



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química



**“Caracterización de Hongos Micorrícicos Arbusculares
(HMA) asociados a la rizósfera de aguacate “Hass”
(*Persea americana*)”.**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta

Q.A. Alexandra Martínez Pallares

Dirigida por

Dr. Juan Ramiro Pacheco Aguilar

Santiago de Querétaro, enero 2020

Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

“Caracterización de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) asociados a la rizósfera de aguacate “Hass” (*Persea americana*)”.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta:

Q. A. Alexandra Martínez Pallares

Dirigido por:

Dr. Juan Ramiro Pacheco Aguilar

Dr. Juan Ramiro Pacheco Aguilar

Director

Firma

Dr. Miguel Angel Ramos López

Asesor

Firma

Dr. Juan Campos Guillen

Asesor

Firma

M. en C. Kruskaia Karenia Caltzonzin Fernández

Asesor

Firma

M. en C. María del Socorro Chávaro Ortiz

Asesor

Firma

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Director de la Facultad

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca
Piña
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario, Querétaro, Qro., enero 2020

RESUMEN

México es el principal productor y exportador de aguacate en el mundo. Su aportación a la economía lo hacen uno de los cultivos más importantes en nuestro país. Michoacán es el principal estado productor, sin embargo, en Guanajuato existe interés por incrementar la superficie cultivada y optimizar la eficiencia del uso de agroquímicos para su nutrición y el control de plagas. Una alternativa biológica es el uso de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA), cuya asociación con plantas favorece el desarrollo vegetativo del cultivo. El objetivo del presente estudio fue identificar las poblaciones de HMA presentes en la rizósfera de árboles de aguacate "Hass" de dos y cuatro años de edad establecidos en los ranchos "El Retiro" y "Las Coloradas", respectivamente; para después evaluar su potencial como promotores del crecimiento en plántula de la misma variedad. Ambos huertos están ubicados en el municipio de Silao, Guanajuato y tienen diferente manejo agronómico, por lo cual se realizaron análisis de fertilidad para cada uno. Se encontró que los cultivos de aguacate "Hass" establecen de forma natural una asociación con los HMA, la diferencia de edad de las plantas y la fertilidad del suelo entre los huertos evaluados en conjunto no afectaron el potencial micorrícico, ya que no se encontraron diferencias estadísticas para el porcentaje de colonización, en donde se obtuvieron valores de 71 y 85 %. Para la densidad de micelio extrarradical (MER) se registraron valores de 36.2 y 44.2 cm/g, en donde no se encontraron diferencias estadísticas siendo en ambas variables los valores menores para el cultivo de aguacate ubicado en "Las Coloradas". De los HMA recuperados se identificaron ocho géneros, de los cuales solamente cinco estuvieron presentes en ambos ranchos: *Glomus* spp., *Acaulospora* spp., *Rhizophagus* spp., *Funneliformis* spp. y *Rhizoglomus* spp., con predominancia en el género *Acaulospora* spp.; únicamente para los árboles muestreados en "El Retiro" se encontró *Pacispora* sp. y *Septoglomus* sp.; y en los árboles de "Las Coloradas" *Claroideoglomus* sp. Finalmente se evaluó el potencial micorrícico como promotor de crecimiento del consorcio nativo en comparación con otros tres consorcios y un testigo, mensualmente se evaluaron durante un semestre: altura y diámetro del tallo; número de hojas; ancho y largo de las hojas, al undécimo mes se midió peso fresco y seco de la planta; y porcentaje de colonización. La presencia de los consorcios de HMA no afectaron significativamente las variables evaluadas.

(Palabras clave: Aguacate, México, Hongos Micorrícicos Arbusculares, Inoculación).

ABSTRACT

Mexico is the main producer and export nation of avocado worldwide. Avocado's economical contribution share makes it one of the most important agricultural products of our country. Michoacán is the leading producer state of avocado, nevertheless, in Guanajuato there is great interest to increase their producing area, furthermore to enhance agrochemical efficiency on plant nourish and plagues control. A biological alternative is the use of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF), this association with plants enhance the vegetative grow of the crop. The main objective of this thesis was identify the present population of AMF on the "Hass" avocado's rhizosphere of avocado trees of two and four years in "El Retiro" and "Las Coloradas", respectively; Additionally, this work has interest to evaluate the potential grow enhancement of "Hass" avocado's plant including these AMF on the nursery stage. Both orchards are located in Silao, Guanajuato, México; and they have different agronomic management. Whence a soil characterization was performed in both orchards. It was found that "Hass" avocado crops naturally establish an association with AMF, variables such as, age difference, or soil fertility were not affecting the mycorrhizal potential, due that it were not found differences on the colonization percentage, in which they were found values of 71% and 85%, and for the density of extraradical mycelium (ERM) were found values of 36.2 and 44.2 cm/g, for both variables the lowest value being the corresponding to "Las Coloradas". Regarding to the diversity of AMF, they were identified eight genders, of which just five of them were present on both ranches: *Glomus* spp., *Acaulospora* spp., *Rhizophagus* spp., *Funneliformis* spp. and *Rhizoglomus* spp., with *Acaulospora* spp. gender predominance; only for "El Retiro" were found *Pacispora* sp. and *Septoglomus* sp.; and in "Las Coloradas", "*Claroideoglomus* sp. Finally, it was evaluated the mycorrhizal potential of the native consortium compared to other three consortiums and one control each month they were evaluated during a semester: height, stem diameter, leave count, leaf width and length, and at the eleventh month, fresh and dry weight of the plant was measured as well as colonization percentage. The presence of HMA consortium didn't affect the evaluated variables.

Key words: Avocado, México, Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Inoculation

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme vivir estos dos años y medio, llenos de experiencias maravillosas y momentos extraordinarios. Para mí, no solo fue un grado académico más, fue todo un aprendizaje de vida, en donde me conocí un poco más a mí misma, a lo que soy capaz de lograr, a tener perseverancia en lo que me propongo y a tener más claro lo que quiero.

A mi mamá por su amor incondicional que demuestra todos los días, a ella que siempre me incluye en todas sus oraciones, que me ha enseñado a perdonar, a ser valiente y ordenada.

A mi papá por enseñarme que todo se puede lograr y que las personas si podemos cambiar.

A mi hermana que a pesar de la distancia siempre que necesitaba unas palabras de aliento, estaba en todo momento.

A Fran que me siempre me ayudó en todo lo que podía, que me enseñó a ser humilde y a hacer todo lo que más me gusta.

A mis amigos que siempre estaban ahí cuando ocupe que me echaran la mano ya fuera en trasplantar, en cuidar mis plantitas como si fueran de ellos, en medir las variables aunque estuviéramos a 30° C durante varias horas, en escucharme en mis ensayos de mi expo y darme consejos de cómo podía mejorar.

A mis nuevos amigos que conocí en el laboratorio, que al verlos siempre tan aplicados y amando lo que hacían me motivaban cada día., a los nuevos amigos que conocí en la maestría que siempre me apoyaron con unas palabras de aliento.

Al Dr. Ramiro mi director de tesis por la paciencia y el apoyo que he recibido desde la licenciatura.

A mis sinodales y profesores por su tiempo, paciencia y conocimiento.

A los Doctores y a las instituciones que me permitieron hacer una estancia en su laboratorio y me trataron como uno de sus alumnos compartiendo su tiempo y conocimiento.

A CONACYT por el apoyo económico, el cual me permitió seguir estudiando y al apoyo que me brindo con la beca de movilidad en donde tuve la oportunidad de conocer la perspectiva de la ciencia y la agronomía en otro país; su cultura y su gente.

A la UAQ y a la facultad de Química por abrirme sus puertas otra vez, que me han acogido desde la licenciatura

A la Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental que me enseñó como todo podemos poner un granito de arena para cuidar nuestro planeta.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
INDICE GENERAL	iv
INDICE DE CUADROS	vii
INDICE DE FIGURAS	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	2
3. ANTECEDENTES	3
3.1 Origen y taxonomía del aguacate	3
3.1.1 Variedad "Hass"	3
3.2 Importancia económica	4
3.2.1 Entorno internacional	4
3.2.2 Entorno nacional	5
3.3 Fertilización	5
3.4 Principales problemas fitosanitarios	7
3.4.1 Plagas	7
3.4.2 Enfermedades	10
3.5 Microorganismos benéficos asociados a la rizósfera	12
3.5.1 Micorrizas	13
3.5.2 Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA)	13
3.5.2.1 Propagación de HMA	14
3.5.2.2 Taxonomía de HMA	14
3.5.2.3 HMA en el cultivo de aguacate	15
4. HIPÓTESIS	17
5. OBJETIVOS	18
5.1 General	18
5.2 Específicos	18
6. METODOLOGÍA	19

6.1 Sitios de estudio	19
6.2 Muestreo de suelo y de las raíces de plantas de aguacate	21
6.3 Caracterización de las propiedades físicas y químicas de suelo	21
6.4 Determinación de la colonización micorrícica radical	22
6.5 Cuantificación de la longitud de Micelio Extrarradical (MER)	23
6.6 Recuperación y conteo de esporas	25
6.7 Identificación de las morfoespecies	25
6.8 Evaluación de consorcios micorrícicos sobre el crecimiento de plantas de aguacate en vivero	26
6.8.1 Germinación y trasplante de las semillas de aguacate	27
6.8.2 Preparación de los inóculos	28
6.8.3 Inoculación	28
6.8.4 Diseño del experimento	29
6.9 Análisis estadístico	30
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
7.1 Fertilidad del suelo de los sitios de estudio	31
7.2 Porcentaje de colonización en la raíz	31
7.3 Contenido de Micelio Extrarradical (MER) en la zona de la rizósfera	34
7.4 Abundancia de esporas en 50 gramos de suelo	34
7.5 Géneros de HMA identificados en los ranchos de estudio	35
7.5.1 Características morfométricas consideradas para la identificación de esporas	38
7.5.1.1 <i>Glomus</i> spp.	38
7.5.1.2 <i>Acaulospora</i> spp.	39
7.5.1.2.1 <i>Acaulospora scrobiculata</i>	41
7.5.1.2.2 <i>Acaulospora cavernata</i>	41
7.5.1.2.3 <i>Acaulospora lacunosa</i>	42
7.5.1.2.4 <i>Acaulospora excavata</i>	43
7.5.1.2.5 <i>Acaulospora</i> aff. <i>spinosa</i>	43
7.5.1.2.6 <i>Acaulospora delicata</i>	43

7.5.1.3 <i>Rhizophagus</i> spp. u <i>Oehlia</i> spp.	46
7.5.1.4 <i>Funneliformis</i> spp.	46
7.5.1.5 <i>Rhizoglyphus</i> spp.	47
7.5.1.6 <i>Pacispora</i> spp.	48
7.5.1.7 <i>Septoglyphus</i> spp.	49
7.5.1.8 <i>Claroideoglyphus</i> spp.	50
7.6 Evaluación de consorcios micorrícicos sobre el crecimiento de plantas de aguacate en vivero	51
7.6.1 Respuesta de variables evaluadas	51
8. CONCLUSIONES	59
9. BIBLIOGRAFÍA	60
10. ANEXOS	72
Anexo 1. Datos de las variables evaluadas para cada tratamiento durante los seis meses	72
Anexo 2. Diagramas de flujo para la metodología empleada	75
Anexo 3. Preparación de soluciones empleadas	78

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Clasificación taxonómica de <i>Persea americana</i> .	4
2	Principales países productores de aguacate en 2017.	6
3	Principales estados productores de aguacate en 2017.	6
4	Recomendaciones de fertilización del aguacate para la etapa de vivero.	6
5	Recomendaciones de fertilización del aguacate de acuerdo a la edad de la planta.	7
6	Características principales del cultivo de aguacate en los huertos de muestreo.	21
7	Géneros presentes en los inóculos utilizados.	30
8	Variables físicas y químicas del suelo.	33
9	Porcentaje de colonización para los sitios de cultivo.	33
10	Abundancia de géneros de HMA encontrados en los ranchos.	36
11	Comparación de géneros de HMA en huertas de aguacate entre otros trabajos y el presente trabajo.	40
12	Variables evaluadas en cada tratamiento en marzo 2019.	57
13	Porcentajes de colonización por hifas, arbúsculos y vesículas evaluados en cada tratamiento en marzo 2019.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página.
1	Composición nutrimental de aguacate “Hass”.	4
2	Etapas del ciclo biológico del barrenador pequeño de la semilla (<i>Conotrachelus perseae</i>).	9
3	Cochinillas harinosas (<i>Pseudococcidae</i> spp).	10
4	Daños causados por trips (<i>Thysanoptera</i> spp.) en aguacate.	10
5	Sintomatología asociada a la tristeza del aguacate (<i>Phytophthora cinnamomi</i>).	11
6	Daños en fruto de aguacate causados por antracnosis (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>).	12
7	Clasificación de HMA propuesta por Goto y col., 2012.	16
8	Aspecto general del rancho “El Retiro”.	19
9	Aspecto general del rancho “Las Coloradas”.	20
10	Ubicación de los sitios de estudio.	20
11	Toma de muestras.	22
12	Raicillas fijadas en portaobjetos.	23
13	Caja de Petri con hoja cuadrículada (0.5 cm) en la base.	24
14	Vivero de la Facultad de Química.	27
15	Tratamiento de semillas.	27
16	Germinación del material biológico.	29
17	Estructuras microscópicas de HMA en raíz de aguacate.	33
18	Micrografías representativas de Micelio Extrarradical (MER).	34
19	Diagrama de Venn representado los géneros para cada zona.	37
20	Géneros encontrados en los huertos de estudio.	37
21	Esporas de <i>Glomus</i> spp.	41
22	Esporas de <i>Acaulospora</i> spp.	42
23	Espora de <i>Acaulospora scrobiculata</i> .	44
24	Espora de <i>Acaulospora cavernata</i> .	44
25	<i>Acaulospora lacunosa</i> .	45

26	<i>Acaulospora excavata.</i>	45
27	<i>Acaulospora aff. spinosa.</i>	45
28	Espora de <i>Acaulospora delicata.</i>	46
29	Esporas de <i>Rhizophagus</i> spp.	47
30	Esporas de <i>Funneliformis</i> spp.	48
31	Esporas de <i>Rhizoglyphus</i> spp.	49
32	Espora de <i>Pacispora</i> sp.	49
33	Espora de <i>Septoglyphus</i> sp.	50
34	Espora de <i>Claroideoglyphus</i> sp.	51
35	Altura del tallo.	53
36	Grosor del tallo.	54
37	Número de hojas.	54
38	Longitud de las hojas.	55
39	Ancho de las hojas.	56

1. INTRODUCCIÓN

El aguacate es un cultivo de gran importancia para el sector económico y agropecuario de nuestro país. A nivel mundial, México destaca como el principal productor con una producción anual de más de dos millones de toneladas (FAOSTAT, 2017), siendo Michoacán el estado con mayor producción, aportando el 77 % de la producción nacional con más de un millón de toneladas; sin embargo, existen otros estados potenciales donde se está extendiendo el cultivo de aguacate, siendo uno de éstos el estado de Guanajuato, aportando casi mil toneladas de las totales del país (SIAP 2017).

El aguacate carece de pelos radicales, por lo que se le dificulta la absorción de agua y nutrientes (Bañuelos y col., 2017), se ha comprobado que éste tiene asociaciones naturales con los HMA, que son asociaciones simbióticas de tipo mutualista (Alonso y col., 2013) entre más del 95 % de las plantas terrestres (Pérez y Vertel, 2010) y algunos hongos de la clase Zygomycetes del orden Glomales (Alonso y col., 2013). Éstos ayudan a mejorar la absorción de agua y nutrientes (Silveira y col., 2002; Martínez, 2014); ofrecen protección contra algunos patógenos (Alvarado y col., 2014); incrementan el desarrollo vegetativo; (Castro y col., 2013; Castañón y col., 2013; Posada y col., 2013; Carreón y col., 2014); ayudan a la planta a una mejor absorción de metales pesados para la remediación de suelos, (Castañón y col., 2013), sin embargo con la aplicación desmedida de agroquímicos se ha ido disminuyendo su diversidad y su potencial micorrízico (Camerón, 2010), por lo que es necesario su reintroducción (Lara y col., 2014), la cual es más eficiente en etapa de vivero (Montañez y col., 2010).

En Michoacán se han realizado diversos estudios sobre la identificación de HMA asociados al cultivo de aguacate y su inoculación en plántulas para evaluar su potencial (Carreón y col., 2016 y 2014; Bárcenas y col., 2007), sin embargo, para el estado de Guanajuato no se ha realizado ningún estudio, siendo éste un estado potencial para incrementar la producción, se considera un tema importante. Por lo anterior, el presente proyecto plantea identificar los HMA asociados naturalmente a raíces de aguacate “Hass” y su potencial como inoculantes para mejorar el crecimiento de plántulas de aguacate “Hass” en etapa de vivero.

2. JUSTIFICACIÓN

Guanajuato se encuentra dentro de los potenciales estados productores de aguacate, sin embargo, para incrementar la producción y el rendimiento, se deben atender algunas debilidades importantes como la falta de viveros certificados; la limitación de acceso al agua; el conocimiento insuficiente sobre las necesidades nutrimentales del cultivo, este último punto tiene como consecuencia el uso indiscriminado de agroquímicos, lo cual tiene un gran impacto negativo en suelos y mantos subterráneos; para contrarrestar el daño se están buscando alternativas biológicas como el uso de microorganismos benéficos. Una característica particular del aguacate es que sus raíces carecen de pelos radicales, por lo que se le dificulta la absorción de agua y de nutrimentos. Ante esto, se ha demostrado que los HMA colonizan las raíces de este frutal y favorecen la absorción de agua y el aprovechamiento de los nutrimentos del suelo por la planta; también propician incrementos de desarrollo vegetativo y disminuyen la incidencia de enfermedades. En los suelos del estado de Guanajuato no se han estudiado los HMA asociados al cultivo del aguacate, por lo que no se conoce si pudiesen existir géneros potenciales para mejorar el crecimiento de plántulas. En este contexto, el objetivo de la presente investigación fue contribuir al conocimiento de los géneros y algunas especies de *Acaulospora* spp. de HMA asociados a *Persea americana* en la localidad de Comanjilla, Guanajuato, mediante análisis morfológicos, además de probar su potencial para mejorar el desarrollo vegetativo en plantas de aguacate "Hass" en etapa de vivero.

3. ANTECEDENTES

3.1 Origen y taxonomía del aguacate

El aguacate tuvo origen en la región que se denomina Mesoamérica hace 10,000 años en Coxcatlán, Puebla, México, la cual es considerada como el área donde se llevó a cabo la domesticación de dicha especie (Barrientos y López, 1998), siendo el norte de Sudamérica donde se dispersó gracias a las diferentes culturas que habitaron en esa región en la época prehispánica (Galindo y col., 2007).

El aguacate se clasifica en tres razas: *Persea americana* var. *drymfolia* (raza mexicana), la cual se caracteriza por su tolerancia al clima frío, y sus frutos son pequeños, cubiertos por una cáscara delgada de color negro a violáceo; *Persea americana* var. *guatemalensis* (raza guatemalteca), la cual es algo tolerante al frío y los frutos tienen una cáscara gruesa dura que permanece verde hasta la madurez. Por último, *Persea americana* var. *americana* (raza antillana) resiste a condiciones de humedad tropical, la cáscara es suave, fácil de pelar y su pulpa tiene un sabor dulce, característica que la distingue de las otras variedades (Galindo y col., 2007). También se diversifican en función la altura de la planta; el color del follaje; y su adaptación a diferentes condiciones climáticas y suelo (Maradiaga, 2017).

El aguacate es el producto más importante dentro de la familia de las Lauráceas, la cual está formada por 52 géneros, y cerca de 2,200 especies (Cuadro 1) y es una de las familias con flores más antigua en el registro fósil (Chanderbali y col., 2013). Tiene algunas otras especies conocidas como el alcanfor (*Cinnamomun camphora*); la canela (*Cinnamomun zaylanicum* Ness); y el laurel (*Laurus nobilis* L.) (Bernal y col., 2008).

3.1.1 Variedad “Hass”

El aguacate “Hass” es el más consumido en todo el mundo (Bernal y col., 2014), por su alto contenido nutrimental (Figura 1) y es la variedad con mayor área de siembra en Michoacán. Esta variedad fue seleccionada en la Habra Heights (California) por Rudolph Hass en 1920, debido a que se diferenciaba de las otras variedades en la cremosidad de su pulpa; el sabor; el contenido de aceite; y la larga temporada de cosecha (Sheperd y Bender, 2002).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Persea americana*.

Reino	Plantae
Subreino	<i>Tracheobionta</i> (plantas vasculares)
Supervisión	<i>Spermatophyta</i> (plantas con semillas)
División	<i>Magnoliophyta</i> (plantas con flores)
Clase	Magnoliopsida (dicotiledóneas)
Subclase	<i>Magnoliidae</i>
Orden	<i>Laurales</i>
Familia	<i>Lauraceae</i>
Género	<i>Persea</i>
Especie	<i>Persea americana</i>

(USDA, 2019)

Nutriente/ fitoquímica	Valor por 100 g	Nutriente/ fitoquímica	Valor por 100 g	Nutriente/ fitoquímica	Valor por 100 g
Proximados		Vitaminas y fitoquímicos		Minerales	
Agua (g)	72.3	Vitamina C (mg)	8.80	Calcio (mg)	13.0
Energía (kcal)	167	Tiamina (mg)	0.08	Hierro (mg)	0.61
Energía (kcal) (fibra insoluble ajustada)	148	Riboflavina (mg)	0.14	Magnesio (mg)	29.0
Proteína (g)	1.96	Niacina (mg)	1.91	Fosforo (mg)	54.0
Lípidos totales (grasa) (g)	15.4	Ácido pantoténico (mg)	1.46	Potasio (mg)	507
Ash (g)	1.66	Vitamina B-6 (mg)	0.29	Sodio (mg)	8.0
Carbohidratos por diferencia (g)	8.64	Ácido fólico (µg)	89.0	Zinc (mg)	0.68
Fibra, de la dieta total (g)	6.80	Colina, total (mg)	14.2	Cobre (mg)	0.17
Azúcares, (total)	0.30	Betaina (mg)	0.7	Manganeso (mg)	0.15
Almidón	0.11	Vitamina B-12	0.0	Selenio (ug)	0.40
Lípidos		Vitamina A (µg)	7		
Ácidos grasos, saturados totales (g)	2.13	Caroteno, beta (µg)	63		
16:0 (g)	2.08	Caroteno, alfa (µg)	24		
Ácidos grasos, insaturados totales (g)	9.80	Criptoxantina, beta (µg)	27.0		
18:1 (g)	9.07	Luteína + zeaxantina (µg)	271		
Ácidos grasos polinsaturados, totales (g)	1.82	Vitamina E (alpha-tocoferol), (mg)	1.97		
18:2 (g)	1.67	Tocoferol, beta (mg)	0.04		
18:3 (g)	0.13	Tocoferol, gamma (mg)	0.32		
Colesterol (mg)	0	Tocoferol, delta (mg)	0.02		
Stigmasterol (mg)	2.0	Vitamina K1 (filoquinona) (µg)	21.0		
Campesterol (mg)	5.0				
Beta-sitosterol (mg)	76.0				

Figura 1. Composición nutrimental de aguacate “Hass” (Dreher y Daveport, 2013).

3.2 Importancia económica

3.2.1 Entorno internacional

México es el principal productor de aguacate a nivel mundial, con una producción que supera los dos millones de toneladas (Cuadro 2) (FAOSTAT, 2017),

y también es el primer proveedor de aguacate en el mercado internacional, con una participación de 45.95 % del valor de las exportaciones mundiales (SAGARPA, 2017), con más de 800, 000 toneladas y generando más de 2 billones de dólares al año (FAOSTAT, 2017). Las exportaciones representan 54.10 % de la disponibilidad total de aguacate en el país (SAGARPA, 2017). “La demanda de este fruto se ha incrementado a 26 países que incluyen integrantes del Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN); del Acuerdo Estratégico Trans- Pacífico (TPP) y del Tratado de Libre Comercio del Triángulo Norte (TLCTN), China, países miembros de la Unión Europea y países con los que México no tiene acuerdo de libre comercio” (SAGARPA, 2017).

3.2.2 Entorno nacional

La mayor producción se localiza en el estado de Michoacán, lugar donde se concentran más de un millón de toneladas de la fruta, siendo 77.16 % del total de la producción, lo que lo convierte en líder productor (Cuadro 3). El estado de Guanajuato se encuentra entre los primeros estados productores, aportando 911 toneladas (SIAP 2017).

3.3 Fertilización

Los árboles de aguacate deben recibir los nutrientes necesarios en la etapa vivero (Cuadro 4), para lograr un desarrollo eficiente tanto del sistema radical como foliar (Maradiaga, 2017), y en el campo (Cuadro 5), para tener un buen amarre de fruto y así tener una producción de calidad. Sin embargo, la mayoría de las veces la fertilización se realiza de manera excesiva, ya que no se realizan análisis de suelo previos, contaminando cuerpos de agua y causando su eutrofización (Cuenca y col., 2007), además, deben considerarse las etapas fisiológicas del árbol y la producción de fruto por planta (kg/planta) (Bernal y col., 2014). No obstante, se han publicado recomendaciones generales de planes de fertilización de acuerdo a la edad de la planta, como se muestra en los cuadros 4 y 5.

Cuadro 2: Principales países productores de aguacate en 2017.

