

Anexo	Tesis de maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente de Susana Echaury Peña.
Objetivo de Científico (OC)	<p>OC3.1. Identificar aquellos morfotipos de maíz y frijol que, por separado o en co-cultivo y en asociación con microorganismos, presentan beneficios nutricionales y fitosanitarios.</p> <p>OC3.2 Comparar el efecto del consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) proveniente de milpas con manejo agroecológico versus convencional sobre la diversidad de microorganismos de rizósfera y su efecto nutricional y fitosanitario sobre maíz y frijol (por separado o en co-cultivo).</p>
Meta	<p>MC3.1.1 Selección del mejor o mejores maíces, frijoles y combinaciones maíz-frijol que, en asociación con microorganismos, promuevan la defensa contra patógenos del maíz y el crecimiento, y aumenten el contenido de P y N en las plantas, esto reportado en los informes técnicos parciales y finales, una tesis de maestría y un artículo científico en borrador.</p> <p>MC3.2.1 Una caracterización de la respuesta de los tres maíces y tres frijoles (por separado o en co-cultivo maíz-frijol) en asociación con HMA proveniente de milpas con manejo agroecológico versus convencional en términos de defensa contra patógenos, crecimiento y contenido de P y N vegetal reportada en los informes técnicos parciales y finales.</p>

Actividad:

✓ **AC3.1.1.3** Se realizarán dos tesis de licenciatura (una en maíz y otra en frijol) sobre defensa contra enfermedades conferida por microorganismos benéficos.

ADICIONALMENTE SE REPORTAN LOS RESULTADOS FINALES DE LAS SIGUIENTES ACTIVIDADES DENTRO DEL PRESENTE ANEXO:

✓ **AC3.2.1.2** Se llevarán a cabo los ensayos de asociación planta-microorganismo benéficos en invernadero para maíz y frijol como especies únicas y en co-cultivo, se registrará crecimiento, contenido de P y N en tejido foliar, porcentaje de colonización micorrízica, número de nódulos fijadores de N en frijol.

✓ **AC3.2.1.3** Se realizarán los ensayos de defensa para maíz, utilizando una cepa patogénica de *Fusarium* y para frijol el hongo fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum*.

¿En qué nos quedamos?

En la primera etapa del proyecto dos estudiantes fueron reclutados después de realizar sus estancias profesionales como estudiantes tesistas de licenciatura. Sin embargo, decidieron no continuar con la tesis y se graduaron con otras opciones que sus universidades ofrecen. Como alternativa, en el proyecto se reclutó a la estudiante Susana Echauri Peña del programa de maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente del CIIDIR-IPN Unidad Sinaloa para realizar su tesis. La alumna inició en agosto del 2022 y fue codirigida por la Dra. Simoneta Negrete Yankelevich del INECOL y la Dra. Melina López Meyer del CIIDIR-Sinaloa.

La estrategia que se siguió con los dos estudiantes de maestría (AC3.1.1.2 y 3.1.1.3) involucró dividir el análisis de las metas MC3.1.1. y MC3.2.1 entre ambos estudiantes, con la tesis de esta estudiante centrada en cumplir con la meta MC3.2.1. que consistió en analizar los maíces de frijoles con inóculos de HMA provenientes de parcelas convencionales vs. agroecológicas. La alumna tiene programado graduarse en enero del 2025.

En el informe de la etapa 2 presentamos los avances parciales de la tesis de maestría y de los resultados parciales de las actividades AC3.2.1.2 y AC3.2.1.3 habiéndose llevado a cabo el experimento de invernadero completo, el cual se cosechó, se obtuvieron los datos de biomasa seca y quedaban pendientes algunos análisis de laboratorio como los análisis de N y P foliar de las muestras así como estábamos finalizando el análisis de la colonización

de las raíces con HMA y en frijol con nodulación, de igual modo se había llevado a cabo el ensayo de defensa y nos encontrábamos finalizando el análisis de los ensayos en frijol y maíz. En esta etapa 3 presentamos la conclusión de estas actividades e incluimos en el escrito de tesis la descripción de los resultados de las actividades. En este documento se presenta el trabajo realizado en el municipio de Ayahualulco en la localidad de Ocotepéc, con la comparación entre parcelas de manejo convencional vs. agroecológicas.

Descripción:

Se anexa el escrito de tesis final de la estudiante de la maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente del CIIDIR-IPN Unidad Sinaloa Susana Echauri Peña. La alumna inició en agosto del 2022 y fue codirigido por la Dra. Melina López Meyer del CIIDIR-Sinaloa y la Dra. Simoneta Negrete Yankelevich del INECOL. El documento que se presenta representa la versión sometida a revisión para los miembros de su comité tutorial y se estima que la estudiante defenderá su examen de grado en el mes de enero del 2025. La tesis de esta estudiante de maestría incluye la totalidad de la MC3.2.1., la cual incluye el análisis de maíces y frijoles del municipio de Ayahualulco. Se presenta como una evidencia adicional (AC3.1.1.6) el borrador de un artículo que combinará los resultados obtenidos de la MC3.1.1. y ésta la MC3.2.1.

Resumen e interpretación de hallazgos (AC3.2.1.2 y AC3.2.1.3)

El cultivo de diferentes especies vegetales ayuda a aumentar la variedad y la disponibilidad de nutrientes presentes en el suelo, los cuales serán aprovechados por las plantas además, las especies vegetales interactúan entre sí promoviendo la biodiversidad de bacterias y hongos benéficos como los hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Estos hongos establecen una asociación simbiótica con la planta que apoya en la absorción de nutrientes y confiere resistencia a patógenos. Este trabajo analizó el efecto de la presencia de HMA nativos sobre la productividad, absorción de nutrientes y capacidad de defensa contra patógenos en tres maíces criollos (blanco, amarillo y negro) y tres especies de frijol (gordo [*Phaseolus dumosus*], enredador [*P. vulgaris*] y ayocote [*P. coccineus*]), todos del Cofre de Perote, en particular del municipio de Ayahualulco y sembrados de manera individual o en

bicultivo. Para ello, enfrentamos experimentalmente a las plantas a dos patógenos, *Sclerotinia sclerotiorum* para frijol y *Exserohilum turcicum* para maíz, que enferman frecuentemente a estos cultivos. Los resultados más relevantes fueron: 1) los inóculos aislados de parcelas agroecológicas afectaron principalmente a frijol aumentando la nodulación en monocultivo y la defensa al hongo fitopatógeno tanto en mono como en bicultivo, pero sin afectar negativamente la micorrización. 2) El bicultivo tuvo un efecto negativo en el crecimiento y micorrización en maíz, mientras que en frijol afectó la defensa pero dependiendo de la especie de frijol y del tipo de inóculo ya sea agroecológico o convencional. 3) Las tres especies de frijol mostraron efectos diferenciales en el crecimiento y la defensa, observándose una relación inversa entre estos dos parámetros. Mientras que los morfotipos de maíces mostraron diferencias en micorrización y en crecimiento. 4) Estos resultados sugieren que el manejo agroecológico favorece comunidades microbianas que promueven inducción de mecanismos de defensa contra patógenos y la nutrición de las plantas, y que los beneficios son dependientes del genotipo de cada especie involucrada. De acuerdo con estos resultados, y en conjunto con los de bromatología, tomamos la decisión de implementar en las parcelas experimentales Mano Vuelta asociaciones de maíz blanco con frijol gordo y frijol ayocote, para determinar si los beneficios nutricionales y de defensa se conservan en condiciones de campo y en presencia de otras especies vegetales benéficas para la dieta y los polinizadores.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD SINALOA



**Efecto de inóculos microbianos de suelos con manejo
agroecológico y convencional en frijoles y maíces
criollos de Ocotepéc, Veracruz.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRIA EN
RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE**

PRESENTA

SUSANA ECHAURI PEÑA

GUASAVE, SINALOA; MEXICO. NOVIEMBRE, 2024

Reconocimiento a proyectos y becas

El trabajo de tesis se desarrolló en el laboratorio de Interacción Microorganismo Planta perteneciente al Departamento de Biotecnología agrícola del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Sinaloa del Instituto Politécnico Nacional (IPN) bajo la dirección de la Dra. Melina López Meyer y la Dra. Simoneta Negrete Yankelevich (Red de Ecología Funcional, INECOL). El presente trabajo fue apoyado económicamente a través del proyecto SIP-IPN con número de registro **20230746** y el proyecto Biodiversidad en la Milpa y su suelo: bases de la seguridad alimentaria de mujeres, adolescentes y niños rurales (Mano Vuelta, Pronaii SSyS, Conahcyt, 319067). La alumna Susana Echauri Peña agradece el apoyo económico brindado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por la beca otorgada durante la realización de este trabajo con no. de registro **XXXXXX** así como al IPN por la Beca de Estímulos Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI).

