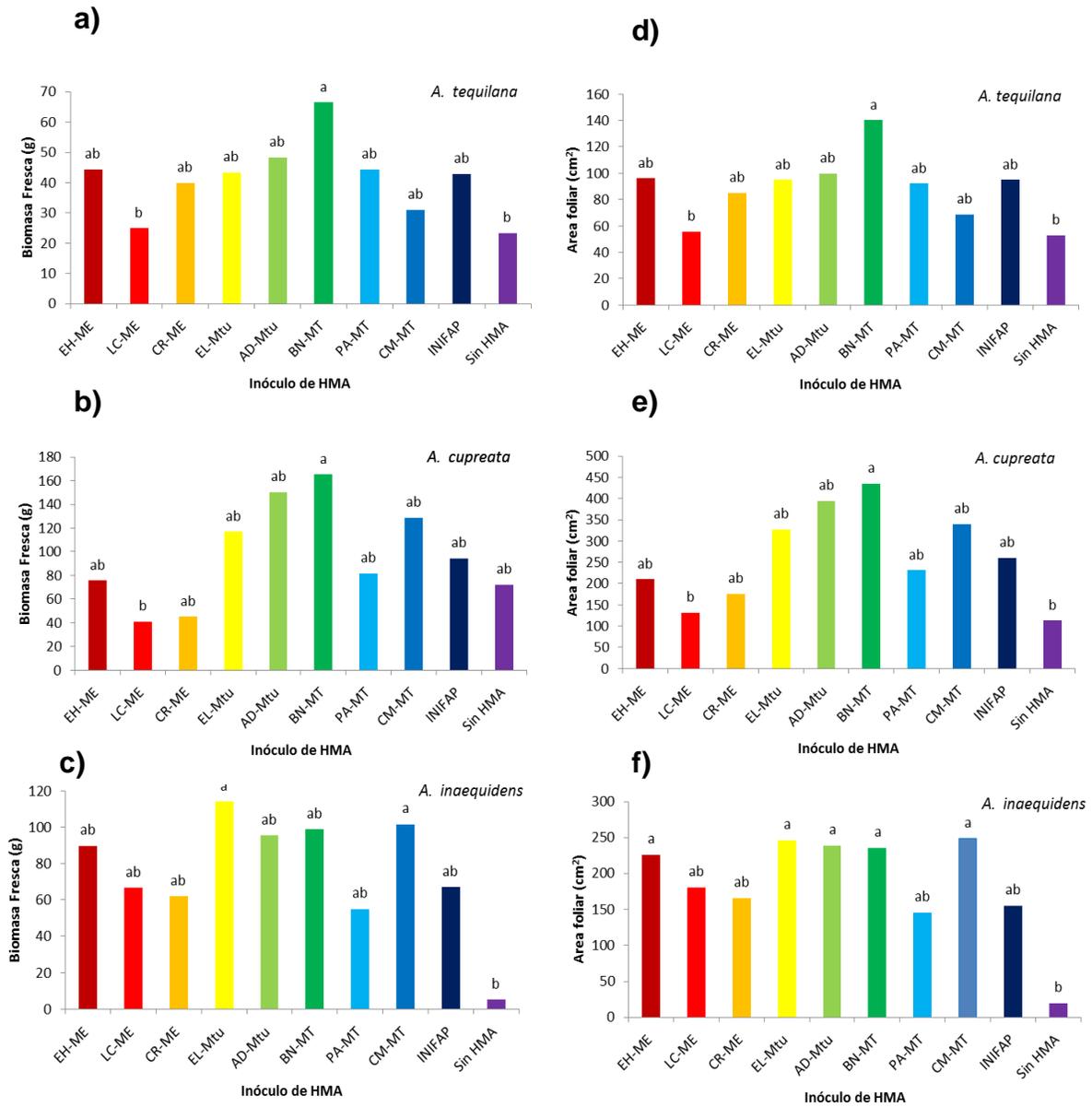


Figura 12. Efecto de los HMA nativos en las variables de biomasa fresca y área foliar para *A. tequilana* (a, d), *A. cupreata* (b, e) y *A. inaequidens* (c, f).

6.2.6 Conclusiones

Se evaluó el efecto de diferentes consorcios de HMA nativos de la Denominación de Origen del Mezcal (DOM)-Michoacán en el crecimiento de las plantas. Se encontró que el consorcio de HMA Barranca de las Nueces obtenido de la región de Tzitzio, Michoacán, fue donde se registraron los valores más altos en las diferentes variables de crecimiento en las tres especies de agave.

Para *A. tequilana* el mejor inóculo en las variables de crecimiento fue Barranca de las Nueces con una biomasa fresca de 66.5 g, un área foliar de 140.27 cm², un volumen de raíz de 21 ml y un volumen de follaje de 78 ml.

Para *A. cupreata*, también Barranca de las Nueces resulto ser el inóculo con valores más altos para biomasa fresca (165.2 g), altura (10.3 cm) y volumen de follaje (160 ml).

Para *A. inaequidens* se encontró que el mejor inóculo fue Cerro del Metate con una biomasa fresca de 101.5g, numero de hojas de 11.2 hojas, área foliar de 248.326 cm² y volumen de follaje de 89 ml. Pero estos resultados no fueron estadísticamente diferentes de Barranca de las Nueces (98.7 g, 12.2 hojas, 235.8 cm² y 73 ml, respectivamente).

Para todas las especies el tratamiento sin HMA resulto ser el que tuvo los valores más bajos en las variables de crecimiento.

Con los resultados obtenidos, podría recomendarse como un potencial biofertilizante para especies de Agave el inóculo proveniente de Barranca de las Nueces.

6.2.7 Literatura Citada

- Armenta, A., Sanchez, A., Cervantes, T., Higuera, I., y M. Esqueda. 2003. **Hongos filamentosos y micorrízicos asociados con *Agave angustifolia* Haw.** Boletín CIAD 12: 1-2.
- Azcón Aguilar, C. y B. Bago. 1994. **Physiological characteristics of the host plant promoting and undisturbed functioning of the mycorrhizal symbiosis.** En S. Gianinazzi, & H. Shüepf, *Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems.* Birkhäuser. Basel, Suiza. pp. 47-60
- Azcón Aguilar, C. y J. Barea, 1996. **Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil borne plant pathogens: an overview of the mechanisms involved.** *Mycorrhiza* 6: 457-464.
- Consejo Regulador del Tequila, C. 2010. **Actualización de la base de datos y diagnóstico fitosanitario: *Agave tequilana* Weber var. azul.** Comité Técnico Agronómico. Sub-comité de Fitosanidad.
- Cui, M., y P. Nobel. 1992. **Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi.** *New Phytol* 122: 643-649.
- García Mendoza, A. 2004. **Agavaceas.** En A. García Mendoza, J. Ordoñez, y M. Briones Salas. **Biodiversidad de Oaxaca.** Mexico, D.F. pp. 159-169
- Gentry, H. 1982. **Agaves of continental North America.** University of Arizona Press.
- Gerdemann, J. y T. Nicolson. 1963. **Spores of mycorrhizal endogene species extracted by wet sieving and decanting.** *Transactions of British Mycological Society* 46: 235-244.
- Good Avila, S., Souza, V., Gaut, B. y L.Eguiarte. 2006. **Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae).** *Proceedings of the National Academy of Sciences* 24 (103): 9124-9129.
- Martínez López, J., Vázquez Alvarado, R., Gutierréz Ornelas, E., Peña del Río, M., López Cervantes, R., Olivares Saénz, E., Vidales Contreras, J. A. y Valdez

- Cepeda, R. D. 2009. **Mycorrhiza effect on nutritional quality and biomass production of Agave (*Agave americana* L.) and cactus pear (*Opuntia lindheimeri* Engelm).** *Journal of the professional association for cactus development* 11: 69-77.
- Mcgonigle, T., Miller, M., Evans, D., Fairchild, G. y J. Swan, 1990. **A new method wich gives and objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi.** *New Phytologist* 115: 495-501.
- Nobel, P. 1988. **Environmental biology of agavesand cacti.** Cambridge: Cambridge University Press.
- Phillips, J. y D. Hayman, 1970. **Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection.** *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-160.
- Pimienta Barrios, E., Pimienta Barrios, E., Salas Galván, M., Zañudo Hernández, J. y P .Nobel. 2002. **Growth and reproductive characteristics of the columnar cactus *Stenocereus queretaroensis* and their relationships with enviromental factors and colonization by arbuscular mycorrhizae.** *Tree Physiology* 22: 667-674.
- Pimienta Barrios, E., Zañudo Hernández, J. y E. López Alcocer. 2009. **Efecto de las micorrizas arbusculares en el crecimiento, fotosíntesis y anatomía foliar de plantas jóvenes de *Agave tequilana*.** *Acta Botanica Mexicana* 89: 63-78.
- Reyes Tena, A. 2012. **Variación estacional de hongos micorrizicos arbusculares (HMA) asociados al agave mezcalero (*Agave cupreata* Trel y Berger) en Michoacán.** Tesis de Licenciatura. Fac. de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán.
- SAGARPA. 2012. **Anuario Estadístico de la Producción Agrícola.** Recuperado el 28 de 01 de 2014, de Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP): <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>

- Schubler, A., y C. Walker. 2010. **The Glomeromycota: A species list with new families and new genera.** Gloucester, Inglaterra.
- Smith, S. y D. Read. 1997. **Mycorrhizal symbiosis.** Academic Press. San Diego, USA. pp 800.
- Trejo, A., Zulueta Rodríguez, R. y L. Lara Capistrán. 2008. **Manual de Prácticas para el Estudio de la Simbiosis Micorrizógena Arbuscular.** Textos Universitarios de la Universidad Veracruzana. Xalapa, México.
- Walker, C. 1997. **Spore extraction by centrifugation-sugar flotation.** Milton. New Hampshire.

6.3 Efecto de los HMA como bioprotector contra *Fusarium oxysporum* en *Agave tequilana*

6.3.1 Resumen

De la producción total de *Agave tequilana* en Michoacán, entre un 20 y 30% de las plantas se encuentran afectadas por enfermedades como la marchitez. El agente causal de esta enfermedad es el hongo *Fusarium oxysporum* y el síntoma característico es la marchitez de las hojas ocasionado por la destrucción del sistema radical o por el taponamiento de haces vasculares. El control químico para esta enfermedad es poco útil y este tipo de prácticas afectan la biota beneficiosa del suelo, por lo que el uso de microorganismos como biocotrol o bioprotección, es una opción prometedora y sustentable. La utilización de HMA puede prevenir el ataque de bacterias y hongos fitopatógenos asociados a las enfermedades que afectan el agave. Por lo que el objetivo de este estudio fue, evaluar el efecto de HMA como bioprotectores de enfermedades fúngicas (*Fusarium oxysporum*) del agave tequilero. Para esto primero se estableció un ensayo para establecer una escala ordinal de los síntomas de la enfermedad (severidad patogénica). La escala contó con cinco niveles de severidad que van desde planta sana hasta planta muerta. Entre los síntomas se observaron: enrollamiento de las hojas, marchitez desde la punta de la hoja hacia la base, pérdida del sistema radicular, entre otros. Para evaluar el efecto bioprotector de los HMA, se micorrizaron bulbilos de *Agave tequilana* y se trasplantaron a sustrato infestado con el fitopatógeno a una concentración de 1.5×10^4 UFC g⁻¹ de sustrato y a los 75 días se realizó una reinoculación con suspensión de esporas con una concentración de 1×10^5 esporas mL⁻¹. A los 100 días después de la inoculación con el patógeno, se comenzaron a observar síntomas en los niveles más leves de la enfermedad, como lo fueron enrollamiento y necrosamiento de las puntas y clorosis de las hojas. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos respecto al efecto bioprotector contra *Fusarium oxysporum*.

6.3.2 Abstract

Of the total production of *Agave tequilana* in Michoacán, between 20 and 30 % of the plants are affected by diseases like wilt. The agent causal of this disease is the fungus *Fusarium oxysporum* and its characteristic symptom is wilting of the leaves caused by the destruction of the root system or plugging of vascular bundles. The chemical control for this disease is not very useful and affect the benefic biota of soil; so that the use of microorganisms as biocotrol or bioprotection is an option promising and sustainable. The use of AMF can prevent the attack of bacterial and fungal pathogens associated with diseases that affect the agave. In this study, the aim was to evaluate the effect of HMA as bioprotectors against fungal diseases (*Fusarium oxysporum*) of *Agave tequila*. First, an experiment was conducted, to establish an ordinal scale of symptoms of the disease (pathogenic severity). The scale had five levels of severity ranging from healthy plant to dead plant. Among the symptoms were observed: curling of leaves, wilting from the tip toward the base of the leaves, loss of the root system, among others. To evaluate the bioprotector effect of AMF, bulbils of *Agave tequilana* were mycorrhized and transplanted into an infested substrate with a concentration of 1.5×10^4 CFU g^{-1} of substrate the pathogen and 75 days after a reinoculation with 1×10^5 spores ml^{-1} was made. After 100 days of inoculation with *Fusarium oxysporum* begun to observed symptoms in milder disease levels, such as curl of the leaf, necrosis on the tips and leaf chlorosis. There were no significant differences between treatments regarding to bioprotector effect against *Fusarium oxysporum*.

6.3.3 Introducción

El agave es una planta de gran importancia económica para el estado de Michoacán y para México, siendo utilizada como fuente de alimento, forraje, medicina, fibra y como material de construcción, entre otros usos. Su principal utilidad es para la elaboración de bebidas alcohólicas como el pulque, el mezcal, el bacanora y el tequila, el cual es producido de la especie *Agave tequilana* Weber

var. Azul (Granados 1993). La Denominación de Origen del Tequila (DOT) - Michoacán, cuenta con 30 municipios localizados al noroeste del estado, con alrededor de 7 162 869 plantas para el año 2008 (CRT 2010). De estas plantas, entre un 20 y 30% se encuentran afectadas por enfermedades como la marchitez.

El agente causal de esta enfermedad es el hongo *Fusarium oxysporum*. El síntoma característico es la marchitez de las hojas ocasionado por la destrucción del sistema radical o bien por el taponamiento de haces vasculares. En campo, los síntomas reportados en la marchitez del agave son: marchitez, clorosis (hojas amarillo claro), enrollamiento de los bordes de las hojas, secado de las hojas más viejas del ápice a la base, pudrición extensiva de color marrón en la corona y finalmente si la planta es empujada, esta se cae fácilmente por la pudrición de las raíces (Ávila *et al.* 2010).

El control para esta enfermedad es principalmente mediante la aplicación de productos químicos foliares, en el cogollo y en el suelo (uso de fungicidas a base de cobre); sin embargo, es poco útil, debido a que el problema se encuentra en la raíz y el fungicida difícilmente llega hasta ellas. La aplicación de cal también es una práctica de control común, ya que se sabe que *Fusarium* sp puede desarrollarse mejor cuando el pH del suelo es ácido (de 5 a 5.5), así que al aplicar cal se crea un ambiente desfavorable para el desarrollo de este hongo (González *et al.* 2012). Pero este tipo de prácticas también afectan la biota benéfica del suelo, por lo que el uso de microorganismos como biocotrol o bioprotección, es una opción prometedora y sustentable.

La utilización de HMA puede prevenir el ataque de bacterias (Zhu y Yao 2004) y hongos fitopatógenos asociados a las enfermedades que afectan el agave. La prevención de enfermedades mediante el uso de HMA tiene sus bases en que esta simbiosis da como resultado plantas mejor nutridas y vigorosas por la adquisición de nutrientes poco disponibles para las plantas pero accesibles a los hongos micorrízicos (Riveros 2010).

Además, las plantas activan sus sistemas de defensa cuando la hifa de HMA penetra las paredes celulares. En la planta, se engruesan las paredes de las células de la epidermis de las células de la raíz, lo que indica un reconocimiento del contacto con el hongo. Al ser biótrosos obligados, los HMA comparten similitudes con patógenos biótrosos, por lo que, en un principio, la planta los reconoce como si fuesen un patógeno de este tipo y activa las defensas reguladas por el Ácido Salicílico (AS). Se ha visto que se activan solo respuestas de defensa locales y débiles durante las primeras etapas de la interacción de la micorriza (Pozo y Azcón, 2007). Después de esto, el hongo suprime las respuestas dependientes de AS en la planta, para lograr una colonización exitosa. Después del reconocimiento, se activa un programa que permite la redistribución de nutrientes y activa la distribución espacial del hongo dentro de las células de la raíz. Ambos aspectos podrían estar regulados por jasmonatos. Las raíces micorrizadas están asociadas con un aumento endógeno de los niveles de Ácido Jasmónico (AJ) (Smith y Read, 1997; Pozo y Azcón, 2007). Lo cual activa los mecanismos de defensa dependientes de AJ, confiriendo a la planta una resistencia sistémica inducida (IRS) (Madriz 2002).

Debido a la poca información disponible en cuanto al uso de micorrizas para prevenir esta enfermedad en plantas de agave, este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de HMA como bioprotectores de enfermedades fúngicas (*Fusarium oxysporum*) del agave tequilero en condiciones de invernadero.

6.3.4 Materiales y Métodos

6.3.4.1 Prueba de Patogenicidad y Sintomatología de la Enfermedad Causada por *F. oxysporum* en *Agave tequilana*

Se propagó inóculo de *F. oxysporum* en un medio sustrato-avena-agua (SAA). Este medio consiste de una mezcla de arena, suelo infestado de *F. oxysporum*, materia orgánica y vermiculita con hojuelas molidas de avena y agua

en proporciones 20:2:4 v/v, todo esterilizado. Por cada 200 g de sustrato se inocularon 500 μL de una suspensión de esporas diluidos en 9.5 mL de agua desionizada estéril. Para obtener esta suspensión, se inocularon cajas de petri con medio de cultivo PDA y se conservaron en oscuridad durante dos días a $27\pm 1^\circ\text{C}$ después a 12/12 h de luz/oscuridad. Se recolectaron las esporas con 15 mL de agua desionizada estéril, con ayuda de un pincel esterilizado. Se incubó el sustrato inoculado con *F. oxysporum* en oscuridad a temperatura ambiente durante 20 días, mezclando el sustrato cada tercer día.

