



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO**



División de Estudios de Posgrado

FACULTAD DE BIOLOGÍA

Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

Área temática: Interacción Planta - Microorganismo – Insecto

**EVALUACIÓN DE DOS SUSTRATOS ORGÁNICOS PARA LA
PROPAGACIÓN DE HONGOS MICORRÍDICOS ARBUSCULARES
NATIVOS Y SU EFECTO EN EL RENDIMIENTO VEGETAL DE
PLANTAS DE ZARZAMORA (*Rubus fruticosus* var. *Tupi*)**

T E S I S

Que como requisito para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS BIÓLOGICAS

Presenta:

IBT. SANDRA ESTEFANÍA GARCÍA RUEDA

Directora de Tesis:

DRA. YAZMÍN CARREÓN ABUD

Morelia, Michoacán, México, Marzo 2019.

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL **LABORATORIO DE GENÉTICA Y MICROBIOLOGÍA** DE LA FACULTAD DE BIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO, BAJO LA DIRECCIÓN DE LA **DRA. YAZMÍN CARREÓN ABUD**, CON EL APOYO FINANCIERO DEL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACyT).



“El misterio es la cosa más bonita que podemos experimentar. Es la fuente de todo arte y ciencia verdadera”

Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS

Mediante estas líneas quiero expresar mi más sincero agradecimiento a las personas que con su soporte científico y humano colaboraron en la realización de este trabajo de investigación.

En primer lugar, a mi asesora de tesis, la **Dra. Yazmín Carreón Abud**, a quien tuve el privilegio de conocer. Por el interés y motivación que me brindó para realizar mis estudios de posgrado logrando convertir en realidad lo que para mí era un sueño. Por su soporte y orientación, pero sobre todo por su apoyo y confianza.

De manera muy especial, agradezco a la **Dra. María de los Angeles Beltrán Nambo**, de quien aprendí en cada día de convivencia. Por cada momento dedicado para aclarar cualquier tipo de duda que me surgiera; por su enseñanza y apoyo incondicional. Por cada actitud que llevo a generar una amistad sincera, muchas gracias.

A los investigadores que formaron parte de mi comité sinodal, **Dr. Miguel Martínez Trujillo**, **Dr. Javier A. Villegas Moreno**, **Dra. Patricia Ríos Chávez** y **Dr. Víctor M. Gómez Reyes**; por cada una de sus observaciones tan acertadas y por el tiempo dedicado a la mejora de este proyecto de investigación.

A mis compañeros de laboratorio, **Juana Rodríguez Morales** y **Aaron G. Munguía Rodríguez**, quienes hicieron que el tiempo de trabajo fuera más ameno. Por los momentos de estrés y alegría compartidos, así como por sus consejos y palabras de ánimo.

¡Gracias!

DEDICATORIAS

A Dios.

Por no soltarme nunca de su mano y darme la inteligencia y fortaleza necesaria para llegar hasta aquí.

A mis padres.

Berta Rueda Pérez y Juan García Torres, por haber fomentado en mi los valores y disciplina requeridos para triunfar en la vida. Por inculcarme el sabio don de la responsabilidad.

A mis hermanos

De quienes recuerdo cada gesto amable y cada palabra de aliento, gracias por permitirme ser ejemplo de superación de sus hijos, quienes alegraron mis días e hicieron los fines de semana más divertidos y aventurados.

A Jasmín.

Por confiar siempre en mi con los ojos cerrados y ofrecerme todo a manos llenas. Esta tesis va hasta el cielo.

A mis amigas.

A quienes me alentaron a seguir mis sueños y luchar por mis ideales. A Jari Jiménez, quien a pesar de la distancia siempre estuvo presente y a pesar del tiempo y las circunstancias siempre tuvo una sonrisa para mejorar el día.

A mi novio.

Francisco J. Medrano Castro, por ser mi pilar de apoyo. Siempre me aconsejaste y me mostraste el mejor camino a seguir. Gracias por detenerme cuando debías y empujarme cuando tuve miedo de seguir mis sueños. Por tu paciencia y entrega y sobre todo por tu amor incondicional. A tus padres, por creer en mi y apoyarme con cada palabra de aliento, gracias por estar en los momentos más difíciles.

¡Los amo ¡

TABLA DE CONTENIDO

INDICE DE TABLAS	i
INDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	15
2. MARCO TEORICO.....	16
2.1. EL SUELO	16
2.1.1. El uso del suelo	18
2.1.2. La materia orgánica del suelo	18
2.1.3. Los microorganismos del suelo.....	20
2.2. ABONOS ORGÁNICOS	21
2.2.1. Bocashi.....	22
2.2.2. Compostas	23
2.3 SIMBIOSIS MICORRÍCICA	24
2.3.1 Desarrollo de la simbiosis	25
2.4 BENEFICIOS DE MICORRIZAS A LAS PLANTAS.....	27
2.5 UTILIZACIÓN DE LOS HMA COMO INOCULANTES MICROBIANOS PARA UNA AGRICULTURA SUSTENTABLE	27
2.6. LA ZARZAMORA	28
2.6.1. Requerimientos agroecológicos.....	30
2.6.2. Distribución del cultivo de Zarzamora	31
3. ANTECEDENTES	32
4. JUSTIFICACIÓN.....	35
5. HIPÓTESIS.....	36
6. OBJETIVOS	37
6.1. OBJETIVO GENERAL.....	37
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
7. MATERIALES Y METODOS.....	38
7.1. FASE 1. OBTENCIÓN DEL INÓCULO DE HMA NATIVO	38
7.2. FASE 2. PROPAGACIÓN DE PLANTA DE ZARZAMORA	39
7.3. FASE 3. ELABORACIÓN DE SUSTRATOS ORGÁNICOS	40

7.3.1. Elaboración de Bocashi.....	40
7.3.2. Elaboración de composta.....	42
7.4. FASE 4. PREPARACIÓN DEL SUELO	42
7.5. FASE 5. INDUCCIÓN DE LA SIMBIOSIS MICORRÍCICA CON PLANTAS DE ZARZAMORA EN SUSTRATOS BASADOS EN ABONOS ORGÁNICOS TIPO BOCASHI Y COMPOSTA.....	43
7.6 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN MICORRÍCICA MEDIANTE TINCIÓN CON AZUL DE TRIPANO (PHILLIPS Y HAYMAN 1970).....	46
7.7. IDENTIFICACIÓN DE LOS HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES.....	48
7.7.1. Extracción de esporas mediante el método de decantación y tamizado en húmedo (Gerdemann y Nicolson, 1963) y flotación en gradiente de sacarosa (Walker, 1997).....	48
7.7.2. Elaboración de preparaciones para la identificación de HMA.....	48
7.7.3. Identificación morfológica de esporas de HMA.	49
8. RESULTADOS	51
8.1. FASE 1. OBTENCIÓN DE INÓCULO DE HMA NATIVO	51
8.2. FASE 2. PROPAGACIÓN DE PLANTAS DE ZARZAMORA (<i>RUBUS FRUTICOSUS</i> VAR. TUPI) POR ESTACA DE RAÍZ.....	52
8.3. FASE 5. INDUCCIÓN DE LA SIMBIOSIS MICORRÍCICA CON PLANTAS DE ZARZAMORA EN SUSTRATOS BASADOS EN ABONOS ORGÁNICOS TIPO BOCASHI Y COMPOSTA.....	53
8.3.1. Variables de propagación micorrícica.....	53
8.3.1.1. Porcentaje de colonización micorrícica.....	53
8.3.1.2. Cantidad de esporas de HMA / 100 g sustrato.....	54
8.3.1.3. Identificación morfológica de esporas de HMA.....	55
8.3.2. Variables fisicoquímicas de los sustratos	65
8.3.2.1. Materia orgánica	65
8.3.2.2. <i>p H</i>	66
8.3.2.3. Parámetros químicos	67
8.3.3. Variables agronómicas.....	68
8.3.3.1. Longitud de raíces.....	68
8.3.3.2. Altura de parte aérea	69
8.3.3.3. Área foliar	71
8.3.3.4. Número de tallos secundarios	72
8.3.3.5. Clorofila	73
8.3.3.6. Biomasa aérea y radical	75
9. DISCUSIÓN	77
10. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	79
11. LITERATURA CITADA.....	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Larson y Pierce, 1991).	17
Tabla 2. Porcentaje de unidades de producción según principales tecnologías agrícolas utilizadas (INEGI, 2017)	19
Tabla 3. Tratamientos experimentales para evaluar el crecimiento vegetativo de Zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i> var. Tupi) inoculada con HMA en combinación con abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta.	45
Tabla 4. Cantidad de esporas encontradas en los 10 diferentes sitios de la zona de cultivo de zarzamora, en Ario de Rosales, Michoacán.	51
Tabla 5. Especies de HMA encontradas en tres tratamientos distintos inoculados con HMA nativo de cultivos de zarzamora y en combinación con dos sustratos orgánicos (Bocashi y Composta).....	61
Tabla 6. Determinación de elementos químicos (Nitrógeno, Fósforo y Potasio) y Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) de seis sustratos utilizados con y sin la combinación de un inoculo nativo de HMA y dos tipos de sustrato orgánico (Bocashi y Composta).....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del suelo determinada por factores como el relieve, el clima, la vegetación, la roca de origen, antigüedad, así como los organismos que viven en él.	17
Figura 2. Rizósfera de las plantas y estructura de una raíz.	20
Figura 3. Porcentaje de unidades de producción que realizan acciones para la protección del medio ambiente (INEGI, 2017).	21
Figura 4. Germinación de espora de HMA y primer contacto con la raíz hospedera para iniciar colonización micorrícica.	25
Figura 5. Proceso para el establecimiento de la simbiosis micorrícica (Parniske, 2008).	26
Figura 6. Plantas de zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i>).	28
Figura 7. Frutos de zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i>).	29
Figura 8. Hojas de zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i>).	29
Figura 9. Flores de zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i>).	30
Figura 10. Sitio de obtención de inóculo nativo de Zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i> var. Tupi). Ario de Rosales Michoacán, México.	38
Figura 11. Diagrama general de la obtención de inóculo nativo de HMA.	39
Figura 12. Diagrama general de la propagación de planta de Zarzamora por estaca de raíz. ..	40
Figura 13. Diagrama general de la elaboración de abono orgánico tipo Bocashi.	41
Figura 14. Tamizado de suelo obtenido de Ario de Rosales, Michoacán.	42
Figura 15. Esterilización de suelo y arena en auto clave a 121 °C durante 1 h cada 72 h, por tres tiempos.	43
Figura 16. Selección de plantas de tamaño homogéneo de Zarzamora para ser utilizadas en el experimento.	43
Figura 18. Diagrama general del método Tinción con Azul de Tripiano (Phillips y Hayman 1970) para la determinación del porcentaje de colonización micorrícica.	47
Figura 19. Diagrama general del método de identificación morfológica de esporas de HMA.	50
Figura 20. Primeros brotes de planta de Zarzamora a los 20 días del establecimiento de las camas de propagación por estaca de raíz.	52

Figura 21. Brotes de Zarzamora observados a los 45 días del establecimiento de las camas de propagación por estaca de raíz.....	52
Figura 22. Estructuras típicas de la simbiosis micorrícica; a) Vesículas, b) Arbusculos, c) Hifas y d) Coils.	53
Figura 23. Porcentajes de colonización de HMA en raíces de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con y sin abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).....	54
Figura 24. Cantidad de esporas de HMA presentes en 100 g de sustrato con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).....	55
Figura 25. Géneros de esporas de HMA presentes en seis diferentes tratamientos basados en sustratos con inóculo nativo de HMA solo y en combinación con abono orgánico tipo Bocashi y Composta. Identificación basada en la International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM).....	56
Figura 26. Esporas del género Acaulospora, identificadas en tres sustratos inoculados con HMA nativo de un cultivo de Zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i> var. Tupi). Las especies encontradas son: a) <i>A. aff. bireticulata</i> , b) <i>A. aff. capsicula</i> , c) <i>A. aff. delicata</i> , d) <i>A. aff. denticulata</i> , e) <i>A. aff. dilatata</i> , f) <i>A. aff. foveata</i> , g) <i>A. aff. lacunosa</i> , h) <i>A. aff. laevis</i> , i) <i>A. aff. mellea</i> , j) <i>A. aff. morrowiae</i> , k) <i>A. aff. rhemii</i> , l) <i>A. aff. scrobiculata</i> , m) <i>A. aff. spinosa</i> y n) <i>Cetraspora aff. pellucida</i>	57
Figura 27. Esporas del género Glomus, identificadas en tres sustratos inoculados con HMA nativo de un cultivo de Zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i> var. Tupi). Las especies encontradas son: a) <i>Claroideoglosum aff. claroideus</i> , b) <i>Claroideoglosum aff. lamellosum</i> , c) <i>Diversispora aff. tortuosa</i> , d) <i>Sclerocystis aff. sinuosum</i> , e) <i>Funneliformis aff. geosporum</i> , f) <i>Glomus aff. multicaule</i> , g) <i>Glomus sp.</i> , h) <i>Rhizophagus aff. agregatum</i> , i) <i>Septoglosum aff. viscosum</i>	58
Figura 28. Esporas del género Scutellospora, identificadas en tres sustratos inoculados con HMA nativo de un cultivo de Zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i> var. Tupi). Las especies encontradas son: a) <i>Dentiscutata aff. biornata</i> , b) <i>Racocetra aff. fulgida</i> , c) <i>Scutellospora aff. callospora</i> , d) <i>Scutellospora aff. cerradensis</i> , e) <i>Racocetra aff. verrucosa</i>	59

Figura 29. Esporas del género Gigaspora, identificadas en tres sustratos inoculados con HMA nativo de un cultivo de Zorzamora (<i>Rubus fruticosus</i> var. Tupi). Las especies encontradas son: a) <i>Gigaspora</i> aff. margarita, b) <i>Gigaspora</i> aff. gigantea.	60
Figura 30. Análisis de diversidad (Índice de Shannon Wiener) de tres tratamientos inoculados con HMA nativo de un cultivo de Zorzamora (<i>Rubus fruticosus</i> var. Tupi).	62
Figura 31. Análisis de distancias Ward con distancias euclidianas de tres tratamientos inoculados con HMA nativo de cultivos de zorzamora (<i>Rubus fruticosus</i> var. Tupi) suplementadas con dos tipos de sustrato orgánico.	63
Figura 32. Análisis de Rarefacción de tres muestras (tratamientos), la línea continua oscura indica el número real de especies encontradas; las líneas punteadas son los valores mínimo y máximo esperado de especies encontradas y la línea gris representa el Índice de Chao 1.	64
Figura 33. Porcentaje de materia orgánica de seis tratamientos establecidos con HMA en interacción con abono orgánico tipo Bocashi y Composta. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).	65
Figura 34. Potencial de Hidrógeno de seis tratamientos establecidos con HMA con y sin interacción con abono orgánico tipo Bocashi y Composta. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).	66
Figura 35. Raíces de plantas de zorzamora establecidas en seis tratamientos distintos: a) HMA, b) HMA + Bocashi, c) HMA + Composta, d) Composta, e) Bocashi y f) Control.	68
Figura 36. Longitudes de raíz de plantas de zorzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).	69
Figura 37. Mediciones de la altura de plantas de zorzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).	70
Figura 39. Medición de área foliar de plantas de zorzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación.	71
Figura 40. Mediciones de área foliar de plantas de zorzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).	72

Figura 41. Número de tallos secundarios en plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).	73
Figura 42. Medición de concentración de clorofila en plantas de Zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i> var. Tupi), con el uso del equipo Opti-Science.	74
Figura 43. Cantidad de clorofila en mg/m^2 de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).	74
Figura 44. Biomasa de la parte aérea de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).	75
Figura 45. Biomasa de la raíz de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).	76

RESUMEN

El uso de Hongos Micorrícicos Arbusculares en la agricultura tiene un gran potencial biotecnológico debido a que facilitan la disponibilidad de nutrientes para las plantas, alivian el estrés por sequía o por metales pesados, entre muchos otros beneficios.

El estado de Michoacán exporta el 97% de la producción total de su producción de frutillas. La zarzamora se obtiene mediante prácticas agrícolas convencionales, caracterizadas por el uso de fertilizantes químicos, que traen consigo el deterioro del suelo, provocando la pérdida de productividad agrícola.

El objetivo del trabajo fue evaluar dos sustratos orgánicos para la propagación de hongos micorrícicos arbusculares nativos y el efecto de su interacción para el rendimiento vegetal de plantas zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi). El experimento se realizó en condiciones de invernadero, con un diseño experimental de 6 tratamientos con 10 repeticiones que incluyeron un inóculo de HMA nativo solo y en combinación con Bokashi y Composta. Se determinaron variables micorrícicas como el porcentaje de colonización, la cantidad de esporas / 100 g de suelo, la riqueza y diversidad de especies, así como variables agronómicas como área foliar, altura, número de tallos secundarios, longitud de raíz, clorofila y biomasa aérea y radical.

Los resultados mostraron que la colonización micorrícica no se vio favorecida con los sustratos orgánicos utilizados, pero si se pueden considerar promisorios para la propagación de la especie fúngica, sobre todo el abono Bocashi el cual promueve mayor riqueza y diversidad de especies fúngicas. El género *Acaulospora* se reporta como predominante en la identificación morfológica de este trabajo con 14 especies, seguido de las especies *Glomus* con 9 especies, *Scutellospora* con 5 especies y *Gigaspora* con 2 especies.

Con respecto a las plantas de zarzamora, el uso de sustratos orgánicos en combinación con HMA, en general, promueve un mayor rendimiento vegetal.

Palabras clave: HMA, Diversidad, Riqueza, *Rubus fruticosus*, Rendimiento vegetal.

ABSTRACT

The use of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in agriculture has great biotechnological potential due to the fact that they facilitate the availability of nutrients for plants, relieve stress due to drought or heavy metals, among many other benefits.

Michoacán state exports 97% of the total production of its blackberry production. The blackberry is obtained through conventional agricultural practices, characterized by the use of chemical fertilizers, which bring about the deterioration of the soil, causing the loss of agricultural productivity.

The aim of the work was to evaluate two organic substrates for the native arbuscular mycorrhizal fungi propagation and the effect of their interaction for the plant yield of blackberry plants (*Rubus fruticosus* var. Tupi). The experiment was carried out in greenhouse conditions, with an experimental design of 6 treatments with 10 repetitions that included an inoculum of native HMA alone and in combination with Bocashi and Compost. Mycorrhizal variables were determined, such as the colonization percent, spores / 100 g soil, the richness and diversity of species, as well as agronomic variables such as leaf area, height, number of secondary stems, root length, chlorophyll and aerial and radical biomass.

The results showed that mycorrhizal colonization was not favored with organic substrates, but they can be considered promising for the propagation of the fungal species, especially the Bocashi fertilizer which promotes greater richness and diversity of fungal species. The genus *Acaulospora* is reported to be predominant in the morphological identification of this work with 14 species, followed by *Glomus* with 9 species, *Scutellospora* with 5 species and *Gigaspora* with 2 species.

About blackberry plants, the use of organic substrates in combination with AMF, in general, promotes a higher plant yield.

1. INTRODUCCIÓN

La mayoría de los cultivos agrícolas están relacionados con las micorrizas, los cuales afectan la fisiología y como consecuencia la calidad y el rendimiento de las especies vegetales. Los HMA ocurren de manera natural en los agroecosistemas, pero su abundancia decrece con la degradación del suelo, la contaminación o el uso excesivo de agroquímicos. Usualmente, esta simbiosis es más abundante en sistemas sustentables que llevan a cabo la rotación de cultivos, aprovechamiento de residuos mediante la conversión de estos a abonos orgánicos, el uso regulado de productos químicos, entre otras actividades.

Es por lo anterior que se debe incrementar el interés de los productores para conocer y aplicar estrategias alternativas que incluyan el uso de HMA con factores favorables para esta simbiosis como su aplicación combinada con sustratos orgánicos.

Son bastos los trabajos científicos que demuestran los beneficios que otorgan los HMA sobre aspectos del rendimiento de especies vegetales de interés agrícola, sin embargo, es importante no dejar atrás las variables de propagación micorrícica como lo son la riqueza y diversidad de especies fúngicas. Este último aspecto también se ha visto mejorado con la aplicación de sustratos orgánicos.

Por su parte, la producción de berries es una de las principales actividades económicas del estado de Michoacán, siendo el principal exportador de frutillas de zarzamora. Por lo tanto, es primordial implementar actividades agrícolas que representen una opción alterna al uso de productos sintéticos en el campo. Con lo anterior, es posible mantener la fertilidad del suelo, el rendimiento vegetal de especies de interés, así como la actividad biológica del mismo, factores que en conjunto son una herramienta indispensable que promueve la sustentabilidad ambiental.

2. MARCO TEORICO

2.1. El suelo

La definición de la palabra suelo se acata al área de interés con el cual se le involucra. Desde una perspectiva agrícola, el suelo es la capa de material fértil que cubre la superficie de la tierra, de la cual, las raíces de las plantas obtienen nutrimentos y agua.

La definición a partir de su origen, establecida por la Sociedad Americana de la Ciencia del Suelo (SSSA, por sus siglas en inglés), lo refiere como la capa superficial de material mineral y orgánico, no consolidado, que sirve de medio natural para el crecimiento de las plantas que presenta los efectos de los factores que le dieron origen (clima, topografía, biota, material parental y tiempo) y que debido a la interacción de éstos, difiere en sus propiedades físicas, químicas, biológicas y morfológicas.

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación lo define como una capa delgada compuesta por minerales, aire, agua, materia orgánica y diminutos organismos vegetales y animales. Su formación se lleva a cabo lentamente con el paso del tiempo gracias a la desintegración de rocas superficiales por la acción del agua, la variación de temperatura y el viento (FAO, 1996).