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	12
ÍNDICE DE CUADROS	14
RESUMEN	17
ABSTRACT	17
INTRODUCCIÓN	18
ANTECEDENTES	21
Agricultura convencional y agroecológica	21
Milpa	23
Situación actual de la milpa en México	24
Zona de estudio	25
Maíz	27
Frijol	27
Hongos micorrízicos arbusculares	28
Nodulación en leguminosas	31
Fitopatógenos en la agricultura	32
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	33
<i>Exserohilum turcicum</i>	35
JUSTIFICACIÓN	37
HIPÓTESIS	38
OBJETIVOS	39
Objetivo general	39
Objetivos específicos	39
MATERIALES Y MÉTODOS	40
Montaje de los experimentos en invernadero	40
Experimento de frijol en monocultivo	40
Experimento de frijol Gordo (FG) en bicultivo	41

Experimento de maíces en monocultivo	41
Experimento de maíces en bicultivo con frijol Gordo (FG).....	41
Análisis estadístico.....	42
Obtención del inóculo micorrízico	42
Conteo y obtención de esporas	43
Preparación del inóculo y el control sin esporas.....	44
Preparación de semillas	44
Semillas de maíz.....	44
Semillas de frijol.....	45
Preparación de los tratamientos	45
Llenado de macetas, inoculación y siembra	45
Fertilización	46
Ensayos de defensa	46
Frijol vs <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	47
Maíz vs <i>Exserohilum turcicum</i>	48
Crecimiento	49
Medición de Fósforo y Nitrógeno foliar	50
Cuantificación de la nodulación	50
Cuantificación del porcentaje de colonización por HMAs	51
Método de intersección de campos en placas.....	52
RESULTADOS	53
Frijol en monocultivo	53
Frijol Gordo (FG) en bicultivo.....	58
Maíces en monocultivo	64
Maíces en bicultivo con frijol Gordo (FG)	67
DISCUSIÓN	74
CONCLUSIONES	83
BIBLIOGRAFÍA.....	84

GLOSARIO

Abiótico: hace referencia a los componentes químicos y físicos que no poseen vida, relacionado con el entorno y las condiciones que influyen en los seres vivos.

Agrodiversidad: hace referencia a la variedad de razas, especies y/o variedades de plantas cultivadas en un sistema agrícola.

Biofertilizante: producto elaborado a partir de microorganismos benéficos (tales como bacterias y hongos) y restos vegetales, utilizado con el fin de mejorar la nutrición vegetal.

Biótico: entorno en el que existe vida, seres u organismos vivos, o que se encuentra vinculado a ellos.

Especie: similitudes genéticas y morfológicas entre un grupo de individuos que cuentan con la capacidad de reproducirse entre ellos y generar descendencia fértil.

Fertilizante: componente o sustancia que se agrega al suelo de cultivo o directamente a las plantas con el fin de proporcionar nutrientes que estimulen su desarrollo.

Inflorescencia: conjunto de flores que crecen en una sola estructura floral, pueden variar en cuanto a forma y acomodo, como espigas, racimos, etc.

Jasmonatos: compuestos químicos que funcionan como hormonas en las plantas, derivados del ácido jasmónico, relacionados con la respuesta al estrés y defensa contra patógenos.

Lixiviación: proceso mediante el cual los nutrientes y/o contaminantes se disuelven desde los suelos y son arrastrados por el agua.

Micelio: parte vegetativa de los hongos, formada por filamentos que se conocen como hifas que tienen apariencia de hilos largos o cortos, este puede desarrollarse en sustrato y/o suelo generando redes.

Micorrízico: hace referencia a una relación simbiótica, cercana y prolongada entre un hongo y las raíces de plantas, esta simbiosis suele beneficiar a las dos partes involucradas.

Necrótrofo: es un organismo patógeno que se alimenta de las células muertas de su huésped, puede destruir grandes áreas del tejido vegetal, causando daños a la planta y afectando la productividad de los cultivos agrícolas.

Patógeno: entidad biológica que posee la capacidad de producir una enfermedad en el huésped.

Plaguicida: compuesto químico diseñado para prevenir, repeler o combatir especies no deseadas en plantas.

Simbiosis: relación estrecha entre dos o más organismos de diferentes especies, esta relación puede llegar a ser benéfica para ambas partes.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Formación del hilo de infección producido por bacterias del género <i>Rhizobium</i> en los pelos radicales de leguminosas (imagen recuperada de Oldroyd <i>et al.</i> , 2011).....	32
Figura 2. Infección de moho blanco en las vainas de frijol. Imagen recuperada de Saharan y Naresh, 2008.	34
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . CICLO ASEXUAL: El hongo sobrevive en forma de esclerocios sobre los restos del cultivo agrícola o en el suelo (1), bajo las condiciones ambientales correctas los esclerocios germinan micelógicamente e infectan el tejido vegetal (2), al agotar los nutrientes de la planta el micelio empieza a formar esclerocios y se reinicia el ciclo (7). CICLO SEXUAL: Los esclerocios germinan carpogénicamente y producen apotecios (3), los apotecios producen y liberan ascosporas que el viento transporta hacia la planta (4), las ascosporas germinan produciendo micelio e infectan los pétalos de las flores en senescencia (5), el patógeno se propaga en la planta huésped y se desarrollan los síntomas de la enfermedad (6), finalmente, al agotar los nutrientes disponibles, el micelio empieza a formar esclerocios y se reanuda el ciclo (7). Modificado de Reich y Chatterton, 2023.....	35
Figura 4. Lesiones necróticas del tizón foliar del maíz inoculado artificialmente con <i>E. túrcicum</i> en invernadero. Imagen recuperada de Félix-Gastélum <i>et al.</i> , 2018.....	36
Figura 5. Infección por <i>S. sclerotiorum</i> en folíolos de FG (frijol Gordo) con tratamiento M (micorrizado) y NM (no micorrizado).	48
Figura 6. Ensayo en hoja desprendida, MB (maíz Blanco) con inóculo TC (tratamiento convencional) a las 72 horas post infección con el fitopatógeno <i>E. turcicum</i> . Las fotografías del panel superior corresponden a las seis réplicas del tratamiento NM, y las del panel inferior a las de M. Como se observa no hubo consistencia en el desarrollo de la infección en los tejidos probados.	49
Figura 7. a) Nódulos de las plantas de frijol criollo ubicadas en las milpas de Ocoatepec, Veracruz al momento de la obtención de los suelos para la extracción de los inóculos. b) Conteo de nódulos en microscopio estereoscópico de las plantas crecidas en invernadero para el experimento.....	50
Figura 8. Raíz de FG (frijol Gordo) colonizada por HMAs donde: a) hifa, b) vesícula y c) arbuscúlos. Aumento 400X.	52
.....	58
Figura 9. FRIJOL EN MONOCULTIVO. A) Producción de biomasa seca total (g) en plantas de frijol inoculadas con HMAs provenientes de parcelas con tratamiento agroecológico (TA) y tratamiento convencional (TC). B) Producción de biomasa seca en tres especies de frijol [FG (frijol Gordo), FE (frijol Enredador) y FA (frijol Ayocote)]. C) Número de nódulos/g de raíz en plantas de frijol	

inoculadas con TA y TC. D) Área de lesión en folíolos de plantas de frijol con HMAs provenientes de parcelas con inóculos TA y TC 69h post inoculación con *S. sclerotiorum*. E) Área de lesión en folíolos de frijol inoculados con M (HMAs) y NM (sin HMAs). F) Área de lesión en folíolos de tres especies de frijol. G) Área de lesión en folíolos de tres especies de frijol inoculados con TA y TC. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos [Tukey ($\alpha \leq 0.05$)], barras que comparten letra son similares entre ellas. Las barras de error corresponden al error estándar. Solo se consideraron las interacciones dobles.58

Figura 10. FG EN BICULTIVO. A) Producción de biomasa seca en plantas de frijol Gordo (FG) micorrizadas (M) y no micorrizadas (NM). B) Producción de biomasa seca en plantas de FG en mono y bicultivo con tres morfotipos de maíz [FG-MB (maíz Blanco), FG-MN (maíz Negro) y FG-MA (maíz Amarillo)]. C) Contenido de N foliar en FG y bicultivos (FG-MB, FG-MN y FG-MA) inoculados con esporas de HMAs (M) y control no micorrizado (NM). D) Número de nódulos/g de raíz en FG inoculado con esporas de HMAs (M) y control no micorrizado (NM). E) Área de lesión en folíolos de frijol Gordo (FG) inoculado con TA (tratamiento agroecológico) y TC (tratamiento convencional) 69 h post infección con fitopatógeno (*S. sclerotiorum*). F) Área de lesión en folíolos de plantas de FG micorrizadas (M) y folíolos de plantas control no micorrizadas (NM). G) Área de lesión de FG en mono y bicultivo con tres morfotipos de maíz. H) Área de lesión de FG en mono y bicultivo con tres morfotipos de maíz inoculados con TA y TC. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos [Tukey ($\alpha \leq 0.05$)], barras que comparten letra son similares entre ellas. Las barras de error corresponden al error estándar. Solo se consideraron las interacciones dobles.64