PAÍS	PRODUCCIÓN (TON)
México	2,029,886
Rep. Dominicana	637,688
Perú	466,758
Indonesia	363,157
Colombia	314,275
Brasil	213,041
E. U. A	132,730
China	124,110

Cuadro 3: Principales estados productores de aguacate en 2017.

ESTADO	PRODUCCIÓN (TON)
Michoacán	1,541,443
Jalisco	169,603
México	103,297
Nayarit	49,253
Morelos	33,358

Cuadro 4: Recomendaciones de fertilización del aguacate para la etapa de vivero (Madariaga, 2017).

g/árbol (bolsa)	Producto	Fecha de aplicación
2	Fosfato diamónico (18-46-00)	Cada 8 a 15 días
2	Nitrato de potasio (12-00-46)	

Cuadro 5. Recomendaciones de fertilización del aguacate de acuerdo a la edad de la planta (Bernal y col., 2014).

Edad de la planta (años)	g/árbol/año		
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
A la siembra	300	600-2,000	200-600
2	600	200-600	200-300
3	800	300-800	200-600
4	1,000	300-800	300-900
5	1,500	400-1,200	400-1,200
6	1,800	500-1,500	400-1,200
7 en adelante	2,000	500-1,500	600-1,400

La aplicación de los nutrientes se debe fraccionar en tres partes: la primera debe realizarse antes de la floración, en donde se aplica un tercio de N, todo el P y K; la segunda se realiza al inicio de lluvias aplicando el siguiente tercio de N, y cuatro meses después se aplica el último tercio de N (Bernal y col., 2014).

3.4 Principales problemas fitosanitarios

3.4.1 Plagas

Las plagas son un tema de gran importancia para la agricultura, ya que afectan la calidad; el rendimiento del cultivo; y al productor de manera económica. Se debe de tener el conocimiento necesario acerca de las plagas que afectan al cultivo de interés para decidir en qué momento y que productos se van aplicar para controlarlas.

Una de las primordiales plagas del aguacatero en México es el barrenador pequeño de la semilla (*Conotrachelus perseae*), ya que se ha reportado que se alcanzan pérdidas hasta de 90 % de la producción (SENASICA, 2019). Ésta se distribuye en México y América central (Castañeda y col., 2015). En Guanajuato se ha detectado principalmente en los municipios de Comonfort; Celaya; y Juventino Rosas, alcanzando pérdidas hasta de 40 % en la producción (SAGARPA, 2015). El

daño más grave es originado por las hembras durante la ovoposición (Figuras 2 a, b y c), seguido por el daño que causan las larvas que se alimentan de la pulpa y las semillas (Figura 2 d), ocasionando la caída de los frutos prematuramente. La larva continúa su desarrollo en el fruto caído y emerge al suelo para continuar con su ciclo (estadio de pupa) (Figuras 2 e y f) (Castañeda y col, 2015).

Las cochinillas harinosas (*Pseudococcidae* spp.) (Figura 3 a) son otra plaga que se ha reportado de importancia económica, ya que no solamente afecta al aguacate, sino también a la manzana, pera, cítricos, uva y, pimienta negra, entre otras plantas perennes (Palma y col., 2018). Son especies polífagas que extraen la savia e inyectan toxinas. Un indicador de esta plaga es la presencia de fumagina o cera sobre las hojas (Figura 3 b), la cual interfiere con la fotosíntesis de la planta y, por consecuencia, en su crecimiento. Se recomienda eliminar las hojas que están repletas de fumagina y favorecer la aireación en la zona, ya que estos insectos se desarrollan mejor en condiciones cálidas y húmedas (Bernal y col., 2014). El control de esta plaga consiste en varias aplicaciones de insecticidas sintéticos como organofosforados; neonicotinoides; e inhibidores de la síntesis de la quitina. El aceite esencial de algunos cítricos y el caolín se han empleado como alternativa biológica (Tacoli y col., 2018).

Otra plaga importante del aguacatero mexicano son los Trips (*Thysanoptera* spp). Bravo y col., (2018) identificaron en varias comunidades del estado de Michoacán seis géneros: *Scirtothrips* *Neohydatothrips* *Sericothripini*; *Frankliniella* (Thripini); *Leptothrips* (Dendrothripini); *Arorathrips* (Chirothripini); y *Caliothrips* (subfamilia Panchaetothripinae). Estos insectos eliminan el contenido celular de varios tejidos vegetales y dañan las células epidérmicas; consecuentemente aparecen áreas necróticas, cuando esto ocurre en la fruta causan cicatrices y por lo tanto la fruta ya no se puede comercializar (Figura 4). Cuando los trips se alimentan de los frutos jóvenes llegan a causar malformación y la caída temprana del fruto (Bravo y col., 2018). Para su control se aplican pesticidas selectivos como abamectina; sabadilla; y neonicotinoides (Hoddle y col., 2002; Byrne y col., 2007).

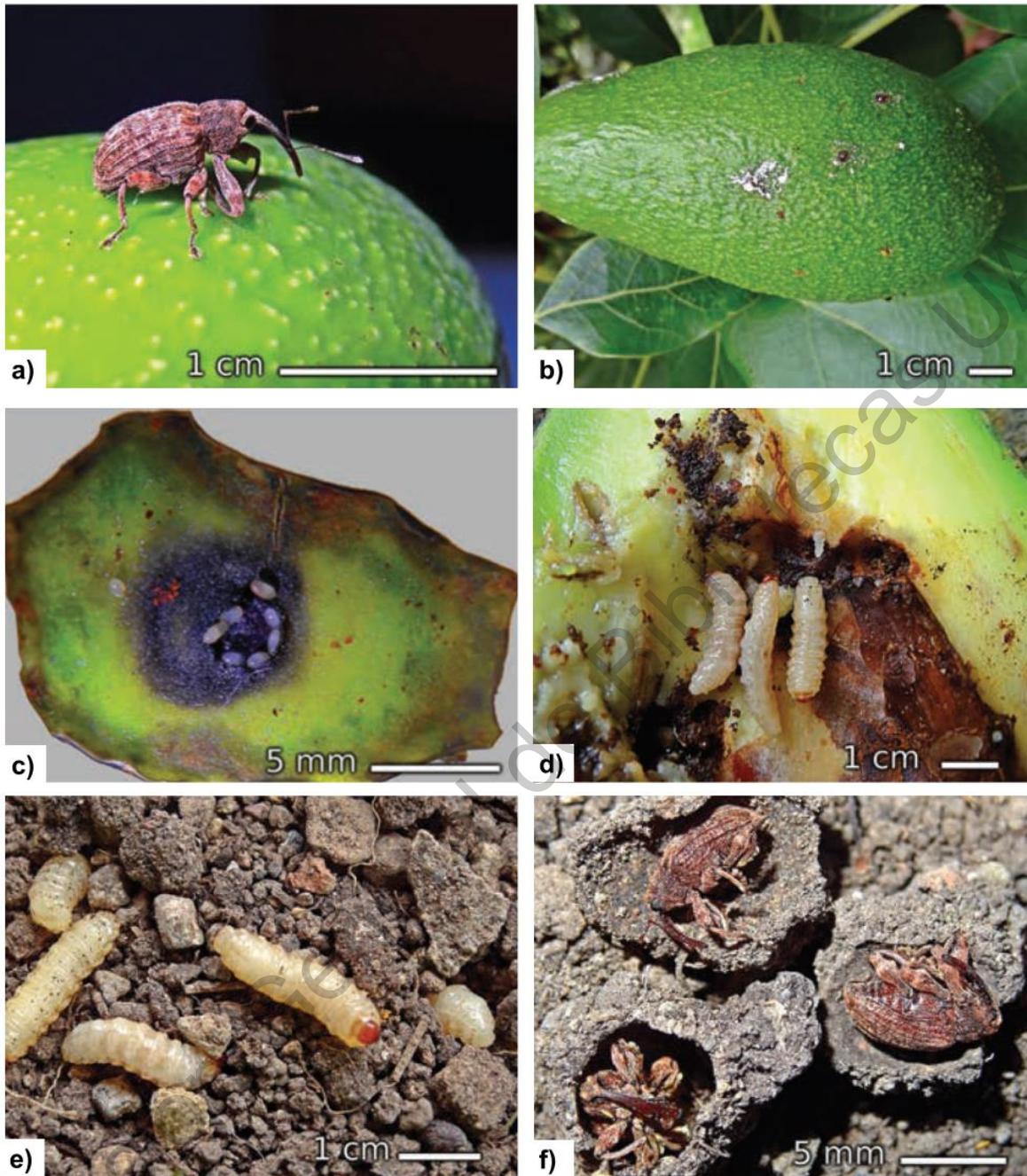


Figura 2: Etapas del ciclo biológico del barrenador pequeño de la semilla (*Conotrachelus perseae*) a) Hembra de *C. perseae*; b) Perforaciones en el fruto de aguacate var. "Fuerte", causadas por la hembra debido a la ovoposición; c) Huevecillos de *C. perseae*; d) Larvas de *C. perseae* alimentándose de la pulpa y la semilla; e) Madrigueras de *C. perseae* en el suelo para comenzar la palpación; f) Adultos de *C. perseae*. Modificado de Castañeda y col., (2015).



Figura 3: Cochinillas harinosas (*Pseudococcidae* spp). a) *Pseudococcus longispinus* adultos; b) Hoja aguacate por el envés infestada de *Pseudococcidae* y hoja de aguacate con fumagina (Pellizzari y Germain, 2010).



Figura 4. Daños causados por trips (*Thysanoptera* spp.) en aguacate a) Fruto de aguacate marcado por trips de aguacate, *Scirtothrips perseae*, b) Hoja de aguacate con mancha clorótica de trips (*Heliothrips haemorrhoidali*) (Hoddle y col., 2002).

3.4.2 Enfermedades

La tristeza del aguacate (*Phytophthora cinnamomi*) es la enfermedad más importante que limita la producción de aguacate en el mundo. Se ha reportado en más de 70 países (Acosta y col., 2012). En Guanajuato se detectó en el 80 % de la

superficie cultivada (CESAVEG 2008); en la región de Michoacán, alrededor de 4000 ha están afectadas por la enfermedad y se está extendiendo cada vez más (Ochoa y col., 2015).

La enfermedad aparece al presentarse un drenaje deficiente o bien en suelos apropiadamente drenados en los que se aplican riegos excesivos. La infección hace que las raíces se vuelvan frágiles y negras, esto restringe la absorción de agua y nutrientes que causan el amarillamiento de las hojas; marchitamiento; defoliación; rendimientos reducidos; y finalmente la muerte del árbol (Figura 5) (Acosta y col., 2012).

Las estrategias de control de esta enfermedad consisten en inyecciones al tronco de fosfonato y el uso de portainjertos resistentes (Duke 7; Thomas; G6; y 'Martin Grande' (G755) considerado el más tolerante) (Acosta y col., 2012). El riego y el contenido de humedad del suelo son factores importantes ya que el agente causal prefiere este tipo de ambiente (Reeksting y col., 2014).



Figura 5: Sintomatología asociada a la tristeza del aguacate (*Phytophthora cinnamomi*) a) Momificación de frutos y secamiento de hojas; b) Marchitez general del árbol y caída de hojas (Topanta y col., 2017).

La antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) es un patógeno importante a nivel mundial ya que infecta a más de 1000 especies de plantas, cultivos tropicales y subtropicales como aguacate; mango; cítricos; papaya; y cacao (Feng y col., 2019). Para el aguacate mexicano se considera una de las enfermedades de postcosecha más importantes que dañan a varias regiones del país (Figura 6)

(Campos y col., 2016); y se llegan a presentar pérdidas de 20 a 30 % de la producción (INTAGRI, 2017).

Para el control químico de esta enfermedad usualmente se utilizan fungicidas como benomilo; carbendacima; mancozeb; y procloraz (Feng y col., 2019). Como alternativa biológica es empleado *Bacillus subtilis* (Campos y col., 2016).

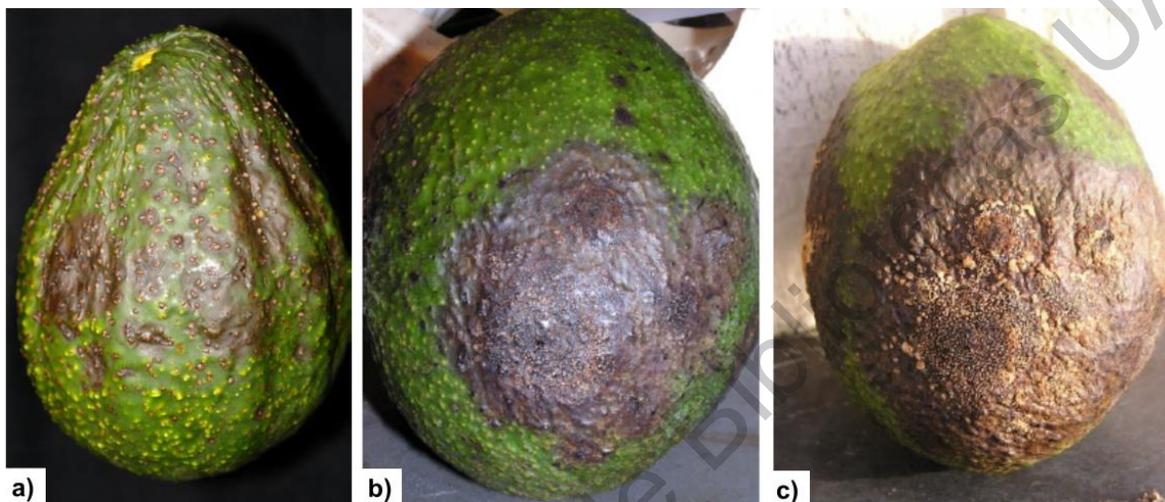


Figura 6: Daños en fruto de aguacate causados por antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) a), b) Frutos de aguacate con lesión de antracnosis, c) Fruto de aguacate con manchas color salmón típicas del patógeno (Nelson 2008).

3.5 Microorganismos benéficos asociados a la rizósfera

Como se mencionó anteriormente, el control de las plagas y enfermedades es llevado a cabo mayoritariamente con productos químicos sintéticos, por lo que se buscan alternativas biológicas. Se sabe que la rizósfera es una zona del suelo que se caracteriza por tener una gran cantidad de microorganismos, debido a la concentración de exudados que libera la planta (Berendsen y col, 2012). Los organismos que se encuentran en la rizósfera incluyen bacterias; hongos; oomycetos; nemátodos; protozoos; algas; arqueobacterias; y artrópodos, los cuales pueden presentar propiedades benéficas como: fijación de nitrógeno; solubilización de fosfatos; y controlador de plagas (Cano, 2011).

3.5.1 Micorrizas

Las micorrizas son la simbiosis mutualista más importante entre más de 90 % de las raíces de las plantas (Pérez y Vertel, 2010) y algunos hongos de la clase Zygomycetes del orden Glomales (Aranguren y col., 2015; Alonso y col., 2013). Se clasifican en dos grandes grupos en función de si su desarrollo es al interior (endomycorrizas) o al exterior (ectomycorrizas) de la raíz. Las ectomycorrizas crean hifas al exterior de las raíces de la planta formando un tipo de malla denominada red de Hartig (Andrade, 2010; Mohammadi y col., 2011); por su parte, las endomycorrizas, que producen hifas en el interior de las raíces, están divididas en varios subtipos, entre ellos el más significativo es el arbuscular (Schüssler y col., 2001), el cual estudiamos en este trabajo.

3.5.2 Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA)

Los Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) son biotrofos obligados que colonizan intracelularmente la corteza de la raíz por medio de arbusculos, órganos encargados del intercambio de nutrimentos entre la célula vegetal y el huésped. Algunos géneros de HMA pueden formar vesículas (estructuras compuestas principalmente por lípidos), las cuales están presentes intercelularmente en la corteza de la raíz y se consideran depósitos de nutrimentos para el hongo (Aguilera y col., 2007), también desarrollan micelio extrarradical (MER), el cual se llega a extender de 10 hasta 40 veces más que las raíces, incrementando el área de contacto con el suelo (Ferrol y col., 2018). Los HMA ayudan a la planta a mejorar la absorción de agua, aumentan el porcentaje de sobrevivencia al trasplante y protegen contra algunos patógenos en la raíz (Rivera y col., 2016; Munkvold y col., 2004), además de incrementar la solubilización, absorción y traslocación de nutrimentos como N, K, Ca, Mg, Si, Cu, Zn, B, Fe y principalmente fósforo (P), ya que los HMA pueden mejorar la disponibilidad de fósforo en el suelo, al solubilizar formas inorgánicas o por la mineralización de fósforo inorgánico. En suelos con fósforo deficiente, las plantas pueden depender completamente de la asociación con HMA para adquirir dicho nutriente (Bolaños y col., 2000).

Es importante la inoculación con HMA debido a que las prácticas culturales como la fumigación del suelo, la labranza, y la remoción de malezas pueden disminuir o incluso eliminar las poblaciones de HMA nativos. Se ha demostrado que la mayor respuesta a la inoculación es al momento del trasplante a campo o en el vivero (Aguín y col., 2004), en plantas jóvenes recién injertadas de aproximadamente seis meses de edad, en donde el crecimiento es más evidente (Carreón y col., 2013).

3.5.2.1 Propagación de HMA

Los HMA no se pueden cultivar en condiciones axénicas, por lo que se complica su propagación (Declerck y col., 2005) y necesitan forzosamente una planta hospedante para su multiplicación (Alarcón y Cerrato, 1999); también se debe tomar en cuenta la capacidad del hongo para completar su ciclo, con una suficiente producción de esporas y estructuras intra-radicales (Declerck y col., 2005). Para su propagación se ha recurrido a plantas trampa, como: frijol (*Phaseolus vulgaris*) (Aguilar, 2016), pasto (*Brachiaria decumbens*), jitomate (*Solanum lycopersicum*), sorgo (*Sorghum*) y alfalfa (*Medicago sativa*) (Carreón y col., 2013), debido a su susceptibilidad para ser colonizadas por micorrizas arbusculares y su rápido crecimiento (Aguilar y col., 2016).

Carreón y col., (2016) aislaron esporas de HMA de la rizósfera de aguacate, donde encontraron los géneros *Acaulospora sp.*, *Gigaspora sp.*, *Glomus sp.*, *Pacispora sp.* y *Scutellospora sp.*, y los propagaron durante tres meses en diferentes cultivos trampa : maíz, (*Zea mays* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), poro (*Allium porrum* L.), alfalfa (*Medicavo sativa* L.), aguacate (*Persea americana* Mill.) y pasto (*Tritifolium rapens* L.), la mejor planta trampa para propagar estos géneros fue la de poro produciendo 223 esporas/ 100 g de suelo, seguida por la planta de maíz (192 esporas / 100 g) y por último la de aguacate (160 esporas / 100 g).

3.5.2.2 Taxonomía de HMA

Antes la taxonomía de los HMA solamente se basaba en la morfología de las esporas asexuales que se forman en el suelo o en las raíces de las plantas. Ahora

con los avances de las técnicas moleculares, la taxonomía ha revolucionado, por consiguiente, Goto y col., (2012) propusieron una nueva clasificación basada en la combinación de estudios morfológicos y moleculares (Figura 7).

3.5.2.3 HMA en el cultivo de aguacate

La raíz del árbol de aguacate carece de pelos radicales, por lo que se le dificulta la absorción de agua y nutrientes; también tiene una mayor vulnerabilidad al ataque de patógenos que dañan la raíz, debido a esto, en la etapa de vivero se realiza esterilización del suelo, eliminando microorganismos tanto benéficos como patógenos (Bañuelos y col., 2017), lo que hace necesario la inoculación de microorganismos benéficos tales como los HMA, para la reintroducción de estos, es necesario conocer su diversidad en los diferentes agroecosistemas, ya que diferentes especies de HMA presentan diferente infectividad dependiendo de cada hospedero con el que se asocie (Cameron, 2010). En el aguacate la inoculación con HMA ha tenido éxito en plántulas obtenidas por semilla o cultivo de tejidos (Montañez y col., 2010).

En trabajos realizados en aguacate “Criollo mexicano” (*Persea americana* cv. *drymifolia*) se ha reportado que la inoculación de consorcios con especies de HMA (*Glomus fasciculatum*, *Glomus constrictum*, *Glomus tortuosum*, *Glomus geosporum*, *Acaulospora scrobiculata* *Glomus mosseae* y *Glomus cubense*) han propiciado un mayor crecimiento respecto a las plantas control, incrementando la altura de las plantas hasta 54 %, el diámetro del tallo hasta 36 %, número y longitud de hojas 48 % y 40 % respectivamente, así como el peso fresco de la raíz hasta un 85 % (Bañuelos y col., 2017).

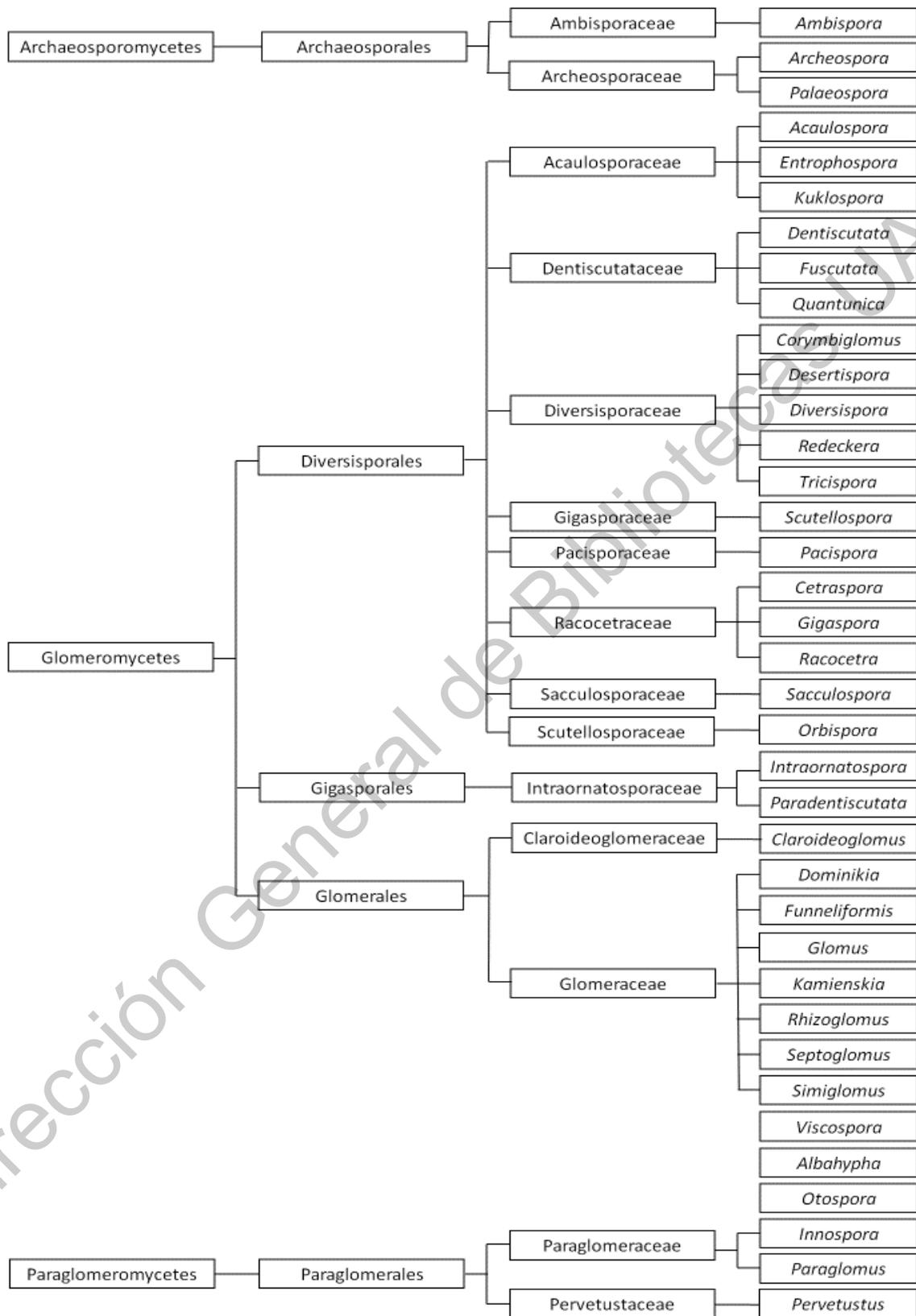


Figura 7. Clasificación de HMA propuesta por Goto y col., 2012.

4. HIPÓTESIS

La rizósfera de aguacate “Hass” de los ranchos “El Retiro” y “Las Coloradas” localizados en la comunidad de “Comanjilla”, Guanajuato, establece asociaciones con HMA, con potencial para la promoción del desarrollo vegetativo de plántulas de aguacate “Hass” en tapa de vivero.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

5. OBJETIVOS

5.1 General

Identificar las poblaciones de Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de aguacate “Hass” de dos huertas de diferente edad y manejo agronómico en el municipio de Silao, Guanajuato; y evaluar su potencial para mejorar el crecimiento de plántulas de aguacate “Hass” en etapa de vivero.

5.2 Específicos

1. Determinar el porcentaje de colonización y la densidad de micelio extrarradical en raíces de aguacate “Hass” y su correlación con la fertilidad del suelo y la edad de los árboles.
2. Identificar taxonómicamente, mediante caracteres morfométricos y morfológicos, las esporas de HMA presentes en la rizósfera de aguacate ‘Hass’.
3. Evaluar el efecto de la inoculación del consorcio nativo de HMA sobre el desarrollo vegetativo de plántulas de aguacate “Hass” en etapa de vivero.