De acuerdo a las definiciones anteriores, el suelo no puede definirse como roca ni sedimento geológico, sino como un producto de las alteraciones e interacciones que experimentan los materiales antes mencionados (Sumner, 2000). Factores como el relieve, el clima, la vegetación, la roca de origen y su antigüedad, así como los organismos que viven en él y las actividades humanas determinan la estructura del suelo (Figura 1). Las velocidades a las que ocurren estos procesos dependen principalmente del clima, lo que da como resultado una amplia gama de suelos y propiedades tanto físicas como químicas del mismo (Tabla 1) que se pueden encontrar en todo el mundo (Rowell, 2014).



Figura 1. Estructura del suelo determinada por factores como el relieve, el clima, la vegetación, la roca de origen, antigüedad, así como los organismos que viven en él.

Tabla 1. Descripción de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo como indicadores de calidad en sistemas agrícolas y forestales (Larson y Pierce, 1991).

Propiedad	Descripción
Físicas	
Textura	Proporción de componentes inorgánicos de diferentes formas y tamaños como arena, limo y arcilla. Influye como factor de fertilidad y retención de agua, aireación, drenaje, contenido de materia orgánica e intercambio de oxígeno.
Densidad	Peso por volumen del suelo, controla el porcentaje de compactación. Afecta a procesos que influyen en el suministro de agua y oxígeno, productividad y erosión.
Porosidad	Porcentaje del volumen del suelo no ocupado por sólidos (50%). En este espacio se distinguen macro y micro poros donde el agua, los nutrientes, el aire y los gases pueden circular o retenerse.
Capacidad de retención de agua	Relaciona la retención, el transporte y la erosión del agua: disponibilidad.
Color	Depende de los componentes y varía con el contenido de humedad, materia orgánica y grado de oxidación de minerales. Se usa para distinguir las secuencias en un perfil del suelo, determinar el origen de materia parental, presencia de materia orgánica, estado de drenaje y presencia de sales y carbonato.
Químicas	
Materia orgánica	Papel fundamental en la estabilidad de agregados: porosidad, reacción con oxígeno intercambiable, agua disponible, reserva en el ciclo del Carbono y reposición de nutrientes.
pH	Determina el grado de absorción de iones (H ⁺) por las partículas del suelo e indica la acidez o alcalinidad. Indicador principal en disponibilidad de nutrientes para las plantas, influyendo en la solubilidad, movilidad de otros elementos.

Capacidad de Intercambio Catiónico	Es una medida de cantidad de cargas negativas presentes en la superficie de los minerales y componentes orgánicos (arcilla, materia orgánica o sustancias húmicas) y representa la cantidad de cationes que las superficies pueden retener.
Nutrientes	Determinan su potencial para alimentar organismos vivos. Los nutrientes esenciales se suelen clasificar en macro y micro nutrientes dependiendo de su requerimiento para el desarrollo de las plantas.
Biológicas	
Biomasa microbiana	Potencial catalítico microbiano y reposición de Carbono y Nitrógeno.
Nitrógeno potencialmente mineralizable	El ciclo de este elemento en el suelo se relaciona con la actividad microbiana y fauna del mismo como hongos, bacterias, lombrices, nematodos, etc. Productividad del suelo y N disponible.
Actividad enzimática	Informa el cambio de calidad en los suelos debido a actividad antrópica.

2.1.1. El uso del suelo

El suelo tarda desde miles a cientos de miles de años en formarse, por lo que se considera un recurso natural no renovable (Dorronsoro, 2007). Se utiliza para distintos fines como por ejemplo la agricultura, ganadería, extracción de minerales, soporte de edificaciones, eliminación de residuos, obtención de pastos, entre muchas otras actividades. A pesar de que el suelo provee funciones indispensables para el ser humano, su importancia no es valorada por la sociedad y con el paso del tiempo ha sido necesario resaltar su valor. La obtención de datos precisos y frecuentes acerca del uso que se le da al suelo es esencial para gestionarlo de manera razonable ya que es un elemento que cambia rápidamente (Nolasco et al., 2015).

2.1.2. La materia orgánica del suelo

Todos los residuos orgánicos sin descomponer están formados por hidratos de carbono, lípidos, ácidos orgánicos, polímeros, compuestos fenólicos y elementos minerales. Estos componentes de la materia viva son descompuestos mediante conversiones biológicas llevadas a cabo por microorganismos, insectos, lombrices y elementos ambientales; dando lugar a lo que conocemos como materia orgánica (MO). Dentro de las funciones principales de esta última, se encuentra la de almacenar gran cantidad de nutrientes útiles para las plantas, mejorar la estructura del suelo y la capacidad de retención de agua. La cantidad de MO presente en el suelo depende de factores como la vegetación, el clima, el drenaje y en gran medida, de su laboreo.

La MO se ha utilizado desde tiempos remotos en la agricultura, pero desafortunadamente ha disminuido con la introducción y dependencia hacia los fertilizantes químicos por parte de los productores Tabla 2.

Tabla 2. Porcentaje de unidades de producción según principales tecnologías agrícolas utilizadas (INEGI, 2017)

Tecnología empleada	ENA 2012	ENA 2014	ENA 2017
Fertilizantes químicos	65.5	68.8	68.2
Herbicidas	61.7	62.7	66.9
Insecticidas	45.3	48.2	58.4
Abonos naturales	40.4	27.5	39.1
Rotación de cultivos	19.6	26.8	21.9
Labranza de conservación	12.9	23.2	26.3
Control biológico de plagas	12.7	16.7	12.4

A mediados del siglo XX, surge en Estados Unidos, la Revolución Verde; un modelo de producción basado en la agricultura intensiva que pretendía aumentar el rendimiento de los cultivos mediante la aplicación de monocultivos, el uso de alta tecnología e insumos agrícolas como los fertilizantes químicos, plaguicidas y herbicidas (Ceccon, 2008). Dicho fenómeno, provoco que los productores mexicanos centraran su atención en aplicar este modelo.

Los fertilizantes químicos y en general, los insumos agrícolas si aumentan la productividad agrícola en los primeros años, sin embargo, también es cierto que dicha productividad no se sostiene por mucho tiempo. En la actualidad, el uso inadecuado de fertilizantes químicos conduce al surgimiento de problemas del medio ecológico y el deterioro de recursos naturales. Además, ayudan a las plantas a crecer, pero no contribuyen a mejorar la condición física del suelo (Cardona et al., 2014) por el contrario, propician que el suelo sufra un agotamiento acelerado de materia orgánica y un desbalance nutrimental que se traduce en la pérdida de fertilidad y capacidad productiva con el paso del tiempo.

Afortunadamente, el interés por el desarrollo de nuevas tecnologías que permitan conservar la materia orgánica en los cultivos, ha incrementado en los últimos años. La presencia de materia orgánica en el suelo como consecuencia del uso de abonos orgánicos, permite tener un sustrato

activo biológicamente convirtiendo elementos esenciales que no están disponibles en formas aprovechables por las plantas para la obtención de cultivos rentables. Existen maneras de mantener un buen contenido de materia orgánica en el suelo como, por ejemplo, agregando abonos orgánicos y residuos vegetales o industriales transformados.

2.1.3 Los microorganismos del suelo

La materia orgánica de la naturaleza se transforma mediante ciertas conversiones biológicas llevadas a cabo gracias a los seres vivos, entre los cuales se encuentran los microorganismos. Estos organismos microscópicos contribuyen a la sustentabilidad de los ecosistemas por ser los principales reguladores de la dinámica de la materia orgánica del suelo, su estructuración, retención de agua, eficiencia de adquisición de nutrientes y salud vegetal (Correa, 2013).

La mayoría de las especies vegetales tienen íntima relación con microorganismos de la rizosfera que les ayudan a acceder a nutrientes primordiales para su crecimiento entre los cuales se encuentran las bacterias fijadoras de nitrógeno, las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal o los hongos micorrícicos. La rizosfera de las plantas (Fig. 2), está altamente colonizada por microorganismos, pero, desafortunadamente, el papel que estos organismos microscópicos juegan en la naturaleza ha perdido su significado debido a las modificaciones que los agricultores han introducido en sus cultivos como, por ejemplo, el uso excesivo de fertilizantes inorgánicos, herbicidas y pesticidas.

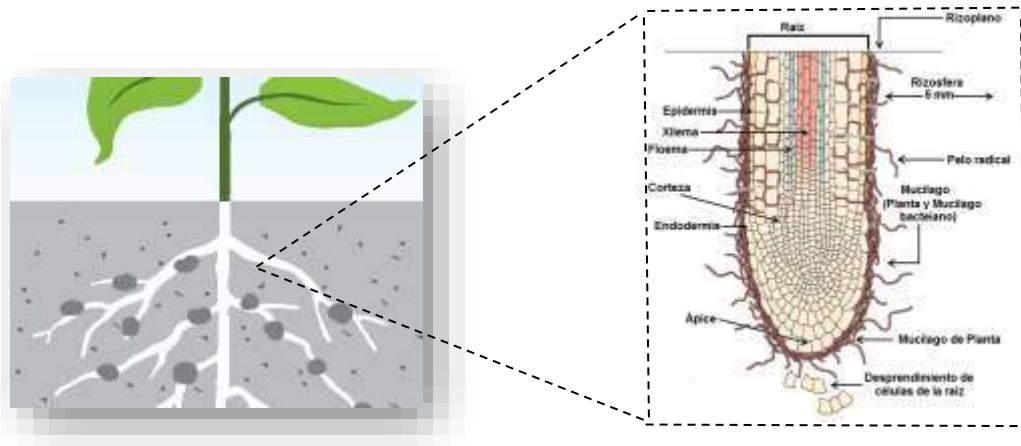


Figura 2. Rizósfera de las plantas y estructura de una raíz.

Algunas estimaciones indican la posibilidad de que haya al menos 104 especies microbianas distintas por gramo de suelo (Torsvik et al., 2012). Por esto, en la actualidad ciertos microorganismos con capacidad de asociarse a plantas de interés agrícola se están utilizando con éxito ya que tienen la capacidad de aumentar el rendimiento biológico de los cultivos y a la vez, favorecen la sustentabilidad de los agroecosistemas y en ciertas ocasiones, se reduce la necesidad de la fertilización química (García de Salamone, 2011).

La utilización de microorganismos se lleva a cabo mediante inoculantes sobre las semillas y/o el suelo; estos pueden aplicarse con un solo tipo de microorganismo o ser polivalentes, es decir, contener dos o más tipos y aunque existen productos en estado sólido en el mercado, los más frecuentes son inoculantes líquidos ya que con estos, se asegura la supervivencia del microorganismo durante periodos largos desde que se fabrican.

2.2. Abonos orgánicos

Actualmente se produce una cantidad considerable de residuos en todo el mundo, pero solo una mínima parte de ésta es aprovechada (Fig. 3), por lo que se convierte en desecho, y a su vez, en contaminación ambiental (Acevedo et al., 2017). El aprovechamiento de estos residuos mediante su transformación en abonos orgánicos, conforma una fuente importante de nutrimentos para las plantas; además, también mejoran la calidad del suelo mediante la formación de sustancias húmicas (ácidos húmicos, fúlvicos y huminas), mejorando sus características físicas, químicas y biológicas (Ramos y Terry, 2014).

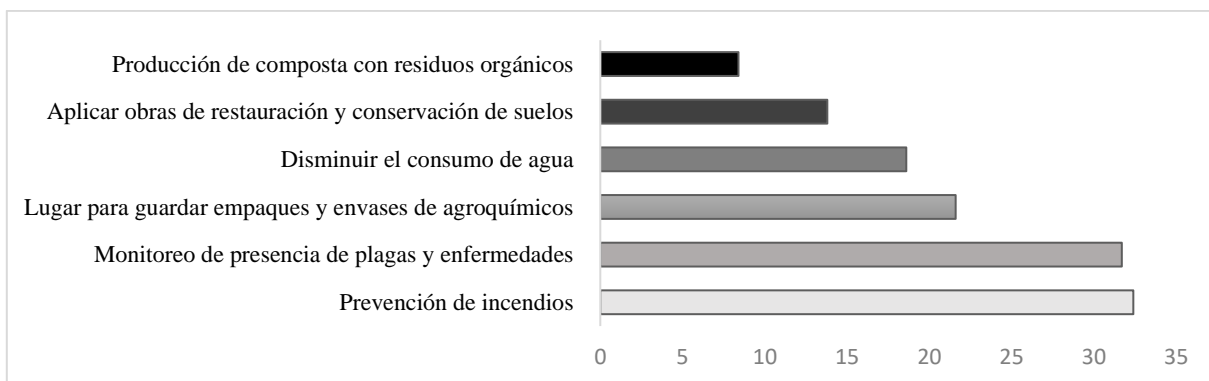


Figura 3. Porcentaje de unidades de producción que realizan acciones para la protección del medio ambiente (INEGI, 2017).

La incorporación de materia orgánica para mantener la fertilidad del suelo es indispensable en sistemas de producción ecológica por lo que el uso de esta práctica, en conjunto con otras como la adecuada rotación de plantas, la diversificación de cultivos entre otros, permiten un equilibrio en el ecosistema. (Picado y Añasco, 2005).

La incorporación de materia orgánica humificada facilita la formación de agregados estables, mejorando la estructura y permeabilidad (Tan y Nopamombodi, 1979), también mejora la retención de humedad del suelo y la infiltración (Hartwigsen y Evans, 2000).

El uso de abonos orgánicos también tiene un efecto sobre la actividad microbológica del suelo, ya que, por lo general, contienen estiércoles, los cuales, a su vez, contienen grandes compuestos de fácil descomposición. Además, su uso genera un incremento de la actividad biológica (Durango et al., 2017). La acción microbiana es fundamental para que las formas orgánicas de los nutrientes pasen a formas minerales que son utilizadas en la biomasa de las plantas, por lo que tienen efectos directos sobre el crecimiento éstas al ofrecer una mayor disponibilidad de nutrientes (Porta et al., 1999).

Además de los beneficios anteriores, el uso de abonos orgánicos ha sido factor coadyuvante para la sostenibilidad del recurso suelo y la obtención de productos agrícolas. Los alimentos obtenidos bajo ese sistema son considerados con sobreprecio por su alta calidad nutritiva y la inexistencia de contaminantes nocivos para la salud.

2.2.1. Bocashi

Los abonos orgánicos fermentados se caracterizan por generar la descomposición de residuos orgánicos mediante poblaciones de microorganismos y producir un material parcialmente estable capaz de fertilizar a las plantas y nutrir el suelo.

La palabra Bocashi proviene del idioma japonés y significa cocer al vapor los materiales del abono mediante el calor generado de la fermentación. Este abono contiene las cantidades necesarias de elementos nutritivos para el desarrollo de las plantas, llegando a ser superior a las fórmulas de los fertilizantes químicos; además, tiene un bajo costo ya que los ingredientes son de fácil alcance para los productores con lo que permite alcanzar una sostenibilidad a largo plazo (Restrepo, 2007).

Dentro de los objetivos del Bocashi se encuentra el suministro de vitaminas, aminoácidos y sustancias antioxidantes, además, mejora la estructura del suelo formando agregados. Un beneficio de su uso es que su preparación se lleva a cabo en corto tiempo y no produce malos olores (Shintani et al., 2000). Por otra parte, su elaboración, genera condiciones adecuadas para el desarrollo de macro organismos en el suelo y es coadyuvante del manejo de desechos agrícolas (Gómez, 2001).

La elaboración de este abono consiste en la mezcla de ingredientes como estiércol, rastrojo molido, suelo local, carbón vegetal, salvado de trigo, azúcar o melaza y el inoculante microbiano, la levadura (Jaramillo-López et al., 2014). El proceso consiste en obtener partículas pequeñas de estos ingredientes y mantenerlos apilados para lograr que la temperatura incremente y la fermentación se lleve a cabo para descomponer la materia orgánica. Una vez transcurridos 21 días aproximadamente, el abono está listo para usarse. En la actualidad, las recetas de elaboración se han ido acoplado a los recursos con los que cuentan los productores, sin embargo, sus aportes no dejan de ser benéficos para los cultivos en los que se ha implementado (Leblanc et al., 2005).

2.2.2. Compostas

La palabra composta viene del latín componere, que significa “juntar”. La preparación y uso de esta, es tan antiguo como la misma agricultura. Es la descomposición y estabilización de sustratos orgánicos bajo condiciones que permiten el desarrollo de temperaturas termofílicas que dan un producto suficientemente estable para ser almacenado y aplicado en el suelo sin efectos adversos al medio ambiente (Haug, 1980).

El proceso de composteo empieza con una colección heterogénea de material orgánico que contiene una población grande de hongos y bacterias. Estos, se enfrentan a condiciones favorables de humedad, temperatura y aireación que permiten su desarrollo. La actividad microbiana provoca un aumento de temperatura a consecuencia de las oxidaciones biológicas exotérmicas.

El proceso es lento y se consideran cuatro periodos determinados por la variación de la temperatura. El primer periodo es Mesofílico, en el cual aparecen bacterias y hongos cuyas temperaturas óptimas de crecimiento van de los 15 a los 35 °C, aquí, la masa vegetal se encuentra

a temperatura ambiente, los microorganismos comienzan a multiplicarse y la temperatura comienza a aumentar. El segundo periodo es Termofílico, la descomposición de la materia orgánica es más rápida y alcanza temperaturas de 40 °C; conforme se va utilizando el material fácilmente degradable, la velocidad de reacción disminuye y con ello también la temperatura. El siguiente periodo es de enfriamiento y por último de maduración (Canovas et al., 1993).

Es indudable que la aplicación adecuada de compostas a los suelos aporta mayores beneficios que los fertilizantes químicos. Lo anterior se debe a que además de proporcionar elementos nutritivos para las plantas como Nitrógeno, Fósforo, Potasio y micronutrientes, también mejora la actividad biológica del suelo, sus propiedades físicas como, por ejemplo, la capacidad de retención de agua y/o la densidad aparente, además, también sirve como nivelador de pH (Jeavons, 1991).

2.3 Simbiosis micorrícica

El termino micorriza (del griego myces, hongo y rhiza, raíz) refiere a la asociación entre algunos hongos y las raíces de las plantas. Fue acuñado en 1977 por Frank, patólogo forestal alemán, al estudiar las raíces de algunos árboles forestales. En términos funcionales y estructurales se ha definido a las micorrizas como “órganos de absorción dobles que se forman cuando los hongos simbioses viven dentro de los órganos de absorción sanos (raíces, rizomas o talos) de las plantas terrestres, acuáticas o epífitas” (Trappe, 1994).

El 90% de las plantas terrestres son capaces de formar micorrizas. Se han reconocido al menos siete diferentes tipos de micorriza: arbuscular, arbutoide, ericoide, monotropoide, orquideoide, ectomicorriza y ectendomicorriza, las cuales, se diferencian por las estructuras que el hongo forma dentro de la raíz, así como también por las plantas y hongos involucrados.

La asociación más común y antigua que se presenta es la micorriza del tipo arbuscular. Los hongos que participan en este tipo de micorriza pertenecen Phylum Glomeromycota. Dicha simbiosis se establece con las raíces de Angiospermas, Gimnospermas, Pteridofitas y Talofitas (Guerrero *et al.*, 1996).

Evidencias fósiles y estudios moleculares proponen que este tipo de asociación micorrícica se originó hace 462-353 millones de años y, desde entonces, su formación es imprescindible. En

esta simbiosis, la planta le proporciona al hongo carbohidratos producto de su fotosíntesis y un microhábitat para completar su ciclo de vida; por su parte, el hongo permite que la planta capte agua y nutrimentos minerales que se encuentran con baja disponibilidad en el suelo e incluso, la protege contra patógenos. Es por lo anterior que la asociación, en general, se considera como mutualista, ya que ambos participantes resultan beneficiados (Camargo-Ricalde, 2012).

2.3.1 Desarrollo de la simbiosis

Los hongos formadores de micorriza arbuscular son simbiontes obligados, es decir, no pueden cultivarse fuera de las raíces vivas de las plantas siendo con esto totalmente dependientes de la planta. Las esporas de estos hongos germinan en el suelo y colonizan las células corticales de la planta hospedera (Fig. 4).

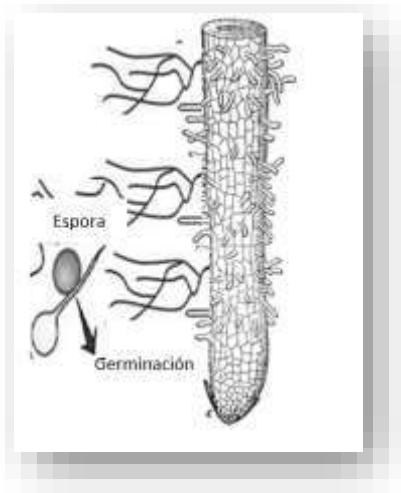


Figura 4. Germinación de spora de HMA y primer contacto con la raíz hospedera para iniciar colonización micorrícica.

El proceso de colonización micorrícica (Fig. 5) comienza cuando el hongo invagina el plasmalema de la célula vegetal y se crea un compartimento apoplástico en donde se acumula material de alta complejidad molecular. Enseguida se produce una estructura profusamente ramificada que es el sitio de intercambio eficiente de los nutrientes entre los simbiontes conocido como arbúsculo (Varela y Trejo, 2001).

En este tipo de simbiosis se producen estructuras de almacenamiento conocidas como vesículas, las cuales se observan como ensanchamientos terminales de las hifas con forma ovoide que acumulan reservas de carbono en forma de lípidos (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1999).

Las hifas son estructuras de colonización de los HMA que se caracterizan por ser infectivas, exploradoras y de absorción de nutrientes. Emergen de la raíz y se distribuyen en el suelo varios centímetros, en algunas ocasiones metros, generando un sistema de absorción de nutrientes y agua conocido como micelio extraradical, que alcanza sitios que no alcanzan las raíces por si solas (Sylvia, 2005).

