

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

**“Evaluación de micorrizas arbusculares nativas del
estado de Morelos en el desarrollo de plantas de caña de
azúcar y en el biocontrol de *Fusarium andiyazi*”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN BIOTECNOLOGÍA

P R E S E N T A:

BIÓL. MARÍA EUGENIA RODRÍGUEZ LUQUEÑO

DIRECTOR: DR. VÍCTOR MANUEL HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ

CODIRECTOR: DR. EDGAR MARTÍNEZ FERNÁNDEZ



AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada (No. 958327) para realizar mis estudios de maestría y financiamiento de este proyecto.

Al Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por la oportunidad de permitirme realizar mis estudios en la Maestría en Biotecnología.

A mi director de tesis el Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez, por aceptarme tener bajo su dirección y por el apoyo brindado durante mis estudios.

A mi codirector de tesis el Dr. Edgar Martínez Fernández, por compartir sus conocimientos conmigo, su amistad, su paciencia y por todo su apoyo en la dirección durante mi formación académica.

A la Dra. Verónica Obregón Barboza, por sus observaciones y tiempo invertido en ser parte de mi comité, por sus consejos y sus palabras de ánimo.

A la Dra. Maura Téllez Téllez, por aceptar ser parte de mi comité y su importante asesoramiento.

A el Dr. Jorge Luis Folch Mallol por sus valiosas contribuciones y tiempo dedicado a este proyecto.

A la M. en C. Patricia Martínez Jaimes, por el apoyo brindado en los experimentos del laboratorio.

A mis compañeros de maestría en especial a Norma, Alison, Guadalupe y Belén por compartir sus conocimientos y por la valiosa amistad que me brindaron.

DEDICATORIA

A mi familia, por su cariño y el apoyo incondicional que me brindan.

A mi compañero de vida Luis por todo su apoyo, amor y comprensión, al acompañarme en tiempos de crisis y por motivarme a seguir siempre superándome.

A mis padres María Eugenia y Marcos por darme la vida, creer en mi e impulsarme a perseguir nuevos retos y apoyarme siempre con mis decisiones.

“La vida es una unión simbiótica y cooperativa que permite triunfar a los que se asocian”

Lynn Margulis

ÍNDICE DE CONTENIDO

Resumen	1
Abstract	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1. El cultivo de la caña de azúcar	5
2.2. Requerimientos nutricionales del cultivo	5
2.3. Enfermedades asociadas a los cultivos de caña de azúcar	6
2.3.1. Enfermedades causadas por hongos	7
2.3.2. Hongos fitopatógenos del género <i>Fusarium</i>	7
2.3.2.1. <i>Fusarium andiyazi</i>	8
2.4. Control de enfermedades producidas por hongos fitopatógenos.....	10
2.4.1. Control cultural.	10
2.4.2. Control químico.....	10
2.4.3. Control biológico.....	11
2.5. Los Hongos Micorrízicos	13
2.5.1. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	13
2.5.3. Taxonomía de los HMA	13
2.5.2. Características morfológicas de los HMA.....	14
2.6. Interacciones entre plantas hospederas y HMA	15
2.6.1. Beneficios de la formación de micorrizas	15
2.7. Efecto de los HMA para promover el crecimiento en las plantas	16
2.8. Efecto de los HMA hacia el control de hongos fitopatógenos.	17

3.	JUSTIFICACIÓN.....	19
4.	HIPÓTESIS.....	20
5.	OBJETIVOS.....	20
5.1.	Objetivo general.....	20
5.2.	Objetivos particulares.....	20
6.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
6.1.	Colecta de muestras de suelo.....	21
6.2.	Aislamiento de esporas de HMA.....	22
6.3.	Identificación de esporas de HMA.....	23
6.3.1.	Preparaciones temporales.....	23
6.3.2.	Claves taxonómicas para la identificación de HMA.....	24
6.4.	Cálculo de índice de diversidad de esporas de HMA.....	24
6.5.	Producción de HMA nativas de caña de azúcar en cultivos trampa.....	25
6.5.1.	Proceso de desinfección.....	25
6.5.1.1.	Esporas de HMA.....	25
6.5.1.2.	Semillas de sorgo.....	25
6.5.1.3.	Preparación del sustrato.....	25
6.5.2.	Inoculación de HMA en plantas trampa.....	26
6.5.2.1.	Propagación de HMA.....	26
6.6.	Evaluación de los efectos de HMA en plantas de caña de azúcar.....	27
6.6.1.	Evaluación del efecto de los HMA en el desarrollo de las plantas de caña de azúcar.....	28
6.6.1.1.	Método de clareo y tinción de raíces.....	30
6.6.1.2.	Determinación de colonización micorrícica en las raíces de caña de azúcar.....	31
6.6.2.	Evaluación del efecto de los HMA en plantas de caña de azúcar inoculadas con <i>F. andiyazi</i>	31

6.7. Análisis estadísticos	34
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
7.1. Aislamiento de esporas de HMA en plantas de caña de azúcar	35
7.2. Identificación morfológica de los HMA aislados de suelos de caña de azúcar	40
7.2.1. Género <i>Acaulospora</i>	40
7.2.1.1. <i>Acaulospora lacunosa</i> J.B. Morton, <i>Mycologia</i> 78(4): 643 (1986)	40
7.2.1.2. <i>Acaulospora tuberculata</i> Janos & Trappe, <i>Mycotaxon</i> 15: 519 (1982)	41
7.2.1.3. <i>Acaulospora</i> sp 1	42
7.2.2. Género <i>Glomus</i>	43
7.2.2.1. <i>Glomus aggregatum</i> N.C. Schenck & G.S. Sm., <i>Mycologia</i> 74(1): 80 (1982).....	43
7.2.2.2. <i>Glomus ambisporum</i> G.S. Sm. & N.C. Schenck, <i>Mycologia</i> 77(4): 566 (1985) ..	44
7.2.2.3. <i>Glomus citrícola</i> D.Z. Tang & M. Zang <i>Acta bot. Yunn.</i> 6(3): 301 (1984).....	45
7.2.2.4. <i>Glomus mosseae</i> T.H. Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe, <i>Mycol. Mem.</i> 5: 40 (1974)	46
7.2.3. Género <i>Funneliformis</i>	47
7.2.3.1. <i>Funneliformis geosporum</i> T.H. Nicolson & Gerd., <i>Mycologia</i> 60(2): 318 (1968)	47
7.2.4. Género <i>Rhizophagus</i>	48
7.2.4.1. <i>Rhizophagus irregularis</i> Wubet, Renker & Buscot, <i>Mycotaxon</i> 106: 252 (2008) 48	
7.2.5. Género <i>Septoglomus</i>	49
7.2.5.1. <i>Septoglomus desertícola</i> Trappe, Bloss & J.A. Menge, <i>Mycotaxon</i> 20(1): 123 (1984)	49
7.2.6. Género <i>Sclerocystis</i>	50
7.2.6.1. <i>Sclerocystis</i> sp 1	50
7.2.6.2. <i>Sclerocystis</i> sp 2	51

7.2.7. Género <i>Claroideoglomerus</i>	51
7.2.7.1. <i>Claroideoglomerus lamellosum</i> Dalpé, Koske & Tews, Mycotaxon 43: 289 (1992)	51
7.2.7.2. <i>Claroideoglomerus luteum</i> L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton, <i>Mycologia</i> 91(6): 1090 (1999)	52
7.2.8. <i>Paraglomerus</i>	53
7.2.8.1. <i>Paraglomerus occultum</i> J.B. Morton & D. Redecker, <i>Mycologia</i> 93(1): 190 (2001)	53
7.3.1. Evaluación de la aplicación de HMA en el desarrollo en plantas de caña de azúcar...54	
7.3.1.1. Colonización micorrícica en caña de azúcar	57
7.3.2. Evaluación de la aplicación de HMA y <i>F. andiyazi</i> en plantas de caña de azúcar	59
7.4. Evaluación del grado de la enfermedad inducido por <i>F. andiyazi</i> en plantas de caña de azúcar micorrizadas	61
8. CONCLUSIONES	64
PERSPECTIVAS	65
9. LITERATURA CITADA.....	66
APÉNDICES.....	73
Guía de colores de esporas de Hongos Micorrízicos Arbusculares	73
Fórmulas para la preparación de reactivos	74
Medios de cultivo	74
Análisis de Varianza de las variables en el primer bioensayo	75
Análisis de Varianza de las variables en el segundo bioensayo.....	76
Variables analizadas en el Bioensayo 1	77
Variables analizadas en el Bioensayo 2	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Plantas de caña de azúcar que presentan enfermedad de la marchitez, se observan los síntomas de flacidez y ligera clorosis en las hojas.	9
Figura 2. Plantas de caña de azúcar que presentan pokkah boeng o deformación en el ápice del tallo.....	9
Figura 3. Muestras de suelo tomadas de cultivos de caña de azúcar provenientes del municipio de Jojutla	21
Figura 4. Técnica de extracción de esporas en suelo. A) Muestras de suelo de caña de azúcar. B) Tamizado C) Proceso de centrifugación de muestras. D) Obtención de esporas	22
Figura 5. Cultivos trampa. A) Mezcla de sustrato peat moss: vermiculita, 2:1. B) Siembra de semillas de sorgo. C) Germinación y crecimiento de plantas de sorgo.....	27
Figura 6. Plantas de caña de azúcar inoculadas con HMA	29
Figura 7. <i>Fusarium andiyazi</i> . A) Colonia de <i>F. andiyazi</i> crecida en media PDA B) Suspensión de conidios de <i>F. andiyazi</i>	32
Figura 8. Inoculación de <i>F. andiyazi</i> a plantas de caña de azúcar	33
Figura 9. Número de esporas de HMA aisladas de muestras de suelo de caña de azúcar de la variedad CP 72-2086 (media \pm desviación estándar).....	35
Figura 10. Abundancia relativa de los géneros de HMA en suelos de caña de azúcar de Jojutla, Morelos.....	36
Figura 11. Abundancia relativa (AR) de esporas de HMA identificadas en suelos de caña de azúcar en los sitios de muestreo 1,2,3,4 y 5. A- <i>Acaulospora</i> , C- <i>Claroideoglopus</i> , G- <i>Glomus</i> , R- <i>Rhizophagus</i> , S- <i>Septoglopus</i>	38
Figura 12. Microfotografías de las esporas de <i>Acaulospora lacunosa</i> (40x). A) superficie lisa con hundimientos (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2(L2) de la pared de la espora.	40

Figura 13. Microfotografías de las esporas de *Acaulospora tuberculata* (40x). A) superficie externa reticulada (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2(L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora C) hifa de sostén (flecha).....42

Figura 14. Microfotografías de las esporas de *Acaulospora* sp 1 (40x). A) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) B) Hifa de sostén (flecha) superficie (flecha). C) superficie de la pared de la espora que presenta hundimientos.....43

Figura 15. Microfotografías de las esporas de *Glomus aggregatum* (40x). A) superficie reticulada (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora e hifa de sostén (flecha).43

Figura 16. Microfotografías de las esporas de *Glomus ambisporum* (40x). A) superficie externa reticulada (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora C) Hifa de sostén (flecha). D) Cicatriz.....44

Figura 17. Microfotografías de las esporas de *Glomus citricola* (40x). A) superficie externa laberiforme (flecha). B) Capa 1 (L1) Capa 2 (L2) y Capa (L3) de la pared de la espora C) hifa de sostén (flecha). D) Cicatriz.....45

Figura 18. Microfotografías de las esporas de *Glomus mosseae* (40x). A) superficie reticulada (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2(L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora e hifa de conexión.46

Figura 19. Microfotografías de las esporas de *Funneliformis geosporum* (40x). A) superficie reticulada (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2(L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora e hifa de sostén (flecha).47

Figura 20. Microfotografías de las esporas de *Rhizophagus irregularis* (40x). A) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2), Capa 3 (L3) de las esporas e hifa de sostén (flecha).....48

Figura 21. Microfotografía de las esporas de *Septoglomus deserticola* (40x). A) Superficie reticulada de la espora. B) Hifa de conexión C) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora.....49

Figura 22. Microfotografías de las esporas de *Sclerocystis* sp 1 (40x). A) pared poco definida. B) arreglos de esporas. C) peridio.....50

Figura 23. Microfotografías de las esporas de <i>Sclerocystis</i> sp 2 (40x). A) pared poco definida (flecha) y peridio	51
Figura 24. Microfotografía de las esporas de <i>Claroideoglosum lamellosum</i> (40x). A) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora.....	52
Figura 25. Microfotografía de las esporas de <i>Claroideoglosum luteum</i> (40x). A) Superficie reticulada de la espora. B) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora.	53
Figura 26. Microfotografías de las esporas de <i>Paraglosum occultum</i> (40x). A) Superficie reticulada hexagonal B) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2), Capa 3 (L3).....	54
Figura 27. Efecto de la inoculación de HMA en la altura de plantas de caña de azúcar en el Bioensayo 1 (media \pm desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos de acuerdo con la prueba Tukey ($P<0.05$), C.V. = 15.52.....	55
Figura 28. Efecto de la inoculación de HMA en el peso fresco de las raíces de caña de azúcar en el Bioensayo 1 (media \pm desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos de acuerdo con la prueba Tukey ($P<0.05$), C.V. =61.62.....	56
Figura 29 Colonización de HMA en plantas de caña de azúcar. A) Segmento de raíz con presencia de vesículas (v). B) segmento de raíz con hifas (h) y arbusculos (a)	59
Figura 30. Efecto de la inoculación de HMA y <i>F. andiyazi</i> en la longitud de raíz de plantas de caña de azúcar en el Bioensayo 2 (media \pm desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos de acuerdo con la prueba Tukey ($P<0.05$), C.V. =16.28.....	60
Figura 31. Tratamientos de HMA inoculadas con <i>Fusarium andiyazi</i> . A) Plantas testigo mostrando flacidez de follaje y raíces con nivel de daño 2. B) Plantas con el tratamiento 5 mostrando ligera clorosis en hojas y raíces con nivel de daño 1 C) Plantas con el tratamiento 13 mostrando ligera clorosis en hojas y raíces con nivel de daño 1.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Phylum Glomeromycota de acuerdo con Redecker <i>et al.</i> (2013) tomada de Souza (2015)	14
Tabla 2. Tratamientos evaluados en caña de azúcar.....	28
Tabla 3. Abundancia relativa (AR) y Valor de importancia (VI) de especies de HMA presentes en caña de azúcar	37
Tabla 4. Índices de diversidad de Shannon-Weiner para morfoespecies de HMA presentes en diferentes campos con caña de azúcar.....	39
Tabla 5. Colonización de HMA en las raíces de caña de azúcar.....	58

Resumen

Se evaluó el efecto de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) nativos del estado de Morelos en el desarrollo vegetal y en reducir las infecciones ocasionadas por *Fusarium andiyazi* en caña de azúcar. Se colectaron muestras de suelo donde se cultiva caña de azúcar en el municipio de Jojutla para extraer las esporas de HMA que fueron contadas e identificadas morfológicamente. Para reproducir las esporas de cada morfoespecie de HMA, se utilizaron cultivos trampa empleando plantas de sorgo posteriormente, se utilizó el inóculo de estas plantas en dos bioensayos con caña de azúcar, se estableció un diseño completamente al azar donde se evaluaron 16 tratamientos con tres repeticiones. En el primer bioensayo se aplicaron las morfoespecies de HMA en plantas de caña de azúcar para evaluar su efecto en el desarrollo y en el segundo bioensayo a las plantas micorrizadas se aplicó el patógeno *F. andiyazi* a una concentración de 1×10^6 conidios/ml para evaluar la reducción del daño en las raíces. En las muestras de suelo analizadas se obtuvo en promedio 497 esporas de HMA por cada 100 g de suelo, además, se identificaron 15 morfoespecies que pertenecen a los géneros *Acaulospora*, *Claroideoglossum*, *Glomus*, *Paraglossum*, *Rhizophagus* y *Sclerocystis*, cabe destacar que los géneros más abundantes fueron *Acaulospora*, *Claroideoglossum* y *Glomus*, mientras que las morfoespecies más abundantes son *C. lamellosum* 19.76% y *A. lacunosa* 16.40%. Con la aplicación de los tratamientos de *A. lacunosa*/*A. tuberculata* y *G. mosseae*/*F. geosporum* se obtuvo un aumento significativo en la altura de las plantas de caña de azúcar. Los HMA colonizaron en diferente grado las raíces de caña de azúcar, destacando *G. aggregatum* y *A. lacunosa*/*A. tuberculata* con los porcentajes más altos 93.3 y 73.3 respectivamente. Por otro lado, se observó que la mayoría de los tratamientos a los que se aplicó HMA presentaron pocas lesiones radicales, sin embargo, los tratamientos de *G. ambisporum* y *G. mosseae*/*F. geosporum* fueron los más eficaces, mientras que el control presentó el mayor daño en raíces, por lo tanto, la aplicación de HMA en plantas de caña de azúcar tuvieron un efecto significativo en mejorar el crecimiento de las plantas y reducir las lesiones radicales provocadas por *F. andiyazi*.

Palabras clave: hongos micorrízicos arbusculares, caña de azúcar, crecimiento, *Fusarium andiyazi*

Abstract

The effect of native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) native of Morelos state was evaluated on plant development and reducing infections caused by *Fusarium andiyazi* in sugarcane. Soil samples were collected where sugarcane is cultivated in Jojutla municipality to extract spores of AMF that were counted and morphologically identified. To reproduce the spores of each AMF morphospecies, sorghum plants were used as trap cultures, Then the inoculum obtained from these plants was used in two bioassays with sugarcane, a completely randomized design was established were 16 treatments with three repetitions were evaluated. In the first bioassay, AMF morphospecies were applied to sugarcane plants and its effect on development was assessed in the second bioassay, the phytopathogen *F. andiyazi* (at a concentration of 1×10^6 conidia/ml) was applied to mycorrhized sugarcane plants to assess the reduction of root damage. Soil samples analyzed, averaged 497 AMF spores per 100 g of soil; moreover, 15 morphospecies belonging to genera *Acaulospora*, *Claroideoglosum*, *Glomus*, *Paraglosum*, *Rhizophagus* and *Sclerocystis* were identified, it should be noted that most abundant genera were *Acaulospora*, *Claroideoglosum* and *Glomus*, while the most abundant morphospecies were *C. lamellosum* and *A. tuberculata* showing 19.76% and 16.40%, respectively. With the application of *A. lacunosa/A. tuberculata* and *G. mosseae/F. geosporum*, a significant increase in the height of sugarcane plants was observed. AMF colonized sugarcane roots in different proportions, emphasizing *G. aggregatum* and *A. lacunosa/A. tuberculata* with the highest percentages 93.3 and 73.3 respectively. On the other hand, it was observed that most of the treatments to which AMF were applied, had lesser radical lesions. Treatments with *G. ambisporum* and *G. mosseae /F. geosporum* were the most effective, while the control plants had the greatest root damage. Therefore, AMF application in sugarcane plants had a significant effect on improving plant growth and reduce radical lesions caused by *F. andiyazi*.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi, sugarcane, growth, *Fusarium andiyazi*

1. INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar es uno de los cultivos esenciales que contribuyen a la economía del estado de Morelos, su importancia radica en los productos que se obtienen a partir de esta planta. En el cierre del ciclo 2020 se obtuvo en volumen una producción de 2 millones 78 mil 868 toneladas y un rendimiento de 101.805 ton/ha (SIAP, 2020), sin embargo, estos valores se ven reducidos por la influencia de factores abióticos y bióticos que repercuten en el desarrollo de la planta.

En los últimos años, los cultivos de caña de azúcar se han visto afectados por una enfermedad denominada “marchitez”, que se compone de síntomas como clorosis, manchas blancas en las hojas, flacidez de follaje, disminución del desarrollo y principalmente causa daños por necrosis en las raíces. Los hongos del género *Fusarium* se asocian con esta enfermedad. En Morelos los principales patógenos son *F. andiyazi*, *F. sacchari* y *F. nygamai* (Martínez- Fernández *et al.*, 2015), siendo *F. andiyazi* la especie que produce síntomas muy marcados (Martínez-Jaimes *et al.*, 2020).

Las medidas que toman los productores para controlar esta enfermedad suelen ser a través de fungicidas químicos, pero este enfoque aumenta los costos de producción y algunas veces no logra el éxito deseado, especialmente cuando se pretende controlar la enfermedad a largo plazo. El uso extensivo de estos químicos puede causar daños ambientales a suelos, aguas subterráneas y el peligro asociado a la salud de las personas que se encuentran en constante contacto con estos químicos (Parra-Acosta y Martínez-Tapia, 2019).

Por otro lado, los requerimientos nutricionales del cultivo de caña de azúcar son facilitados por medio de fertilizantes sintéticos, desde el aumento en el precio de estos productos ha sido pertinente evaluar propuestas para reducir la cantidad de fertilizantes aplicados, mediante el aprovechamiento de organismos que tengan capacidad de mejorar la asimilación de los nutrientes disponibles en suelo (CONADESUCA, 2016), además, esta actividad permite reducir los riesgos asociados con aplicaciones excesivas que tienen repercusiones en la contaminación de mantos acuíferos por NO₃ o acidificación de suelos.

Debido a los daños ocasionados por fertilizantes sintéticos y fungicidas, se han implementado alternativas que permiten reducir la densidad e impacto de los patógenos, una de estas alternativas son los microorganismos benéficos tales como son los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

que forman asociaciones simbióticas con las raíces de las plantas, esta relación mejora la captación de elementos de baja movilidad a través de las hifas del hongo. La aplicación de HMA en las plantas ha demostrado un efecto significativo en el aumento de biomasa radical y foliar (Wilches-Ortiz *et al.*, 2019). Otro efecto asociado a la aplicación de HMA en plantas es disminuir la severidad de la marchitez provocada por algunas especies de *Fusarium* (Trinidad-Cruz *et al.*, 2017).

Considerando la importante función que desempeña la simbiosis micorrízica, en el presente trabajo se evaluó la aplicación de hongos micorrízicos arbusculares en raíces de plantas de caña de azúcar para favorecer su desarrollo y brindar protección contra el patógeno *Fusarium andiyazi*.

2. ANTECEDENTES

2.1. El cultivo de la caña de azúcar

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es una gramínea de gran importancia comercial que posee un tallo hueco y leñoso que almacena sacarosa en su interior, que se somete a distintos procesos para obtener azúcar y otros compuestos que son utilizados en la industria de alimentos, cosmética, farmacéutica y química (Aguilar-Rivera *et al.*, 2012).

El cultivo de la caña de azúcar y su transformación en productos comerciales es una de las principales actividades económicas del país, en el 2020 se sembraron 847,447 ha en 16 estados de la República Mexicana y 227 municipios que generan rendimientos entre 70 y 75 ton/ha (SIAP, 2020), que aporta 1.98% al PIB manufacturero, 16.44% al PIB agropecuario y 8.29% al PIB de la industria alimentaria (Gómez-Merino *et al.*, 2018).

En el estado de Morelos anualmente se siembran más de 22 mil hectáreas en 22 municipios con valores aproximados de 110 ton/ha obtenidos por cada ciclo (SIAP, 2020), que permite que los productores manejen la comercialización en el mercado nacional o internacional, no obstante, los valores de producción y rendimientos pueden verse afectados por factores abióticos y bióticos.

2.2. Requerimientos nutricionales del cultivo

Uno de los factores asociados a la reducción en la productividad de la caña de azúcar es la composición de los suelos. La mayoría de los suelos utilizados para las actividades agrícolas presentan deficiencias de materia orgánica o minerales, por esta razón los productores deben aplicar constantemente fertilizantes sintéticos. El objetivo de estos productos es proporcionar los nutrientes esenciales para la planta, debido a que el suelo no proporciona la dosis adecuada o en la etapa de desarrollo donde la planta requiere una mayor demanda nutricional (CONADESUCA, 2015). En caña de azúcar los fertilizantes más aplicados son: urea, sulfuro de amonio y cloruro de potasio, comúnmente se utilizan mezclas de fertilizantes, ya sea las fórmulas que son provistas por los ingenios o aquellas adquiridas comercialmente, siendo el nitrógeno el elemento más aplicado seguido del fósforo y potasio; Con la fórmula del ingenio se aplican de la siguiente manera 18-4.5-3, (urea- sulfato de amonio-cloruro de potasio) en dosis de una t/ha, después se realiza una segunda

fertilización con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ a 500kg/ha (CONADESUCA, 2016), no obstante, la cantidad administrada puede variar de acuerdo a lo recomendado por los ingenios o cuando se administran las fórmulas comerciales, por lo que se llegan a administrar sin el rigor técnico requerido.