Se realizó un conteo de las UFC por gramo de sustrato. Para esto se realizaron diluciones decimales a partir de 1 g del sustrato inóculado con *F. oxysporum* y se inoculó 100 μL de cada dilución en cajas de petri con medio PDA con Rosa de Bengala como antibiótico. Se incubó durante 3 días a $27\pm 1^\circ\text{C}$ en oscuridad. Se obtuvo una concentración de 2.1×10^7 propágulos g^{-1} de sustrato. Se diluyó con sustrato estéril para obtener las concentraciones deseadas y se colocaron 150 g de cada concentración en macetas de 200 g. Se transplantaron plantas de *Agave tequilana* y se regaron. Se incubaron a $26\pm 1^\circ\text{C}$, con un fotoperíodo de 12/12 horas luz/oscuridad. Se mantuvo el experimento durante 100 días.

Se arregló en un diseño completamente al azar con siete tratamientos y tres repeticiones por tratamiento.

Cuadro 22. Diseño de tratamientos evaluados en la prueba de patogenicidad de *F. oxysporum* en agave tequilero.

Concentración de <i>F. oxysporum</i>	Tratamiento
1x10 ⁴ propagulos/g de sustrato	1
0.5x10 ⁴ propagulos/g de sustrato	2
1x10 ⁶ propagulos/g de sustrato	3
0.5x10 ⁶ propagulos/g de sustrato	4
1x10 ⁷ propagulos/g de sustrato	5
0.5x10 ⁷ propagulos/g de sustrato	6
Sin <i>F. oxysporum</i>	7

Se monitorearon periódicamente las plantas hasta la aparición de los síntomas de la marchitez y se estableció una escala ordinal visual de patogenicidad.

6.3.4.2 Efecto de HMA como bioprotector del *Agave tequilana*

Se evaluaron dos diferentes inóculos de HMA como bioprotectores en *A. tequilana*. Para esto se estableció un experimento en invernadero. Los inóculos micorrízicos que se utilizaron fueron el inóculo comercial INIFAP®, un consorcio proveniente de la DOM-Michoacán (BN-MTu) y un control Sin HMA. Además, se utilizó la cepa de *Fusarium oxysporum* como patógeno causante de marchitez en el agave.

Micorrización

Se utilizaron 200 g de un sustrato estéril, que consistió una mezcla de arena, suelo, materia orgánica (vermicomposta) y vermiculita en proporciones 30:50:5:15 respectivamente, en macetas de 250 g. Se inocularon los HMA (100 esporas) en el agujero de trasplante al momento de sembrar los bulbillos de *A. tequilana*. El tiempo que se mantuvieron en micorrización fueron 4 meses. Después de este tiempo se tomaron muestras de raíz para hacer una estimación del porcentaje de colonización micorrízica, con la metodología de Phillips y

Hayman de 1970 con modificaciones y el método de estimación de colonización de Mcgonigle *et al.* (1990), como se describió en apartados anteriores.

Obtención del inóculo de *F. oxysporum*

Se propagó el inóculo de *F. oxysporum* de la misma forma mencionada en el apartado anterior. Se incubó el sustrato inoculado con *F. oxysporum* en oscuridad a temperatura ambiente durante 20 días, mezclando el sustrato cada tercer día.

Se realizó un conteo de las UFC por gramo de sustrato, de la misma manera que en el apartado anterior. Se ajustó para tener una concentración de 1.5×10^4 propagulos.g⁻¹ de sustrato.

Se agregó la mezcla de sustratos utilizada para la micorrización hasta completar 2 kg, en bolsas de polietileno negras. Se trasplantaron los agaves previamente micorrizados (incluyendo el cepellón). Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento.

Cuadro 23. Diseño de tratamientos evaluados en el experimento de bioprotección.

Inoculo de HMA	Inoculo de <i>F. oxysporum</i>	Tratamiento
BN-MTu		1
INIFAP®	Inoculacion con Fox	2
Sin HMA		3
BN-MTu		4
INIFAP®	Sin Inoculacion Fox	5
Sin HMA		6

BN-MT = Barranca de las Nueces, Fox = *Fusarium oxysporum*.

A los 3 meses después del trasplante al sustrato infestado con *F. oxysporum*, no se observaban síntomas de la enfermedad, por lo que se decidió tomar una muestra del suelo rizosférico de las macetas y cerciorarse de la presencia de *F. oxysporum* en cajas de petri con medio PDA, por medio de

diluciones decimales. Como no se observaron las colonias típicas, se hizo una reinoculación con una suspensión de esporas con una concentración de 1×10^5 esporas por mL.

A los 75 días después del trasplante al sustrato infestado con *F. oxysporum*, se reinocularon seis plantas (repeticiones) de las 10 que se tenían por cada tratamiento. A cada planta se le agregaron 10 mL de la suspensión de esporas.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete STATGRAPHICS Centurion XV. Se realizó un análisis no paramétrico mediante la prueba de Kruskal-Wallis, para la escala ordinal de severidad de la enfermedad. Para el resto de las variables se realizó ANOVA y prueba de Tukey con un intervalo de confianza de 95%.

6.3.5 Resultados y Discusión

6.3.5.1 Prueba de Patogenicidad y Sintomatología de la Enfermedad Causada por *F. oxysporum* en *Agave tequilana*

Con base a la sintomatología observada en la parte aérea de las plantas de *Agave tequilana*, se propuso una escala ordinal de severidad patogénica. Esta escala contó con cinco niveles de enfermedad donde:

Nivel 1= Planta sana o asintomática.

Nivel 2= Inicio de la enfermedad, hojas con enrollamiento.

Nivel 3= Avance medio, hojas con enrollamiento, puntas necrosadas, clorosis.

Nivel 4= Avance severo, hojas con mayor avance de marchitez, casi a la mitad de la hoja.

Nivel 5= Planta muerta, hojas marchitas.

Nivel 1. Asintomático: Las plantas no muestran síntoma alguno de enfermedad. Presentan sus hojas con el color característico verde azul, extendido, turgente y de buen vigor (Fig. 13 a, b, c).

Nivel 2. Inicio de la enfermedad: Las plantas presentan un enrollamiento de las primeras hojas (hojas más viejas) que comienza de los bordes hacia el centro. Estas hojas, presentan también bordes irregulares y se observa principios de necrosis en las puntas. Las hojas exteriores (cercanas a la base) presentan áreas secas por necrosis, no se presenta cambio en la coloración de las hojas (Fig. 13 d, e, f).

Nivel 3. Avance medio: Las plantas presentan un necrosamiento más avanzado en las puntas de las primeras hojas. Las hojas cercanas a la base se encuentran completamente necróticas (Fig. 13 g, h, i).

Nivel 4. Avance severo: La necrosis avanza en las hojas, desde los ápices y extendiéndose hacia la base de las hojas. Se presenta un enrollamiento que hace que las hojas adquieran una forma de “vela”, hacia la mitad de la hoja. Las hojas de la base están completamente marchitas. Al mover la planta, ésta no está bien fija al suelo, se puede sacar de la maceta con facilidad (Fig. 13 j, k, l).

Nivel 5. Planta Muerta: En este experimento no se observaron plantas muertas, probablemente debido al tiempo que éste duro. Por lo que, en base a las plantas con daños más severos (nivel 4), se propuso el nivel 5, donde la necrosis avanzaría y marchitaría todas las hojas, causando finalmente la muerte de la planta.

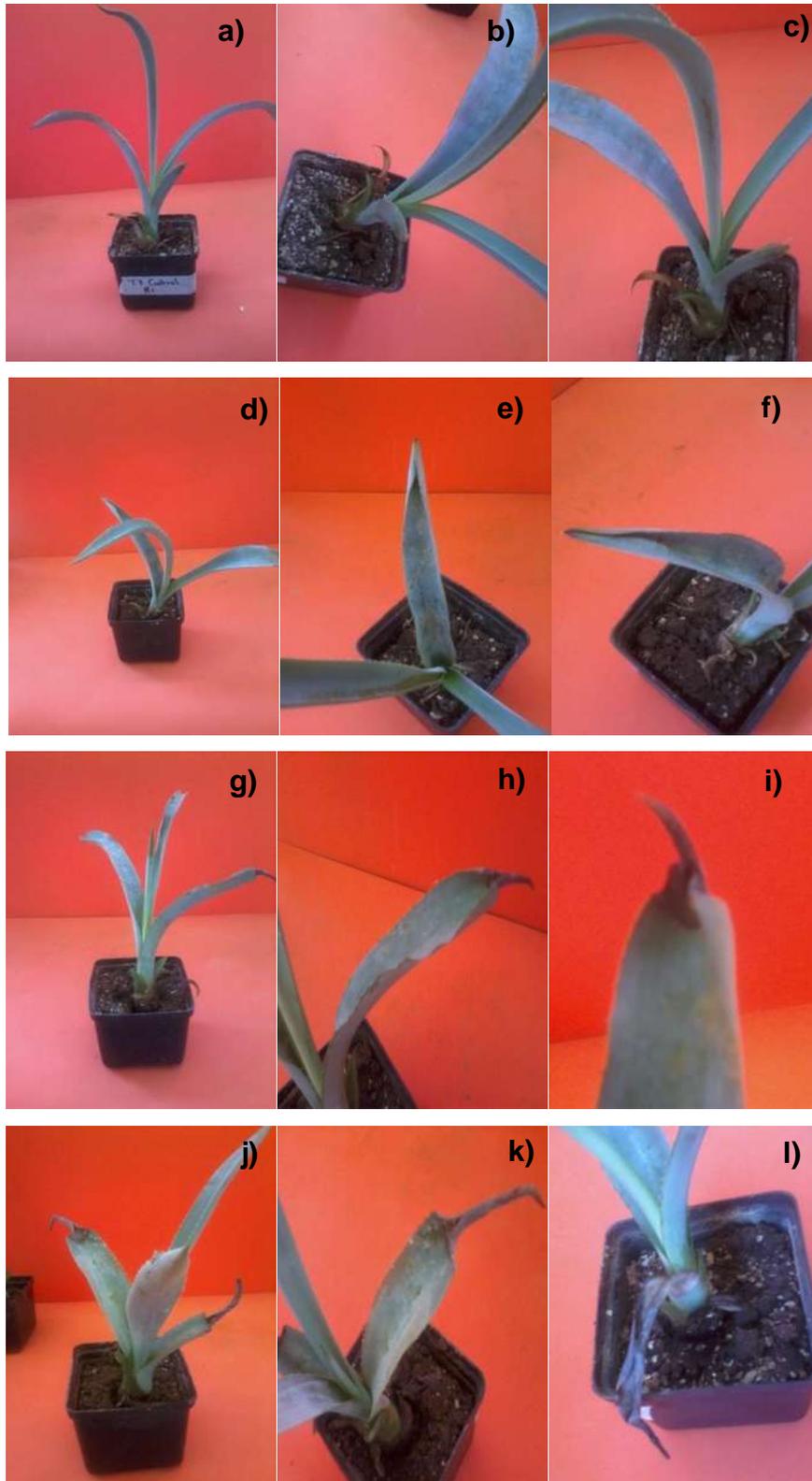


Figura 13. Plantas de *Agave tequilana* clasificadas en la escala de severidad de marchitez por *F. oxysporum*. Nivel 1 (a, b, c), nivel 2 (d, e, f), nivel 3 (g, h, i), nivel 4 (j, k, l).

6.3.5.2 Efecto de HMA como bioprotector del *Agave tequilana*

Se evaluó el efecto de bioprotección de los HMA nativos contra *F. oxysporum* en plantas de *A. tequilana*, para ser potencialmente utilizados como agentes bioprotectores contra enfermedades de tipo fúngicas.

Después de cuatro meses inoculación con HMA, no hubo diferencias significativas en las variables de crecimiento entre los distintos tratamientos (Cuadro 24). En el experimento anterior donde se evaluaron diferentes inóculos nativos de HMA en *A. tequilana*, se encontraron diferencias en el crecimiento entre plantas inoculadas y sin HMA a los 270 días después de la inoculación. El hecho de que a los cuatro meses no se observaran efectos de la inoculación entre tratamientos, podría estar indicando que no se dejó el tiempo suficiente para que la simbiosis entre la raíz de la planta y el hongo pudiera manifestara su efecto promotor en el crecimiento; a pesar de registrarse en promedio un 28% de colonización en los tratamientos inoculados.

Cuadro 24. Efecto de los HMA sobre las variables de crecimiento al inicio del experimento y después de cuatro meses de micorrización.

Inóculo de HMA	Altura Inicial (mm)	Altura a los 120 días (mm)	Diámetro de piña Inicial (mm)	Diámetro de piña a los 120 días (mm)	Biomasa Fresca Inicial (g)	Biomasa Fresca a los 120 días (g)
BN-MT	89.527 a	152.667 a	22.8245 a	24.1033 a	13.1 a	37.0533 a
INIFAP	98.149 a	143.667 a	22.368 a	22.5333 a	12.205 a	32.2133 a
Sin HMA	102.88 a	116.667 a	22.6425 a	24.0033 a	13.2 a	23.0533 a

BN-MT = Barranca de las Nueces. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Antes de ser inoculados con *Fusarium oxysporum*, se tomó una muestra de raíces de los agaves para hacer un análisis de la colonización micorrízica. No se encontraron diferencias entre los tratamientos micorrizados. Sin embargo, el inóculo Barranca de las Nueces fue donde se encontró el mayor valor (Cuadro 25).

Cuadro 25. Porcentaje de colonización micorrízica antes de Inoculación con *F. oxysporum*.

Inóculo de HMA	Porcentaje de Colonización micorrízica
BN-MT	30.7407 a
INIFAP	26.1111 a
Sin HMA	0.0 b

BN-MT = Barranca de las Nueces. Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Se contó el número de hojas al inicio de la micorrización, al momento de la inoculación con *F. oxysporum* y 100 días después de la inoculación con *F. oxysporum*, y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

El hecho de que no hubiera diferencia en el número de hojas, a pesar de que las plantas de agave estaban micorrizadas, pudo deberse a la duración del experimento. Al ser el agave una planta suculenta de lento crecimiento, es de suponerse que los efectos de la micorriza tardan en observarse. Como lo pudiera estar indicando el segundo experimento de este trabajo, donde si se observó un efecto de los HMA sobre el crecimiento del *A. tequilana* después de 270 días de inoculación.

A los 100 días de inoculación con *F. oxysporum* se observaron algunos síntomas en las hojas de las plantas de agave. Sin embargo, al hacer el análisis estadístico no paramétrico mediante la prueba de Kruskal-Wallis, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. El nivel de severidad en el que se encontraban las plantas de agave de acuerdo a la escala propuesta fue el nivel 2 (inicio de la enfermedad). Es probable que la fecha en la cual se realizó el muestreo, haya sido anticipada para poder evaluar el efecto bioprotector de lo HMA. Tal vez para muestreos posteriores es probable que se encuentren diferencias entre plantas inoculadas y plantas sin HMA.

Las condiciones del experimento (temperatura), también pudieron tener influencia en el resultado de los análisis. Se reporta que una temperatura de 28°C es óptima para el desarrollo de la enfermedad. Por debajo de los 20°C los

síntomas se ven reducidos (Flores 2010). Durante el experimento, se registraron las siguientes temperaturas (Cuadro 26) y se observó que, durante los meses que duró el experimento la temperatura promedio estuvo por debajo de la temperatura óptima para el desarrollo de la enfermedad, pero por arriba de los 20°C.

Cuadro 26. Temperaturas promedio registradas en el invernadero durante el experimento.

Mes	Temp. Min. Promedio (°C)	Temp. Max. Promedio (°C)	Promedio mensual (°C)
Octubre	7.04	41.64	24.34
Noviembre	8.87	45.27	27.08
Diciembre	7.71	45.1	26.40
Enero	5.58	47.26	26.42
Febrero	6.67	49.51	28.09

Es posible también que la concentración del inóculo de *F. oxysporum* no haya sido adecuada para observar el efecto bioprotector de los HMA. Se utilizó, en un inicio, 1.5×10^4 UFC g^{-1} y como no se observaban síntomas, se realizó un conteo en placa de UFC y no se encontraron las colonias típicas de *F. oxysporum*. Por lo cual, se reinocularon con una suspensión de 1×10^5 esporas mL^{-1} , quedando un total de 15,500 esporas g^{-1} . Al-Askar en 2010, realizó un experimento evaluando diferentes cepas de HMA para controlar la marchitez por *Fusarium* en frijol. Reportaron que en plantas micorrizadas, el porcentaje de la severidad de la enfermedad y la incidencia en plantas infectadas se redujo significativamente. En su trabajo, la concentración de esporas de *Fusarium* que usaron fue de 2 000 esporas g^{-1} . En nuestro caso, la concentración fue siete veces mayor, por lo que es probable que la carga fuera demasiada y no permitió que la micorriza mostrara algún efecto de bioprotección. Aunque también se debe considerar el efecto del factor especie.