6. METODOLOGÍA

6.1 Sitios de estudio

Los sitios de estudio donde se realizó el muestreo para la caracterización e identificación de los HMA asociados a plantas de aguacate “Hass”, fueron los ranchos “El retiro” (Figura 8) y “Las Coloradas” (Figura 9), ubicados entre la localidad de Comanjilla y Duarte, localidades del municipio de Silao pertenecientes al estado de Guanajuato. Los ranchos están localizados en: 21°05'28.2" LN 101°29'28.1" LO y se encuentran a una altura de 1972 msnm (Google Earth Pro, 2018) (Figura 10). Presentan una temperatura mínima promedio de 8.7° C y una temperatura máxima promedio de 24.7 °C, siendo el mes de enero el más frío y mayo el más caliente. Con una precipitación media anual de 600 mm (CONAGUA 2017, Estación Arperos 11135). Los principales cultivos del municipio de Silao son: ajo; avena forrajera en verde; brócoli; cebada; cebolla; chile verde; coliflor; elote; fresa; frijol; lechuga; maíz grano; melón; sandía; sorgo; jitomate; trigo; y zanahoria (SIAP, 2017).

Ambos huertos cuentan con riego por goteo, en el Cuadro 6 se muestran las características principales para cada uno.



Figura 8: Aspecto general del rancho “El Retiro”.



Figura 9. Aspecto general del rancho "Las Coloradas".

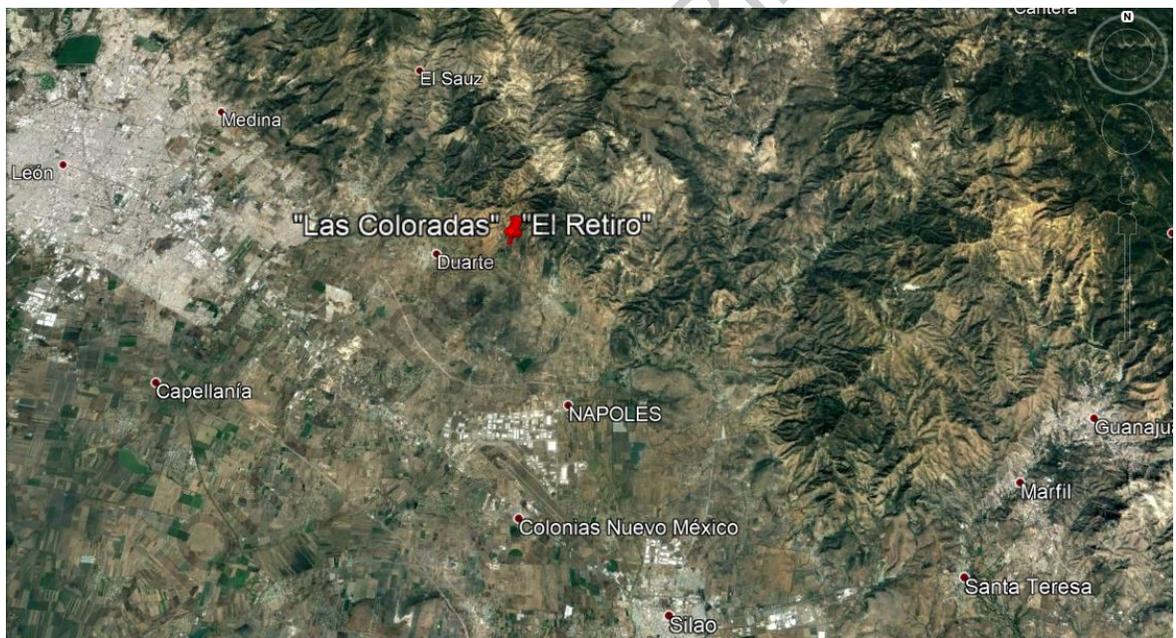


Figura 10. Ubicación de los sitios de estudio.

Cuadro 6. Características principales del cultivo de aguacate en los huertos de muestreo.

	Rancho “El Retiro”	Rancho “Las Coloradas”
Edad de las plantas	2 años	4 años
Distancia de plantación	5 m*5 m	7m*7 m
Densidad de plantación	400 árboles/ha	200 árboles/ha
Manejo de la Fertilización	Urea (46-00-00) Fosfato diamónico	Nitrato de amonio (35-00-00) Fosfato diamónico (18-46-00) Cloruro de potasio (00-00-60)

Las aplicaciones de los fertilizantes se realizan cada tres meses, aplicando 300 g por árbol y se aplican 2 kg por árbol de estiércol de vaca dos veces al año.

6.2 Muestreo de suelo y de las raíces de plantas de aguacate

El muestreo de suelos se realizó el 12 de enero del 2018 (Figura 11 a) por el método “cinco de oros”, considerando cinco árboles para el rancho de dos años “El Retiro”; y cinco árboles para el de cuatro años “Las Coloradas”. De cada árbol se tomaron cuatro submuestras de 500 g de suelo en cada punto cardinal (Norte, Sur, Este y Oeste) a una profundidad de 30 cm (Figura 11 b); estas se homogenizaron para obtener muestras compuestas por árbol; se depositaron en una bolsa de polipapel; y se conservaron en una hielera para su transporte. Las muestras se separaron en dos partes, una se llevó al laboratorio y se refrigeró a 4 °C para su posterior análisis y la otra parte se secó al aire y se tamizó en una malla de 2 mm para realizar los análisis físicos y químicos (Carballar y col., 2013).

6.3 Caracterización de las propiedades físicas y químicas del suelo

Las muestras previamente secadas al aire fueron llevadas al laboratorio de la Fundación PRODUCE Querétaro, donde se evaluaron las siguientes variables físicas y químicas: reacción del suelo (pH) (potenciometría); textura (Bouyucos); conductividad eléctrica (conductimetría); materia orgánica (método de Walkey y

Black); fósforo extraíble (método de Olsen); y nitrógeno inorgánico extraíble (micro-Kjeldahl), con apego a la norma NOM-021-RECNAT-2000.



Figura 11. Toma de muestras. a) Muestreo de suelo en “El Retiro”, b) Muestreo de suelo en “Las Coloradas”: Se observan submuestras tomadas en cada punto cardinal.

6.4 Determinación de colonización micorrícica radical

El porcentaje de colonización de la raíz se determinó mediante el método de Brundrett y col. (1996) con algunas modificaciones. De las raíces recuperadas de las muestras de suelos se seleccionaron las más delgadas, las cuales se enjuagaron a chorro de agua en un colador de plástico para quitar el exceso de suelo. Una vez limpias, se cortaron 50 segmentos de 2.5 cm aproximadamente y se colocaron en un vaso de precipitados con 20 mL de KOH 10 %; se llevaron al microondas (modelo: IO16MDI; tensión nominal: 120 V; potencia nominal: 1100 W; frecuencia de operación: 60 Hz; no. parte: I007CD) durante 30 s dejándose reposar durante 5 min (el KOH adquirió una coloración marrón); enseguida se enjuagaron las raíces con agua corriente. Se repitió este paso hasta que la solución de KOH ya no presentara la coloración marrón; posteriormente se agregaron 20 mL de agua oxigenada comercial 3% y se llevaron al microondas durante 15 s, cuidando que la solución no se tirara ya que ebulle fácilmente; las raíces se dejaron reposar durante 5 min para completar su aclaramiento; éstas se observaron traslucidas; finalmente se enjuagaron con agua corriente. Se agregaron 20 mL de HCl 10 % y se dejaron

reposar 10 min, posteriormente se les retiró el ácido reciclándolo y enseguida se agregaron 20 mL de azul de tripano 0.05 %; a continuación, las raíces se llevaron al microondas durante 15 s y se dejaron reposar 5 min, posteriormente se les retiró el azul de tripano (éste se recicló) y se enjuagaron con lactoglicerol 50 % para eliminar el exceso de colorante. Para la determinación del porcentaje de colonización se montaron 20 raíces ya teñidas en un portaobjetos y se colocaron los cubreobjetos; para que quedaran lo más planas posible se presionaron con la goma de un lápiz (cuidando que no se rompieran); cada laminilla se dividió en cinco segmentos con un marcador permanente para usar las líneas como guía (Figura 12) obteniendo así un total de 100 observaciones por placa, las cuales se observaron con un microscopio compuesto a 10 X registrando el número de hifas; arbusculos; y/o vesículas presentes para cuantificar el número de raíces colonizadas por dichas estructuras. El porcentaje de colonización se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de colonización} = \frac{\text{no. de raíces colonizadas}}{\text{no. total de raíces evaluadas}} * 100$$

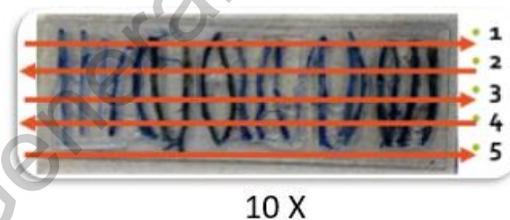


Figura 12. Raicillas fijadas en portaobjetos.

6.5 Cuantificación de la longitud del Micelio Extrarradical (MER)

La determinación de la longitud de Micelio Extrarradical (MER) se realizó utilizando la técnica del gel semisólido y se cuantificó por el método de intersección de cuadrantes (Robles y Barea 2004); para ello se tomó 1 g de suelo previamente secado al aire y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 125 mL al cual se le agregaron 5 mL de hexametáfosfato sódico 5 % y se dejó reposar durante 10 min con la finalidad de dispersar los agregados del suelo que estaban unidos a las

fracciones de hifas; posteriormente se tiñeron con 5 mL de azul de tripano (0.05 %) (con esta solución se tiñeron las hifas), el matraz se puso a baño maría durante 10 min y se agitó constantemente. Para eliminar las fracciones más finas del suelo, la mezcla resultante se pasó por diferentes tamices (297 μm , 74 μm y 44 μm), el material retenido en los tamices de 74 μm y 44 μm se depositó nuevamente en un matraz de 125 mL y se agregaron 50 mL de agua; posteriormente se agregó 1 g de agar bacteriológico; se calentó a baño maría con agitación constante para disolver el agar. Se tomó una alícuota de 10 mL que se distribuyó en una caja de Petri; se solidificó y se observó al estereoscopio colocando en la base de la placa una hoja cuadrículada (0.5 cm*0.5 cm) (Figura 13). Se contaron las intersecciones hifa-línea; la placa se giró 90 °; y se repitió el conteo de intersecciones hifa-línea, por último, el número de intersecciones se transformaron a longitud de micelio por unidad de peso de suelo utilizando la fórmula de Newman (1966):

$$R = \frac{AN}{2H}$$

En donde: R= longitud de micelio por unidad de peso de suelo

A= área de la placa

N= número de intersecciones hifa-línea

H= longitud total de líneas sobre las que se cuenta



Figura 13. Caja Petri con hoja cuadrículada (0.5 cm) en la base.

6.6 Recuperación y conteo de esporas

La recuperación y el conteo de esporas se realizaron por el método de tamizado húmedo y decantación seguida de centrifugación en una solución de sacarosa (modificado de Brundett y col., 1996). Se pesaron 50 g de suelo secado al aire, el cual se colocó en un recipiente de plástico de 1 L de capacidad; enseguida se le agregó agua del grifo; se agitó vigorosamente; se dejó reposar durante un minuto; y se decantó en seis tamices con diferente apertura de malla (1000 μm , 500 μm , 250 μm , 150 μm , 63 μm y 53 μm); esto se repitió cinco veces. El contenido de los dos últimos tamices (63 μm y 53 μm) se recuperó íntegro y se distribuyó en dos tubos cónicos que contenían cada uno 15 mL de solución de sacarosa (20 % uno y 60 % el otro). Posteriormente se centrifugó la solución a 2000 rpm durante 5 min. Esta suspensión se pasó nuevamente al tamiz de 63 μm y se lavó con abundante agua para eliminar la solución de sacarosa, posteriormente la muestra obtenida en el tamiz se colocó en una caja de Petri; y mediante la observación al estereoscopio se separaron todas las esporas presentes con la ayuda de una jeringa de 2 mL ensamblada con una punta de micropipeta (1 -200 μL), Finalmente las esporas se fijaron en portaobjetos con alcohol polivinílico-lactoglicerol mezclado con reactivo Melzer (1:5) (Carballar y col., 2012; Sánchez y col., 2010).

6.7 Identificación de las morfoespecies

La identificación de las morfoespecies se llevó a cabo en el laboratorio de ciencias biológicas a cargo del Dr. Raúl Hernando Posada Almanza en la Universidad de Caldas, Colombia. La determinación de géneros se realizó considerando estructuras específicas de estos y con la ayuda de la información del International Collection of Vesicular and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2019) y del libro de Janusz Blaszowski (2012), así como de un compendio de artículos facilitado por el Dr. Posada Almanza (Palenzuela y col., 2015; Shultz y col., 1999; Morton 1986; Goto y col., 2013; Velazquez y col., 2008; Furrázola y col., 2013; Blaszowski y col., 2015; Blaszowski 1995; Schenck y col., 1984; Pereira y col., 2016; Oehl y col., 2011, 2012 y 2014; Lin y col., 2019; Palenzuela y col., 2014).

Con base en el material bibliográfico ya citado, las características morfológicas evaluada fueron las siguientes: número de paredes; capas; formación de sáculos; cicatrices; hifas de conexión; tamaño; forma; color. Las esporas se observaron con un microscopio binocular de campo claro marca Leica, modelo DM500.

6.8 Evaluación de consorcios micorrícicos sobre el crecimiento de plantas de aguacate en vivero

Para determinar si los géneros previamente identificados tenían un efecto positivo sobre el desarrollo de las plántulas de aguacate “Hass”, se llevó a cabo un experimento en un vivero protegido totalmente con malla antiáfidos y techado con plástico blanco de invernadero (Figura 14). Dicho vivero se encuentra ubicado en las instalaciones de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Se seleccionaron semillas de aguacate “Hass” sin daños mecánicos y sin presencia aparente de daños por hongos fitopatógenos. Éstas se desinfectaron mediante inmersión en agua corriente a 50 °C (30 min) (Figura 15 a); seguida de tratamiento con captán (3 g/L, 4 horas de inmersión). Se realizaron dos escarificaciones: en la primera se eliminó la testa manualmente (Figura 15 b) y en la segunda, con un bisturí plástico, se eliminó el ápice (Figura 15 c).



Figura 14. Vivero de la Facultad de Química.



Figura 15. Tratamiento de semillas. a) Semillas en agua a 50 °C, b) Primera escarificación eliminación de la testa, c) Segunda escarificación eliminación del ápice.

6.8.1 Germinación y trasplante de las semillas de aguacate

Para la preparación del sustrato se utilizó arena de construcción la cual se lavó; secó y calentó mediante solarización (50 °C, 4 semanas) con la finalidad de

reducir la carga microbiana presente (Alarcón y col., 2012). Ésta se mezcló con agrolita (1:1 v/v) y se colocó en camas de 5 cm de profundidad, en donde se colocaron las semillas (Figura 16 a); cuando éstas germinaron (12 a 15 días) (Figura 16 b) se pasaron a macetas cuadradas (5 cm * 5 cm * 6 cm) (Figura 16 c). Se seleccionaron 25 plántulas con seis hojas cada una (60 días de edad aproximadamente) (Bañuelos y col., 2017; Fundora, 2011) y se procedió al trasplante (Figura 16 d, e). Para el enmacetado se emplearon bolsas de vivero de 5 L con una mezcla de arena y suelo agrícola (1:1, v/v) como sustrato. Estas se colocaron sobre camas levantadas de aproximadamente 30 cm de altura (Alarcón y col., 2012).

6.8.2 Preparación de los inóculos

El inóculo nativo que se empleo fue extraído directamente de las huertas, se mezclaron 10 gramos de suelo de cada huerto, el cual contenía 5 esporas / gramo de suelo. Los otros tres inóculos ya estaban caracterizados y fueron donados por diferentes Doctores (Cuadro 7).

6.8.3 Inoculación

Antes del trasplante se agregaron 20 g por bolsa de los inóculos micorrícicos (Bañuelos y col., 2017), los cuales consistieron en cuatro tratamientos: comercial, nativo, CIIDIR y Montecillo, los cuales contenían los géneros de HMA citados en el Cuadro 7, más un testigo (sin inocular). Para cada tratamiento y el testigo se tuvieron 5 repeticiones (Fundora, 2011). El riego se realizó cada tercer día (Bañuelos y col., 2017) y dependiendo del estado del tiempo. Se fertilizó el sustrato con solución nutritiva (Steiner) (anexo 2) (Castillo y col., 2008) una vez al mes los primeros tres meses, después con Bayfolan (30 g/L) vía foliar una vez al mes hasta el término del ensayo.

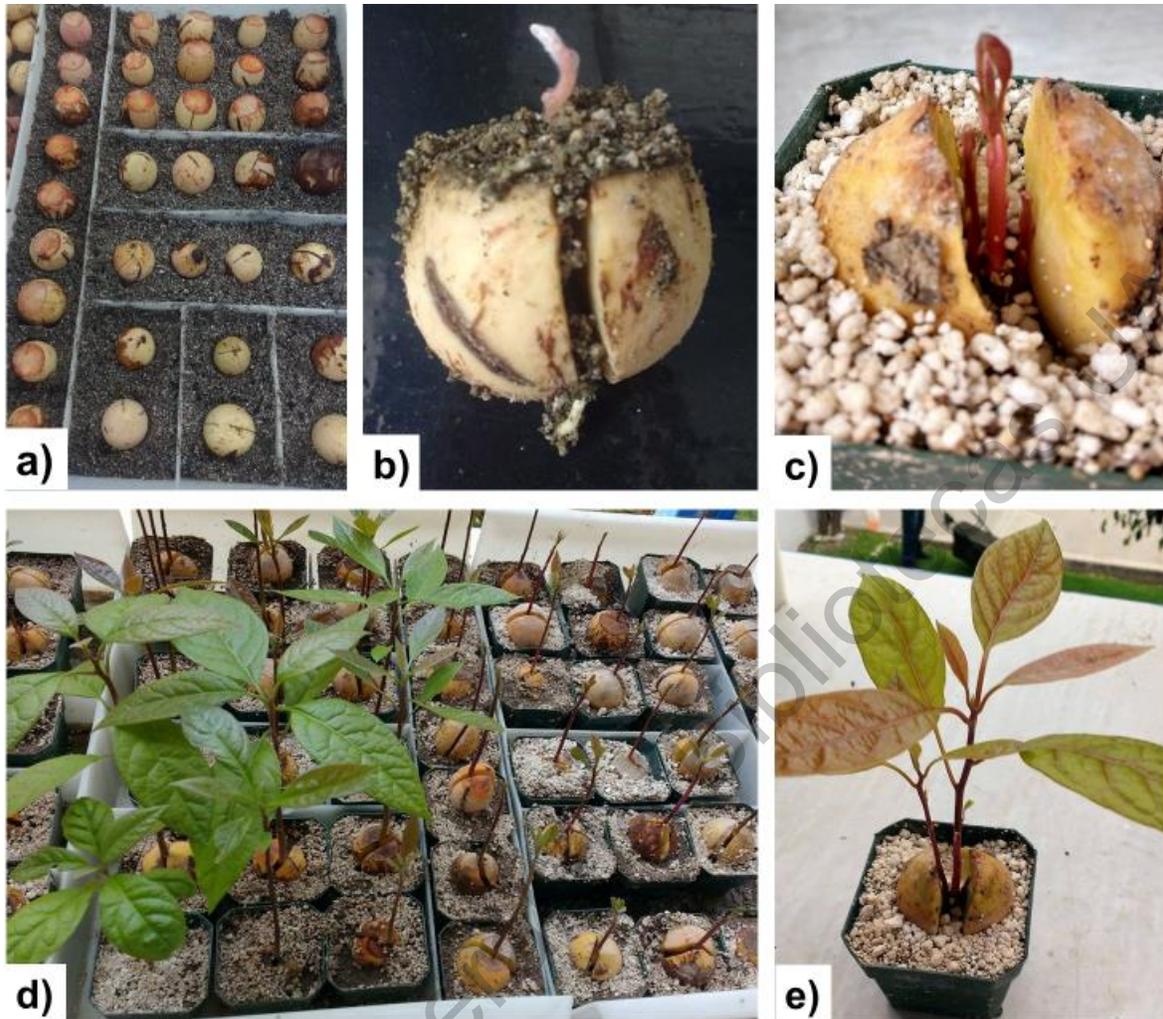


Figura 16. Germinación del material biológico. a) Semillas en sustrato, b) Semillas a los 15 días, c) Semillas trasplantadas a macetas, d) Plántulas en crecimiento, e) plántula con 15 cm de altura

6.8.4 Diseño del experimento

Para la evaluación del ensayo de la inoculación de los consorcios de HMA sobre el desarrollo vegetativo en plantas de aguacate, se utilizó el diseño experimental completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos y un control; cada tratamiento estuvo constituido por 5 unidades experimentales y cada unidad experimental fue representada por una planta de aguacate “Hass”.

Cada mes fueron registradas para cada unidad experimental siguientes variables: altura de las plantas, se midió con un flexómetro en cm desde el ápice de la semilla hasta el ápice de la planta; para el grosor del tallo se empleó un vernier y se tomó la lectura 2 cm por encima del ápice de la semilla; el número de hojas se

determinó mediante el conteo físico; para longitud y ancho de las hojas se utilizó un flexómetro, la lectura se tomó en cm, la longitud se tomó desde la unión del pecíolo hasta el ápice de la hoja, y el ancho de borde a borde de la hoja en la parte más ancha (Alvarado y col., 2014; Carreón y col., 2014; Fundora y col., 2011).

Finalmente, después de 11 meses se procedió a medir las siguientes variables: porcentaje de colonización; y peso fresco y seco de las plantas (Roveda y col., 2007; Carreón y col., 2014; Cuenca y col., 2007; Sheng y col., 2009).

Cuadro 7. Géneros presentes en los inóculos utilizados.

Género	Nativo (5 e/g)	CIIDIR (65e/g)	Comercial (33 e/g)	Montecillo (8 e/g)
<i>Acaulospora sp</i>	X	X		X
<i>Glomus sp.</i>	X	X	X	X
<i>Funneliformis sp.</i>	X	X		
<i>Claroideoglo- mus sp.</i>	X	X		
<i>Rhizophagus sp. u Oehlia sp.</i>	X			
<i>Rhizoglo- mus sp.</i>	X			
<i>Pacispora sp..</i>	X			
<i>Septoglo- mus sp.</i>	X			
<i>Entrophospora sp</i>				X
<i>Gigaspora sp.</i>			X	

*(e/g) esporas sobre gramo de suelo, datos obtenidos de la etiqueta de cada producto, excepto para el inóculo nativo.

6.9 Análisis estadístico

Los datos obtenidos procedentes de las variables físicas y químicas del suelo, porcentaje de colonización y Micelio Extrarradical (MER) fueron sujetos al análisis de t-student ($p \leq 0.05$) para muestras independientes. Cuando los datos no siguieron una distribución normal se empleó la prueba U de Mann -Whitney. Con los datos obtenidos se realizó el análisis de varianza unifactorial y para la comparación

de medias se utilizó la prueba de Tukey para los datos distribuidos normalmente y la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para los datos que no presentaron una distribución normal ($p \leq 0.05$) (De la Loma, 1980). Los porcentajes se transformaron a grados angulares antes de su análisis estadístico. Para ambos análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS IBM Corporation en la versión de prueba.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Fertilidad del suelo de los sitios de estudio

Los análisis de suelo demuestran que el pH y el contenido de fósforo aprovechable son las únicas variables que presentan diferencia entre los ranchos (Cuadro 8), teniendo un valor de pH para “El Retiro” de 7.7, el cual se considera medianamente alcalino y para “Las Coloradas” se obtuvo un valor de 7.0 (neutro); respecto al fósforo aprovechable, para “El Retiro” se obtuvo un valor de 5.5 mg/kg (mg considerado medio y para “Las Coloradas” se obtuvo cinco veces el valor de “El Retiro” (125.6 mg/kg) considerado alto. En cuanto a las demás variables no se obtuvieron diferencias entre los ranchos, se obtuvo una textura de suelo franco arenosa, un valor despreciable de salinidad, el porcentaje de materia orgánica fue alto y el porcentaje de nitrógeno total muy alto. Villarroel (1988) menciona que al encontrar un porcentaje de materia orgánica alto puede estar favoreciendo tanto la microbiota de la rizósfera como el porcentaje de nitrógeno, ya que este está en función del contenido de materia orgánica.

7.2 Porcentaje de colonización en la raíz

En las muestras de raíces del suelo se encontró un porcentaje de colonización por hifas de 85.40 % para “El Retiro” y de 71 % para las “Las Coloradas”, el cual no presenta diferencia entre los ranchos. Covacevich, y col, (1995) y Bañuelos y col., (2017) mencionan que la colonización micorrícica disminuye con las altas dosis de fósforo (160 mg/kg), a pesar de la cantidad tan alta de fósforo (125.6 mg/kg) que se tiene en “Las Coloradas” no es suficientemente alta para que disminuyera el porcentaje de colonización. Por otro lado, Almaca y Ortas (2010), mencionan que las dosis a las cuales ocurre dicha reducción son variables

y que el porcentaje está en función de la identidad de las especies de HMA y el genotipo de la planta (Bañuelos y col., 2017).