Figura 11. MAÍZ EN MONOCULTIVO. A) Producción de biomasa seca total en plantas de maíz micorrizadas (M) y no micorrizadas (NM). B) Porcentaje de colonización micorrízica en MB (maíz Blanco), MN (maíz Negro) y MA (maíz Amarillo) con inóculos TA y TC. C) Contenido de P foliar en plantas de maíz M y NM. D) Contenido de N foliar en plantas de maíz M y NM. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos [Tukey ($\alpha \leq 0.05$)], barras que comparten letra son similares entre ellas. Las barras de error corresponden al error estándar. Solo se consideraron las interacciones dobles.67

Figura 12. MAÍCES EN BICULTIVO CON FG. A) Biomasa seca total (g) en plantas de maíz micorrizadas y no micorrizadas (NM). B) Producción de biomasa seca en tres morfotipos de maíz [MB (maíz Blanco), MN (maíz Negro) y MA (maíz Amarillo)] en mono y bicultivo con frijol Gordo (FG). C) Porcentaje de colonización por HMAs en MB, MN y MA en mono y bicultivo con FG. D) Porcentaje de colonización por HMAs en MB, MN y MA en mono y bicultivo con FG con inóculos provenientes de TA (tratamiento agroecológico) y TC (tratamiento convencional). E) Contenido de P foliar en maíces inoculados con TA y TC. F) Contenido de P foliar en maíces M y NM. G) Contenido de P foliar en tres morfotipos de maíz (MB, MN y MA) en mono y bicultivo con FG inoculados con TA y TC. H) Contenido de N foliar en maíces con inóculos TA y TC. I) Contenido de N foliar en maíces micorrizados (M) y no micorrizados (NM). J) Contenido de N foliar en MB, MN y MA en mono y

bicultivo con FG, inoculados con TA y TC. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos [Tukey ($\alpha \leq 0.05$)], barras que comparten letra son similares entre ellas. Las barras de error corresponden al error estándar. Solo se consideraron las interacciones dobles. 73

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de la solución nutritiva Long Ashton empleada para la fertilización de las plantas del experimento.	46
Cuadro 2. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente producción de biomasa; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).	53
Cuadro 3. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente porcentaje de colonización por HMAs; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).	54
Cuadro 4. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de P; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).	54
Cuadro 5. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de N; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).	55
Cuadro 6. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente nodulación; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).	55
Cuadro 7. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente defensa contra patógeno foliar; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).	56

Cuadro 8. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente producción de biomasa; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).....	58
Cuadro 9. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente porcentaje de colonización por HMAs; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).	59
Cuadro 10. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de P; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).	59
Cuadro 11. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de N; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).	60
Cuadro 12. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente nodulación; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).	61
Cuadro 13. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente defensa contra patógeno foliar; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).....	61
Cuadro 14. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente producción de biomasa; maíces en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y morfotipo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).....	64
Cuadro 15. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente porcentaje de colonización por HMAs; maíces en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo) y morfotipo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).....	65
Cuadro 16. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de P; maíces en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y morfotipo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).....	65

Cuadro 17. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de N; maíces en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y morfotipo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$)..... 66

Cuadro 18. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente producción de biomasa; maíces en bicultivo con FG, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$)..... 68

Cuadro 19. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente porcentaje de colonización por HMAs; maíces en bicultivo con FG, considerando los factores OI (Origen del Inóculo) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$)..... 69

Cuadro 20. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de P; maíces en bicultivo con FG, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$)..... 69

Cuadro 21. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de N; maíces en bicultivo con FG, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$)..... 70

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) y el frijol (*Phaseolus spp.*) son los cultivos más importantes domesticados por los agricultores mexicanos (García *et al.*, 2006), y están asociados a toda una cultura y tradición hablando de su producción y consumo; debido a ello han podido trascender hasta la actualidad (Ayala *et al.*, 2008). Estos cultivos cumplen una gran diversidad de funciones alimentarias y socioeconómicas. Su importancia alimenticia se sustenta en su contenido de nutrimentos. El maíz, es una fuente rica en carbohidratos, fibra, vitaminas (como la B y C) y minerales (como Mg y P) (Nuss *et al.*, 2010); mientras el frijol tiene un alto contenido en proteínas, fibra, vitaminas (como la B, niacina, ácido fólico y tiamina) y minerales (como hierro, cobre, zinc, fósforo, potasio, magnesio y calcio) (Azarpazhooh y Jasim Ahmed, 2022). Desde el punto de vista culinario, su utilización es amplia porque puede combinarse con otros ingredientes básicos de la comida mexicana en múltiples platillos. El maíz y el frijol son cruciales para la seguridad alimentaria en México, porque su producción y consumo ayudan a reducir la dependencia de importaciones (García-Salazar *et al.*, 2023; Sangerman *et al.*, 2010).

La producción de maíz y frijol ocupa a más de dos terceras partes de los productores agrícolas de nuestro país (García *et al.*, 2006). En el año 2023, la superficie de siembra de maíz en México fue de casi de 7 millones de hectáreas con una producción de más de 27 millones de toneladas. Para frijol, la superficie de siembra fue poco más de un millón de hectáreas con una producción de más de 0.72 millones de toneladas (SIAP, 2023). Estos datos de producción son publicados por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP).

La milpa es uno de los agroecosistemas característicos de la agricultura tradicional mexicana; es un policultivo en donde se combina el cultivo de maíz, frijol y calabaza con otras plantas domesticadas y silvestres que se toleran y fomentan. Es frecuentemente practicada en la agricultura de subsistencia. Aunque la mayor parte de la producción

agrícola del país es obtenida en sistemas agrícolas convencionales los cuales utilizan estrategias como el monocultivo de variedades mejoradas, el uso de agroquímicos sintéticos, la mecanización, y el uso de sistemas de riego controlado, un gran número de productores no tienen las condiciones para utilizar estas estrategias siendo pequeños productores que siembran pequeñas extensiones bajo condiciones de temporal, y algunos de estos productores utilizan el sistema de milpa.

El concepto de milpa es amplio y se refiere al policultivo de las especies mencionadas, sin embargo, la combinación de especies a sembrar y las particularidades agronómicas utilizadas varía con cada productor, región, clima, altitud y tipo de suelo.

La milpa además de proveer alimentos a las comunidades rurales forma parte de la cultura e identidad de los pueblos originarios y familias campesinas y, se considera central para la seguridad alimentaria de un gran número de mexicanos (Leyva-Trinidad *et al.*, 2020). El intento de sustituir la milpa por formas de agricultura más industrializada, en donde el policultivo se sustituye por el monocultivo, se realiza labranza, y se usan insumos agrícolas como fertilizantes y plaguicidas químicos, no ha funcionado en muchas regiones rurales del país, y ha puesto en riesgo, no solo la actividad agrícola *per se*, sino la seguridad alimentaria de estas comunidades. La milpa en principio puede abastecer los alimentos necesarios para la subsistencia de una familia, no solo en cantidad sino en calidad y diversidad, ya que permite complementar la dieta con las calorías y los nutrientes necesarios para una dieta adecuada (Lopez-Ridaura *et al.*, 2021).

En cualquier tipo de agricultura el aspecto microbiológico del suelo es fundamental. Por ejemplo, algunos microorganismos del suelo descomponen la materia orgánica para permitir su reciclaje, o son solubilizadores de nutrientes para las plantas (Kumar *et al.*, 2022). Otros, como las bacterias fijadoras de nitrógeno, pueden incorporar nitrógeno atmosférico en moléculas orgánicas para poder ser asimilados por las plantas contribuyendo así a su nutrición nitrogenada (Yang, 2022). Los hongos micorrízicos arbusculares, los cuales se

establecen de manera simbiótica en las raíces de las plantas, pueden captar fósforo del suelo, entre otros elementos y agua, para transferirlos a su simbiote vegetal (Smith y Read, 2008). Además, algunos microorganismos son antagonistas a fitopatógenos por lo que pueden impactar en la sanidad vegetal de manera directa (Boro *et al.*, 2022), o algunos otros que pueden inducir mecanismos de defensa propios de las plantas que las protegen del ataque de patógenos (Yu *et al.*, 2022). El tipo de agricultura tiene influencia en el tipo de microorganismos que componen un suelo. Por ejemplo, se ha reportado que el policultivo de trigo-chícharo redujo la abundancia de proteobacterias y aumentó el de actinobacterias (Taschen *et al.*, 2017), mientras que un policultivo maíz-soya, la diversidad de hongos micorrízicos arbusculares fue mayor en el policultivo con respecto al monocultivo (Zhang *et al.*, 2020), lo cual podría reflejarse en una mejor estructura del suelo (Lehmann y Rillig, 2015).

Por lo tanto, estudiar el efecto de algunos de los componentes microbianos del suelo en el crecimiento y la inducción de defensa contra patógenos en el sistema de la milpa, particularmente en el bicultivo maíz-frijol, puede generar conocimiento que lo caracterice de mejor manera.