Jaiti *et al.* (2007), evaluaron la efectividad de los HMA contra la marchitez causada por *F. oxysporum* y la inducción de algunas reacciones bioquímicas relacionadas con la defensa de las plantas en palma datilera. Reportaron que los HMA indujeron cambios en la actividad de enzimas relacionadas con la defensa de la planta cuando estas eran infectadas por el fitopatógeno. En su trabajo, utilizaron

5 mL de suspensión de esporas de *F. oxysporum* a 2×10^6 esporas mL^{-1} . Kapoor, en 2008, realizó un experimento de bioprotección por HMA en tomate utilizando 10 mL de una suspensión de esporas de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, a una concentración de 2.8×10^6 esporas mL^{-1} . Reportan además que hubo una reducción de la enfermedad del 75% en plantas inoculadas, respecto a plantas sin inoculación. Estos trabajos muestran que los HMA, si manifiestan un efecto de bioprotección contra patógenos como *Fusarium oxysporum*; por lo que el hecho de que en este trabajo no se hayan encontrado diferencia entre plantas micorrizada y sin HMA, no indica que no se pueda manifestar este efecto al largo plazo.

6.3.6 Conclusiones

No se encontraron diferencias significativas en el crecimiento con cuatro meses de micorrización entre agaves micorrizados y no micorrizados.

Después de 100 días de inoculación con *F. oxysporum*, se comenzaron a observar síntomas en los niveles menos severos de la enfermedad en todos los tratamientos. El análisis estadístico no mostró efecto significativo entre los distintos tratamientos indicando con esto que, hasta la fecha de muestreo (100 días después de infectadas con *F. oxysporum*), no se presentó en las plantas micorrizadas un efecto de biocontrol contra *Fusarium oxysporum*.

6.3.7 Literatura Citada

- Al-Askar, A. y Rashad, Y. 2010. **Arbuscular mycorrhizal fungi: A biocontrol agent against common bean *Fusarium* root rot disease.** *Plant Pathology Journal* 9: 31-38.
- Ávila Miranda, M., López Zazueta, J., Arias Castro, C., Rodríguez Mendiola, M., Guzmán de Peña, D., Vera Núñez, J. y otros. 2010. **Vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* in agave (*Agave tequilana* Webber var. azul).** *Journal of the Professional Association of Catus Development* 12: 166-180.
- Brayford, D. 1992. **IMI Descriptions of fungi and bacteria No. 1117: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.** *Mycopathologia* 118: 51-53.
- Consejo Regulador del Tequila, C. 2010. **Actualización de la base de datos y diagnóstico fitosanitario: *Agave tequilana* Weber var. azul.** Comité Técnico Agronómico. Sub-comité de Fitosanidad.
- Flores López, H., Ireta Moreno, J. y Ruíz Corral, J. 2010. **Tecnología para la prevención y/o control de la marchitez del agave tequilero en Jalisco.** *Folleto Técnico No.2.* Campo Experimental Centro Altos Jalisco. Tepetitlán de Morelos, Jalisco.
- González, I., Arias, Y. y B. Peteira. 2012. **Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*-tomate.** *Protección Vegetal* 27: 1-7.
- Granados Sánchez, D. 1993. **Los agaves en México.** Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Jaiti, F., Meddich, A., y El Hadrami, I. 2007. **Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against bayoud disease.** *Physiological and Molecular Plant Pathology* 71: 166-173.
- Kapoor, R. 2008. **Induced resistance in mycorrhizal tomato is correlated to concentration of jasmonic acid.** *Journal of Biological Sciences* 8: 49-56.
- Madriz Ordeñana, K. 2002. **Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno.** *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 63: 22-32.

- Mcgonigle, T., Miller, M., Evans, D., Fairchild, G., y J. Swan, 1990. **A new method wich gives and objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi.** *New Phytologist* 115: 495-501.
- Montoya Martínez, A., Rincón Enríquez, G., Quiñones Aguilar, E., y López Pérez, L. 2013. **Hongos micorrízicos arbusculares nativos de plantaciones de la DOM-Michoacán en el crecimiento de *Agave tequilana*.** *XXXVIII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. La Paz, México.
- Phillips, J., y D. Hayman. 1970. **Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection.** *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-160.
- Pozo, M. y C. Azcón Aguilar. 2007. **Unreaveling mycorrhiza-induced resistance.** *Current Opinion in Plant Biology* 10: 393-398.
- Riveros Angarita, A. 2010. **Aplicacion práctica de inductores bióticos para el manejo de enfermedades en especies agroforestales tropicales.** En A. Riveros Angarita, **Inducción de resistencia en plantas: Interacción planta-patógeno.** Agroamérica. San Jose, Costa Rica págs. pp. 145-161
- Smith, S. y D. Read. 1997. **Mycorrhizal symbiosis.** Academic Press. San Diego. pp 800.
- Zhu, H., y Yao. 2004. **Localized and Systemic Increase of Phenols in Tomato Roots Induced by *Glomus versiforme* Inhibits *Ralstonia solanacearum*.** *Journal of Phytopathology*: 537-542.

VII. DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de este trabajo mostraron en primer lugar, un efecto benéfico de inóculos de HMA nativos de plantaciones de agave sobre el crecimiento de varias cultivos entre ellos distintas especies de agaves. Como resultado del primer experimento (que tenía como objetivo principal encontrar las mejores condiciones para la propagación de esporas), se encontró que el mejor sustrato para la propagación de esporas de HMA obtenidas de la DOT-Michoacán fue la arena, tanto para agave como para papaya. Esto debido a las condiciones de baja disponibilidad de nutrientes y la buena retención de agua que ofrece este sustrato, condiciones de gran importancia para la esporulación de HMA (Ferrera 1993, Ijdo *et al.* 2011). Los tratamientos con plantas de agave resultaron tener mayor producción de esporas que las plantas de papaya, posiblemente debido a que existe cierta afinidad por parte de los HMA hacia las raíces con las que se asocian (Hetrick y Bloom 1986). Al tratar de propagar inóculos nativos de plantaciones de agave, es de pensarse que los HMA presentes están, de cierta forma, adaptados a esta simbiosis y por lo tanto responden mejor con esta planta. Los sustratos con materia orgánica tuvieron una mayor influencia en el crecimiento de las plantas, tanto de agave como de papaya. Al tener una elevada cantidad de nutrientes disponibles, el efecto de los HMA en el crecimiento de las plantas se vio enmascarado (Ferrera 1993), pero se observó diferencia en el crecimiento en los tratamientos donde solo se utilizó arena, con respecto a los inóculados con HMA. Corroborando una vez más que en condiciones de baja disponibilidad de nutrientes, la simbiosis con HMA beneficia el crecimiento de las plantas (Ferrera 1993, Smith y Read 1997, Pimienta *et al.* 2009)

En el segundo trabajo, donde se evaluó el efecto de diferentes consorcios de HMA nativos DOM-Michoacán en el crecimiento de las plantas de agave, se encontró que el consorcio nativo de Barranca de las Nueces obtenido de la región de Tzitzio, Michoacán, fue donde se registraron los valores más altos en las diferentes variables de crecimiento. Llegando a ser incluso tres veces mayor que

el tratamiento sin HMA, en algunas variables. Esto difiere con lo que encontró Pimienta *et al.* (2009), ya que en su trabajo no se encontraron diferencias significativas en las variables de crecimiento en plantas de *Agave tequilana*. Esta diferencia puede deberse tanto al tiempo de duración del experimento, como a los inóculos utilizados, ya que, en lugar de utilizar solo una cepa (como en el trabajo de Pimienta 2009), aquí se evaluó el efecto conjunto de diferentes HMA nativos que, además, provenían de plantaciones de la misma planta en la cual fueron probados. En trabajos previos, realizados en plantas de *Agave americana*, reportan que no se encontraron diferencias en el efecto del tipo de inóculo (comercial o nativo), en el incremento de biomasa de las plantas de agave (Martínez *et al.* 2009). Esto difiere con lo encontrado en este trabajo, donde al menos una cepa nativa resultó ser mejor que la cepa comercial. Esto puede deberse a que los inóculos utilizados en este trabajo fueron consorcios nativos y no solo una especie de HMA y la interacción entre una o más especies presentes, puede ser la que confiere un mejor resultado en estos tratamientos, comparados con el inóculo comercial.

Tanto para las plantas de *Agave tequilana* como para *A. cupreata* el inóculo que tuvo el mejor efecto sobre las variables de crecimiento fue Barranca de las Nueces. Para *Agave inaequidens* el inóculo Cerro del Metate fue el que tuvo un mejor efecto en crecimiento, pero resultó estadísticamente similar al inóculo Barranca de las Nueces. Esto se pudo deber a que, al estar colonizadas por HMA, las raíces tienen una mayor superficie de exploración para absorción de nutrientes (Smith y Read 1997, Kyde y Gould 2000) y de agua (Cui y Nobel 1992). Para todas las especies el tratamiento sin HMA resultó ser el que tuvo los valores más bajos en las variables de crecimiento.

Finalmente, con el inóculo que mejores resultados dio en el crecimiento de los agaves, (Barranca de las Nueces) se decidió utilizarse como inóculo para evaluar el efecto de los HMA en la bioprotección contra *Fusarium oxysporum* en plantas de *Agave tequilana*. Para esto, primeramente se estableció un

experimento para generar una escala ordinal de los síntomas de la enfermedad, ya que los reportes que hay de los síntomas son en campo y para plantas grandes (Ávila 2010). Se generó una escala con cinco niveles de severidad que fueron desde planta sana hasta planta muerta. Entre los síntomas se observó enrollamiento de las hojas, marchitez desde la punta de la hoja hacia la base, pérdida del sistema radicular, entre otras.

Del experimento de bioprotección, después de 100 días de inoculación con *F. oxysporum* y con HMA, comenzaron a observarse síntomas en los niveles más leves de la enfermedad pero no hubo diferencias de los tratamientos micorrizados respecto con los tratamientos control. No hay reportes de trabajos utilizando alguna especie de agave en simbiosis con micorrizas para contrarrestar los efectos de la marchitez. Sin embargo, en 2007, Jaiti *et al.* encontraron un efecto positivo y un aumento de enzimas relacionadas con la resistencia de las plantas en plantas micorrizadas de palma datilera, y observó una disminución en la mortalidad de las plantas. En este trabajo las plantas estuvieron en micorrización por cuatro meses y después se infectaron con el patógeno y se dejó el experimento otros cuatro meses. Es probable que a mayor tiempo de la enfermedad puedan observarse diferencia entre los tratamientos y se pueda determinar un posible efecto de bioprotección de los HMA contra *Fusarium oxysporum*.

VIII PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

Este trabajo resultó muy alentador, ya que se encontró que los consorcios nativos de HMA tienen muy buen efecto en el crecimiento de las plantas de agave. Se recomendaría utilizar como biofertilizante el consorcio nativo de Barranca de las Nueces, incluso, después de haber pasado por un proceso de propagación en maceta trampa. Se recomendaría utilizar como base para la propagación de inóculos micorrízicos, el sustrato de arena.

En cuanto al efecto de bioprotección que pueden tener los HMA contra *F. oxysporum* en plantas de *Agave tequilana*, los resultados aún no son significativos, pero se espera que después de un tiempo, los síntomas sean más visibles y se observe el efecto de bioprotección.

A partir de estos resultados surgen nuevas preguntas:

¿Es más efectivo para el crecimiento de las plantas de agave la utilización de HMA que el uso de fertilizantes químicos, y de ser así que tan viable es?

¿Qué especie de HMA es la que confiere ese efecto benéfico a las plantas de agave? ¿Es una sola o la interacción de ellas?

De encontrarse un efecto de bioprotección por parte de los HMA, ¿qué mecanismo es el que está actuando?

Y muchas otras que pueden resolverse en investigaciones posteriores. A lo que se recomienda utilizar HMA nativos para ser probados en la misma especie vegetal, o, si serán propagados en maceta trampa, usar diferentes cultivos en la misma maceta, para perder la menor diversidad posible.

IX BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

- Abd El-Wahab, M., El-Helw, H. y H. Tolba. 2011. **Physiological Studies on the Effect of Inoculation with Arbuscular Mycorrhizae (AM) Fungi on Superior Grape Rootings under Salt Stress Conditions.** *Nature and Science* 9: 85-100.
- Aguirre, X. 2005. **Mezcales y Diversidad.** CONABIO.
- Agrios, G. 1978. **Plant pathology.** Academic Press Inc. Londres.
- Alarcón, A., Davies Jr, F., Egilla, J., Fox, T., Estrada Luna, A. y R. Ferrera Cerrato. 2002. **Short term effects of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L. under phosphorus.** *Revista Latinoamericana de Microbiología* 44: 31-37.
- Al-Askar, A. y Y.Rashad. 2010. **Arbuscular mycorrhizal fungi: A biocontrol agent against common bean *Fusarium* root rot disease.** *Plant Pathology Journal* 9: 31-38.
- Álvarez Santiz, C. 2013. **Respuesta de *Carica papaya* L. a la fertilización nitrogenada y su interacción con hongos micorrízicos arbusculares en vivero.** Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich.
- Ávila Miranda, M., López Zazueta, J., Arias Castro, C., Rodríguez Mendiola, M., Guzmán de Peña, D., Vera Núñez, J., y Peña Cabriales, J. J.otros. 2010. **Vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* in agave (*Agave tequilana* Webber var. azul).** *Journal of the Professional Association of Cactus Development* 12: 166-180.
- Azcón Aguilar, C. y B.Bago. 1994. **Physiological characteristics of the host plant promoting and undisturbed functioning of the mycorrhizal symbiosis.** En S. Gianinazzi, y H. Shüepp, **Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems.** Birkhäuser. Basel. pp. 47-60

- Azcón Aguilar, C. y J. Barea. 1996. **Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil borne plant pathogens: an overview of the mechanisms involved.** *Mycorrhiza* 6: 457-464.
- Bécard, G. y J. Fortin. 1988. **Early events of vesicular–arbuscula mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots.** *New Phytol* 108: 211-218.
- Bethlenfalvay, G., Pacovsky, R., Bayne, H. y Stafford, A. 1982. **Interactions between Nitrogen Fixation, Mycorrhiza Colonization, and Host-Plant Growth in the Phaseolus-Rhizobium-Glomus Symbiosis.** *Plant Physiol.* 70: 446-450.
- Brayford, D. 1992. **IMI Descriptions of fungi and bacteria No. 1117: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.** *Mycopathologia* 118: 51-53.
- Castillo Gonzales, A., Avitia García, E. y T. Corona Torres. 2006. **Inoculación en duraznero con productos micorrízicos comerciales.** *Terra Latinoamericana* 24: 293-297.
- Casieri, L., Lahmidi, N., Doidy, J., Veneault Fourrey, C., Migeon, A., Bonneau, L., y otros. 2013. **Biotrophic transportome in mutualistic plant–fungal interactions.** *Mycorrhiza* 23: 597-625.
- Consejo Regulador del Tequila, CRT. 2010. **Actualización de la base de datos y diagnóstico fitosanitario: *Agave tequilana* Weber var. azul.** Comité Técnico Agronómico. Sub-comité de Fitosanidad.
- Consejo Regulador del Tequila (CRT). 2011. **Estadísticas del CRT.** Recuperado el Febrero de 2014, de <http://www.crt.org.mx/EstadisticasCRTweb/>
- Cui, M. y P. Nobel. 1992. **Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi.** *New Phytol* 122: 643-649.
- Daft, M. y A. El Giahmi. 1974. **Efecto de *Endogone* Mycorrhiza on plant growth: Influence of infection on the growth and plant nodulation in french bean (*Phaseolus vulgaris*).** *New Phytol*: 1139-1147.
- Dandan, Z., y Z. Zhiwei. 2007. **Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the hot-dry valley of the Jinsha River, southwest China.** *Appl. Soil Ecol.* 37: 118 -128.

- De la Noval Pons, B. 2007. **Estudio de la participación de las micorrizas arbusculares y la sistemina en la inducción de respuestas de defensa contra patógenos en tomate. Estudio molecular.** Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba.
- Diario Oficial de la Federación. 2012. **NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-070-SCFI-1994: Modificación a la Declaración General de Protección de la Denominación de Origen Mezcal.** Recuperado el Febrero de 2014, de http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5278677&fecha=22/11/2012
- Diatta, I., Kane, A., Agbangba, C., Sagna, M., Diouf, D., Aberlenc-Bertoss, F., Duval, Y., Borgel, A. y D. Sane. 2014. **Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi improves seedlings growth of two sahelian date palm cultivars (*Phoenix dactylifera L.*, cv. *Nakhla hamra* and cv. *Tijib*) under salinity stresses.** *Advances in Bioscience and Biotechnology* 5: 64-72.
- Díaz, F., Salinas, J., Garza, I. y Mayek, N. 2008. **Impacto de labranza e inoculación micorrízica arbuscular sobre la pudrición carbonosa y rendimiento de maíz en condiciones semiáridas.** *Rev. Fitotec. Mex.* 31: 257-263.
- Ferrera Cerrato, R. 1993. **Manual de agromicrobiología.** Trillas. Mexico.
- Flores López, H., Ireta Moreno, J., y Ruíz Corral, J. 2010. **Tecnología para la prevención y/o control de la marchitez del agave tequilero en Jalisco. Folleto Técnico No.2.** Tepetitlán de Morelos, Jalisco: Campo Experimental Centro Altos Jalisco.
- Fuckikovsky, L. 2000. **La tristeza y muerte del Agave tequilana Weber var. Azul (TMA) y los microorganismos e insectos importantes relacionados.** *Memorias del XXVII Congreso Nacional de Fitopatología*, (pág. 90). Puerto Vallarta.
- Garcés de Granada, E., Orozco de Amézquita, M., Bautista, G., y Valencia, H. 2001. ***Fusarium oxysporum*, el hongo que nos falta conocer.** *Acta Biologica Colombiana* 6: 7-25.