Muñoz y col., (2009) quienes estudiaron la presencia de HMA en tres huertas de nogal, con diferente edad de establecimiento: “El Maguey” de 40 años, La Fama” de 35 años y “La esmeralda” de 29 años, reportaron que el mayor porcentaje de colonización se encontró en la huerta “El Maguey”, sin embargo, en las otras dos huertas no influyó la diferencia de edad, por lo que ellos le atribuyeron la diferencia de porcentaje de colonización al suelo que presentó mejor drenaje, presencia de gramíneas e incorporación de abonos orgánicos. Por lo que podría decir en este estudio que la diferencia de edad no influye en el porcentaje de colonización.

En cuanto al porcentaje de colonización por arbusculos se obtuvo 18.8 % para “El Retiro” 1 y 8.4 % para “Las Coloradas”, el cual presenta una diferencia entre los ranchos, los arbusculos tienen una vida media de 2 a 15 días y son los encargados del intercambio de nutrientes entre la planta y el hongo (Gómez y col., 2007), para “Las Coloradas” que es la que tiene un menor porcentaje de colonización por arbusculos se puede deber a que el fósforo es mucho mayor que para “El Retiro” y el fósforo es el principal nutriente que los HMA solubilizan, por lo tanto si el fósforo ya está en mayor cantidad no se necesita el intercambio de nutrientes y el porcentaje de arbusculos disminuye. Para el porcentaje de colonización por vesículas se tiene 11.8 % para “El Retiro” y 2.2 % para “Las Coloradas” con diferencia entre los ranchos. Las vesículas son estructuras compuestas principalmente por lípidos, se consideran depósitos de los nutrimentos y solamente algunos géneros las forman (Aguilera y col., 2007), se podría suponer que “Las Coloradas” al tener una mayor cantidad de fósforo aprovechable la planta sabe que ya no necesita más nutrientes y no forma estas estructuras de almacenamiento. Únicamente se habla del fósforo ya que es la única variable respecto a los nutrientes que es diferentemente estadísticamente entre los ranchos

Cuadro 8. Variables físicas y químicas del suelo.

Variable	“El Retiro” (2 años)	Interpretación	“Las Coloradas” (4 años)	Interpretación	
pH	7.7 ± 0.3	Medianamente alcalino	7.0 ± 0.5	Neutro	*
C.E. (dSm-1)	0.2±0.1	Despreciable de salinidad	0.2±0.0	Despreciable de salinidad	NS
M.O. (%)	3.9±1.1	Alto	5.8±2.4	Alto	NS
N (%)	0.3±0.1	Muy alto	0.3±0.1	Muy alto	NS
P (mg/kg)	5.5±1.7	Medio	125.6±51.5	Alto	*
Textura	Franco arenoso				
%col	85.4±16.9		71.0±17.9		NS
MER (cm/g)	44.2±18.2		36.2±4.4		NS

C.E.= Conductividad eléctrica; M.O. = Materia orgánica; N=Nitrógeno total; P= Fósforo aprovechable; MER= Micelio extrarradical. Cada valor es promedio de cinco repeticiones. Los porcentajes fueron transformados a grados angulares, sin embargo, se muestran valores originales. *Diferencias significativas y ** altamente significativa a $p < 0,05$.

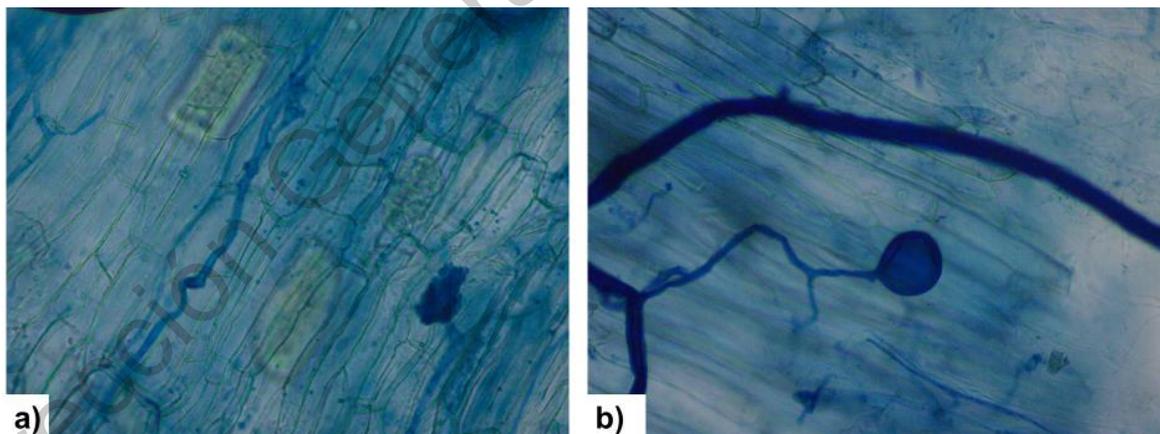


Figura 17. Estructuras microscópicas de HMA en raíz de aguacate. a) arbusculo e hifas y b) vesícula e hifas.

Cuadro 9: Porcentaje de colonización para los sitios de cultivo.

Variable	“El Retiro”	“Las Coloradas”	
% hifas	85.40±16.89	71.00±17.85	NS
% arbúsculos	18.8±11.75	8.40±6.41	*
% vesículas	11.80±10.19	2.20±3.55	*

Cada valor es promedio de 25 repeticiones. Prueba de U de Mann Whitney con $\alpha=0.05$

7.3 Contenido de Micelio Extrarradical (MER) en la zona de la rizósfera

Para el contenido de Micelio Extrarradical en el suelo, no se encontraron diferencias significativas entre los ranchos, para “El Retiro” se obtuvieron valores de 44.2 cm/g y para “Las Coloradas” de 36.2 cm/g. Del Águila y col., (2018) para el cultivo del café obtuvieron valores desde 40 cm/g hasta 149 cm/g siendo los valores más bajos similares a los presentados en el presente trabajo. El contenido de MER es de suma importancia para los HMA ya que incrementa el área de contacto con el suelo y de esta manera ayuda a la planta a mejorar el aprovechamiento de agua e incrementar la solubilización, absorción y traslocación de nutrimentos (Ferrol y col., 2018).

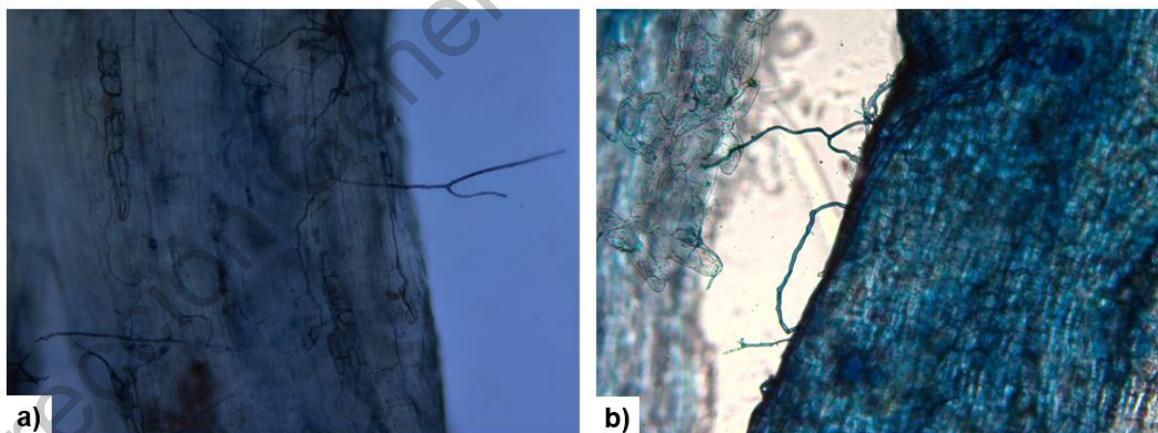


Figura 18. Micrográficas representativas de Micelio Extrarradical (MER). MER en raíces obtenidas del rancho a) “El Retiro” y b) “Las Coloradas”.

7.4 Abundancia de esporas en 50 gramos de suelo

El conteo de esporas de los suelos mostró una abundancia de 11 esporas / 50 g para “El Retiro” y de 10 esporas / 50 g para “Las Coloradas” (Cuadro 11), el

aislamiento directo de los suelos de campo tiene desventajas, puesto que no siempre hay suficientes cantidades de estas estructuras para obtener una buena identificación, debido a que la esporulación no se presenta de manera regular. Montañez y col., (2010) encontraron valores más bajos 9, 17 y 36 esporas/ 100 g (separado) suelo aisladas de tres suelos colombianos, sin embargo, únicamente se especifica que en el suelo donde se obtuvieron 17 esporas/ 100 g se siembra arroz, maíz, plátano, mango y cítricos. Por otro lado, en cultivos de aguacate con manejo orgánico en Ecuador el número de esporas va desde 243 a 1,350 esporas/50 g de suelo y el porcentaje de colonización de 4 a 18% (Viera y col., 2017). Tapia y col., (2008) aislaron de suelos salinos ubicados en el estado de San Luis Potosí, 210 esporas / 100 g en chile ancho; 460 esporas / 100g en jitomate; 400 esporas / 100 g en girasol. Alonso y col., (2013) reportaron para arboles de manzana (*Malus domestica* Borkh) var. Royal Gala de 25 años de edad, en donde no se aplican fertilizantes ni otros insumos, 250 a 300 esporas / 100 g de suelo. Con esta información se podría decir que el número de esporas si depende del manejo de la huerta, ya que mientras menos agroquímicos se apliquen más esporas se encuentran presentes y se podría decir que el porcentaje de colonización no depende del número de esporas que se tengan, ni del tipo de manejo del huerto.

7.5 Géneros de HMA encontrados en los ranchos de estudio

En cuanto a la identificación de géneros por morfoespecies, se identificaron ocho, pertenecientes a cuatro familias, siendo *Glomeraceae* la familia que presentó un mayor número de géneros, del total de los géneros encontrados cinco estuvieron presentes en ambos ranchos: *Glomus sp.*, *Acaulospora sp.*, *Rhizophagus sp.*, *Funneliformis sp.*, *Rhizoglomus sp.*, mientras que *Pacispora sp.* y *Septoglomus sp.* únicamente se encontraron en “El Retiro” y *Claroideoglomus sp.* en “Las Coloradas”, cómo se representa en el diagrama de Venn (Figura 16). *Glomus sp.* se encontró en ambos ranchos, este género esta reportado como cosmopolita siendo el de mayor distribución geográfica (Rivera y col., 2016). *Acaulospora sp.* se ha reportado como el género más abundante en inventarios de cultivos de aguacate en México (Montañez y col., 2010), sin embargo, Carreón y col., (2013) no encontraron este

género en una huerta de aguacate de 26 años de edad. Carreón y col., (2016), encontraron cinco géneros en una huerta de aguacate de 7 años, que se caracteriza por tener el suelo migajón- arenoso, con un bajo porcentaje de materia orgánica, con valor de fósforo aprovechable alto (>11 ppm) y el pH fue ácido. Carreón y col., (2013) en huertas de aguacate “Hass” de 26 y 30 años encontraron cuatro géneros en cada una; los suelos de ambas huertas tienen una capacidad de intercambio catiónico alta, porcentaje de materia orgánica alto, porcentaje de nitrógeno total muy alto y fósforo aprovechable alto, únicamente el pH es la variable diferente, para la huerta de 30 años se tiene un pH moderadamente ácido y en la huerta de 26 años neutro. Con esta información se podría decir que el número de géneros disminuye conforme a la edad de la huerta, quedando solamente los HMA que se adaptan a la microbiota nativa. La alta diversidad de géneros en los ranchos estudiados también podría deberse a que el suelo de los ranchos era virgen antes de implementar el cultivo del aguacate y, a que son huertos con riego (Bárcenas y col., 2007).

Cuadro 10. Abundancia de géneros de HMA encontrados en los ranchos.

Género	Rancho “El Retiro”	Rancho “Las Coloradas”
<i>Acaulospora sp</i>	5.4±5.4	5.0±3.6
<i>Glomus sp</i>	0.4±0.5	0.6±0.9
<i>Rhizophagus sp.</i>	0.4±0.9	0.6±0.5
<i>Funneliformis sp.</i>	0.2±0.4	0.4±0.5
<i>Pacispora sp.</i>	0.2±0.4	--
<i>Septoglomus sp.</i>	0.2±0.4	--
<i>Rhizoglomus sp.</i>	0.4±0.5	0.4±0.9
<i>Claroideglomus sp</i>	--	1.0±1.0
Total de esporas en 50 g	11	10

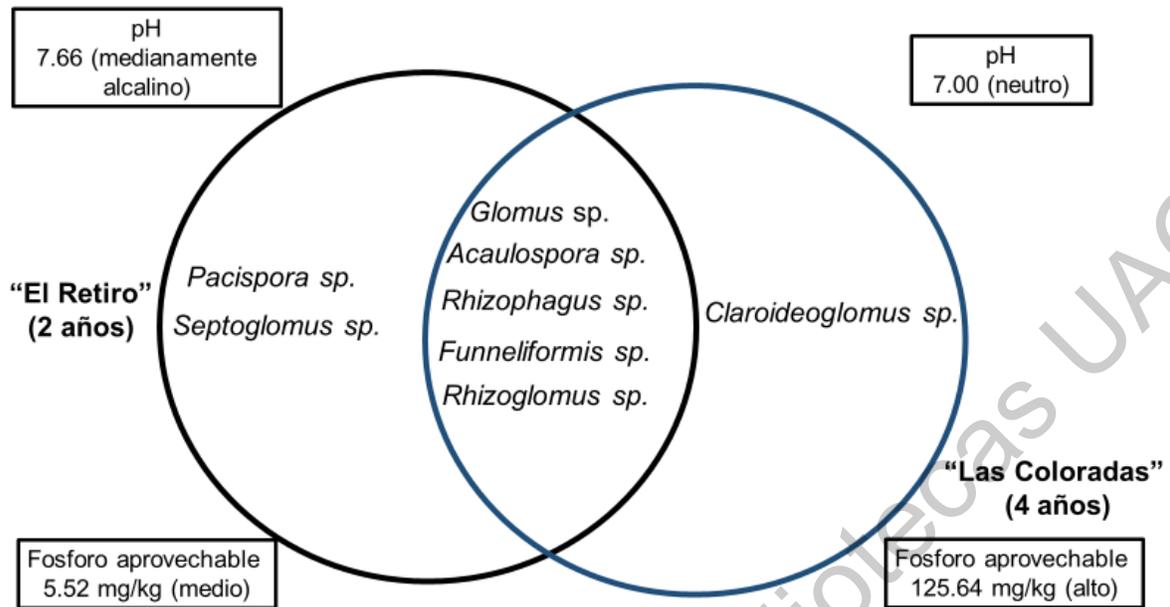


Figura 19. Diagrama de Venn de los géneros de HMA encontrados en raíces de aguacate "Hass" para cada huerto.

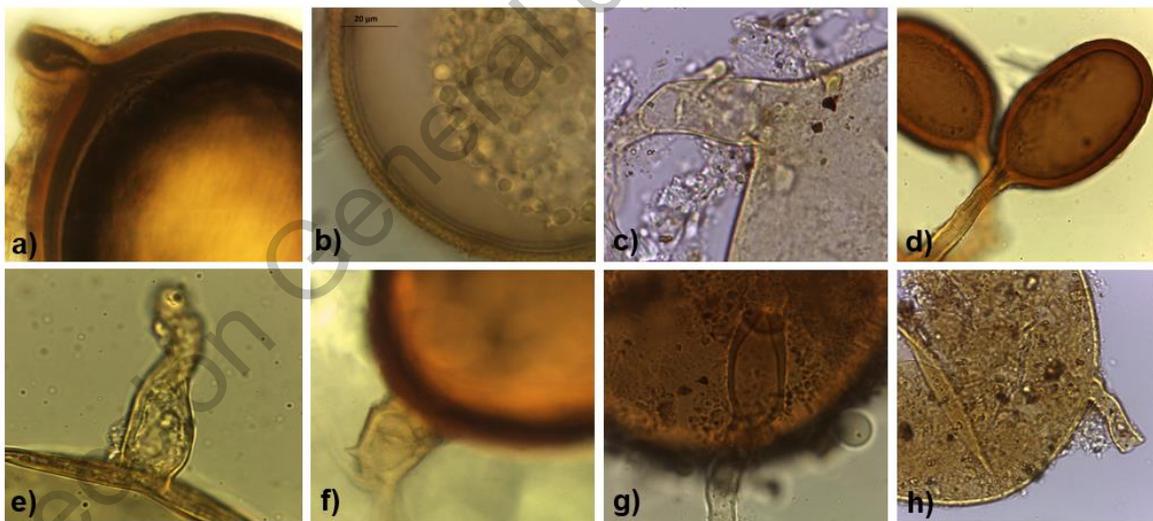


Figura 20. Géneros encontrados en los huertos de estudio. a) *Glomus sp.*, b) *Acaulospora sp.*, c) *Funneliformis sp.*, d) *Rhizogloium sp.*, e) *Septogloium sp.*, f) *Clareoidogloium sp.*, g) *Pacispora sp.*, y, h) *Rhizophagus u Oehlia sp.*

7.5.1 Características morfométricas consideradas para la identificación de esporas

7.5.1.1 *Glomus*

El género *Glomus* forma esporas glomoides (esporas desarrolladas a través de una hifa de sostén), en algunas especies la superficie de las esporas puede ser lisa o diferencialmente ornamentadas, se caracterizan por ser esporas solitarias en el suelo o agregadas más o menos compactas o en esporocarpos. Forman esporas con una pared que incluye al menos dos capas, de las cuales la capa estructural consiste de muchas subcapas (laminación) y la capa externa frecuentemente se desintegra con la edad. En algunas especies esta capa se tiñe de rojo al adicionar el reactivo Melzer. Las capas de la pared de la hifa suspensora son continuas con las capas de la pared de la espora (Stürmer y Morton 1997).

Glomus es un género que se ha reportado como cosmopolita, siendo el de mayor distribución geográfica (Rivera y col., 2016). Se ha encontrado en varios cultivos como: cacao (*Theobroma cacao* L.) (Prieto y col., 2012), café (*Coffea arabica* L.) (Bolaños y col., 2000), nogal (*Juglans regia*) (Muñoz y col., 2009), aguacate (*Persea americana* Mill) (Carreón y col., 2013 y 2016; Bárcenas y col., 2007; Aranguren y col., 2015), maíz (*Zea mays*) (Guadarrama y col., 2007; Luna y col., 2016), manzana (*Malus domestica* Borkh) (Alonso y col., 2013), uva (*Vitis vinifera* L. ssp. *sylvestris*. Gmelin) (Ocete y col., 2015), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) (Wilches y col., 2019), yuca (*Manihot esculenta*) (Luna y col., 2016), entre otros.

Se ha reportado que *Glomus* ayuda incrementar la altura de las plantas, diámetro de tallo, biomasa (Castañón y col., 2013), longitud de hojas (Fundora y col., 2011), área foliar (Posada y col., 2013), longitud de la raíz (Sheng y col., 2009), peso seco de las plantas (Cuenca y col., 2007, Silveira y col., 2002); también ayuda a incrementar la absorción de N, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Mn, carbohidratos en la parte aérea y raíces de la planta (Silveira y col., 2002) y podría ser un género potencial para la recuperación de cobre (Castañón y col., 2013).

7.5.1.2 *Acaulospora*

Las especies del género *Acaulospora* forman esporas acaulosporoides, estas se desarrollan a un lado del cuello del sáculo esporífero. La pared externa presenta una capa que es continua con la pared de la hifa del saco esporífero; conforme se desarrolla la espora, una segunda capa laminada se diferencia y en muchas especies es de color y ornamentada; comúnmente las especies de este género diferencian una tercera capa que es difícil de observar en algunos taxa. La primera pared de germinación presenta una o dos capas, mientras que la segunda presenta de una a tres capas. En la mayoría de las especies, la capa externa de la segunda pared de germinación es ornamentada (con excrecencias granulares). En pocas especies puede ser ornamentada, con protuberancias o en algunos casos lisa. la segunda o tercera capa de esta pared, usualmente se tiñe intensamente en Melzer y raramente se tiñe claramente, o no reacciona con este reactivo (Benny, 1990).

Acaulospora se ha reportado como el género más abundante en inventarios de cultivos de aguacate (*Persea americana* Mill) en México (Montañez y col., 2010) (Bárcenas y col., 2007; Aranguren y col., 2015), también se ha encontrado en otros cultivos como: café (*Coffea arabica* L.) (Bolaños y col., 2000), cacao (*Theobroma cacao* L.), nogal (*Juglans regia*) (Muñoz y col., 2009), maíz (*Zea mays*) (Guadarrama y col., 2007) (Luna y col., 2016), uva (*Vitis vinifera* L. ssp. *sylvestris*. Gmelin) (Ocete y col., 2015), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) (Wilches y col., 2019), yuca (*Manihot esculenta*) (Luna y col., 2016), entre otros.

Este género se ha reportado que ayuda a incrementar la altura de las plantas, el área foliar (Posada y col., 2013), el peso fresco de la planta; también mejora la absorción de fósforo foliar (Martínez, 2014), Cu y Zn, carbohidratos en la parte aérea y raíces de la planta (Silveira y col., 2002).

Cuadro 11. Comparación entre otros autores y el presente trabajo de géneros de HMA en huertas de aguacate.

Ubicación	Salvador Escalante, Michoacán	Uruapan, Michoacán	Uruapan, Michoacán	Comanjilla, Guanajuato	Comanjilla, Guanajuato
Huerta	Las Parrillas	Huitzichio	El Puerto	El Retiro	Las Coloradas
Edad de los arboles	7 años	30 años	26 años	2 años	4 años
Autor	Carreón y col., 2016	Carreón y col., 2013	Carreón y col., 2013	Presente trabajo	Presente trabajo
<i>Acaulospora sp</i>	X	X		X	X
<i>Glomus sp</i>	X	X	X	X	X
<i>Scutellospora sp</i>	X				
<i>Gigaspora sp</i>	X				
<i>Pacispora sp</i>	X			X	
<i>Sclerocystis sp</i>		X	X		
<i>Funneliformis sp</i>		X	X	X	X
<i>Ambispora sp.</i>			X		
<i>Rhizophagus sp.</i>				X	X
<i>Rhizoglomus sp.</i>				X	X
<i>Septoglomus sp.</i>				X	
<i>Claroideoglomus sp.</i>					X
No. total de géneros	5	4	4	7	6

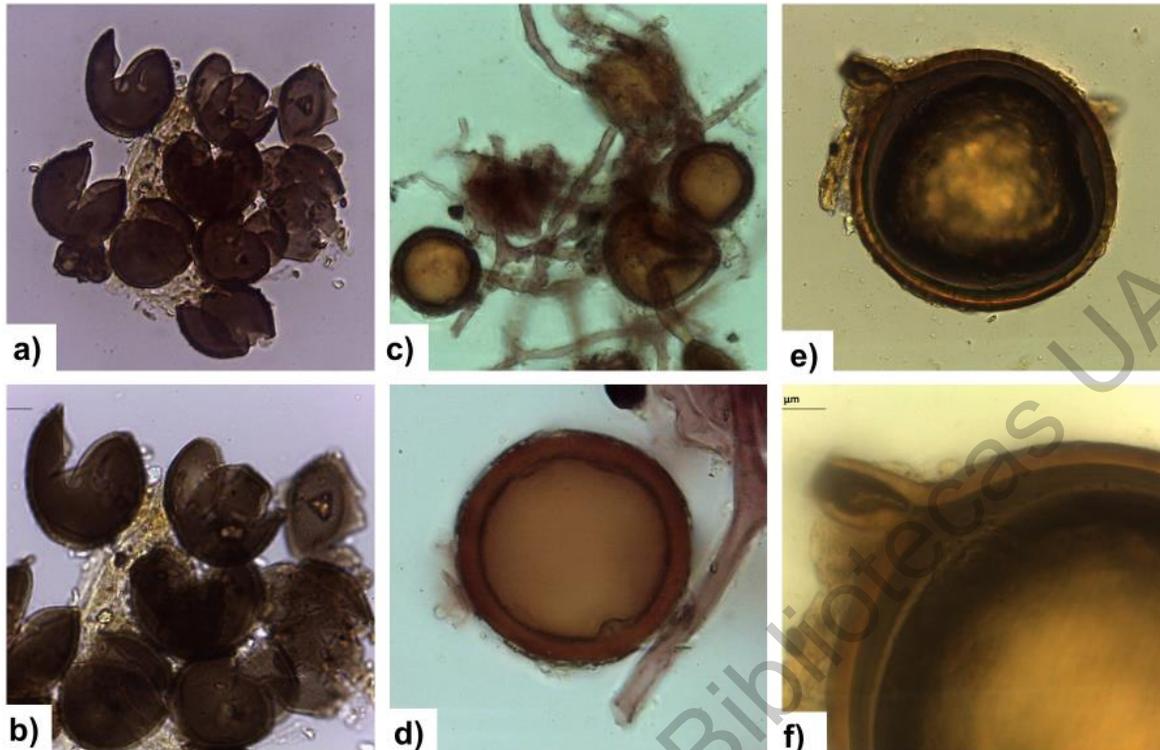


Figura 21: Esporas de *Glomus* spp. *Glomus* sp. 1 a) 40X b) 100X; *Glomus* sp. 2 c) 40X d) 100X; *Glomus* sp. 3 e) 40X y f) 100X.