El desarrollo de la simbiosis comienza gracias a los compuestos exudados que producen las raíces de las plantas; estos exudados permiten el reconocimiento del hongo y a su vez, estimulan la germinación de esporas que da lugar a la ramificación de las hifas. Tomando en cuenta que la cantidad y el tipo de exudados depende de la etapa fenológica de cada tipo de planta; la diversidad de estas y su edad son un factor determinante para el establecimiento de las comunidades de HMA en el suelo (Khan, 2001).

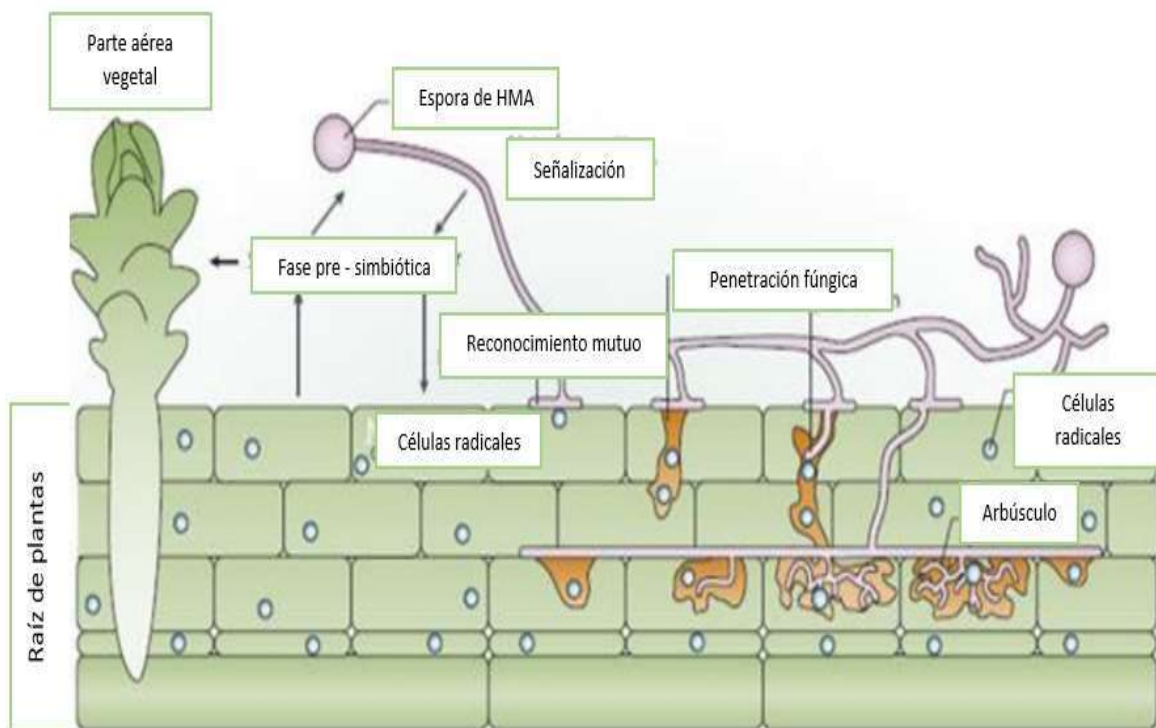


Figura 5. Proceso para el establecimiento de la simbiosis micorrícica (Parniske, 2008).

2.4 Beneficios de micorrizas a las plantas

La mayoría de las investigaciones enfocadas en el estudio de la simbiosis micorrícica han evaluado los efectos generales de ésta sobre el crecimiento vegetativo y adquisición de nutrientes, sin embargo, también se han reportado los beneficios que otorgan a la función biológica básica, la reproducción (Koide 2010).

Los HMA también incrementan la tolerancia de las plantas contra ciertos tipos de estrés abiótico (Gianinazzi et al., 2010) como, por ejemplo, el agotamiento de minerales, la sequía, la salinidad o la presencia de metales pesados. Las plantas micorrizadas también tienen más tolerancia contra patógenos de raíz. Por lo que un efecto bioprotector también se incluye dentro de los beneficios de los HMA (Gianinazzi et al., 2010).

2.5 Utilización de los HMA como inoculantes microbianos para una agricultura sustentable

Es de esperarse que la agricultura enfrentará desafíos significativos en las próximas generaciones, en gran parte, por la necesidad de satisfacer la demanda mundial de alimentos ante una menor disponibilidad de suelo y recursos hídricos (Cáceres, 2003). Por lo tanto, es un desafío orientar el interés de los productores agrícolas hacia sistemas sostenibles que eviten la aplicación intensiva de fertilizantes químicos y otros insumos que son perjudiciales para el medio ambiente, las comunidades e incluso los trabajadores agrícolas (Abumhadi, 2012). En este contexto, son bastos los trabajos enfocados en mejorar los rendimientos de los cultivos que incluyen la evaluación de abonos orgánicos y/o la implementación de diferentes tipos de biofertilizantes (Vilches y Núñez, 2000).

Un medio para desarrollar este tipo de agricultura, es la aplicación de la biotecnología agrícola, que incluye el uso de microorganismos del suelo, como por ejemplo los Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA), los cuales se han utilizado como bioinoculantes de manera exitosa en el ámbito ambiental y agrícola (Berruti et al., 2016). Esta asociación se encuentra presente en la mayoría de los hábitats naturales, por lo que es considerada como una simbiosis universal (Pérez et al., 2011).

Por otra parte, existen estrategias para la obtención de plántulas con calidad genética y fitosanitaria como el cultivo de tejidos in vitro. El problema al que se enfrentan estas técnicas es la tasa de supervivencia ya que las plántulas presentan un sistema radical débil e incapacitado para la absorción de nutrientes (Pérez et al., 2015). Por lo tanto, la asociación con microorganismos benéficos como los HMA también ha sido factible para asegurar la sobrevivencia de material vegetal in vitro.

Los productores agrícolas se enfrentan a la necesidad de producir más alimentos, sanos y libres de productos químicos, por lo que la disminución en el uso de agroquímicos es tema de interés. En este contexto, el uso de abonos orgánicos y microorganismos benéficos es un tema que debe desarrollarse y ponerse en práctica en la mayoría de los cultivos. Para llevar a cabo lo anterior, se requiere de un proceso integral que capacite el capital humano y que permita la transferencia del conocimiento con claridad en los diversos sectores agrícolas. Solo así, la aplicación de la biotecnología agrícola podrá generar conciencia en los productores para aumentar el uso de inoculantes microbianos con fines de promover la agricultura sustentable.

2.6. La Zarzamora

La zarza, zarzamora o mora (*Rubus fruticosus*) es un arbusto de aspecto sarmentoso, cuyas ramas, espinosas y de sección pentagonal, pueden crecer hasta 3 metros (Fig. 6). Pertenece a la familia de las rosáceas y es popularmente conocido por sus frutos, un tipo de moras conocido como zarzamora o mora.



Figura 6. Plantas de zarzamora (*Rubus fruticosus*).



Figura 7. Frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus*).

Desde el punto de vista botánico está formada por muchas pequeñas drupas arracimadas y unidas entre sí (multidrupa), de color roja transformándose en negra al madurar (Fig. 7). Tiene hojas imparipinnadas, compuestas por 3 ó 5 folíolos de forma elíptica ovada, con borde dentado o aserrado, de color verde oscuro por el haz y blanco-tomentoso por el envés (Fig. 8). Las flores son blancas o rosadas, de 5 pétalos y 5 sépalos. Nacen en racimos, dando lugar a inflorescencias de forma oblonga. El color de los pétalos varía desde el blanco al rosa, tienen de 10 a 15 mm y son de forma ovada (Fig. 9).



Figura 8. Hojas de zarzamora (*Rubus fruticosus*).



Figura 9. Flores de zarzamora (*Rubus fruticosus*).

La zarzamora es una especie propia de climas templados. Se sabe de la existencia de más de 350 especies y por lo mismo es común citar su nombre científico como *Rubus sp.* Es una planta muy invasiva y de crecimiento rápido que también puede multiplicarse vegetativamente generando raíces desde sus ramas. Puede colonizar extensas zonas de bosque, monte bajo, laderas o formar grandes setos en un tiempo relativamente corto.

Las variedades se han originado de interacciones genéticas entre varias especies que presentan características morfológicas heterogéneas, por lo que no es extraño que estas variedades difieran entre sí en cuanto a su hábito de crecimiento y al tipo de fruta. Por esta razón, las moras se han clasificado según su hábito de crecimiento (erecto, semierecto o rastrero) y la presencia o ausencia de espinas (característica que puede ser otorgada por la hibridación).

2.6.1. Requerimientos agroecológicos

A pesar de considerarse como clima óptimo para el cultivo de moras los climas relativamente frescos, libres de lluvias en el período de cosecha, y con frío invernal de 800 a 1.200 horas frío, se ha observado que este cultivo se distribuye ampliamente en distintas zonas agroclimáticas del mundo. En la meseta purépecha, cuyos climas son más frescos, hoy en día se encuentran especies de zarzamora silvestre y mucho antes que se estableciera en su forma cultivada.

Una alta humedad atmosférica favorece el desarrollo de las plantas, sin embargo, esta especie, presenta cierto grado de resistencia al déficit o exceso de agua debido a su mayor profundidad y extensión del sistema radical. En moras, el efecto negativo del viento es menor que en el caso de otras especies afines como las frambuesas. No obstante, es importante señalar que los vientos en conjunto con las espinas de los sarmientos “ponchan” las drupelas llegando a tener pérdidas de hasta el 20 % de la cosecha.

En cuestión de suelos, la zarzamora se adapta a diversos tipos de suelos, siempre y cuando éstos sean permeables, no muy alcalinos ni muy arcillosos, pero ricos en materia orgánica. Se desarrollan bien en suelos con pH 6-7.5.

2.6.2. Distribución del cultivo de Zarzamora

México es actualmente el primer exportador de berries frescas del mundo a pesar de que hace aproximadamente 10 años, la zarzamora y la frambuesa eran cultivos prácticamente desconocidos para México. Michoacán es el estado que sobresale con respecto a la producción de estas frutillas ya que contribuye con el 96% de la producción nacional de zarzamora (FIRA, 2016).

La producción y exportación de zarzamoras en Michoacán se encuentra en una región conocida como el Valle de Los Reyes, lo que ha provocado una gran competitividad regional, sobre todo con la introducción de una variedad con muy buena vida de anaquel denominada “Tupi”.

3. ANTECEDENTES

Oyeyemi y colaboradores, en el año 2017, realizaron un estudio con la finalidad evaluar el crecimiento, el rendimiento de brotes y la materia seca de *Amaranthus cruentus* en suelos pobres enriquecidos con composta elaborada a partir de estiércol de ganado y rastrojo de maíz y Hongos Micorrícicos Arbusculares tanto individualmente como en combinación. Los resultados obtenidos revelaron que el compost suministra nutrientes suficientes a las plantas para mejorar los rendimientos biológicos y económicos de la planta utilizada. La aplicación de la combinación de HMA y composta no presentó efecto significativo, con lo que los autores concluyen que la composta promovió el crecimiento, la brotación y en rendimiento de la especie vegetal.

En el año 2010, Álvarez - Solís y colaboradores, evaluaron el efecto del manejo integrado de fertilizantes y abonos orgánicos en la actividad de fosfatasa y ureasa, la colonización micorrícica nativa y el rendimiento de maíz (*Zea mays L.*). En el crecimiento vegetativo la fosfatasa alcalina fue 74.5 % más alta con humus de lombriz, mientras que la fosfatasa ácida fue 41.9 % más alta con composta, ambas en relación al testigo. En la floración disminuyó 46.2 % la actividad ureasa con la dosis alta de fertilización. El porcentaje de colonización micorrícica fue 1.3 veces más alto con Bokashi que sin abono. El rendimiento de grano varió de 2152 a 3616 kg ha⁻¹; el valor más bajo fue para la dosis baja de fertilización sin abono y el más alto para la dosis alta de fertilización con humus de lombriz. Con dosis baja de fertilización el rendimiento aumentó 3.8, 12.7 y 11.5 % con composta, Bokashi y humus de lombriz, mientras que, con dosis alta de fertilización, el incremento fue 17.7, 21.9 y 30.5 %. El análisis de los resultados sugiere la importancia del manejo integrado de fertilizantes y abonos orgánicos por su efecto positivo en la actividad enzimática, colonización micorrícica y rendimiento de maíz.

Un estudio realizado por Fernández-Martin en el 2005, evaluó el efecto de la inoculación de Hongos Micorrícicos Arbusculares y diferentes relaciones suelo - humus de lombriz sobre el crecimiento de café (*Coffea arabica L.*) en etapa de vivero. Los resultados demostraron que la inoculación resultó provechosa, lográndose incrementos en el área foliar entre 6 y 160% con relación a las plantas no inoculadas. La eficiencia de las cepas inoculadas estuvo definida por la fertilidad del suelo y la relación suelo - humus de lombriz. La micomasa endófito dependió inversamente de la fertilidad del suelo, de forma que, en el acrisol de baja fertilidad, los valores

asociados con los mayores efectos agrobiológicos de los HMA fueron superiores a los encontrados en los suelos cambisoles de media y alta fertilidad.

En el 2009, Paleo y colaboradores elaboraron un trabajo de investigación en el cual, evaluaron el impacto de la materia orgánica en huertos convencionales y huertos orgánicos de aguacate, sobre la biodiversidad de hongos micorrizógenos arbusculares. El estudio reveló que la abundancia de esporas y la diversidad de especies fué significativamente mayor en los huertos orgánicos que en los huertos con sistemas convencionales, siendo las especies de *Glomus*, las más abundantes en los dos sistemas. Las especies de *Acaulospora* y *Scutellospora* fueron las especies más abundantes en los sistemas orgánicos. Los resultados mostraron que algunas de las especies presentes en los ecosistemas naturales se mantienen bajo condiciones de manejo orgánico, pero decrecen severamente bajo condiciones de sistemas convencionales, indicando una pérdida potencial severa del funcionamiento del ecosistema en los sistemas convencionales.

Otro estudio realizado por Huan Li en el 2013 probó si la inoculación de campos de maíz con lombrices de tierra (*Aporrectodea trapezoides*) y un hongo micorrízico arbuscular (*Rhizophagus intraradices*) mejora la estructura de la comunidad micorrícica y aumenta la absorción de nutrientes de la planta. Las plantas de maíz se inocularon o no se inocularon con HMA, cada una tratada con o sin lombrices de tierra. La inoculación de HMA aumentó significativamente el rendimiento de maíz, y el rendimiento se mejoró aún más mediante la adición de lombrices. Las actividades de fosfomonoesterasa alcalina, el carbono de biomasa microbiana del suelo y nitrógeno aumentaron con la adición de lombrices de tierra y HMA. El N inorgánico del suelo y el K disponible se vieron afectados positivamente por las lombrices, mientras que el P disponible mostró una relación negativa con los HMA. El tratamiento con HMA y lombrices de tierra aumentó la biomasa de los brotes y las raíces, así como su absorción de N y P.

En el año 2015, Boudet y colaboradores evaluaron los efectos de diferentes dosis de abono orgánico tipo Bocashi en indicadores morfológicos y productivos del cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.) var. California Wonder. Dentro de dichos indicadores incluyeron: la altura de las plantas, el grosor del tallo, el rendimiento total y sus componentes (números de frutos.planta⁻¹, masa promedio de los frutos, diámetro promedio de los frutos y largo promedio de los frutos). En su trabajo reportan que en los tratamientos donde se aplicaron dosis de 2,22 y

2,78 tha^{-1} de abono Bocashi se obtuvieron los mejores resultados en los indicadores productivos evaluados.

Ramos y colaboradores, en el 2016, estudiaron la respuesta del cultivo de plátano a diferentes proporciones de suelo y Bocashi complementadas con fertilizante mineral en etapa de vivero. Sus resultados muestran que es posible la producción de plántulas de plátano en vivero, con un adelanto de 7 días con respecto al control de producción. Además, se logra un adecuado crecimiento de las plantas en variables como altura, diámetro del pseudotallo y número de hojas contando con una concentración de nutrientes similar a las que crecieron con el tratamiento de producción.

4. JUSTIFICACIÓN

Los microorganismos del suelo son primordiales para la sustentabilidad de todos los ecosistemas. La mayoría de las especies vegetales establecen relaciones estrechas con microorganismos rizosféricos que les permiten acceder a nutrientes esenciales para su crecimiento. Entre estos, se incluyen los Hongos Micorrícicos. Su rol natural se ha visto marginalizado debido al uso excesivo de fertilizantes inorgánicos, los cuales, han creado una serie de problemas ambientales y de salud humana y animal.

Es por ello que, entre otras razones, existe la necesidad de buscar estrategias ecológicas en la producción agrícola como las interacciones benéficas planta-microorganismo, así como en aquellas actividades que permitan un manejo sustentable de la fertilidad del suelo y la producción de los cultivos como el uso de abonos orgánicos y biofertilizantes. Estos últimos se caracterizan por aportar nutrientes a los cultivos, mejorar la estructura y la actividad biológica del suelo.

Por otra parte, el Estado de Michoacán es uno de los principales productores de berries junto con Colima y Jalisco. La zarzamora se considera un cultivo de alto rendimiento, por lo que su producción es una de las principales actividades agrícolas en el estado.

Es por lo anterior que el objetivo de este trabajo es determinar el sustrato orgánico que permita mayor propagación de un consorcio nativo de HMA y que en combinación sean más eficientes para el desarrollo vegetal de plantas de zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi).

5. HIPÓTESIS

La combinación de sustratos orgánicos con Hongos Micorrícicos Arbusculares provoca un efecto sinérgico sobre la diversidad fúngica y el rendimiento vegetal de *Rubus fruticosus* var. Tupi.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Determinar el sustrato orgánico que permita mayor propagación de un consorcio nativo de Hongos Micorrícicos Arbusculares y que en combinación sean más eficientes para el rendimiento vegetal de las plantas de Zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi).

6.2. Objetivos específicos

- Determinar el sustrato que promueva altos porcentajes de propagación, riqueza y diversidad de especies de Hongos Micorrícicos Arbusculares en las raíces de plantas de Zarzamora.
- Determinar el sustrato adecuado para la colonización del consorcio nativo de Hongos Micorrícicos Arbusculares.
- Determinar el sustrato que aporte mayor rendimiento y salud vegetal de las plantas de zarzamora.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1. FASE 1. Obtención del inóculo de HMA nativo

El inóculo de HMA se obtuvo de una zona de cultivo convencional de Zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi), ubicada en el Municipio de Ario de Rosales, estado de Michoacán entre las coordenadas 19° 12' latitud norte y 101° 40' longitud oeste; a una altura de 1,910 metros sobre el nivel del mar (Fig. 10). Se realizó un muestreo por transectos con recolección al azar y homogeneización por cuadrantes en un terreno de 1 Ha del cultivo. Se tomaron muestras de 100 g. de suelo rizosférico, y cada muestra se llevó a un procedimiento de extracción de esporas siguiendo el método de decantación y tamizado en húmedo (Gerdemann y Nicolson, 1963) y flotación en gradiente de sacarosa (Walker, 1997) con la finalidad de elegir el cuadrante con mayor abundancia de esporas de HMA (Fig. 11).

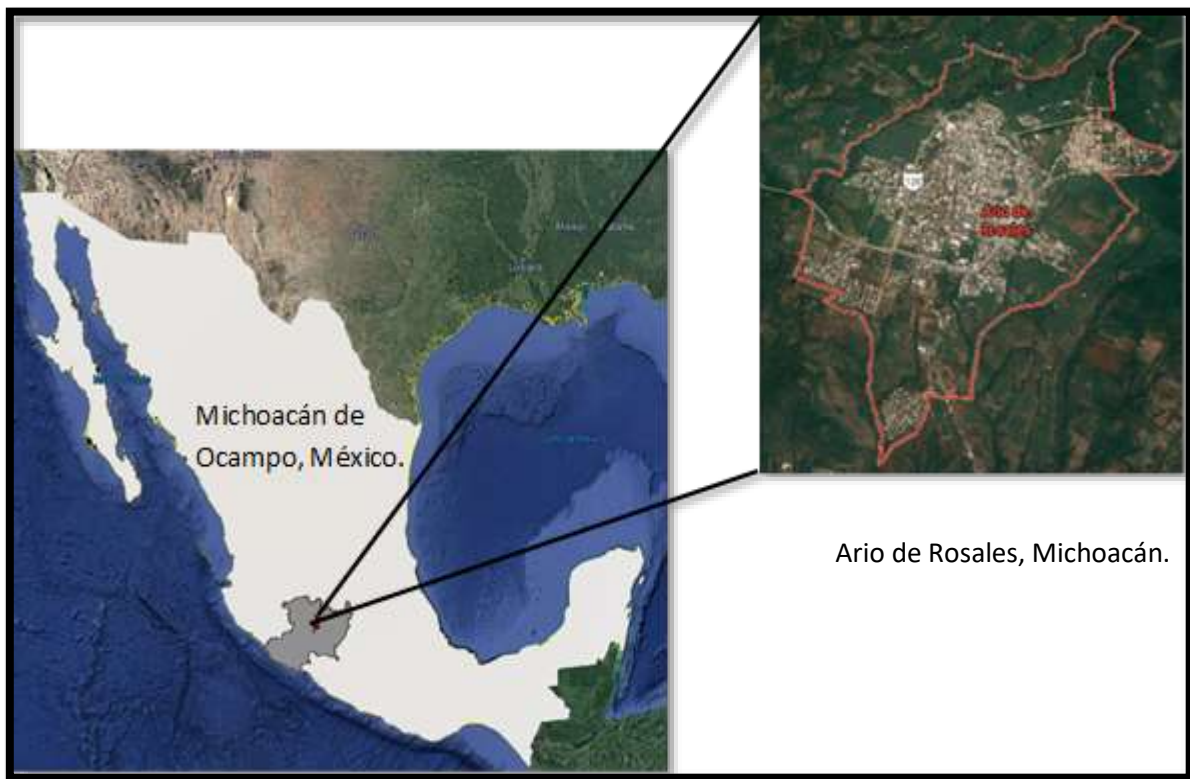


Figura 10. Sitio de obtención de inóculo nativo de Zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi). Ario de Rosales Michoacán, México.