- García Mendoza, A. 2004. **Agavaceas**. En A. García Mendoza, J. Ordoñez, y M. Briones Salas, **Biodiversidad de Oaxaca**. Mexico, D.F. pp. 159-169
- García Mendoza, A. 2007. **Los agaves de México**. *Ciencias* 87: 14-23.
- Gentry, H. 1982. **Agaves of continental North America**. University of Arizona Press.
- González, I., Arias, Y. y Peteira, B. 2012. **Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici.-tomate**. *Protección Vegetal* 27: 1-7.
- Good Avila, S., Souza, V., Gaut, B. y Eguiarte, L. 2006. **Timing and rate of speciation in Agave (Agavaceae)**. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 24: 9124-9129.
- Granados Sanchez, D. 1993. **Los agaves en Mexico**. Universidad Autonoma de Chapingo. México.
- Harris Valle, C., Esqueda, M., Orozco Avitia, A., Castellanos, A., Gardea, A. y Valenzuela Soto, E. 2012. **Metabolismo energetico de Cucurbita pepo Micorrizada con Hongo del Desierto Sonorense y crecida con salinidad o déficit de humedad**. *Fitotecnia Mexicana* 35: 51-59.
- Hart, M. y Reader, R. 2002. **Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi**. *New Phytol* 153: 335-344.
- Hetrick, B. y J. Bloom. 1986. **The influence of host plant on production and colonization ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores**. *Mycologia* 78: 32-36.
- Hijri, B., Sýkorová, Z., Oehl, F., Ineichen, K., Mäder, P., Wiemkwn, A., y otros. 2006. **Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity**. *Mol. Ecol.* 15: 2277–2289.
- Ibijbijen, J., Urquiaga, S., Ismaili, M., Alves, B. y Boddey, R. 1996. **Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition and nitrogen fixation of three varieties of common beans (*Phaseolus vulgaris*)**. *New Phytologist*. 353-360.
- Ijdo, M., Cranenbrouck, S. y Declerck, S. 2011. **Methods for large-scale production of AM fungi: past, present and future**. *Mycorrhiza* 21: 1-16.

- Jaiti, F., Meddich, A. y El Hadrami, I. 2007. **Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against bayoud disease.** *Physiological and Molecular Plant Pathology* 71: 166-173.
- Jung, S., Martínez Medina, A., López Ráez, J. y Pozo, M. 2012. **Mycorrhiza induced resistance and priming of plant defenses.** *Journal of Chemical Ecology* Vol. 38: 651-664.
- Kapoor, R. 2008. **Induced resistance in mycorrhizal tomato is correlated to concentration of jasmonic acid.** *Journal of Biological Sciences* 8: 49-56.
- Kyde, M. y A. Gould. 2000. **Mycorrhizal endosymbiosis.** En C. Bacon, & J. White, **Microbial endophytes liver.** Marcel Dekker Blackwell. Londres. pp. 161-198
- Mamatha, G., Bagyaraj, D. y Jaganath, S. 2002. **Inoculation of field-established mulberry and papaya with arbuscular mycorrhizal fungi and a mycorrhiza helper bacterium.** *Mycorrhiza* 12: 313-316.
- Martínez López, J., Vázquez Alvarado, R., Gutierréz Ornelas, E., Peña del Rio, M., López Cervantes, R., Olivares Saéncz, E. y otros. 2009. **Mycorrhiza effect on nutritional quality and biomass production of Agave (*Agave americana* L.) and cactus pear (*Opuntia lindheimeri* Engelm).** *Journal of the professional association for cactus development* 11: 69-77.
- Montaño Arias, N., Quiroz Gracia, V., y Cruz Flores, G. 2001. **Colonización Micorrízica Arbuscular y Fertilización Mineral de Genotipos de Maíz y Trigo Cultivados en un Andisol.** *Terra Latinoamericana* 19: 337-344.
- Montoya Martínez, A., Reyes Tena, a., López Pérez, L., Rincón Enríquez, G., Quiñones Aguilar, E. y J. Qui Zapata. 2012. **Crecimiento de plantas de frijol por efecto de hongos micorrízicos arbusculares aislados de *Agave cupreata* de Michoacán.** *Memoria del XXXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo.* Zacatecas.
- Mortimer, P., Pérez Fernández, M. y Valentine, A. 2012. **Arbuscular mycorrhiza maintains nodule function during external NH₄ supply in *Phaseolus vulgaris* (L.).** *Mycorrhiza*: 237-245.

- Mugnier, J. y B. Mosse. 1987. **Vesicular–arbuscular mycorrhizal infection in transformed root-inducing T-DNA roots grown axenically.** *Phytopathology* 77: 1045-1050.
- Munkvold, L., Kjoller, R., Vestberg, M., Rosendahl, S. y Jakobsen, I. 2004. **High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi.** *New Phytol* 164: 357-364.
- Ochoa Meza, A., Esqueda, M., Fenández Valle, R. y Herrera Peraza, R. 2009. **Variación estacional de hongos micorrizicos arbusculares asociados con *Agave angustifolia* Haw. en la Sierra Sonorense, México.** *Revista Fitotecnia Mexicana* 32: 189-199.
- Pimienta Barrios, E., Zañudo Hernández, J. y López Alcocer, E. 2009. **Efecto de las micorrizas arbusculares en el crecimiento, fotosíntesis y anatomía foliar de plantas jóvenes de *Agave tequilana*.** *Acta Botanica Mexicana* 89: 63-78.
- Pozo, M. y C. Azcón Aguilar. 2007. **Unraveling mycorrhiza-induced resistance.** *Current Opinion in Plant Biology* 10: 393-398.
- Quiñones Aguilar, E., Hernández Acosta, E., Rincón Enríquez, G. y Ferrera Cerrato, R. 2012. **Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya.** *Terra Latinoamericana* 30: 165-176.
- Quiñones Aguilar, E., Trinidd Cruz, J., Rincón Enríquez, G., Rodríguez Domínguez, J., Adame Castañeda, A., y López Pérez, L.. 2012. **Efectividad de hongos micorrizicos arbusculares de rizosfera de *Agave cupreata* en papaya.** En M. Blanco, A. Bravo L., J. Hernández M., A. Lara H., R. Magallanes Q., S. Méndez G., y otros, **Tópicos edafológicos de actualidad.** Memoria del XXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo, Zacatecas, México. pp. 231-236.
- Reyes Aleman, J., Ferrera Cerrato, R., Cortés Flores, J. y Alarcón, A. 2002. **Simbiosis micorrízica y vermicomposta en el desarrollo de portainjertos de aguacate crecidos en sustratos agrícola y forestal.** *Memoria Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX S.C.* Coatepec Harinas, México. pp. 64-79.

- Reyes Tena, A. 2012. **Variación estacional de hongos micorrizicos arbusculares (HMA) asociados al agave mezcalero (*Agave cupreata* Trel y Berger) en Michoacán.** Tesis de Licenciatura. Fac. de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán.
- Rincón Enríquez, G., Reyes Tena, A., López Pérez, L., Quiñones Aguilar, E., Qui Zapata, J. y Rodríguez Domínguez, J. 2012. **Diversos consorcios micorrízicos de la rizósfera de *Agave cupreata* como biofertilizante en el crecimiento de maíz.** *Memoria del XXXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo.* Zacatecas.
- Riveros Angarita, A. 2010. **Aplicación práctica de inductores bióticos para el manejo de enfermedades en especies agroforestales tropicales.** En A. Riveros Angarita, **Inducción de resistencia en plantas: Interacción planta-patógeno.** Agroamérica. San Jose, Costa Rica. pp. 145-161
- Rodríguez Romero, A., Azcón, R., y Jaizme Vega, M. 2011. **Early mycorrhization of two tropical crops, papaya (*Carica papaya* L.) and pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.], reduces the necessity of P fertilization during the nursery stage.** *Fruits* 66: 3-10.
- Rubio, C. R. 2007. **Enfermedades del cultivo agave.** En **Conocimiento y prácticas agronómicas para la producción de *Agave tequilana* Weber en la zona de denominación de origen del tequila.** pp.169-195.
- Russell, E. y A. Wild. 1992. **Interacciones entre las raíces de las plantas y los microorganismos del suelo.** En E. Russell y A. Wild, **Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell.** Mundi-Prensa Libros. Madrid, España. pp. 555-594.
- Safir, G. 1990. **Micorrizas arbusculo-vesicular y la productividad agrícola.** En P. Carlson, **Biología de la productividad de cultivos.** AGT Editor. D. F. México. pp. 201-222.
- SAGARPA. 2011. **Cultivos Agroindustriales: Mezcal-Maguey.** Recuperado el Febrero de 2014, de: <http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/Documents/Cultivos%20Agroindustriales/Impactos%20Maguey%20Mezcal.pdf>

- Schubler, A., y C. Walker. 2010. **The Glomeromycota: A species list with new families and new genera.** Gloucester, Inglaterra.
- Simon, L. 1996. **Phylogeny of Glomales: Deciphering the past to understand the present.** *New Phytologist* : 95-101.
- Smith, S. y D. Read. 1997. **Mycorrhizal symbiosis.** Academic Press. San Diego.
- Smith, S. y D. Read. 2008. **Mycorrhizal Symbiosis.** Academic Press. San Diego.
- Sutherland, J. 1990. **Fusarium Rot Root.** En P. Hamm, S. Campbell, & E. Hansen. En **Growing Healthy Seedlings: Identification and Management of Pest in Northwest Forest Nurseries.** Oregon, EUA.
- Sylvia, D. 1998. **Activity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi.** *Soil Biology and Biochemistry* 20: 39-43.
- Trinidad Cruz, J., Rincón Enríquez, G., Qui Zapata, J., Rodríguez Domínguez, J., Quiñones Aguilar, E., López Pérez, L., y L. V Hernández Cuevas. 2012. **Propagación de hongos micorrízicos arbusculares aislados de *Agave cupreata* de Michacán.** En M. Blanco, A. Bravo, M. Hernández, A. Lara, R. Magallanes, S. Mendez, y otros, **Temas Edafológicos de Actualidad.** Memoria del XXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Zacatecas, Mexico. pp. 249-255.
- Vega Ramos, K., Uvalle Bueno, J. y Gómez Leyva, J. 2013. **Molecular Variability among Isolates of *Fusarium oxysporum* Associated with Root Rot Disease of *Agave tequilana*.** *Biochem Genet* 51: 243-255.
- Whipps, J. 2001. **Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere.** *Journal of Experimental Botany* 52: 487-511.
- Wu, Q., Li, G. y Y. Zou. 2011. **Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient acquisition of peach (*Prunus persica* L. Batsch) seedlings.** *The Journal of Animal & Plant Sciences* 21: 746-750.
- Yoneyama, K., Xie, X., Sekimoto, H., Takeuchi, Y., Ogasawara, S., Akiyama, K., y otros. 2008. **Strigolactones, host recognition signals for root parasitic plants and arbuscular mycorrhizal fungi, from Fabaceae plants.** *New Phytologist* 179: 484-494.

X ANEXOS

Anexo 1. Análisis de suelos de plantaciones de agave tequilero.



LABORATORIO DE ANÁLISIS AGRICOLA

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELO

NUMERO DE MUESTRA	OT - 166	M - 02
PROPIETARIO	Proyecto	ATENCIÓN
LOCALIZACION	UMSNH-CIATEJ	Dr. Luis López P.
MPIO. ESTADO		
CLAVE DEL PREDIO	CE8 -- MJ	FECHA DE MUESTREO
CULTIVO		Febrero de 2013

ANÁLISIS FÍSICO

% ARCILLA	% LIMO	% ARENA	CLASIFICACIÓN	INTRPRETACION	
52.52	20.72	26.76	Arcilloso	Suelo pesado	
C. CAMPO	PMP	H. APROV.	L. RIEGO cm	POROSIDAD %	
31.73	18.34	13.39	10.6	53.5	
COLOR EN SECO		COLOR EN HUMEDO		D. REAL g/cm ³	D. APAR. g/cm ³
Gris oscuro		Negro		2.35	1.06

ANÁLISIS QUIMICO

pH(agua)	pH(sol).	CE	MAT. ORG.	N. ORG.	N. AMON.
		ds/m	%	Kg/Ha	ppm
7.66	7.11	0.191	2.85	30	15
Neutro	Neutro	No salino	Alto	Medio	Bajo
FOSFORO	POTASIO	CALCIO	MAGNESIO	CARBONATOS	N. MINERAL
ppm	ppm	ppm	ppm	%	ppm
75	85	850	360	8.25	5
kg/Ha	kg/Ha	kg/Ha	kg/Ha	Ppm	kg/Ha
170	190	1500	810	82500	12
Alto	Alto	Medio	Medio	Alto	Bajo
Cloruros ppm	Hierro ppm	Azufre ppm	Cobre ppm	Manganeso ppm	Aluminio ppm
5	15	20	0	10	20

Tarímbaro, Mich. a 25 de Febrero de 2013.

ATENTAMENTE

MC ADRIANA FERNÁNDEZ PÉREZ

RESPONSABLE DEL LABORATORIO

NUEVO LEON NUMERO 32 FRACC. TERRANOVA TARIMBARO MICH. TEL 4433412097.



LABORATORIO DE ANÁLISIS AGRICOLA

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELO

NUMERO DE MUESTRA	OT - 166	M - 04
PROPIETARIO	Proyecto	ATENCIÓN
LOCALIZACION	UMSNH-CIATEJ	Dr. Luis López P.
MPIO. ESTADO		
CLAVE DEL PREDIO	LNP -- MVC	FECHA DE MUESTREO
CULTIVO		Febrero de 2013

ANÁLISIS FÍSICO

% ARCILLA	% LIMO	% ARENA	CLASIFICACIÓN	INTERPRETACION
49.24	21.28	29.48	Arcilloso	Suelo pesado
C. CAMPO	PMP	H. APROV.	L. RIEGO cm	POROSIDAD %
30.31	17.45	12.86	10.2	53.4
COLOR EN SECO	COLOR EN HUMEDO		D. REAL g/cm ³	D. APAR. g/cm ³
Café oscuro	Café muy oscuro		2.22	1.03

ANÁLISIS QUIMICO

pH(agua)	pH(sol).	CE	MAT. ORG.	N. ORG.	N. AMON.
		ds/m	%	Kg/Ha	ppm
4.72	4.09	0.424	2.60	17.5	15
Muy. ácido	Muy ácido	No salino	Muy Bajo	Bajo	Bajo
FOSFORO	POTASIO	CALCIO	MAGNESIO	CARBONATOS	N. MINERAL
ppm	ppm	ppm	ppm	%	ppm
25	50	500	350	5.3	5
kg/Ha	kg/Ha	kg/Ha	kg/Ha	ppm	kg/Ha
60	110	1150	775	53000	12
Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Muy Bajo
Cloruros ppm	Hierro ppm	Azufre ppm	Cobre ppm	Manganeso ppm	Aluminio ppm
30	5	10	0	25	35

Tarímbaro, Mich. a 25 de Febrero de 2013.

ATENTAMENTE

MC ADRIANA FERNÁNDEZ PÉREZ

RESPONSABLE DEL LABORATORIO

NUEVO LEON NUMERO 32 FRACC. TERRANOVA TARIMBARO MICH. TEL 4433412097.



LABORATORIO DE ANÁLISIS AGRICOLA

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELO

NUMERO DE MUESTRA	OT - 166	M - 05
PROPIETARIO	Proyecto	ATENCIÓN
LOCALIZACION	UMSNH-CIATEJ	Dr. Luis López P.
MPIO. ESTADO		
CLAVE DEL PREDIO	LPE -- MVM	FECHA DE MUESTREO
CULTIVO		Febrero de 2013

ANÁLISIS FÍSICO

% ARCILLA	% LIMO	% ARENA	CLASIFICACIÓN	INTERPRETACION	
58.88	15.64	25.48	Arcilloso	Suelo pesado	
C. CAMPO	PMP	H. APROV.	L. RIEGO cm	POROSIDAD %	
33.93	19.72	14.21	11.3	57.1	
COLOR EN SECO		COLOR EN HUMEDO		D. REAL g/cm ³	D. APAR. g/cm ³
Café grisáceo oscuro		Café oscuro		2.5	1.1

ANÁLISIS QUIMICO

pH(agua)	pH(sol).	CE	MAT. ORG.	N. ORG.	N. AMON.
		ds/m	%	Kg/Ha	ppm
6.67	6.08	0.290	2.45	15	10
Lig. ácido	Lig. ácido	No salino	Muy Bajo	Bajo	Bajo
FOSFORO	POTASIO	CALCIO	MAGNESIO	CARBONATOS	N. MINERAL
ppm	ppm	ppm	ppm	%	ppm
65	75	800	525	6.75	5
kg/Ha	kg/Ha	kg/Ha	kg/Ha	ppm	kg/Ha
150	175	1800	1200	67500	12
Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Muy Bajo
Cloruros ppm	Hierro ppm	Azufre ppm	Cobre ppm	Manganeso ppm	Aluminio ppm
7.5	7.5	25	0	20	20

Tarímbaro, Mich. a 25 de Febrero de 2013.