Para este género se lograron identificar 6 especies:

7.5.1.2.1 *Acaulospora scrobiculata*

Las esporas de *A. scrobiculata* se caracterizan por tener un color subhialino a amarillo pálido, algunas son más oscuras (amarillo paja) (Figura 20). Son ornamentadas con pequeñas cavidades, las esporas pueden tener forma globosa, subglobosa y ocasionalmente irregular. Su tamaño es de 80 a 160 μm . La pared de la espora tiene tres capas, la capa externa es continua con la pared del cuello del sáculo esporífero principal y las dos últimas se sintetizan con el origen de la espora. Tiene dos paredes germinales que son hialinas y flexibles, estas se separan cuando la espora se rompe (INVAM, 2019; Trappe, 1977).

7.5.1.2.2 *Acaulospora cavernata*

A. cavernata se caracteriza por formar esporas solitarias en el suelo, tienen forma globosa a subglobosa, son de color amarillo yema a café claro. Miden de 140

a 170 μm . Tienen cinco paredes que se dividen en tres grupos (grupos, A, B, C). Las paredes del grupo A se caracterizan por ser de color amarillo yema a café claro, tienen depresiones de 1.7 a 2.5 μm (Figura 21). Las paredes del grupo B se caracterizan por ser de color hialino y membranosas, y las paredes del grupo C son de color hialino y coriáceas. Únicamente la quinta pared se tiñe de rojo en reactivo de Melzer (Błaszowski 1989).

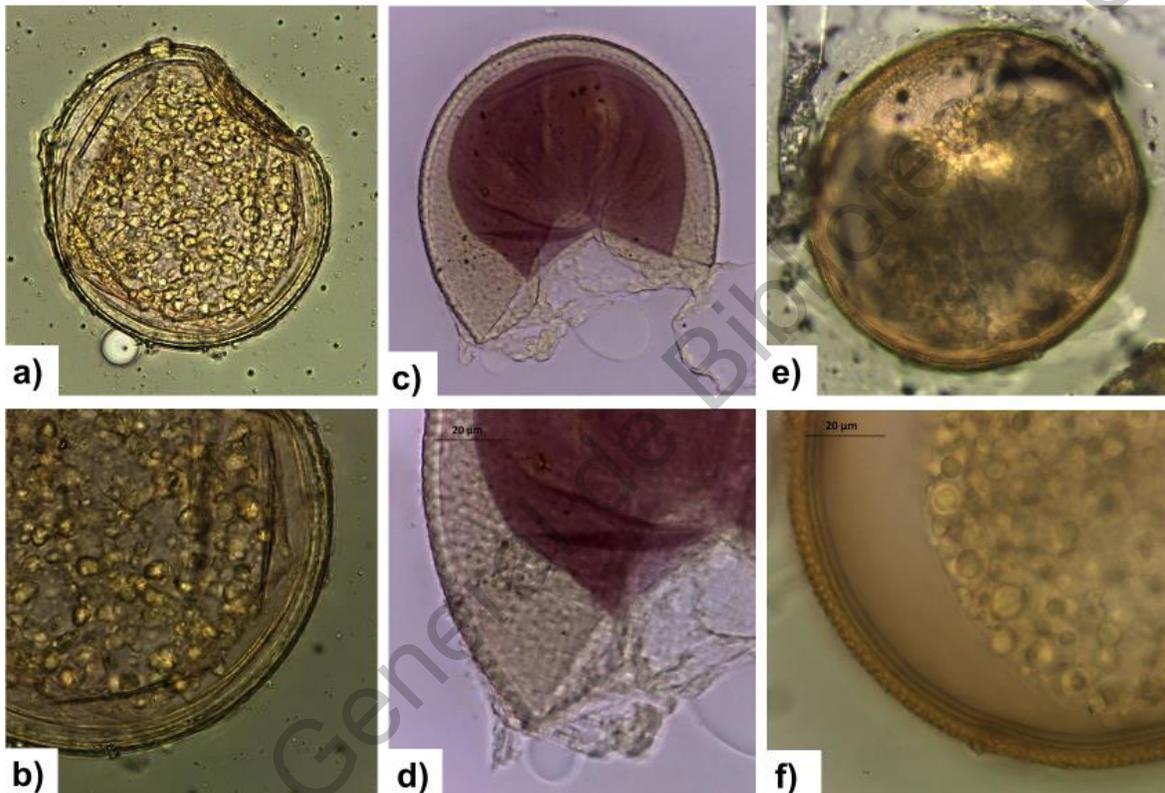


Figura 22: Esporas de *Acaulospora* spp. *Acaulospora* sp. 1 a) 40X b) 100X; *Acaulospora* sp. 2 c) 40X d) 100X; *Acaulospora* sp. 3 e) 40X f) 100X.

7.5.1.2.3 *Acaulospora lacunosa*

Las esporas de *A. lacunosa* se caracterizan por ser de color marrón anaranjado a marrón naranja oscuro, tienen forma principalmente globosa, puede ser subglobosa y ocasionalmente elipsoide. Tienen un tamaño de 80 a 140 μm . Las esporas tienen dos paredes, la pared interna tiene dos capas, y la pared externa es continua con la pared del cuello del sáculo esporífero progenitor y su capa interna se sintetiza con el desarrollo de la espora (Morton, 1986; INVAM, 2019).

7.5.1.2.4 *Acaulospora excavata*

Las esporas de *A. excavata* son globosas, subglobosas u ovales (115-195 * 100-180 μm), pueden ser de color ocre claro, amarillo claro, amarillo anaranjado y a veces amarillo brillante. Las esporas forman tres paredes: la pared exterior tiene tres capas, la pared media dos capas y la pared interna tres capas. La capa media de la pared exterior tiene orificios circulares a elípticos de 3.9-20*3.5-16 μm de diámetro y 2.2-6.3 μm de profundidad. La primera capa de la pared interna tiene una estructura granular y la segunda capa tiñe de color púrpura oscuro con el reactivo de Melzer (Pereira y col., 2016).

7.5.1.2.5. *Acaulospora aff. spinosa*

Las esporas de *A. spinosa* se caracterizan por ser de color crema a marrón-naranja claro, pero la mayoría son de color amarillo-marrón claro. Tienen forma globosa a subglobosa, con un tamaño de 140 a 220 μm . La pared de la espora tiene dos capas, la primera capa es hialina y se degrada prematuramente en la diferenciación de la pared de la espora e incluso está ausente antes de que las espinas de la segunda capa estén completamente formadas. La segunda capa se caracteriza por la formación de subcapas de color amarillo pálido, seguida de espinas redondeadas de 0.5-0.7 μm de ancho y 2 a 3 μm de largo (INVAM, 2019).

7.5.1.2.6 *Acaulospora delicata*

A. delicata se caracteriza por tener esporas de color subhialino a amarillo pálido con tinte verde, su forma es principalmente globosa y también pueden ser subglobosas, con un tamaño de 80 a 120 μm . La pared de la espora tiene dos capas, la capa externa es continua con la pared del cuello del sáculo esporífero principal, la capa interna se forma al mismo tiempo de la formación de la espora (INVAM, 2019).

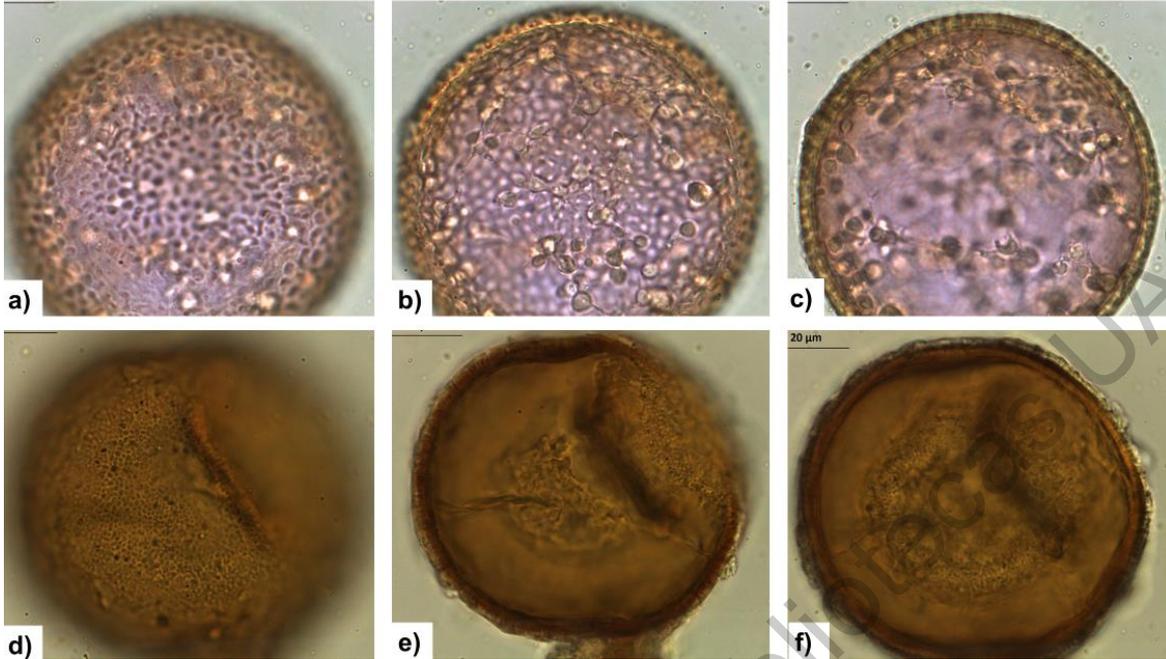


Figura 23. Esporas de *Acaulospora scrobiculata*. a) y d) Ornamentación característica; esporas de b) 107 μm y e) 91 μm de diámetro; c) y f) paredes de la espora con tres capas.

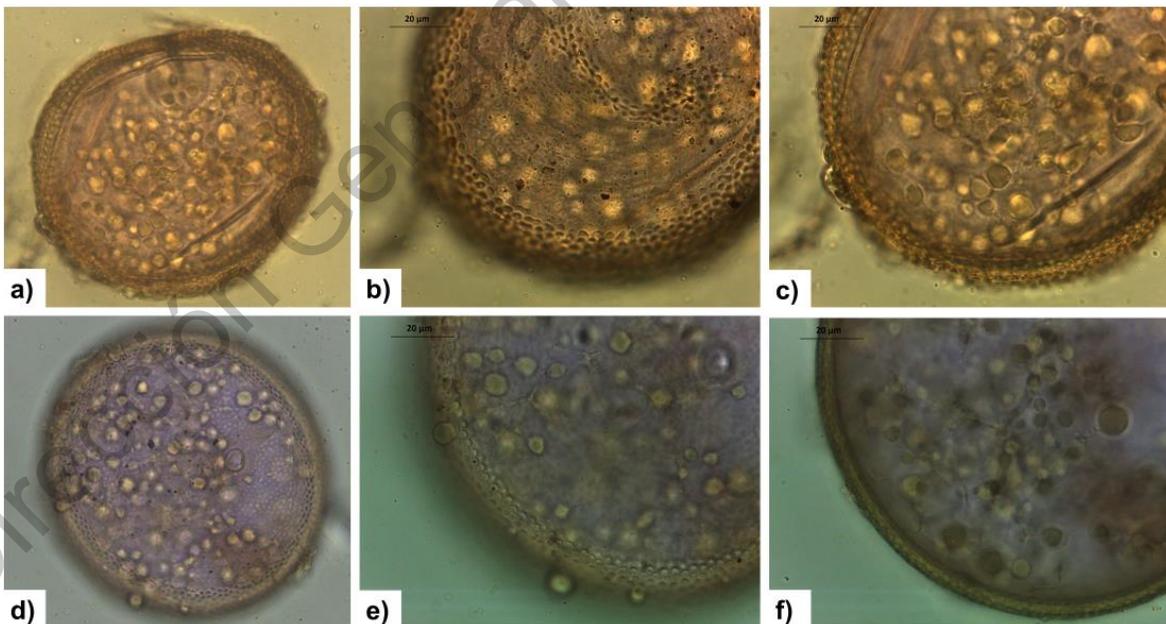


Figura 24. Espora de *Acaulospora cavernata*. En a) y d) se puede observar la ornamentación característica; en b) y e) depresiones características del grupo A con un diámetro de b) 2.57 μm * 2.31 μm e) 2.11 μm * 2.62 μm ; c) y f) paredes de la espora.

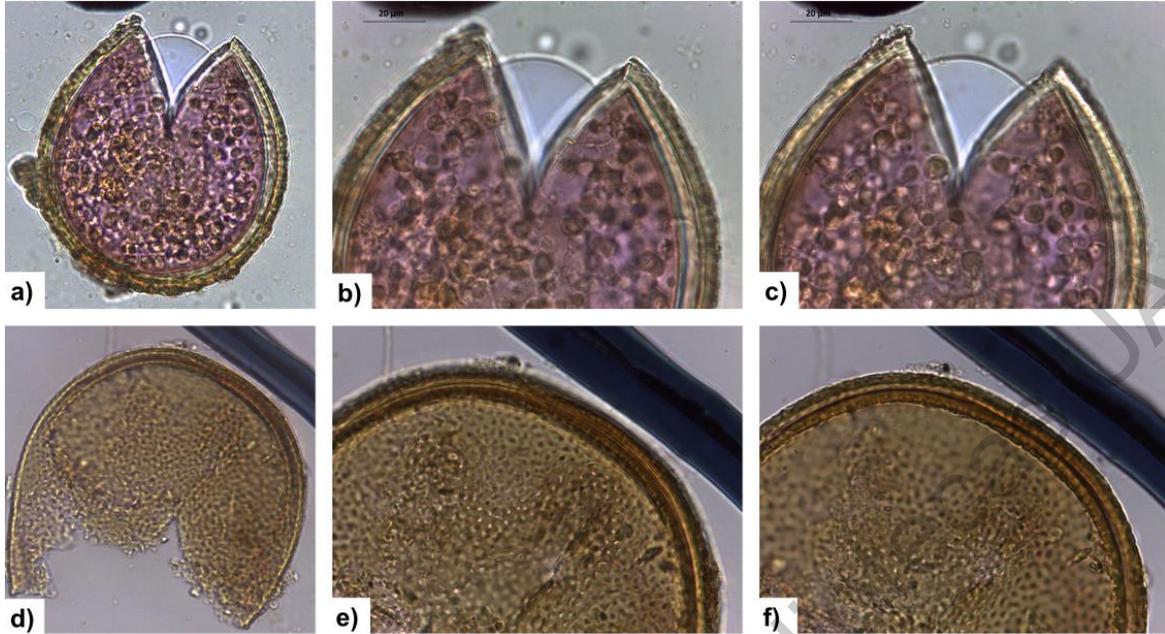


Figura 25. Esporas de *Acaulospora lacunosa*. Diámetro para cada espora a) 134 μm y b) 133 μm en b) y e) se observan las capas de las paredes; por último en c) y f) se muestran las paredes.

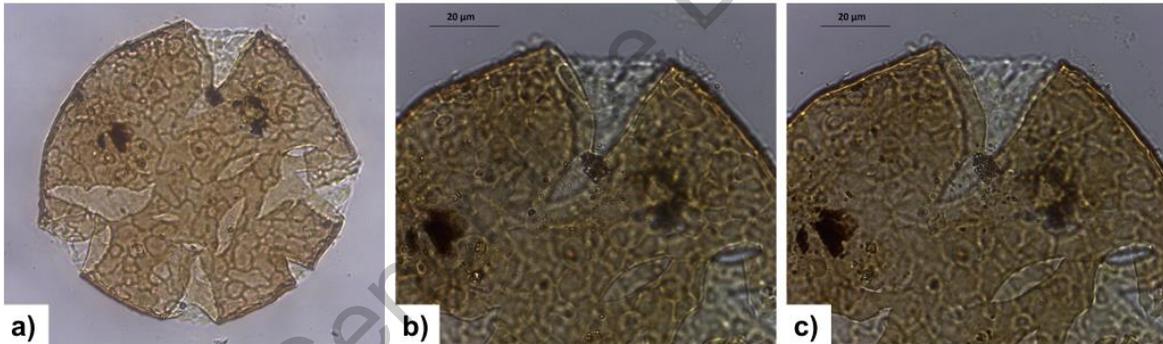


Figura 26. Espora de *Acaulospora excavata*. a) espora de 145 μm de diámetro, b) espora observada en 100X, en donde se aprecian las paredes y en c) se puede la ornamentación característica de esta especie.

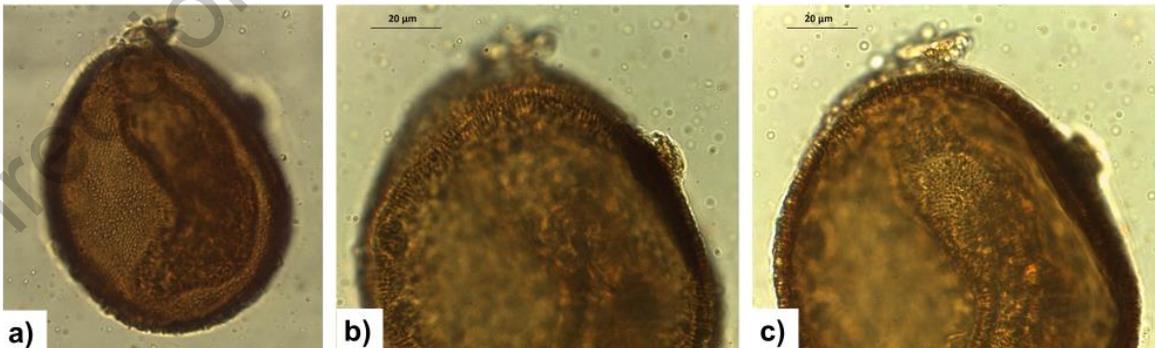


Figura 27. Espora de *Acaulospora aff. espinosa*. a) ornamentación característica, b) espinas de 3 μm , c) pared de la espora.



Figura 28. Espora de *Acaulospora delicata*. a) Espora con tres paredes .

7.5.1.3 *Rhizophagus u Oehlia*

El género *Rhizophagus u Oehlia* se caracteriza porque las esporas se encuentran individuales o en racimos dispersos, las esporas son hialinas, brillantes; de forma globosa a subglobosa, miden de 50 a 130 μm de diámetro; cuentan con una pared que se divide en tres capas: la primera es mucilaginosa y se tiñe con reactivo Melzer en ocasiones, la segunda y la tercera son laminadas. La tercera capa tiene una protuberancia en donde se une la hifa. La hifa de soporte es hialina, puede ser recta o curvada, cilíndrica a estallada y es continua con las tres capas de la espora. Difiere de otros géneros por tener esporas glomoides. Una característica importante de este género, es la formación de abundantes esporas dentro de las raíces de las plantas (Stürmer y Morton, 1997). *Rhizophagus u Oehlia* se ha encontrado en aguacate (Carreón y col., 2013). Se ha reportado que incrementa el índice de clorofila, la altura de la planta, peso del fruto (Castro y col., 2013), diámetro del tallo, peso seco de la planta (Carreón y col., 2014) y el área foliar (Aguirre y col., 2014).

7.5.1.4 *Funneliformis*

Las especies del género *Funneliformis* presentan esporas glomoides (esporas desarrolladas a través de una hifa de sostén). En muchas especies la superficie de las esporas puede ser lisa o diferencialmente ornamentada; algunas especies producen esporas envueltas en un manto hifal, el cual consiste de hifas entretejidas o de ramificaciones dicotómicas de las hifas; forman una pared que incluye al menos dos capas. Las capas de la hifa suspensora son continuas con las capas de la pared de la espora. Una de las características distinguibles de este

género es la forma de la hifa suspensora en forma de embudo (Schüßler y Walker, 2010). Este género se ha reportado en aguacate (*Persea americana* Mill) (Carreón y col., 2013), uva (*Vitis vinifera* L. ssp. *sylvestris*. Gmelin) (Ocete y col., 2015), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) (Wilches y col., 2019).

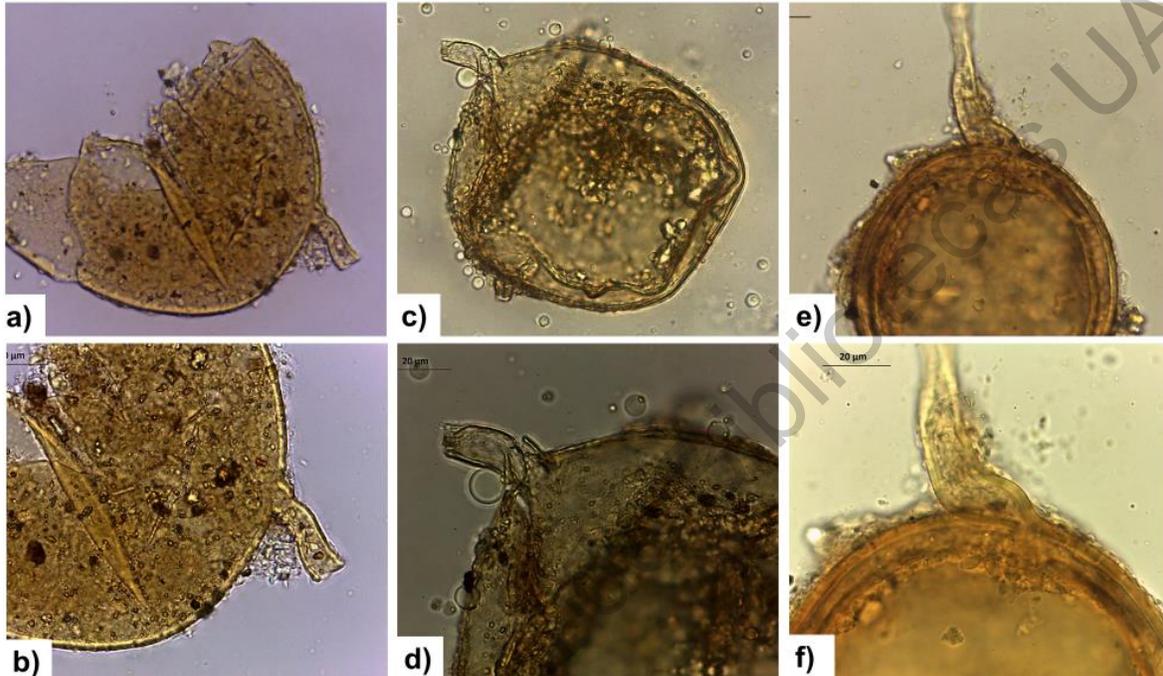


Figura 29: Esporas de *Rhizophagus* spp. *Rhizophagus* sp. 1 observada en a) 40X y b) 100X; *Rhizophagus* sp. 2 observada en c) 40X y d) 100X; *Rhizophagus* sp. 3 e) 40X y f) 100X.

7.5.1.5 *Rhizoglosum*

Rhizoglosum se caracteriza por tener esporas simples o en esporocarpos; tiene poros abiertos y una amplia apertura de canales; la hifa de soporte generalmente es cilíndrica o en embudo, la pared de la hifa es continua con la espora. La pared de la espora cuenta con 2 a 3 capas, algunas pueden tener hasta 5 capas; las capas externas se separan bajo presión y cuando se presenta colonización la raíz tiñe de azul oscuro con azul de tripano. Tiene abundantes arbuscúlos, vesículas y esporas en la raíz (Figura 20) (Sieverding y col. 2015).

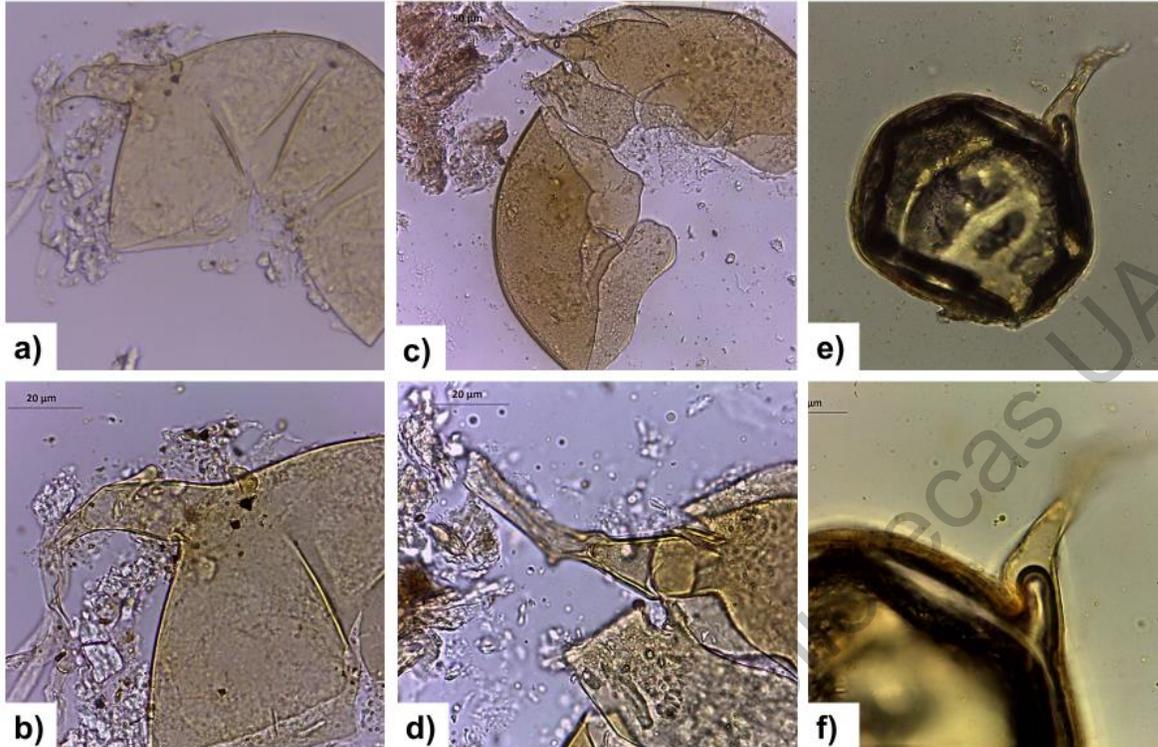


Figura 30: Esporas de *Funnelformis* spp. *Funnelformis* sp. 1 observada en a) 40X y b) 100X; *Funnelformis* sp. 2 en c) 40X y d) 100X; *Funnelformis* sp. 3 en e) 40X y f) 100X.