El presente trabajo es parte del proyecto “Biodiversidad en la milpa y su suelo: bases de la seguridad alimentaria de mujeres, adolescentes y niños rurales” y se centra en variedades de maíz y especies de frijol, y microorganismo de suelos utilizados en milpas del municipio de Ayahualulco, Veracruz, particularmente de la comunidad de Ocotepéc. En esta comunidad, se cuenta con parcelas experimentales que han tenido manejos agronómicos diferentes, uno agroecológico consistente en la no labranza y el uso de fertilizante tipo composta, y el tipo convencional en donde se realizó labranza y se aplicaron fertilizantes inorgánicos (P y N), aunque se agregó también estiércol de ovejas (Martínez-Camacho *et al.*, 2022).

En la presente tesis se estudiaron algunos aspectos de tres de los maíces y tres frijoles más comunes de la zona de estudio al interactuar con componentes microbianos de suelos de parcelas de cultivos con estos dos tipos de manejo agronómico, particularmente con inóculos micorrízicos arbusculares y su microbiota acompañante. Esto con la finalidad de generar información que permita comprender el efecto del manejo de estos sistemas agrícolas en el crecimiento, nutrición y la inducción de defensa contra patógenos, y su posible impacto en la productividad de la milpa y, por lo tanto, en la subsistencia de las poblaciones humanas que dependen de ella para su alimentación.

ANTECEDENTES

Agricultura convencional y agroecológica

La agricultura es una de las actividades humanas de mayor importancia, y como tal, ha ejercido una gran presión sobre el medio ambiente. El incremento notable de la producción agrícola se ha debido no solamente a la creciente expansión de la superficie de cultivo, sino también al aumento significativo del uso de insumos de origen industrial, entre los que destacan los fertilizantes y plaguicidas de origen sintético y de combustibles derivados del petróleo. Esto ha tenido consecuencias negativas ya que ha provocado la aceleración de procesos de degradación y contaminación del suelo y la pérdida de hábitats naturales (Andrade, 2016).

Además, en este tipo de agricultura, denominada "convencional", se han normalizado estrategias como el empleo de monocultivos y maquinaria agrícola pesada, entre otras

prácticas. En la agricultura convencional es común tener problemas en los suelos como pérdida de estructura, compactación y fertilidad, por lo que, para mantener niveles altos de producción en cosechas subsecuentes, los productores tienden a aumentar la dosis y frecuencia de aplicación de los agroquímicos, causando deterioros al agroecosistema (Neidy, 2013).

El monocultivo es una práctica de la agricultura convencional en la que se siembran grandes extensiones de terreno con una sola especie vegetal. Desde el punto de vista económico, es una forma rentable y eficiente de llevar a cabo agricultura, pero desde el punto de vista ecológico supone multitud de desventajas (Pineda, 2017).

Por otro lado, el tipo de agricultura con un enfoque agroecológico se basa en el cuidado y/o conservación de la biodiversidad del sistema en sí, con el fin de alcanzar una producción sustentable. Los propósitos principales de este tipo de agricultura son la producción eficiente y estable y la seguridad alimentaria. Los sistemas tradicionales de cultivo suelen cumplir con estos objetivos del manejo agroecológico, y promueven a la vez la subsistencia de la agricultura y cultura familiares, y la recuperación y la preservación de los bienes naturales (Ortega, 2009). Por esta razón las estrategias de manejo agroecológico suelen incorporar prácticas tradicionales de cultivo como son el policultivo, la labranza mínima, la fertilización orgánica, el deshierbe manual y la diversificación y/o rotación de cultivos, particularmente con leguminosas (Gliessman, 2014). Al implementar actividades como labranza mínima y la incorporación de abonos orgánicos se protege la estructura del suelo, se conservan sus comunidades bióticas, incluyendo las redes de micelios de los hongos micorrízicos arbusculares, se estimula la actividad biológica del suelo, y se contribuye a reducir la pérdida del carbono orgánico (Gálvez *et al.*, 2001; Ryan y Graham 2018; Diacono y Montemuro, 2010).

Utilizar fertilizantes de origen orgánico como estiércol, rastrojos y composta alarga la disponibilidad de los nutrientes y devuelve el carbono orgánico al suelo, mejorando sus

propiedades biológicas y estructura al aumentar la actividad microbiana, además se favorece el almacenamiento de agua, limitando los escurrimientos y la lixiviación de nutrientes (Rosen y Allan 2007; Tamburini *et al.*, 2020).

Entre las prácticas agroecológicas que se utilizan en conjunción con las prácticas tradicionales, se encuentra el uso de inóculos microbianos como biofertilizantes, que permite aumentar la disponibilidad de los nutrientes del suelo para los cultivos, y representa una alternativa al empleo de fertilizantes químicos utilizados en la agricultura de tipo convencional, cuyo uso excesivo ocasiona problemas de contaminación en el ambiente (Bever *et al.*, 2010). El uso de microorganismos benéficos, tales como fijadores de nitrógeno, solubilizadores y captadores de fósforo, por mencionar algunos, contribuyen a la sostenibilidad de los sistemas agrícolas (Singh *et al.*, 2011).

Milpa

En la milpa se cultivan simultáneamente diversas especies vegetales. Como el maíz es su principal elemento, en algunas regiones el término “milpa” es considerado como un sinónimo de cultivo de maíz o de la planta misma del maíz (Buenrostro, 2009). Comúnmente es empleada en agricultura de temporal sin el uso de agromaquinaría, la diversidad de cultivos favorece la resiliencia del agroecosistema favoreciendo el control de plagas y enfermedades (Ebel *et al.*, 2017), también contribuye a aumentar la diversidad alimentaria de las personas que se dedican a esta actividad productiva. En el policultivo de la milpa, se suelen cultivar simultáneamente maíz, frijol y calabaza, sin embargo, también se pueden encontrar otras especies vegetales. Ávila-Bello *et al.* (2018) reportaron que en los Tuxtlas, Veracruz, México los sistemas de milpa pueden estar compuestos por hasta diez especies de plantas en las que se incluyen frijol, yuca, tomate, quelites, calabaza, chile, entre otros. Un estudio en comunidades del estado de Oaxaca, México reveló que la milpa (en este caso policultivo de maíz y frijol) produjo todos los nutrientes y vitaminas (con la excepción de B12)

requeridos para alimentar a 2 personas por hectárea, mientras que los monocultivos de maíz y frijol tuvieron más deficiencias en nutrientes (Novotny *et al.*, 2021). Un valor similar (0.44 ha/persona o 2 personas por 0.88 ha) fue calculado para la milpa de una comunidad maya-lacandona de Chiapas, México (Falkowski *et al.*, 2019). Ya que la milpa es un sistema de producción que provee de alimentos a las comunidades rurales, la milpa representa un componente crucial para la seguridad alimentaria (Leyva-Trinidad *et al.*, 2020).

Lograr un entendimiento sobre la importancia de la milpa para la seguridad alimentaria es complejo, debe considerarse la productividad total del sistema y la variedad de alimentos que provee, esta no se mide como el nivel de productividad de los cultivos involucrados de forma individual. (Fonteyne *et al.*, 2023). En un estudio de comunidades de montaña en Guatemala evaluaron alrededor de 5000 familias encontrando que aquellas dedicadas al policultivo de milpa tenían mayor seguridad alimentaria que aquellas que sembraban únicamente monocultivos (López-Ridaura *et al.*, 2019). Pleasant (2016) comparó los aportes nutrimentales y el rendimiento del sistema de milpa (maíz, frijol y calabaza) con estas mismas especies vegetales en monocultivo, y reportó que el sistema milpa produce más proteína (346kg/ha) y energía (12.25 x 10⁶ kcal/ha) al compararse con el monocultivo.

El sistema productivo de la milpa se basa en conocimientos tradicionales, los cuales han sido el resultado de la interacción de las comunidades con la naturaleza y con los recursos que esta les provee. En la mayor parte del país la integración de un sistema de agricultura convencional a los sistemas de milpa ha comprometido la seguridad alimentaria de las familias dedicadas a este tipo de cultivo.