ATENTAMENTE

MC ADRIANA FERNÁNDEZ PÉREZ

RESPONSABLE DEL LABORATORIO

NUEVO LEON NUMERO 32 FRACC. TERRANOVA TARIMBARO MICH. TEL 44334120

Anexo 2. Trabajos de investigación publicados en eventos científicos



La Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
a través del Programa Institucional de Doctorado
en Ciencias Biológicas y del Programa Institucional
de Maestría en Ciencias Biológicas,
otorgan la presente

Constancia

a

Amelia Cristina Montoya Martínez, Gabriel Rincón Enríquez,
Evangalina Esmeralda Quiñones Aguilar, Luis López Pérez y Laura
Verónica Hernández Cuevas

Por su participación como cartel con el trabajo:

DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES ASOCIADOS AL *Agave tequilana* EN LA DOT - MICHOACÁN

en el marco del 3er Foro Académico del Posgrado en
Ciencias Biológicas y Agropecuarias realizado del 29 al 31 de Mayo de 2012
en el Centro de Información, Arte y Cultura en la ciudad de Morelia, Michoacán

Dr. José López Bucio
Coordinador General
PIDCB

Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores
Coordinador General
PIMCB



DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASOCIADOS AL *Agave tequilana* EN LA DOT - MICHOACÁN

Amelia Cristina Montoya Martínez¹, Gabriel Rincón Enriquez², Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar², Luis López Pérez³, Laura Verónica Hernández Cuevas⁴

¹Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Área temática Ciencias Agropecuarias. ²Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) Av. Normalistas 800, Colonia Colinas de la Normal, 44370, Guadalajara, Jalisco, México. Tel. 33 33455300. ³Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Km. 9.5 Carr. Morelia-Zinapécuaro Tarímbaro, Michoacán, 58880 México. Tel. 443 3958333. ⁴Laboratorio de Micorrizas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. E-mail: cristina_montoya14@hotmail.com

Los hongos micorrízicos arbusculares forman una asociación importante con las plantas y tienen tres componentes: la raíz de la planta, las estructuras fúngicas dentro de las células de la raíz (arbusculos y vesículas) y el micelio fúngico extraradical en el suelo. Estudios fisiológicos y nutrimentales de esta asociación han revelado que se promueve el crecimiento vegetal debido a una mayor captación de agua y absorción de nutrientes, aumentan la diversidad y población de microorganismos rizosféricos, ocasionando un efecto de supresividad de fitopatógenos en el suelo, además de activar mecanismos de defensa de la planta a nivel genético. A pesar de esto, se tienen pocos reportes de HMA nativos asociados al *Agave tequilana*, por lo cual resulta importante realizar estudios sobre la diversidad biológica de estos HMA a nivel de campo. En este trabajo se pretende analizar la diversidad de HMA nativos y su potencial micorrízico en *Agave tequilana* y otras especies de interés agronómico para utilizarse en bioprotección de enfermedades fúngicas del suelo como *Fusarium sp.* Para ello, se colectarán muestras de suelo rizosférico de plantas de agave dentro de la zona Denominación de Origen del Tequila (DOT) de Michoacán. A partir de muestras de 50 g de suelo, se extraerán esporas de HMA mediante la técnica de tamizado húmedo, decantación y centrifugación con gradientes de sacarosa. Las esporas extraídas de cada muestra se montarán en un portaobjetos con PVLG+Melzer para su observación microscópica (100X). Su identificación taxonómica se realizará con base en criterios morfológicos de las esporas y los estratos de pared. Para ello se usarán las descripciones disponibles en las páginas International Vesicular Arbuscular Culture Collection (www.invam.caf.ornu.edu/) y Glomeromycota Phylogeny (www.lrz-muenchen.de/schuessler/amphylo/). Los HMA identificados se propagarán en macetas trampa y posteriormente se evaluarán como bioprotectores y promotores de crecimiento en *A. tequilana*, *A. cupreus* y *A. inaequidens*, así como en otras especies de interés agronómico. Para esto se realizará un experimento en invernadero donde se evaluará el efecto de la colonización micorrízica sobre variables fisiológicas, nutricionales y microbiológicas y su posible bioprotección y biocontrol contra enfermedades causadas por hongos y bacterias respectivamente.

Palabras clave: Agavaceas, bioprotección, biocontrol, diversidad biológica HMA



XXXV

Congreso Nacional y 1er. Congreso Internacional
de la Sociedad Mexicana
de Ciencias Hortícolas A.C.

A
conmemorando el
XXX Aniversario
de la SOMECH

Constancia

Amelia Cristina Montoya Martínez

Por su participación como **PONENTE**

Con el tema

"Hongos micorrízicos arbusculares nativos de agave tequilana en el crecimiento de papaya"

Autores: Amelia Cristina Montoya Martínez, Gabriel Rincón Enríquez, Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar, Luis López Pérez


Dr. Guillermo Calderón Zavala
Presidente del Comité Organizador

Puebla, Pue., del 10 al 13 de Septiembre de 2013

Hongos Micorrizicos Arbusculares Nativos de *Agave tequilana* en el Crecimiento de Papaya

Amelia Cristina Montoya-Martínez²; Gabriel Rincón-Enriquez³; Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar²; Luis López-Pérez²

² Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Tarimbaro, Michoacán, México.

³ Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ), Guadalajara, Jalisco, México.

* lexnulis@yahoo.com.mx

Palabras clave: *Carica papaya*, Denominación de Origen del Tequila (DOT), micorrizas, biofertilizantes.

La papaya es un cultivo de gran importancia para México y su asociación con los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) es una alternativa viable para minimizar costos y orientar la producción bajo esquemas bio-ecológicos y sustentables. El brindar un sustrato adecuado para el desarrollo de esta simbiosis a nivel de plántula en vivero, puede mejorar el efecto benéfico. En este estudio se evaluó el efecto en el crecimiento de papaya de cuatro diferentes sustratos (arena, arena-agrolita 80:20, arena-lombricomposta 80:20, arena-agrolita-lombricomposta 60:20:20) en combinación con propagulos micorrizicos provenientes de plantaciones de *A. tequilana* en los municipios de la DOT Michoacán: Jiquilpan, Villamar y Venustiano Carranza: denominados: Cebadas 8 (CEB-MJ), La Presa Escolar (LPE-MVM) y La Nueva Palma (LNP-MVC) y un control negativo sin HMA. Se evaluaron 16 tratamientos resultantes de las combinaciones de niveles de medio de crecimiento (4) y los niveles de inóculos (4) bajo un diseño experimental completamente al azar en condiciones de invernadero. Se utilizaron 500 g del medio de crecimiento y 100 g de los diferentes inóculos, los cuales se mezclaron y utilizaron para llenar macetas de unicel de 1 L donde posteriormente se trasplantaron plantas de papaya de 15 días de germinadas. Las macetas se regaron a capacidad de campo cada vez que se requirió durante 90 días. Al final del experimento, se encontraron diferencias significativas en biomasa seca, altura, diámetro del tallo, número de hojas, porcentaje de colonización micorrizica y producción de esporas entre tratamientos. El tratamiento LNP-MVC con arena-lombricomposta, presentó los valores más altos en biomasa (2 g), altura (14.6 cm), diámetro del tallo (7.4 mm), número de hojas (17) y con una esporulación promedio de 188 esporas en 100 g de suelo seco. El tratamiento con la mayor producción de esporas fue LNP-MVC con arena-agrolita-lombricomposta con 279 esporas. Respecto al porcentaje de colonización, el tratamiento CEB-MJ con arena-agrolita-lombricomposta presentó el mayor valor con un 70%. El tratamiento LNP-MVC con arena-lombricomposta mostró tener efectos significativamente mayores sobre el crecimiento de las plantas, lo cual sugiere que los HMA provenientes de Villamar Mich. en presencia de materia orgánica y arena puede utilizarse a nivel de vivero en papaya con el fin de promover efectos benéficos en campo.

Agradecimientos: Al FOMIX Michoacán-CONACYT por el financiamiento de este proyecto (MICH-2010-C01-148208). ACMM agradece a CONACYT por el apoyo otorgado por beca para estudio de maestría.

Modalidad: Oral

Área/Tema: Fruticultura/Biotecnología Vegetal



El Gobierno del Estado de Michoacán a través del Consejo Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación

Dirige la presente:

CONSTANCIA

A:

PROPUESTA DE ESCALA DE PATOGENICIDAD DE *Fusarium oxysporum* EN *Agave tequilana*

AMELIA CRISTINA MORTICAYA-MARTÍNEZ, GABRIEL PINCÓN-ENRIQUÉZ, EVANGELINA ESMERALDA QUIJONES-AGUILAR, LUIS LÓPEZ-PÉREZ

En el marco de las actividades académicas organizadas en el 8º Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y 2do. Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán celebrado el 7 y 8 de Noviembre de 2013.

Morelia, Mich., a 6 de Noviembre de 2013.


Dr. Esther García Garibay
Directora General del Consejo Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación

PROPUESTA DE ESCALA DE PATOGENICIDAD DE *Fusarium oxysporum* EN *Agave tequilana*

Amelia Cristina Montoya-Martínez^{1,2}, Gabriel Rincón-Enríquez^{1,3}, Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar^{1,2}, Luis López-Pérez^{1,3}

Palabras clave: Marchitez, *Agave tequilero*, enfermedades del agave.

Resumen

En la producción de *Agave tequilana* a nivel estatal, entre un 20 y 30% se encuentran afectadas por enfermedades fúngicas como la marchitez. El agente causal de esta es el hongo *Fusarium oxysporum* y el síntoma característico es la marchitez de las hojas ocasionado por la destrucción del sistema radical o bien por el taponamiento de haces vasculares. Esta enfermedad también se presenta a nivel de vivero, cuando las plantas provenientes de bulbillos o de cultivos *in vitro* se aclimatan para después ser trasplantadas al campo. Por lo que en este trabajo se propuso una escala visual de los síntomas de la enfermedad causada por la marchitez en plantas jóvenes de *Agave tequilana*, para determinar la severidad de la enfermedad. Para esto se trasplantaron bulbillos de *Agave tequilana* enraizados en arena estéril a un sustrato previamente infestado con *Fusarium oxysporum*. Se mantuvieron durante 100 días en una cámara de crecimiento y se hizo un registro fotográfico cada 15 días. Se estableció una escala de severidad de la enfermedad en base a la sintomatología observada en parte aérea y raíz. La escala contó con cinco niveles que fueron desde planta sana a planta muerta.

Introducción

El agave es una planta de gran importancia económica para el Estado de Michoacán y para México, siendo utilizada como fuente de alimento, forraje, medicina, fibra y como material de construcción, entre otros usos. Su principal utilidad es para la elaboración de bebidas alcohólicas como el pulque, el mezcal, el bacanora y el tequila, el cual es producido de la especie *Agave tequilana* (Weber) var. Azul (Granados, 1993).

La Denominación de Origen del Tequila (DOT) - Michoacán, cuenta con 30 municipios localizados al noroeste del estado, con alrededor de 7 162 869 plantas

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; acmontoya14@hotmail.com

²Centro de Investigación y Asesoría en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CMTEJ); grincane@gmail.com

³Centro de Investigación y Asesoría en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CMTEJ); eqquinter56@gmail.com

⁴Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; lvquinter@yahoo.com.mx

para el año 2008 (CRT, 2010). De estas plantas, entre un 20 y 30% se encuentran afectadas por enfermedades como la marchitez.

El agente causal de esta es el hongo *Fusarium oxysporum*. El síntoma característico es la marchitez de las hojas ocasionado por la destrucción del sistema radical o bien por el taponamiento de haces vasculares. En campo, los síntomas reportados en la marchitez del agave son: marchitez, clorosis (hojas amarillo claro), enrollamiento de los bordes de las hojas, secado de las hojas más viejas del ápice a la base, pudrición extensiva de color marrón en la corona, y finalmente si la planta es empujada, esta se cae fácilmente por la pudrición de las raíces (Ávila et al., 2010).

Esta enfermedad también se presenta a nivel de vivero, cuando las plantas provenientes de bulbillos o de cultivos in vitro se aclimatan para ser trasplantadas al campo. Por lo que en este trabajo se propuso una escala visual de los síntomas de la enfermedad causada por la marchitez en plantas jóvenes de *Agave tequilana*, para determinar la severidad de la enfermedad.

Materiales y Métodos

Se enraizaron bulbillos de *Agave tequilana* en arena estéril por seis meses y posteriormente se trasplantaron a un sustrato infestado con *Fusarium oxysporum* en concentraciones 1×10^4 , 1×10^6 y 1×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC) g^{-1} de sustrato.

El sustrato infestado consistió de una mezcla de arena, suelo, vermiculita y vermicomposta (30:50:15:5). Por cada 20 partes de esta mezcla se agregaron dos partes de avena cruda para que el hongo se alimentase de esta. Después de inoculado en este sustrato, se mantuvo a 26°C en oscuridad por 20 días. Transcurrido este tiempo se realizó un conteo de UFC en placa y se ajustó a las concentraciones deseadas.

Se mantuvieron durante 100 días en una cámara de crecimiento a 27°C y se hizo un registro fotográfico cada 15 días.

Resultados

En base a la sintomatología observada en la parte aérea de las plantas de *Agave tequilana*, se propuso una escala visual de patogenicidad.

Esta escala cuenta con cinco niveles de enfermedad donde:

- Nivel 1= Planta sana o asintomática.
- Nivel 2= Comienzo del síntoma
- Nivel 3= Avance medio

Nivel 4= Avance severo
Nivel 5= Planta muerta.

Nivel 1. Asintomático: Las plantas no muestran síntoma alguno de enfermedad. Presentan sus hojas con el color característico verdiazul, extendidas, turgentes y de buen vigor.

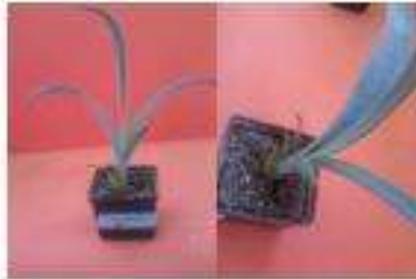


Figura 1: Plantas de nivel 1.

Nivel 2. Comienzo del síntoma: Las plantas presentan un enrollamiento de las primeras hojas (hojas más viejas) que comienza de los bordes hacia el centro. Estas hojas, presentan también bordes irregulares y se observa principios de necrosis en las puntas. Las hojas interiores (cercanas a la base) presentan áreas secas por necrosis, no se presenta cambio en la coloración de las hojas.



Figura 2: Plantas con nivel 2 de enfermedad.

Nivel 3. Avance medio: Las plantas presentan un necrosamiento más avanzado en las puntas de las primeras hojas. Las hojas cercanas a la base se encuentran completamente necróticas.

8 Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación



Figura 3: Plantas con nivel 3 de enfermedad.

Nivel 4. Avance severo: La necrosis avanza en las hojas, desde los ápices y extendiéndose hacia la base de las hojas. Se presenta un enrollamiento que hace que las hojas adquieran una forma de "vela", hacia la mitad de la hoja. Las hojas de la base están completamente marchitas. Al mover la planta, ésta no está bien fija al suelo, se puede sacar de la maceta con facilidad.



Figura 4: Plantas con nivel 4 de enfermedad.

Nivel 5. Planta Muerta: En este experimento no se observaron plantas muertas, probablemente debido al tiempo que éste duro. Por lo que, en base a las plantas con daños más severos (nivel 4), se propuso el nivel 5, donde la necrosis

8 Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación

avanzaría y marchitaría todas las hojas, causando finalmente la muerte de la planta.



Figura 5: Planta con daño muy severo (nivel 4). La necrosis ha avanzado casi por completo en una de las primeras hojas y en el resto de ellas hay necrosis de las puntas a la mitad de la hoja. Todas las hojas presentan algún nivel de síntoma.

Conclusiones

Se estableció una escala de severidad de la enfermedad causada por el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*, en plantas jóvenes de *Agave tequilana*. Esta escala será de ayuda para la rápida identificación del nivel de la enfermedad y poder realizar acciones de control.

Agradecimientos

Al FOMIX Michoacán-CONACYT por el financiamiento de este proyecto (MICH-2010-C01-148208). El primer autor agradece a CONACYT por el apoyo otorgado por beca para estudio de maestría.

Referencias Bibliográficas

- Ávila-Miranda, M., López-Zazueta, J., Arias-Castro, C., Rodríguez-Mendiola, M., Guzmán de Peña, D., Vera-Núñez, J. 2010. Vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* in agave (*Agave tequilana* Webber var. azul). *Journal of the Professional Association of Cactus Development* 12: 166-180.
- Consejo Regulador del Tequila (CRT). <http://www.crt.org.mx>. 2010. Actualización de la base de datos y diagnóstico fitosanitario: *Agave tequilana* Weber var. azul. (Accesada en octubre de 2013). Comité Técnico Agronómico. Sub-comité de Fitosanidad.
- Granados-Sánchez, D. 1993. Los agaves en México. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 252 pp
- Smith, S., & Read, D. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. San Diego. 800 pp.



XXXVIII CONGRESO NACIONAL DE LA CIENCIA DEL SUELO

Suelo sano para la seguridad alimentaria y mejor calidad de vida

LA SOCIEDAD MEXICANA DE LA CIENCIA DEL SUELO

Otorga la presente

CONSTANCIA

a: A. C. Montoya-Martínez, L. López-Pérez

Por la ponencia:

HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NATIVOS DE PLANTACIONES DE LA DOM-MICHOACÁN EN EL CRECIMIENTO DE *Agave tequilana*

Cuyos autores son: Montoya-Martínez, A. C.; Rincón-Enríquez, G.; Quiñones-Aguilar, E. E.; López-Pérez, L., presentada en el 'XXXVIII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo', celebrado del 24 al 29 de noviembre de 2013 en la ciudad de La Paz, Baja California Sur, México.