7.5.1.6 *Pacispora*

Las esporas del género *Pacispora* constan de una capa que es continua con la capa de la pared de la hifa suspensora, la superficie de esta capa puede ser lisa u ornamentada. Este género desarrolla una pared de germinación interna constituida por tres capas: la capa uno es delgada, flexible y hialina; la capa dos es hialina, relativamente gruesa, coriácea, y se tiñe de rojo púrpura en Melzer; la capa tres es delgada, hialina, flexible y fuertemente adherida a la capa dos. Las especies de este género tienen células auxiliares similares a *Scutellospora* (Walker, 1992). Este género se ha encontrado en aguacate (*Persea americana* Mill) (Carreón y col., 2013).

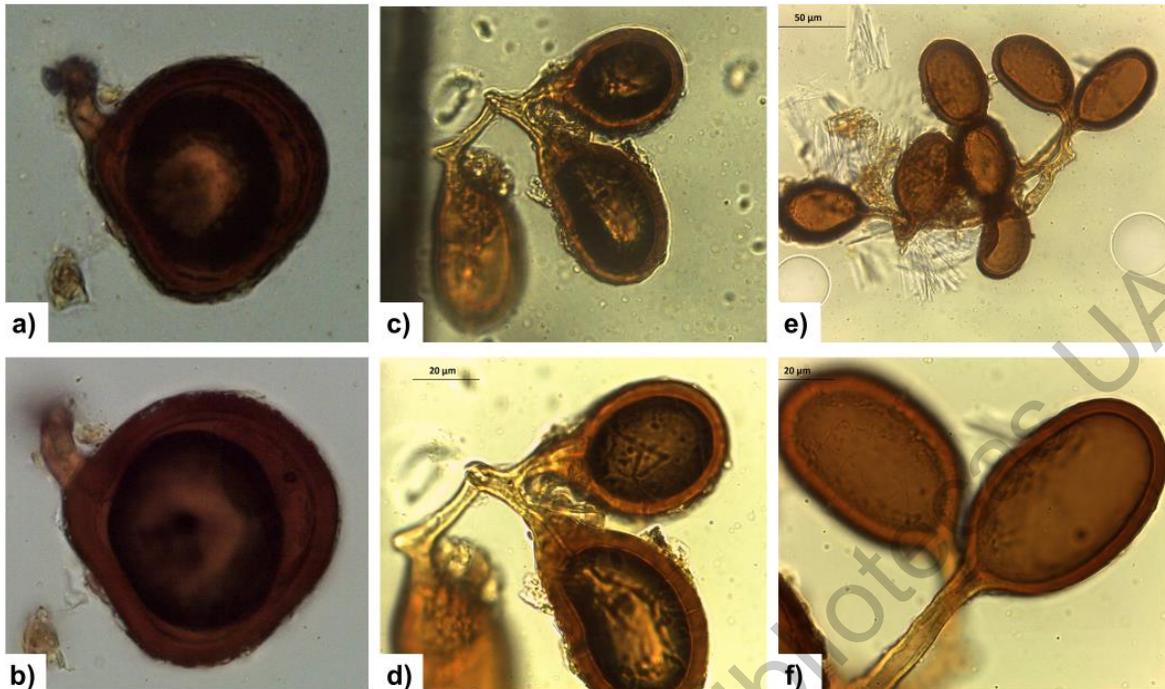


Figura 31: Esporas de *Rhizoglosum* spp. *Rhizoglosum* sp. 1 observada en a) 40X, b) 100X; *Rhizoglosum* sp. 2 c) 40X, d) 100X; *Rhizoglosum* sp. 3 e) 40X, f) 100X.

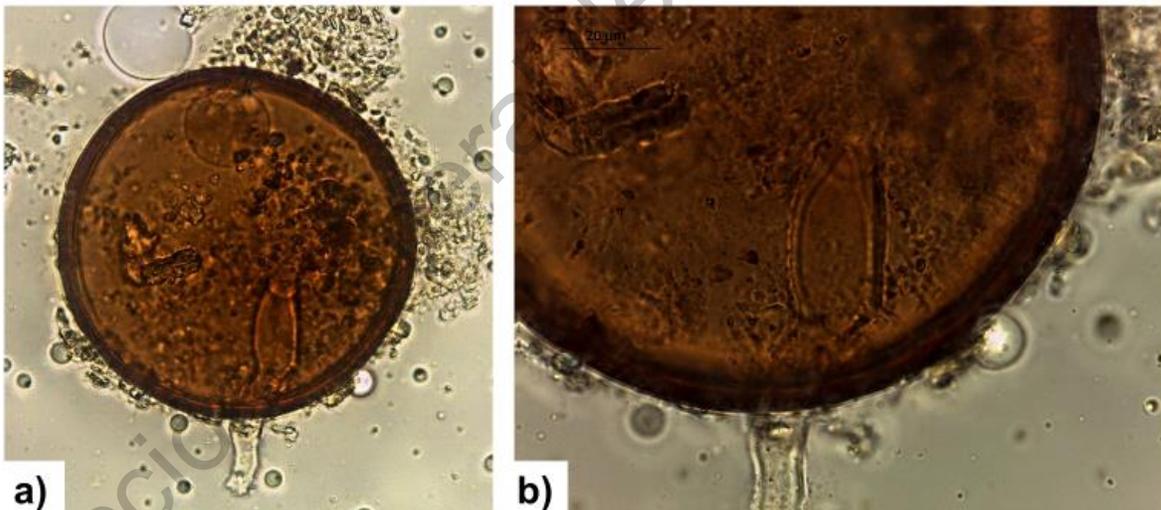


Figura 32: Espora de *Pacispora* sp. *Pacispora* sp. 1 observada en a) 40X y b) 100X.

7.5.1.7 *Septoglosum*

Las esporas del género *Septoglosum* generalmente son esporas pigmentadas, que se forman individualmente en el suelo o en grupos, con una pared que se conforma por una a varias capas. La hifa de soporte es cilíndrica a estrecha o ligeramente en forma de embudo. Se caracteriza por tener el septo inmediatamente que finaliza la

espora (Oehl y col., 2011). Este género se ha encontrado en uva (*Vitis vinifera* L. ssp.sylvestris. Gmelin) (Ocete y col., 2015)

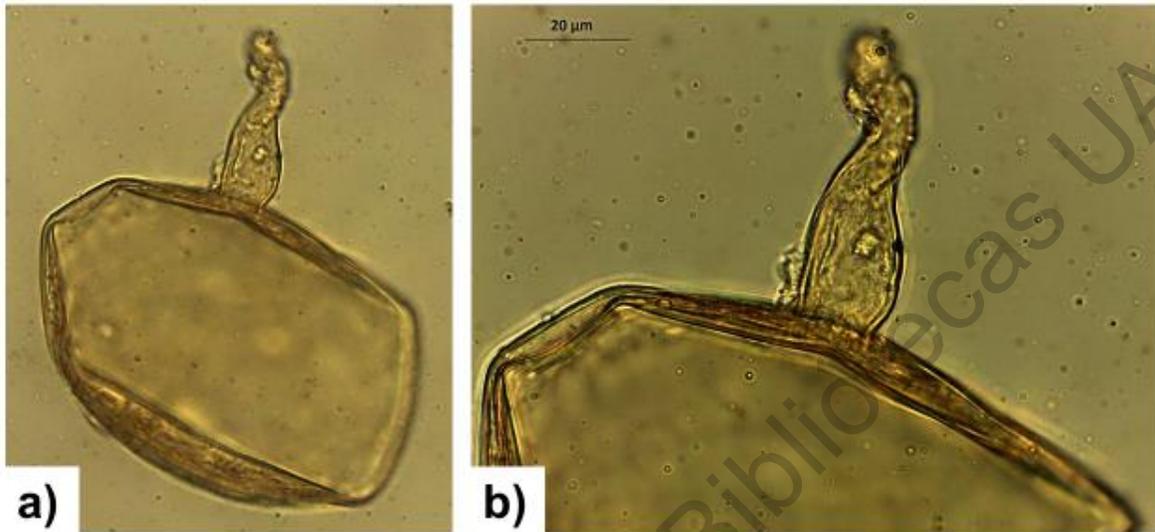


Figura 33: Espora de *Septoglomus* sp. *Septoglomus* sp. 1 observada en a) 40X y b) 100X.

7.5.1.8 *Claroideoglomus*

Las especies del género *Claroideoglomus* presentan esporas glomoides (esporas desarrolladas a través de una hifa de sostén). La estructura subcelular de la espora está formada por una pared que incluye al menos dos capas. La capa externa frecuentemente se desintegra con la edad; en algunas especies, esta capa se tiñe de rojo en Melzer. Una de las características distinguibles de este género es la capa interna semiflexible que aparenta formar una endospora en la madurez. Las capas de la pared de la hifa suspensora son continuas con las capas de la pared de la espora (Stürmer y Morton 1997). Este género se ha encontrado en uva (*Vitis vinifera* L. ssp.sylvestris. Gmelin) (Ocete y col., 2015)

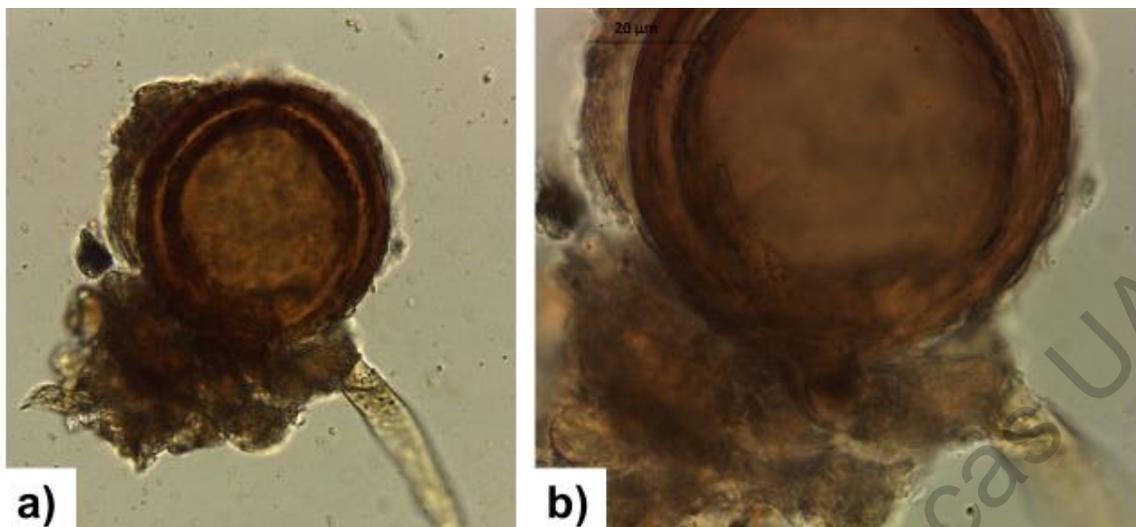


Figura 34: Espora de *Claroideoglomus* sp. *Claroideoglomus* sp. 1 observada en a) 40X y b) 100X.

7.6 Evaluación de consorcios micorrícicos sobre el crecimiento de plantas de aguacate en vivero

En el ensayo que se realizó en el vivero para la evaluación de los consorcios micorrícicos, las condiciones no fueron controladas, debido a que en la parte posterior del vivero, el agua tratada usada para regar el jardín, alcanzaba a llegar a las plantas. Se presentaron diferentes plagas, la primera que se presentó fue hormiga (*Lasius* sp.), seguida de mosquita blanca (*Sigiella simplex*) y cochinilla harinosa (*Pseudococcidae* sp). La hormiga y la mosca blanca se lograron controlar con 2 aplicaciones semanales de un extracto de ajo, chile y cebolla; para la cochinilla harinosa se lavaron las hojas y el tallo con agua y jabón marca roma utilizando un cepillo de dientes.

7.6.1 Respuesta de variables evaluadas

Las variables que se evaluaron: altura del tallo, grosor del tallo, número de hojas, longitud de hojas y ancho de hojas, no presentaron diferencias entre tratamientos en ninguno de los seis meses evaluados (Anexo 1). Esto se puede deber a la diversidad de géneros y número de esporas por gramo que se encuentran en cada consorcio (Cuadro 7), lo que pudo diferir en el comportamiento de su colonización, tanto en el tiempo de establecimiento de la simbiosis, así como las

condiciones particulares del suelo que permiten la simbiosis (Del Águila y col., 2018) y a que no siempre los HMA son infectivos y/o efectivos. (Aguín y col., 2004), lo que quiere decir que a pesar de que los porcentajes de colonización fueron altos (infectivos) para todos los tratamientos (64 a 81%) (Cuadro 13), no son buenos índices para predecir la respuesta (efectividad) a la inoculación con HMA (Cuenca y col., 2007).

Para la altura del tallo, no se encontraron diferencias en los tratamientos respecto al control. A los cinco meses se reportó un valor de 59 cm para el control, siendo el valor más bajo, y 70 cm que fue el valor más alto para el tratamiento comercial. Carreón y col., (2014), evaluaron 12 inóculos diferentes en plantas de aguacate “Criollo” injertadas con var. “Hass” en etapa vivero, y encontraron que a los cinco meses de la inoculación, se tuvieron valores menores en la altura del tallo respecto al control (61 cm) en algunos tratamientos: *Gigaspora gigantea* (T1) (52 cm), *Rhizophagus irregularis* (T2) (54 cm), *Sclerocystis aff. Rubiformis* (T3) (50 cm) y su consorcio nativo (T4) (48 cm).

Para la variable grosor del tallo, se observa que en dos de los tratamientos (Montecillo y Control) se estanca el desarrollo en el mes de septiembre y pasa lo mismo en los tratamientos restantes (Nativo, CIIDIR y Comercial) en el mes de octubre (Figura 27). Para esta variable no se tuvieron diferencias en los tratamientos respecto al control. El valor más bajo reportado en el quinto mes (septiembre) fue de 7.9 mm para el tratamiento control, y el valor más alto se obtuvo para el tratamiento comercial con 9.9 mm de diámetro. Carreón y col., (2014) reportaron que obtuvieron diferencias en el diámetro del tallo, en los tratamientos respecto al control, siendo el tratamiento con mayor desempeño la especie *Scutellospora pellucida* con 13.3 mm, y 12.5 mm de diámetro para el control.

Se puede observar en la Figura 28 que el número de hojas en el mes de julio se detuvo e incluso en algunos tratamientos disminuyó, esto fue debido a que las hojas presentaban coloración café en el margen, se iban enroscando y finalmente caían. Para esta variable no se encontraron diferencias en los tratamientos respecto al control. Fundora y col., (2011), quienes evaluaron el uso de dos especies de HMA en semillas de aguacate var. “Criolla”, no encontraron diferencias entre tratamientos

para esta variable a los seis meses de edad de la planta, al inocular *Glomus hoi-like* (T1) (16 hojas) y *Glomus mosseae* (T2) (16 hojas), ni respecto al control (13 hojas)". Carreón y col., (2014) reportaron que no hubo diferencia entre los 12 tratamientos evaluados, sin embargo, en algunos tratamientos como: *Gigaspora Gigantea* (T1) (23 hojas), consorcio nativo (T2) (17 hojas), *Rhizophagus irregularis* (T3) (22 hojas), *Sclerocystis affrubiformis* (18 hojas) y *Scutellospora pellucida* (T4) (22 hojas) el número de hojas fue menor que en el control (34 hojas). Se podría decir que los HMA no presentan respuestas positivas ante esta variable.

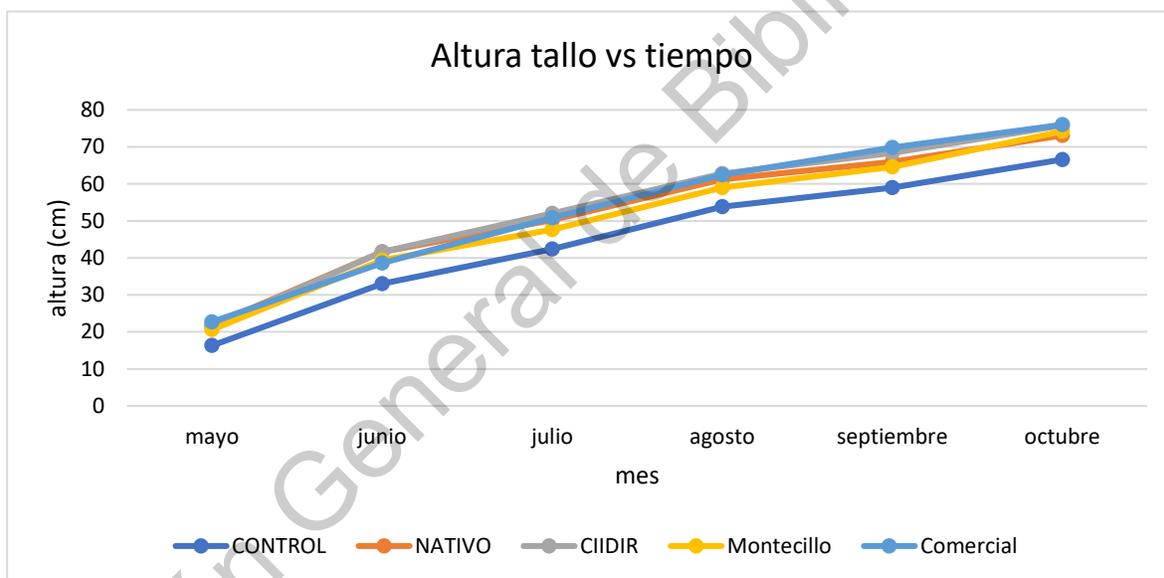


Figura 35. Altura del tallo.

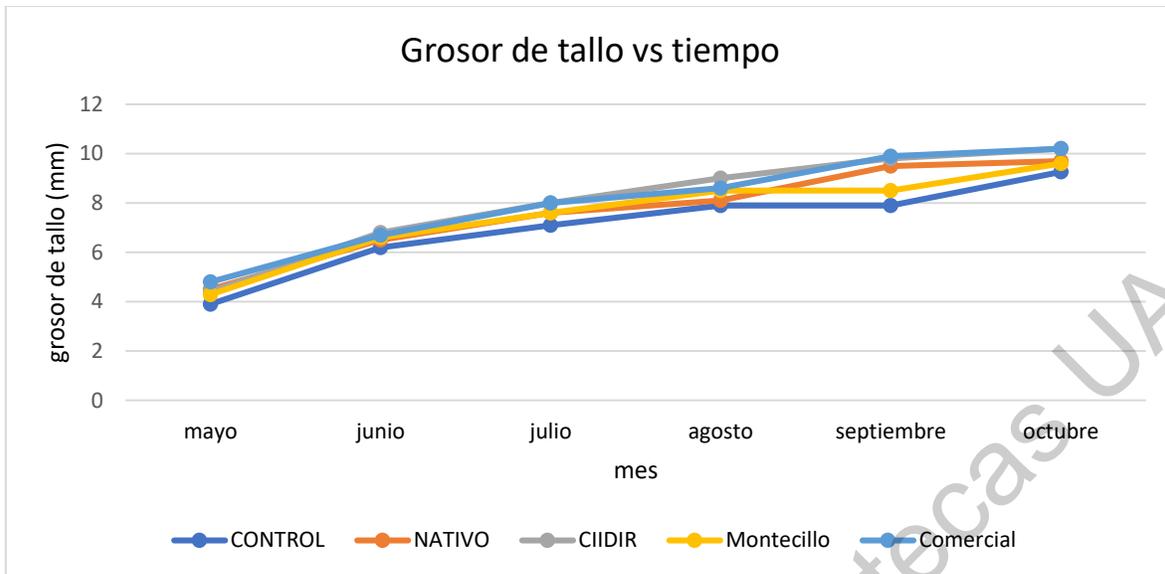


Figura 36. Grosor del tallo.

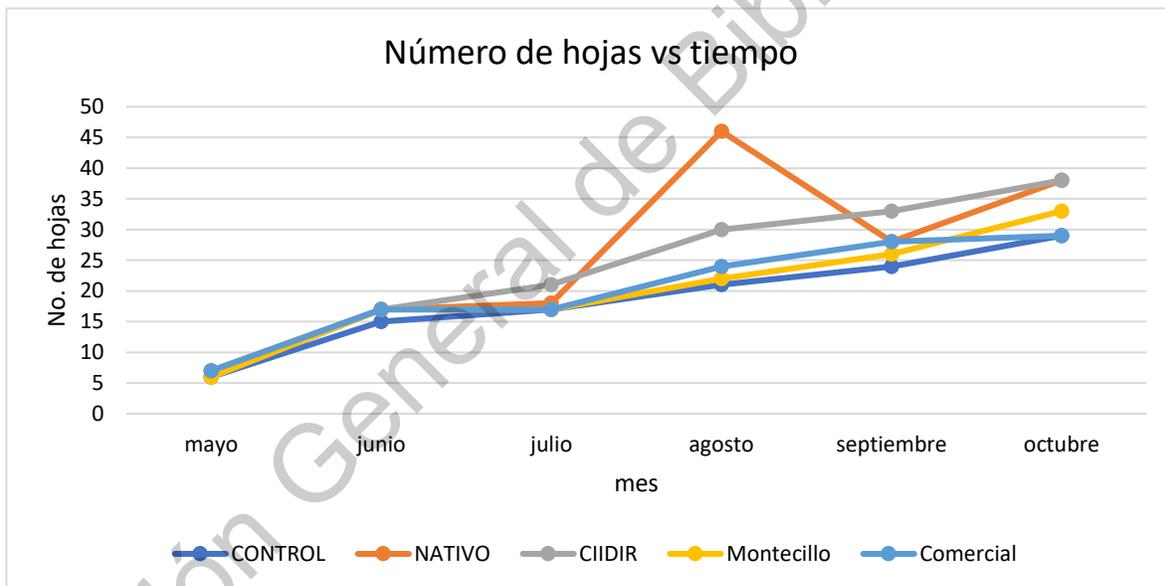


Figura 37. Número de hojas.

En la Figura 29, se puede observar una disminución en la longitud de hojas en los meses de agosto y octubre, esta disminución se debió a que las hojas presentaron coloración café en el margen, se iban enroscando y por lo tanto disminuía su longitud hasta que se caían. A los seis meses de la inoculación se reportó el valor más alto (12.8 cm) para el tratamiento Montecillo y el más bajo (15.2 cm) para el tratamiento comercial, en los cuales no se obtuvieron diferencias en los

tratamientos respecto al control. Fundora y col., en 2011 quienes inocularon *Glomus hoi-like* (T1) y *Glomus mosseae* (T2) en semillas de aguacate var. “Criolla”, encontraron diferencias respecto al control a los seis meses de edad de la plántula, teniendo el valor más alto (19.02 cm) para la especie *G. hoy-like* y 10.84 cm para *G. mosseae*.

El ancho de las hojas comenzó a disminuir en el mes de julio como se muestra en la Figura 30, esto debido a lo mencionado anteriormente, que las hojas comenzaron a presentar coloración café en los márgenes y a enroscarse, por lo tanto el ancho de la hoja disminuyó. Se obtuvieron los mayores valores en el quinto mes, siendo 6.3 cm el menor valor para el tratamiento Montecillo y 7 cm para el tratamiento nativo y el control. Fundora y col., (2011) no obtuvieron diferencias entre los tratamientos con *Glomus mosseae* (6.37 cm) y *Glomus hoi-like* (7.65 cm) respecto al control (6.75 cm).