En los últimos años, las aplicaciones de fertilizantes nitrogenados han aumentado en algunas regiones de 4 a 5.4%, en consecuencia se generan impactos negativos, los daños más comunes que se suscitan en los suelos son: altas concentraciones de sales que producen acidez y/o infertilidad, sin embargo, una de las consecuencias más graves del uso de fertilizantes químicos es la contaminación de aguas subterráneas por nitratos y dióxido de nitrógeno, además de la incorporación de sustancias que tienen efectos en la salud humana y la vida silvestre (FAO, 2012). Por el contrario, otras regiones se ven afectadas por los altos costos de los fertilizantes lo cual limita su uso y reduce el rendimiento del cultivo.

Debido a las afectaciones producidas por el manejo de fertilizantes sintéticos, se generaron nuevas alternativas promoviendo el uso de microorganismos que tienen la capacidad de beneficiar los cultivos a través del aprovechamiento de nutrientes que son difíciles de absorber para las plantas; Estos microorganismos son denominados biofertilizantes que al ser inoculados pueden vivir asociados o en simbiosis y se encuentran de manera natural en los suelos abarcando muchos grupos (Grageda-Cabrera *et al.*, 2012). El uso de este tipo de microorganismos confiere grandes ventajas para mejorar la productividad en los cultivos de manera natural, a través de la estimulación del desarrollo vegetal, el mejoramiento de la estructura o composición de los suelos y algunos confieren protección contra fitopatógenos (Lazcano y Varela, 2009).

2.3. Enfermedades asociadas a los cultivos de caña de azúcar

Los factores bióticos que ocasionan graves daños en los cultivos son aquellas provocadas por organismos fitopatógenos. Los cultivos de caña de azúcar de a nivel mundial y en México se ven afectados por enfermedades que provocan pérdidas económicas de diferente magnitud, algunos pueden ser de menor importancia afectando a pocos individuos y otras llegan a producir devastaciones de cientos de hectáreas (Aguilar-Rivera *et al.*, 2012). Los organismos que causan enfermedades en plantas son: bacterias, virus, nematodos y fitoplasmas, sin embargo, los

principales agentes causantes de enfermedades en plantas cultivadas son los hongos (Flores, 1997; Salgado *et al.*, 2012).

2.3.1. Enfermedades causadas por hongos

Los hongos que son patógenos de plantas se encuentran comúnmente en los suelos, no obstante, las infecciones pueden desarrollarse en la parte foliar, frutos, tallos o raíces (Pfenning y Magalhaes, 2012). Los hongos fitopatógenos asociados a la caña de azúcar en México son *Nigrospora*, *Helminthosporium*, *Curvularia* y *Puccinia* que ocasionan problemas foliares; *Colletotrichum*, afecta los tallos y *Fusarium* produce daños en las raíces (Flores, 1997). Las especies del género *Fusarium* son reconocidas mundialmente por ser altamente patógenas en cultivos de caña de azúcar (Viswanathan *et al.*, 2017).

2.3.2. Hongos fitopatógenos del género *Fusarium*

Los hongos del género *Fusarium* son reconocidos debido a que producen enfermedades asociadas a la pudrición de tallos y raíces de plantas cultivadas o silvestres. Este género comprende más de 135 especies, la mayoría son saprófitas en algunas fases de su crecimiento y pueden o no desarrollar una fase sexual (Leslie y Summerell, 2006). Algunas de las principales características de este género es que pueden llegar a producir una gran cantidad de micotoxinas, las más tóxicas para las plantas son: zearalenona, fumonisina, moniliformina y tricotecenos; otra característica es que dependiendo la especie llegan a producir hasta tres tipos de esporas que son altamente resistentes a los factores físicos/químicos y que son dispersadas fácilmente a otros ambientes (Viswanathan *et al.*, 2017).

En el estado de Morelos la presencia de fitopatógenos en los cultivos afecta el desarrollo normal de la planta lo cual genera pérdidas económicas importantes, especialmente cuando el daño se localiza en las raíces. Un estudio realizado en el 2015 por Martínez-Fernández *et al.* aislaron a partir de tallos y raíces de plantas de caña de azúcar que presentaban clorosis foliar siete especies de *Fusarium*: *F. andiyazi*, *F. equiseti*, *F. nygamai*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. sacchari*, *F. solani* y *F. verticillioides*. En plantas de caña de azúcar algunas especies de *Fusarium* llegan a ocasionar dos enfermedades importantes, la primera es conocida como “marchitez” y la segunda “pokkah boeng” o “cogollo retorcido”, la aplicación de los aislamientos mencionados con

anterioridad en pruebas de patogenicidad comprobó que las especies *F. andiyazi*, *F. nygamai* y *F. sacchari* inducen los síntomas de marchitez en plantas de caña de azúcar. La especie *F. andiyazi* presentó una sintomatología que fue muy marcada en comparación a otras cepas evaluadas (Martínez-Jaimes, 2014).

2.3.2.1. *Fusarium andiyazi*

F. andiyazi tiene muchos reportes como patógeno de gramíneas en distintas regiones, por ejemplo, produce pudrición de la mazorca en plantas de maíz en Irán. En África y Estados Unidos afecta al sorgo y trigo (Hsuan *et al.*, 2011), además, causa daños a las semillas de arroz en África, Asia, Malasia e Italia (Dal Prá y Tonti, 2010), en los cultivos de caña de azúcar afecta las raíces produciendo la enfermedad de marchitez. Esta enfermedad tiene una mayor incidencia en plantas jóvenes y se caracteriza con síntomas tales como: manchas blancas en el ápice, clorosis en hojas (Figura 1), con los días se observa una reducción o disminución en el desarrollo y conforme avanza la enfermedad se acentúa la flacidez del follaje debido al necrosamiento de las raíces (Martínez-Jaimes, 2014); en algunas ocasiones se puede observar la formación del pokkah boeng que es la deformación en el ápice de las cañas principalmente en plantas juveniles (Figura 2). Los efectos que causan estos hongos en los cultivos son graves, por consiguiente, los productores recurren en utilizar distintas medidas preventivas o de control para el manejo de estos patógenos.



Figura 1. Plantas de caña de azúcar que presentan enfermedad de la marchitez, se observan los síntomas de flacidez y ligera clorosis en las hojas.



Figura 2. Plantas de caña de azúcar que presentan pokkah boeng o deformación en el ápice del tallo.

2.4. Control de enfermedades producidas por hongos fitopatógenos

Las enfermedades que se producen en los cultivos son muy complejas de tratar, debido a la influencia de diversos factores que pueden estar favoreciendo el establecimiento y desarrollo del patógeno. Las medidas de control de enfermedades que se utilizan de manera regular son las siguientes:

2.4.1. Control cultural.

El control cultural se refiere al mejoramiento de técnicas agrícolas que se establecen desde la preparación del suelo, selección de semillas resistentes, uso de diferentes sistemas de drenaje, mejoramiento de los equipos para cosecha, rotación de cultivos, etc. (Agrios, 2005).

2.4.2. Control químico.

Las enfermedades provocadas por hongos fitopatógenos generan pérdidas económicas elevadas, para remediar estas circunstancias los agricultores optan por el uso del control químico, que consiste en el uso de fungicidas que se colocan antes de la siembra o cuando los cultivos maduros presentan síntomas (Agrios, 2005), generalmente se utilizan agroquímicos que son sistémicos o de contacto tales como cloruro de cobre, benomilo, benzimidazol, carbendazim y tiofanato metílico (Vishwakarma *et al.* 2013), entre muchos otros que son utilizados para evitar la propagación de estos hongos, no obstante, la constante aplicación de químicos ha generado resistencia en algunas cepas de patógenos, lo que implica aplicar dosis más elevadas o químicos que sean más agresivos, que repercute en la salud de la planta, la salud humana, deterioran la composición edáfica, producen contaminación ambiental e incrementan los costos de producción (Moreira *et al.*, 2012; Trinidad-Cruz *et al.*, 2017).

Algunos de los ejemplos de daños asociados al efecto que producen los productos de control químicos se basa en la evidencia de residuos de plaguicidas hallados en humanos, esto se debe a la persistencia y a sus propiedades fisicoquímicas como la hidrofobicidad que les permite acumularse en tejidos y órganos, los efectos que pueden tener en salud de las personas son más frecuentes cuando se encuentran en constante contacto con estos productos ya sea con los trabajadores en las industrias dedicados a la fabricación o aquellas personas dedicadas a la aplicación del producto en

campanas sanitarias. Se ha detectado que el fungicida Captan 50 WP está vinculado con incidencias de leucemia, cáncer de próstata y mieloma múltiple (Parra-Acosta y Martínez-Tapia, 2019).

Un estudio realizado por Sierra-Díaz *et al.* (2019) en dos comunidades agrícolas de Jalisco (Agua Caliente y Ahuacapán), detectaron distintos plaguicidas a partir de muestras de orina de 281 niños y adolescentes (entre 1 y 15 años), de manera general la prevalencia en las muestras de herbicidas fue de 60.49%, fungicidas 39.05% e insecticidas 20.92%, algunos de los fungicidas como atrazina, carbendazim y tiabendazol fueron encontrados en la orina de un 33% de los menores estudiados en la comunidad Agua caliente y un 13.8% en la comunidad de Ahuacapán, ya que estos fungicidas son ampliamente empleados por las agroindustrias de la caña de azúcar y hortícolas en Ahuacapán, la presencia de estos productos en las comunidades de manera indirecta puede ser debido a causas como la lixiviación llegando a las aguas subterráneas que son utilizadas como pozos para uso de la comunidad, teniendo consecuencias en los niños expuestos con dificultades relacionadas con un desarrollo mental deteriorado.

2.4.3. Control biológico.

Los patógenos del suelo ocasionan pérdidas importantes debido a que generalmente son muy agresivos, el control biológico de patógenos empleando microorganismo se ha considerado como una alternativa natural y ambientalmente aceptable como un sustituto o para reducir a los métodos de tratamientos químicos que prevalecen (Saba *et al.*, 2012), esto se logra mediante el aprovechamiento de las interacciones biológicas simbióticas de los organismos como: el mutualismo, comensalismo, amensalismo y parasitismo que pueden ser adversas para los organismos patógenos (Pal y Gardener, 2006).

El primer concepto de control biológico en fitopatología fue propuesto por Baker y Cook (1974), que refieren como... “la reducción de la densidad de inóculo o de las actividades inductoras de un patógeno en estado activo o durmiente, lograda de manera natural o a través de la manipulación del ambiente, del hospedero, de antagonistas del patógeno o plaga, que se quiere controlar”, posteriormente este concepto tuvo modificaciones y diversos autores contribuyeron con su propio término, uno de los más aceptados es de Pal y Gardener (2006) que se refieren al control biológico como “el uso intencional de organismos vivos que pueden ser introducidos o son residentes de las

plantas hospederas resistentes a enfermedades que ayudan a reducir o suprimir las actividades y poblaciones de uno o más patógenos vegetales”.

Las características que debe tener un agente de control biológico exitoso son: 1) debe crecer más rápido o utilizar más eficientemente los nutrientes disponibles, tomando el control para que los patógenos pierdan oportunidades, 2) poder liberar productos que ralenticen el desarrollo o maten al patógeno (antibiosis), 3) tener la capacidad de inducir resistencia en las plantas mediante diferentes mecanismos, 4) poseer una forma de destruir al patógeno ya sea alimentarse directamente, sobre o dentro de él (Monte, 2001).

Los organismos que se utilizan comúnmente para controlar hongos fitopatógenos son bacterias y hongos. El género *Fusarium* son patógenos muy importantes que ocasionan graves enfermedades en caña de azúcar y otros cultivos por lo que se han realizado muchas investigaciones acerca del manejo de este hongo para reducir la incidencia de enfermedades empleando agentes de control biológico (Vázquez-Ramírez y Castaño-Zapata, 2017), que tienen un alto potencial antagónico o mecanismos eficientes para su manejo (Ren *et al.*, 2015). Dentro de estos microorganismos se encuentran los hongos del género *Trichoderma*, que se utilizan comúnmente como agente controlador o regulador, el éxito que posee se debe a que emplea distintos mecanismos de acción efectivos que son: antibiosis, competencia y micoparasitismo que han sido ampliamente estudiados (Infante *et al.*, 2009), sin embargo, la mayoría de las cepas de *Trichoderma* son mesófilas, las bajas temperaturas o condiciones secas pueden influir en su actividad y de igual manera el pH del suelo, el potencial de agua, los iones metálicos y las bacterias antagónicas influyen sobre las actividades de micoparasitismo del hongo (Kredics *et al.*, 2003).

A causa de esto es necesario encontrar microorganismos que se encuentren en la rizosfera que posean la capacidad de proteger a la planta contra los fitopatógenos y puedan establecerse definitivamente. Entre estos microorganismos se encuentran los hongos micorrízicos que forman una asociación simbiótica mutualista denominada “micorriza”. Las relaciones preexistentes entre hongos y plantas nos brindan una mejor comprensión de cómo los hongos al asociarse con las plantas desde hace millones de años les confirieron ventajas evolutivas (Alarcón, 2007), que son necesarias para que las plantas prevalezcan. Debido a lo anterior, es importante fomentar su establecimiento en plantas de interés agrícola.

2.5. Los Hongos Micorrízicos

Las micorrizas son aquellas estructuras especializadas que desempeñan funciones diversas al formarse una asociación interespecífica entre el micelio de algunos grupos de hongos con el sistema radical de las plantas; con respecto a esta simbiosis mutualista, la energía se mueve principalmente desde la planta al hongo y los recursos inorgánicos se mueven desde el hongo a la planta (Bagyaraj y Stürmer, 2012). Los registros de las asociaciones que sucedieron entre las plantas y las hifas de los hongos datan en el periodo Ordovícico, desde un punto de vista evolutivo esta asociación fue crucial para la invasión, colonización y establecimiento en el medio terrestre (Camargo-Ricalde, 2008).

Los hongos micorrízicos se encuentran en una gran variedad de ecosistemas, cerca del 80% puede asociarse con las plantas vasculares, por lo que existen diferentes tipos de micorrizas, divididas en tres grupos importantes: ectomicorrizas, ectendomicorrizas (incluye a las micorrizas arbutoide y monotropoide) y las endomicorrizas en esta categoría se encuentran las micorrizas: arbuscular, ericoide y orquideoide (Tahat *et al.*, 2010). En los sistemas agrícolas las micorrizas arbusculares son muy comunes y se forman generalmente en zonas tropicales, áridas y semi-áridas (Álvarez-Sánchez y Peña, 2009),

2.5.1. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son simbiontes obligados, que se encuentran en una amplia gama de plantas vasculares y no vasculares. Estos hongos poseen un micelio cenocítico que al penetrar se extiende fuera y dentro de la raíz, forman estructuras especializadas que son conocidas como arbuscúlos y en algunos casos vesículas (Barrer, 2009). Los HMA no suelen tener una alta especificidad con respecto a un hospedero, no obstante, estos hongos tienen una gran diversidad fisiológica y han desarrollado adaptaciones específicas mayormente asociadas a las condiciones ambientales y edáficas en las que se establecen (Varela y Trejo, 2001).

2.5.3. Taxonomía de los HMA

Los HMA pertenecen al phylum denominado Glomeromycota que tiene poco más de 200 especies, comprende a la clase Glomeromycetes y cuatro órdenes: Archaesporales, Diversisporales, Glomales y Paraglomales (Souza, 2015) (Tabla 1).

Las esporas de estos hongos son asexuales y se encuentran comúnmente en los suelos, los parámetros que se emplean para su identificación son: tamaño, diámetro, color, forma, número de paredes, presencia o ausencia de hifa de conexión, etc., los resultados se corroboran utilizando diferentes claves de identificación (Souza, 2015).

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Phylum Glomeromycota de acuerdo con Redecker *et al.* (2013) tomada de Souza (2015).

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género
Glomeromycota	Glomeromycetes	Archaeosporales	Archeosporaceae	<i>Archeospora</i>
			Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>
			Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
		Diversisporales	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>
				<i>Corymbiglomus</i>
				<i>Diversispora</i>
			Diversisporaceae	<i>Otospora</i>
				<i>Redeckera</i>
				<i>Cetraspora</i>
				<i>Dentiscutata</i>
				<i>Gigaspora</i>
				<i>Intraornatospora</i>
				<i>Paradentiscutata</i>
Gigasporaceae	<i>Racocetra</i>			
	<i>Scutellospora</i>			
	<i>Pacispora</i>			
Sacculosporaceae	<i>Sacculospora</i>			
Glomerales	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>		
		<i>Funneliformis</i>		
	Glomeraceae	<i>Glomus</i>		
		<i>Rhizophagus</i>		
		<i>Sclerocystis</i>		
		<i>Septoglomus</i>		
Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>		

2.5.2. Características morfológicas de los HMA

La formación de micorrizas implica un proceso de cambios fisiológicos en el hospedero, esto implica la formación de estructuras de procedencia fúngica como: 1) **los arbúsculos** que consisten en ramificaciones dicotómicas de la hifa que se hallan en el interior de la raíz, en este sitio se realizan las actividades metabólicas que están relacionadas en el transporte de nutrientes, 2) **las vesículas** son estructuras formadas en los extremos de la hifa de forma globosas u elipsoide, que sirven para almacenar lípidos, 3) **las hifas** que penetran la raíz se dividen por el parénquima ya sea en forma tipo “Aurum o Paris”. Desde que se estableció el protocolo para extraer esporas

Gerdermann y Nicholson (1963) se han realizado diversos estudios sobre las funciones asociados a las plantas y esto tuvo un efecto significativo para poder emplear a estos hongos para el beneficio de los sistemas agrícolas. La composición básica de las estructuras morfológicas de los HMA es: arbusculos, células auxiliares, esporas, hifas y vesículas que se encuentran fuera o dentro de las raíces (Souza, 2015), la formación de estas estructuras es esencial para poder clasificarlos taxonómicamente.

2.6. Interacciones entre plantas hospederas y HMA

Las interacciones entre las plantas y los HMA se establecen a partir de una serie de procesos que involucran etapas extraradicales e intraradicales. La colonización empieza con la germinación de esporas en el suelo, en esta etapa no involucra la interacción con la planta, se encuentran involucradas mayormente las condiciones edáficas. La segunda etapa se basa en señalización-reconocimiento que se da por el desarrollo del tubo germinativo y secreción de enzimas del hongo, para que las plantas que tienen relaciones simbióticas liberen señales como las estrigolactonas para dirigir el crecimiento del hongo hacia las raíces en las zonas periféricas (García-Sánchez *et al.*, 2008). Posteriormente se forma el apresorio para penetrar las raíces de la planta donde se establece y coloniza los tejidos intracelular e intercelularmente, cuando finaliza el proceso de colonización ocurre con la formación de diferentes estructuras como lo son arbusculos y vesículas que se forman en algunas especies (Aguilera-Gómez *et al.*, 2008).

2.6.1. Beneficios de la formación de micorrizas

Las interacciones biológicas establecidas entre los HMA y las plantas les han conferido ventajas marcadas con respecto a las plantas que no forman asociaciones micorrícicas. De acuerdo con algunos autores (Camargo-Ricalde *et al.*, 2008; González-Chávez *et al.*, 2008; Tahat *et al.*, 2010) a continuación se mencionan algunas de los beneficios más sobresalientes:

- a) solubilizan elementos minerales que se encuentran en los suelos y que a la planta le es difícil absorber de manera normal
- b) aumentan la tolerancia al estrés hídrico, metales pesados, a la acidez y salinidad del suelo
- c) mejoran la calidad de los suelos debido a la capacidad de biorremediación
- d) reduce la tensión fisiológica causada por microorganismos patógenos de la raíz

- e) incrementan la absorción de agua
- f) estimula la captación y transporte de nutrientes especialmente aquellos que son poco móviles como fósforo, cobre y zinc que ayudan en el desarrollo de la planta
- g) estimulan los sistemas defensivos de las plantas

Con respecto a los beneficios que provee la planta al hongo es que esta le proporciona un espacio en que pueda desarrollarse y una fuente de carbono como los azúcares provenientes de fotosintatos que son intercambiados a través de los arbusculos.

2.7. Efecto de los HMA para promover el crecimiento en las plantas

En los sistemas agrícolas, los HMA desempeñan un papel muy importante para favorecer el ciclaje y reciclaje de nutrientes. La extensión de las hifas extraradicales van más allá de donde se producen las zonas de agotamiento que llevan a cabo la asimilación de macronutrientes/micronutrientes, como el fósforo, que es un elemento limitante en la mayoría de los suelos, también promueven la fijación de nitrógeno, calcio, cobre, magnesio y zinc que son transportados directamente hacia las raíces, lo que permite la reducción y uso de fertilizantes sintéticos (Bagyaraj y Stürmer, 2012; Wilches-Ortiz *et al.*, 2019). Se han realizado diversos estudios con respecto a la aplicación de estos biofertilizantes y los resultados que se han observado es que tienen efectos positivos con los parámetros asociados al rendimiento de la planta.

La aplicación de micorrizas en plantas de agave tuvo un efecto en el incremento de la biomasa seca en un intervalo de 148 a 239% con respecto a las plantas testigo que no estaban inoculadas con ninguna micorriza (Trinidad-Cruz *et al.*, 2017). Con la aplicación *Glomus intradicens* en plantas de pimiento, tuvo un aumento en la biomasa de raíces y brotes en suelos salinos (0,50,100 y 200mM NaCl) y en dos niveles de P de 10 y 40 mg kg⁻¹ (Rojas-Martínez *et al.*, 2014).

En caña de azúcar, un complejo de especies de *Glomus* denominado “Micorriza” demostró tener efectos significativos en reducir las pérdidas de plantas micropropagadas para ser transferidas al suelo de 12.9 a 8.9% además, de que hubo un efecto en el aumento de la altura, el sistema radical y mejorar la cantidad de materia seca de la planta (Soria *et al.*, 2001). Wilches-Ortiz *et al.* (2019) evaluó la eficacia de micorrizas arbusculares nativas y micorrizas comerciales contra la fertilización química convencional al 10%, 50% y 100% (testigos) en tres variedades de caña, los

resultados con la evaluación de las micorrizas arbusculares nativas, demostraron superar a las fertilizaciones químicas en el diámetro del cuello de la raíz y altura de la planta. En la evaluación de las micorrizas comerciales y nativas, solo en una de las variedades demostraron tener mejores resultados las micorrizas nativas, por otro lado, en las tres variedades de caña todos los tratamientos con micorrizas mostraron mejores resultados en la altura de la planta en comparación a los testigos. Juntahum *et al.* (2020) al realizar un experimento en campo con a) inóculo nativo b) *Funneliformis mosseae* c) *F. mosseae* + Fertilizante con P al 50% d) *F. mosseae* + Fertilizante con P al 100%, observaron que los mejores resultados se obtuvieron con el tratamiento de *F. mosseae* + fertilizante al 50% se consiguió un aumento en la productividad y la biomasa (tallo y hojas).

2.8. Efecto de los HMA hacia el control de hongos fitopatógenos.

El uso potencial de organismos biológicos para controlar enfermedades ya se ha descrito anteriormente. Se ha probado su eficacia contra patógenos del suelo como hongos, bacterias, oomycetes o nematodos, por lo que han sido empleados en sistemas forestales y agrícolas, esto se debe a diferentes acciones que puede tomar el hongo las cuales son: 1) competencia o inhibición directa o indirecta, 2) incrementan la resistencia de las plantas por la estimulación de sistemas de respuesta (Tahat *et al.*, 2010).

Los HMA tienen la capacidad de modificar las condiciones del suelo mediante interacciones con microorganismos que se encuentran en la rizosfera, o con aquellos que se establecen fuera de los límites de las raíces denominada micorrizosfera, en ambos sitios se realizan procesos de inhibición, selección o estimulación de grupos microbianos específicos (Varela y Trejo, 2001).