Dr. David Espinosa Victoria
Presidente de la Sociedad Mexicana
de la Ciencia del Suelo

Dr. Enrique Troyo Diéguez
Presidente del Comité Organizador
del XXXVIII Congreso Nacional

smcs-congreso2013@cibnor.mx

La Paz, B.C.S., a 30 de noviembre del 2013



HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NATIVOS DE PLANTACIONES DE LA DOM-MICHOACÁN EN EL CRECIMIENTO DE *Agave tequilana*

Montoya-Martínez, A.C.^{1,2}; Rincón-Enríquez, G.¹; Quiñones-Aguilar, E.E.¹; López-Pérez, L.^{2*}

¹Unidad de Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Guadalajara Jalisco, México

²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia Michoacán, México

*Autor responsable: tequilas@yahoo.com.mx; Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro Unidad Postal Zoológica, Tzucubira Michoacán Tel./Fax: (443) 2958324 (443) 2958354

Resumen

El agave tequilero es un cultivo de gran importancia para Michoacán representando 173 millones de pesos a nivel estatal, en solo 8300 ha. El desarrollo intensivo de la agricultura para la producción de agave ha traído consigo un deterioro ambiental. La utilización de recursos microbianos como biofertilizantes es una alternativa para reducir el uso de productos químicos y disminuir el impacto ambiental. La utilización de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) como biofertilizante es una opción prometedora para mejorar este problema. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar los efectos de diversas cepas nativas de HMA, cuyos propágulos originales provenían de plantaciones de agave de la denominación de origen del mezcal (DOM) Michoacán en el crecimiento del *Agave tequilana* en invernadero, para su potencial uso como biofertilizante. Para esto se inocularon bulbillos de *Agave tequilana* con ocho consorcios nativos de HMA, una cepa comercial de HMA (INIFAP) y un control sin HMA. A los 180 días después de plantados los bulbillos se evaluó la altura y el número de hojas de las plantas. Se observó un efecto positivo en el crecimiento de las plantas de agave cuando estas se inocularon con los consorcios nativos de HMA. Para la variable número de hojas el inóculo Rancho Carlos Rojas (CR-ME) y El Limón (EL-Mtu) mostraron tener un mejor efecto con 7.5 y 7.4 hojas en promedio, respectivamente. Bajo las condiciones de este experimento, cualquier de estos inóculos podría usarse potencialmente como un biofertilizante en el cultivo de agave.

Palabras clave: Micorriza; biofertilizante; agave tequilero

Introducción

El género *Agave* tiene aproximadamente 200 especies, de las cuales 150 (75%) se encuentran en México (García, 2004). Dicha planta, ha sido utilizada desde tiempos remotos como fuente de alimento, forraje, medicina, fibra y como material de construcción, entre otros usos. Su principal utilidad actualmente es la elaboración de bebidas alcohólicas como el pulque, el mezcal, el bacanora y el tequila, el cual es producido de la especie *Agave tequilana* (Weber) var. *Azul* (Granados, 1993).

La producción de *Agave tequilana* en 2008 fue de 38 190 202 plantas; de las cuales 7 162 869 plantas pertenecen a la denominación de origen del tequila (DOT) Michoacana y representa 173 millones de pesos a nivel estatal, en solo 8300 ha. La DOT-Michoacán, cuenta con 30 municipios localizados al noroeste del estado, destacando los municipios de La Piedad, Los Reyes, Zamora, Tzucubira, Maravatio y Jiquilpan con alrededor de 7 162 869 plantas para el año 2008 (CRT, 2010). El desarrollo intensivo de la agricultura para la producción de agave tequilero ha traído consigo un uso desmedido de fertilizantes agroquímicos, lo que conlleva a un deterioro ambiental y representa riesgos a la salud humana, la microfauna y flora silvestre. La utilización de recursos microbianos

como biofertilizantes es una alternativa viable para reducir el uso de productos químicos y disminuir su impacto ambiental.

La utilización de HMA como biofertilizante es una opción prometedora para mejorar este problema. Los HMA forman una de las asociaciones importantes con las plantas: las micorrizas. Esta asociación promueve el crecimiento vegetal a través de diferentes mecanismos de acción como la producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, mejoran la absorción de agua, incrementan la captación de nutrientes minerales, especialmente el fósforo, cobre y zinc (Smith y Read, 1997), aumentan la tolerancia a distintos estrés abióticos como la sequía (Sylvia, 1998) y el estrés salino (Harris, 2012), aumentan la diversidad y población de microorganismos rizosféricos, ocasionando un efecto de supresividad de fitopatógenos en el suelo (De la Noval Pons, 2007; Jung et al., 2012) y forman agregados en el suelo (Smith y Read, 1997).

La mutua dependencia entre organismo hospedero y el huésped consiste en que el primero, representa una fuente directa de carbono y nitrógeno indispensables para el desarrollo del hongo. Por su parte, el huésped forma una red fúngica con desarrollo intra e intereselular en la corteza radical de la planta, que se extiende hacia su entorno. Mediante este retículo, las raíces se favorecen, ya que pueden absorber agua y minerales que son transportados a los diferentes órganos del vegetal (Pimienta et al., 2009).

Dada la gran importancia económica que tiene el agave para México y Michoacán, y los problemas ambientales que la producción intensiva conlleva, este trabajo tiene como objetivo evaluar los efectos que tienen diversas cepas nativas de HMA de plantaciones de la DOM-Michoacán en el crecimiento del *Agave tequilana* a nivel de invernadero.

Materiales y Métodos

Para la obtención de los consorcios nativos de HMA, se muestreo suelo rizosférico de plantaciones de agave mezcalero de Michoacán. El área de estudio, donde se ubicaron los sitios de muestreo, comprendió dos municipios dentro de la DOM del estado de Michoacán (Tzitzio y Etuquaro, Madero) y la localidad de Tumbisca ubicada entre los municipios de Morelia y Madero.

Las parcelas seleccionadas fueron las siguientes: tres en Etuquaro (El Huizachal = EH-ME, Las Campesinas = LC-ME, Rancho Carlos Rojas = CR-ME); tres de Tzitzio (Paso Ancho = PA-MT, Barranca de las Nueces = BN-MT, Cerro del Metate = CM-MT) y dos sitios de Tumbisca (El Limón = EL-MTu, Agua Dulce = AD-MTu).

El material vegetal utilizado fueron bulbillos de *Agave tequilana* recolectados en el mes de Octubre de 2012. Se utilizaron como macetas bolsas de polietileno negras y se llenaron con 1.5 kg de sustrato que fue una mezcla de arena y suelo esterilizados (1:1 v/v). Se regaron las macetas hasta capacidad de campo y se procedió al trasplante.

La inoculación micorrízica con 100 esporas, se realizó en la raíz al momento del trasplante del bulbillo de *Agave tequilana*.

El experimento consistió en evaluar ocho cepas nativas, una comercial y un tratamiento sin HMA (Cuadro 1) y se utilizó un diseño experimental de bloques al azar.

Cuadro 1: Diseño de inoculaciones evaluadas en el experimento de HMA nativos y *agave tequilana*.

Localidad	Inóculo	Sitio de Muestreo	Trazamiento
Osicuro	EH-ME	El Huastchal	1
	LC-ME	Las Cuampitras	2
	CR-ME	Rancho Carlos Rojas	3
Tuxtla	EL-MU	El Limón	4
	AO-MU	Agua Dulce	5
	BN-MT	Sitios de las Nubes	6
Tehuacan	PA-MT	Paso Ancho	7
	CA-MT	Casa del Mielito	8
	IN-PAPM		9
	OM-HMA		10

Las variables de respuesta evaluadas fueron la altura de la planta desde la base hasta la punta de la hoja más alta y número de hojas a los 180 días de establecido el experimento.

Resultados y Discusión

En cuanto a la altura de las plantas de *agave* a los 180 días no se obtuvieron diferencias estadísticas significativas. Sin embargo, el tratamiento con el inóculo procedente de BN-MT fue el que promovió la mayor altura con 13.85 cm, seguido del tratamiento EH-ME con 13 cm. En promedio los demás tratamientos tuvieron una altura de 9.8 cm. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Pimentel et al. (2009), quienes no encontraron diferencias significativas en la variable de largo de las hojas en plantas de *Agave tequilana* a los cinco meses de la inoculación con HMA.

Para la variable número de hojas (Figura 1) se encontraron diferencias significativas con una $P < 0.007$. A los 180 días, los tratamientos EL-MU y CR-ME fueron los que tuvieron un mejor efecto con 7.5 y 7.4 hojas en promedio, respectivamente. El tratamiento LC-ME fue el menor con 4.6 hojas en promedio. Estos resultados difieren con los obtenidos por Pimentel et al. (2009), ya que no se encontraron diferencias significativas en las variables morfológicas, incluyendo número de hojas.

Conclusiones

Se observó un efecto positivo en el crecimiento de las plantas de *agave* cuando estas se inocularon con los diferentes consorcios nativos de HMA provenientes de la OCM-Michoacán. Para la variable número de hojas, el inóculo proveniente del sitio Rancho Carlos Rojas (CR-ME) y El Limón (EL-MU) fueron diferentes estadísticamente al resto de los inóculos. Bajo las condiciones experimentales de este trabajo, cualquiera de estos inóculos podría usarse potencialmente como un biofertilizante en el cultivo de *Agave tequilana*.

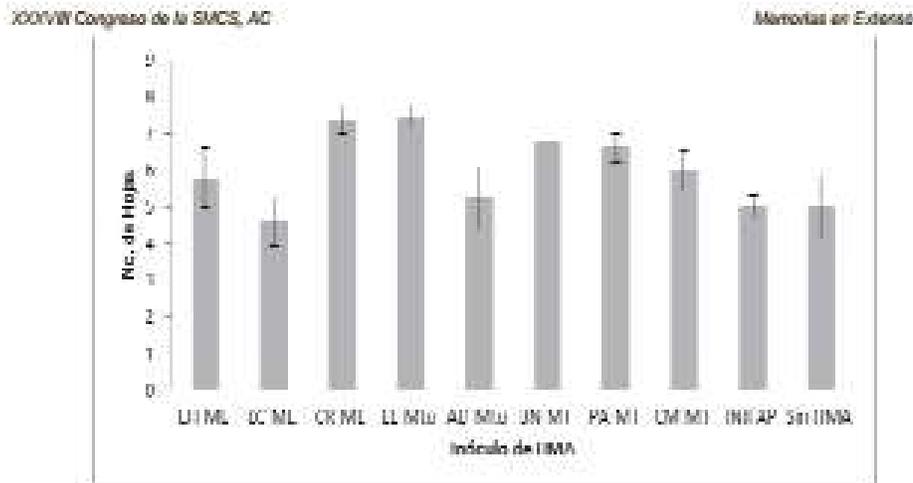


Figura 1: Efecto de HMA nativos de la DOM Michoacán sobre el número de hojas de plantas de *Agave tequilana* después de 180 días del trasplante en condiciones de invernadero. (El Hutzachal = EH-ME, Las Campesinas = LC-ME, Rancho Carlos Rojas = CR-ME, El Limón = EL-MT_u, Agua Dulce = AD-MT_u, Barranca de las Nueces = BN-MT, Paso Ancho = PA-MT, Cerro del Metate = CM-MT).

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del proyecto titulado "Utilización de recursos microbianos para el control biológico de la pudrición del cogollo de agave tequilero en la DOT-Michoacán"; financiado por el Fondo Mixto del gobierno del estado de Michoacán y el CONACYT (clave del proyecto MICH-2010-03-148308). El primer autor agradece al CONACYT el apoyo de beca para realizar estudios de maestría en el PIMCB de la UNMSH.

Bibliografía

- Consejo Regulador del Tequila. 2010. Actualización de la base de datos y diagnóstico fitosanitario: *Agave tequilana* Weber var. azul. Comité Técnico Agronómico. Sub-comité de Fitosanidad.
- De la Noval Pons, B. 2007. Estudio de la participación de las micorrizas arbusculares y la sistema en la inducción de respuestas de defensa contra patógenos en tomate. Estudio molecular. La Habana: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas.
- García Mendoza, A. 2004. Agavaceae. En A. García Mendoza, J. Ordoñez y M. Briones S., Biodiversidad de Oaxaca, pp. 159-169. Mexico, D.F.
- Granados Sanchez, D. 1993. Los agaves en México. México: Universidad Autónoma de Chapingo.
- Harris Valle C., M. Esqueda, A. Orozco Avila, A. Castellanos, A. Gardea y E. Valenzuela Soto. 2012. Metabolismo energético de cucurbita pepo micorrizada con hongo del desierto sonorense y crecida con salinidad o déficit de humedad. *Fiteconia Mexicana* 35: 51-58.
- Jung S., A. Martínez Medina, J. López Ríaz and M. Pozo. 2012. Mycorrhiza induced resistance and priming of plant defenses. *Journal of Chemical Ecology* 38: 651-664.
- Pimienta Barrios E., H. J. Zañudo y A. E. López. 2009. Efecto de las micorrizas arbusculares en el crecimiento, fotosíntesis y anatomía foliar de plantas jóvenes de *Agave tequilana*. *Acta Botanica Mex.* 89: 63-78.
- Smith S. and D. Read. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. San Diego: Academic Press.
- Sylvia D. 1988. Activity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 20: 39-43.



XXXVIII CONGRESO NACIONAL DE LA CIENCIA DEL SUELO

Suelo sano para la seguridad alimentaria y mejor calidad de vida

LA SOCIEDAD MEXICANA DE LA CIENCIA DEL SUELO

Otorga la presente

CONSTANCIA

a: E. E. Quiñones-Aguilar, G. Rincón-Enríquez

Por la ponencia:

SELECCIÓN DE PROPÁGULOS DE HONGOS MICORRÍZICOS NATIVOS PARA LA ELABORACIÓN DE BIOFERTILIZANTES PARA PAPAYA

Cuyos autores son: Quiñones-Aguilar, E. E.; Trinidad-Cruz, J. R.; Montoya-Martínez, A. C.; López-Pérez, L.; Rincón-Enríquez, G., presentada en el 'XXXVIII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo', celebrado del 24 al 29 de noviembre de 2013 en la ciudad de La Paz, Baja California Sur, México.

Dr. David Espinosa Victoria
Presidente de la Sociedad Mexicana
de la Ciencia del Suelo

Dr. Enrique Troyo Diéguez
Presidente del Comité Organizador
del XXXVIII Congreso Nacional

smos-congreso2013@oibnor.mx

La Paz, B.C.S., a 30 de noviembre del 2013



SELECCIÓN DE PROPÁGULOS DE HONGOS MICORRIZICOS NATIVOS PARA LA ELABORACION DE BIOFERTILIZANTES PARA PAPAYA

Quiñones Aguilar, E.E.¹; Trinidad Cruz, J. R.¹; Montoya Martínez, A.C.^{1,2}; López Pérez, L.²; Rincón Enriquez, G.^{1*}

¹Unidad de Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Guadalajara, Jalisco México.

²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Tarimbaro, Michoacán, México.

*Autor responsable: grincome@gmail.com; Normalistas No. 800, Colonia Colinas de la Normal, Guadalajara, Jalisco México. CP 44270. Tel. +52 (33) 33455200 Ext. 1730.

Resumen

La elaboración de biofertilizantes a base de microorganismos rizosféricos, como bacterias promotoras de crecimiento vegetal o de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) nativos de cultivos agrícolas necesita del aislamiento de cepas fijadoras de nitrógeno (N), solubilizadoras de fósforo (P), promotoras del crecimiento vegetal, así como la capacidad de captar y transportar P y otros nutrientes del suelo a la planta. En este sentido los HMA se consideran un sobresaliente insumo microbiológico que aporta beneficios a las plantas mejorando su nutrición y protegiéndolas contra diversos factores adversos, destacándose por su capacidad como agentes de bioprotección contra enfermedades causadas por fitopatógenos. Así la búsqueda de propágulos susceptibles para la elaboración de fertilizantes es necesaria bajo experimentación con el fin de realizar la selección más conveniente para la elaboración de fertilizantes. La papaya es una especie vegetal que responde de manera rápida a la micorrización, por medio de la colonización de raíces y su respuesta en crecimiento vegetal, características que la colocan como una especie vegetal candidata para la selección de propágulos nativos provenientes de suelos agrícolas. Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar tres consorcios de HMA sobre el crecimiento de papaya. Para lo cual se realizó un experimento factorial 4x4 en un diseño experimental completamente al azar, donde el factor 1 fueron los HMA: sin HMA, tres inoculos provenientes de la DOT-Michoacán (LNP-MVC, LPE-MVM y CEB-MJ) y el factor 2 fue el tipo de sustrato con cuatro niveles: arena, arena:agrolita (80:20); arena:materia orgánica -MO- (80:20) y arena:agrolita:MO (60:20:20). Se evaluaron 16 tratamientos con 4 repeticiones cada uno. Se analizaron las variables peso fresco del follaje (PFF), raíz (PFR) y total (BT). Los resultados indican que los tratamientos que contuvieron el inoculo CEB-MJ y LPE-MVM en cualquier de los cuatro sustratos mostraron valores significativamente (Tukey $P < 0.05$) más altos que los otros tratamientos. Estos resultados indican que el empleo de los HMA CEB-MJ o LPE-MVM podría ser empleado para promover el crecimiento de papaya.

Palabras clave: Bioinoculantes; *Carica papaya*; *Agave tequilana*

Introducción

El establecimiento de los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) en las raíces de las plantas es conocido como micorriza. La micorrización de plántulas de papaya durante su crecimiento en vivero marca parte del potencial productivo futuro y por ende es importante desde el punto de vista económico, ya que esta labor agronómica podría disminuir tanto la estancia de las plantas en vivero al incrementar su crecimiento en menor tiempo, así como también la dependencia de la aplicación de fertilizantes químicos (Quiñones-Aguilar et al., 2012). Otras ventajas que esta práctica agronómica puede proporcionar es la protección contra algunas enfermedades que se transmiten al momento del

Después de tres meses del trasplante se evaluaron las variables peso fresco de follaje (PFF), raíz (PFR) y total (PFT). Con los datos de PFF y PFR se calculó el índice de crecimiento en peso fresco del follaje en relación con la raíz (ICPFF/R). Los pesos frescos se obtuvieron a partir de una balanza granataria electrónica. Las variables PFF, PFR, PFT e ICPFF/R se analizaron mediante un ANVA y pruebas de comparación múltiple de media Tukey a un nivel de significancia de $P=0.05$.