Figura 11. Diagrama general de la obtención de inóculo nativo de HMA.

7.2. FASE 2. Propagación de planta de zarzamora

La planta utilizada en el experimento se obtuvo mediante propagación por estaca de raíz. Del mismo sitio de producción de zarzamora, se adquirieron raíces de un diámetro aproximado de 2 cm, estas se cortaron en pedazos de 5 cm y se colocaron en charolas que contenían una capa de arena seguida de una capa de sustrato enriquecido con corteza de pino y encino. Los trozos de raíz se colocaron de manera horizontal en las charolas y se cubrieron con una capa más del sustrato. Se mantuvieron en invernadero con un riego a capacidad de campo hasta que se observaron los primeros brotes (Fig. 12).





Figura 12. Diagrama general de la propagación de planta de Zarzamora por estaca de raíz.

7.3. FASE 3. Elaboración de sustratos orgánicos

7.3.1. Elaboración de Bocashi

El abono orgánico tipo Bocashi se elaboró a partir de 30 k de estiércol fresco de vaca, 9 k de rastrojo de maíz molido, 36 k de suelo local, 3 k de carbón vegetal molido, 750 g de salvado de trigo, 90 g de azúcar morena y 22 g de levadura panadera. Todos los ingredientes fueron mezclados completamente y se agregó agua según se fue necesitando. La azúcar morena y la levadura se diluyeron en agua tibia y la suspensión se roció sobre los ingredientes mientras se mezclaban hasta alcanzar la capacidad de campo. La mezcla se acomodó en pila y se cubrió con

un plástico. Se mantuvo en un lugar cerrado y libre de humedad (Fig. 13). Los primeros 10 días, el abono se volteó con ayuda de una pala dos veces al día. Los siguientes días se volteó una vez al día. La temperatura se monitoreo durante todo el proceso para evitar que la mezcla alcanzara los 60 °C. Una vez que la temperatura bajó, se mantuvo constante, en este punto se consideró que el abono estaba maduro y listo para usarse.



Figura 13. Diagrama general de la elaboración de abono orgánico tipo Bocashi.

7.3.2 Elaboración de composta

La composta se elaboró a partir de los mismos ingredientes utilizados para el abono orgánico Bocashi a excepción de la levadura panadera y la azúcar morena, con la finalidad de evaluar si el proceso de descomposición se ve afectada con la adición de la levadura y a su vez, evaluar el comportamiento de los HMA con respecto a la absorción de nutrientes de acuerdo a su disponibilidad.

7.4 FASE 4. Preparación del suelo

Se adquirió arena de río y suelo de la misma zona de cultivo de zarzamora de donde se obtuvo el inóculo (Ario de Rosales, Mich.), pero de los sitios donde no se encontró una alta cantidad de esporas. La arena y el suelo se llevaron al Laboratorio de Genética y Microbiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) y únicamente el suelo se tamizó con la finalidad de eliminar las partes grandes y pastos (Fig. 14). Se peso 1 k de arena y suelo en bolsas de poli papel y se esterilizaron a 121 °C durante 1 hora cada 72 h, por tres tiempos (Fig. 15).



Figura 14. Tamizado de suelo obtenido de Ario de Rosales, Michoacán.



Figura 15. Esterilización de suelo y arena en auto clave a 121 °C durante 1 h cada 72 h, por tres tiempos.

7.5. FASE 5. Inducción de la simbiosis micorrícica con plantas de zarzamora en sustratos basados en abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta.

La propagación de zarzamora por estaca de raíz dio como resultado el brote de plantas de distintos tamaños. Las plantas que se encontraban en los extremos, es decir, las más pequeñas y las más grandes, se descartaron. Se seleccionaron únicamente las plantas de tamaño homogéneo y se repartieron procurando que cada tratamiento tuviera plantas dentro del mismo rango de altura (4 – 8 cm) (Fig. 16).



Figura 16. Selección de plantas de tamaño homogéneo de Zarzamora para ser utilizadas en el experimento.

Se establecieron 6 tratamientos con 10 repeticiones cada uno para evaluar el comportamiento de los HMA nativos en combinación con abonos orgánicos tipo Bokashi y Composta en plantas de Zorzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi) en una relación 3:1:1 de suelo, arena y Bokashi o Composta más 100 g de inóculo de HMA nativo (Tabla 3).

El experimento se montó en macetas desinfectadas, limpias y secas con capacidad de 2 k (Fig. 17). Se mantuvieron en riego continuo a capacidad de campo dentro de un invernadero perteneciente al Laboratorio de Genética y Microbiología de la UMSNH.

La duración del experimento fue de 4 meses, al final de los cuales se evaluaron lo siguiente:

Variables micorrícicas:

- ✓ Cantidad de esporas
- ✓ Colonización del HMA nativo
- ✓ Riqueza y diversidad de HMA nativo.

Variables agronómicas:

- ✓ Crecimiento de la parte aérea
- ✓ Área foliar
- ✓ Tamaño de raíz
- ✓ Clorofila
- ✓ Biomasa vegetal
- ✓ pH

Tabla 3. Tratamientos experimentales para evaluar el crecimiento vegetativo de Zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi) inoculada con HMA en combinación con abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta.

TRATAMIENTO	HMA	BOKASHI	COMPOSTA	REPETICIONES
1	*			10
2	*	*		10
3	*		*	10
4			*	10
5		*		10
6 (Control)				10
UNIDADES EXPERIMENTALES				60



Figura 17. Montaje de experimento en macetas de capacidad de 2 k en invernadero.

7.6 Determinación del porcentaje de colonización micorrícica mediante tinción con azul de tripano (Phillips y Hayman 1970).

Transcurridos 4 meses a partir del montaje de experimento, se determinó el porcentaje de colonización micorrícica en las raíces de zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi).

El método utilizado fue mediante Tinción con Azul de Tripano (Phillips y Hayman 1970) (Fig. 18).

El procedimiento de tinción consistió en extraer muestras al azar de raíces delgadas de cinco macetas de cada tratamiento experimental, las cuales se lavaron con agua corriente hasta eliminar el suelo adherido.

En tubos de ensayo se cubrieron con una solución de Hidróxido de Potasio (HOH) al 10% calentando en baño maría a una temperatura de 50 °C durante 10 minutos cuidando de no llegar a ebullición. Se lavaron con agua para eliminar restos de la solución.

Posteriormente, las raíces se cubrieron con Ácido Clorhídrico (HCL) al 10% por 4 minutos a temperatura ambiente y se decantó la solución sin enjuagar.

Con las raíces aclaradas se añadió azul de tripano al 0.005% en lactoglicerol, calentándose en baño maría a una temperatura de 50° durante 10 minutos. Enseguida, se retiró el colorante sin enjuagar y se adiciono lactoglicerol limpio para su conservación hasta su montaje.

Para montar las raíces teñidas, estas se colocaron en cajas Petri y se colocaron 20 segmentos de raíz de 1 cm aproximadamente de longitud en portaobjetos en forma paralela. Con la finalidad de proteger las muestras, se colocó un cubreobjetos.

Se montaron dos portaobjetos por muestra y se determinó el porcentaje de colonización mediante la técnica de McGonigle et al. (1990).

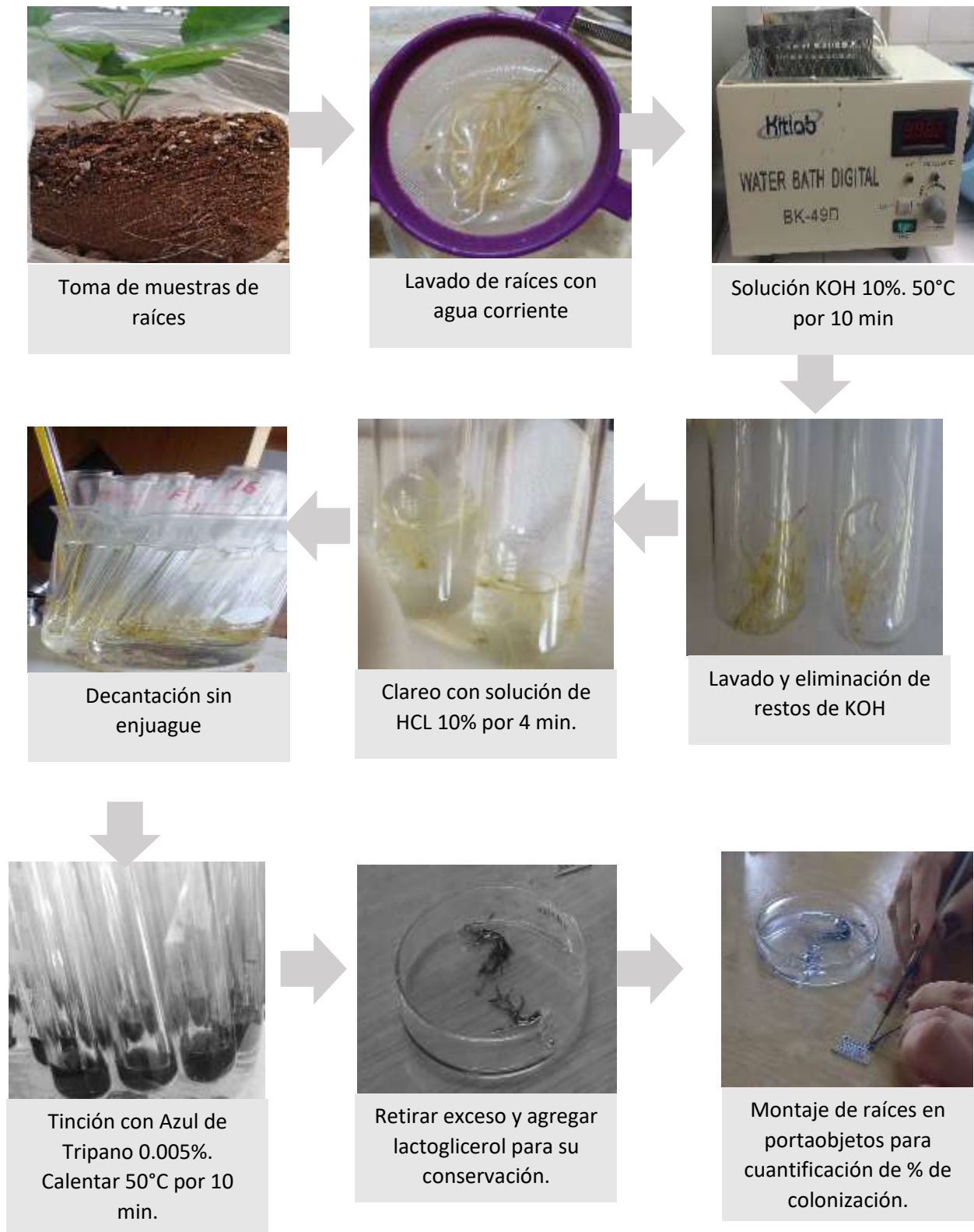


Figura 17. Diagrama general del método Tinción con Azul de Tripano (Phillips y Hayman 1970) para la determinación del porcentaje de colonización micorrícica.

7.7. Identificación de los Hongos Micorrícicos Arbusculares.

7.7.1. Extracción de esporas mediante el método de decantación y tamizado en húmedo (Gerdemann y Nicolson, 1963) y flotación en gradiente de sacarosa (Walker, 1997).

Para conocer los diferentes taxa de HMA presentes en los sustratos establecidos, fue necesario recuperar las esporas, ya que la clasificación de HMA está basada principalmente en la morfología de estas.

El procedimiento (Fig. 19), consistió en mezclar el suelo y deshacer los agregados y pesar 50 g de suelo en una cantidad suficiente de agua. Se agito vigorosamente con una varilla de vidrio y se dejó reposar por 40 segundos para que el suelo se vaya al fondo. Se decanto a través de un tamiz de 45 μm y se retuvo el agua en una cubeta; el procedimiento se repitió tres veces y las partículas retenidas se colocaron en tubos de 50 ml. Se centrifugo durante 4 minutos a 2500 rpm y se desechó el sobrenadante. Los tubos se llenaron con solución de sacarosa y se centrifugo nuevamente durante 2 minutos a 1500 rpm. Por último, se decantó el sobrenadante de sacarosa en el tamiz más fino y se lavó con una piseta con agua destilada para remover el exceso de sacarosa. El material restante después del lavado se depositó en cajas Petri a 4°C hasta su revisión.

7.7.2. Elaboración de preparaciones para la identificación de HMA.

El alcohol polivinílico lacto-glicerol (PVLG) es el líquido de montaje en el que las esporas conservan por más tiempo las características diagnosticas de las especies. Este medio se utiliza con y sin reactivo de Melzer, el cual produce, en algunas especies una reacción amiloide o dextrinoide característica, facilitando la separación de taxa morfológicamente similares. El ejemplar de referencia de HMA consiste en esporas montadas en preparaciones con PVLG y PVLG + Melzer.

El procedimiento consistió en observar la muestra de esporas en la caja Petri en estereoscopio y extraerlas con ayuda de una pipeta Pasteur con bulbo succionados, o bien, d una por una con las pinzas de relojero. Las esporas se separaron en grupos de acuerdo a su tamaño, color y presencia y forma de hifa. El portaobjetos se preparó con una gota de PVLG en un lado y la otra de PVLG + Melzer en el otro. La mitad de las esporas de cada grupo se colocó en PVLG y la otra mitad

en PVLG + Melzer. Se colocó el cubreobjetos deslizando suavemente con una aguja de disección para evitar la formación de burbujas. Los montajes se etiquetaron y se dejaron secar a temperatura ambiente por un día; después se aplicó presión ligera sobre las esporas que se encontraban en PVLG + Melzer, para abrirlas cuidando que no se fragmentaran en trozos. Se dejaron secar por más de 5 días hasta su identificación.

7.7.3. Identificación morfológica de esporas de HMA.

Los HMA están ubicados en el Phylum Glomeromycota y se agrupan en seis géneros con aproximadamente 200 especies. Los géneros pueden distinguirse de manera relativamente fácil de la forma en que la espora se asocia con la hifa de sostén, excepto en la familia Gigasporaceae, donde, además, es necesario determinar el número de grupos de estratos que forman la pared.

Para la identificación se utilizó literatura especializada provista por el INVAM (International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi).





Figura 18. Diagrama general del método de identificación morfológica de esporas de HMA.

8. RESULTADOS

8.1. FASE 1. Obtención de inóculo de HMA nativo

La extracción de esporas del suelo de cultivo de Zarzamora permitió realizar un conteo de estas teniendo los siguientes resultados (Tabla 4).

Tabla 4. Cantidad de esporas encontradas en los 10 diferentes sitios de la zona de cultivo de zarzamora, en Ario de Rosales, Michoacán.

CUADRANTE	CANTIDAD DE ESPORAS POR CADA 100 g. DE SUELO RIZOSFÉRICO
1	140 esporas
2	246 esporas
3	68 esporas
4	282 esporas
5	364 esporas
6	62 esporas
7	176 esporas
8	112 esporas
9	140 esporas
10	162 esporas

Considerando que la presencia de 1 espora por cada gramo de suelo se considera adecuado para utilizarse como inóculo, se utilizó suelo rizosférico de los sitios 2, 4 y 5 como inóculo de HMA nativo.

8.2. FASE 2. Propagación de plantas de zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi) por estaca de raíz.

A los 20 días del establecimiento de las camas de propagación se observaron los primeros brotes de Zarzamora (Fig. 20). Al paso del tiempo, la cantidad de brotes fue aumentando hasta tener más de 300 plantas con distinto tamaño a los 45 días (Fig.21).



Figura 19. Primeros brotes de planta de Zarzamora a los 20 días del establecimiento de las camas de propagación por estaca de raíz.



Figura 20. Brotes de Zarzamora observados a los 45 días del establecimiento de las camas de propagación por estaca de raíz.

8.3. FASE 5. Inducción de la simbiosis micorrícica con plantas de zarzamora en sustratos basados en abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta.

8.3.1. Variables de propagación micorrícica

8.3.1.1. Porcentaje de colonización micorrícica

Se realizó la cuantificación del porcentaje de colonización micorrícica en las raíces de zarzamora mediante la observación de estructuras típicas de esta simbiosis (Fig. 22). El tratamiento que no contenía ningún sustrato orgánico tuvo una colonización del 92%, seguido del tratamiento de HMA + Composta y HMA + Bokashi con un porcentaje de colonización de 38% y 21% respectivamente (Fig. 23).

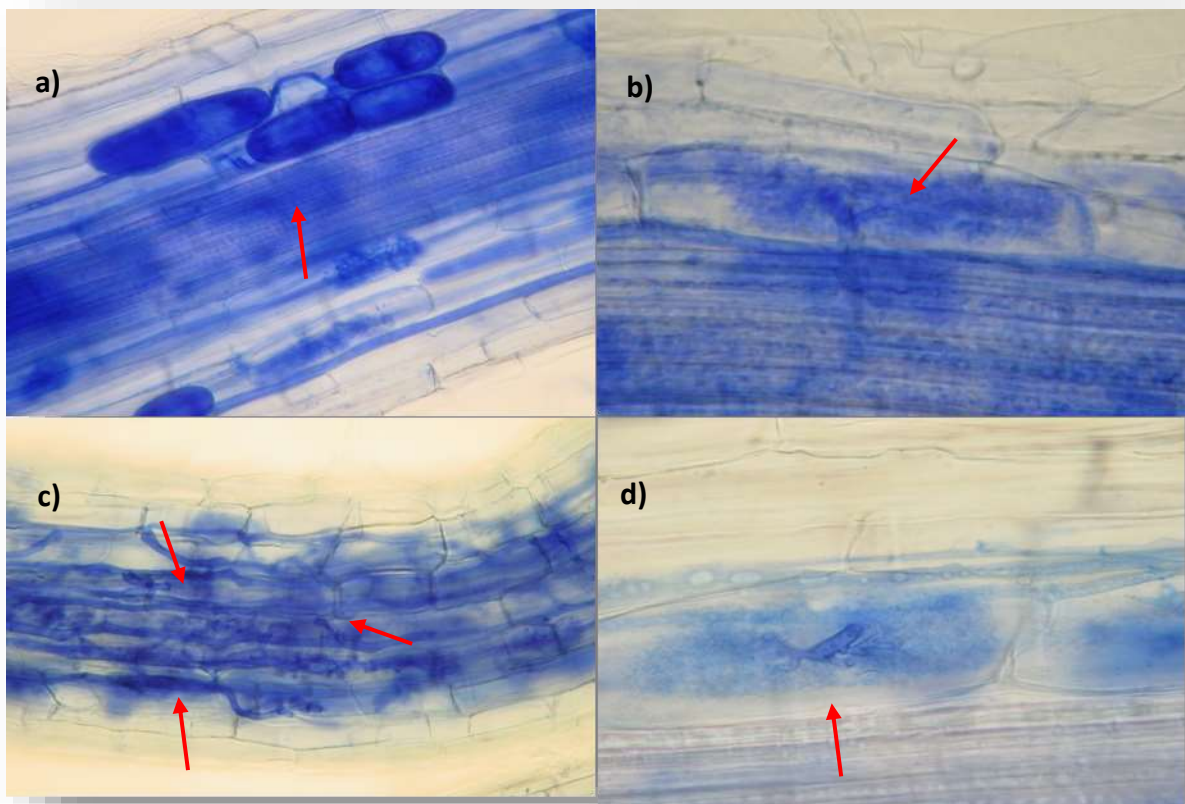


Figura 21. Estructuras típicas de la simbiosis micorrícica; a) Vesículas, b) Arbúsculos, c) Hifas y d) Coils.

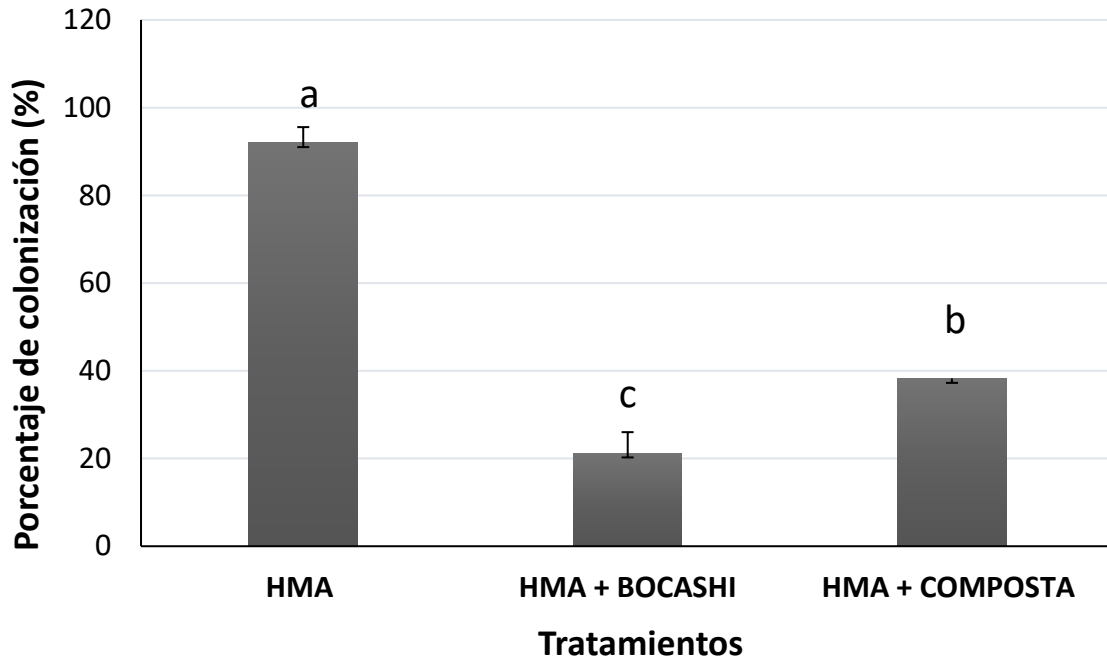


Figura 22. Porcentajes de colonización de HMA en raíces de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con y sin abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

8.3.1.2. Cantidad de esporas de HMA / 100 g sustrato

En cuanto al conteo de esporas realizado en cada sustrato, se observó que el comportamiento fue contrario al porcentaje de colonización, pues el tratamiento con más esporas fue HMA + Bocashi, con un total de 859 esporas seguido del tratamiento de HMA + Composta que se reporta con 810 esporas, mientras que el tratamiento sin sustrato orgánico únicamente contenía 465 esporas (Fig. 24).