Al igual que otros organismos antagonistas los HMA tienen la capacidad de proteger las raíces empleando la resistencia inducida (RI); con este tipo de resistencia se establece la protección tanto a nivel local como sistémico, relacionado en la vía de traducción de señales activadas en las reacciones planta-patógeno y mecanismos reguladores de “priming” que permite la activación de una respuesta más eficiente en la defensa ante el ataque de enemigos potenciales (Ramírez-Gómez y Rodríguez *et al.*, 2012).

La interacción que se lleva a cabo entre HMA, plantas y patógenos depende de muchos factores, sin embargo, en diferentes estudios que se han realizado, los resultados demuestran que la

inoculación de HMA en plantas afecta negativamente el desarrollo y la incidencia de patógenos o influyen en la reducción de la severidad de las enfermedades (Ren *et al.*, 2015).

Un estudio realizado por Ren *et al.* (2015) en plantas de melón (*Citrullus lanatus*) que comúnmente son susceptibles a infecciones de *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* que provocan marchitez, al inocular HMA del género *Glomus mosseae* en plantas juveniles infectadas observaron que el daño se reduce un 89.3%, probablemente este cambio se debe a la modulación en la secreción de exudados radicales.

En el 2017 Trinidad-Cruz *et al.* inocularon consorcios de micorrizas arbusculares nativas en plantas de agave que fueron infectadas con *F. oxysporum*, además de comparar el efecto que tienen las plantas ante micorrizas comerciales del INIFAP se demostró que los consorcios de HMA nativos tuvieron resultados favorables en reducir la infección de marchitez 41% en plantas de agave, de modo similar la micorriza comercial obtuvo 39.5% en la reducción de infecciones.

En plantas de tomate *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ocasiona pérdidas de 21 a 47% debido a la marchitez vascular, al realizar aplicaciones con la micorriza del género *Glomus*, se obtuvo una disminución del 35% en la incidencia de la enfermedad (Vásquez-Ramírez y Castaño-Zapata, 2017), en plantas de frijol al utilizar *G. macrocarpum* se reduce la infección en raíces y se obtienen mejores resultados en la longitud de la raíz, además de obtener mejor peso seco y peso fresco de raíces

Como se ha descrito anteriormente, existen trabajos que hablan del control biológico de HMA con algunas especies de *Fusarium* especialmente *F. oxysporum*, sin embargo, en cultivos de caña de azúcar en Morelos la especie de mayor importancia por su patogenicidad es *F. andiyazi*, hasta el momento no existen reportes que utilicen los HMA contra este fitopatógeno, además de evaluar si existen implicaciones en el crecimiento vegetal para ser utilizados como biofertilizantes.

3. JUSTIFICACIÓN

La marchitez provocada por *Fusarium andiyazi* genera pérdidas significativas en el rendimiento de los cultivos, debido a la necrosis de raíces; comúnmente para el control de esta enfermedad se utilizan fungicidas químicos, sin embargo, se ha observado que su uso desmedido ha provocado daños en el ambiente y en la salud humana. La aplicación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) es una excelente alternativa para mejorar el estado de la planta, mediante el aprovechamiento de los nutrientes disponibles en los suelos por medio de las interacciones micotróficas, además, estos hongos pueden influir en la reducción o incidencia de enfermedades. Hasta el momento no se tienen reportes acerca del manejo de *F. andiyazi* empleando HMA. El aprovechamiento de estos hongos tendría la finalidad de reducir la aplicación de fertilizantes sintéticos y fungicidas, lo que generaría un gran impacto en reducir los costos de producción, por lo que este trabajo puede establecer las bases para un manejo integrado de la marchitez con la selección de HMA nativos que permitan disminuir el grado de infección en las raíces y de igual manera mejorar el estado nutricional de las plantas, lo que conseguiría mejorar el rendimiento de los cultivos de caña de azúcar en Morelos.

4. HIPÓTESIS

La aplicación de HMA, nativos del estado de Morelos, en raíces de plantas de caña de azúcar favorecerán su desarrollo y brindan protección contra el patógeno *Fusarium andiyazi*

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Aislar y evaluar el efecto de HMA nativos del estado de Morelos en el desarrollo vegetal en caña de azúcar y su potencial para reducir las infecciones ocasionadas por *F. andiyazi*.

5.2. Objetivos particulares

1. Identificar los HMA presentes en suelos y la rizosfera de plantas de caña de azúcar.
2. Evaluar el efecto de la aplicación de los HMA en el desarrollo de plantas de caña.
3. Analizar la capacidad de las HMA para reducir la infección de *F. andiyazi* en plantas de caña

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Control Biológico del Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB) y en el laboratorio de Entomología y Fitopatología del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la UAEM.

6.1. Colecta de muestras de suelo

La colecta de suelo se realizó en cultivos de caña de azúcar en el municipio de Jojutla, Morelos. Se ubicaron cinco sitios en donde se tomaron muestras de suelo de la rizosfera de plantas de caña de azúcar sanas, registrando su estado de desarrollo y la variedad. Las muestras de suelo se colectaron a 10 cm de la base del tallo de las plantas de caña de azúcar y a una profundidad de entre 10 y 30 cm. Por cada sitio de colecta, se obtuvieron dos muestras de suelo de 1 kg cada una, que fueron colocadas en bolsas herméticas (Figura 3). Cada muestra de suelo se rotuló con sus respectivos datos de colecta y se colocaron en hieleras para trasladarlas al laboratorio de Entomología y Fitopatología del CIB, en donde fueron almacenadas en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento.



Figura 3. Muestras de suelo tomadas de cultivos de caña de azúcar provenientes del municipio de Jojutla

6.2. Aislamiento de esporas de HMA

De las muestras de suelos colectadas, se recuperaron las esporas de HMA utilizando la técnica de Gerdemann y Nicholson (1983), que consiste en obtener esporas mediante tamizados húmedos y decantación. De cada muestra de suelo se pesaron 100 g y se suspendieron en 1000 ml de agua, la suspensión se agitó en una mezcladora durante 5 minutos a velocidad media y se dejó reposar durante 3 minutos con la finalidad de eliminar partículas grandes por sedimentación. La suspensión se pasó a través de diferentes tamices que tuvieran el tamaño suficiente para descartar las partículas más grandes y filtrar las más finas, todo el procedimiento se realizó simultáneamente con abundante agua corriente. El material que quedó en los tamices fue colectado de las mallas y se transfirió a frascos de vidrio donde se adicionó nuevamente agua y se repitió el proceso de tamizado una vez más con la finalidad de aislar las esporas y obtener muestras limpias (Figura 4).

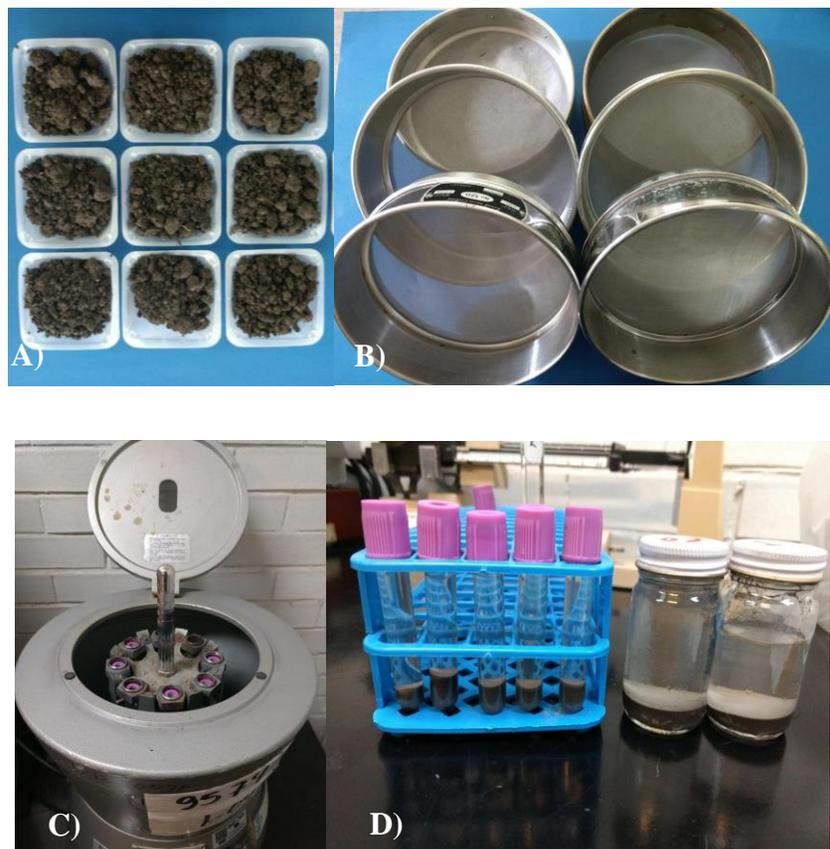


Figura 4. Técnica de extracción de esporas en suelo. A) Muestras de suelo de caña de azúcar. B) Tamizado C) Proceso de centrifugación de muestras. D) Obtención de esporas

En los tamices con un tamaño de malla de 125 y 35 μm , se recuperó la fracción más fina que se depositó en tubos de centrifuga adicionando 5ml de sacarosa al 60%. El material se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente con ayuda de una micropipeta se recuperó el sobrenadante con las esporas y se realizó un lavado para retirar el exceso de sacarosa. El material resultante se colocó en frascos de vidrio adicionando 10 ml de solución Ringer (NaCl 100 mg, KCl 100 mg, CaCl_2 100 mg y MgCl_2 100 mg) y se colocaron en refrigeración a 4°C.

De las fracciones obtenidas de cada muestra se procedió a contar esporas. El contenido de cada frasco se depositó en cajas Petri y bajo un microscopio estereoscópico se realizó el conteo con ayuda de un contador manual y se empleó la formula siguiente:

$$\text{Número de esporas en 100g de suelo seco} = \frac{\text{Número de esporas presentes}}{100 \text{ g de suelo}}$$

Se realizó un análisis de varianza para el número de esporas presentes en muestras de suelo de caña de azúcar. Para detectar diferencias significativas entre los sitios de muestreo se hizo una prueba de comparación múltiple de medias con nivel de significancia al 95%, utilizando el programa Statistica 7.0.

6.3. Identificación de esporas de HMA

Las fracciones de las muestras de suelo analizadas se vertieron en vidrios de reloj y se observaron bajo microscopio estereoscópico marca Leica DM50, con agujas entomológicas se agruparon las esporas de acuerdo con algunas características morfológicas tales como forma, tamaño y los colores que se indican en la guía International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) (Apéndice 1).

6.3.1. Preparaciones temporales

De cada fracción analizada se separaron las esporas por grupos de acuerdo con sus similitudes morfológicas. Posteriormente se seleccionaron 10 esporas de cada grupo y con agujas de disección se colocaron sobre un cubreobjetos. Estas esporas se cubrieron con solución PVLG (Alcohol-Polivinil-Lacto-Glicerol) (Apéndice 2), y se les colocó encima cinta transparente. Todas las preparaciones se sellaron con esmalte.

6.3.2. Claves taxonómicas para la identificación de HMA

De cada grupo de esporas por separado, se observaron sus características morfológicas específicas tales como: grosor de las paredes, capas, presencia de hifa de conexión, sáculo y cicatriz. Se tomaron microfotografías con el microscopio óptico Nikon Eclipse Ni H55OL en 40x. A partir de características de las esporas se procedió a realizar su identificación con ayuda de claves taxonómicas específicas para HMA; para este caso las obras taxonómicas más consultadas son Pérez y Schenk (1990), Schüßler y Walker (2010), Souza (2015) y además se consultó la base de datos The International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi - INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu>).

6.4. Cálculo de índice de diversidad de esporas de HMA

La diversidad de HMA se estimó en las muestras de 100g de suelo utilizando las fórmulas siguientes (Herrera-Monroy *et al.*, 2019):

Abundancia relativa (AR)

$$AR = \frac{\text{Número de esporas de la especie } x}{\text{Número total de esporas}} \times 100$$

Valor de importancia (VI)

$$VI = \text{Frecuencia de aislamiento} + \text{Abundancia relativa}$$

$$\text{Índice de Shannon-Weiner } (H) = - \sum_{i=1}^S p_i \ln(p_i)$$

p_i - abundancia proporción de individuos de la i ésima especie; representa la probabilidad de que un individuo i respecto al total de individuos de la especie i esté presente en la muestra siendo la sumatoria de p_i igual a 1

n_i -número de individuos de la especie i

N - número de todos los individuos de todas las especies las S especies

6.5. Producción de HMA nativas de caña de azúcar en cultivos trampa

Los HMA no se desarrollan en cultivos sintéticos, por lo que necesitan un hospedante para cumplir su ciclo de vida. Por lo tanto, se empleó la técnica de cultivos trampa que consiste básicamente en utilizar una especie vegetal de rápido crecimiento y que sus raíces sean susceptibles de ser colonizadas. En su mayoría, las plantas utilizadas son gramíneas (Robles *et al.*, 2008), en este trabajo se utilizaron plantas de sorgo (*Sorghum vulgareae*) debido a que crece bien bajo una amplia gama de condiciones en el suelo, tienen una mejor tolerancia a la sequía y el exceso de humedad en el suelo que la mayoría de los cereales.

6.5.1. Proceso de desinfección

6.5.1.1. Esporas de HMA.

Las esporas identificadas previamente seleccionadas para ser reproducidas en los cultivos trampa se desinfectaron con 0.5 ml de gentamicina durante 10 minutos

6.5.1.2. Semillas de sorgo.

Las semillas de sorgo se sometieron a un proceso de esterilización superficial colocándolas en una bandeja con una solución de hipoclorito de sodio comercial al 6% durante 10 minutos, posteriormente se enjuagaron con abundante agua estéril.

6.5.1.3. Preparación del sustrato.

El sustrato que se utilizó para propagar los HMA, se elaboró en base a dos componentes peat moss y vermiculita en una proporción de 2:1. Estos componentes se colocaron sobre bandejas, donde se mezclaron hasta obtener una consistencia uniforme. Posteriormente dos kilos de sustrato fueron depositados en bolsas de polipapel para ser esterilizadas en autoclave a 120°C durante una hora a 15 libras de presión, este proceso se repitió durante dos veces (Montaño *et al.*, 2008).

6.5.2. Inoculación de HMA en plantas trampa

Se colocaron tres cuartas partes de sustrato estéril en bolsas de invernadero con capacidad de 0.4 kilogramos. Posteriormente se adicionaron 50 esporas de HMA que previamente fueron seleccionadas por morfoespecies y se cubrieron con una capa delgada de sustrato, finalmente se colocaron 10 semillas de sorgo que se cubrieron con una capa de sustrato (Figura 5).

6.5.2.1. Propagación de HMA

Las plantas de sorgo inoculadas con HMA se mantuvieron a la intemperie en un terreno ubicado en el municipio de Temixco durante un periodo de 45 días. Pasado el periodo de propagación de HMA en las plantas de sorgo, las esporas se recuperaron de la siguiente manera; se removieron de las bolsas plásticas las plantas de sorgo incluyendo el sustrato, se separó la parte aérea de la planta y las raíces con el sustrato se colocaron dentro de una bandeja de plástico, donde fueron mezcladas manualmente durante dos minutos. De cada maceta se separó 50 g y se colocaron en bolsas de polipapel, rotulándose con los datos de su contenido. La mezcla de sustrato, raíces y esporas de cada morfoespecie obtenidas en las plantas trampa, se utilizaron para los bioensayos con caña de azúcar.

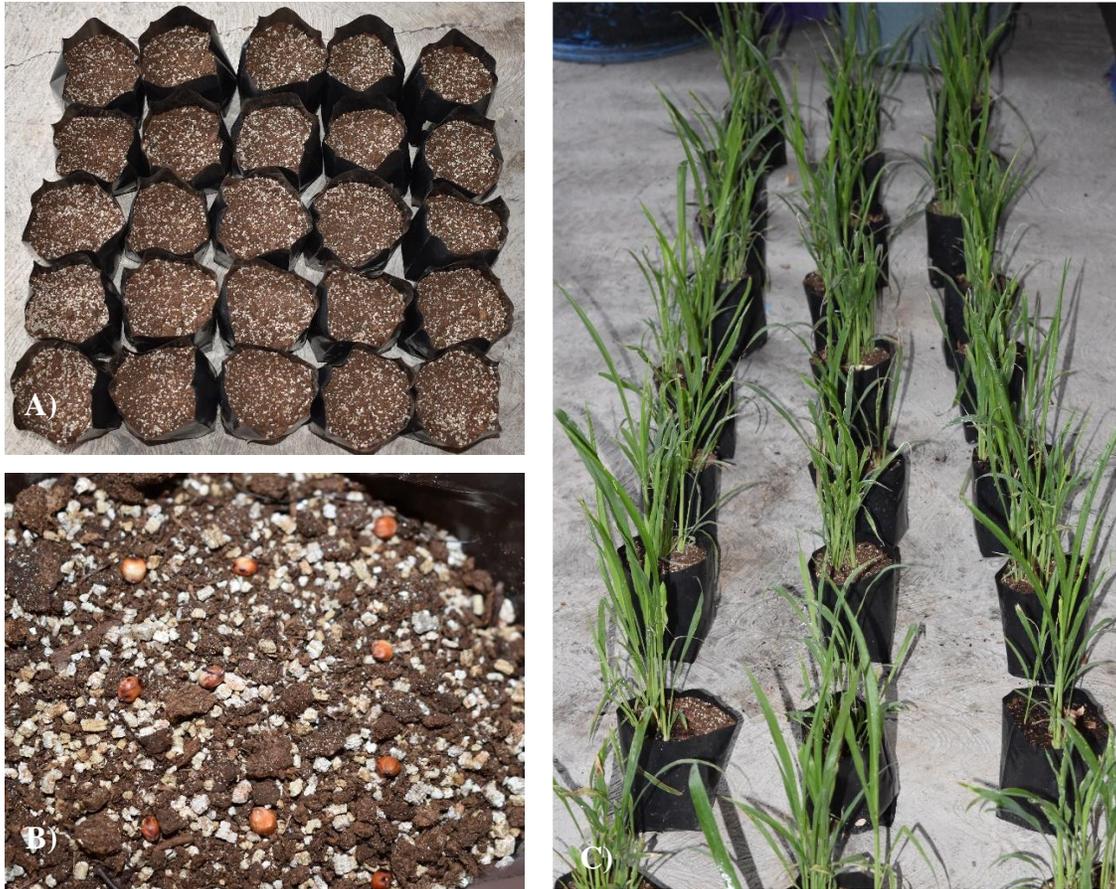


Figura 5. Cultivos trampa. A) Mezcla de sustrato peat moss: vermiculita, 2:1. B) Siembra de semillas de sorgo. C) Germinación y crecimiento de plantas de sorgo

6.6. Evaluación de los efectos de HMA en plantas de caña de azúcar

Se evaluó la aplicación de las morfoespecies de HMA obtenidas en plantas de caña de azúcar. La aplicación de las morfoespecies de HMA se hizo de manera individual o en consorcios para evaluar su efecto en el desarrollo de plantas de caña de azúcar y por otro lado, su capacidad de limitar la infección del patógeno *F. andiyazi* en estas plantas.

Para la evaluación del efecto de los HMA se utilizaron los siguientes componentes:

Material vegetal: fueron seleccionadas plantas sanas de caña de azúcar de la variedad CP 72-2086 de tres meses de edad, obtenidas a partir de cultivo de tejidos provenientes del laboratorio del ingenio de Motzorongo Córdoba, Veracruz.

Inóculo micorrícico: se utilizaron las esporas de HMA que fueron reproducidas en las plantas trampa de sorgo.

A continuación, se muestra la disposición de tratamientos que contienen una morfoespecie o están en consorcios de HMA que fueron utilizados en los bioensayos con caña de azúcar.

Tabla 2. Tratamientos evaluados en caña de azúcar

Tratamientos	Morfoespecies de HMA
Tratamiento 1 (T1)	<i>Acaulospora lacunosa/Acaulospora tuberculata</i>
Tratamiento 2 (T2)	<i>Claroideoglopus lamellosum</i>
Tratamiento 3 (T3)	<i>Acaulospora lacunosa</i>
Tratamiento 4 (T4)	<i>Septoglopus deserticola</i>
Tratamiento 5 (T5)	<i>Glomus ambisporum</i>
Tratamiento 6 (T6)	<i>Rhizophagus irregularis</i>
Tratamiento 7(T7)	<i>Acaulospora tuberculata</i>
Tratamiento 8 (T8)	<i>Glomus aggregatum</i>
Tratamiento 9 (T9)	<i>Acaulospora 1/Glomus aggregatum/ Sclerocystis 2</i>
Tratamiento 10 (T10)	<i>Claroideoglopus luteum</i>
Tratamiento 11 (T11)	<i>Glomus mosseae/ Funneliformis geosporum</i>
Tratamiento 12 (T12)	<i>Sclerocystis 1</i>
Tratamiento 13 (T13)	<i>Glomus mosseae</i>
Tratamiento 14 (T14)	<i>Paraglopus occultum</i>
Tratamiento 15 (T15)	<i>Funneliformis geosporum</i>
Tratamiento 16 (T16)	Testigo (sin HMA)

6.6.1. Evaluación del efecto de los HMA en el desarrollo de las plantas de caña de azúcar.

Para la evaluación del efecto que presentan los HMA en el desarrollo de plantas de caña de azúcar, se estableció un diseño completamente al azar en donde se evaluaron 16 tratamientos aplicando las morfoespecies de HMA de manera separada, en consorcios y un testigo absoluto (Tabla 2). Cada

planta representa una unidad experimental. Se utilizaron tres repeticiones para cada tratamiento (Figura 6).

Para realizar este bioensayo las macetas de vivero se llenaron hasta la mitad con sustrato preparado, se añadieron 50 g de inóculo con las esporas de HMA, posteriormente se colocaron las plantas de caña de azúcar y se cubrieron con una capa de sustrato. Las plantas testigo no se inocularon con HMA.



Figura 6. Plantas de caña de azúcar inoculadas con HMA

A los 60 días en las plantas se evaluaron las siguientes variables:

- + altura (cm)
- + número de tallos
- + diámetro de tallos (cm)
- + longitud de la raíz (cm)
- + peso fresco de las raíces (g)
- + peso seco de raíces (g)

Para la evaluación de pesos seco de las raíces el material vegetal se colocó en estufa a 60°C.

6.6.1.1. Método de clareo y tinción de raíces

La presencia de HMA en raíces se determinó mediante la tinción de raíces utilizando el método propuesto por Phillips y Hayman (1972) con modificaciones propuestas por García-Sánchez *et al* (2008) que consiste en lo siguiente:

Aclaramiento de tejidos. Se tomaron segmentos de raíces de caña de azúcar previamente lavadas, y se colocaron en viales con suficiente solución de KOH al 10% para ser cubiertas, los viales se acomodaron en baño María en una estufa marca Lindberg a 90°C durante 20 minutos, posteriormente las raíces que se aclararon fueron lavadas con agua estéril.

Blanqueo. Como paso adicional al aclaramiento las raíces fueron blanqueadas de la siguiente manera: Se agregó H₂O₂ 10% en un vaso de precipitado con cantidad suficiente para cubrir las raíces y se dejó reposando durante 3 minutos, pasado el tiempo se realizaron enjuagues con agua estéril.

Acidificación. Las raíces se acidificaron con solución HCl al 1% durante 3 minutos, después se retiró el ácido sin enjuagar las raíces, cuando las raíces fueron totalmente blanqueadas estuvieron listas para el proceso de tinción.

Tinción. Las raíces se cubrieron con azul de tripano 0.05% con lactoglicerol y se calentaron en baño María a 90°C durante 10 minutos, posteriormente se retiró el exceso de colorante.

Decoloración. Las raíces teñidas se lavaron en agua estéril y se decoloraron en lactoglicerol, por último, se dejaron en conservación para su posterior análisis.

6.6.1.2. Determinación de colonización micorrícica en las raíces de caña de azúcar

Para la determinar la colonización micorrícica se utilizaron las raíces almacenadas en lactoglicerol. Se colocaron las raíces en papel filtro estéril, con ayuda de agujas y navajas de disección, las raíces se cortaron en fragmentos de un centímetro, posteriormente en un portaobjetos se colocaron 10 fragmentos en posición vertical, sobre los segmentos de raíz se adicionó una gota de lactoglicerol y se colocó un cubreobjetos, se debe manejar con cuidando el cubreobjetos, evitando la formación de burbujas (Reyes-Quintar *et al.*, 2008). Las muestras se colocaron en portaobjetos y fueron selladas con una capa de esmalte transparente.