Situación actual de la milpa en México

La milpa es un sistema en el cual la agrodiversidad del sistema favorece el control biológico de plagas y enfermedades (Altieri, 2009), La siembra de milpas data de la época prehispánica, sin embargo, a partir de la segunda mitad del siglo XX se empezó a promover

el empleo de un sistema agrícola basado en el uso de monocultivos, agroquímicos, variedades mejoradas y maquinaria pesada (Aguilar *et al.*, 2003, Sangabriel-Conde, *et al.* 2013). A partir de ese momento, los agricultores comenzaron a reemplazar las prácticas de conservación de la diversidad por el cultivo de una sola especie vegetal. Aunque el desarrollo de la agricultura tecnificada resultó en aumentos significativos de producción en algunas regiones del país, como en el noroeste, en otras, la conversión no fue beneficiosa (Sweenwy *et al.*, 2013). Una de las consecuencias de este cambio fue que el uso excesivo de fertilizantes de origen inorgánico provocó que la actividad microbiana de los suelos agrícolas se viera limitada por el poco suministro de nutrientes orgánicos (Dinesh *et al.*, 2010). Por otra parte, el empleo de la agricultura moderna/intensiva provocó pérdida de la biodiversidad y esta pérdida produjo una reducción de la productividad (Lanz, *et al.*, 2018), disminuyendo también la capacidad de resistir a plagas y enfermedades (Altieri y Nicholls, 2007) en detrimento de la productividad. Además, la actividad agrícola intensiva se sustenta en un alto empleo de agroquímicos para el control de plagas y este empleo desmedido genera contaminación en los ecosistemas terrestres y marinos (García-Gutiérrez y Rodríguez-Meza, 2012). Por otro lado, la conversión de la milpa a la agricultura tecnificada presenta requerimientos que no pueden cumplirse en algunas regiones, como la disponibilidad de maquinaria o de recursos económicos para adquirir los insumos necesarios.

Zona de estudio

La presente tesis es parte del proyecto transdisciplinario e interinstitucional “Biodiversidad en la milpa y su suelo: bases de la seguridad alimentaria de mujeres, adolescentes y niños rurales”, cuyos antecedentes fundamentales se describen a continuación:

El proyecto se encuentra ubicado geográficamente en la zona de influencia del Parque Nacional del Cofre de Perote (PNCP), en Veracruz, México.

La parte del proyecto que involucra se desarrolla utilizando materiales vegetales y microbiológicos de la localidad de Ocotepéc en el municipio de Ayahualulco que se encuentra entre 1700-2600 msnm en la zona de influencia del PNCP. En esta zona geográfica se produce principalmente milpa de montaña. En este estudio participan pequeños productores con área de cultivo de no más de 5 ha por productor, mismas que son utilizadas para siembra de milpas de autoconsumo.

La presente tesis se ha enfocado en estudiar el efecto de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMAs) y su microbiota acompañante provenientes de suelos con dos sistemas de manejo agrícola en el crecimiento, nutrición y la defensa contra patógenos de maíces y frijoles utilizados en milpas de Ocotepéc, Veracruz; en uno de estos se han empleado estrategias agroecológicas por nueve años (6 parcelas), las cuales han consistido en el uso de fertilización totalmente orgánica aplicando fermentado Bokashi (elaborado con rastrojo, estiércol de oveja, ceniza, pulque, tierra y azúcar) además de no realizar labranza. El otro sistema agrícola evaluado es el denominado convencional (6 parcelas), el cual ha consistido en la realización de labranza, aplicación de estiércol de oveja y fertilizantes de origen inorgánico (aproximadamente 4 kg de N y 1.56 kg de P por área) (Martínez-Camacho *et al.*, 2022). Los inóculos de HMAs obtenidos de parcelas con manejo tipo convencional (TC) y tipo agroecológico (TA) fueron evaluados en plantas de maíces y frijoles crecidos en macetas con sustrato estéril y con fertilización controlada.

Debido a que existe una gran diversidad de genotipos de maíz y especies de frijol cultivados en la zona de estudio, y también ya que la interacción de una planta con los microorganismos del suelo es altamente dependiente del genotipo (Mora-Romero *et al.*, 2015; Rotori *et al.*, 2024) se seleccionaron tres maíces y tres frijoles nativos para llevar a cabo el estudio.

Maíz

El maíz, es el eje principal de la milpa, y tal como se conoce actualmente, proviene de una forma silvestre de la misma especie conocida como teocinte, el cual posee una inflorescencia femenina y semillas muy diferentes a las del maíz actual. Es posible que ninguna otra especie se adapte a tantos tipos de ambientes y presente una variación tan grande en cuanto a características de interés humano como el maíz. Además, existe una gran diversidad de maneras en las que se utiliza el maíz, por lo que, en este sentido no tiene comparación con otras especies domesticadas (Perales, 2009).

El maíz, junto con otras plantas cultivadas, ha sido el sustento fundamental de varias civilizaciones de Mesoamérica y progresivamente se ha convertido en el cereal de mayor importancia para la humanidad. Desde épocas prehispánicas el maíz se ha ido adaptado a una gran variedad de condiciones, tanto climáticas como edáficas, principalmente por su extraordinaria plasticidad genética. Es a partir del siglo XX que esta plasticidad genética ha sido estudiada ampliamente, desde un enfoque científico. En la actualidad el maíz sigue aportando productos para la alimentación humana, animal y materias primas para la industria (Guerrero, 2013).

En México, ninguna otra planta de interés agrícola tiene tanta importancia como el maíz. Se siembra en todos los estados, climas y altitudes, tiene también importantes valores culturales, simbólicos y espirituales (Polanco y Flores, 2008).

Desde una perspectiva socioeconómica, 3.1 millones de agricultores, desde los grandes productores hasta los de subsistencia, cultivan maíz y 12.5 millones de personas están vinculadas a su producción.

Frijol

En el grupo de las leguminosas comestibles, el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las más relevantes debido a su distribución a nivel mundial, además de ser un

componente nutricional indispensable en la dieta debido a su alto contenido proteico (20-25%). El frijol ha sido un elemento tradicionalmente importante, no solo en México, sino en toda América latina, y en general en una gran cantidad de países en vías de desarrollo (García Mendoza, 2009).

Esta leguminosa se originó y domesticó en América latina y tiene dos orígenes geográficos y genéticamente diferenciables, Mesoamérica y los Andes, pero que derivan de un ancestro común. En México y América del sur, el frijol común se domesticó de manera independiente hace aproximadamente 8,000 años (Bitocchi *et al.*, 2013). Particularmente en México, es la leguminosa de mayor consumo y representa el 36 % de la ingesta diaria de proteínas de la población (Flores, 2015).

Tradicionalmente la milpa tiene tres cultivos centrales, el maíz, el frijol y la calabaza, aunque también suele presentar otras especies vegetales comestibles, tales como el chile y diversos quelites; En este tipo de cultivo el maíz sirve de apoyo y guía a la enredadera de frijol, y este último establece simbiosis en el suelo con bacterias fijadoras de nitrógeno, lo cual favorece la nutrición nitrogenada de la comunidad de plantas (Álvarez *et al.*, 2016).

Hongos micorrízicos arbusculares

La simbiosis micorrízica arbuscular es una asociación entre un grupo de hongos que habitan en el suelo y las raíces de las plantas. En esta interacción, el hongo micorrízico recibe compuestos carbonados de la planta en forma de carbohidratos y lípidos, mientras que la asociación favorece a la planta mejorando su capacidad para adquirir nutrientes y agua a través del hongo, y al mismo tiempo, mejora su capacidad de tolerar diferentes tipos de estrés (Smith y Read, 2008). Como resultado de una mejor nutrición, la asociación simbiótica puede inducir un aumento en el crecimiento, aunque esto depende de la especie vegetal (Jung *et al.*, 2012).

Los hongos micorrízico arbusculares (HMA) son uno de los componentes del suelo que se puede ver afectado por la agricultura tecnificada de monocultivos e insumos sintéticos, particularmente cuando se utilizan niveles altos de fertilización, ya que la asociación simbiótica que estos organismos establecen con las plantas se ve inhibida, en particular por la fertilización elevada en fósforo (Smith y Read, 2008). Una inhibición similar ocurre con las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno y los fertilizantes nitrogenados. La abundancia y diversidad de estos microorganismos puede tener efectos positivos en un cultivo porque permite establecer interacciones microbianas más diversas y abundantes con las plantas. Estos microorganismos promueven principalmente una mejor nutrición fosfatada y nitrogenada, respectivamente. Además de las ventajas nutricionales, existe bastante evidencia que demuestra que la simbiosis micorrízica arbuscular induce una disminución de la susceptibilidad de la planta colonizada contra enfermedades y plagas (Weng *et al.*, 2022), aunque los mecanismos bioquímicos y moleculares que regulan dicha respuesta no están totalmente elucidados. Se ha asociado este aumento de defensa inducida por micorrización a la síntesis de jasmonatos (Pozo y Azcón-Aguilar, 2007). Es posible que esta inducción de defensa por micorrización sea del tipo de la resistencia sistémica inducida, tal como sucede con la defensa inducida por bacterias benéficas (Cameron *et al.*, 2013).

Debido a que los sistemas agrícolas actuales utilizan niveles de fertilización que usualmente inhiben el establecimiento de la simbiosis micorrízica arbuscular, algunas especies no pueden beneficiarse de la resistencia inducida por la micorrización bajo esas condiciones de cultivo. En contraste, los sistemas que utilizan estrategias más agroecológicas, en lugar de fertilización química y labranza, permiten el establecimiento de esta simbiosis y, por lo tanto, favorecen la inducción de defensa contra plagas y enfermedades en el simbiote vegetal.