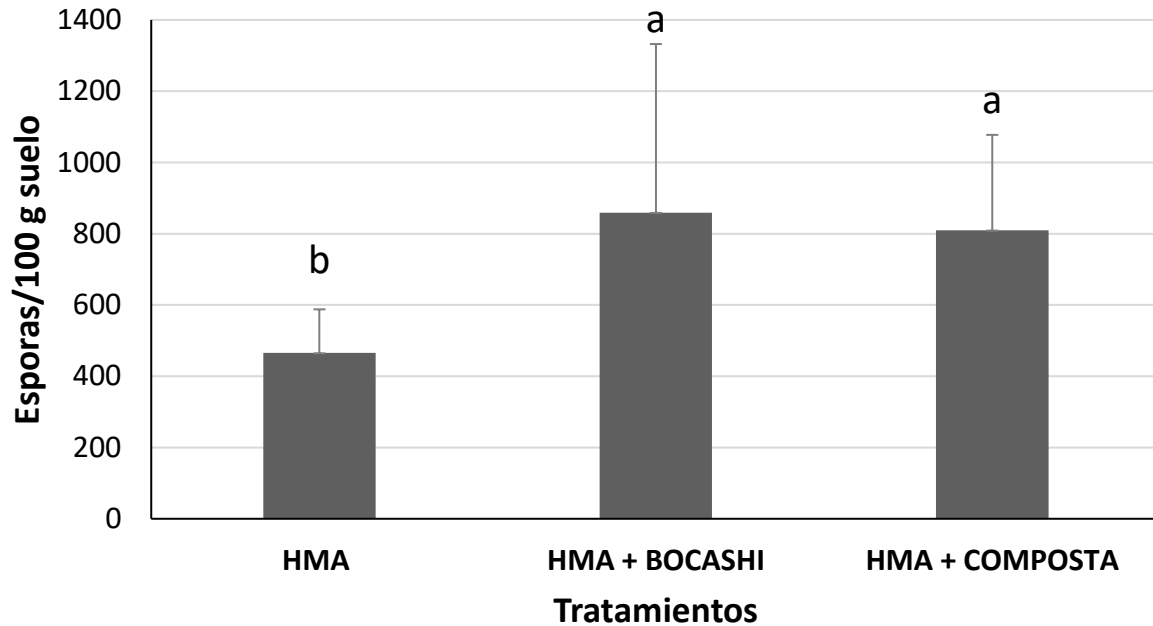


Figura 23. Cantidad de esporas de HMA presentes en 100 g de sustrato con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

8.3.1.3. Identificación morfológica de esporas de HMA

Se llevó a cabo la identificación morfológica de las esporas presentes en cada uno de los tratamientos inoculados. Dicha identificación se realizó con base en la International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM). El género predominante fue *Acaulospora* con 12 especies. Por su parte, se lograron identificar 9 especies del género *Glomus* y 5 especies del género *Scutellospora*, mientras que del género *Gigaspora* únicamente se encontraron 2 especies (Fig. 25).

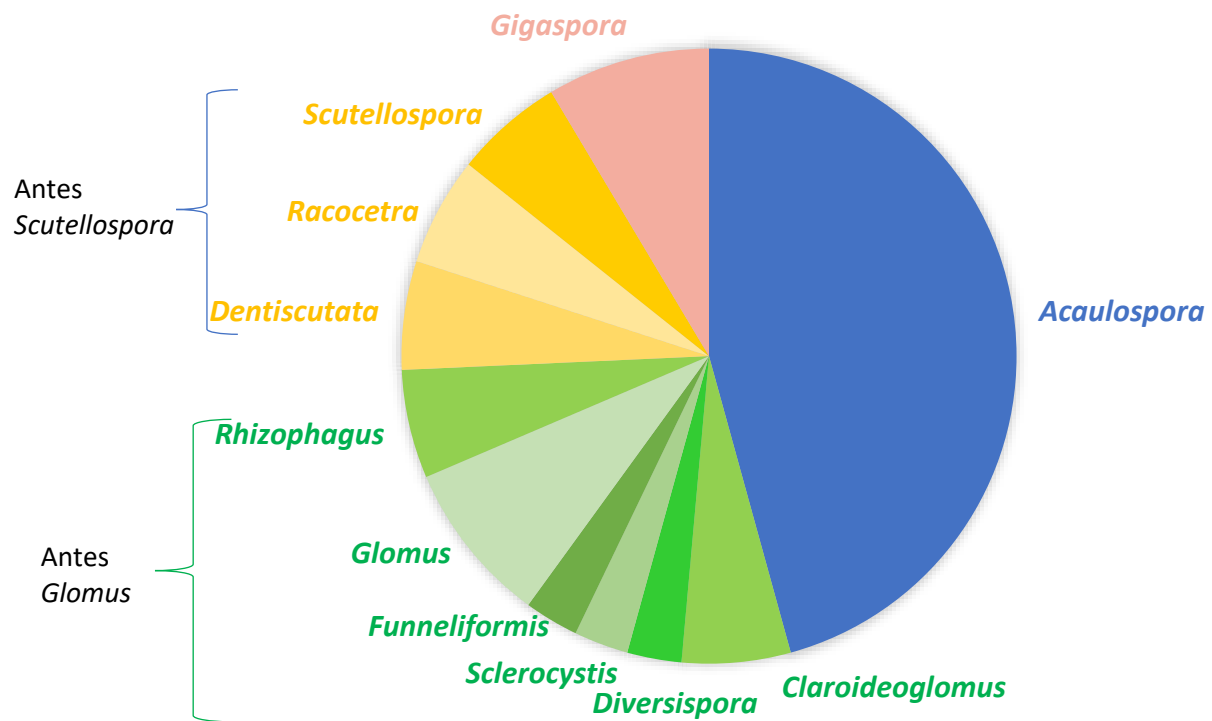


Figura 24. Géneros de esporas de HMA presentes en seis diferentes tratamientos basados en sustratos con inóculo nativo de HMA solo y en combinación con abono orgánico tipo Bocashi y Composta. Identificación basada en la International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM).

Género *Acaulospora*

Las especies identificadas del género *Acaulospora* se observan en la Figura 26.

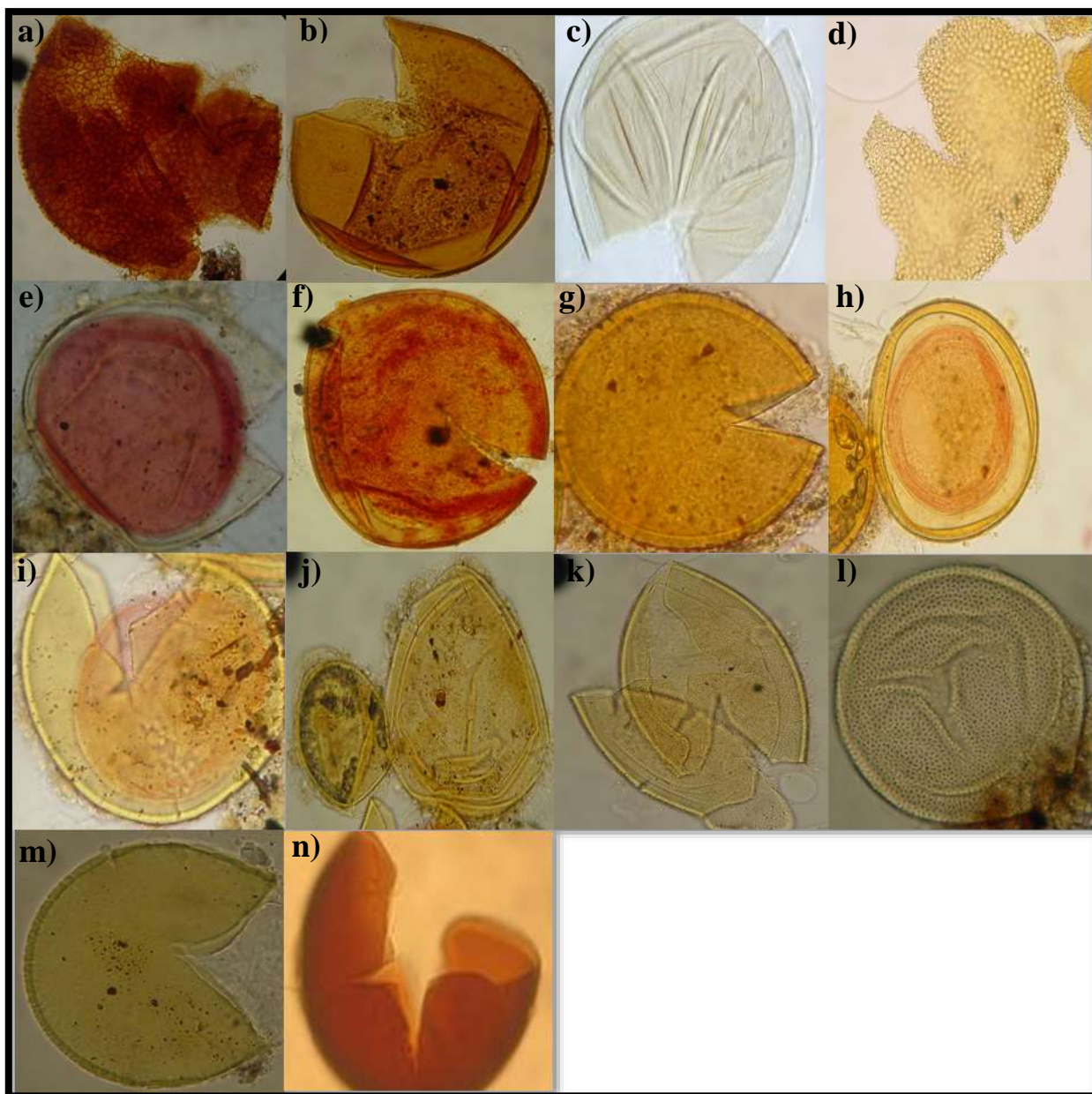


Figura 25. Esporas del género *Acaulospora*, identificadas en tres sustratos inoculados con HMA nativo de un cultivo de Zarzamora (*Rubus fruticosus* var. *Tupi*). Las especies encontradas son: a) *A. aff. bireticulata*, b) *A. aff. capsicula*, c) *A. aff. delicata*, d) *A. aff. denticulata*, e) *A. aff. dilatata*, f) *A. aff. foveata*, g) *A. aff. lacunosa*, h) *A. aff. laevis*, i) *A. aff. mellea*, j) *A. aff. morrowiae*, k) *A. aff. rhemii*, l) *A. aff. scrobiculata*, m) *A. aff. spinosa* y n) *Cetraspora aff. pellucida*.

Género *Glomus*

Las especies identificadas del género *Glomus* se observan en la Figura 27.

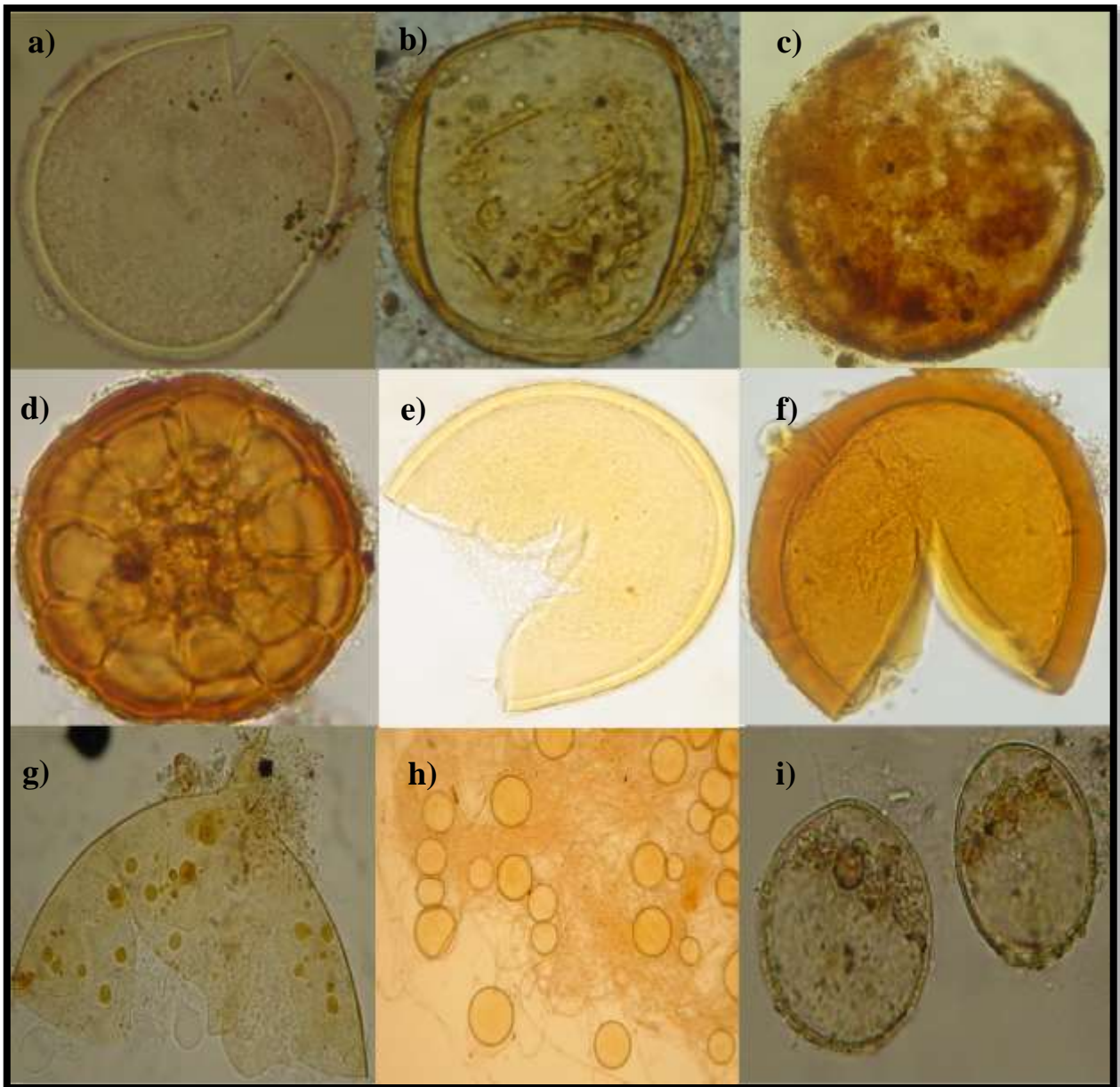


Figura 26. Esporas del género *Glomus*, identificadas en tres sustratos inoculados con HMA nativo de un cultivo de Zarzamora (*Rubus fruticosus* var. *Tupi*). Las especies encontradas son: a) *Claroideoglomus* aff. *claroideus*, b) *Claroideoglomus* aff. *lamellosum*, c) *Diversispora* aff. *tortuosa*, d) *Sclerocystis* aff. *sinuosum*, e) *Funneliformis* aff. *geosporum*, f) *Glomus* aff. *multicaule*, g) *Glomus* sp., h) *Rhizophagus* aff. *agregatum*, i) *Septoglomus* aff. *viscosum*.

Género *Scutellospora*

Las especies identificadas del género *Scutellospora* se observan en la Figura 28.

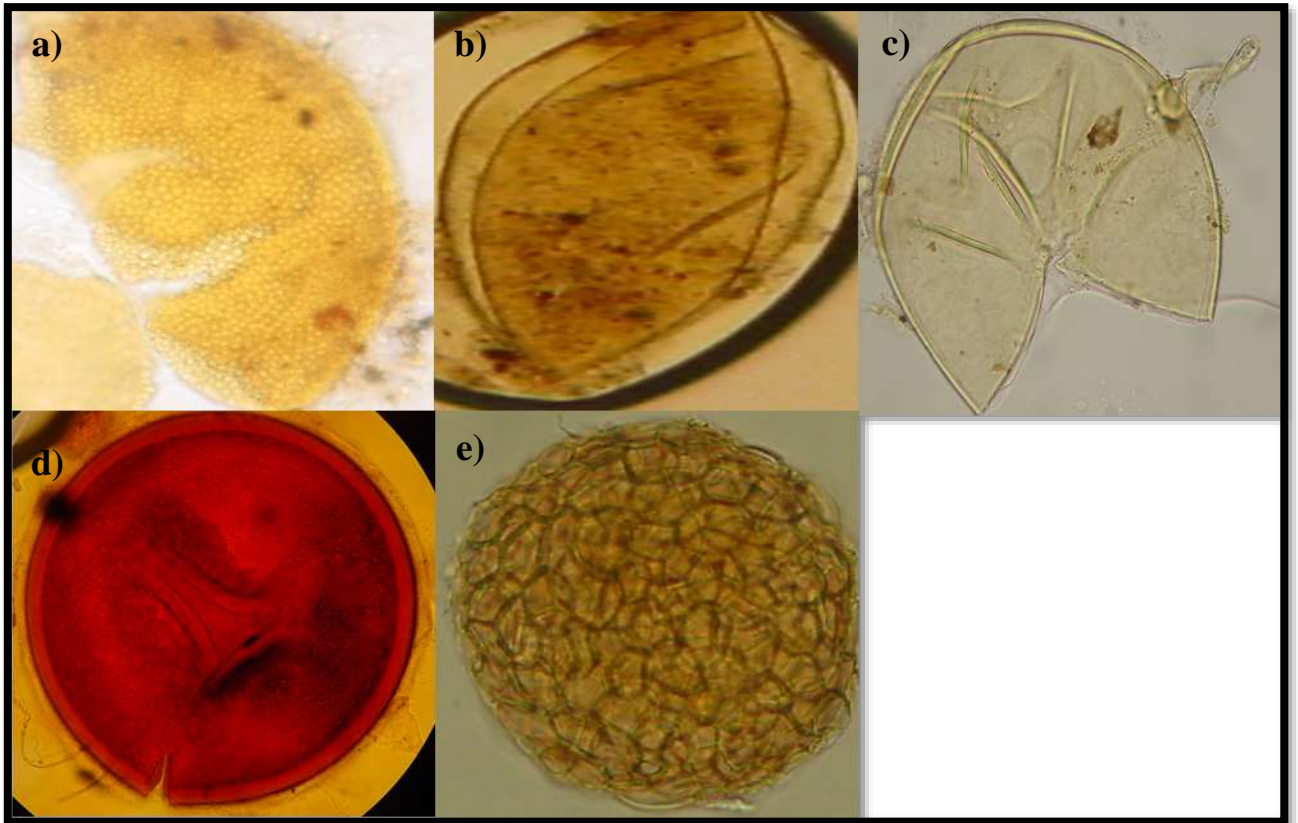


Figura 27. Esporas del género *Scutellospora*, identificadas en tres sustratos inoculados con HMA nativo de un cultivo de Zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi). Las especies encontradas son: a) *Dentiscutata* aff. *biornata*, b) *Racocetra* aff. *fulgida*, c) *Scutellospora* aff. *callospora*, d) *Scutellospora* aff. *cerradensis*, e) *Racocetra* aff. *verrucosa*.

Género *Gigaspora*

Las especies identificadas del género *Gigaspora* se observan en la Figura 29.

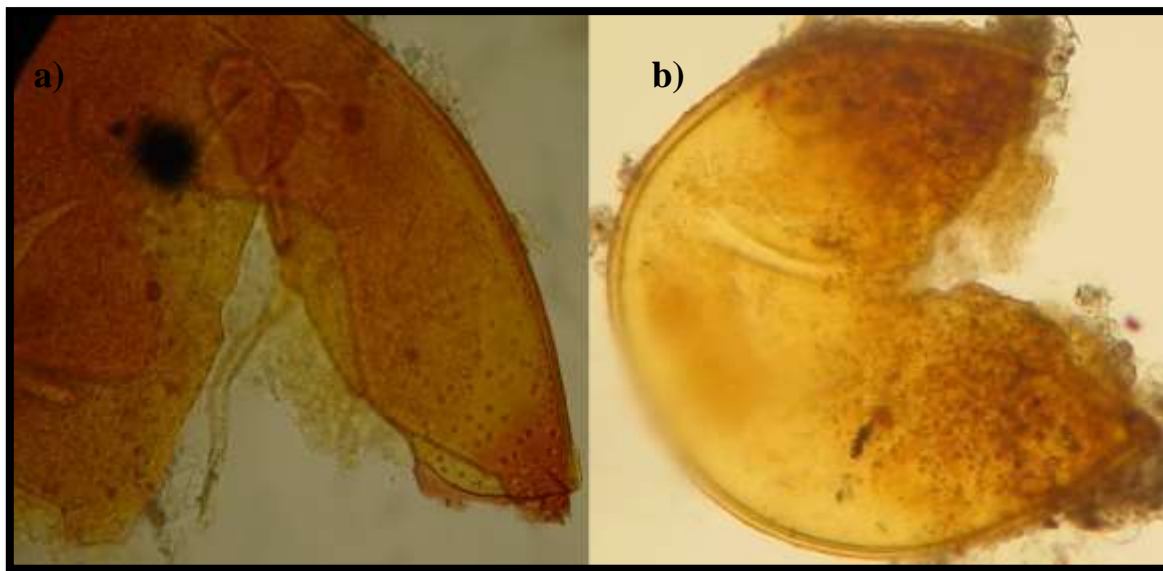


Figura 28. Esporas del género *Gigaspora*, identificadas en tres sustratos inoculados con HMA nativo de un cultivo de Zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi). Las especies encontradas son: a) *Gigaspora* aff. *margarita*, b) *Gigaspora* aff. *gigantea*.