Para determinar el porcentaje colonización micorrícica, las muestras se visualizaron en microscopio de campo claro marca Leica DM500 en objetivos de 40X, además se tomaron microfotografías de las estructuras típicas de la micorriza en diferentes ángulos con la cámara digital acoplada al microscopio óptico (Nikon Eclipse Ni H55OL). El porcentaje de colonización micorrícica se determinó a partir de la presencia de vesículas o arbuscúlos mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de colonización total} = \frac{\text{Frecuencia de estructuras fúngicas cuantificada en cada segmento}}{\text{Número de segmentos radicales totales observados}} \times 100$$

Se realizó un análisis de varianza para la colonización de raíces de caña de azúcar. Para detectar diferencias significativas entre los tratamientos se hizo una prueba de comparación múltiple de medias con nivel de significancia al 95%, utilizando el programa Statistica 7.0.

6.6.2. Evaluación del efecto de los HMA en plantas de caña de azúcar inoculadas con *F. andiyazi*

Para evaluar el efecto que tienen las HMA reduciendo la infección ocasionada por *F. andiyazi*, se seleccionó un diseño completamente al azar en donde se evaluaron 16 tratamientos, aplicando las morfoespecies de manera separada o en consorcios junto con el patógeno y un testigo que incluyó únicamente al patógeno. Se realizaron cuatro repeticiones por cada tratamiento. Como unidad experimental se emplearon plantas de caña de azúcar.

El inóculo de *F. andiyazi* se obtuvo de la manera siguiente: se utilizó una cepa de *F. andiyazi* de la colección de hongos fitopatógenos del Laboratorio de Entomología y Fitopatología en el CIB. Esta cepa se aisló de plantas de caña de azúcar con claros síntomas de marchitez y previamente se comprobó su patogenicidad contra caña de azúcar (Martínez-Jaimes, 2014). A partir de la cepa de *F. andiyazi* conservada en aceite mineral se transfirió una muestra para reactivarla en cajas de Petri (90 mm de diámetro) con medio de cultivo PDA marca Difco y SNA (Apéndice 3) estéril (121°C, 15 libras de presión, 15 minutos). Las cajas Petri con *F. andiyazi* se incubaron durante dos semanas con fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad. Una vez terminado el periodo de incubación se adicionó 20 mL de agua estéril en cada caja Petri. Con ayuda de una aguja de disección previamente esterilizada con calor, se desprendieron suavemente los conidios de *Fusarium* de la colonia y se recuperó el agua con los conidios utilizando una micropipeta y puntas estériles. Con un hematocitómetro la suspensión de esporas se ajustó a una concentración de 1×10^6 conidios/mL (Figura 7).



Figura 7. *Fusarium andiyazi*. A) Colonia de *F. andiyazi* crecida en media PDA B) Suspensión de conidios de *F. andiyazi*

Para proceder con el bioensayo las bolsas de vivero se llenaron a la mitad con el sustrato seleccionado, se añadieron 50g de inóculo que contienen las esporas de HMA y se trasplantaron las plantas de caña de azúcar (una plántula por maceta) por último se colocó una capa de sustrato. A los 30 días se inoculó al sustrato 50 ml de la suspensión de conidios de *F. andiyazi* (Figura 8). En el testigo absoluto se trasplantó la caña de azúcar y se adicionó al sustrato 50 ml de la suspensión de conidios de *F. andiyazi* sin ningún HMA.



Figura 8. Inoculación de *F. andiyazi* a plantas de caña de azúcar

A los 60 días en las plantas se evaluaron las siguientes variables:

- ✚ altura (cm)
- ✚ número de tallos
- ✚ diámetro de tallos (cm)
- ✚ longitud de la raíz (cm)
- ✚ peso fresco de las raíces (g)
- ✚ peso seco de las raíces (g)

El grado de enfermedad en las raíces de la caña de azúcar se clasificó y registró. Esta escala es de 0 al 4 o de 0 a 6 de acuerdo con Asran y Buchenauer (2013). Porcentaje de raíz lesionada 0=0%; 1=25%; 2=26 a 50%; 3=51 a 75%; 4=76 a 100% de necrosis en raíces; 5=sistema radicular muerto y fragmentado; 6= toda la planta muerta.

6.7. Análisis estadísticos

Con los datos obtenidos de las variables anteriormente mencionadas se realizó una prueba de Análisis de Varianza, utilizando el programa Statistica 7.0 además, se utilizaron pruebas de comparación múltiple de medias Tukey con niveles de significancia al 95%. para comparar las diferencias entre los tratamientos.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Aislamiento de esporas de HMA en plantas de caña de azúcar

En las muestras de suelo analizadas de los cinco campos de caña de azúcar de Jojutla, Morelos, se aislaron propágulos de HMA nativos. Se presentó una variabilidad poblacional de HMA entre los sitios de colecta, con un promedio de 497 esporas por 100g de suelo (Figura 9).

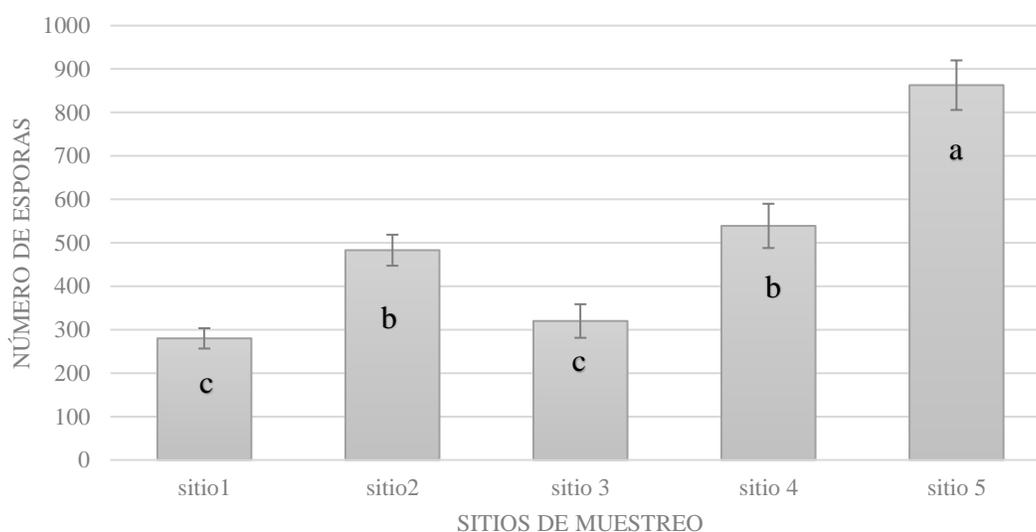


Figura 9. Número de esporas de HMA aisladas de muestras de suelo de caña de azúcar de la variedad CP 72-2086 (media \pm desviación estándar)

Los suelos con el menor número de HMA fueron los del sitio 1 con 280 esporas y el sitio 3 con 320 esporas por 100g de suelo. Estos resultados concuerdan con lo reportado en campos de Jalisco utilizados para vinazas que presentaron en promedio 209 ± 12 , 248 ± 37 esporas por 100 g de suelo (Sánchez-Lizárraga *et al.*, 2017), en otros países se han hecho reportes similares, tal como el estudio del Ingenio Tres Valles de Honduras, reportando en promedio 4 esporas por gramo de suelo (Tahuico-Reyes, 2005) y en la India se reportaron rangos de 48-360 (Srikumar *et al.*, 2009), 137-395 (Datta y Kulkarni, 2012) y 119-583 (Sivakumar, 2013) esporas por 100g de suelo. En las muestras de suelo del sitio 5 se presentó el promedio más alto de esporas: 863 por 100g de suelo. Sin embargo, el contenido de HMA en los suelos estudiados es menor a lo reportado por Salgado-García *et al.* (2014) quienes mencionan un promedio de 943 esporas por 100g de suelo en campos de caña de azúcar del estado de Tabasco.

En las muestras de suelo de caña de azúcar se identificaron 15 morfoespecies de HMA, las cuales se ubican en tres órdenes (Diversisporales, Glomerales, Paraglomerales) y cuatro familias (Acaulosporaceae, Claroideoglomeraceae, Glomeraceae y Paraglomeraceae). Los géneros identificados fueron: *Acaulospora*, *Claroideoglopus*, *Funneliformis*, *Glomus*, *Paraglopus*, *Rhizophagus*, *Sclerocystis* y *Septoglopus*. La abundancia relativa de los géneros de HMA en las muestras de suelo fue la siguiente (Figura 10).

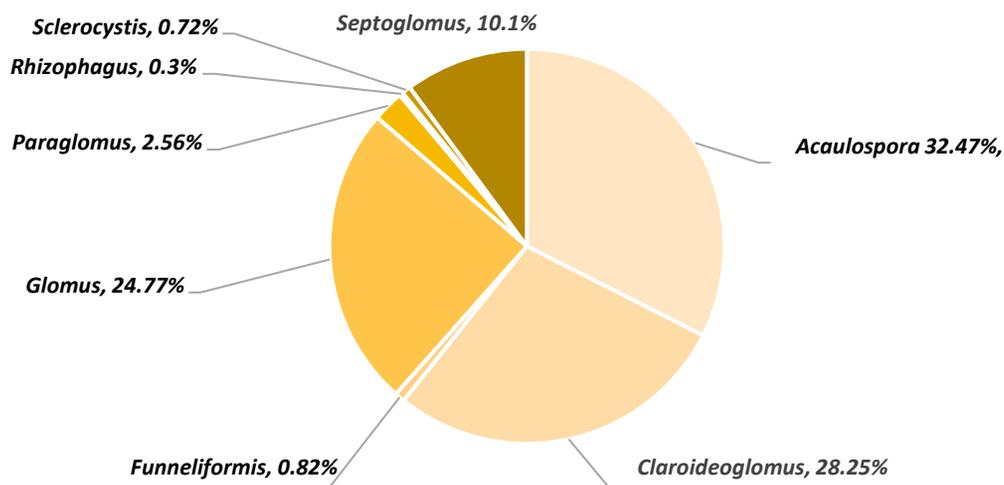


Figura 10. Abundancia relativa de los géneros de HMA en suelos de caña de azúcar de Jojutla, Morelos.

Los géneros más abundantes en los cinco sitios muestreados fueron: *Acaulospora* con 32.47%, *Claroideoglopus* con 28.25% y *Glomus* 24.77% en muestras de 100g de suelo; por otro lado, los que fueron menos abundantes fueron los géneros *Paraglopus* 2.56%, *Sclerocystis* 0.72% y *Rhizophagus* con 0.3% y solo se encontraron en los sitios 3,4 y 5. En un estudio realizado por Datta y Kulkarni (2012) en suelos de caña reportaron que la abundancia relativa del género *Glomus* fue de 75%, *Acaulospora* 9% y *Sclerocystis* 3%. De acuerdo con Salgado-García (2014), los géneros *Acaulospora* y *Glomus* se encuentran presentes en la mayoría de los cultivos de caña de azúcar (Kumalawati *et al.*, 2014); se ha observado que el género *Acaulospora* tiene una mejor asociación en los suelos ácidos y *Glomus* es reconocido en la agroindustria por su capacidad de resistir durante varios ciclos en las plantas y se ha descrito como altamente resistente ante diferentes tipos de suelos que presenten condiciones adversas, como ligeramente alcalinos o con altos contenidos de elementos como Fe, Mg y Zn (Kariman *et al.*, 2005; Srikumar *et al.*, 2009). De las 15 morfoespecies aisladas, 12 fueron identificadas a nivel de especie y 3 a nivel de género (Tabla 3).

Tabla 3. Abundancia relativa (AR) y Valor de importancia (VI) de especies de HMA presentes en caña de azúcar

Género o especie	Porcentaje de Abundancia relativa (AR)	Valor de importancia (VI)
<i>Acaulospora lacunosa</i> J.B. Morton	16.40	58.20
<i>Acaulospora tuberculata</i> Janos & Trappe	4.87	32.43
<i>Acaulospora</i> sp 1	11.21	55.60
<i>Funneliformis geosporum</i> T.H. Nicolson & Gerd	0.82	30.41
<i>Glomus aggregatum</i> N.C. Schenck & G.S. Sm	9.92	54.96
<i>Glomus ambisporum</i> G.S. Sm. & N.C. Schenck	7	43.50
<i>Glomus citricola</i> Tang & M. Zang	2.07	31.04
<i>Glomus mosseae</i> T.H. Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe	5.77	52.89
<i>Claroideoglomus lamellosum</i> Dalpé, Koske & Tews	19.76	59.88
<i>Claroideoglomus luteum</i> L.J. Kenn., J.C. Stutz & J. B	8.49	54.25
<i>Septoglomus deserticola</i> Trappe, Bloss & J.A. Menge	10.10	55.05
<i>Paraglomus occultum</i> J.B. Morton & D. Redecker	2.56	51.28
<i>Rhizophagus irregularis</i> Wubet, Renker & Buscot	0.30	40.15
<i>Sclerocystis</i> sp 1	0.32	30.16
<i>Sclerocystis</i> sp 2	0.40	40.20

En este estudio las morfoespecies más abundantes fueron *Claroideoglomus lamellosum* con 19.76%, seguido de *Acaulospora lacunosa* con 16.40%, mientras que, *Rhizophagus irregularis* y las dos especies de *Sclerocystis* presentaron los porcentajes más bajos de abundancia relativa 0.30, 0.32 y 0.40 % respectivamente, lo que difiere con otros estudios en caña de azúcar en donde se reporta que las especies más abundantes son del género *Glomus* (Pérez- Luna *et al.*, 2012; Wilchez-Ortiz *et al.*, 2019).

En las muestras de suelo de los 5 sitios analizados se observó una variación en la abundancia de las 15 morfoespecies de HMA tal como se muestra en la Figura 11.

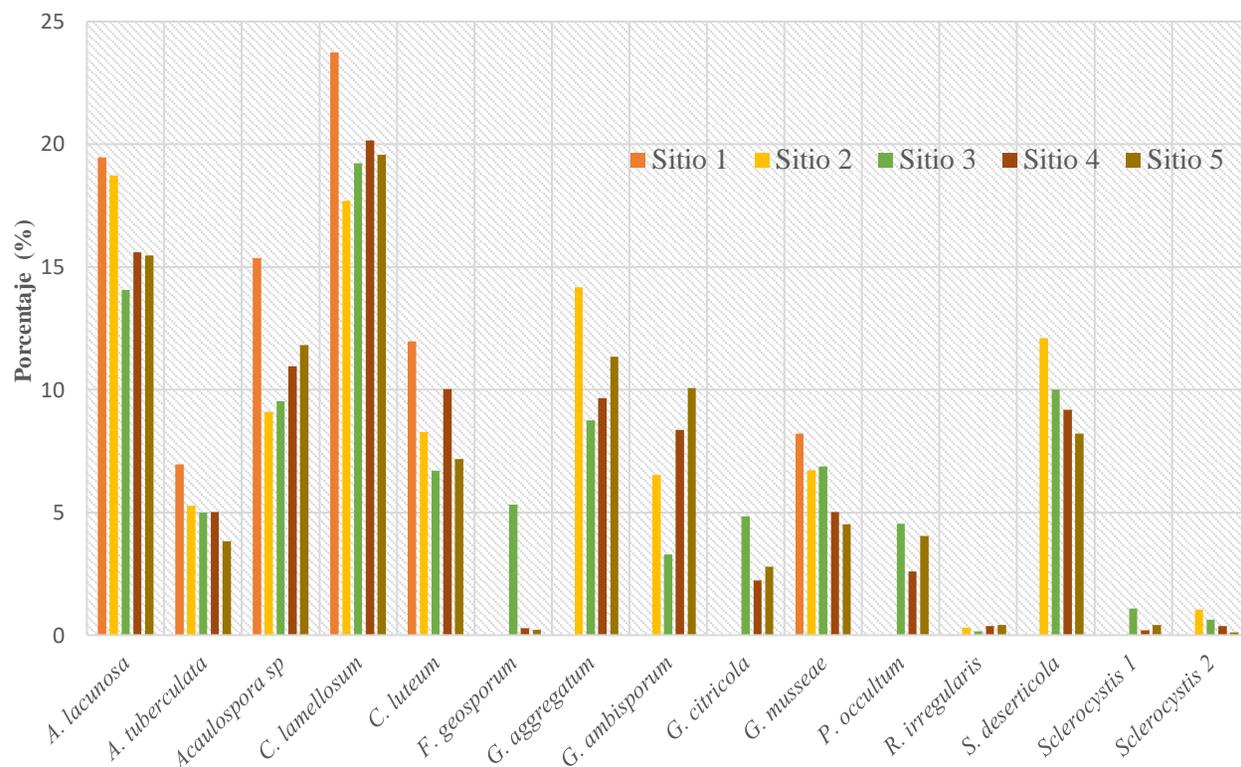


Figura 11. Abundancia relativa (AR) de esporas de HMA identificadas en suelos de caña de azúcar en los sitios de muestreo 1,2,3,4 y 5. A-Acaulospora, C-Claroideoglomus, G-Glomus, R-Rhizophagus, S-Septoglomus

De las muestras de suelo analizadas se encontró que la riqueza de especies de HMA más alta fue en los sitios 3,4 y 5, en cada sitio se hallaron 15 morfoespecies. En contraste, en el sitio 1 se obtuvo la menor riqueza con 7 morfoespecies. Las morfoespecies de *Acaulospora lacunosa*, *Acaulospora tuberculata*, *Acaulospora* 1, *Claroideoglomus lamellosum*, *Claroideoglomus luteum*, *Glomus mosseae*, y *Septoglomus deserticola* se presentaron en todos los sitios de muestreo. Sin embargo, en el sitio 1 destacan las especies *C. lamellosum* y *A. lacunosa* con la mayor abundancia 23.75% y 19.46% respectivamente, lo que concuerda con lo reportado por Azevedo *et al.* (2014).

La variación en el número de esporas en los diferentes sitios de colecta se puede atribuir a la influencia de los componentes bióticos y abióticos de los suelos y su asociación con la planta resaltando características tales como la cobertura vegetal, temperatura y fertilidad. Se tienen reportes de que el pH, o las concentraciones de K y Mn influyen en la correlación positiva en la densidad de esporas (Sivakumar, 2013), mientras que Datta y Kulkorni (2012), indicaron que se

establece una correlación negativa entre la densidad de esporas y concentraciones disponibles de P y Na, Ca, Cu, Mg y Zn principalmente, el P disponible en el suelo inhibe la colonización en la raíz y la densidad de esporas. En este sentido Salgado-García *et al.* (2014) señaló que las plantas de caña con un bajo contenido de P favorecen la simbiosis con HMA por mecanismos bioquímicos asociados. Además, el estado fenológico de la planta y las actividades en el cultivo tales como la quema de las plantas y el exceso de humedad en el suelo debido al riego por inundación son factores que determinan el tamaño y favorecen el tipo de poblaciones de HMA.

Tabla 4. Índices de diversidad de Shannon-Weiner para morfoespecies de HMA presentes en diferentes campos con caña de azúcar

Sitio	Índice de Shannon-Weaver (<i>H</i>)
Sitio 1	1.87
Sitio 2	2.16
Sitio 3	2.42
Sitio 4	2.28
Sitio 5	2.29

Con relación a la riqueza de morfoespecies de HMA, los datos indican una alta diversidad en los suelos de caña de Jojutla, Morelos (Tabla 4). De acuerdo con el índice de Shannon-Weaver, los valores menores a 2 indican que existe una baja diversidad y los valores mayores 3 indican una alta diversidad. En el sitio 1 se tuvo el valor más bajo (1.87) lo que sugiere baja diversidad, mientras que en los demás sitios estudiados se obtuvieron valores mayores a 2, el máximo valor fue 2.42 en el sitio 3. Estos valores fueron altos en comparación a los reportados por Suresh y Nelson (2015), mencionando valores entre 0.183 a 0.492; Sánchez -Lizárraga *et al.* (2017) en caña de azúcar obtuvieron valores de 1.66-1.67. Se debe señalar que en los suelos de la región de Chontalpa (Tabasco) se reportaron valores semejantes de 2.07 (Salgado *et al.*, 2014); conviene subrayar que se obtuvieron valores aceptables tomando en cuenta que son sistemas agrícolas los que están siendo evaluados. Es altamente probable encontrar en todos los sitios a los géneros más abundantes que son *Acaulospora*, *Claroideoglossum* y *Glomus* o a las morfoespecies más abundantes, en este caso fueron *C. lamellosum* y *A. lacunosa* en los suelos del sur del estado de Morelos.

7.2. Identificación morfológica de los HMA aislados de suelos de caña de azúcar

En este trabajo se aislaron e identificaron 15 morfoespecies de HMA en los suelos de caña de azúcar, aunque tres solamente fueron identificadas a nivel de género. Las esporas identificadas pertenecen a ocho géneros de cuatro familias ubicadas dentro de los tres órdenes Glomerales, Diversisporales y Paraglomerales. De acuerdo con los resultados obtenidos el mayor número de géneros corresponden a la familia Glomeraceae, siendo el género *Glomus* el que presentó la mayor cantidad de morfoespecies con un total de 4, por el contrario, los géneros *Funneliformis*, *Rhizophagus*, *Septoglomus* y *Paraglomus* fueron menos frecuentes con una especie cada uno. A continuación, se presenta la descripción morfológica de las esporas de los HMA identificadas en este trabajo.

7.2.1. Género *Acaulospora*

7.2.1.1. *Acaulospora lacunosa* J.B. Morton, *Mycologia* 78(4): 643 (1986)

Los aislamientos de *Acaulospora lacunosa* presentan esporas que son globosas o esféricas, de tamaño medio que se encuentran en un rango de 100 a 130 μm , estas esporas presentan una coloración que es marrón con tonalidades rojizas (0-60-100-10), la superficie generalmente es lisa con algunos hundimientos, presenta dos paredes: la primera es delgada y rígida, la segunda capa es flexible y engrosada con tonalidades oscuras (Figura 12).

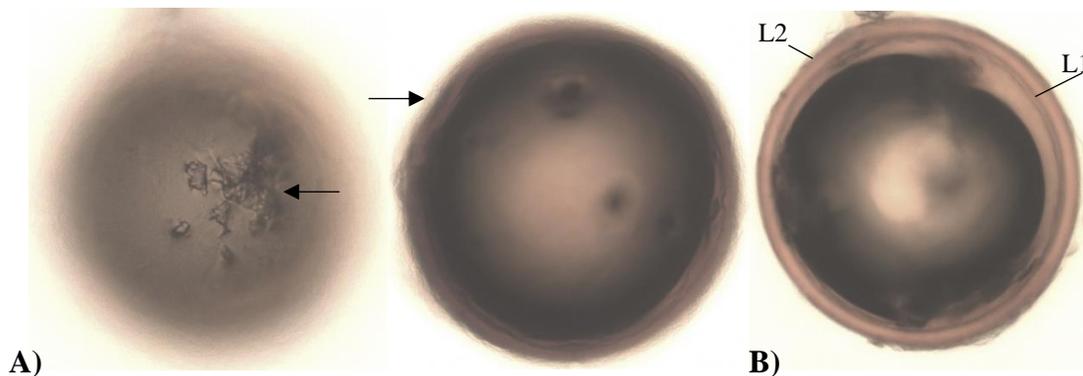


Figura 12. Microfotografías de las esporas de *Acaulospora lacunosa* (40x). A) superficie lisa con hundimientos (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2(L2) de la pared de la espora.

La morfología de las esporas concuerda con lo descrito por el INVAM, especialmente en el color marrón con tonalidades rojizas, con la forma glomosa y el rango de tamaño. De acuerdo con algunos estudios, las esporas de *Acaulospora lacunosa* han sido obtenidas en suelos donde se cultiva sandía, se observa que la presenciase da durante varios ciclos del cultivo, no obstante, el número de propágulos disminuye a medida que aumenta el número de años que se replanta sandía, por otro lado, se observó un aumento de las concentraciones de NPK en las plantas micorrizadas (Jiao *et al.*, 2011).