La característica de la simbiosis micorrízica arbuscular de inducir resistencia a patógenos es dependiente de la especie o variedad de planta (Mora-Romero *et al.*, 2015;

Rotoni *et al.*, 2024), por lo que no se puede asumir que todos los genotipos sean capaces de manifestar este mecanismo de defensa. La defensa inducida por micorrización es una característica que debe evaluarse por genotipo.

Ya que la colonización micorrízica arbuscular ha demostrado aumentar la nutrición fosfatada en diversas especies vegetales (Smith y Read, 2008), y está reportado que la diversidad de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) es favorecida en sistemas agroecológicos como la milpa (Dai *et al.*, 2014) en este trabajo se planteó investigar si inóculos micorrízicos provenientes de suelos de parcelas con manejo agroecológico promueven el crecimiento en plantas de maíz y frijol con respecto a inóculos provenientes de suelos con manejo convencional. Por otro lado, existe evidencia abundante de que el establecimiento de la colonización micorrízica induce en las plantas colonizadas defensa contra patógenos (Weng *et al.*, 2022), sin embargo, la mayoría de estos trabajos se han llevado a cabo con una sola especie de hongo micorrízico y no con inóculos complejos, como en el presente trabajo. Por lo tanto, otra pregunta a responder fue si inóculos provenientes del sistema agroecológico inducen la defensa por micorrización en mayor medida con respecto a los inóculos provenientes del sistema convencional. Esto basado en evidencias que indican que suelos con manejo orgánico contenían más biomasa de bacterias y hongos, tanto saprotróficos como micorrízicos arbusculares (Martínez García *et al.*, 2021; Sünnemann *et al.*, 2021), lo cual favorecería la colonización micorrízica y posiblemente la defensa contra patógenos, comparado con el sistema de agricultura tipo convencional.

En este trabajo se estudiaron tres genotipos de maíz y tres especies de frijol. Particularmente en el caso de frijol, se ha reportado que el grado de domesticación de los tres frijoles es distinto (Locqueville *et al.*, 2022), lo cual podría estar definiendo su repuesta a la interacción con los diferentes inóculos probados. Por lo anterior, se investigó si el

crecimiento, el contenido de P y N, y la defensa inducida por micorrización varían en función del genotipo de maíz o la especie de frijol analizada.

Por otro lado, hay evidencia que indica que la diversidad de especies sembradas en un sitio favorece el control de plagas y enfermedades (Letourneau *et al.*, 2011), sin embargo, se desconoce si la inducción de defensa por micorrización es afectada por el co-cultivo de las especies vegetales, por lo tanto, en este trabajo se investigó si el co-cultivo de una planta de maíz con una de frijol tiene impacto en la defensa inducida por micorrización con respecto al monocultivo.

Nodulación en leguminosas

Las leguminosas (como el frijol) tienen la capacidad de mantener una relación simbiótica con bacterias presentes en el suelo, estas bacterias pueden fijar el nitrógeno atmosférico (N_2), un elemento esencial para la nutrición y el crecimiento vegetal en los cultivos (Simon *et al.*, 2014), a cambio de la obtención de carbono y aminoácidos (Fred *et al.*, 1932). Las bacterias del género *Rhizobium* poseen la capacidad de transformar el N_2 en una forma utilizable por las plantas (Guzmán y Montero, 2021).

Para que se lleve a cabo la infección por rizobias en las raíces de las plantas y, posteriormente se produzca la fijación de nitrógeno atmosférico en los nódulos, las bacterias deben atravesar la epidermis y la zona de la corteza de la raíz. La infección puede ocurrir de diversas formas, pero la más común es mediante la formación de hilos de infección que se ubican en los pelos radicales nuevos que se encuentran en proceso de formación y crecimiento (Figura 1), cuando el hilo de infección crece atraviesa las células hasta llegar al córtex interno de la raíz y posteriormente se forma el nódulo. Los nódulos pueden ser de crecimiento determinado (como en el caso de frijol; presentan una apariencia esférica) o

indeterminado (poseen células meristemáticas que se encuentran en constante división y le permiten al nódulo seguir creciendo) (Oldroyd *et al.*, 2011; Gage, 2004).

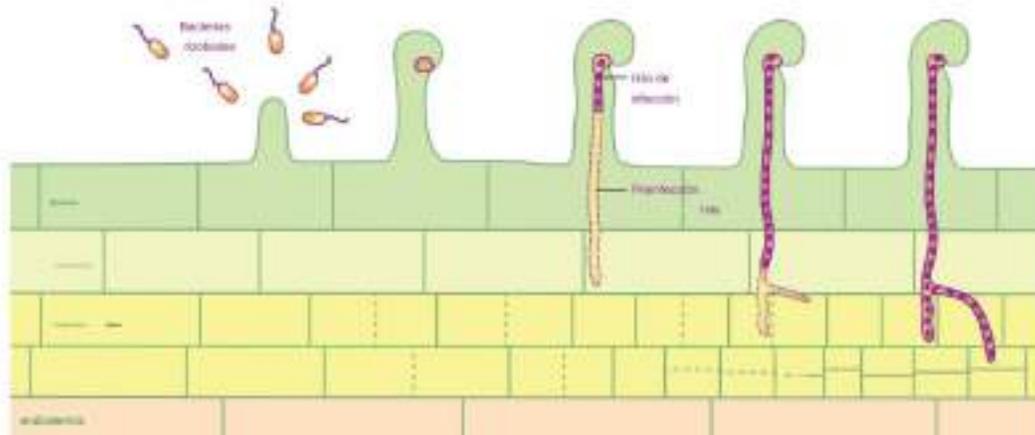


Figura 1. Formación del hilo de infección producido por bacterias del género *Rhizobium* en los pelos radicales de leguminosas (imagen recuperada de Oldroyd *et al.*, 2011).

Ya ha sido reportado que se puede llevar a cabo una interacción tripartita entre rizobias, HMAS y plantas hospedera; Lara-Capistrán y colaboradores (2019) realizaron un experimento en campo en el cual evaluaron la inoculación con cepas de HMAs, *Rhizobium etli* (de forma individual y en asociación) y el empleo de fertilización inorgánica reducida en frijol (*Phaseolus vulgaris L.*), reportando que la co-inoculación + la fertilización reducida mejora significativamente la calidad del grano en contraste con los demás tratamientos (HMAs, *Rhizobium*, HMAs + *Rhizobium*, fertilizado, HMAs + fertilización reducida, *Rhizobium* + fertilización reducida, HMAs + *Rhizobium* + Fertilización reducida).

Fitopatógenos en la agricultura

Existen una multitud de enfermedades provocadas por diferentes factores que pueden atacar a los cultivos agrícolas. Estas enfermedades son causadas por agentes patogénicos, que pueden ser de índole nutricional, ambiental y/o biológico. Las enfermedades causadas

por organismos patógenos pueden ser provocadas por bacterias, virus, micoplasmas, nemátodos, protozoarios, hongos, entre otros (Agrios, 2005). Hay evidencia de que los sistemas agrícolas suelen tener dificultades debido a la presencia de fitopatógenos que impactan de forma negativa a una gran cantidad de cultivos de interés agrícola (Back *et al.*, 2002; Leiva-mora *et al.*, 2020; Navarro *et al.*, 2021), debido a lo anterior, en el presente estudio se seleccionaron dos hongos fitopatógenos (*S. sclerotiorum* y *E. túrcicum*; para frijol y maíz, respectivamente) como modelos de estudio para evaluar el posible efecto de los HMAs sobre la inducción de defensa por micorrización.

Sclerotinia sclerotiorum

Las consecuencias en el rendimiento provocadas por enfermedades ocasionadas por *Sclerotinia* en cultivos agrícolas vulnerables pueden ser variables, sin embargo, estas pueden alcanzar hasta el 100 por ciento de la producción (Purdy, 1979). *S. sclerotiorum* es un hongo necrótrofo que ataca una gran diversidad de especies de cultivo de interés económico, destacan el frijol, tomate, cacahuate, soya, girasoles, zanahoria y papa, entre otras (Saharan y Naresh, 2008). Los primeros signos de la enfermedad se presentan como manchas irregulares, suaves y acuosas, que en climas húmedos se expanden rápidamente, estas manchas se cubren por la aparición del micelio blanco del hongo (Figura 2) (Saharan y Naresh, 2008).



Figura 2. Infección de moho blanco en las vainas de frijol. (Imagen recuperada de Saharan y Naresh, 2008).

S. sclerotiorum tiene la capacidad de generar estructuras de resistencia conocidas como esclerocios, estas le permiten al hongo sobrevivir en el suelo largos períodos de tiempo ya que pueden mantenerse viables durante algunos años, incluso en condiciones desfavorables. Posteriormente, cuando las condiciones ambientales se vuelven favorables (suelos húmedos y temperaturas que oscilan entre 10 y 20°C), las estructuras de resistencia germinan e infectan la planta, en etapas iniciales del desarrollo de lesión, es posible que las plantas no muestren signos evidentes de enfermedad. No obstante, conforme el hongo progresa a los tallos principales, puede ocurrir el marchitamiento. Al agotar los nutrientes del huésped el micelio produce esclerocios y esto reanuda el ciclo de la enfermedad (Figura 3) (Zanatta *et al.*, 2019; Fernando *et al.*, 2004; Reich y Chatterton, 2023; Bolton *et al.*, 2006).