En la tabla 5 se reportan las especies encontradas en cada tratamiento establecido. Se puede observar que el tratamiento de HMA + Bocashi tiene una riqueza de 24 especies, mientras que los tratamientos HMA Y HMA + Composta tienen una riqueza de 15 y 12 especies respectivamente.

Tabla 5. Especies de HMA encontradas en tres tratamientos distintos inoculados con HMA nativo de cultivos de zarzamora y en combinación con dos sustratos orgánicos (Bocashi y Composta).

Espece identificada	HMA	HMA + BOCASHI	HMA + COMPOSTA
<i>Acaulospora aff. bireticulata</i>	*	*	*
<i>Acaulospora aff. capsicula</i>		*	
<i>Acaulospora aff. delicata</i>		*	
<i>Acaulospora aff. denticulata</i>	*		*
<i>Acaulospora aff. dilatata</i>		*	
<i>Acaulospora aff. foveata</i>		*	*
<i>Acaulospora aff. lacunosa</i>		*	
<i>Acaulospora aff. laevis</i>		*	
<i>Acaulospora aff. mellea</i>		*	*
<i>Acaulospora aff. morrowiae</i>		*	
<i>Acaulospora aff. rhemii</i>		*	
<i>Acaulospora aff. scrobiculata</i>	*	*	*
<i>Acaulospora aff. spinosa</i>	*	*	*
<i>Cetraspora aff. pellucida</i>	*		
<i>Claroideoglopus aff. claroideus</i>	*		*
<i>Claroideoglopus aff. lamellosum</i>		*	
<i>Dentiscutata aff. biornata</i>	*		
<i>Dentiscutata aff. reticulata</i>		*	
<i>Dentiscutata aff. heterogama</i>		*	
<i>Diversispora aff. tortuosa</i>	*	*	
<i>Funneliformis aff. geosporum</i>		*	
<i>Gigaspora decipiens</i>	*	*	
<i>Gigaspora aff. gigantea</i>	*		
<i>Gigaspora aff. margarita</i>			*
<i>Glomus aff. multicaule</i>	*	*	*
<i>Glomus sp.</i>			
<i>Racocetra aff. fulgida</i>		*	
<i>Racocetra aff. verrucosa</i>	*	*	
<i>Rhizophagus aff. agregatum</i>	*		
<i>Sclerocystis aff. sinuosum</i>	*	*	
<i>Scutellospora aff. callospora</i>	*	*	*
<i>Scutellospora aff. cerradensis</i>			*
<i>Septoglopus aff. viscosum</i>		*	*
Riqueza	15	24	12

Se realizó un análisis de diversidad mediante el Índice de Shannon Wiener (Fig. 30), en el cual se puede observar que el tratamiento HMA + Bocashi cuenta con mayor diversidad de especies, así como uniformidad de individuos por especie. Además, al obtener un valor de equidad < 0.5 (Evannensses) se reporta una dominancia en la abundancia de algunas especies en este tratamiento.

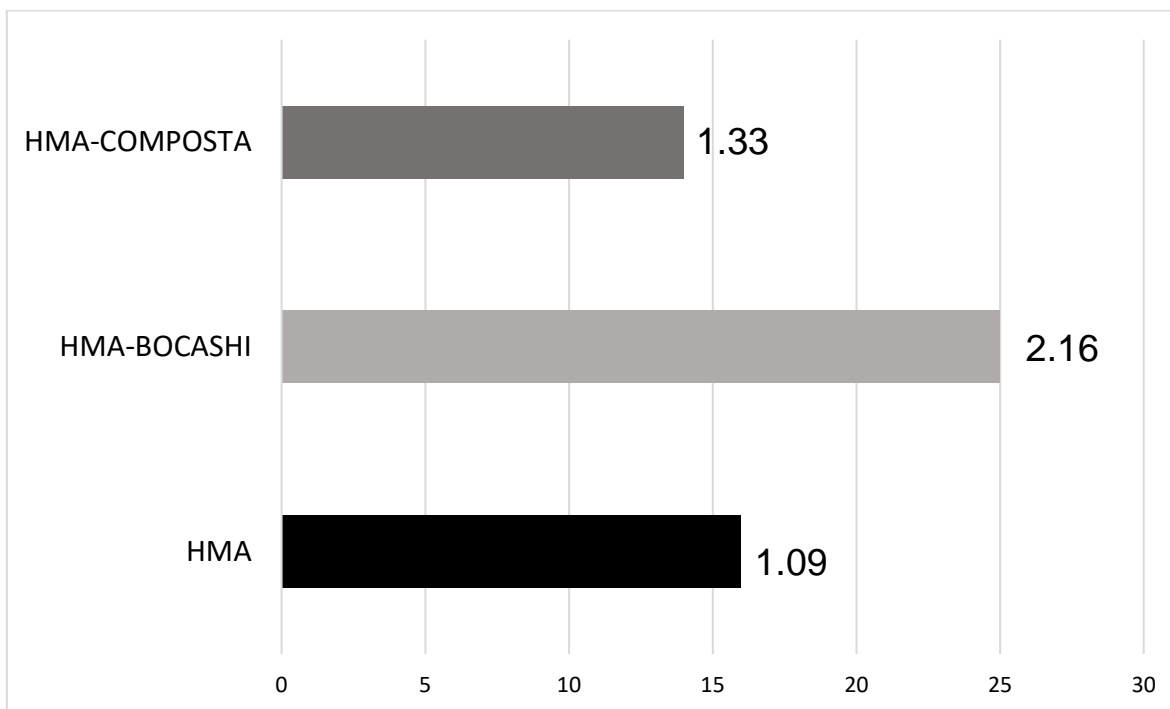


Figura 29. Análisis de diversidad (Índice de Shannon Wiener) de tres tratamientos inoculados con HMA nativo de un cultivo de Zorzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi).

Por otra parte, se realizó un análisis de distancias Ward con distancias euclidianas (Fig. 31), con el cual es claro interpretar que los tratamientos 1 y 3 (HMA + Composta y HMA) son más parecidos entre si con respecto al número de especies encontradas ya que el tratamiento 2 (HMA + Bocashi) se reporta como el tratamiento con mayor número de especies compartidas.

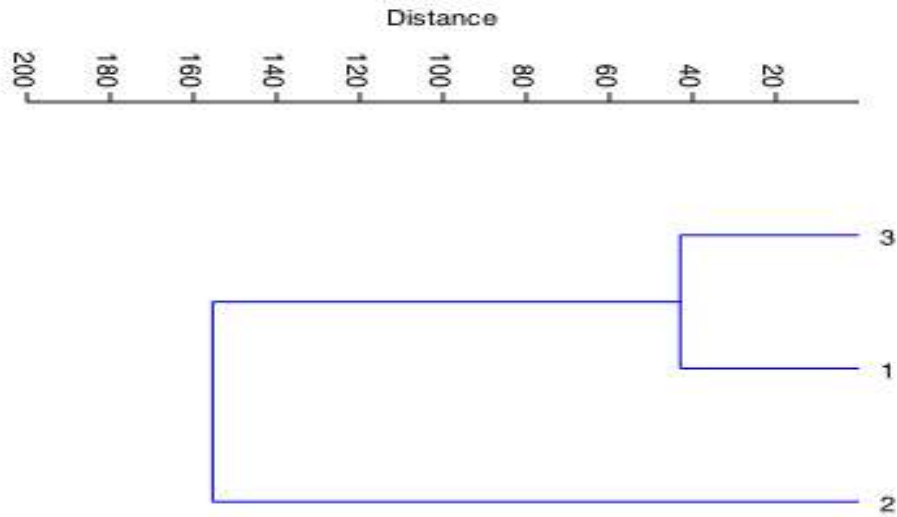


Figura 30. Análisis de distancias Ward con distancias euclidianas de tres tratamientos inoculados con HMA nativo de cultivos de zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi) suplementadas con dos tipos de sustrato orgánico.

Se realizó también un Análisis de Rarefacción (Fig. 32), con la finalidad de proyectar el número de especies que se pudieron haber encontrado si el número de tratamientos hubiera sido mayor. El número real de especies encontradas en los tres tratamientos establecidos fue de 35; el análisis muestra que esta cantidad se encuentra en dentro de los rangos mínimo y máximo esperados. Sin embargo, la gráfica indica que la diversidad total de HMA podría seguir aumentando si incrementa el número de muestreos, de manera que con 7 muestreos estaría mejor representada la diversidad, pudiendo encontrar hasta cerca de 50 especies. Por su parte, el índice de Chao 1 nos indica que es probable que la riqueza sea mayor a la encontrada.

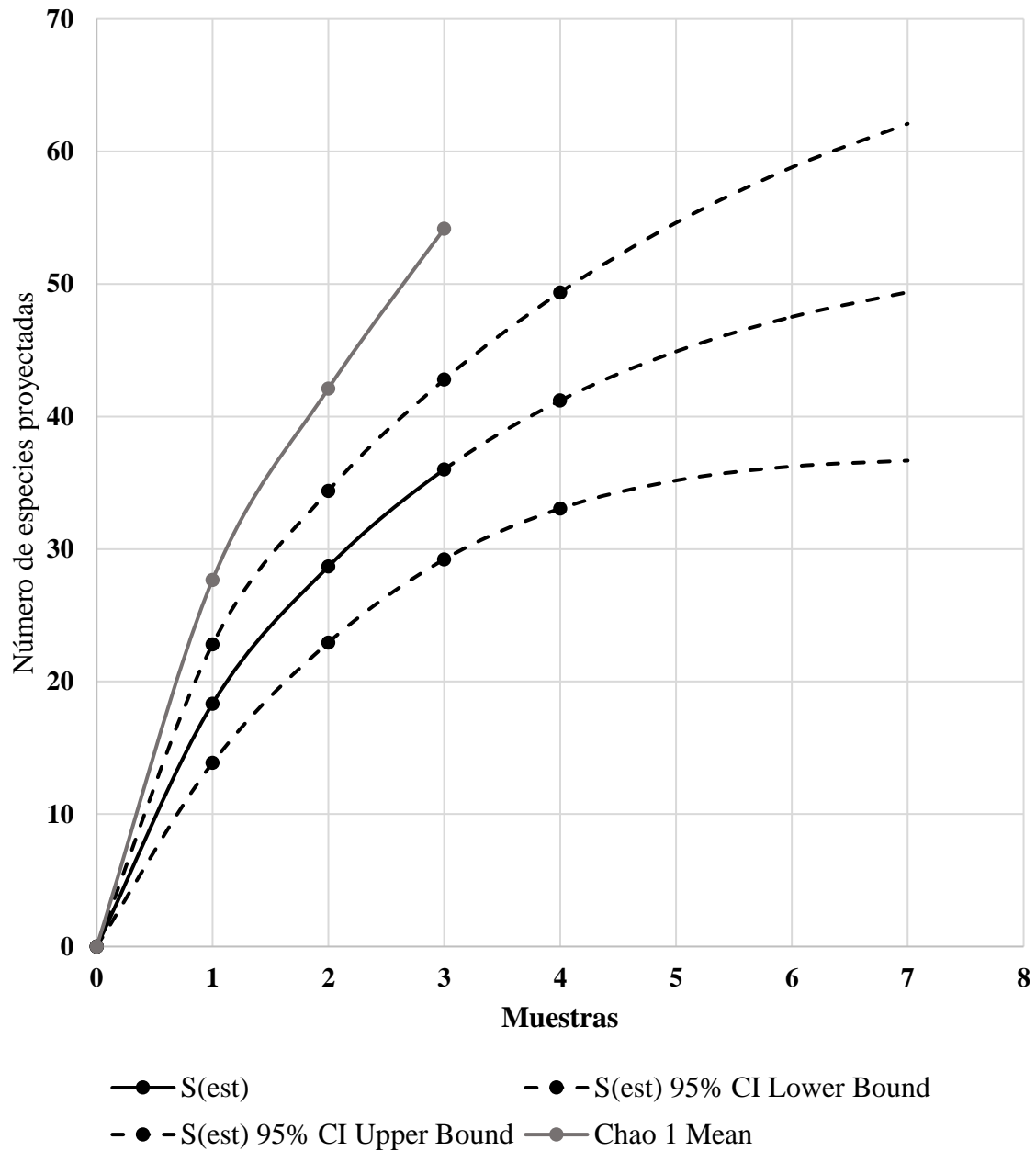


Figura 31. Análisis de Rarefacción de tres muestras (tratamientos), la línea continua oscura indica el número real de especies encontradas; las líneas punteadas son los valores mínimo y máximo esperado de especies encontradas y la línea gris representa el Índice de Chao 1.

8.3.2. Variables fisicoquímicas de los sustratos

8.3.2.1. Materia orgánica

Se realizó un análisis fisicoquímico a los sustratos utilizados en el experimento. El porcentaje de materia orgánica (Fig. 33) fue mayor en los sustratos orgánicos por si solos, mientras que el tratamiento Control y el tratamiento de HMA sin sustrato orgánico obtuvieron los porcentajes más bajos de materia orgánica con un 2.4 % y 2.1 % respectivamente.

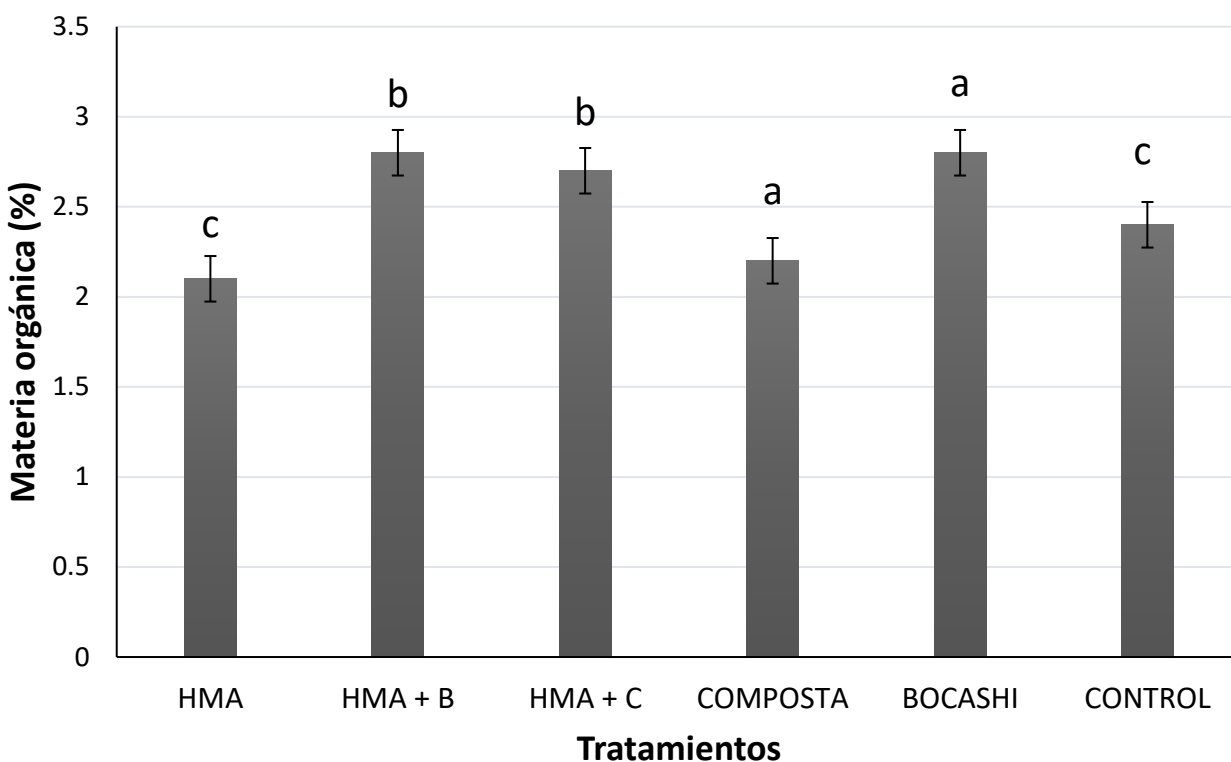


Figura 32. Porcentaje de materia orgánica de seis tratamientos establecidos con HMA en interacción con abono orgánico tipo Bocashi y Composta. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

8.3.2.2. pH

Con respecto a la variable del pH, se puede observar en la Figura 34, que los tratamientos Control y solo HMA tuvieron un Potencial de Hidrógeno ligeramente ácido (5.9 y 5.6 respectivamente). Por su parte, los sustratos orgánicos preparados se reportan con pH de 6.5, mientras que los tratamientos en los que se combinó el HMA nativo más los sustratos orgánicos, tuvieron pH de 6.2.

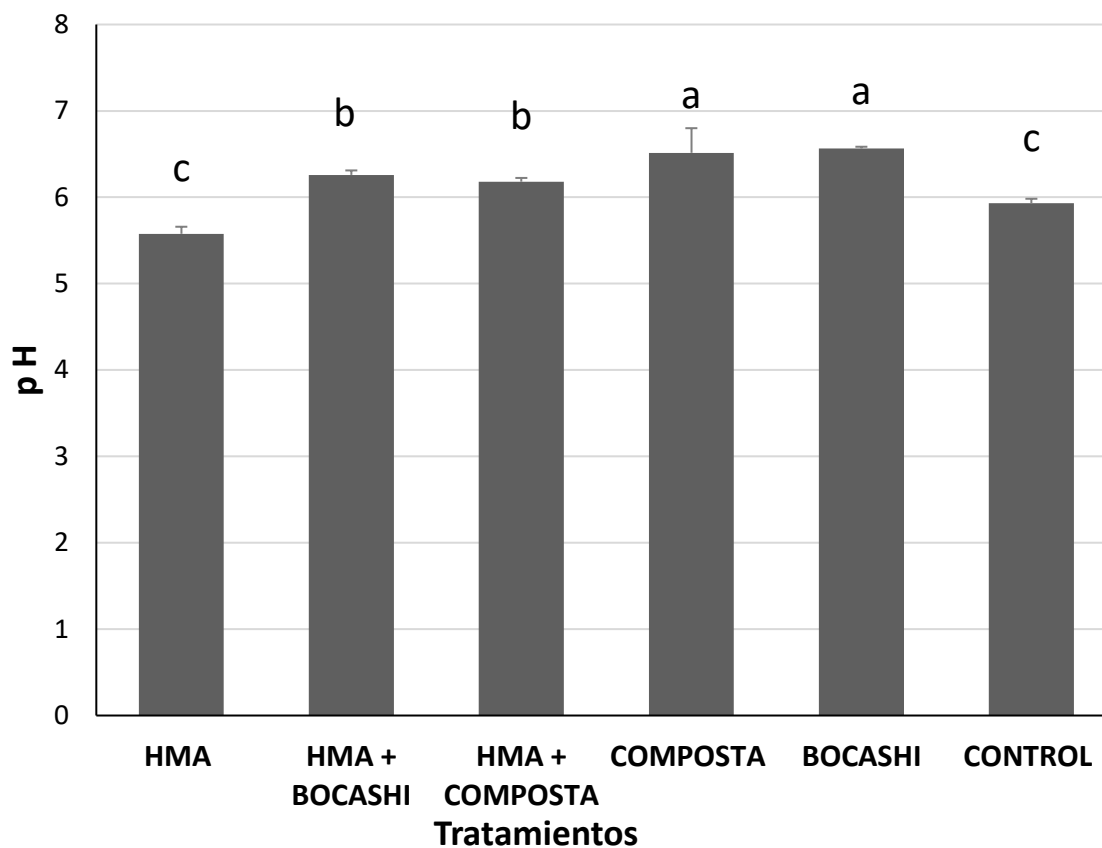


Figura 33. Potencial de Hidrógeno de seis tratamientos establecidos con HMA con y sin interacción con abono orgánico tipo Bocashi y Composta. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

8.3.2.3. *Parámetros químicos*

Dentro de las variables químicas, se determinaron elementos como el Nitrógeno, Fósforo y Potasio de cada uno de los sustratos empleados en cada tratamiento (Tabla. 6). Se puede observar que el nivel de Fósforo fue adecuado en los tratamientos que incluyeron composta, sin embargo, los tratamientos con Bocashi tenían niveles altos de este elemento. El Potasio resulto con cantidades excesivas en general. La capacidad de intercambio catiónico (CIC), fue menor en los tratamientos HMA y Control (9.9 y 10), mientras que los tratamientos en los que se combinó HMA con Bocashi y Composta tuvieron una CIC de 14.8 y 13 respectivamente.

Tabla 6. Determinación de elementos químicos (Nitrógeno, Fósforo y Potasio) y Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) de seis sustratos utilizados con y sin la combinación de un inóculo nativo de HMA y dos tipos de sustrato orgánico (Bocashi y Composta).

	HMA	HMA + BOCASHI	HMA + COMPOSTA	COMPOSTA	BOCASHI	CONTROL
NITRÓGENO (ppm)	48	26	51	63	50	50
Nivel	ADECUADO	BAJO	ADECUADO	ADECUADO	ADECUADO	ADECUADO
FÓSFORO (ppm)	25	55	37	39	56	23
Nivel	BAJO	ALTO	ADECUADO	ADECUADO	ALTO	BAJO
POTASIO (ppm)	226	494	440	556	602	221
Nivel	ALTO	EXCESIVO	EXCESIVO	EXCESIVO	EXCESIVO	ALTO
C I. C. (meq/100 g)	9.9	14.8	13	12	12.5	10
Nivel	MUY BAJO	BAJO	BAJO	BAJO	BAJO	MUY BAJO

8.3.3. Variables agronómicas

Se determinaron variables de rendimiento vegetal de la especie *Rubus fruticosus* var. Tupi.