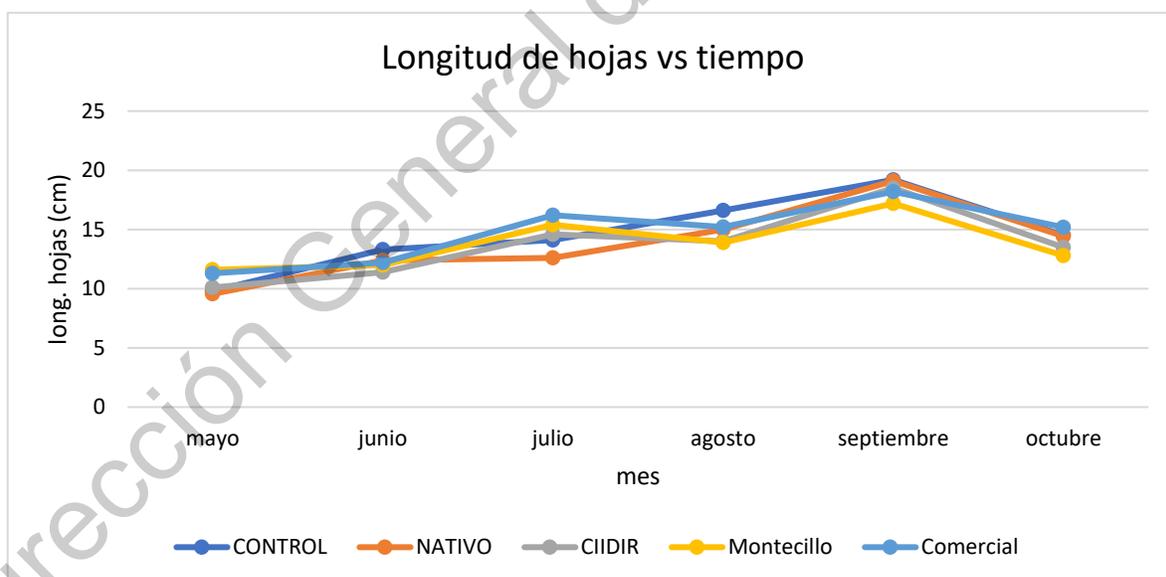


Figura 38. Longitud de las hojas.

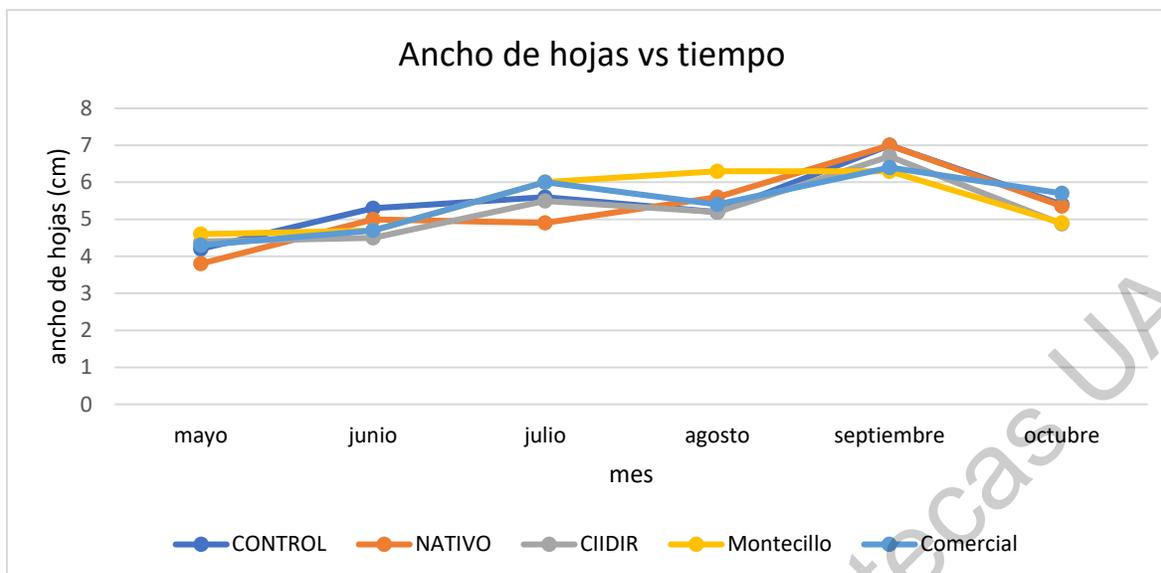


Figura 39. Ancho de las hojas.

No se tuvieron diferencias en los tratamientos respecto al control, para las variables de peso fresco, peso seco y longitud de la raíz, evaluadas al onceavo mes (Cuadro 12).

Para la variable de peso fresco se obtuvo el menor valor para el tratamiento nativo con 46.9 g, y el mayor valor para el tratamiento comercial con 68.1 g, los cuales no presentaron diferencias en los tratamientos respecto al control (51.6 g). Roveda y col., (2007) quienes inocularon 200 esporas de un consorcio de *Acaulospora* y *Glomus* por planta de mora, aisladas del mismo cultivo, reportaron que no encontraron diferencias en los tratamientos respecto al testigo, para la variable de peso fresco radical.

Para la variable de peso seco no se obtuvieron diferencias en los tratamientos respecto al control, siendo el tratamiento nativo el de menor valor con 17.6 g y el mayor valor para el tratamiento comercial con 22.3 g. Carreón y col., (2014) reportan diferencia entre los tratamientos evaluados, siendo los mejores: *Rhizophagus irregularis* y *Scutellospora pellucida*, los cuales tuvieron valores 2 veces mayores que los demás tratamientos. Roveda y col., (2007) reportaron diferencias en plantas de mora entre los tratamientos y el testigo en el peso seco foliar, a los 120 días después de la inoculación con un consorcio de *Acaulospora* sp. y *Glomus* sp.

Cuenca y col., (2007) encontraron que *Glomus maihotis* y *Scutellospora fulgida* fueron los mejores inóculos asociados a plantas de lechuga para el peso seco.

En los valores obtenidos para la variable longitud de la raíz, como se observa en el Cuadro 12, el menor valor se obtuvo para el tratamiento Montecillo y el mayor para el control, sin diferencias. Sheng y col., (2009) inocularon *Glomus mosseae* en maíz y reportaron incrementos en la longitud de la raíz respecto al testigo.

Cuadro 12. Variables evaluadas en cada tratamiento en marzo 2019.

Variable/ Tratamiento	Control	Nativo	CIIDIR	Montecillo	Comercial
Peso fresco(g)	51.6±10.2	46.9±10.2	56.90±23.4	55.90±10.2	68.1±13.9
Peso seco (g)	18.3± 4.4	17.6±1.9	22.1±7.5	18.5±4.2	22.3±5.8
Long. Raíz (cm)	26.40±5.8	22.8±3.6	22.9±7.6	22.3±5.2	25.2± 5.1

Media ± desviación estándar de las variables evaluadas para cada tratamiento. *Diferencias significativas, NS: no hay diferencias significativas. $\alpha=0.05$. Letras iguales en filas no hay diferencias significativas entre tratamientos.

Los porcentajes de colonización por hifas encontrados en los tratamientos van de 64 % que fue el Nativo hasta 81 % que fue el comercial. Montañez y col., en el (2010), aislaron géneros de HMA pertenecientes a *Glomus sp* y *Acaulospora sp* de huertas de aguacate de 15 años de establecimiento, y los inocularon en plantas de aguacate de diferentes variedades en etapa vivero, siendo el porcentaje de colonización más alto para la variedad “Común” con 58 %, seguido por la variedad “Lorena” con 54 % y por último la variedad “Santana” con 51 %. Fundora y col., (2011), reportaron que a los 200 días de edad de la planta se obtuvo 50 % de colonización para la especie inoculada *Glomus hoyi*, y para la *Glomus mosseae* 43 %. Viera y col., (2017), inocularon consorcios nativos procedentes de huertas de aguacate orgánicas en semilleros de dicha planta, y encontraron que a los 120 días los porcentajes de colonización eran muy bajos, desde 5 a 14 % similares a los porcentajes que encontraron naturalmente en el campo, sin embargo, no realizaron la identidad de los géneros del consorcio nativo. Con esta información se podría

decir que, la colonización depende de las especies de HMA y su relación con el hospedero incluyendo la variedad, como la presencia de microorganismos nativos en el suelo que interactúan con los HMA ya que la solarización solamente disminuye la carga microbiana.

Cuadro 13. Porcentajes de colonización por hifas, arbuscúlos y vesículas evaluados en cada tratamiento en marzo 2019.

Variable/ Tratamiento	Control	Nativo	CIIDIR	Montecillo	Comercial	ANOVA
% hifas	74.2±17.2	64.6±23.1	66.20±8.0	71.2±20.1	81.4±17.4	NS
% arbuscúlos	1.0±1.4	2.4±2.5	7.6±10.5	7.6 ±9.0	9.4±8.9	NS
% vesículas	53.6±18.8	63.0±25.0	50.4±23.9	43.6±18.3	43.0±7.9	NS

Media ± desviación estándar de las variables evaluadas para cada tratamiento. *Diferencias significativas, NS: no hay diferencias significativas. $\alpha=0.05$. Letras iguales en filas no hay diferencias significativas entre tratamientos

8. CONCLUSIONES

La diferencia de edad de las plantas y la fertilidad del suelo entre “El Retiro” y “Las Coloradas” no afectaron el potencial micorrícico, ya que el porcentaje de colonización y la densidad de micelio extrarradical son iguales para ambos ranchos.

Los sitios de estudio albergan una amplia diversidad de géneros de HMA, en donde se obtuvieron 8 géneros pertenecientes a cuatro familias; cinco estuvieron presentes en ambos ranchos: *Glomus sp.*, *Acaulospora sp.*, *Rhizophagus sp.*, *Funneliformis sp.*, *Rhizoglomus sp.*, únicamente para “El Retiro” se encontró *Pacispora sp.* y *Septoglomus sp.*; y en “Las Coloradas” *Claroideoglomus sp.*

No se observó respuesta en el desarrollo de plántulas de aguacate “Hass” en etapa vivero, ante la inoculación con diferentes consorcios de HMA respecto a un control. El consorcio nativo de HMA no ayudó a mejorar el desarrollo vegetativo en plántulas de aguacate “Hass” en etapa vivero.

Se necesita dejar de adicionar productos químico sintéticos en exceso ya que los HMA nativos se están perdiendo y son simbiontes obligados para más del 90% de las plantas.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta**, M. C. H., Escobar, T. L., Valdés, R. S., Fernández, P. S., Arias, S. L. J., Espíndola, B. M., & Gómez, L. M. Á. (2012). Identification of avocado (*Persea americana*) root proteins induced by infection with the oomycete *Phytophthora cinnamomi* using a proteomic approach. *Physiologia Plantarum*, 144(1), 59-72.
- Aguilar**, U. W., Arce, A. P., Galiano, M. F., & Torres, C. T. J. (2016). Aislamiento de esporas y evaluación de métodos de inoculación en la producción de micorrizas en cultivos trampa. *Revista Tecnología en Marcha*, 5-14.
- Aguilera**, G. L. I., Olalde, P. V., Arriaga, M. R., & Contreras, A. R. (2007). Micorrizas arbusculares. *Ciencia Ergo Sum*, 14(3), 300-306.
- Aguín**, O., Mansilla, J. P., Vilariño, A., & Sainz, M. J. (2004). Effects of Mycorrhizal Inoculation on Root Morphology and Nursery Production of Three Grapevine Rootstocks. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(1), 108-111.
- Aguirre**, M. J. F., Mina, B. F. O., Cadena, I. J., Dardón, Z. J. D., & Hernández, S. D. A. (2014). Crecimiento de *Cedrela odorata* L. biofertilizada con *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense* en vivero. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 20(3), 177-183.
- Alarcón**, A., & Cerrato, R. F. (1999). Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra Latinoamericana*, 17(3), 179-191.
- Alarcón**, R. J. J., Arévalo, P. E., Díaz, J. A. L., Galindo, A. J. R., & González, M., Manejo fitosanitario del cultivo del aguacate Hass (*Persea americana* Mill). Medidas para la temporada invernal. (2012). Bogotá D.C. Colombia 2012. Código: 00.09.35.12. C.
- Almacá**, A., & Ortas, I. (2010). Growth response of maize plants (*Zea mays* L.) to wheat and lentil pre-cropping and to indigenous mycorrhizae in field soil. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(S1), S131-S136.
- Alonso**, C. R., Aguilera, G. L. I., Rubí, A. M., González, H. A., Olalde, P. V., & Rivas, M. I. V. (2013). Influencia de hongos micorrícicos arbusculares en el crecimiento y desarrollo de *Capsicum annuum* L. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(1), 77-88.

- Alvarado, C. M., Díaz, F. A., & Peña, D. R. M. A. (2014).** Tomato productivity by arbuscular mycorrhizal in protected agriculture. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(3), 513-518.
- Andrade, T. A. (2010).** Micorrizas: antigua interacción entre plantas y hongos. *Revista Ciencias*, 84-90.
- Aranguren, A. R. A., Ocampo, G. M. L., & Mesa L. N. (2015).** Caracterización y obtención de cultivos puros de esporas nativas del género *Glomus* sp. asociadas a rizósfera de aguacate *Persea americana* MILL. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 1(27), 50-60.
- Bañuelos, J., Sangabriel, C. W., Gavito, M. E., Trejo, A. D., Camara, S., Medel O. R., & Carreon, A. Y. (2017).** Efecto de diferentes niveles de fósforo en aguacate inoculado con hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(7), 1509-1520.
- Bárceñas, A., Almaraz, C., Reyes, L., Varela, L., Lara, B., Guillén, A., Carreón, Y., Aguirre S. & Chávez, A. (2007).** Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi on avocado orchards from Michoacan. In *Proceedings VI World Avocado Congress. Viña del Mar, Chile*. ISBN:978-956-17-0413-8.
- Barrientos, P. A. F., & López, L. L. (1998).** Historia y genética del aguacate. Memoria Fundación Salvador Sánchez Colín. CICTAMEX. 33-51.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M., & Bakker, P. A. (2012).** The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478-486.
- Bernal, E. J. A., Díaz, D. C. A., Tamayo, V. A., Córdoba, G. O., Londoño, Z. M. A, Tamayo, M. P. J., & Londoño, B. (2008).** Tecnología para el cultivo del aguacate. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. Manual técnico 5. 211 p.
- Bernal, E. J., Díaz, D. C., Osorio, T. C., Tamayo, V. A., Osorio, V. W., Córdoba, G. O., Londoño, Z. M., Kondo, R. D., Carabalí, M. A., Varón, D. E., Caicedo, V. A., Tamayo M. P., Sandoval, A. A., Forero, L. F., García, L. J., Londoño, B. M. (2014).** Actualización tecnológica y buenas prácticas agrícolas (BPA) en el cultivo de aguacate. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. Manual técnico. 410 p.

- Błaszowski, J. (1989).** *Acaulospora cavernata* (Endogonales)—a New Species from Poland with Pitted Spores. *Cryptogamic Botany*, 1, 204-207.
- Błaszowski, J. (1995).** *Acaulospora koskei*, a new species in Glomales from Poland. *Mycological Research*, 99(2), 237-240.
- Błaszowski, J. (2012).** Glomeromycota. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences. 304 p. ISBN: 978-83-89648-82-2.
- Błaszowski, J., Chwat, G., & Górska, A. (2015).** *Acaulospora ignota* and *Claroideoglossum hanlinii*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) from Brazil and Cuba. *Mycological Progress*, 14(4), 18.
- Bolaños, B. M. M., Rivillas, O. C. A., & Suárez, V. S. (2000).** Identificación de micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera colombiana. *Cenicafé*, 51(4): 245-262.
- Bravo, P. D., Santillán, G. M. T., Johansen, N. R. M., González, H. H., Segura, L. O. L., Ochoa M. D. L., & Guzman, V. S. (2018).** Species diversity of thrips (Thysanoptera) in selected avocado orchards from Mexico based on morphology and molecular data. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(11), 2509-2517.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996).** Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture (No. 435-2016-33680). Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research. 171-193.
- Byrne, F. J.; Toscano, N. C Urena, A. A., & Morse, J. G. (2007).** Toxicity of systemic neonicotinoid insecticides to avocado thrips in nursery avocado trees. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 63(9), 860-866.
- Cameron, D. D. (2010).** Arbuscular mycorrhizal fungi as (agro) ecosystem engineers. *Plant Soil*, 333(1-2), 1-5.
- Campos, M. A., Velázquez, V. M. G., Flores, M. H. E., Suárez, R. R., Ramírez, T. J. A., & Hernández, L. A. N. (2016).** Antagonistic yeasts with potential to control *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. and *Colletotrichum acutatum* JH Simmonds on avocado fruits. *Crop Protection*, 89, 101-104.
- Cano, M. A. (2011).** A review of interaction of beneficial microorganisms in plants: Mycorrhizae, *Trichoderma* spp. and *Pseudomonas* spp. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15-31.

- Carballar, H. S., Palma, C. F. J., Hernández C. L., & Robles, C. (2013).** Arbuscular mycorrhizal potential and mycorrhizal fungi diversity associated with *Agave potatorum* Zucc. in Oaxaca, Mexico. *Ecological research*, 28(2), 217-226.
- Carreón, A. Y., Aguirre, P. S., Gavito, M. E., Mendoza, S. D. J., Juárez, C. R., Martínez, T. M., & Trejo, A. D. (2014).** Inoculación micorrízico arbuscular en portainjertos de plantas de aguacate cv. 'Hass' en viveros de Michoacán, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(5), 847-857.
- Carreón, A. Y., Gómez, D. N., Beltrán, N. M. A., Alvarado H. M., & Varela F. L. (2016).** Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares provenientes de la rizósfera de aguacate (*Persea americana* Mill) y selección de plantas trampa para su propagación. *Revista Biológicas*, 18(2), 1-9.
- Carreón, A. Y., Jerónimo, T. E., Beltrán, N. M. Á., Martínez, T. M., Trejo, A. D., & Gavito, M. E. (2013).** Aislamiento y propagación de cultivos puros de hongos micorrízicos arbusculares provenientes de huertas de aguacate con diferente manejo agrícola por la técnica de minirizotróf. *Revista Mexicana de Micología*, 37, 29-39.
- Castañeda, V. Á., Franco M. O., Alemán, J. C. R., Ruiz M. C., Váldez, C. J., & Equihua M. A. (2015).** New Distribution Records of the Small Avocado Seed Weevil, *Conotrachelus perseae* Barber (Coleoptera: Curculionidae), in Mexico and Notes on its Biology. *The Coleopterists Bulletin*, 69(2), 267-272.
- Castañón, S. P. A., Venegas, U. M. A., Lobos, V. M. G., & Gaete, O. H. J. (2013).** Influencia de micorrizas arbusculares *Glomus* spp. En el crecimiento y acumulación de cobre en girasol *Helianthus annuus* L. *Agrociencia*, 47(4), 309-317.
- Castillo, V. A., Sánchez, G. P., Pérez, M. J., Rodríguez, M. M. N., Trejo, T. L. I., Sandoval, V. M., & Alcántar, G. G. (2010).** Root Endophytic Fungi and Boron Nutrition: Effect on Avocado (*Persea americana* MILL.) 'Hass' Plants Growing on an Andisol. In *VI International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Crops* 868, 395-400.
- Castro, A. E., Bárcenas, C. A. E., García, S.P.A., Reyes, R. L., & Bárcenas, O. A. E. (2013).** Effect of mycorrhizal inoculants in the development of mexican landrace avocado rootstocks. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 16(3), 407-413.

- CESAVEG, 2008.** “Campaña de manejo fitosanitario del aguacatero. http://www.cesaveg.org.mx/html/folleto/folleto_08/folleto_aguacate_08.pdf
Consultado abril 2018.
- Chanderbali, A. S., Soltis, D. E., Soltis, P. S., & Wolstenholme, B. N. (2013).** Taxonomy and botany. *The Avocado: Botany, Production and Uses 2*, 31-50.
- Covacevich, F., Echeverría, H. E., & Andreoli, Y. E. (1995).** Micorrización vesículo arbuscular espontánea en trigo en función de la disponibilidad de fósforo. *Ciencia del Suelo*, 13, 47-51.
- Cuenca, G., Cáceres, A., Oirdobro, G., Hasmy, Z., & Urdaneta, C. (2007).** Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia*, 32(1), 23-29.
- De la Loma, J.L. (1980).** Experimentación agrícola. Texcoco, México. Ed. Hispano americana.
- Declerck, S., Séguin, S., & Dalpé, Y. (2005).** The Monoxenic Culture of Arbuscular Mycorrhizal Fungi as a Tool for Germplasm Collections. *Soil Biology*. 4, 17-30.
- Del Águila, K. M., Vallejos, T. G; Arévalo, L. A; & Becerra, A. G. (2018).** Inoculación de Consorcios Micorrízicos Arbusculares en *Coffea arabica*, Variedad Caturra en la Región San Martín. *Información Tecnológica*, 29(1), 137-146.
- Dreher, M. L., & Davenport, A. J. (2013).** Hass Avocado Composition and Potential Health Effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(7), 738-750.
- FAOSTAT, 2017** <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/TP> consultado agosto 2019.
- Feng, G., Zhang, X. S., Zhang, Z. K., Ye, H. C., Liu, Y. Q., Yang, G. Z., Cheng, C., Chen M., Yan, C., Wang L. Y; & Zhang, J. X. (2019).** Fungicidal activities of camptothecin semisynthetic derivatives against *Colletotrichum gloeosporioides in vitro* and in mango fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 147, 139-147.
- Ferrol, N., Azcón, A. C., & Pérez, T. J. (2019).** Review: Arbuscular mycorrhizas as key players in sustainable plant phosphorus acquisition: An overview on the mechanisms involved. *Plant Science* 280, 441-447.
- Fundora, S. L. R., Rivera, E. R., Cárdenas, M. J. V., Calderon, P. A., & Torres, H. A. (2011).** Utilización de cepas eficientes de hongos micorrízicos arbusculares en el desarrollo

de portainjertos de aguacate en un sustrato suelo-cachaza. *Cultivos Tropicales*, 32(2), 23-29.

Furrazola, E., Tomio, G. B., Alves, S. G., Torres, A. Y., Morais, T., Pereira L. C., Ferreira A. C. A., Costa, M. L, Sieverding, E., & Oehl, F. (2013). *Acaulospora herrerae*, a new pitted species in the *Glomeromyces* from Cuba and Brazil. *Nova Hedwigia*, 97(3-4), 401-413.

Galindo, T. M. E., Arzate, F. A. M., Ogata, A. N., & Landero, T. I. (2007). The avocado (*Persea americana*, Lauraceae) crop in Mesoamerica: 10,000 Years of History. *Harvard Papers in Botany*, 12(2), 325-334.

Google earth pro, (2018). Consultado agosto 2019. INEGI 2018, Google 2018.

Goto, B. T., Pereira, C. M., Nobre, C. P., Zatorre, N. P., Covacevich, F., Berbara, R. L., & Maia, L. C. (2013). *Acaulospora endographis* (*Glomeromyces*), a new fungus with a complex spore wall. *Mycotaxon*, 123, 403-408.

Goto, B. T., Silva, G. A., Assis, D., Silva, D. K., Souza, R. G., Ferreira, A. C., Jobim, K., Mello, C.M.A., Viera, H. E. E., Maia, L. C. & Oehl, F. (2012). *Intraornatosporaceae* (*Gigasporales*), a new family with two new genera and two new species. *Mycotaxon*, 119(1), 117-132.

Guadarrama, C. P., Camago, R. S. L., Hernández, C. L., & Castillo, A. S. (2007). Los hongos micorrizógenos arbusculares de la región de Nizanda, Oaxaca, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (81), 131-137.

Hodde, M. S., Morse, J. G., Phillips, P. A., Faber, B. A., & Jetter, K. M. (2002). Avocado thrips: New challenge for growers. *California Agriculture*, 56(3), 103-107.

INEGI, (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Silao, Guanajuato Clave geoestadística 11037 2009.

INTAGRI, (2017). Antracnosis en el Cultivo de Aguacate. Serie Fitosanidad. Núm. 81. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. 4 p.
<https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/antracnosis-en-el-cultivo-de-guacate>

Consultado agosto 2019.

INVAM, (2019). International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi. West Virginia University. <http://fungi.invam.wvu.edu/the-fungi/species-descriptions.html> Consultado Agosto 2019.

- Lara, L. A., Noa, J. C., Landa, L. Á. D. J., Hernández, G. S., Oros, O. I., & Andrade, T. A. (2014).** Colonización y estructura de la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares en *Alsophila firma* (Cyatheaceae) en bosque mesófilo de montaña en Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical*, 62(4), 1609-1623.
- Lin, T. C., Alves da Silva, G., & Oehl, F. (2019).** *Acaulospora tsugae*, a new species in the Glomeromycetes from Taiwan, and a key to species in Acaulosporaceae. *Nova Hedwigia*, 108(3-4), 475-488.
- Luna, J. A., Romero, I. M., & Rojas, K. J. (2016).** Hongos micorrizógenos arbusculares y su efecto en el desarrollo de plantas de ají (*Capsicum annuum*, Solanaceae). *Temas Agrarios*. 21 (2), 76-85.
- Maradiaga, R. (2017).** Manual técnico para el manejo de viveros certificados de aguacate (No. IICA F01). Programa Regional de Investigación e Innovación por Cadenas de Valor Agrícola Secretaría de Agricultura y Ganadería (Honduras). Dirección de Ciencia y Tecnología Agropecuaria.
- Martínez, R. L. (2014).** Respuesta del cultivo de pimentón (*Capsicum annuum*) a la inoculación con *Glomus manihotis* y *Acaulospora lacunosa* en suelo con niveles altos de fósforo. *Respuestas*, 19(1), 27-38.
- Mohammadi, K., Khalesro, S., Sohrabi, Y., & Heidari, G. (2011).** A Review: Beneficial Effects of the Mycorrhizal Fungi for Plant Growth. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 1(9), 310-319.
- Montañez, I., Vargas, S. C., Cabezas, G. M., & Cuervo, A. J. (2010).** Colonización micorrícica en plantas de aguacate (*Persea americana* L.). *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 13(2), 51-6.
- Morton, J. B. (1986).** Three New Species of *Acaulospora* (Endogonaceae) From High Aluminum, Low pH Soils in West Virginia. *Mycologia*, 78(4), 641-648.
- Morton, J. B., & Benny, G. L. (1990).** Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*, 37, 471-491.