7.2.1.2. *Acaulospora tuberculata* Janos & Trappe, *Mycotaxon* 15: 519 (1982)

Los aislamientos de *Acaulospora tuberculata* presentan esporas globosas y subglobosas de tamaño medio que se encuentran en un rango de 120 a 160 μm , estas esporas presentan una coloración que es ligeramente café con tonalidades naranjas (0-60-80-0) y rojizas (20-60-100-0), la superficie externa es reticulada con hundimientos consistentes en los bordes, presenta una hifa de conexión muy corta (25 μm), que se une a la primera y segunda capa de la espora en donde se encuentra una cicatriz ovoide unida a la segunda y tercera capa. El contenido de la espora generalmente es aceitoso y la pared de este hongo se divide en tres capas:

La primera capa es hialina, lisa, flexible y presenta ligeras irregularidades en los bordes en la pared. La segunda capa es gruesa y tiene pigmentación marrón oscuro con ligeras tonalidades amarillas. La tercera capa es ligeramente más oscura que las otras, esta última capa es rígida. El grosor de las paredes en promedio es de 4.52 μm (Figura 13).

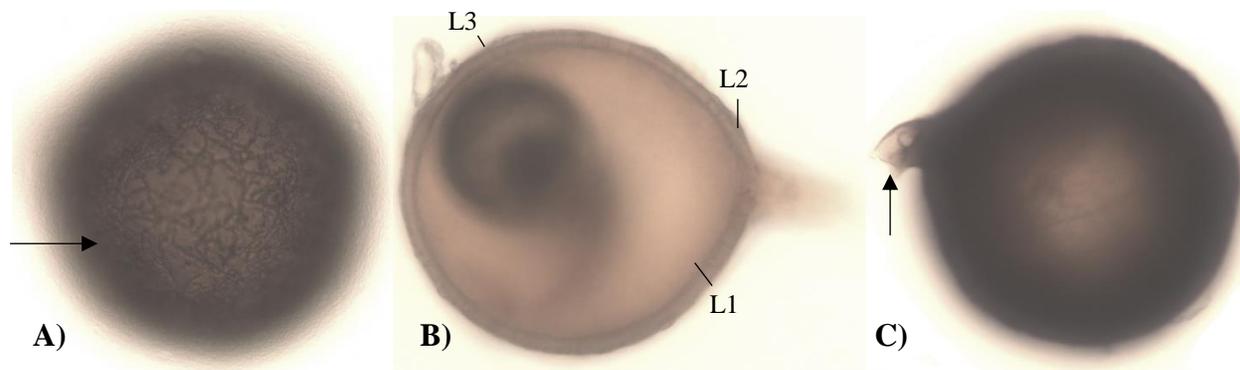


Figura 13. Microfotografías de las esporas de *Acaulospora tuberculata* (40x). A) superficie externa reticulada (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2(L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora C) hifa de sostén (flecha).

La morfología de estas esporas concuerda con lo descrito por Pérez y Schenck (1990), por la forma subglobosa y las tonalidades cafés/naranja. Los aislamientos de *Acaulospora tuberculata* en muestras de suelos de caña de azúcar son similares a los obtenidos en la India y el sur de Sulawesi, Indonesia, la descripción de esta especie concuerda con nuestros resultados, la única variación fue el tamaño de la espora, entre un rango de 150 a 180 μm , no obstante, este número entra en la categoría del INVAM. La abundancia de esta especie en cultivos de caña de azúcar es de 10 a 50 esporas en 100g de suelo (Kumalawati *et al.*, 2014). Además, esta especie se ha encontrado frecuentemente en cultivos de soya, frijol y maíz (Yuttavanichakul *et al.*, 2018).

7.2.1.3. *Acaulospora* sp 1

Los aislamientos de *Acaulospora* sp 1 presentan esporas subglobosas de tamaño pequeño de 55 a 80 μm , las esporas tienen pigmentación marrón intenso (20-60-100-0). La superficie tiene algunos hundimientos consistentes. Esta especie presenta cicatriz e hifa de conexión unida a la primera y segunda capa donde sobresale, generalmente es alargada (50 μm) y robusta (8 μm) con paredes color marrón claro. Esta especie presenta una pared dividida en tres capas: La primera capa presenta bordes irregulares con una coloración de bajo contraste, la segunda capa es ligeramente oscura con bordes más concisos y engrosados. La tercera capa los bordes son regulares con tonalidades intensas (Figura 14).

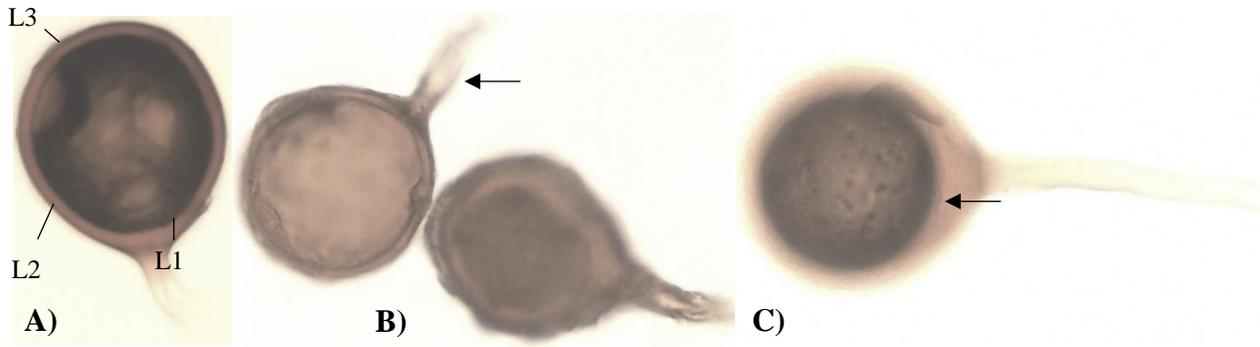


Figura 14. Microfotografías de las esporas de *Acaulospora* sp 1 (40x). A) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) B) Hifa de sostén (flecha) superficie (flecha). C) superficie de la pared de la espora que presenta hundimientos

7.2.2. Género *Glomus*

7.2.2.1. *Glomus aggregatum* N.C. Schenck & G.S. Sm., *Mycologia* 74(1): 80 (1982)

Los aislamientos de *Glomus aggregatum* presentan esporas subglobosas de tamaño pequeño que se encuentra en un rango de 55 y 70 μm , estas esporas presentaban una coloración naranja-marrón (0-40-100-10), la superficie de la espora es reticulada. Esta especie posee una hifa de conexión color marrón claro que es corta (8 μm) con una pared engrosada que se extiende desde la primera y segunda capa de la espora, la pared de la espora es gruesa (10 μm) que se dividen en tres capas.

La primera capa presenta bordes regulares que es rígida con tonalidades intensas, la segunda capa es clara con bordes más concisos y engrosados. La tercera capa los bordes son regulares con tonalidades intensas (Figura 15).

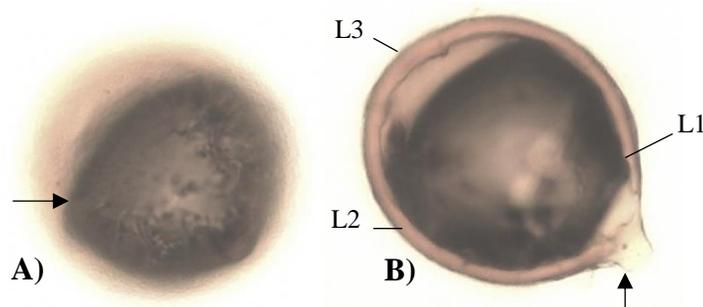


Figura 15. Microfotografías de las esporas de *Glomus aggregatum* (40x). A) superficie reticulada (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora e hifa de sostén (flecha).

La morfología de *Glomus aggregatum* concuerda con lo descrito por Pérez y Schenck (1990), por la forma subglobosa y el tamaño. Esta especie ha sido aislada en diferentes suelos donde se cultiva caña de azúcar. En la India, en suelos con un pH de 6.1 a 7.8 tuvo una frecuencia de 78.6% (Srikumar *et al.*, 2009). Datta y Kulkarni. (2012) reportó que se encuentra en el 95% de los suelos muestreados que presentaban altos contenidos en Mg, Zn, Fe y pH 5.5-6.

7.2.2.2. *Glomus ambisporum* G.S. Sm. & N.C. Schenck, *Mycologia* 77(4): 566 (1985)

Los aislamientos de *Glomus ambisporum* presentan esporas que son subglobosas, de tamaño entre 60 y 80 μm , la superficie externa de la espora es reticulada con placas hexagonales, su coloración es café con ligeras tonalidades rojizas (0-60-100-0). Esta especie presenta una hifa de conexión robusta (6.95 μm) y larga (58.3 μm) que cuenta con dos capas continuas, la presencia de la cicatriz se encuentra entre la segunda capa y la hifa de sostén. El contenido de las esporas es acuoso y corresponde a lo descrito, esta especie presenta una pared que se divide en tres capas.

La primera presenta bordes regulares de manera consistente, es delgada con tonalidades subhialinas, la segunda capa una coloración más intensa de color marrón oscuro a negro además es la capa más gruesa debido a que esta integrado por subcapas. La tercera capa es la capa interna más delgada y rígida que puede observarse, los bordes son regulares concisos con una coloración intensa (Figura 16).

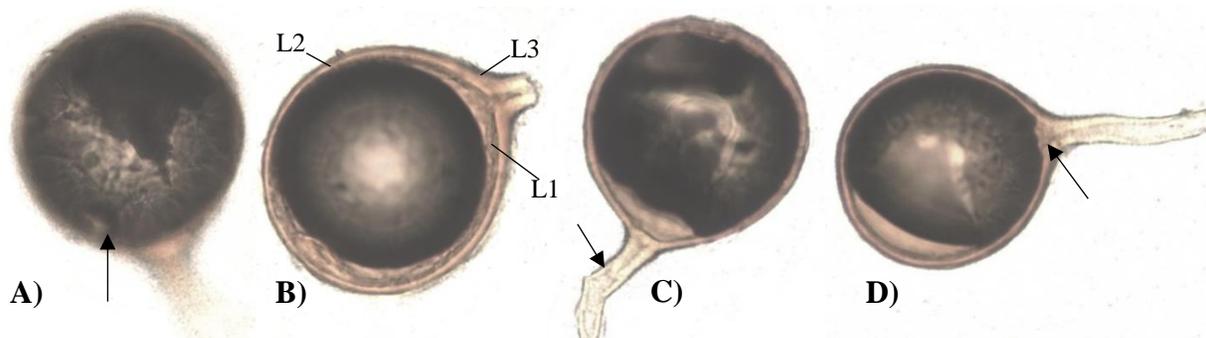


Figura 16. Microfotografías de las esporas de *Glomus ambisporum* (40x). A) superficie externa reticulada (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora C) Hifa de sostén (flecha). D) Cicatriz

Los aislamientos de *Glomus ambisporum* concuerdan con lo descrito en cultivos de caña de azúcar en los suelos de la región de Chontalpa, Tabasco (Salgado *et al.*, 2014) . En Irán Kariman y Mohammadi (2005) reportan que *G. ambisporum* represento el 24% de las muestras tomadas, la forma predominante de las esporas es globosa de tamaño de 70 a 110 μm con pigmentaciones oscuras (rojo/anaranjado) (marrón/negro). También esta especie ha sido encontrada en *Citrus volkameriana*, *Annona cherimola* y *Carica papaya* (Alarcón, 2012).

7.2.2.3. *Glomus citricola* D.Z. Tang & M. Zang *Acta bot. Yunn.* **6**(3): 301 (1984)

Los aislamientos de *Glomus citricola* poseen esporas globosas que presentan tonalidades amarillo-marrón (0-0-60-0) y marrón (20-60-100-0), su tamaño tiene un rango entre 60 y 90 μm . La superficie de la espora tiene forma reticulada, algunos autores lo manejan como depresiones laberintiformes. Esta especie presenta una cicatriz entre la primera y segunda capa que se une a la hifa de sostén que es alargada. La pared de la espora presenta dos capas:

La primera capa es delgada con bordes flexibles o algunos irregulares, su color es ligeramente oscura. La segunda capa es más gruesa con tonalidades claras y presenta mayor rigidez, además de bordes muy concisos (Figura 17).

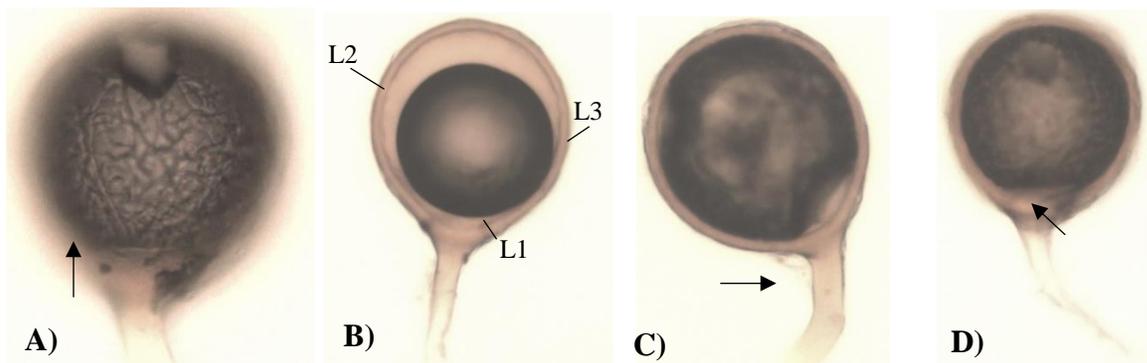


Figura 17. Microfotografías de las esporas de *Glomus citricola* (40x). A) superficie externa laberiforme (flecha). B) Capa 1 (L1) Capa 2 (L2) y Capa (L3) de la pared de la espora C) hifa de sostén (flecha). D) Cicatriz

La morfología de estas esporas concuerda con Pérez y Schenck (1990), especialmente en el tamaño de la espora y las ornamentaciones. En suelos de caña de azúcar de la región de Morocco en los sitios de muestreos donde el promedio general es 53 esporas por 100g de suelo *Glomus citricola* fue la mas dominante en uno de los sitios de muestreo, la media fue de 4 esporas por 100 g de suelo (Selmaoui *et al.*, 2017). En huertos de aguacate esta especie es altamente dominante con un promedio de 400 esporas en 50g de suelo y una abundancia relativa de 14.5% durante la estación de lluvias (Raya-Montaña *et al.*, 2019).

7.2.2.4. *Glomus mosseae* T.H. Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe, *Mycol. Mem.* 5: 40 (1974)

Los aislamientos de *Glomus mosseae* presentan esporas subglobosas e irregulares, de tamaño medio entre un rango de 150 y 180 μm , las esporas tienen dos tonos característicos consistentes en este grupo que son amarillo (0-0-80-0) o amarillo-marrón (0-60-100-10). La superficie es reticulada. Esta especie presenta cicatriz e hifa de sostén con pared engrosada y de color amarillo claro, la hifa se une a la pared de la espora donde se alarga ligeramente. La pared presenta 3 capas de 8 μm de espesor.

La primera es delgada con bordes irregulares semirrígidos con tonalidades claras, la segunda capa es engrosada y flexible con tonos más claros que en la primera. La tercera capa es delgada y flexible con tonos oscuros (Figura 18).

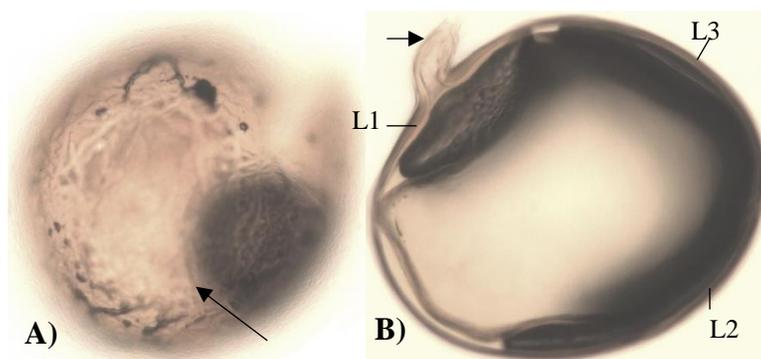


Figura 18. Microfotografías de las esporas de *Glomus mosseae* (40x). A) superficie reticulada (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2(L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora e hifa de conexión.

Glomus mosseae es una especie que es frecuente en muchas plantas, en el caso de la caña de azúcar se ha reportado su aislamiento en Brasil, Colombia, Pakistán, India y México, donde esta especie es dominante y presenta una frecuencia en los suelos de 42%, 14.16%, 35%, 66% y 28.3% respectivamente (Soria, 2001; Kumalawati *et al.*, 2014; Wilches-Ortiz *et al.*, 2019).

7.2.3. Género *Funneliformis*

7.2.3.1. *Funneliformis geosporum* T.H. Nicolson & Gerd., *Mycologia* 60(2): 318 (1968)

Los aislamientos de *Funneliformis geosporum* presentan esporas globosas, de tamaño medio de 140 y 160 μm , que presentaron dos tipos de coloración, la más frecuente es amarillo-marrón (0-10-40-0) y algunos son naranja oscuro con marrón (0-30-100-0). Esta especie presenta cicatriz e hifa de conexión unida a la segunda capa, la hifa es corta (45.14 μm) y ligeramente robusta (18.84 μm) con tonalidades naranja claro. La pared está dividida en tres capas de 7.5 μm de espesor. La primera capa es hialina, con bordes irregulares y ligeramente rígida. La segunda capa es clara con bordes concisos y es flexible. La tercera capa es delgada, semirrígida y presenta bordes irregulares, además de tonos oscuros (Figura 19).

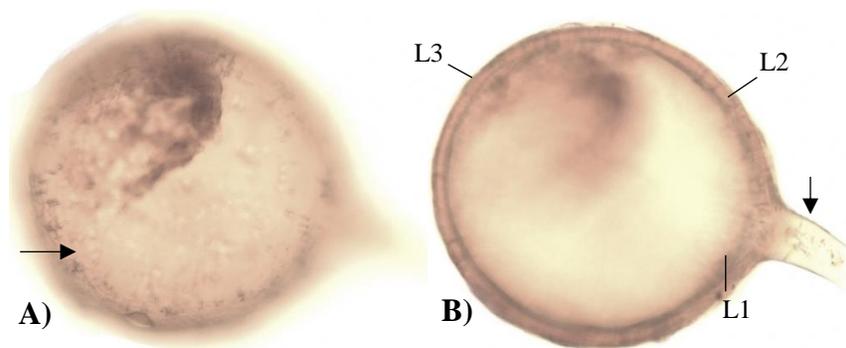


Figura 19. Microfotografías de las esporas de *Funneliformis geosporum* (40x). A) superficie reticulada (flecha). B) Capa 1 (L1), Capa 2(L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora e hifa de sostén (flecha).

Los aislamientos obtenidos de *Funneliformis geosporum* en muestras de suelos de caña de azúcar son similares a los obtenidos en cultivos de caña de azúcar en Colombia con respecto a la pigmentación y tamaño de las esporas (Wilches-Ortiz *et al.*, 2019), y en Jalisco esta especie presenta una alta predominancia en las muestras tomadas en suelos de caña de azúcar tratados con

vinazas que tienen pH ligeramente ácidos, donde mejora la asimilación de nutrientes suministrados (Sánchez-Lizárraga *et al.*, 2017). Además, se ha reportado en plantas de sorgo y maíz con densidad entre 11 y 35 esporas en 100g de suelo (Furraloza *et al.*, 2017)

7.2.4. Género *Rhizophagus*

7.2.4.1. *Rhizophagus irregularis* Wubet, Renker & Buscot, *Mycotaxon* **106**: 252 (2008)

Los aislamientos de *Rhizophagus irregularis* presentan esporas que son subglobosas e irregulares que se desarrollan en arreglos y son de tamaño pequeño (35 a 55 μm), su pared superficial es ligeramente reticulada, el contenido de la espora es consiso a lo descrito. Las tonalidades que presentan son amarillo pálido (0-0-40-0) o algunas amarillo-café (0-10-70-10), estas esporas presentan hifa de conexión de tamaño medio con una pared delgada. La pared de estas esporas esta dividida en tres capas.

La primera es delgada con una pigmentacion clara y bordes inconsisos, la segunda capa es ligeramente robusta y poco uniforme, presenta una tonalidad más clara que las otras capas. La tercera capa es delgada, flexible y presenta tonos oscuros (Figura 20).

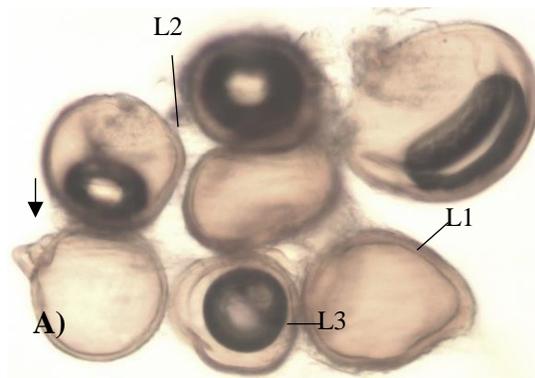


Figura 20. Microfotografías de las esporas de *Rhizophagus irregularis* (40x). A) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2), Capa 3 (L3) de las esporas e hifa de sostén (flecha)

Las esporas de *Rhizophagus irregularis* se encuentran en gran abundancia en plantas de sorgo colonizando hasta el 90% de las raíces, compitiendo con otras micorrizas nativas de la región (Symanczik *et al.*, 2015). Por otra parte, en el cultivo de café las condiciones ambientales son poco favorables para la colonización micorrízica, en especial cuando se aplican fungicidas cuyo

ingrediente principal es el cobre, este elemento puede afectar a algunas especies de micorrizas, sin embargo, ciertas concentraciones pueden ayudar a *Rhizophagus* a establecerse (Herrera-Monroy *et al.*, 2019), algunas otras plantas en donde se ha aislado esta especie son: *Astrocaryum mexicanum*, *Desmoncus orthacanthos*, *Opuntia streptacantha*, *Agave angustifolia* y *A. salmiana* (Alarcón, 2007)

7.2.5. Género *Septoglomerus*

7.2.5.1. *Septoglomerus deserticola* Trappe, Bloss & J.A. Menge, *Mycotaxon* 20(1): 123 (1984)

Los aislamientos de *Septoglomerus deserticola* presentan esporas que son subglobosas, de tamaño medio que se encuentran en un rango de 100 a 120 μm , la superficie de la espora es reticulada, y presentan pigmentaciones marrón y marrón-rojizo (20-60-100-0). Esta especie presenta hifa de conexión ancha (14.87 μm) y corta (33.57 μm) que cuenta con dos capas continuas, la cicatriz se encuentra entre la segunda capa y la hifa de sostén. El contenido de las esporas es acuoso y corresponde a lo descrito. La pared de la espora se encuentra dividida en tres capas de 5 μm de espesor.

La primera capa presenta bordes regulares de manera consistente, es delgada con tonalidades café-claro, la segunda capa es color marrón oscuro a negro, además, es la capa más gruesa debido a que esta integrado por subcapas. La tercera capa es delgada, rígida con bordes regulares y concisos con una coloración intensa (Figura 21).

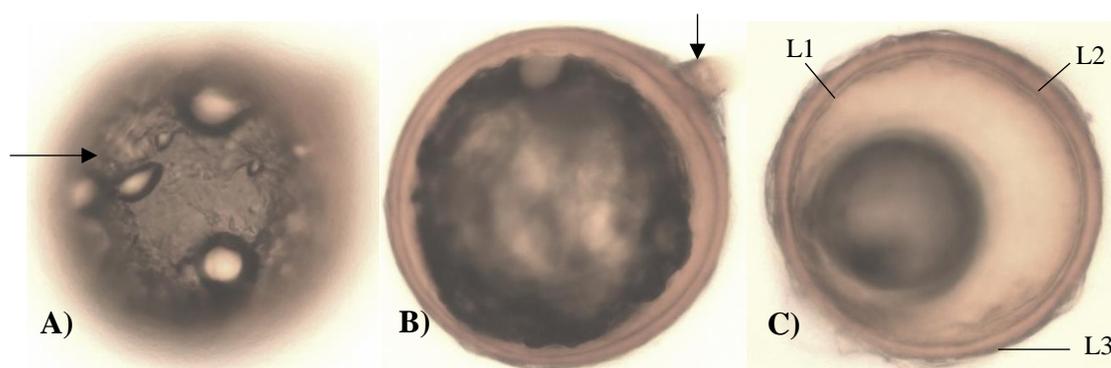


Figura 21. Microfotografía de las esporas de *Septoglomerus deserticola* (40x). A) Superficie reticulada de la espora. B) Hifa de conexión C) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora.