8.3.3.1. Longitud de raíces

El tamaño de las raíces (Fig. 35), fue mayor en el tratamiento Control, con un tamaño máximo de 24.6 cm y el tratamiento de HMA + Composta con raíces de hasta 22 cm de longitud. Los tratamientos Bocashi y HMA + Bocashi tuvieron un comportamiento similar en esta variable con longitudes de 19 y 19.3 cm respectivamente. Por su parte, los tratamientos con raíces más pequeñas fueron HMA y Composta (Fig.36).



Figura 34. Raíces de plantas de zarzamora establecidas en seis tratamientos distintos: a) HMA, b) HMA + Bocashi, c) HMA + Composta, d) Composta, e) Bocashi y f) Control.

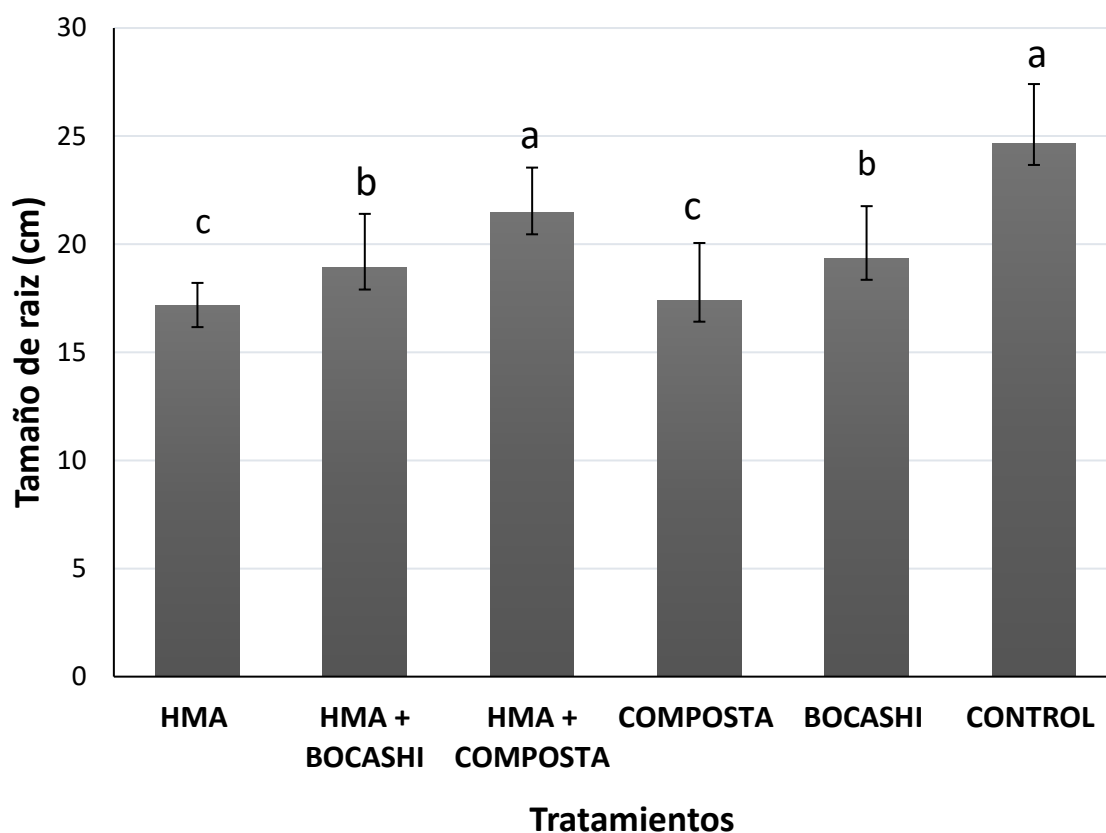


Figura 35. Longitudes de raíz de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

8.3.3.2. *Altura de parte aérea*

Para esta variable, se observó que las plantas más altas se encontraron en los tratamientos Control y Bocashi con una altura de 14.6cm y 14.9 cm. Los tratamientos HMA y HMA + Composta midieron 12.8 cm, mientras que la parte aérea más pequeña se encontró en las plantas de los tratamientos: HMA + Bocashi y Composta con alturas promedio de 9.1 y 10.3 cm respectivamente (Fig. 37 y 38).

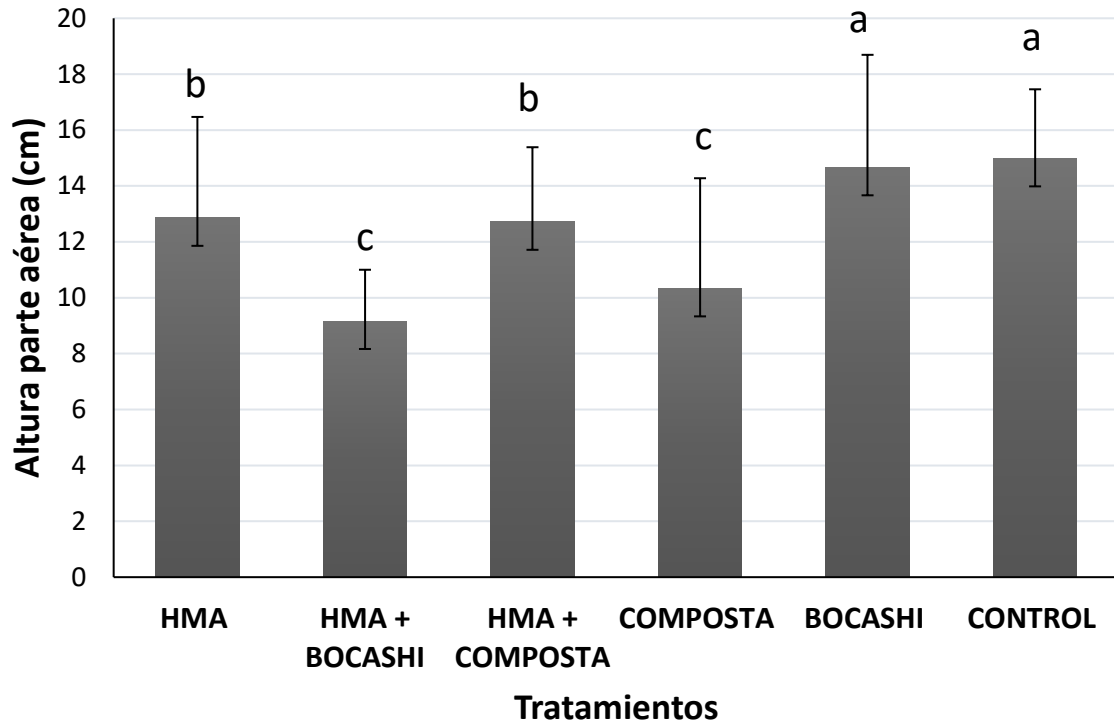


Figura 36. Mediciones de la altura de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

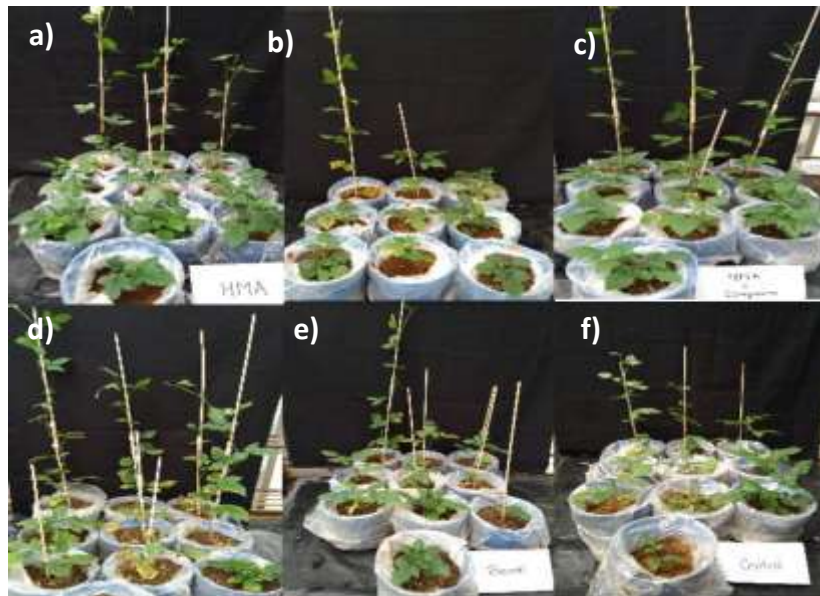


Figura 38. Parte aérea de plantas de zarzamora.

8.3.3.3. Área foliar

Otra variable agronómica que se midió fue el área foliar, la cual es considerada de las más importantes para cuestiones de producción agrícola (Fig. 39). Los resultados muestran que en general, los tratamientos que incluyeron inóculo micorrícico generaron mayor área foliar a excepción del tratamiento HMA + Bocashi; el cual tuvo un comportamiento similar al tratamiento Control y Composta. Por su parte, el tratamiento de Bocashi fue quien registro menor área foliar, incluso por debajo del Control (Fig. 40).

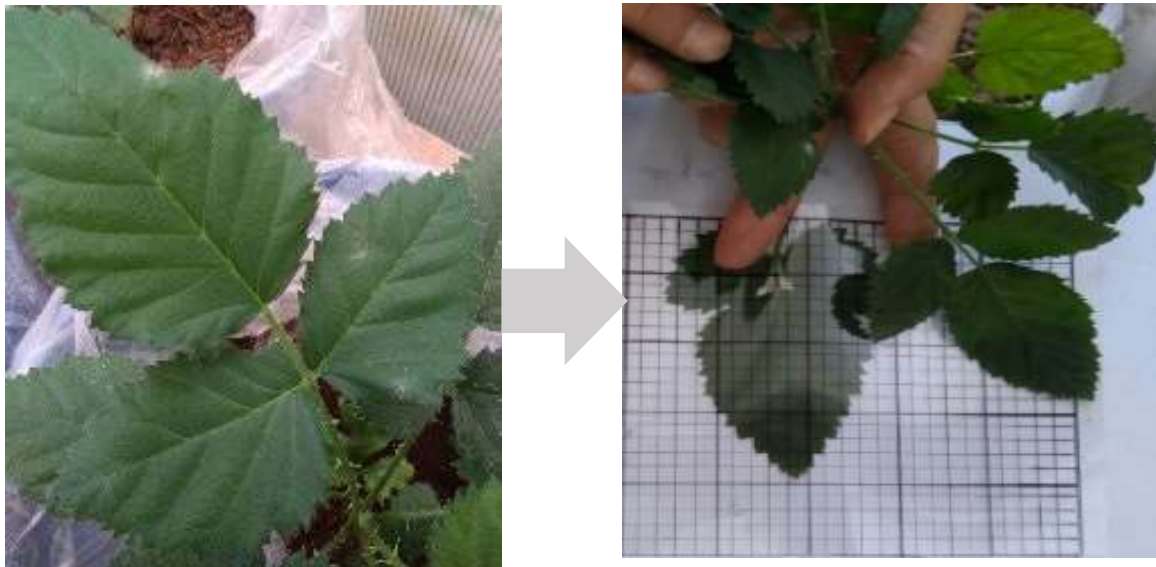


Figura 37. Medición de área foliar de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación.

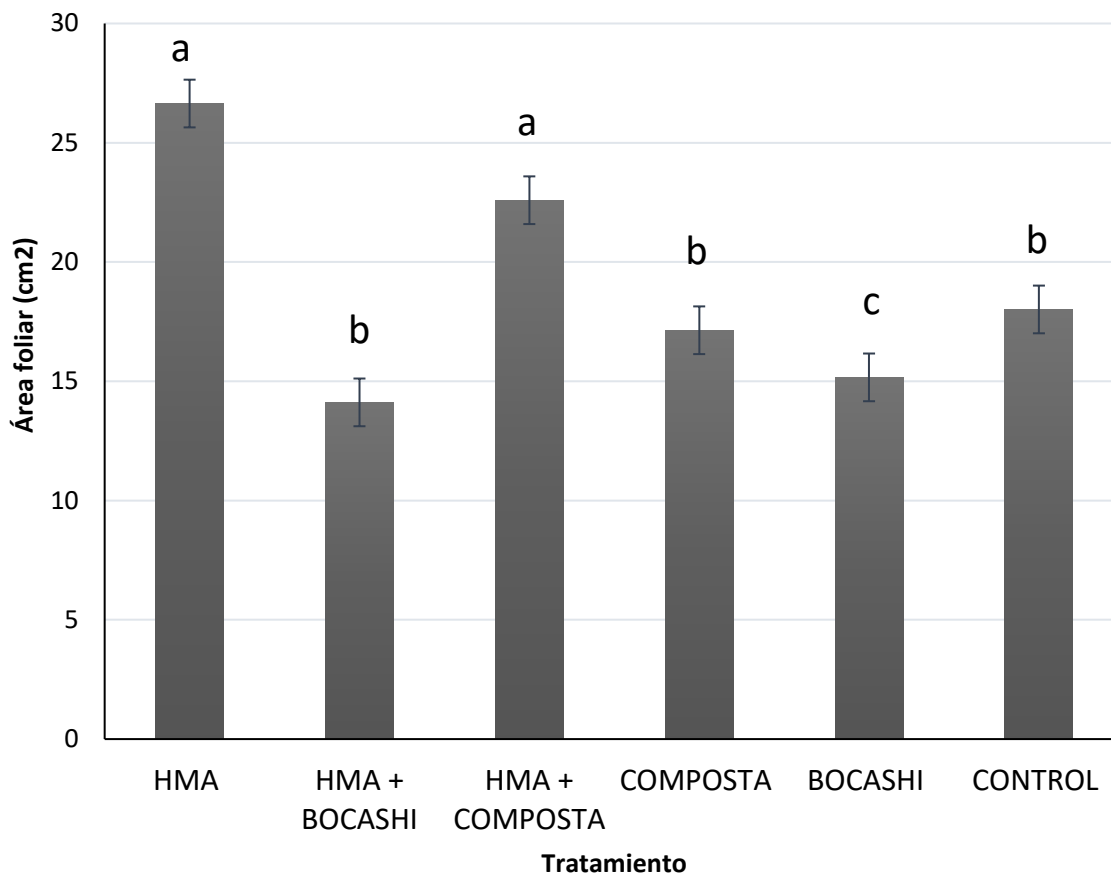


Figura 38. Mediciones de área foliar de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

8.3.3.4. Número de tallos secundarios

Otra variable importante para la producción de esta frutilla es el número de tallos secundarios. Los resultados de esta variable se encuentran en la Figura 41, en la cual se puede observar un comportamiento similar a la variable de área foliar; en general, los tratamientos que incluyeron inóculo micorrícico se reportan con mayor número de tallos a excepción del tratamiento de inóculo en combinación con Bocashi, el cual se comportó parecido al tratamiento de Bocashi y Control, los cuales tuvieron menor número de tallos secundarios.

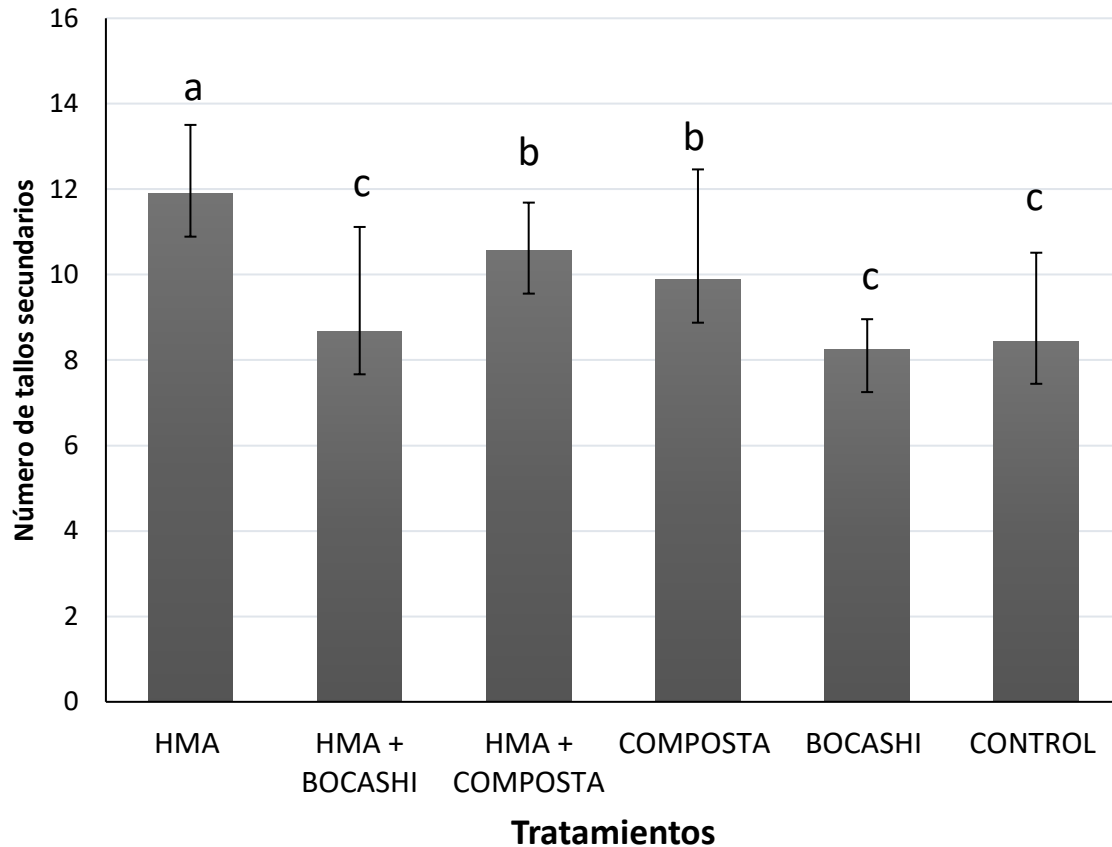


Figura 39. Número de tallos secundarios en plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

8.3.3.5. Clorofila

La determinación de esta variable se realizó con el equipo Opti – Science, Modelo CCM-300, el cual, mediante LED de precisión que emite longitudes de onda específicas en los rangos rojo e infrarrojo analiza la relación de ambas para determinar la concentración de clorofila (Fig.42).



Figura 40. Medición de concentración de clorofila en plantas de Zarzamora (*Rubus fruticosus* var. Tupi), con el uso del equipo Opti-Science.

Los resultados obtenidos se observan en la Figura 43. En donde los tratamientos con mayor índice de clorofila son los que incluyeron inóculo micorrícico en específico HMA y HMA + Bocashi. El tratamiento Composta tuvo un comportamiento muy parecido al Control, siendo los tratamientos con menor concentración de esta variable.

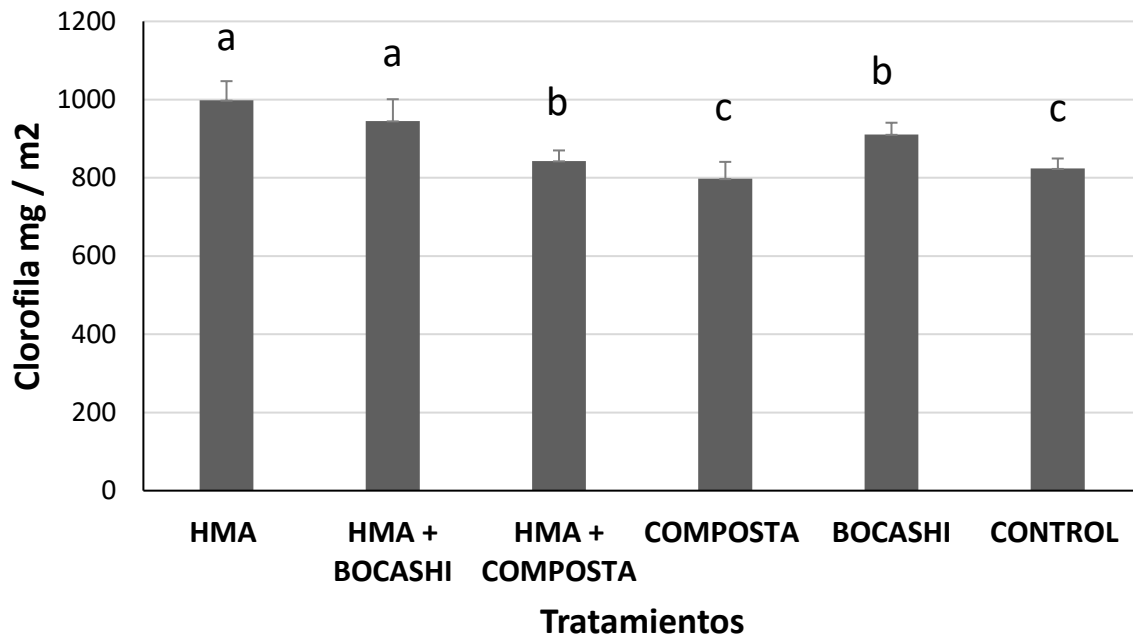


Figura 41. Cantidad de clorofila en mg/m^2 de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

8.3.3.6. Biomasa aérea y radical

Para esta variable, la parte aérea y radical de la planta se sometió a un secado en horno a 60° C durante 72 h con la finalidad de extraer toda el agua y obtener la materia seca de la especie vegetal. Los resultados muestran que para el caso de la parte aérea (Fig. 44), los tratamientos con mayor peso seco fueron, en general, aquellos que incluyeron inoculo de HMA a excepción del tratamiento HMA + Bocashi, lo cual concuerda con la variable de área foliar. Para el caso de la parte radical, y como era de esperarse, el tratamiento Control obtuvo mayor peso seco mientras que los tratamientos HMA + Bocashi y Composta resultaron con menor peso (Fig. 45).