- Munkvold, L., Kjøller, R., Vestberg, M., Rosendahl, S., & Jakobsen, I. (2004).** High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 164(2), 357-364.
- Muñoz, M. E., Macías, L. C., Franco, R. A., Sánchez, C. E., Jiménez, C. J., & González G. J. (2009).** Identificación y colonización natural de hongos micorrízicos arbusculares en nogal. *Terra Latinoamericana*, 27(4), 355-361.
- Newman, E. I. (1966).** A method of estimating the total length of root in a sample. *Journal of Applied Ecology*, 3:139-145.
- NOM-021-RECNAT-2000.** Norma Oficial Mexicana, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Consultado octubre 2019. <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69255.pdf>
- Ocete, R., Armendáriz, I., Cantos, M., Álvarez, D., & Azcón, R. (2015).** Ecological characterization of wild grapevine habitats focused on arbuscular mycorrhizal symbiosis. *VITIS-Journal of Grapevine Research*, 54, 207-211.
- Ochoa, F. Y. M., Cerna, C. E., Gallegos, M. G., Cepeda S. M., Landeros F. J., & Flores O. A. (2015).** Variabilidad patogénica de *Phytophthora cinnamomi* Rands en *Persea americana* Mill. de Michoacán, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2(5), 211-215.
- Oehl, F., Alves, D. G., Goto, B. T., and Sieverding, E. (2011).** *Glomeromycota*: three new genera and glomoid species reorganized. *Mycotaxon* 116:75-120.
- Oehl, F., Silva, G. A. D., Palenzuela, J., Sánchez C. I., Castillo, C., & Sieverding, E. (2011).** *Acaulospora punctata*, a new fungal species in the *Glomeromycetes* from mountainous altitudes of the Swiss Alps and Chilean Andes. *Nova Hedwigia*, 93(3-4), 353-362.
- Oehl, F., Sýkorová, Z., Błaszowski, J., Sánchez C. I., Coyne, D., Tchabi, A., Lawaouin, L., Hountondji, C. C., & Silva, D. G. A. (2011).** *Acaulospora sieverdingii*, an ecologically diverse new fungus in the *Glomeromycota*, described from lowland temperate Europe and tropical West Africa. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 84(1), 47-53.

- Oehl, F., Tchabi, A., Silva, D. G. A., Sánchez C. I., Palenzuela, J., do Monte Junior, I. P., Lawaouin, L., Coyne D. & Hountondji, F. C. (2014).** *Acaulospora spinosissima*, a new arbuscular mycorrhizal fungus from the Southern Guinea Savanna in Benin. *Sydowia*, 66(1), 29-42.
- Palenzuela, J., Azcón A. C., Barea, J. M., Silva, G. A. D., & Oehl, F. (2015).** *Acaulospora baetica*, a new arbuscular mycorrhizal fungal species from two mountain ranges in Andalucía (Spain). *Nova Hedwigia*, 101(3-4), 463-474.
- Palenzuela, J., Azcón-Aguilar, C., Barea, J. M., Silva, D. G. A., & Oehl, F. (2014).** *Acaulospora viridis*, a new species in the *Glomeromycetes* from two mountain ranges in Andalucía (Spain). *Nova Hedwigia*, 99(1-2), 71-82.
- Palma, J. M., Blanco M. M., & Sánchez, C. G. (2018).** Identification of *Pseudococcus viburni* and *Pseudococcus longispinus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in *Musa* sp. *Trends in Entomology* 14, 33-43.
- Pellizzari, G., & Germain, J. F. (2010).** Scales (Hemiptera, Superfamily Coccoidea). Chapter 9.3. *BioRisk*, 4(1), 475-510.
- Pereira, C. M., Maia, L. C., Sanchez, C., I., Palenzuela, J., Silva, D. K., Sudova, R., Kolarikova, Z., Rydlova, J., Ctvrtlikova M., Goto, B. T., Silva, G. A. & Oehl, F. (2016).** *Acaulospora papillosa*, a new mycorrhizal fungus from NE Brazil, and *Acaulospora rugosa* from Norway. *Phytotaxa*, 260(1), 14-24.
- Pereira, C. M., Tomio, G.B., Alves, D. D. K., De Almeida, F. A. C., De Souza, F. A., Alves, D. G., Maia, L. C., & Oehl, F. (2015).** *Acaulospora reducta* sp. nov. and *A. excavata*—two glomeromycotan fungi with pitted spores from Brazil. *Mycotaxon*, 130(4), 983-995.
- Pérez, A., & Vertel, M. (2010).** Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus. *Revista MVZ Córdoba* 15(3): 2165-2174.
- Posada, F. C., Olmos, J. P., Peñaloza, J., & Roveda, G. (2013).** Influencia de la sombra y de las micorrizas sobre el crecimiento de plantas de lulo (*Solanum quitoense* Lam.). *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 16(1), 61-70.
- Prieto, B. O. O., Belezaca, P. C. E., Mora, S. W. F., Garcés, F. F. R., Sabando, Á. F. A., & Cedeño, L. P. E. (2012).** Identificación de hongos micorrízicos arbusculares en

sistemas agroforestales con cacao en el trópico húmedo ecuatoriano. *Agronomía Mesoamericana*, 23(2), 233-239.

Reeksting, B. J., Taylor, N. J., & Van den Berg, N. (2014). Flooding and *Phytophthora cinnamomi*: Effects on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in shoots of non-grafted *Persea americana* (Mill.) rootstocks differing in tolerance to *Phytophthora* root rot. *South African Journal of Botany*, 95, 40-53.

Rivera, P. F. A., González, S. V, González, A. J. G. G., & Ossa, L. P. A. (2016). Caracterización molecular, análisis morfológico y colonización micorrízica en la rizósfera del aguacate (*Persea americana* Mill) en Caldas, Colombia. *Acta Agronómica*, 65(4), 398-405.

Robles, C., & Barea, J. M. (2004). Respuesta de la planta y del suelo a Inoculación con *Glomus intraradices* y rizobacterias en maíz en cultivo intensivo. *Terra Latinoamericana*, 22(1), 59-69.

Roveda, G., Cabra, L., Ramírez, M. M., & Peñaranda, A. (2007). Efecto de las micorrizas arbusculares sobre la aclimatación y endurecimiento de microplántulas de mora (*Rubus glaucus*). *Revista Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 8(1), 28-36.

SAGARPA, (2015). Agenda Técnica Agrícola Guanajuato. Segunda edición. Avenida Municipio Libre, Col. Santa Cruz Atoyac, Del. Benito Juárez, C.P. 0331, Ciudad de México. ISBN: 978-607-7668-42-8.

SAGARPA, (2017). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Avenida Municipio Libre, Col. Santa Cruz Atoyac, Del. Benito Juárez, C.P. 0331, Ciudad de México.

Sánchez, P. M., Posada, A. R., Velásquez, P. D., & Narváez, C. M. (2010). Metodologías básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular. *Universidad Nacional de Colombia, Palmira*.

Schenck, N. C., Spain, J. L., Sieverding, E., & Howeler, R. H. (1984). Several New and Unreported Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Endogonaceae) from Colombia. *Mycologia*, 76(4), 685-699.

- Schultz**, P. A., Bever, J. D., & Morton, J. B. (1999). *Acaulospora colossica* sp. nov. from an old field in North Carolina and morphological comparisons with similar species, *A. laevis* and *A. koskei*. *Mycologia*, 91(4), 676-683.
- Schüßler**, A., & Walker, C. (2010). The *Glomeromycota*: a species list with new families and new genera. *The Royal Botanic Garden Kew*, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University, 19.
- Schüssler**, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105(12), 1413-1421.
- SENASICA**, 2019 <https://www.gob.mx/senasica/es/articulos/sin-plagas-zonas-aguacateras-de-jalisco-y-michoacan?idiom=es> consultado noviembre 2019.
- Sheng**, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., & Huang, Y. (2009). Influence of arbuscular mycorrhizae on the root system of maize plants under salt stress. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(7), 879-886.
- Shepherd**, J., & Bender, G. (2002). A history of the avocado industry in California. *History book*. Chapter 1.
- SIAP** 2017. Resumen nacional por cultivo. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do?jsessionid=3F928B1C1ECBECFD15650C169C53D4BC consultado agosto 2019.
- Sieverding**, E., Alves, D.G., Berndt, R., & Oehl, F. (2014). *Rhizoglosum*, a new genus of the *Glomeraceae*. *Mycotaxon*, 129(2), 373-386.
- Silveira**, S. V., De Souza, P. V. D., Koller, O. C., & Schwarz, S. F. (2003). Elementos minerales y carbohidratos en plantones de aguacate "Carmen" inoculados con micorrizas arbusculares. In *Actas V Congreso Mundial del Aguacate*. 415-420.
- Stürmer**, S. L., & Morton, J. B. (1997). Developmental patterns defining morphological characters in spores of four species in *Glomus*. *Mycologia*, 89(1), 72-81.
- Tacoli**, F., Bell, V. A., Cargnus, E., & Pavan, F. (2018). Insecticidal activity of natural products against vineyard mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae). *Crop Protection*, 111, 50-57.

- Tapia, G. J., Ferrera C. R., Varela F. L., Rodríguez, O. J. C., Lara, M. J., Soria, C. J. C., Cuellar, T. H., Tiscareño, I. M. A., & Cisneros, A. R. (2007).** Caracterización e identificación morfológica de hongos formadores de micorriza arbuscular, en cinco suelos salinos del estado de San Luis Potosí, México. *Revista mexicana de micología*, 26, 1-7.
- Topanta, D. E., Morillo V. L. E., & Viera A. W. F. (2017).** Diagnóstico molecular de *Phytophthora cinnamomi* asociado a la pudrición radicular en zonas productoras de aguacate en Ecuador. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(2), 285-294.
- Trappe, J. M. (1977).** Three new Endogonaceae: *Glomus constrictus*, *Sclerocystis clavispora*, and *Acaulospora scrobiculata* [Fungi]. *Mycotaxon*.
- USDA-** United States Department of Agriculture Natural Resources. Conservation Service., consultado Agosto 2019. <https://plants.usda.gov/contact.html>
- Velázquez, M. S., Cabello, M., Irrazabal, G., & Godeas, A. (2008).** Acaulosporaceae from El Palmar National Park, Entre Ríos, Argentina. *Mycotaxon*.
- Velho, D. S., Dutra, D.P., Joao, B. R., & Koller, O. C. (2002).** Effect of arbuscular mycorrhizae on cv. Carmem avocado plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33(7-8), 1323-1333.
- Viera, W., Campaña, D., Gallardo, D., Vásquez, W., Viteri, P., & Sotomayor, A. (2017).** Native Mycorrhizae for Improving Seedling Growth in Avocado Nursery (*Persea americana* Mill.). *Indian Journal Science and Technology*, 10(25), 1-13.
- Villarroel, J. (1988).** Manual práctico para la interpretación de análisis de suelos en laboratorio. Serie técnica no. 10. AGRUCO.
- Walker, C. (1992).** Systematics and taxonomy of the arbuscular endomycorrhizal fungi (Glomales)-a possible way forward. *Agronomie* 12, 887-897.
- Wilches, O. W. A., Ramírez, G. M. M. Pérez, M. U. A., Serralde, O. D. P., Peñaranda R. A. M., & Ramírez, L. (2019).** Asociación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) con plantas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) para la producción de panela en Colombia. *Terra Latinoamericana*, 37(2), 175-184.

10. ANEXOS

Anexo 1. Datos de las variables evaluadas para cada tratamiento durante los seis meses.

VARIABLES EVALUADAS PARA CADA TRATAMIENTO EN MAYO 2018

Variable/ Tratamiento	Control	Nativo	CIIDIR	Montecillo	Comercial	ANOVA
altura tallo (cm)	16.3±0.6	16.3±0.6	21.4±3.3	20.6±3.1	22.7±4.0	NS
grosor tallo (mm)	3.9±0.3	4.5±0.2	4.4±0.5	4.3±0.5	4.8±0.5	NS
no. De hojas	6.2±0.8	7.0±1.0	6.2±0.8	6.2±1.3	6.6±0.6	NS
longitud de hojas (cm)	9.8±1.8	9.6±0.8	10.1±1.1	11.6±1.9	11.3± 2.8	NS
ancho de hojas	4.2 0.3	3.9±0.3	4.4±0.5	4.6±0.6	4.3±0.6	NS

Media ± desviación estándar. Cada valor es promedio de cinco repeticiones. NS: no hay diferencias significativas $p > 0.05$, para el no. De hojas se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

VARIABLES EVALUADAS PARA CADA TRATAMIENTO EN JUNIO 2018

Variable/ Tratamiento	Control	Nativo	CIIDIR	Montecillo	Comercial	ANOVA
altura tallo (cm)	33.0±4.5	41.6±5.7	41.6±7.0	39.4±4.0	38.6±5.1	NS
grosor tallo (mm)	6.2±0.7	6.5±0.5	6.8±1.0	6.6±0.4	6.7±0.4	NS
no. De hojas	14.6±2.1	17.0±1.2	17.0±2.0	17.0±3.1	16.6±1.3	NS
longitud de hojas (cm)	13.3±0.8	12.4±1.6	11.4±1.7	12.0±3.1	12.2±1.2	NS
ancho de hojas	5.3±0.6	5.0±0.3	4.5±0.3	4.7±0.9	4.7±0.4	NS

Media ± desviación estándar. Cada valor es promedio de cinco repeticiones. NS: no hay diferencias significativas $p > 0.05$, para ancho de hojas se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

VARIABLES EVALUADAS PARA CADA TRATAMIENTO EN JULIO 2018

Variable/ Tratamiento	Control	Nativo	CIIDIR	Montecillo	Comercial	ANOVA
altura tallo (cm)	42.4±5.3	50.2±3.3	52.0±10.3	47.6±5.5	50.8±3.7	NS
grosor tallo (mm)	7.1±0.3	7.6±0.4	8.0±0.9	7.6±0.5	8.0±0.5	NS
no. De hojas	17.4±1.3	18.4±1.7	20.8±6.1	17.2±3.2	17.2±2.7	NS
longitud de hojas (cm)	14.1±2.4	12.6±3.3	14.6±2.2	15.4±1.4	16.2±3.6	NS
ancho de hojas	5.6±1.5	4.9±1.1	5.5±0.7	6.0±0.5	6.0±1.3	NS

Media ± desviación estándar de las variables evaluadas para cada tratamiento. *Diferencias significativas, NS: no hay diferencias significativas. $\alpha=0.05$. Letras iguales en filas no hay diferencias significativas entre tratamientos

VARIABLES EVALUADAS PARA CADA TRATAMIENTO EN AGOSTO 2018

Variable/ Tratamiento	Control	Nativo	CIIDIR	Montecillo	Comercial	ANOVA
altura tallo (cm)	53.8±6.4	61.2±3.8	62.8±14.6	59.0±5.6	62.4±7.4	NS
grosor tallo (mm)	7.9±0.4	8.1±0.4	9.0±1.1	8.5±0.6	8.6±0.4	NS
no. De hojas	21.0±1.6	46.4±20.3	29.7±6.7	22.2±5.3	24.0±3.2	NS
longitud de hojas (cm)	16.6±1.2	15.0±1.1	14.0±2.3	13.9±3.4	15.2±1.0	NS
ancho de hojas	5.2±0.8	5.6±0.3	5.2±0.8	6.3±1.4	5.4±0.7	NS

Media ± desviación estándar de las variables evaluadas para cada tratamiento. *Diferencias significativas, NS: no hay diferencias significativas. $\alpha=0.05$. Letras iguales en filas no hay diferencias significativas entre tratamientos.

VARIABLES EVALUADAS PARA CADA TRATAMIENTO EN SEPTIEMBRE 2018

Variable/ Tratamiento	Control	Nativo	CIIDIR	Montecillo	Comercial	ANOVA
altura tallo (cm)	59.0±10.6	66.0±6.2	68.4±13.8	64.6±7.6	69.8±11.4	NS
grosor tallo (mm)	7.9±2.6	9.5±0.6	9.8±0.8	8.4±2.8	9.9±0.4	NS
no. De hojas	24.2±3.1	27.6±4.7	32.6±7.6	26.2±6.8	28.0±4.7	NS
longitud de hojas (cm)	19.15±1.6	19.1±2.3	18.5±2.9	17.2±0.8	18.2±1.7	NS
ancho de hojas	7.0±0.8	7.0±0.7	6.7±0.7	6.3±0.8	6.4±0.8	NS

Media ± desviación estándar de las variables evaluadas para cada tratamiento. *Diferencias significativas, NS: no hay diferencias significativas. $\alpha=0.05$. Letras iguales en filas no hay diferencias significativas entre tratamientos

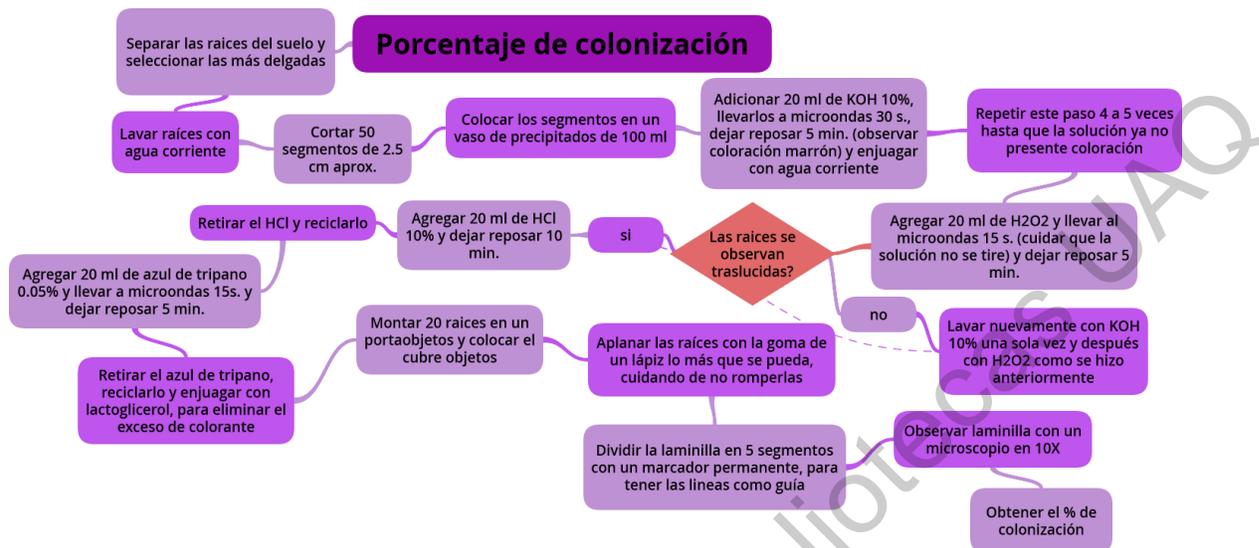
VARIABLES EVALUADAS PARA CADA TRATAMIENTO EN OCTUBRE 2018

Variable/ Tratamiento	Control	Nativo	CIIDIR	Montecillo	Comercial	ANOVA
altura tallo (cm)	66.6±14.0	73.1±10.9	75.8±12.3	74.2±11.9	76.0±16.7	NS
grosor tallo (mm)	9.3±0.4	9.8±0.9	10.2±1.0	9.6±0.6	10.2±0.3	NS
no. De hojas	28.8±4.6	31.0±5.8	38.0±10.8	33.2±8.2	29.0±8.4	NS
longitud de hojas (cm)	14.5±2.3	14.4±2.0	13.5±2.8	12.8±1.2	15.2±1.2	NS
ancho de hojas	5.4±1.2	5.4±0.7	4.9±1.1	4.9±0.3	5.7±0.8	NS

Media ± desviación estándar de las variables evaluadas para cada tratamiento. *Diferencias significativas, NS: no hay diferencias significativas. $\alpha=0.05$. Letras iguales en filas no hay diferencias significativas entre tratamientos.

Anexo 2. Diagramas de flujo para metodología empleada.

Porcentaje de colonización en la raíz



Reactivos

- KOH 10 %
- Agua Oxigenada
- HCl 10 %
- Azul de tripano 0.05 %
- Lactoglicerol

Material

- Navaja de disección
- Vaso de precipitados de 100 mL.
- Probeta de 50 mL
- 2 Portaobjetos por muestra
- Cubreobjetos por muestra
- Marcador permanente
- Colador de plástico

Equipo

- Microondas
- Microscopio

Longitud de Micelio Extrarradical (MER)

Reactivos



- Hexametáfosfato sódico 5 %
- Azul tripano 0.05 %
- Agar bacteriológico

Material

- Matraz Erlenmeyer 125 mL
- Agitador de vidrio
- Tamices (297 µm, 74 µm y 44 µm)
- Probeta 50 mL
- Pipeta graduada 10 mL
- Caja Petri
- Hoja cuadrículada (0.5 cm)

Equipo

- Baño María
- Estereoscopio

Recuperación y conteo de esporas



Reactivos

- PVGL + reactivo Melzer
- Solución sacarosa 20 %
- Solución sacarosa 60 %

Material

- Recipiente plástico 1 L
- Tamices (1000 µm, 500 µm, 250 µm, 150 µm, 63 µm y 53 µm)
- Caja Petri
- Jeringa 2 mL con punta de micropipeta 1-200 µL
- Portaobjetos
- Cubreobjetos

Equipo

- Estereoscopio
- Centrifuga

ANEXO 3. Preparación de soluciones

- **KOH 10 % (m/v)**

Se pesaron 10 g de KOH, se disolvieron en agua destilada, después se vertieron en un matraz aforado de 100 mL y se completó el volumen.

- **HCl al 10 % (v/v).**

Se tomaron 10 mL de ácido con una pipeta graduada, se añadió el ácido sobre el agua destilada y se completó el volumen a 100 mL en un matraz aforado.

- **Azul de tripano 0.05 % (w/v) en lactoglicerol.**

Se tomaron 125 mL de glicerina, 12 mL de ácido clorhídrico al 1 %, 0.125 g. de azul de tripano, estos se disolvieron y se mezclaron, posteriormente se completó el volumen a 1L con agua destilada.

- **Glicerina-agua 50 % (v/v) o lactoglicerol.**

Se tomaron 25 mL de glicerina en un matraz aforado de 50 mL, se completó el volumen con agua destilada y se homogenizó la solución.

- **Hexametáfosfato de sodio 5 %**

Se pesaron 5 g de hexametáfosfato de sodio y se completó el volumen con agua en un matraz aforado de 100 mL.

- **PVGL**

Se pesaron 8.33 g de alcohol polivinílico, se adicionaron 50 mL de agua destilada y se calentó a 90 °C con agitación constante por 4 horas, una vez disuelto el alcohol se agregaron 50 mL de ácido láctico y 5 mL de glicerina.

- **PVGL: Melzer**

Se pesaron 1.5 g de yodo, 5 g de yoduro de Potasio y se agregaron 100 mL de agua. La mezcla se hizo 1:1 (v/v) con PVGL.

- **Solución de sacarosa al 20%**

Se pesaron 20 g de sacarosa en un vaso de precipitados y se agregaron 100 mL de agua.

- **Solución de sacarosa al 60%**

Se pesaron 60 g de sacarosa en un vaso de precipitados y se agregaron 100 mL de agua. Se pusieron a calentar suavemente en un plato caliente con constante agitación hasta que se disolvió la solución.

- **Solución nutritiva Steiner**

Se adicionaron 10 mL de la solución A y B; y 1 mL de la solución C y D en un litro de agua, después se aireó la solución durante 16 horas. Se ajustó el pH 6.5 ± 0.5 , se utilizaron como máximo 158 μL de ácido sulfúrico concentrado por litro de solución. Si se producía precipitación durante la aireación, esta desaparecía cuando se ajustaba el pH.

Solución A: 1 L de agua

- 68 g Nitrato de calcio tetrahidratado $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- 62 g Nitrato de potasio KNO_3

Solución B: 1L de agua

- 46 g Sulfato de Magnesio heptahidratado $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$
- 13.6 g Fosfato monopotásico KH_2PO_4

Solución C: 1 L de agua

- 2.69 g Ácido bórico H_3BO_3
- 2 g Sulfato de manganeso dihidratado $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- 0.506 g Sulfato de zinc heptahidratado $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 0.126 g Molibdato de sodio dihidratado $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 0.078 g Sulfato de cobre pentahidratado $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Sol.C. Se disolvió cada reactivo por separado en 100 mL de agua, se disolvió el ácido bórico en agua caliente (70 °C), después se disolvieron las cuatro primeras soluciones y se llevó el volumen hasta 850 mL, por último, se agregó la solución de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y se adicionó H_2SO_4 1 M hasta que la precipitación desapareció.

Solución D1: 500 mL de agua

- 16.659 EDTA $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_2\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - se disolvió en agua caliente (70 °C)
- 2.91 g Hidróxido de potasio KOH

Solución D2: 200 mL de agua

- 12.44 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 2 mL H_2SO_4 0.5 M Ácido sulfúrico

Solución D:

Se unieron las dos soluciones D1 y D2, y se llevó el volumen a 900 mL, se dejó airear la solución por 16 horas y se completó el volumen a 1L. Después de la aireación la solución se tornó café rojizo.

Dirección General de Bibliotecas UAQ