La morfología de las esporas de *Septoglomus desertícola* corresponden a lo descrito por el INVAM. En los cultivos de caña de azúcar de la India a partir de cuatro sitios de muestreo que presentaban condiciones de pH ácidos o con alto contenido de Fósforo, la colonización en las raíces fue aceptable, se determinó un rango porcentual entre 34-84% (Srikumar *et al.*, 2009).

7.2.6. Género *Sclerocystis*

7.2.6.1. *Sclerocystis* sp 1

Los aislamientos obtenidos de *Sclerocystis* sp 1 presentan esporas, de tamaño medio con un rango de 100 y 150 μm , la pared superficial es irregular o no tiene forma definida debido a que las esporas están cubiertas por el peridio. Las esporas presentan tonalidades anaranjadas (0-40-100-0) y café anaranjado (0-60-100-0). El peridio contiene esporas que están cubiertas por hifas entrelazadas por lo cual no se pudo observar las capas de las esporas, solamente una pared delgada con coloraciones intensas y bordes muy irregulares (Figura 22).

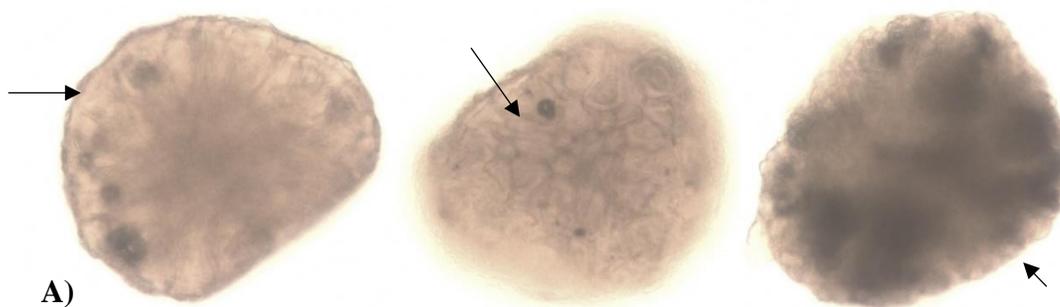


Figura 22. Microfotografías de las esporas de *Sclerocystis* sp 1 (40x). A) pared poco definida. B) arreglos de esporas. C) peridio.

Los aislamientos de *Sclerocystis* sp 1 concuerda con lo descrito por Salgado-García *et al.* (2014) en donde las características morfológicas son difíciles de observar debido a las hifas que rodean fuertemente a las esporas. Las especies de *Sclerocystis* también se encuentran frecuentemente en cultivos de tomate en altas densidades (Vásquez-Ramírez y Castaño-Zapata, 2017).

7.2.6.2. *Sclerocystis* sp 2

Los aislamientos de *Sclerocystis* sp 2 presentan esporas de tamaño medio que tienen un rango entre 100 y 110 μm , la pared superficial de la espora es irregular o no tiene forma definida. Las esporas presentan una tonalidad color café intenso (40-60-100-10). El peridio contiene esporas que están cubiertas por hifas entrelazadas, por lo que, no se pudo observar las capas de las esporas, solamente una pared delgada con coloraciones intensas y bordes irregulares (Figura 23).

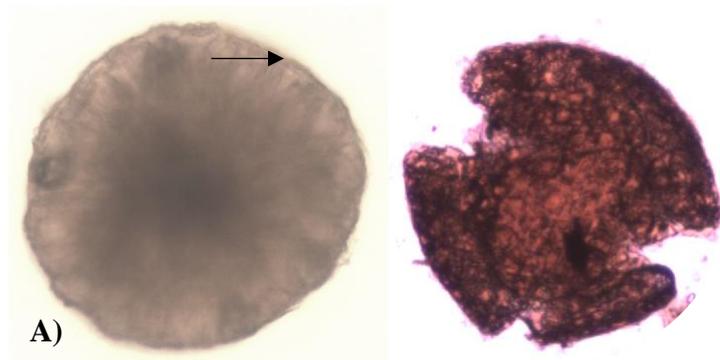


Figura 23. Microfotografías de las esporas de *Sclerocystis* sp 2 (40x). A) pared poco definida (flecha) y peridio

7.2.7. Género *Claroideoglomerus*

7.2.7.1. *Claroideoglomerus lamellosum* Dalpé, Koske & Tews, Mycotaxon **43**: 289 (1992)

Los aislamientos de *Claroideoglomerus lamellosum* presentan esporas subglobosas, de tamaño pequeño que se encuentran en un rango de 85 a 105 μm , estas esporas, presentan una coloración que es amarillo pálido (0-0-40-0) y la superficie es lisa. Se observa la ausencia de cicatriz y la pared de la espora contiene tres capas:

La primera es delgada de color claro cuyos bordes son muy irregulares. La segunda capa es gruesa, no se observa una clara definición del contorno y presenta tonos ligeramente oscuros. La tercera capa es delgada flexible y oscura (Figura 24).

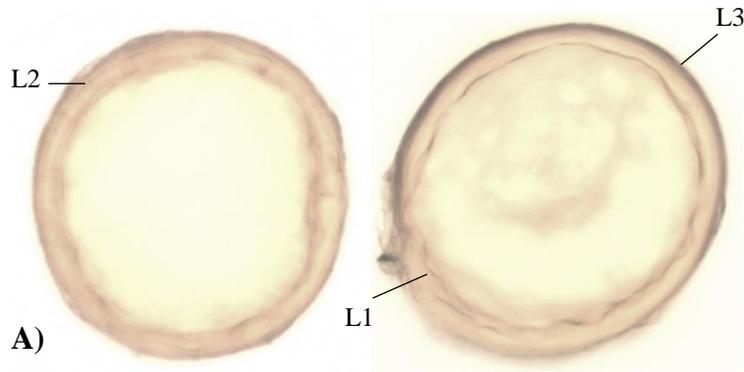


Figura 24. Microfotografía de las esporas de *Claroideoglossum lamellosum* (40x). A) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora.

Las esporas de *Claroideoglossum lamellosum* en los cultivos de caña de azúcar en Irán presentan las mismas características que en el presente trabajo, especialmente en el color amarillo pálido y en el tamaño, con respecto a la abundancia de esta morfoespecie fue de 68% en los suelos (Kariman *et al.*, 2005), además, esta morfoespecie se puede encontrar en cultivos de maíz con 6 esporas por 10g de suelo (Pérez-Luna y Cuevas, 2011) que son valores bajos a comparación de los suelos de tierras costeras recuperadas que estaban afectadas por el alto contenido de sal, se obtuvieron 391 esporas por 100g de suelo (Gopal *et al.*, 2016).

7.2.7.2. *Claroideoglossum luteum* L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton, *Mycologia* **91**(6): 1090 (1999)

Los aislamientos de *Claroideoglossum luteum* presentan esporas globosas y subglobosas, de tamaño pequeño que varía de 55 a 60 μm , la superficie es lisa con algunas irregularidades, estas esporas presentan tonalidades amarillo claro (0-0-40-0 / 0-0-60-0). El contenido de la espora es oleoso y la pared se divide en tres capas:

La primera es delgada y continua con bordes irregulares, la tonalidad que presenta es clara. La segunda capa es engrosada y más rígida que la primera, su coloración es un poco oscura. La tercera capa es delgada con tonos oscuros (Figura 25).

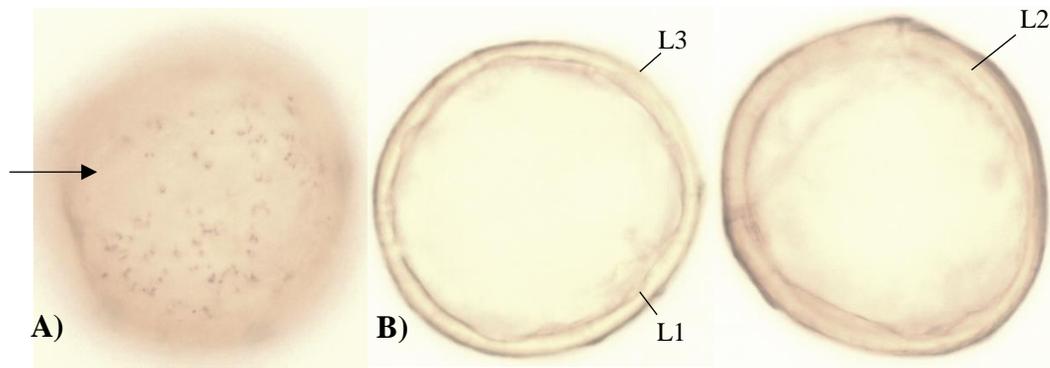


Figura 25. Microfotografía de las esporas de *Claroideoglomerus luteum* (40x). A) Superficie reticulada de la espora. B) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2) y Capa 3 (L3) de la pared de la espora.

La morfología de las esporas de *Claroideoglomerus luteum* de este trabajo concuerda con lo reportado por en INVAM, no obstante, en los cultivos de caña de azúcar de Irán *C. luteum* presentan una tonalidad amarillo pálido con un promedio de 76-81 μm , con tres paredes concisas y flexibles, la abundancia en los sitios de muestreo fue de 46% que es bastantes significativo (Kariman *et al.*, 2005).

7.2.8. *Paraglomerus*

7.2.8.1. *Paraglomerus occultum* J.B. Morton & D. Redecker, Mycologia **93**(1): 190 (2001)

Los aislamientos de *Paraglomerus occultum* presentaron esporas de forma subglobosa con algunas irregularidades, de tamaño pequeño en un rango de 70 y 80 μm , estas esporas presentan tonalidades hialinas (0-0-0-0) o crema (0-0-5-0), la superficie es reticulada con placas hexagonales. En este caso no se observó la presenciade hifa de conexión. El contenido de la espora es oleoso. La pared se divide en tres capas:

La primera es delgada y continua con bordes irregulares pero rígidos, la tonalidad que presenta es muy clara. La segunda es engrosada continua con presencia de algunas irregularidades, sin embargo, es más flexible que la primera, su coloración es más oscura conforme a las subcapas presentes que son de color más claro. La tercera capa es delgada con tonalidades ligeramente oscuras (Figura 26).

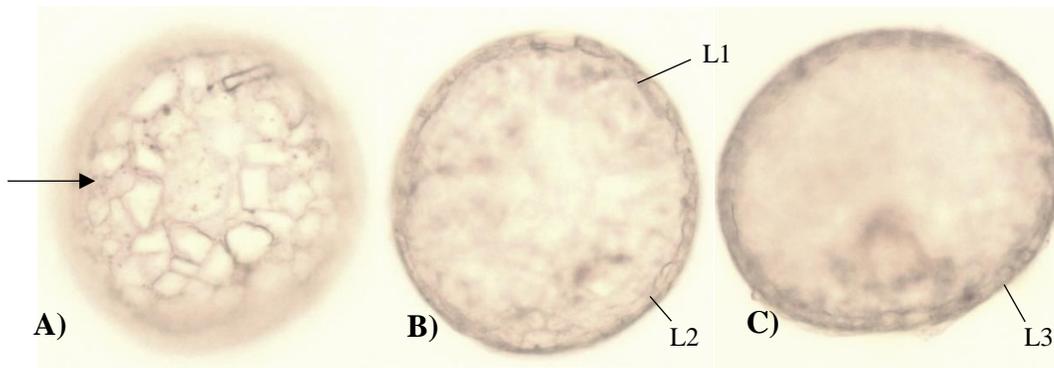


Figura 26. Microfotografías de las esporas de *Paraglomus occultum* (40x). A) Superficie reticulada hexagonal B) Capa 1 (L1), Capa 2 (L2), Capa 3 (L3).

En Jalisco *Paraglomus occultum* presenta una abundancia relativa del 3.2% en suelos de caña de azúcar que son tratados para obtener vinazas, el cual presenta un pH ligeramente ácido o en los suelos control no tratados para vinazas la abundancia relativa fue de 13.9% (Sánchez-Lizarraga *et al.*, 2017).

7.3.1. Evaluación de la aplicación de HMA en el desarrollo en plantas de caña de azúcar

A los 60 días después del establecimiento del bioensayo las plantas de caña de azúcar mostraban algunas diferencias en las variables analizadas. Se evaluó el desarrollo de las plantas con las variables de altura, diámetro de tallos, número de tallos, longitud de raíces, peso fresco y peso seco de raíces. De acuerdo con el análisis estadístico, en las variables de altura y peso fresco de raíz se observaron diferencias estadísticamente significativas $P < 0.05$. La producción de biomasa aérea se incrementó cuando se aplicaron HMA en las plantas de caña de azúcar. El valor más alto se obtuvo en el T7 (*A. tuberculata*) con 174.37 cm, mientras que el valor más bajo se presentó en el T16 (testigo) con 106.63 cm (Figura 27).

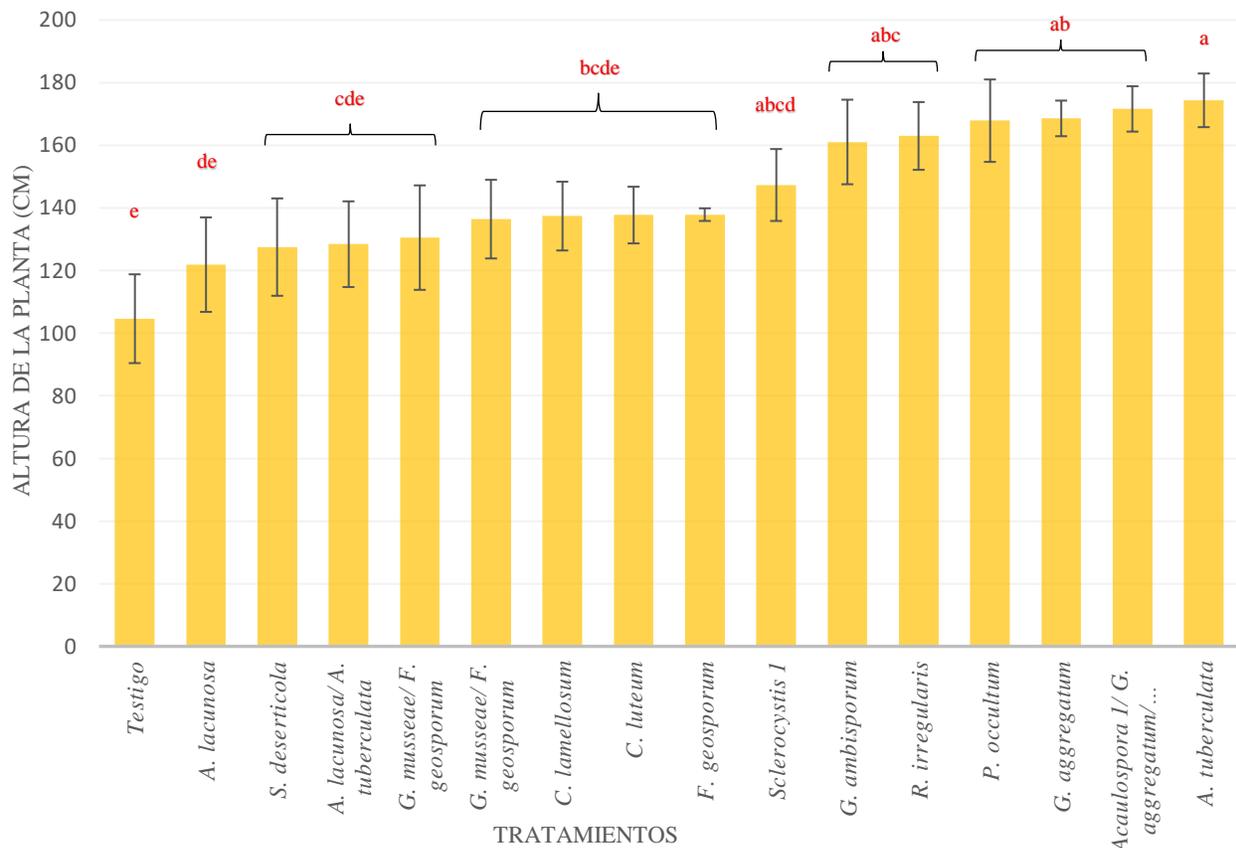


Figura 27. Efecto de la inoculación de HMA en la altura de plantas de caña de azúcar en el Bioensayo 1 (media \pm desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos de acuerdo con la prueba Tukey ($P < 0.05$), C.V. = 15.52.

El efecto positivo de los inóculos micorrízicos aplicados en caña de azúcar concuerda con los resultados reportados por Wilches *et al.* (2019), que obtuvieron diferencias significativas en las variables de diámetro de cuello de la raíz y altura de la planta, cuando aplicaron micorrizas arbusculares nativas en comparación a las micorrizas comerciales y a las fertilizaciones químicas convencionales, lo que establece que la simbiosis cuando es positiva tiene efectos tales como aumentos en la asimilación de CO_2 , tasas de transpiración, una mayor tasa de apertura estomática, así como un aumento en la tasa de crecimiento vegetativo.

La aplicación de *A. tuberculata* tuvo un efecto significativo en el desarrollo de la altura de las plantas de caña de azúcar y este efecto también se ha observado cuando se aplica en leguminosas, favoreciendo el desarrollo de las raíces (Widiastuti y Sucharyanto, 2016).

Se observó un efecto significativo en el peso fresco de las raíces cuando se aplicaron los tratamientos con HMA. El análisis de varianza mostró que los mejores tratamientos fueron el T11 (*G. mosseae*/*F. geosporum*) con 53.8 g y el T1 (*A. lacunosa* /*A. tuberculata*) con 43.33 g, por otro lado, los valores más bajos se analizaron con el T2 (*C.lamellosum*) con 9.4 g y T6 (*R. irregularis*) con 10.63 g (Figura 28), no obstante, en cuanto a las variables de número de tallos, diámetro de tallos, longitud de raíz y peso seco de raíces en los análisis de varianza no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados de HMA y el testigo (Apéndice 6).

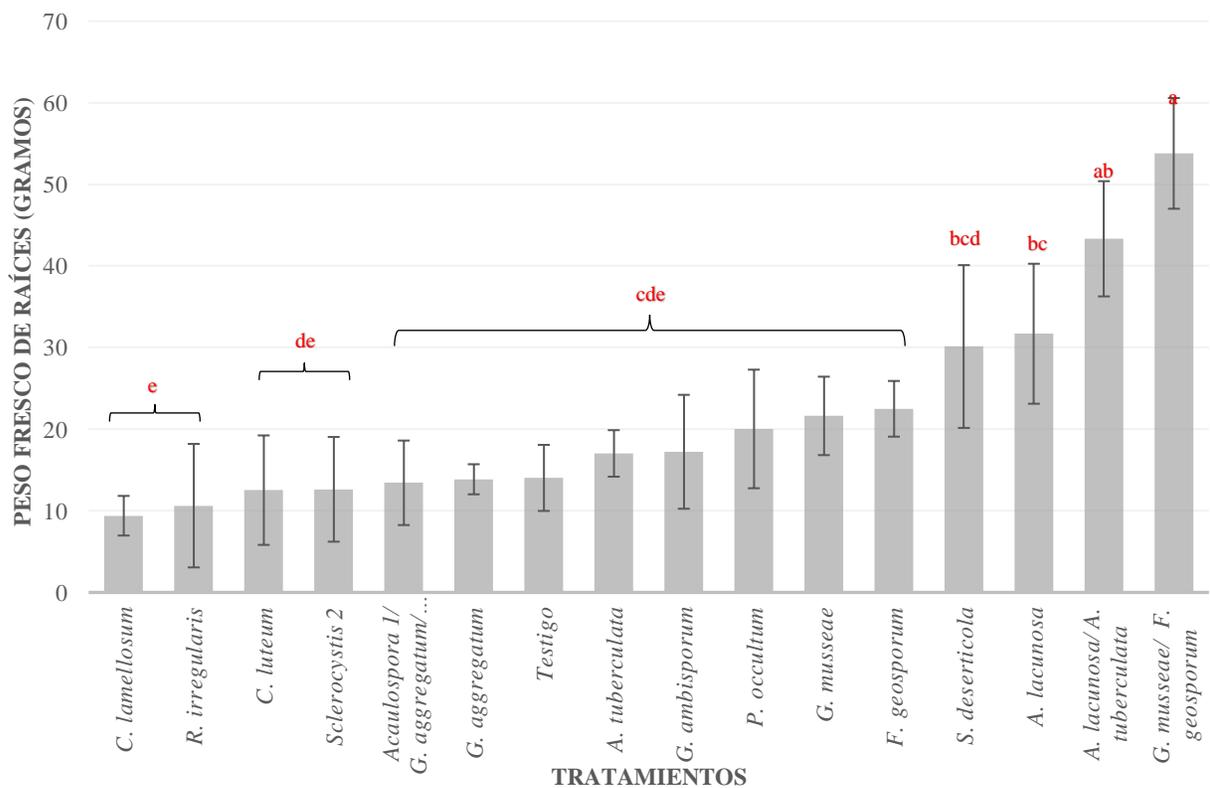


Figura 28. Efecto de la inoculación de HMA en el peso fresco de las raíces de caña de azúcar en el Bioensayo 1 (media \pm desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos de acuerdo con la prueba Tukey ($P < 0.05$), C.V. =61.62.

De acuerdo con los resultados *G. mosseae*/*F. geosporum* y *A. lacunosa*/*A. tuberculata* fueron los mejores tratamientos en obtener mayor biomasa radical, estos resultados coinciden con lo reportado por otros autores. Li *et al.* (2012), obtuvieron resultados significativos inoculando *G. mosseae* el efecto que tuvieron al ser inoculados en arroz fue mayor altura (34%), biomasa de brotes (122%), biomasa de raíces (590%) y rendimiento de grano (9.7%) Mientras que Rojas-Martínez (2014), al usar *A. lacunosa* obtuvo mejores resultados en longitud y peso seco de raíces en el cultivo de chile (*Capsicum annum*), y obtuvo los valores más altos de contenido total de Fósforo, mientras que la altura resulto ser el segundo mejor tratamiento en comparación a los resultados obtenidos por *G. manihotis* además, en plantas de sorgo observó que promueven el aumento de la biomasa aérea de la planta (Furragoza *et al.*, 2017). Juntahum *et al.* (2020) encontraron que en condiciones de campo la aplicación de micorrizas arbusculares nativas + 50% de fertilizante convencional es más efectivo que la aplicación separada de fertilizantes (dosis completa de fertilizante) y micorrizas lo que aumentó significativamente en el peso de la raíz, el mejoramiento en la biomasa de la planta está influenciado por el aumento de la absorción de N, K y P.

7.3.1.1. Colonización micorrícica en caña de azúcar

Los HMA aplicados en caña de azúcar de la variedad CP 72-2086 colonizaron las raíces en diferente grado. En el análisis microscópico de las raíces se observaron estructuras fúngicas tales como hifas, esporas, vesículas y arbusculos. Los resultados mostraron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados ($P < 0.05$), siendo el tratamiento de *G. aggregatum* donde se evidenció una mayor colonización con 93.3%, seguido del tratamiento con *A. lacunosa*/*A. tuberculata* (73.3%) y el menor con el tratamiento de *S. desertícola* (13.3%) (Tabla 5).