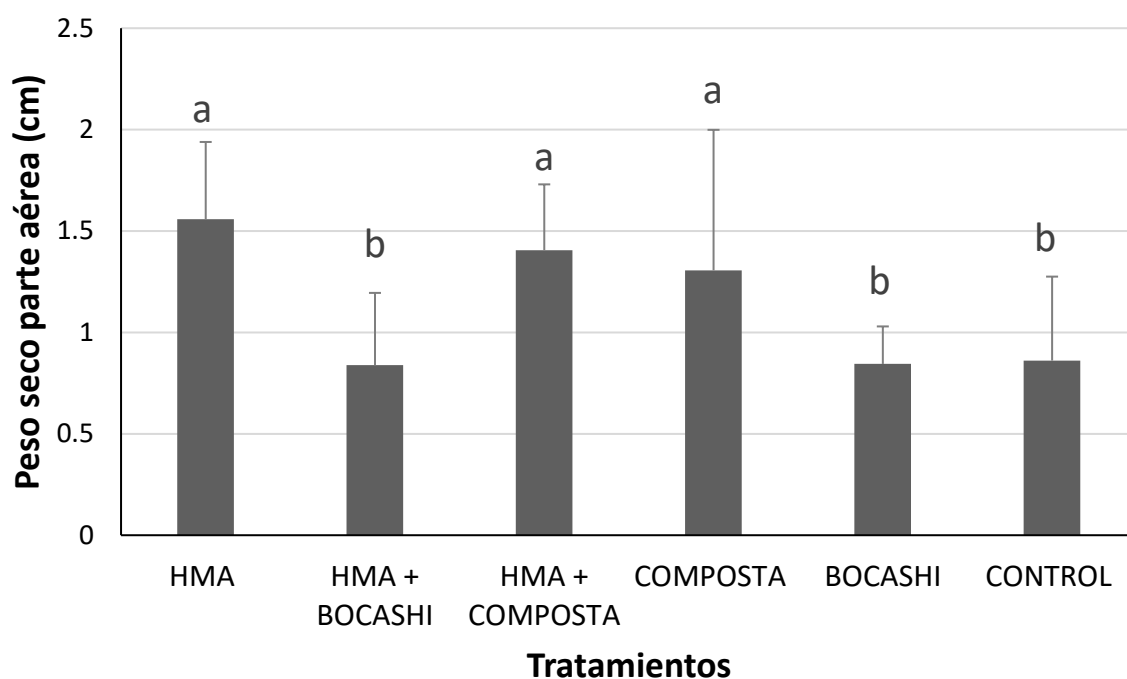


Figura 42. Biomasa de la parte aérea de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

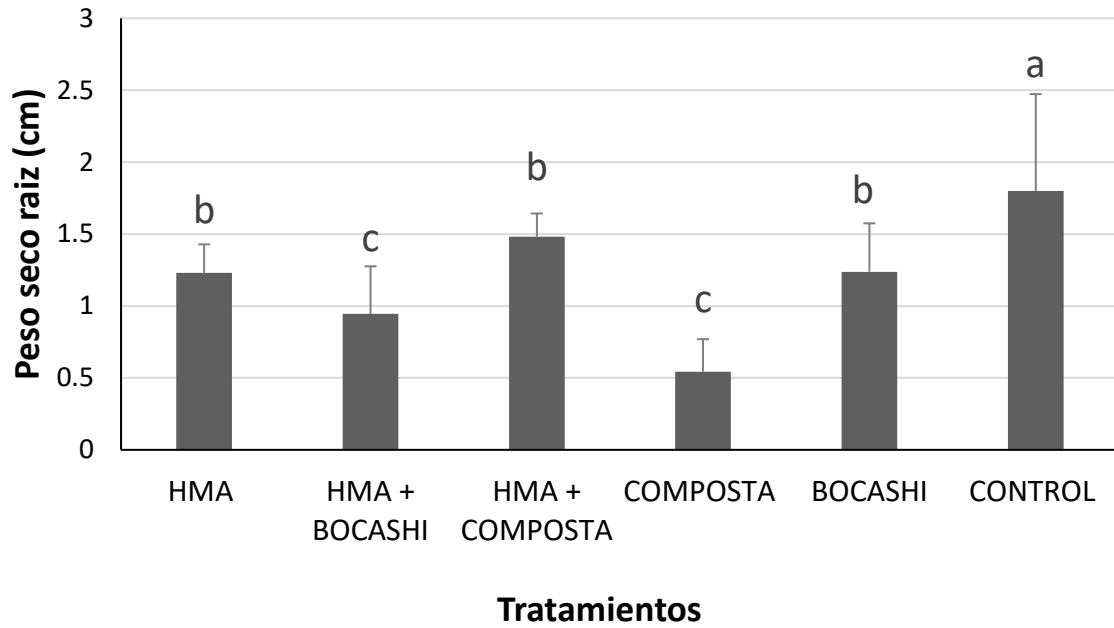


Figura 43. Biomasa de la raíz de plantas de zarzamora establecidas en sustratos con HMA y abonos orgánicos tipo Bocashi y Composta, solos y en combinación. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$, Tukey).

9. DISCUSIÓN

En la actualidad, algunos países industrializados han incrementado el interés por la implementación de sistemas agrícolas de bajo costo con la finalidad de conservar sus recursos naturales (Mader et al., 2002), desafortunadamente, México no se encuentra en esa etapa de concientización. Es por esto que resulta importante fortalecer la información acerca de los sistemas integrales caracterizados por el uso de productos químicos de manera reducida y el incremento en el uso de fertilizantes orgánicos producto de las mismas granjas o parcelas.

Aunque en general, los sistemas de bajos insumos generan un balance negativo de los nutrientes (Oehl et al., 2002) es importante resaltar que es una condición particular para que las plantas efectúen la simbiosis micorrícica.

Según los resultados obtenidos en el presente estudio, la colonización micorrícica no se vio favorecida con los sustratos orgánicos preparados; el Bocashi fue el tratamiento con menor porcentaje de colonización, este resultado es contrario a un estudio en donde se evaluó el manejo de fertilizantes y abonos orgánicos en el cultivo de maíz, en el cual el porcentaje de colonización micorrícica fue 1.3 veces más alto con Bocashi que sin abono (Alvarez-Solís, 2010).

La principal estructura que poseen los HMA para propagarse son las esporas. Los datos obtenidos demuestran que la propagación del consorcio nativo de HMA se vio beneficiada, lo que se atribuye a la materia orgánica de los abonos. Los sustratos orgánicos utilizados en este trabajo se pueden considerar promisorios para la propagación de los géneros de esporas de HMA identificados, pues el número de estructuras encontradas en los tratamientos con abono, fue el doble que aquellas encontradas en el tratamiento sin fertilización orgánica, de aquí la importancia de promover el aprovechamiento de los desechos del campo en la producción de insumos orgánicos como una herramienta sustentable.

El sustrato basado en abono orgánico tipo Bocashi promovió una mayor riqueza y diversidad de HMA por lo que mejora las propiedades físicas y químicas del suelo y conlleva el crecimiento de microorganismos simbióticos como las bacterias fijadoras de Nitrógeno (Javaid, 2010).

La diversidad de las micorrizas arbusculares varía entre especies, tipo de suelo y zona climática. El género de HMA predominante en este estudio fue *Acaulospora*, el cual ha sido reportado con

mayor número de especies en suelos ácidos. En un estudio en donde evaluaron los efectos de los parámetros físicos y químicos del suelo y las prácticas agrícolas sobre la diversidad de comunidades de hongos micorrícicos arbusculares en plantaciones de café en México y Colombia, reportan como especies predominantes a *Acaulospora mellea* y *Acaulospora spinosa* (Posada et al., 2016). Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos, pues el cultivo de zarzamora se caracteriza por desarrollarse en suelos con pH de 6 a 7.5 por lo que, el inóculo utilizado, estuvo constituido por especies de HMA característicos por su desarrollo en suelos ácidos.

Los resultados también convergen con un trabajo de investigación en el cual se evaluó el impacto de la materia orgánica en huertos convencionales y huertos orgánicos de aguacate, sobre la diversidad de HMA, donde se reporta que la abundancia de la comunidad de esporas de HMA difiere en sistemas convencionales y orgánicos, siendo las especies de *Glomus*, las más abundantes en los dos sistemas, pero las especies *Acaulospora* y *Scutellospora* fueron las más abundantes en los sistemas orgánicos (Paleo, 2009), tal como se observó en el presente estudio.

Las especies de HMA aportan diferentes características funcionales en la promoción del crecimiento vegetal. Para el caso del crecimiento de raíz, el beneficio que aporta la simbiosis micorrícica a las plantas depende en gran medida de la actividad del micelio externo del hongo debido a que mediante la extensión de hifas ayuda a alcanzar los nutrientes que se han agotado o que no se encuentran en la zona adyacente a la raíz. Los resultados de el presente trabajo nos mostraron que la mayor longitud de raíz la tuvieron las plantas del tratamiento Control, lo cual se atribuye a que a este tratamiento no se adiciono ningún tipo de fertilización, por lo que las plantas de zarzamora se enfrentaron a estrés nutricional y promovió la extensión de raíces en búsqueda de nutrientes por motivos de sobrevivencia. Los tratamientos que incluyeron abono tipo Bocashi fueron las plantas con menor longitud de raíz por la estabilidad nutrimental aportada por los ingredientes de dicho sustrato.

El área foliar y el número de tallos secundarios, obtuvieron los valores más altos en nuestros resultados con el inóculo micorrícico nativo.

Finalmente, la adición de levadura en los sustratos orgánicos probados, promovieron un efecto antagónico con los HMA, ya que en la altura o el número de tallos secundarios, se obtuvieron valores bajos en los tratamientos basados en la combinación de HMA con abono Bocashi.

10. CONCLUSIONES Y PROSPECTIVAS

El uso de los sustratos orgánicos en combinación con HMA nativos de plantas de zarzamora, provoca un mayor rendimiento vegetal de esta especie, por tanto es importante promover el uso de productos biológicos basados en microorganismos benéficos del suelo como los Hongos Micorrízicos Arbusculares.

Es necesario continuar con los estudios del comportamiento de estos simbioses con otro tipo de frutillas como el arándano, el cual se considera también como uno de los berries con mayor demanda a nivel mundial y por lo tanto, un promotor de la economía del estado de Michoacán por considerarse uno de principales estados productores. En este contexto, son pocos los trabajos registrados que se enfocan en superar las dificultades que implica el estudio de los simbioses específicos para esta especie vegetal, por lo que es importante comenzar a trabajar en ello con dos finalidades: dar a conocer nuevas estrategias de manipulación de especies fúngicas de este tipo y mejorar las prácticas agrícolas usadas en la actualidad. Así también, existen muchos otros cultivos como la fresa, frambuesa, aguacate, entre otros, considerados de alta rentabilidad con los que se podría experimentar más a fondo, lo que permitiría ampliar el conocimiento acerca del comportamiento de los HMA y los beneficios que conllevan para el sector productivo y económico.

Cuando esos conocimientos logren llegar a los productores, y estos implementen su uso, la sociedad estará dando un paso hacia una agricultura mas amigable con el ambiente, tendiendo hacia una agricultura orgánica, mas sustentable.

11. LITERATURA CITADA

- Abumhadi, A. 2012. Agricultural research in 21st century: Challenges facing the food security under the impacts of climate change. *BJAS*. 18: 801–818.
- Acevedo, A. I., Leos, J. A., Figueroa, U., Romo, J. L. 2017. Política ambiental: uso y manejo de estiércol en la Comarca Lagunera. 27 (4), 3-12.
- Alarcón, A. y Ferrera- Cerrato, R. 1999. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra Latinoamericana*. 17 (3): 179.191.
- Alvarez-Solis, J., Gómez - Velasco, D., León - Martínez, N., Gutiérrez - Miceli, F. 2010. Manejo integrado de fertilizantes y abonos orgánicos en el cultivo de maíz. *Agrociencia*. 44: 575-586.
- Berruti, A., Lumini, E., Balestrini, R., Bianciotto, V. 2016. Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Natural Biofertilizers: Let's Benefit from Past Successes. *Front. Microbiol.* 6: 1559.
- Boudet, A., Chinchilla, V. E., Boicet, T., González, G. 2015. Efecto de diferentes dosis de abono orgánico tipo Bocashi en indicadores morfológicos y productivos del cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.) var. California Wonder. *Centro Agrícola*. 42:4. Pp. 5-9.
- Cáceres, D. 2003. Agricultura Orgánica versus Agricultura Industrial: Su Relación con la Diversificación Productiva y la Seguridad Alimentaria. *Agroalim*. 8:29-39.

- Canovas, F. A., Hilgers, M., Jiménez, M. R., Mendizabal, V. M., Sánchez, G. F. 1993. Tratado de Agricultura Ecológica. Cuadernos Monográficos. Departamento de Ecología y Medio Ambiente. Instituto de Estudios Almerienses. España.
- Camargo-Ricalde, S., Montaña, N., Rosa-Mera, C., Montaña, S. 2012. Micorrizas: Una gran unión debajo del suelo. Revista Digital Universitaria. 13; 7.
- Cardona, W. A., Bolaños, M., Chavarriaga, W. 2014. Efecto de fertilizantes químicos y orgánicos sobre la agregación de un suelo cultivado con *Musa acuminata* AA. Acta Agron. 65: 2. P. 144-148.
- Ceccon, E. 2008. La revolución verde tragedia en dos actos Ciencias. Redalyc. Vol. 1, Núm. 91. pp. 21-29
- Correa, O. 2013. Los microorganismos del suelo y su rol indiscutido en la nutrición vegetal. ResearchGate. Buenos Aires, Argentina.
- Dorronsoro-Fernández, C. 2007. *Edafología y química agrícola*. Universidad de Granada. ([http://edafologia.ugr.es/ conta/tema10/import.htm](http://edafologia.ugr.es/conta/tema10/import.htm)).
- Durango, W. D., Mite, F., Carrillo M., Cargua, J., Lahuathe. B., Rivadeneira, B., Moreira V. 2017. Evaluación de enmiendas orgánicas sobre la respiración microbiana del suelo y variables agronómicas en banano. Journal of Science and Research. 2:8. pp. 28-32.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2017. ENA (Encuesta Nacional Agropecuaria). Conociendo el Campo de México.

- Fernández-Martin, F., Rivera-Espinosa, R. A., Hernández -Jiménez, A., Herrera-Peraza, R. A., Fernández-Suarez, K. 2005. Inoculación de hongos micorrícicos arbusculares y diferentes relaciones suelo: humus de lombriz sobre el crecimiento del cafeto (*Coffea arabica* L.) CV. CATUAI bajo la etapa de vivero. Revista Chapingo. Serie Horticultura. 11 (1): 175-184.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 1996. Ecología y enseñanza rural. Nociones ambientales básicas para profesores rurales y extensionistas. Roma, Italia.
- FIRA. Fideicomisos instituidos en relación con la agricultura. 2016. Panorama Agroalimentario, Berries 2016. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200633/Panorama_Agroalimentario_Berries_2016.pdf.
- García de Salamone, I. 2011. Microorganismos del suelo y sustentabilidad de los agroecosistemas. Revista Argentina de Microbiología. 43: 1-3.
- Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M. N., Van Tuinen, D., Redecker, D., Wipf, D. 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*. 20:519–530
- Gómez, F. 2001. Evaluación del Bokashi como sustrato para semilleros en la Región Atlántica de Costa Rica. Tesis de Licenciatura de Ingeniero Agrónomo. Universidad EARTH. Guácimo, Costa Rica. 9p.
- Guerrero, E. 1996. Micorrizas: Recurso biológico del suelo. *Fondo FEN*.

- Hartwigsen, A. y Evans, M. R. 2000. Humid acid seed and substrate treatments promote seedling root development. *Hort. Science*. 35 (7): 1231-1233.
- Haug, R. T. 1980. *Compost Engineering. Principles and Practice*. Ann arbor science. Michigan. E. U. A.
- Huan, L., Chong, W., Xiaolin, L., Dan, X. 2013. Inoculating maize fields with earthworms (*Aporrectodea trapezoides*) and an arbuscular mycorrhizal fungus (*Rhizophagus intraradices*) improves mycorrhizal community structure and increases plant nutrient uptake. *Biol Fertil Soils*. 49: 1167-1178.
- Javid, A. 2010. Beneficial Microorganisms for Sustainable Agriculture. In: *Genetic Engineering, Biofertilization, Soil Quality and Organic Farming*. Sustainable Agriculture Reviews, vol 4. Springer.
- Jeavons, J. 1991. *Cultivo Biointensivo de Alimentos. Mas Alimentos en Menos Espacio*. Ecology Action.
- Khan, A. G. 2001. Relationships between chromium biomagnification ratio, accumulation factor, and mycorrhizae in plants growing on tannery effluent polluted soil. *Environ. Int*, 26, 417-423.
- Koide, R. 2010. Mycorrhizal Symbiosis and Plant Reproduction. In *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Ed. H. Koltai and Y. Kapulnik. pp.297-320. Springer Science + Business Media B.V.

- Larson, W. E. y Pierce, F. J. 1991. Conservation and Enhancement of Soil Quality. Evaluation for sustainable land management in the developing world. Int. Board of Soil Res. And Manage. Bangkok, Thailand.
- Leblanc, H., Cerrato, M., Vélex, L. 2005. Comparación del contenido de nutrientes de bokashis elaborados con desechos de fincas del trópico húmedo de Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. Costa Rica. No. 76. pp 50-56.
- Mader, P., Fliessbach, D., Dubois, L., Gunst, P., Niggli, U. 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. Science. 296. Pp. 1694-1697.
- Nolasco, M., Willington, E., Bocco, M. 2015. Uso del suelo agrícola: comparación entre series temporales e imágenes satelitales individuales para su clasificación. Ciencias Agronómicas. 017-021.
- Oehl, F., Tugmann, H. U., Oberson, A., Besson, J. M., Dubois, D., Mader, P., Roth, H. R., Frossland, E. 2002. Phosphorus budget and phosphorus availability in soils under organic conventional farming. Nutr. Cylc. Agroecosystem. 62: 25-35.
- Oyeyemi, A., Imade, F., Anifowose, A. 2017. Growth and proximate composition of *Amaranthus cruentus* L. on poor soil amended with compost and arbuscular mycorrhiza fungi. Int.J. Recycl Org Waste Agricult. 6: 195-202.
- Paleo, A., Carreón, Y., Varela, L. 2009. Impacto de la materia orgánica en huertos convencionales y huertos orgánicos de aguacate, sobre la biodiversidad de hongos micorrizógenos arbusculares. Biológicas. 11: 112-121.
- Parniske, M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. Nature Reviews Microbiology. 6:10. Pp. 763–775.

- Pérez, A., Rojas, J., Doncier, V. 2011. Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe colombiano. *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* 3:366.385.
- Pérez, A., Ramírez, M., Zapata, Y., Córdoba, J. 2015. Efecto de la inoculación simple y combinada con Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular (HFMA) y Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (BPCV) en plántulas micropropagadas de mora (*Rubus glaucus L.*). *Corpoica Cienc Tecnol Agropecu.* 16: 95-103
- Picado, J., Añasco, A. 2005. Preparación y uso de abonos orgánicos sólidos y líquidos. Editorial Corporación Educativa para el Desarrollo Costarricense. San José, Costa Rica. 5-6 pp.
- Porta, C. J., López-Acevedo, R. M., Roquero, L. C. 1999. Edafología para la agricultura y medio ambiente. Ediciones Mundi-Prensa. México.
- Posada, R. H., Sánchez de Prager, M., Heredia-Abarca, G., Sieverding, E. 2016. Effects of soil physical and chemical parameters, and farm management practices on arbuscular mycorrhizal fungi communities and diversities in coffee plantations in Colombia and México. *Agroforest Systems.* Springer.
- Ramos, D., Terry, E. 2014. Generalidades de los abonos orgánicos: importancia del Bokashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. *Cultivos Tropicales.* vol. 35, no. 4, pp. 52-59.
- Ramos, D., Terry, E., Soto, F., Cabrera, A., Martín, G. M., Fernández, L. 2016. Respuesta del cultivo del plátano a diferentes proporciones de suelo y Bocashi complementadas con fertilizante mineral en etapa de vivero. *Cultivos Tropicales.* 37:2. Pp. 165-174.

- Rowell, D. L., 2014. Soil Science. Methods and Applications. Tylor and Francis Group.
- Serralde, A. M. 2004. Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea Mayz L.*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Revista Corpoica* 5 (1), 31-40.
- Shintani, M., Leblanc, H., Tabora, P. 2000. BOKASHI (Abono Orgánico Fermentado), Tecnología Tradicional Adaptada para una Agricultura Sostenible y un Manejo de Desechos Modernos. Primera Edición. Guacimo, Limón, Costa Rica.4-19 pp.
- Smith, S. E. y D. J. Read. 1997. Mycorrhizal symbiosis. California. Academic Press.
- Sumner, M. 2000. Handbook of Soil Science. CRS Press. Washington D. C.
- Sylvia, D. 2005. Principles and applications of soil microbiology. *Pearson-Prentice Hall*.
- Tan, K. H. y Nopamombodi, V. 1979. Effect of different levels of Humic acids on nutrient content and growth of corn (*Zea mayz*). *Plant and soil*. 51:283-287.
- Torsvik, V., Ovreas, L., Frede, T. 2012. Prokaryotic Diversity, Magnitude, Dynamics, and Controlling Factors. *SCIENCE*. 296, 1064.
- Trappe, J.M. 1994. What is a mycorrhiza? Proceedings of the fourth European Symposium on mycorrhizae. Granada, España. En: Johnson N.C., Graham J.H. y Smith

F.A. 1997. Functioning of mycorrhizal association along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*, 135: 575-585.

- Varela, L., Trejo, D. 2001. los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.). Numero especial 1: 39-51.
- Vilches, E., Núñez, E. 2000. Efectos de los residuos de leguminosas sobre estadios de una población de lombrices (*Eisenia fuetida*) y caracterización biológica del humus obtenido. *Cultivos Tropicales*. 21: 25-28.