Resultados y Discusión

En los Cuadros 2 y 3 se presentan los resultados de los análisis estadísticos por tratamiento y por factores. En el análisis por tratamientos para las cuatro variables de respuesta (PFF, PFR, PFT e ICPFF/R) se puede observar los consorcios nativos de HMA CE8-MJ (CE) y LPN-MVC (LP) en particular en combinación con materia orgánica (MO) producen efectos en el crecimiento de la planta significativamente (Tukey, $P=0.05$) superiores al resto de los tratamientos (Cuadro 2). Al observar el análisis factorial, igualmente para las cuatro variables evaluadas, se observa que los consorcios nativos de HMA CE y LP son los que presentan efectos significativamente (Tukey, $P=0.05$) mayor al otro consorcio de HMA o al testigo sin HMA; de igual manera se observa que el sustrato arena con MO mostró significativamente (Tukey, $P=0.05$) los mayores efectos sobre el crecimiento de las plantas de papaya (Cuadro 3). El efecto de inoculos con HMA en papaya ha sido reportado como positivos y significativamente superiores en plantas de papaya sin inoculación (Khade y Rodrigues, 2009; Quiñones-Agullar et al., 2012), por ejemplo Vázquez-Hernández et al. (2011) reportan el doble de rendimiento de fruto en campo en plantas con HMA en comparación con las que no las tuvieron, sin embargo la respuesta a los HMA en papaya ha sido diversa dependiendo de factores como el tipo de HMA empleado en la micorrización (Khade y Rodrigues, 2009) y del estado nutricional del suelo o sustrato donde sea colocada las plantas de papaya y de las variedades de la especie evaluada, por ejemplo Trinidad et al. (2001) indican que distintas variedades inoculadas con los mismos HMA y dosis de P responden diferencialmente a la micorrización.

Armenta et al. (2010) indican que en México el uso de cepas nativas de microorganismos tiene mayores ventajas en los potenciales biofertilizantes elaborados a partir de dichas cepas, dado que en campo tendrían la posibilidad de tener mayor efectividad porque su habilidad de adaptación a las condiciones del suelo de donde provienen. De esta manera los consorcios nativos de HMA CE8-MJ (CE) y LPN-MVC (LP) provenientes de la DOT-Michoacán podrían tener un potencial mercado en el cultivo de papaya de la región occidente de México.

Conclusiones

Los consorcios nativos de HMA de la DOT Michoacán CE8-MJ y LPN-MVC promovieron el crecimiento de plantas de papaya en comparación con el otro consorcio. El análisis estadístico no mostró interacción en el factor consorcios HMA y el factor sustrato. La materia orgánica tuvo un efecto significativamente distinto en los sustratos que lo contuvieron a diferencia de los que no tuvieron.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó bajo el apoyo del proyecto MICH-2010-03-148208 del FOMIX-Gobierno del estado de Michoacán-CONACYT.

Cuadro 2. Respuesta de papaya al tratamiento de la combinación hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y de sustratos bajo condiciones de invernadero después de 60 días después del trasplante.

Tratamiento	Peso Fresco (g)			NPPFR
	Follaje	Raíz	Total	
SnM_Ar	3.41 c	0.38 e	0.79 d	1.15 a
SnM_Ar_Agr	3.52 c	0.40 e	0.92 d	1.66 a
SnM_Ar_MO	8.60 ab	6.16 a	14.75 ab	1.43 a
SnM_Ar_MO_Agr	6.43 b	6.52 a	12.95 ab	1.12 a
GE_Ar	3.82 c	0.75 cde	1.58 d	1.68 a
GE_Ar_Agr	3.89 c	1.00 cde	1.89 d	0.92 a
GE_Ar_MO	7.01 b	6.04 a	13.04 ab	1.19 a
GE_Ar_MO_Agr	7.71 ab	5.28 ab	12.98 ab	1.43 a
LE_Ar	3.76 c	0.79 cde	1.46 d	1.32 a
LE_Ar_Agr	1.04 c	1.16 cde	2.20 d	1.21 a
LE_Ar_MO	8.77 ab	6.93 a	15.69 ab	1.22 a
LE_Ar_MO_Agr	6.05 b	4.47 abc	10.51 bc	1.45 a
LP_Ar	1.42 c	1.72 bcde	3.13 d	0.89 a
LP_Ar_Agr	2.13 c	1.77 bcde	3.91 cd	1.34 a
LP_Ar_MO	10.21 a	7.21 a	17.15 a	1.52 a
LP_Ar_MO_Agr	6.75 b	4.22 abcd	10.97 ab	1.86 a

Ar: Arena; Agr: Agrolita; MO: Materia orgánica; Inóculos micorrízicos provenientes de la DOT Michoacán; GE = GE8-MJ; LE = LPE-MVM; LP = LNP-MVC; SnM = Sin hongos micorrízicos arbusculares. Letras distintas para cada variable de respuesta indican diferencias significativas según la prueba de Tukey (P<0.05).

Cuadro 3. Efecto del tipo de sustrato y de hongos micorrízico arbuscular (HMA) en la acumulación de materia fresca de plantas de papaya bajo condiciones de invernadero durante 60 días después del trasplante.

Factor	Peso Fresco (g)			NPPFR
	Follaje	Raíz	Total	
SUBSTRATO				
Arena	0.85 c	0.89 c	1.74 c	1.26 a
Arena_Agr	1.15 c	1.08 c	2.23 c	1.30 a
Arena_MO	8.65 a	6.58 a	15.23 a	1.33 a
Ar_MO_Agr	6.73 b	5.12 b	11.85 b	1.48 a
HMA				
S.HMA	3.29 b	3.26 a	7.26 a	1.33 a
GE8-MJ	4.11 ab	3.27 a	7.57 a	1.34 a
LPE-MVM	4.16 ab	3.38 a	7.54 a	1.30 a
LNP-MVC	5.13 a	3.66 a	8.79 a	1.40 a
INTERACCION				
F calculado	1.57	1.19	1.21	1.36
P observado	0.1540 NS	0.3271 NS	0.3105 NS	0.2345 NS

Ar: Arena; Agr: Agrolita; MO: Materia orgánica; Inóculos micorrízicos provenientes de la DOT Michoacán; GE8-MJ, LPE-MVM, LNP-MVC y SnM = Sin hongos micorrízicos arbusculares. Letras distintas para cada variable de respuesta en cada factor de estudio indican diferencias significativas según la prueba de Tukey (P<0.05).

Bibliografía

- Arambula, B., A. D., C. García, J. R. Cernaño, M. A. Apodaca, L. G. Montoya, y E. Nava. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Revista de Sociedad Cultura y Desarrollo Sustentable* 6: 51-56.
- Jung, S. C., Martínez-Medina A. and Lopez-Raez J. A., Pozo M. J. 2012. Mycorrhiza induced resistance and priming of plant defenses. *J. Chem. Ecol.* 38: 61-664.
- Kheda, S. W., and B. W. Rodriguez. 2009. Studies on arbuscular mycorrhization of papaya. *African Crop Sci.* 17: 155-165.
- Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández-Acoeta E., Pineda-Enriquez G. y Ferrera-Cerdas R. 2012. Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosforada en papaya. *Tram. Latinoamericana* 30: 165-176.
- Vázquez-Hernández, M. V., Aróvalo-Galvez L., Jean-Dominique D., Escamilla-García J. L., Mora-Aguilera A., Hernández-Castro E., Cárdenas-Tovar J. and Téllez-Ortiz D. 2011. Effect of Glomus mossae and *Enriophospora colombiana* on plant growth, production, and fruit quality of Maradol papaya (*Carica papaya* L.). *Sc. Hort.* 128: 255-260.
- Trindade, A. V., J. O. Siqueira, e F. Pirio de Almeida. 2001. Dependência micorrízica de variedades comerciais de mamão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36: 1485-1494.



XXXVIII CONGRESO NACIONAL DE LA CIENCIA DEL SUELO

Suelo sano para la seguridad alimentaria y mejor calidad de vida

LA SOCIEDAD MEXICANA DE LA CIENCIA DEL SUELO

Otorga la presente

CONSTANCIA

a: G. Rincón-Enríquez, E. E. Quiñones-Aguilar

Por la ponencia:

SELECCIÓN DE PROPÁGULOS DE HONGOS MICORRIZICOS NATIVOS PARA LA ELABORACIÓN DE BIOINOCULANTES PARA AGAVE

Cuyos autores son: Rincón Enríquez, G.; Montoya Martínez, A. G.; Trinidad Cruz, J. R.; López Pérez, L.; Quiñones Aguilar, E. E., presentada en el 'XXXVIII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo', celebrado del 24 al 29 de noviembre de 2013 en la ciudad de La Paz, Baja California Sur, México.

Dr. David Espinosa Victoria
Presidente de la Sociedad Mexicana
de la Ciencia del Suelo

Dr. Enrique Troyo Diéguez
Presidente del Comité Organizador
del XXXVIII Congreso Nacional

smos-congreso2013@cihnor.mx

La Paz, B.C.S., a 30 de noviembre del 2013



SELECCIÓN DE PROPÁGULOS DE HONGOS MICORRIZICOS NATIVOS PARA LA ELABORACIÓN DE BIOINOCULANTES PARA AGAVE

Rincón Enriquez, G.1; Montoya Martínez, A. C.1,2; Trinidad Cruz, J. R.1; López Pérez, L.2; Quiñones Aguilar, E. E.1*

¹Unidad de Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Guadalajara, Jalisco México.

²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Tarimbaro, Michoacán, México.

*Autor responsable: eqaguilar08@gmail.com; Normalistas No. 800, Colonia Colinas de la Normal. Guadalajara, Jalisco México. CP 44270. Tel. +52 (33) 33455200 Ext. 1703.

Resumen

La cadena productiva *Agave-Tequila* es una fuente generadora de riqueza importante por ejemplo durante 2007 con 9800 ha cosechadas generó una riqueza de 2596 millones de pesos. Sin embargo de acuerdo a el Consejo Regulador del Tequila (CRT) ha calculado que entre un 20-30% de las plantas cultivadas de *agave* se encontraron enfermas por pudrición del cogollo, pudrición del tallo, marchitez, enrollamiento o decoloración de la hoja; por lo cual esta fuente de generación de riqueza está amenazada, además de que la aplicación de pesticidas como método de control de esas enfermedades devalúa el valor del producto final, por lo que resulta necesario buscar nuevas alternativas para el control de dichas enfermedades; el control biológico mediante hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) representa una alternativa en la producción del *agave*. También los HMA pueden emplearse como biofertilizante ya que al establecerse la simbiosis HMA-raíz, el HMA aporta diversos beneficios a la planta, entre los que destacan una mejor nutrición, (principalmente de fósforo). Por lo cual el objetivo de este trabajo fue evaluar tres consorcios de HMA sobre el crecimiento de *agave*. Para lo cual se realizó un experimento factorial 4x4 en un diseño experimental completamente al azar, donde el factor 1 fueron los HMA: sin HMA, tres inóculos provenientes de la Denominación de Origen del Tequila (DOT)-Michoacán (LNP-MVC, LPE-MVM y CEB-MJ) y el factor 2 fue el tipo de sustrato con cuatro niveles: arena, arena:agrolita (80:20); arena:materia orgánica -MO- (80:20) y arena:agrolita:MO (60:20:20). Se evaluaron 16 tratamientos con 4 repeticiones cada uno. Se analizaron las variables peso fresco del follaje (PFF), raíz (PFR) y total (BT); al inicio del experimento se registro el peso fresco de las plantas de *agave*, por lo que se calculó el porcentaje de incremento en peso fresco (BI) y porcentaje de incremento respecto al peso inicial fresco (PII); finalmente se calculó un índice de crecimiento de peso fresco aéreo respecto al peso de raíz (ICPFF/R). Los resultados indican que los tratamientos que contuvieron el inóculo CEB-MJ en cualquier de los cuatro sustratos mostraron valores significativamente (Tukey $P \leq 0.05$) más altos que los otros tratamientos. Mientras a nivel del análisis factorial comprueba que CEB-MJ mostró los valores significativamente mayores (Tukey $P \leq 0.05$) de los otros HMA, mientras que a nivel de los sustratos aquellos que contuvieron MO mostraron diferencias significativas (Tukey $P \leq 0.05$) respecto a los que no tuvieron. Estos resultados indican que el empleo del HMA CEB-MJ podría ser empleado para promover el crecimiento del *agave*.

Palabras clave: *Agave tequilana*; hongos micorrizicos arbusculares; biofertilizantes

Introducción

El término micorriza fue introducido en 1885 por Frank y deriva de los vocablos griegos *mykes* "hongo" y *rhiza* "raíz" y es utilizado para describir las asociaciones entre hongos y raíces de plantas.

Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo

Suplemento Especial No. 1, Vol. III. 2014

XXXVIII Congreso de la SMCS, AC.

Memorias en Extenso

donde parte del micelio fúngico se encuentra en el tejido de la planta hospedera y otra parte está en contacto con el suelo. Su abundancia y su influencia son de gran trascendencia fisiológica y ecológica para el buen funcionamiento y estabilidad de las comunidades vegetales (Deacon, 1980; Ferrera-Carrato, 1989; Smith y Douglas, 1987; O' Dell et al., 1992). De hecho, la micorriza es la colonización fúngica más extendida en el reino vegetal y los hongos micorrízicos contribuyen de manera sustancial a la biomasa del suelo (Guerrero, 1996). Existen diferentes tipos de micorrizas, pero los principales son la micorriza arbuscular o endomicorriza, la ectomicorriza y la micorriza ericoide, las cuales se forman con grupos específicos de hongos. La micorriza arbuscular es la asociación mutualista entre algunos hongos del suelo y la raíz de la mayoría de las plantas. En ella, el micelio del hongo coloniza la corteza radical a modo de endófito y proyecta sus hifas tanto al interior como al exterior de la raíz (Brundrett et al., 1996). Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) forman parte importante de la biota microbiana, ya que contribuyen de manera fundamental en la nutrición de las plantas, permitiendo un incremento en la capacidad de absorción de agua y mayor eficiencia en la entrada de nutrientes minerales principalmente aquellos poco móviles como P, Zn y Cu, y también S, Ca, Mg, Fe, Mn, Cl, Br y N, favoreciendo un mayor crecimiento de la planta, lo que indica que con el uso de estos hongos, la aplicación de fertilizantes podría reducirse. Se ha observado que las plantas micorrizadas son tolerantes a suelos salinos, tóxicos por metales, tienen mayor tolerancia a las enfermedades de la raíz, e inducen la producción de fitohormonas y otros efectos benéficos (Hayman, 1982; Varela y Estrada-Torres, 1991; Azcon et al., 1992; Bethienfalvay, 1992). En agave el estudio de la simbiosis micorrízica se ha limitado a trabajos ecológicos y de biodiversidad (Ochoa-Meza et al., 2009; Carballar-Hernández, 2009), así como la evaluación del efecto de la simbiosis en algunas variables fisiológicas y en el crecimiento de las plantas (Robles et al., 2007; Pimienta-Barrios et al., 2009) sin encontrarse efectos importantes de los HMA sobre el crecimiento vegetal de las plantas de agave; sin embargo no se han seleccionado cepas de HMA que puedan utilizarse en como biofertilizantes. Por lo cual el objetivo de esta investigación fue evaluar consorcios microbianos de HMA nativos de plantaciones cultivadas con agave en la promoción del crecimiento vegetal de plantas de *A. tequilana*.

Materiales y Métodos

El experimento se estableció en el invernadero del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), ubicado en la ciudad de Guadalajara, Jalisco. Los materiales biológicos utilizados fueron plantas de agave (*Agave tequilana*) provenientes de bulbillos. Los inóculos de HMA se obtuvieron a partir de la zona de Denominación de Origen del Tequila (DOT) del estado de Michoacán (Cuadro 1).

Cuadro 1. Sitio de proveniencia de los inóculos de hongos micorrízicos arbusculares provenientes de la Denominación de Origen del Tequila (DOT) del estado de Michoacán.

Municipio	Localidad	Sitio de muestreo	Tipo de plantación/ edad plantación	Ubicación geográfica	Altitud (msnm)	Clave consorcio HMA
Jiquipán de Juárez	Totolán	Cebadas 8	<i>A. tequilana</i> cultivado/ 5 años	N 19°58'45.01" O 102°39'30.76"	1628	CEJ-MJ
Villamar	San Antonio Guaracha	La Presa "parcela escolar"	<i>A. tequilana</i> cultivado/ 3 meses	N 19°58'24.38" O 102°33'58.32"	1602	LPE-MVM
Venustiano Carranza	La Palma	La Nueva Palma	<i>A. tequilana</i> cultivado/ 2 años	N 20° 8'14.09" O 102°46'5.93"	1555	LNP-MVC

Trasplante e inoculación

Se tomaron bulbillos de agave con tamaño homogéneo, estas fueron trasplantadas en una maceta, la cual contenía una mezcla constituida por arena, agroлита y materia orgánica estériles (120°C durante 8 horas). Al momento del trasplante, a cada bulbillo se le agregaron, en el área basal de la planta, 100 g de inóculo de HMA provenientes directamente de campo.

Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo

Suplemento Especial No. 1, Vol. III, 2014

Al inicio del experimento, las plantas se regaron dos veces por semana y posteriormente una por semana para mantenerlas húmedas.