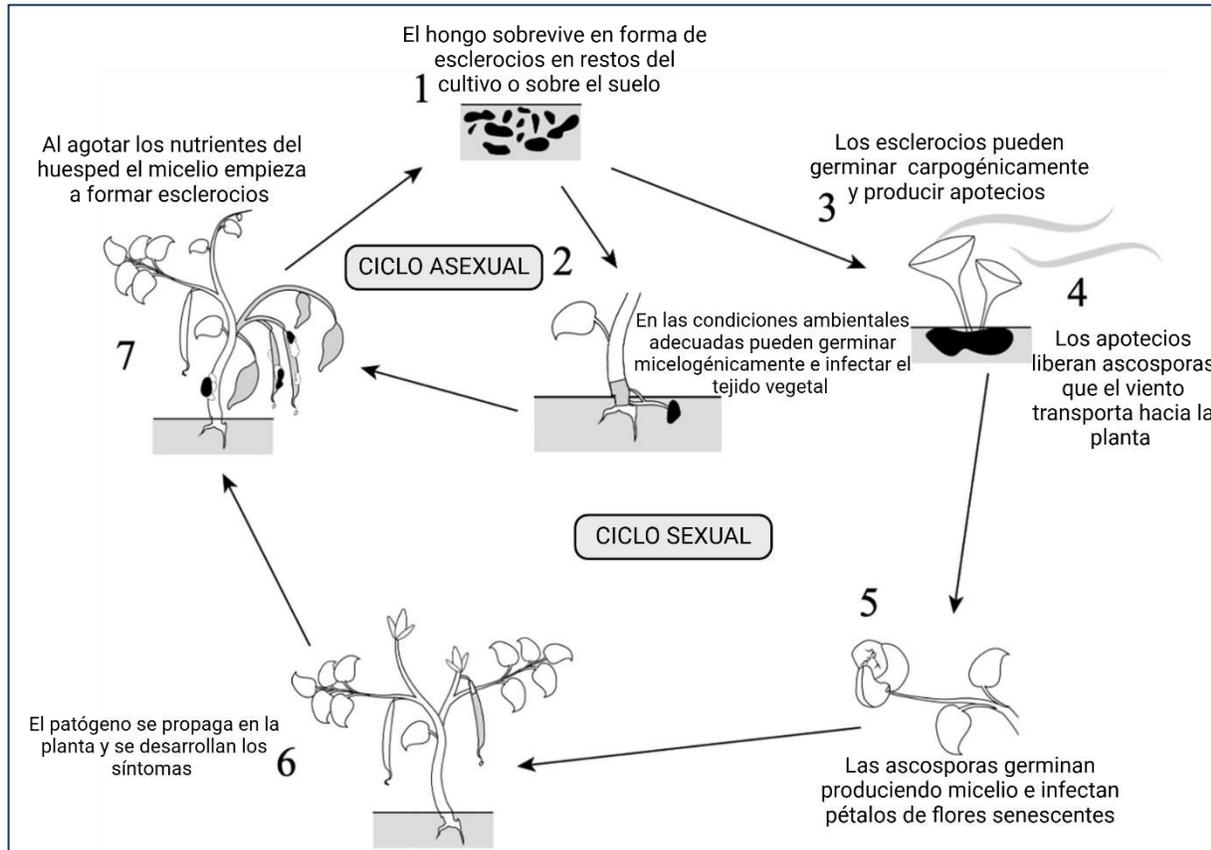


Figura 3. Ciclo de vida de *Sclerotinia sclerotiorum*. **CICLO ASEJUAL:** El hongo sobrevive en forma de esclerocios sobre los restos del cultivo agrícola o en el suelo (1), bajo las condiciones ambientales correctas los esclerocios germinan micelógicamente e infectan el tejido vegetal (2), al agotar los nutrientes de la planta el micelio empieza a formar esclerocios y se reinicia el ciclo (7). **CICLO SEXUAL:** Los esclerocios germinan carpogénicamente y producen apotecios (3), los apotecios producen y liberan ascosporas que el viento transporta hacia la planta (4), las ascosporas germinan produciendo micelio e infectan los pétalos de las flores en senescencia (5), el patógeno se propaga en la planta huésped y se desarrollan los síntomas de la enfermedad (6), finalmente, al agotar los nutrientes disponibles, el micelio empieza a formar esclerocios y se reanuda el ciclo (7) (Modificado de Reich y Chatterton, 2023).

Exserohilum turcicum

La enfermedad conocida como tizón foliar en maíz es ocasionada por el agente patógeno *Exserohilum túrcicum*, de acuerdo con lo reportado por Félix-Gastélum y colaboradores en el 2018, es un hongo altamente dependiente a la humedad ($\geq 90\%$) razón por la cual provoca afectaciones mayores en zonas de climas húmedos. La enfermedad afecta la fotosíntesis y causa una disminución significativa en el rendimiento de grano, que puede variar entre 28% y 91% (Reddy *et al.*, 2013).

Los primeros síntomas de la enfermedad se manifiestan en las hojas, en cualquier fase del desarrollo de la planta, aunque suelen aparecer generalmente después de la floración, observándose lesiones ovaladas y alargadas de coloración verde grisácea o marrón de diversos tamaños (Figura 4) (Félix-Gastélum *et al.*, 2018; Reddy *et al.*, 2013).



Figura 4. Lesiones necróticas del tizón foliar del maíz inoculado artificialmente con *E. túrcicum* en invernadero (Imagen recuperada de Félix-Gastélum *et al.*, 2018).

JUSTIFICACIÓN

La milpa es un sistema de producción de policultivo, en donde se crecen simultáneamente plantas de maíz en combinación con otras especies vegetales como frijol, calabaza, chile, tomate, entre otras. La diversidad vegetal de la milpa influye a su vez en la diversidad de microorganismos del suelo, tales como los hongos micorrízicos arbusculares (Zhang *et al.*, 2020; Morales *et al.*, 2022; Maitra, 2019), de tal manera que podría predecirse que el aumento en la diversidad vegetal de la milpa conduciría a una mayor productividad derivado de la mejora nutricional por la acción de estos microorganismos benéficos en las plantas, además de un aumento en la defensa contra enfermedades y plagas. Suelos de sistemas agrícolas en donde el manejo involucra incorporación de insumos agroquímicos, labranza y monocultivo, por su parte, presentan disminución de la diversidad de microorganismos por lo que las elevadas producciones en estos sistemas están sostenidas en el uso de insumos externos, más que en la actividad de los componentes internos como los microorganismos del suelo. La composición de las comunidades microbianas en los suelos de diferentes sistemas de cultivo es de esperar que no sean iguales y que tengan distintas influencias en las plantas cultivadas. En el presente trabajo se compararán plantas de tres diferentes morfotipos de maíces y tres especies de frijoles más comúnmente utilizados en el municipio de Ocotepéc, Veracruz, adicionados con inóculos microbianos (principalmente de hongos micorrízicos arbusculares o HMAs) aislados de suelos de parcelas que han tenido un manejo de tipo convencional (monocultivos y uso de fertilizantes industriales) y se compararán con plantas de los mismos maíces y frijoles adicionados con inóculos microbianos conteniendo HMAs aislados de suelos de parcelas que han tenido manejo en el que se han incorporado estrategias agroecológicas durante ocho años (suspensión del arado, aplicación de fertilizantes de origen orgánico; fermentado bokashi, y la diversificación de cultivos; triada mesoamericana más la adición de leguminosas y verduras de hoja verde, empleo de diferentes morfotipos de maíz). La aplicación de los inóculos será tanto en plantas individuales como en bicultivos de cada uno de los maíces

utilizados con el frijol Gordo, el cual es el más común en la zona de estudio. Este trabajo permitirá generar información respecto al efecto de los inóculos de hongos micorrízicos arbusculares aislados de suelos con dos sistemas de manejo en plantas de maíz y frijol criollas en cuanto a crecimiento, contenido de nutrientes y defensa contra patógenos.

HIPÓTESIS

1. Plantas de maíz y frijol con inóculos de HMAs (M) presentan mayor crecimiento, contenido de P y N, nodulación, y mayor defensa contra patógenos con respecto a plantas con inóculo NM (sin esporas de HMAs).
2. Plantas de maíz y frijol con inóculos de parcelas TA (tratamiento agroecológico) presentan mayor % colonización micorrízica, crecimiento, contenido de P y N, nodulación y mayor defensa contra patógenos con respecto a plantas con inóculos TC (tratamiento convencional).
3. Frijoles y maíces crecidos en monocultivo presentan mayor porcentaje de micorrización, crecimiento, contenido de P y N y nodulación, pero menor defensa con respecto a los crecidos en bicultivo.
4. Las tres especies de frijol y los tres morfotipos de maíz presentan diferente respuesta de crecimiento, % de micorrización, contenido de P y N (para maíz y frijol), nodulación y defensa (para frijol).