Tabla 5. Colonización de HMA en las raíces de caña de azúcar

Tratamientos	Morfoespecies de HMA	% Colonización
Tratamiento 1	<i>Acaulospora lacunosa/Acaulospora tuberculata</i>	73.3 ab
Tratamiento 2	<i>Claroideoglomus lamellosum</i>	23.3 b
Tratamiento 3	<i>Acaulospora lacunosa</i>	16.6 b
Tratamiento 4	<i>Septoglomus deserticola</i>	50.0 ab
Tratamiento 5	<i>Glomus ambisporum</i>	13.33 b
Tratamiento 6	<i>Rhizophagus irregularis</i>	46.7 ab
Tratamiento 7	<i>Acaulospora tuberculata</i>	33.3 ab
Tratamiento 8	<i>Glomus aggregatum</i>	93.3 a
Tratamiento 9	<i>Acaulospora 1/Glomus aggregatum/ Sclerocystis 2</i>	66.6 ab
Tratamiento 10	<i>Claroideoglomus luteum</i>	26.7 b
Tratamiento 11	<i>Glomus mosseae/ Funneliformis geosporum</i>	50 ab
Tratamiento 12	<i>Sclerocystis 1</i>	36.6 ab
Tratamiento 13	<i>Glomus mosseae</i>	20.0 b
Tratamiento 14	<i>Paraglomus occultum</i>	70.0 ab
Tratamiento 15	<i>Funneliformis geosporum</i>	70.0ab

*Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05)

La colonización de los HMA en las raíces de la caña de azúcar es comparable a los reportes de Sánchez-Reyna *et al.* (2020) donde obtuvieron el 100%, Salgado-García *et al.* (2014) 95.8%, Sánchez-Lizárraga *et al.* (2017) con 88.9% y lo reportado por Sivakumar (2013) con 60-89% de colonización en suelos cañeros y supera lo reportado por Wilches *et al.* (2019) con 52.66%.

Los géneros *Glomus* y *Acaulospora* colonizaron las raíces de la caña de azúcar en mayor porcentaje, que es comparable a lo reportado por Sivakumar (2013), las especies más dominantes en las raíces de caña fueron *Glomus* con 94% y *Acaulospora* con 89%, debido a que pueden colonizar las raíces a partir de tres fuentes de inóculo que son esporas, raíces infectadas e hifas lo que a diferencia de otros géneros solo es posible por medio de las esporas (Smith y Read, 2008).

Estos valores pueden deberse tanto a la compatibilidad de los HMA con las especies vegetales como con las condiciones fisicoquímicas, las condiciones microbianas de los suelos o la

estacionalidad pueden estimular o afectar la colonización, de manera que se establece una correlación positiva con las condiciones de pH, porcentaje de materia orgánica, Cu, Fe y Mn, en cambio factores como la conductividad eléctrica y las concentraciones de N, P, K afecta negativamente la colonización (Sivakumar, 2013).

La presencia de estructuras como arbuscúlos e hifas en las raíces de las plantas de caña (Figura 29) tuvo un aumento significativo en el porcentaje de colonización. Los arbuscúlos, esporas y vesículas en la raíz indican una alta actividad metabólica y actividades altamente simbióticas de los hongos en la interacción planta-hongo (Kumalawati *et al.*, 2014).

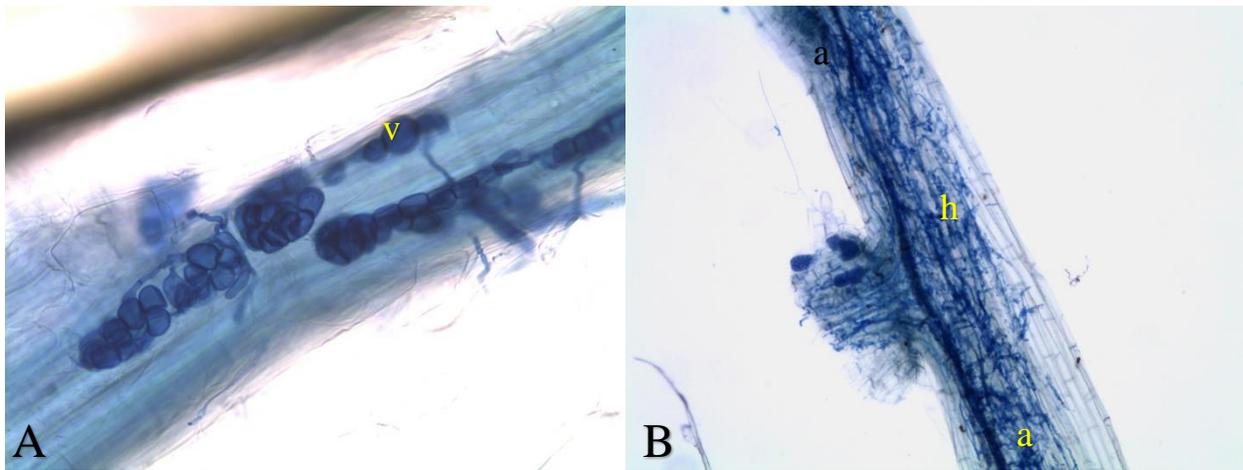


Figura 29 Colonización de HMA en plantas de caña de azúcar. A) Segmento de raíz con presencia de vesículas (v). B) segmento de raíz con hifas (h) y arbuscúlos (a)

7.3.2. Evaluación de la aplicación de HMA y *F. andiyazi* en plantas de caña de azúcar

Las plantas de caña de azúcar mostraron algunas diferencias en las variables analizadas a partir de los 60 días. Se evaluó el desarrollo de las plantas que fueron inoculadas con HMA y *F. andiyazi* se analizaron las variables de altura, diámetro de tallos, número de tallos, longitud de raíces, peso fresco y peso seco de raíces. De acuerdo con el análisis estadístico, en la variable de longitud de raíces se observaron diferencias estadísticamente significativas $P < 0.05$. La producción de biomasa radical se incrementó cuando se aplicaron los HMA en caña de azúcar. El análisis de medias mostró que el mejor tratamiento fue el T3 (*A. lacunosa*) con 42.58 cm, mientras que el T16 (Testigo) obtuvo el valor más bajo con 28.13 cm (Figura 30).

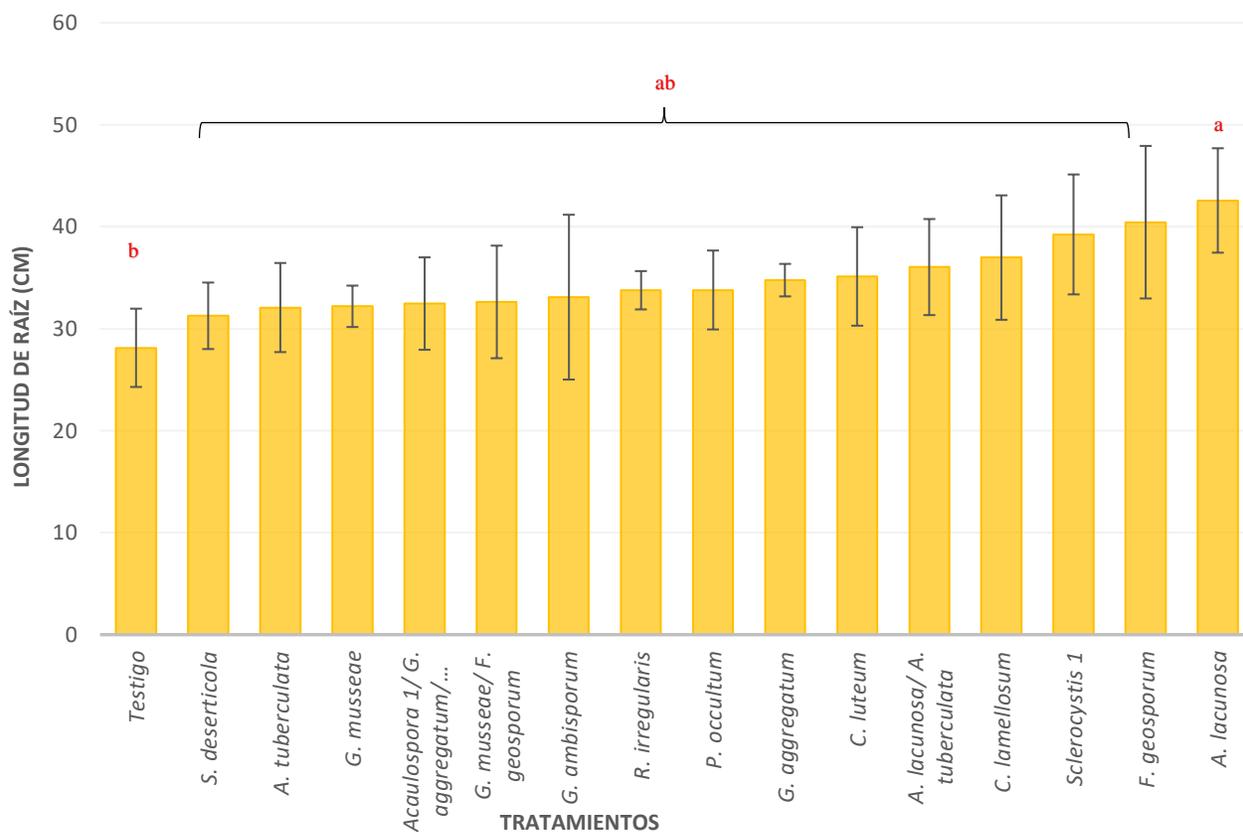


Figura 30. Efecto de la inoculación de HMA y *F. andiyazi* en la longitud de raíz de plantas de caña de azúcar en el Bioensayo 2 (media \pm desviación estándar). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos de acuerdo con la prueba Tukey ($P < 0.05$), C.V. = 16.28.

La aplicación de HMA tuvo un efecto significativo en la biomasa radical que coincide con lo reportado por otros autores. Olowe *et al.* (2018) obtuvieron efectos positivos en la producción de biomasa en plantas de maíz que fueron inoculadas con HMA y con el patógeno *Fusarium verticillioides*. *G. deserticola* tuvo efectos significativos en la altura de la planta, mientras que *Glomus clarum* mostró un mejor rendimiento en el número de hojas; por otro lado, los resultados obtenidos por Ren *et al.* (2015), en plantas de sandía inoculadas con HMA y *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, observaron que al aplicar inóculo micorrízico hubo un aumento en el peso seco de raíces y peso seco de los brotes, este efecto positivo es explicado por el aumento en la colonización de estructuras fúngicas de los HMA en las raíces lo que reduce un 89.3% la infección.

7.4. Evaluación del grado de la enfermedad inducido por *F. andiyazi* en plantas de caña de azúcar micorrizadas

Las plantas del tratamiento testigo, presentaron algunos síntomas característicos de la enfermedad de marchitez, tales como flacidez de las hojas y una ligera clorosis después de los 30 días de la inoculación con el patógeno, lo que concuerda con lo descrito por Martínez-Jaimes *et al.* (2014). En contraste en los tratamientos con las plantas previamente inoculadas con HMA y a las cuales posteriormente se les aplicó el patógeno solo desarrollaron una ligera clorosis en el follaje.

En todos los tratamientos se presentó al menos una planta que tenía síntomas de enfermedad. De acuerdo con la escala de Asran y Bachanauer (2013), las plantas con los diferentes tratamientos de HMA presentaron el nivel 1 de daño en las raíces, en contraste en el tratamiento testigo se desarrolló el nivel 2 de daño. Las plantas de los tratamientos del 1 al 15 presentaron el nivel de daño 1 que indica de 0 a 25% de daño radical. Al analizar el daño producido en las raíces por cada tratamiento, se obtuvo que los tratamientos que presentaron menos plantas con problemas en las raíces fueron el T2 (*C. lamellosum*), T6 (*R. irregularis*), T9 (*Acaulospora* 1/ *G. aggregatum*/*Sclerocystis* 2), T12 (*Sclerocystis* 1), T13 (*G. mosseae*) y 15 (*F. geosporum*) (Figura 31). El tratamiento que presentó sólo una planta con daño radical fue el T5 (*G. ambisporum*,) por lo tanto es el tratamiento más exitoso para reducir los daños ocasionados por *F. andiyazi* en las raíces de caña de azúcar.

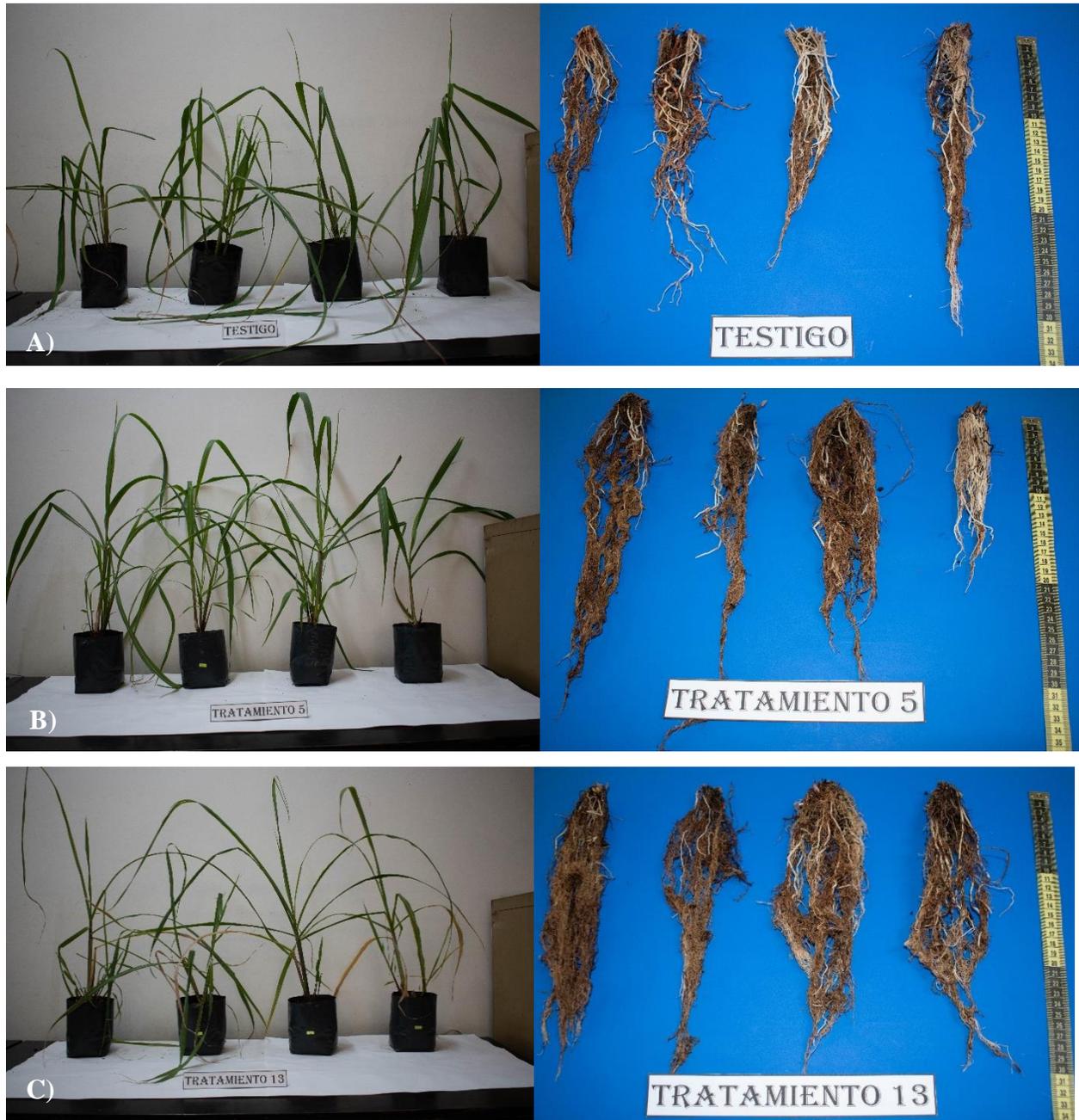


Figura 31. Tratamientos de HMA inoculadas con *Fusarium andiyazi*. A) Plantas testigo mostrando flacidez de follaje y raíces con nivel de daño 2. B) Plantas con el tratamiento 5 mostrando ligera clorosis en hojas y raíces con nivel de daño 1 C) Plantas con el tratamiento 13 mostrando ligera clorosis en hojas y raíces con nivel de daño 1.

Nuestros resultados difieren con lo reportado por Garmendia *et al.* (2004) quienes evaluaron tres especies de *Glomus* (*G. mosseae*, *G. intraradicens* y *G. deserticola*) como agentes de biocontrol en raíces de *Capsicum annuum* contra la infección de *Verticillium dahliae*, observando que la efectividad fue variable de acuerdo con la especie. Con *G. mosseae* y *G. intraradicens* las plantas micorrizadas presentaron mayores daños que las no micorrizadas con excepción de *G. deserticola*.

Los resultados obtenidos en este estudio indican que en las plantas de caña de azúcar micorrizadas se reduce el nivel de daño de la enfermedad causada por *F. andiyazi*, que es uno de los patógenos principales de este cultivo. Este efecto benéfico de los HMA coincide con lo que se ha observado en otras plantas, tales como el agave contra el patógeno *F. oxysporum* (Trinidad-Cruz *et al.*, 2017) y en fresa (Yannan *et al.*, 2015).

8. CONCLUSIONES

- Se identificaron ocho géneros de HMA asociados a la rizosfera de caña de azúcar (*Acaulospora*, *Claroideoglosum*, *Funneliformis*, *Glomus*, *Paraglosum*, *Rhizophagus*, *Septoglosum* y *Sclerocystis*), siendo los géneros *Acaulospora* y *Glomus* los más abundantes.
- La mayor riqueza de especies fue de 15 y la menor fue de 7, las morfoespecies que se presentaron en mayor abundancia fueron *Claroideoglosum lamellosum* (19.76%) y *Acaulospora lacunosa*. (16.40%).
- La aplicación de *A. lacunosa* /*A. tuberculata* y *G. mosseae*/*F. geosporum* en caña de azúcar produjo un incremento en la biomasa radical y foliar.
- La colonización de raíces fue mayor con el tratamiento de *G. aggregatum* con 93.3%.
- Las plantas inoculadas con HMA tuvieron menor incidencia de daños en las raíces ocasionados por *F. andiyazi*.
- La aplicación de *A. lacunosa* en caña de azúcar presentó mayor efectividad en la producción de biomasa en raíces inoculadas con *F. andiyazi*.
- *G. ambisporum* redujo en mayor grado la infección de *F. andiyazi* en las raíces de caña de azúcar.

PERSPECTIVAS

Los datos obtenidos en el presente trabajo son importantes para futuras investigaciones que sigan encaminándose en evaluar el efecto para el desarrollo de las plantas de caña de azúcar con y sin presencia de patógenos, que complementaria el desarrollo de la aplicación selectiva de estos organismos en campo.

Establecer un cepario de estas especies con el fin de reproducirlas para ser evaluadas en otras plantas de interés económico

9. LITERATURA CITADA

- Azevedo, L.C.B., Stürmer, S.L and Rodrigues, M. (2014). Early changes in arbuscular mycorrhizal development in sugarcane under two harvest management systems. *Brazilian Journal of Microbiology*. 45(3): 995-1005.
- Agrios, N.G. (2005). Fitopatología. Quinta reimpresión. Editorial Limusa, México, D.F.
- Aguilar-Rivera, N., Rodríguez, A. D., Enríquez, V., Castillo, A and Herrera, S. (2012). The mexican sugarcane industry: overview, constraints, current status and long-term trends. *Sugar Tech*. 14(3): 207-222.
- Alarcón, A. (2007). Micorriza arbuscular. Ferrato-Cerrato, R y Alarcón, A. Microbiología agrícola: Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico y planta-microorganismo. 1ª (Ed). México: Editorial Trillas
- Alarcón, A. (2012). Diversity and Agricultural applications of arbuscular mycorrhizal fungi in México. *Journal of Biofertilizer & Biopesticides*. 3(1): 1-15.
- Álvarez-Sánchez, J y Peña, J.C.B. (2009). La micorriza arbuscular como una herramienta en la restauración ecológica. Álvarez, F.J.S. (Ed). Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas. 1ª ed. Las prensas de ciencias. México. D.F. 7-15.
- Asran, M.R and Buchenauer, H. (2013). Pathogenicity of *Fusarium graminearum* isolates on maize (*Zea mays* L.) cultivars and relation with deoxynivalenol and ergosterol contents. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 110(3), 2009-2019.
- Bagyaraj, J.D y Stürmer, S.L. (2012). Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA). Moreira, F.M.S., Huisling, E.J and Bignell, D.E. (Ed). 1st (Ed). Manual de biología de suelos tropicales. 217-241. México, D.F: Instituto Nacional de Ecología.
- Barrer, S. (2009). El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Ciencias Agropecuarias*. 7(1): 123-132.
- Camargo-Ricalde, S.L. (2008). Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares asociados a la diversidad de plantas. Montaña, N.M.A., Camargo-Ricalde, S.L., García, R.S y Monroy, A.A. (Ed). Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. 1ª (Ed). 27-37. México, D.F.: Mundi Prensa México, S.A. de C.V.
- CONADESUCA. (2015). Ficha técnica del cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). Comité Nacional para el desarrollo sustentable de la caña de azúcar. En línea. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/141823/Ficha_Tcnica_Ca_a_de_Az_c_ar

- CONADESUCA. (2016). Identificación de paquetes tecnológicos para el cultivo de caña de azúcar en las regiones cañeras de México. En línea. Disponible en <http://www.gob.mx/conadesuca/documentos/paquetestecnologicos89340?state=published>.
- Datta, P and Kulkarni, M. (2012). Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in sugarcane rhizosphere in relation with soil properties. *Not Sci Biol.* 4(1): 66-74.
- Dal Prá, M., y Tonti, A. (2010). First report of *Fusarium andiyazi* associated with rice bakanae in Italy. *The American Phytopathological Society.* 94(8): 1070-1082.
- FAO. (2012). Perspectivas para el medio ambiente. Agricultura y medio ambiente. Roma, Italia.
- Flores, C. S. (1997). Las enfermedades de la caña de azúcar en México. Edit. Nuñez. Cordoba, Veracruz, México: 285.
- García-Sánchez, R., Monroy, A. y Chimal, E. (2008). Hongos micorrizógenos arbusculares asociados a diferentes plantas y matorrales del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. Montaña, N., Camargo, S.L., García, R y Monroy, A. (Ed). Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. 125-135. México, D.F.: Mundi Prensa México, S.A. de C.V.
- Garmendia, I., Goicoechea, N and Aguirreolea, J. (2004). Effectiveness of three *Glomus* species in protecting pepper (*capsicum annum L.*) against verticillium wilt. *Biological control.* 31: 296-305.
- Gerdermann, J.W. and Nicholson, H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extract from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British mycological society* 46:235-244.
- González-Chávez, M.C.A., Alarcón, A y Ferrera-Cerrato, R. (2008). Biodiversidad funcional de los hongos micorrizicos arbusculares en zonas áridas y semiáridas. Montaña, N.M.A., Camargo-Ricalde, S.L., García, R.S y Monroy, A.A. (Ed). Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. 1ª (Ed). 13-19 México, D.F.: Mundi Prensa México, S.A. de C.V.
- Gómez-Merino, F.C., Trejo-Téllez, L.I., Perez-Sato, J.A., Senties-Herrera, H.E., Bello-Bello, J.J y Aguilar-Rivera, N. (2018). La Diversificación de la agroindustria azucarera como estrategia para México. *Agroproductividad.* 10(11): 7-12.
- Gopal, S., Ramasamy, K., Kim, K and Sa, T. (2016). Propagation technique of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from coastal reclamation land. *Europ Jour of Soil Biol.* 74; 39-44.
- Grageda-Cabrera, O., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J.J y Vera-Nuñez, J.A. (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas,* 3(6), 1261-1274.

- Herrera-Monroy, S., Castro-Brindis, R., Pérez-Moreno, J and Valdés-Velarde, E. (2019). Endomycorrhizal diversity in coffee plants (*Coffea arabica* L.) infected with rust (*Hemileia vastatrix*). *Nova Scientia*. 22(11): 102-123.
- Hsuan, H., Baharuddin, M., and Zakaria, S. L. (2011). Molecular identification of *Fusarium* species in *Gibberella fujikuroi* species complex from rice, sugarcane, and maize from Peninsular Malaysia. *International Journal of Molecular Sciences* 12: 6722-6732
- Infante, D., Martínez, B., Gonzáles, N., Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de producción vegetal*. 24(1), 14-21.
- INVAM. International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Endomycorrhizal Fungi: (www.invam.caf.wvu.edu).
- Jiao, H., Chen, Y., Lin, X. and Liu, R. (2011). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in greenhouse soils continuously planted to watermelon in North China. *Mycorrhiza* 21, 681–688.
- Juntahum, S., Jongrungklang, N., Kaewpradit, W., Lumyong, S and Boonlue, S. (2020). Impact of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on growth and productivity of sugarcane under field conditions. *Sugar Tech*. 22: 451-459.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F and Nagy, E. (2003). Influence of Environmental Parameters on *Trichoderma* strain with biocontrol potential. *Food Technol*. 41(1): 37-42.
- Kariman, K.H., Mohammadi-Goltapeh, E and Minassian, V. (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi from Irán. *Jour of Agric Tech*. 1(2); 301-313.
- Kumalawati, Z., Musa, Y., Amin, N., Asrul, L and Ridwan, I. 2014. Exploitation of arbuscular mycorrhizal fungi from sugarcane rhizosphere in south Sulawesi. *International Journal of Scientific & Technology Research*. 3(1): 201-203.
- Lazcano, E y Varela, L. (2009). Cultivo de hongos micorrizógenos arbusculares: hacia la producción de inoculantes. Álvarez-Sánchez, F.J. *Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas*. 1ª ed. Las prensas de ciencias. México, D. F. 347-361.
- Leslie, J.F. y Summerell, A.B. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing.
- Li, W., Fang, M., Shujuan, Z and Xue, Z. (2012). Effect of *Glomus mosseae* inoculation on growth and reproduction of rice. Zhu, E and Sambath, S (eds). *Information Technology and Agricultural Engineering*. Advances in intelligent and soft computing, vol 134. Springer, Berlin, Heidelberg.