Diseño de tratamientos y experimental

Se realizó un diseño factorial 4x4, al factor uno fueron los HMA, con cuatro niveles: 1) sin HMA (sinM), CE8-MJ (CE), LPE-MVM (LE), LPN-MVC (LP). El factor dos fue tipo de sustrato con cuatro niveles: 1) arena, 2) arena:agrolita en proporción 80:20, 3) arena:materia orgánica en proporción 80:20, 4) arena:agrolita:materia orgánica en proporción 60:20:20. La combinación de los niveles de HMA y sustrato constituyeron los 16 tratamientos con 4 repeticiones cada uno, los cuales fueron dispuestos aleatoriamente. Cada maceta con una planta (bulbilo) representó una unidad experimental (UE), por lo que se obtuvieron 64 UE. Se realizó el muestreo final a los 5 meses después de establecido el experimento.

Variables de respuesta y análisis estadísticos

Después de 5 meses del trasplante se evaluaron las variables siguientes: peso fresco de follaje (PFF), raíz (PFR) y total (PFT). Al inicio del experimento se cuantificó el peso fresco de toda la planta. Con este dato y el peso fresco final total se calcularon dos variables más: incremento en biomasa fresca (IB) y el porcentaje de incremento con respecto al peso fresco inicial (PII). Igualmente con los datos de PFF y PFR se calculó el índice de crecimiento en peso fresco del follaje en relación con la raíz (ICPFF/R). Los pesos frescos se obtuvieron a partir de una balanza granataria electrónica. Las variables PFF, PFR, PFT, IB, PII e ICPFF/R se analizaron mediante un análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple de media Tukey a un nivel de significancia de $P=0.05$.

Resultados y Discusión

En el Cuadro 2 presentan el análisis de varianza de los 16 tratamientos. En este cuadro se puede observar que los tratamientos que tuvieron el inoculo CE (CE8-MJ) proveniente de Jiquilpan de Juárez presentaron en todas las variables de respuesta (peso fresco follaje, raíz, total, IB, PII y ICPFF/R) diferencias significativamente (Tukey, $P=0.05$) mayores en comparación con los otros consorcios. Igualmente en dicho cuadro es claro que el consorcio CE se comportó estadísticamente de manera similar en los distintos sustratos evaluados. Estas observaciones se comprueban al realizar el análisis de varianza por factores (Cuadro 3), dado que el consorcio CE fue diferente estadísticamente a los otros dos consorcios de HMA y el factor sin inoculación de HMA. Por otro lado para el factor sustrato cuando se encontró presente la materia orgánica (MO) en combinación con otros componentes la respuesta fue significativamente diferente en comparación cuando no estuvo la MO. Estos resultados muestra la capacidad que tuvo uno de los consorcios de la DOT Michoacán en promover el crecimiento de plantas de agave y que podrían emplearse como un biofertilizante, al respecto algunos trabajos con otros cultivos han encontrado respuestas significativas a la inoculación con consorcios nativos, ejemplos de estos trabajos son en papaya donde Nava-Gutiérrez *et al.* (2012), Rodríguez-Romero *et al.* (2007) y Quiñones-Aguilar *et al.* (2012) reportan mayor incremento en biomasa en plantas micorrizadas en comparación con las que no fueron inoculadas con HMA. Respecto a trabajos con *A. tequilana* Pimienta-Barrios *et al.* (2009) reportan que las micorrizas (*Glomus fasciculatum* y *Glomus intraradices*) no tuvieron efecto significativo en las variables relacionadas con el crecimiento, la longitud y el ancho de las hojas. Lo cual contrasta con lo encontrado en este estudio donde uno de los consorcios nativos de HMA (CE8-MJ) mostró un efecto relativamente superior a otros consorcios y a plantas sin micorrización, lo cual sugiere la importancia de considerar inoculos nativos en comparación con cepas introducidas como se sugiere en el estudio de Pimienta-Barrios *et al.* (2009).

Cuadro 2. Respuesta del *Agave tequilana* al tratamiento de la combinación de sustratos y hongos micorrizicos arbusculares (HMA) bajo condiciones de invernadero después de cinco meses después del trasplante.

Tratamiento	Peso Fresco (g)						
	Total		Follaje	Raíz	IB (g)	PII (%)	ICPFRR
	Inicial	Final					
sinM. Ar	11.7 a	37.5 ab	33.5 abc	4.0 ab	25.8 ab	224.0 b	8.4 ab
sinM.Ar.Agr	12.1 a	36.9 ab	32.9 abc	3.9 ab	24.7 ab	210.7 b	8.9 ab
sinM.Ar.MO	9.3 a	56.2 ab	50.4 ab	5.7 ab	46.9 ab	516.4 ab	9.0 ab
sinM.Ar.MO.Agr	8.7 a	47.6 ab	42.5 abc	5.1 ab	38.9 ab	447.2 ab	8.7 ab
CE.Ar	10.0 a	34.6 ab	30.1 abc	4.5 ab	24.6 ab	253.9 ab	8.9 ab
CE.Ar.Agr	11.0 a	36.5 ab	32.2 abc	4.3 ab	25.5 ab	267.7 ab	7.6 ab
CE.Ar.MO	8.8 a	56.0 ab	48.4 abc	7.6 ab	47.2 ab	545.5 ab	8.7 ab
CE.Ar.MO.Agr	7.2 a	50.3 ab	44.0 abc	6.3 ab	43.1 ab	504.5 a	8.4 ab
LE.Ar	10.3 a	39.3 ab	32.9 abc	6.4 ab	29.1 ab	330.3 ab	5.6 b
LE.Ar.Agr	8.7 a	26.9 b	23.8 c	3.2 b	18.3 b	230.9 b	7.6 ab
LE.Ar.MO	11.3 a	63.5 a	54.6 ab	9.0 a	52.2 a	471.9 ab	8.3 ab
LE.Ar.MO.Agr	8.7 a	45.5 ab	39.8 abc	5.7 ab	36.8 ab	437.7 ab	7.1 ab
LP. Ar	10.6 a	44.9 ab	38.4 abc	6.4 ab	34.2 ab	326.1 ab	8.1 ab
LP.Ar.Agr	8.4 a	26.8 b	24.0 bc	2.9 b	18.5 b	217.9 b	8.7 ab
LP.Ar.MO	11.6 a	66.5 a	59.0 a	7.5 ab	55.0 a	457.3 ab	8.2 ab
LP.Ar.MO.Agr	12.1 a	59.4 ab	54.2 abc	5.2 ab	47.3 ab	403.2 ab	11.0 a

Ar: Arena; Agr: Agujita; MO: Materia orgánica; Inóculos micorrizicos provenientes de la DOT Michoacán; CE = CE3.MU; LE = LPE.MVM; LP = LNP.MVC; SinM = Sin hongos micorrizicos arbusculares. IB = Incremento de biomasa fresca al final del experimento, PII = Porcentaje de incremento respecto al peso inicial, ICPFFRR = Índice de crecimiento en peso fresco de la planta aérea en relación al peso de la raíz. Letras distintas para cada variable de respuesta indican diferencias significativas según la prueba de Tukey (P<0.05).

Cuadro 3. Efecto del tipo de sustrato y de hongos micorrizico arbuscular (HMA) en la acumulación de materia fresca de *Agave tequilana* bajo condiciones de invernadero durante cinco meses después del trasplante.

Factor	Peso Fresco (g)						
	Total		Follaje	Raíz	IB (g)	PII (%)	ICPFRR
	Inicial	Final					
SUSTRATO							
Arena	10.6 a	39.1 bc	33.7 bc	5.3 b	28.4 b	289.8 b	6.6 b
Arena.Agr	10.3 a	31.3 c	28.2 c	3.6 b	21.7 b	231.8 b	8.5 ab
Arena.MO	10.2 a	60.6 a	51.1 a	7.5 a	50.3 a	427.8 a	7.5 ab
Ar.MO.Agr	9.2 a	50.7 ab	45.1 ab	5.6 ab	41.5 a	470.7 a	8.8 a
HMA							
S.HMA	10.4 a	44.5 a	39.8 a	4.7 a	34.1 a	349.6 a	8.8 a
CE3.MU	9.2 a	44.6 a	38.7 a	5.7 a	35.1 a	415.4 a	7.7 ab
LPE.MVM	9.7 a	43.8 a	37.8 a	6.0 a	34.1 a	367.7 a	6.6 b
LNP.MVC	10.7 a	49.4 a	43.9 a	5.5 a	38.7 a	351.1 a	8.8 a
INTERACCION							
F calculado	1.77	0.59	0.62	0.77	0.93	0.55	0.73
P observado	0.19 ^{ns}	0.30 ^{ns}	0.78 ^{ns}	0.65 ^{ns}	0.98 ^{ns}	0.83 ^{ns}	0.68 ^{ns}

Ar: Arena; Agr: Agujita; MO: Materia orgánica; Inóculos micorrizicos provenientes de la DOT Michoacán; CE3.MU, LPE.MVM, LNP.MVC y SinM = Sin hongos micorrizicos arbusculares. IB = Incremento de biomasa fresca al final del experimento, PII = Porcentaje de incremento respecto al peso inicial, ICPFFRR = Índice de crecimiento en peso fresco de la planta aérea en relación al peso de la raíz. Letras distintas para cada variable de respuesta en cada factor de estudio indican diferencias significativas según la prueba de Tukey (P<0.05). NS = No significativo.

Conclusiones

El consorcio de HMA CE proveniente de la DOT Michoacán mostró tener un efecto sobre el crecimiento de plantas de *Agave tequilana*. Igualmente la presencia de materia orgánica promueve el crecimiento vegetal de agave. No se presentó interacción entre el factor consorcio HMA y el factor sustrato.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó bajo el apoyo del proyecto MICH-2010-03-148208 del FOMIX-Gobierno del estado de Michoacán-CONACYT.

Bibliografía

- Azcon, R., M. Gomez and R. Tobar. 1992. Effects of nitrogen source on growth, nutrition, photosynthetic rate and nitrogen metabolism of mycorrhizal and phosphorus-fertilized plants of *Labusa sativa* L. *New Phytologist* 121: 227-234.
- Balshantavay, G. L. 1992. Mycorrhizae and crop productivity. In: *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA Special publication No. 54, USA, p. 1.
- Brundrett, M., N. Bougher, B. Dell, T. Grove and Malajczuk N. 1996. Working mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Center for International Agricultural Research, Canberra, Australia.
- Carballar-Hernández, S. 2009. Variación temporal de la diversidad de hongos de micorrizas arbusculares y el potencial micorrizico en especies silvestres de *Agave* en Oaxaca. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto Politécnico nacional. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. 72 p.
- Deacon, J.W. 1980. Introduction to modern mycology. *Basic Microbiology*. Blackwell Scientific Pub. 17: 163-167.
- Ferrera-Carrato, R. 1989. Rizosfera. Ecología de la raíz. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Colegio de Postgraduados, México. p. 1-21
- Guemaro, F. E. 1996. Micorrizas: recurso biológico del suelo. Fondo FEN Colombia. Bogotá, Colombia. 206 p.
- Hayman, D. S. 1962. Influence of soil and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72: 1119-1125.
- Ochoa-Meza, A. E., M. Fernández-Valle, R. y R. Herrera-Paraza. 2009. Variación estacional de hongos micorrizicos arbusculares asociados con *Agave angustifolia* Haw. en la sierra sonorense, México. *Revista Fitopatología Mexicana*. 32: 189-199.
- O'Dell, E. T., Castellano A. M. and Trappe M. J. 1992. Soil microbial ecology. In: F. Blaine Matting Jr. (ed.). *Applications in agricultural and environmental management*. Marcel Dekker Inc., USA, p. 379-415.
- Pimentel-Barríos E., J. Zafredo-Hernández y E. López-Alcoer. 2009. Efecto de las micorrizas arbusculares, en el crecimiento, fotosíntesis y anatomía foliar de plantas jóvenes de *Agave tequilana*. *Acta Botánica Mexicana* 89: 63-78.
- Nava-Gutiérrez, Y., Ferrera-Carrato R. and Santamaría J. M. 2012. *Glomus intraradices* attenuates the negative effect of low P_i supply on photosynthesis and growth of papaya *Maradol* plants. *Journal of Botany*, Article ID 129501, 8 pages. <http://www.hindawi.com/journals/jb/2012/129501/>.
- Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández-Acosta E., Rincón-Enríquez G. y Ferrera-Carrato R. 2012. Interacción de hongos micorrizicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya. *Terra Latinoamericana* 30: 165-176.
- Rodríguez-Romero, A. S., Azcón R. and Jaizme-Vega M. C. 2011. Early mycorrhization of two tropical crops, papaya (*Carica papaya* L.) and pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.], reduces the necessity of P fertilization during the nursery stage. *Fruits* 66: 3-10.
- Robles, C., M. de L. Robles-Martínez y F. de B. Montroy-Díaz. 2007. Crecimiento y nutrición de maguay mazcalero (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de micorrización arbuscular. Montaña N. M., Camargo-Ricalde S.L., García-Sánchez R., Montroy A. (eds.) *Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos (Arbuscular mycorrhizae in arid and semiarid ecosystems)*. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundo-Pressa SA de CV, UAM Iztapalapa, FES Zaragoza, UNAM. Distrito Federal, México. 460 p.
- Smith, D. C. and A. E. Douglas. 1987. *The biology of symbiosis*. Edward Arnold, Great Britain. 302 p.
- Varela, L. y A. Estrada-Torres. 1991. El papel de los microorganismos de la rizosfera y de la micorriza en la absorción de nutrientes minerales y agua. *Memorias X Curso Taller de Ocho 19-29 Noviembre CYCY. Mérida Yucatán, México*.



FORO
ACADÉMICO DEL POSGRADO
EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
Y AGROPECUARIAS



UNIVERSIDAD MICHOCANA
25 DE SEPTIEMBRE DE 1917

LA UNIVERSIDAD MICHOCANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
A TRAVÉS DEL PROGRAMA INSTITUCIONAL DE DOCTORADO
EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DEL PROGRAMA INSTITUCIONAL
DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

**Amelia Cristina Montoya Martínez , Gabriel Rincón-Enríquez ,
Evangalina Esmeralda Quiñones-Aguilar , Joaquín Qui Zapata ,
Philippe Lobit , Luis López-Pérez**

Por su participación con la ponencia de tipo: Oral

**HONGOS MICORRIZICOS COMO BIOFERTILIZANTES Y AGENTES DE CONTROL
BIOLÓGICO CONTRA *Fusarium oxysporum* EN *Agave tequilana***

En el marco de las actividades académicas del Ito, Foro Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas y Agropecuarias celebrado del 4 al 6 Diciembre de 2013, en el Centro de Información, Arte y Cultura de Ciudad Universitaria en Morelia Michoacán.



Dr. Jose Lobit Buscio
Coordinador General
PIMCB



Dr. Juan Manuel Ortega Rodríguez
División de Estudios de Posgrado
Fac. de Biología



Dr. Gabriel Quiñones-Aguilar
Coordinador General
PIMCB



HONGOS MICORRIZICOS COMO BIOFERTILIZANTES Y AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO CONTRA *Fusarium oxysporum* EN *Agave tequilana*

Amelia Cristina Montoya Martínez (1)*, Gabriel Rincón-Enríquez (2), Evangelina Esmeralda Quiliones-Aguilar (2), Joaquín Qui Zapata (2), Philippe Lobit (3), Luis López-Pérez (3)

(1) Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Área temática: Fisiología y Genética Vegetal. (2) Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) Av. Normalistas 800, Colonia Colinas de la Normal, 44270, Guadalajara, Jalisco, México. Tel. 33 33455200. (3) Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Km. 9.5 Carr. Morelia-Zinapécuaro Tarímbaro, Michoacán, 58880 México. Tel. 443 2958323. *Autor para correspondencia: cristina_montoya14@hotmail.com.

mailto:cristina_montoya14@hotmail.com

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de hongos micorrizicos como biofertilizante en varias especies de agave y su efectividad biológica contra *Fusarium oxysporum* en *Agave tequilana*. Primero se realizó un experimento donde se evaluaron mezclas de sustratos (arena, agrolita y lombricomposta) y plantas trampa (*Agave tequilana* y *Carica papaya*), con el fin de encontrar la mejor combinación para la propagación de esporas de HMA recolectados de suelo rizosférico de plantaciones de agave de la DOT-Michoacán. Los resultados mostraron que la arena con agave fue el tratamiento con mayor producción de esporas. Para evaluar el potencial de los HMA como biofertilizante, en tres especies de agave (*tequilana*, *cupreata* e *inaequidens*), se evaluó el efecto de diferentes consorcios de HMA nativos de la DOM-Michoacán en el crecimiento de las plantas. Se encontró que el consorcio de HMA obtenido de la región de Tzitzio, Michoacán, fue donde se registró la mayor altura de planta, número de hojas y peso fresco total para las tres especies de agave evaluadas. Finalmente se estableció un experimento donde se evaluará la efectividad biológica de los HMA contra el agente causal de la marchitez del agave (*Fusarium oxysporum*) en plantas de *Agave tequilana* micorrizadas. Para esto, primero se generó una escala visual de patogenicidad en plantas de *Agave tequilana* en condiciones de invernadero. La escala contó con cinco niveles: Nivel 1= Planta sana o asintomática; Nivel 2= Inicio del síntoma; Nivel 3 = Avance medio; Nivel 4 = Avance severo y Nivel 5 = Planta muerta. Se espera que los HMA controlen o eviten la enfermedad. Agradecimientos: Al FOMIX Michoacán-CONACYT por el



financiamiento de este proyecto (MICH-2010-C01-148208). El primer autor agradece a CONACYT por el apoyo otorgado con una beca para estudio de maestría. Palabras Clave: Micorriza, Agave tequilero, Agave Mezcalero, Marchitez, Biofertilizante