- Martínez-Fernández, E., Martínez-Jaimes, P., Guillen, D., Peña-Chora, G y Hernández-Hernández, V. (2015). Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Micología*. 42. 33-43.
- Martínez-Jaimes, P. (2014). Especies de *Fusarium* causantes de la necrosis de raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. (Tesis de maestría en ciencias). Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Martínez-Jaimes, P., Martínez-Fernández, E., Guillen, D., Peña-Chora, G y Hernández-Hernández, V. (2020). Necrosis de la raíz de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). *Acta Agrícola y Pecuaria*. 6: 1-9.
- Monte, E. (2001). Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *Int. Microbiol.* 4(1). 1-4.
- Moreira, F.M.S. Huising, E.J y Bignell, D.E. (2012). Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo. Instituto Nacional de Ecología. México: 37-50.
- Olowe, O.M., Olawuyi, O.J., Sobowale, A.A and Odebode, A.C. (2018). Role of arbuscular mycorrhizal fungi as biocontrol agents against *Fusarium verticillioides* causing ear rot of *Zea mays* L. (Maize). *Current PlantBiology*. 15: 30-37.
- Pal, K.K and Gardener, B.M. (2006). Biological control of plant pathogens. *The plant health*. 2: 1-25.
- Parra-Acosta, H y Martínez-Tapia, M.E. (2019). Estudio sobre el uso de plaguicidas y su posible relación con daños a la salud. *Rev. Toxicología*. 36: 148-153.
- Pérez, and Schenck, N.C. (1990). A unique code for each species of VA mycorrhizal fungi. *Mycologia* 82:256–260.
- Pérez-Luna, Y.C., Cuevas, L. (2011). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana Bot.* 69(1);46-56.
- Pfenning, H. L and Magalhaes, L.D.A. (2012). Hongos del suelo saprofitos y patógenos de plantas. Moreira, F.M.S., Huising, E.J and Bignell, D.E. Manual de biología de suelos tropicales. 1st (Ed). 243-255. México, D.F: Instituto Nacional de Ecología
- Phillips, J.M. and Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment to infection. *Transactions British Mycological Society* 55,158-161.

- Ramírez-Gómez, M y Rodríguez, A. (2012). Mecanismo de defenza y respuesta de las plantas en la interacción micorrícica: una revisión. *Rev. Colomb. Biotechnol.* 14(1):271-284.
- Raya-Montaño, Y.A., Apérez-Barrios, P., Aguirre Peleo, S., Vargas-Sandoval, M., Paz Da Silva, R., Lara-Chávez, M.B.N. (2019). Identificación de hongos micorrizógenos arbusculares en huertos de aguacate de Uruapan, Michoacán. *Rev Mex Cien Agrop.*
- Ren, L., Zhang, N., Wu, P., Huo, H., Xu, G and Wu, G. 2015. Arbuscular mycorrhizal colonization alleviates *Fusarium* wilt in watermelon and modulates the composition of root exudates. *Plant Growth Regul.* 77, 77-85.
- Robles, C., Robles-Martínez, M.L. y Monroy-Díaz, F.B. (2008). Crecimiento y nutrición del maguey mezcalero (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de micorrización arbuscular. Montaño, N.M., Camargo, S.L., García, R. y Monroy, A. (Ed). *Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos*. México. S.A de C.V. México, D.F: Mundi Prensa
- Rojas-Martínez, L. 2014. Respuesta del cultivo de pimentón (*Capsicum annuum*) a la inoculación con *Glomus manihotis* y *Acaulospora lacunosa* en suelo con niveles alto de Fósforo. *Respuestas.* 19(1):27-38.
- Saba, H., Vibhash, D., Manisha, M., Prashant, K.S., Farhan, H and Tauseef, A. (2012). *Trichoderma*-a promising plant grown stimulator and biocontrol agent. *Mycosphere.* 3(4): 524-531.
- Salgado, S., Lagunas, L. C., Núñez, R., Ortiz, C. F., Bucio, L y Aranda, E. M. (2012). Caña de azúcar: Producción sustentable. Texcoco, Estado de México: Editorial del Colegio de posgraduados.
- Salgado-García, S., Castelán-Estrada, M., Jiménez-Jerónimo, R., Gómez-Leyva, J.F., Osorio-Miranda, M. (2014). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en suelos cultivados con caña de azúcar en la región de Chontalpa, Tabasco. *Rev Mex Micol.* 40; 7-16.
- Sánchez-Lizárraga, A.L., Dendooven, L., Marino-Marmolejo, E.N., Dávila-Vázquez, G., Hernández-Cuevas, L., Arenas-Montaño, V and Contreras-Ramos, S.M. (2017). Presence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in soil regularly irrigated with vinasses. *Jour. Of Soil Sci. and Plant Nutrition.* 17(4): 1116-1129.
- Schüßler, A and Walker, C. 2010. The Glomeromycota. species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlun Munich and Oregon, 1-56.
- Selmaoui, K., Artib, M., Semane, F., El Gabardi, S., Hibilik, N., El Aymani, I., Chliyeh, M. Douira, A. (2017). Diversity of endomycorrhizal fungi (AMF) in the rhizosphere of sugar cane (*Saccharum officinarum*) grown in Morocco. *Int Jour Rec Sci Research.* 8(2): 15753-15761.

- SIAP. (2020). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SAGARPA. Avance de siembras y cosechas perennes, riego + temporal, 31 de marzo 2019. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do
- Sierra-Díaz, E., Celis-de la Rosa, A., Lozano-Kasten, F., Trasande, L., Peregrina-Lucano, A.A., Sandoval-Pinto, E. and Gonzales-Chavez, H. (2019). Urinary pesticide levels in children and adolescents residing in two agricultural communities in Mexico. *Int. J. of Envirom. Res. and Pub. Health.* 16:562; 2-8.
- Sivakumar, N. (2013). Effect of edaphic and seasonal variation on spore density and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in sugarcane fields. *Ann. Microbiol.* 63: 151-160.
- Smith, S.E and Read, D. (2008). Colonization of root and anatomy of arbuscular mycorrhiza. Mycorrhizal symbiosis. (Third ed) Adaleida, Australia. Academic Press.42-46.
- Soria, A., Reyes, E.M., Occeguera, C, Zenaida, A y Pereira, M. 2001. Micorrización de plantas micropropagadas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). *Agric. Tec.* (online). 61(4), 436-443.
- Souza, T. (2015). Handbook of arbuscular mycorrhizal fungi. Switzerland. Paraíba, Brasil: Springer International Publishing.
- Srikumar, R., Murugaian, P and Thangaraj, R. (2009). Survey of arbuscular mycorrhizal fungi-associated with sugarcane in of south india. *Agric. Sci. Digigest.* 29(2):19-22.
- Suresh, N and Nelson, R. (2015). Diversity of Arbuscular Mycorrhizal fungi (AMF) in the rhizosphere of sugarcane. *Eurp. Jour. Exp. Biol.* 5(3): 13-19.
- Tahat, M.M., Sijam, K. and Othman, R. (2010). Mycorrhizal fungi as a Biocontrol agent. *Plant Pathology Journal.* 9(4), 198-207.
- Tahuico-Reyes, J. (2005). Respuesta de caña de azúcar a la inoculación con micorrizas vesículo-arbusculares en el Ingenio Tres Valles, Honduras. Tesis de licenciatura. Zamorano, Honduras.
- Trinidad-Cruz, J-R., Quiñones-Aguilar, E.E., Rincón-Enriquez, G. (2017). Mycorrhization of *Agave cupreata* Biocontrol of *Fusarium oxysporum* and plant grow promotion. *Revista Mexicana de Fitopatologia.* 35(2). 151-169.
- Varela, L y Trejo, D. (2001). Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. *Acta Zool. Mex.* 1: 39-51.
- Vásquez-Ramírez, L.M. y Castaño-Zapata, J. (2017). Manejo integrado de la marchitez vascular del tomate [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (SACC.) W.C. SNYDER & H.N.

HANSEN]: una revision. *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica* 20(2), 363-374.

Vishwakarma S. K., Kumar, P., Nigam, A., Singh, A., y Kumar, A. (2013). Pokkah Boeng: an emerging disease of sugarcane. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*. 4 (170): 2.

Viswanathan, R., Balaji, C. G., Selvakumar, R., Ramesh-Sundar, A., Naveen-Prasanth, C., and Parameswari, B. (2017). Epidemiology of *Fusarium sacchari* causing two distinct diseases, wilt and Pokkah Boeng. *Society for Sugar Tech* 19(6), 638-646.

Wilches-Ortiz, W. A., Ramírez-Gómez, M. M., Pérez-Moncada, U. A., Serralde-Ordoñez, D. P., Peñaranda-Rolon, A. M y Ramírez, L. (2019). Asociación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) con plantas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) para la producción de panela en Colombia. *Terra Latinoamericana* 37: 175-184

Yuttavanichakul, W., Teamtisong, K., Teamtisong N., Boonkerd, N and Tittaburt, P. (2018). *Brevibacillus* sp. Promotes maize root colonization by *Acaulospora tuberculata* and the alteration of associates plant protein responses. *Journal Plant Interactions*. 13(1): 543-554.

APÉNDICES

Guía de colores de esporas de Hongos Micorrízicos Arbusculares

Clasificación por color de esporas de Hongos Micorrizas Arbusculares (HMA), INVAM



Fórmulas para la preparación de reactivos

PVLG (Polivinil- Lacto-Glicerol)

Reactivo	Cantidad
Alcohol polivinílico (20-25 viscosidad en solución acuosa al 4%)	16.6 g
Agua	100 ml
Ácido láctico	100 ml
Glicerol	10 ml

Agregar a un matraz de vidrio 100 ml de agua y el alcohol polivinílico. Poner en autoclave a 15 lb de presión durante 15 minutos. Dejar reposar durante 24 horas antes de usarse

Lactoglicerol

Reactivo	Cantidad
Ácido láctico	25 ml
Agua	25 ml
Glicerol	50 ml

En un recipiente se colocan el ácido láctico, el glicerol y el agua (todo se mezcla)

Medios de cultivo

Medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA)

Reactivo	Cantidad	Unidad
PDA	39	g
Agua estéril	1	L

Medio de cultivo Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA)

Reactivo	Cantidad	Unidad
KH ₂ PO ₄	1	g
KNO ₃	1	g
MgSO ₄ *7H ₂ O	0.5	g
KCl	0.5	g
Glucosa	2	g
Sacarosa	0.2	g
Agar	20	g
Agua estéril	1	L

Análisis de Varianza de las variables en el primer bioensayo

Diámetro de tallos

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P
TRATAMIENTO	15	1.053	0.07019	1.92	0.060
ERROR	32	1.172	0.03663		
TOTAL	47	2.225			

Longitud de raíz

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P
TRATAMIENTO	15	732.5	48.84	2.06	0.042
ERROR	32	758.0	23.69		
TOTAL	47	1490.5			

Peso seco de raíz

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P
TRATAMIENTO	15	343.3	22.89	2.10	0.039
ERROR	32	10.91			
TOTAL	47	692.4			

Análisis de Varianza de las variables en el segundo bioensayo

Altura

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P
TRATAMIENTO	15	4061	270.7	1.33	0.224
ERROR	46	9360	203.5		
TOTAL	61	13421			

Diámetro de tallos

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P
TRATAMIENTO	15	0.6909	0.04606	1.65	0.097
ERROR	46	1.2846	0.02793		
TOTAL	61	1.9755			

Peso fresco de raíces

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P
TRATAMIENTO	15	1233	82.18	2.00	0.036
ERROR	46	1887	41.03		
TOTAL	61	3120			

Peso seco de raíces

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P
TRATAMIENTO	15	169.2	11.278	1.94	0.043
ERROR	46	267.5	5.814		
TOTAL	61	436.6			

Variables analizadas en el Bioensayo 1

TRATAMIENTO	DIAMETRO	# TALLOS	LONGITUD DE RAIZ	PESO SECO DE RAÍZ
T1	1.637 a	1.98 a	36.17 a	7.07 a
T2	1.10 a	1.48 a	33 a	1.96 a
T3	1.06 a	1.71 a	39.03 a	9.13 a
T4	1.26 a	1.80 a	34.70 a	10.80 a
T5	1.33 a	1.13 a	34.90 a	7.70 a
T6	1.26 a	1.38 a	42.27 a	3.93 a
T7	1.36 a	1.24 a	37.27 a	4.53 a
T8	1.53 a	1.48 a	42.50 a	3.86 a
T9	1.20 a	1.68 a	36.37 a	2.53 a
T10	1.26 a	1.82 a	34.93 a	2.36 a
T11	1.40 a	1.95 a	42.17 a	8.67 a
T12	1.33 a	1.24 a	35.67 a	2.30 a
T13	1.33 a	1.24 a	35.50 a	4.30 a
T14	1.26 a	1.38 a	32.33 a	5.67 a
T15	1.36 a	1.41 a	43.37 a	6.47 a
T16	1.26 a	1 a	23.36 a	2.86 a

Variables analizadas en el Bioensayo 2

TRATAMIENTO	ALTURA	# TALLOS	DIAMETRO	PESO FRESCO	PESO SECO
T1	109.32 a	1.47 a	1.02 a	18.10 a	2.45 a
T2	95.52 a	1.28 a	0.90 a	9.42 a	1.52 a
T3	99.52 a	1.31 a	1.05 a	11.85 a	2.47 a
T4	112.20 a	1.28 a	1.00 a	13.45 a	4.00 a
T5	112.72 a	1.47 a	1.12 a	19.68 a	7.20 a
T6	117.25 a	1.10 a	0.92 a	16.05 a	4.65 a
T7	109.40 a	1.53 a	1.07 a	19.20 a	6.88 a
T8	94.90 a	1.13 a	1.03 a	15.47 a	3.16 a
T9	94.80 a	1.27 a	0.72 a	11.63 a	2.56 a
T10	93.10 a	1.36 a	0.98 a	19.52 a	5.15 a
T11	113.28 a	1.45 a	1.12 a	24.60 a	3.62 a
T12	99.53 a	1.10 a	0.96 a	10.28 a	2.30 a
T13	103.30 a	1.28 a	1.18 a	22.35 a	4.88 a
T14	97.30 a	1.20 a	1.15 a	18.90 a	3.77 a
T15	116.72 a	1.39 a	1.02 a	15.10 a	3.42 a
T16	103.77 a	1.10 a	0.93 a	10.52 a	1.57 a



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 25 de mayo del 2021.

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (director de tesis CEIB UAEM)

Dr. Edgar Martínez Fernández (codirector de tesis CIB UAEM)

Dra. Maura Téllez Téllez (CIB UAEM)

Dra. Verónica Obregón Barboza (CEIB UAEM)

Dr. Jorge Luis Folch Malloí (CEIB UAEM)

Tesis: **“Evaluación de micorrizas arbusculares nativas del estado de Morelos en el desarrollo de plantas de caña de azúcar y en el biocontrol de *Fusarium andiyazi*”**

Alumno que lo presenta a revisión: **María Eugenia Rodríguez Luqueño**

Programa: **Maestría en Biotecnología**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es

APROBADO

ATENTAMENTE

DR. VÍCTOR MANUEL HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

VICTOR MANUEL HERNANDEZ VELAZQUEZ | Fecha:2021-05-26 10:20:16 | Firmante

Jui0Q1kehE3Cm42LbHq81V9LHRGvEMW2LSsUo/78gyE0sVZmHRerGdvueRfOnQPEDfIUjkOGI21qhBfrKiNr4U28xBL496w0CYLAGhBmKUKoxgtSQShdOpHhkxbxRH5Zs53+XCq+AnObDNK7IRq1ub6OR5uaTSM392QFS26BfKoiOVRuZWOJMLx6s1G/hs0BEeH/q8Z1+bgWYH5xXMvHawr55GTXSfZ5HBm0t7BFCZzvnNnzExpDHZIXjamHjmRaWEsud0ZDjJrcED8G9ttwGybzVRMjQNvWgLeFFeWMV8/SKI7+WptKkpt6VAvc9IPRiqsOekEgpdZ05s+niSkMQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[qZvbXO](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/hwMx9eH0dHtoLWjbPkABSztpyaqN38Wp>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 25 de mayo del 2021.

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (director de tesis CEIB UAEM)

Dr. Edgar Martínez Fernández (codirector de tesis CIB UAEM)

Dra. Maura Téllez Téllez (CIB UAEM)

Dra. Verónica Obregón Barboza (CEIB UAEM)

Dr. Jorge Luis Folch Malloí (CEIB UAEM)

Tesis: **“Evaluación de micorrizas arbusculares nativas del estado de Morelos en el desarrollo de plantas de caña de azúcar y en el biocontrol de *Fusarium andiyazi*”**

Alumno que lo presenta a revisión: **María Eugenia Rodríguez Luqueño**

Programa: **Maestría en Biotecnología**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es

APROBADO

ATENTAMENTE

DR. EDGAR MARTÍNEZ FERNÁNDEZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

EDGAR MARTINEZ FERNANDEZ | Fecha:2021-05-25 14:25:35 | Firmante

np+8x7QA3bM/ajBgv356Jauz7kaBhNpEVarjPjnCsmMnh8xkCBjDrOBeDm8i1Y9M/M+yKbbRo2ThgCqOgj/UV2w9PkcQs33Twpq4xOi0269GsZgGB3pgbpX4FeMxV/YXvw9TtAN
tffXTh8LkGmtJIR91e1BIHPjiOf1Vf2Bvv9snSUnKU8eGYyThYDLGm4D31v6ygiRCJpHPnMJXshmVhP6GNRwUBA/KrvLoxKtwVG6edJilksNFdkMOXNUE1JsAZNIjM4EyHNYW
C8TVzEBFmg06bxCo5+KB6r9KWYpummvoTGdpJw7qixfZ9XdWKeVD6RTZXW/hSFHiv/iUjHVw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[qm5BhF](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/FNLH1QpnZldbPZz5c9mxHCQe0QVbckW9>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 25 de mayo del 2021.

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (director de tesis CEIB UAEM)

Dr. Edgar Martínez Fernández (codirector de tesis CIB UAEM)

Dra. Maura Téllez Téllez (CIB UAEM)

Dra. Verónica Obregón Barboza (CEIB UAEM)

Dr. Jorge Luis Folch Malloí (CEIB UAEM)

Tesis: **“Evaluación de micorrizas arbusculares nativas del estado de Morelos en el desarrollo de plantas de caña de azúcar y en el biocontrol de *Fusarium andiyazi*”**

Alumno que lo presenta a revisión: **María Eugenia Rodríguez Luqueño**

Programa: **Maestría en Biotecnología**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es

APROBADO

ATENTAMENTE

DRA. MAURA TÉLLEZ TÉLLEZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MAURA TELLEZ TELLEZ | Fecha:2021-05-26 10:54:40 | Firmante

OKQIBJEhMDSGPmaXQKBjvzFQ1WkwQV1Y43wXWDJODT9vkOLhZfeNI4VD1QMqsZFegdfn3MJsNwktu8bypK/o/IZY3f0UL9hjzpy8NCNCKOo6jfz+ja7Bt0zG37BZvWwdlNS65ZCojYfP/8J92C5R+q1TQ/xomcxmAclWQu9efvcnWOpmm8Vv7gu+aWCrIrawFcAuCp5i3l5SoVZxHm3gDb72Cq3HfGPFBxaBKxaGEcwDyErl7J8SweHLt4SRFHLzWKvPPPEK6J/5wta7eZFvS4fkagRbFAek0wZbn8ONTs+T6lQq8i8E6yY3lVZkOC4fPR+ztnJ/FFQrmz4c0w4qg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[LbE6WH](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/OCbrOEavzqOtp24e7Vkn9RAqHY9TtzMo>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 25 de mayo del 2021.

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (director de tesis CEIB UAEM)

Dr. Edgar Martínez Fernández (codirector de tesis CIB UAEM)

Dra. Maura Téllez Téllez (CIB UAEM)

Dra. Verónica Obregón Barboza (CEIB UAEM)

Dr. Jorge Luis Folch Malloí (CEIB UAEM)

Tesis: **“Evaluación de micorrizas arbusculares nativas del estado de Morelos en el desarrollo de plantas de caña de azúcar y en el biocontrol de *Fusarium andiyazi*”**

Alumno que lo presenta a revisión: **María Eugenia Rodríguez Luqueño**

Programa: **Maestría en Biotecnología**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es

APROBADO

ATENTAMENTE

DRA. VERÓNICA OBREGÓN BARBOZA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

VERONICA OBREGON BARBOZA | Fecha:2021-05-27 12:29:14 | Firmante

qnKbwIDxEshIFDdxd3qSxDb/bmpRkJWp1BLw38j0XHvxUIDNGFCm05mOCO+9gyQlkOZ+cOHmx/ENTQTqEDIB3SqjpSIac18ibpNte9SQjxEAH97H/gcabkYHAztHUODj6Luqq1+2TKftqj3x9fjWDBtZkZ8aLaR26zmQEsl/+ERnj9p4fDx/KE+Fyhv3joEe7Ui/AjK4pc+/v/G5oHRk11kFKLclyEcmH677urq31WlhlomO46y0+nQW/OqEWi22OC+JY8y13u8fUWZQLwO rnWWaC42ev9lff6SFTUJHcVN0slvZQEcNhrUIGJB4F+G5XDtpfRye3DZwLcTXRGxg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



MHbkw2

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/T5YmGIhwiHZcL3M8BkmAEop1UnsBeNqo>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 25 de mayo del 2021.

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez (director de tesis CEIB UAEM)

Dr. Edgar Martínez Fernández (codirector de tesis CIB UAEM)

Dra. Maura Téllez Téllez (CIB UAEM)

Dra. Verónica Obregón Barboza (CEIB UAEM)

Dr. Jorge Luis Folch Mallol (CEIB UAEM)

Tesis: **“Evaluación de micorrizas arbusculares nativas del estado de Morelos en el desarrollo de plantas de caña de azúcar y en el biocontrol de *Fusarium andiyazi*”**

Alumno que lo presenta a revisión: **María Eugenia Rodríguez Luqueño**

Programa: **Maestría en Biotecnología**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es

APROBADO

ATENTAMENTE

DR. JORGE LUIS FOLCH MALLOL



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JORGE LUIS FOLCH MALLOL | Fecha:2021-05-25 15:26:02 | Firmante

QD2/v6LH1SFYJ1SPQVFSXHdxOna/VJPN8yt+V63vORGAehnO0WRJqNGHdUaOtFQGDdwabVAnHo2mGls87HcpT04S5EWWK7hwNm2UZij3Pvn0ZGIMWIMYF8lvzsJrc5IEzdrb7fSbZLIFZqfJcEOBJh0/zjDTKplewC0cAAxalHoSJ6On9J26VsfKc47lflDPDhgr2zVZdJAWsTONK2yT/JjS9vIIIQSJySQz+dOjhHry99jMFyVmUQbn7upIfEX6ipws6KND3nSHqPKAAKFgPd55KO6vYr2cJpJ4c1YOhjyYqQyI8dWY3Sb7wnH4HCu0Rifa7Y7+U9p/SSxTvmQalQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



L9sIFw

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/stjQMEhhBmVitKofZku9O73E82eL7nqE>