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de inóculos de HMAs provenientes de suelos con **manejo TA y TC** sobre el porcentaje de micorrización, crecimiento, contenido de P y N, la nodulación y la defensa contra un patógeno foliar en tres morfotipos de maíz; Blanco, Negro y Amarillo, tres especies de frijol; Gordo, Enredador y Ayocote y bicultivo de frijol Gordo con los tres maíces.

Objetivos específicos

1. Determinar el efecto del inóculo de HMAs en el crecimiento, contenido de P y N, nodulación y la defensa de los maíces y frijoles estudiados con respecto al control NM.
2. Determinar el efecto del inóculo de HMAs provenientes de parcelas TA en el porcentaje de colonización micorrízica, crecimiento, contenido de P y N, nodulación y la defensa de los maíces y frijoles estudiados con respecto a inóculos de TC.
3. Determinar el efecto del monocultivo de frijoles y maíces sobre el crecimiento, el porcentaje de micorrización, el contenido de P y N, la nodulación y la defensa con respecto a los crecidos en bicultivo.
4. Determinar el efecto de la especie (frijol) o morfotipo (maíz) en el crecimiento, porcentaje de micorrización, contenido de P y N, nodulación y la defensa contra un patógeno foliar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Montaje de los experimentos en invernadero

Las plantas fueron crecidas en condiciones de casa-sombra. Plantas de frijol y maíz se cultivaron en mono (una planta por maceta) y bicultivo (una planta de maíz y una de frijol por maceta) y fueron sembradas en sustratos inertes adicionados con dos tipos de inóculos micorrízicos: 1) inóculo de esporas aisladas de suelos de parcelas del municipio de Ocotepéc, Veracruz con manejo agronómico de tipo agroecológico (TA; parcelas en las que no se realizó labranza y la fertilización fue de origen totalmente orgánico con fermentado bokashi a base de rastrojo, estiércol de oveja, ceniza, pulque, tierra y azúcar), y 2) inóculo de esporas proveniente de suelos de parcelas con manejo agronómico incorporando estrategias de tipo convencional (TC; parcelas en las que se realizó labranza previa a siembra, aplicación de estiércol de oveja, uso de fertilizantes de origen inorgánico) (Martínez-Camacho *et al.*, 2022). Para el análisis de monocultivo con respecto a bicultivo en maíz, plantas de maíz de cada morfotipo en monocultivo fueron comparadas con plantas de maíz de cada morfotipo en bicultivo con frijol Gordo. Por otro lado, frijol en monocultivo de frijol Gordo fue contrastado con la condición en bicultivo con los tres morfotipos de maíz (frijol enredador y frijol ayocote no fueron estudiados en bicultivo por limitaciones en la cantidad de semilla). A manera de control se incluyeron plantas inoculadas con el último lavado de las esporas micorrízicas (NM) conteniendo la microbiota acompañante del inóculo micorrízico, el número de réplicas por tratamiento fue de seis. El diseño fue un factorial completamente al azar.

Experimento de frijol en monocultivo

Los factores y sus niveles fueron A) origen del inóculo (TA y TC), B) micorrización [plantas micorrizadas (M) y plantas no micorrizadas (NM)] y C) especie [Gordo (FG, Enredador (FE) y Ayocote (FA)]. Se analizaron como variables dependientes 1) producción

de biomasa (peso seco total de la planta en g), 2) porcentaje de micorrización, 3) contenido de fósforo foliar (mg/kg), 4) contenido de nitrógeno foliar (%), 5) nodulación (número de nódulos/g de raíz) y 6) defensa contra un patógeno foliar (área de lesión en cm²).

Experimento de frijol Gordo (FG) en bicultivo

Los factores y sus niveles fueron A) origen del inóculo (TA y TC), B) micorrización (M y NM) y C) mono-bicultivo [FG, FG-maíz Blanco (MB), FG-maíz Negro (MN) y FG-maíz Amarillo (MA)]. Se analizaron como variables dependientes 1) producción de biomasa (peso seco total de la planta en g), 2) porcentaje de micorrización, 3) contenido de fósforo foliar (mg/kg), 4) contenido de nitrógeno foliar (%), 5) nodulación (número de nódulos/g de raíz) y 6) defensa contra un patógeno foliar (área de lesión en cm²).

Experimento de maíces en monocultivo

Los factores y sus niveles fueron A) origen del inóculo (TA y TC), B) micorrización (M y NM) y C) morfotipo (MB, MN y MA). Se analizaron como variables dependientes: 1) producción de biomasa (peso seco total de la planta en g), 2) porcentaje de micorrización, 3) contenido de fósforo foliar (mg/kg) y 4) contenido de nitrógeno foliar (%).

Experimento de maíces en bicultivo con frijol Gordo (FG)

Los factores y sus niveles fueron A) origen del inóculo (TA y TC), B) micorrización (M y NM) y C) mono-bicultivo (MB, MB-FG, MN, MN-FG, MA y MA-FG). Se analizaron como variables dependientes: 1) producción de biomasa (peso seco total de la planta en g), 2) porcentaje de micorrización, 3) contenido de fósforo foliar (mg/kg) y 4) contenido de nitrógeno foliar (%).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza factorial (ANDEVA) considerando un valor de $p \leq 0.05$, se utilizó la prueba de Tukey con un $\alpha \leq 0.05$ en el análisis de significancia entre tratamientos, además, se verificó que los residuales de los modelos mostraran una distribución normal mediante gráficas QQplot. Para los casos en los que los residuales del modelo no presentaron normalidad, la variable original fue transformada empleando logaritmo natural o raíz cuadrada, cuando las variables eran porcentuales (colonización y contenido de nitrógeno) los datos fueron transformados utilizando arcoseno de la raíz cuadrada. Posterior a las transformaciones se ajustaron los modelos y se verificó que los residuales cumplieran con una distribución normal (Apéndice A: frijol en monocultivo, apéndice B: frijol en bicultivo con maíces, apéndice C; maíz en monocultivo, y apéndice D; maíces en bicultivo con FG). Solo fueron probadas las interacciones de segundo orden.

Obtención del inóculo micorrízico

El inóculo de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMAs) fue extraído de muestras de suelo de 12 parcelas en la comunidad de Ocotepéc, Veracruz. Seis de estas parcelas recibieron el siguiente manejo (el cual se le ha denominado en este trabajo de tipo convencional (TC): se realizó labranza previa a la siembra, se aplicó estiércol de oveja y fueron empleados fertilizantes inorgánicos (aprox. 4 kg N y 1.56 kg P por parcela; aplicados 6 semanas posteriores a la siembra, en la base de las plantas). Por otro lado, las otras seis parcelas fueron denominadas de tipo agroecológico (TA) y recibieron el siguiente manejo: previo a la obtención de los suelos para el experimento de esta tesis, las parcelas pasaron por un experimento de diversificación de cultivos que incluía la adición de leguminosas y verduras de hoja verde a la tríada mesoamericana (maíz, frijol y calabaza), y la mezcla de diversos morfotipos de maíz, (Martínez-Camacho *et al.*, 2021), además, no se realizó labranza y la fertilización fue totalmente inorgánica con aplicación de fermentado bokashi

elaborado a base de rastrojo de estiércol de oveja, ceniza, pulque, tierra y azúcar sin refinar. Para la obtención de los inóculos se aplicó el muestreo de cinco de oros, en cada parcela se tomaron cinco submuestras de 2 kg y posteriormente se mezclaron para obtener la muestra general por parcela.

Para el aislamiento de esporas fue empleado el método de tamizado húmedo (Brundrett *et al.*, 1996). Para cada muestra de suelo se tomaron por triplicado sub-muestras de 5 g de suelo y se colocaron en un volumen de agua en una relación 1:3 (g/mL) al menos por 30 min. Posteriormente, se filtraron a través de tres mallas sucesivas de diferente tamaño de poro: 1 mm, 250 μ m y 53 μ m bajo el chorro leve de agua corriente. Para cada muestra fueron recolectados los filtrados detenidos en la malla 53 μ m, y se colocaron en un tubo de polipropileno de 50 mL. Se aforaron a un volumen uniforme todos los tubos con agua destilada y se sometieron a centrifugación a 2000 rpm durante 5 min. Se descartó el sobrenadante y la pastilla fue resuspendida con 25 mL de una solución de sacarosa al 50% (azúcar común, 1:1 g/ml). Se centrifugó de nuevo a 2000 rpm por 1 min. En un tubo limpio se recuperó únicamente el sobrenadante sin suelo.

Conteo y obtención de esporas

Cada muestra (sobrenadante de sacarosa) fue sometida a un lavado a través de una tela de nylon de 53 μ m de poro con abundante agua destilada y posteriormente visualizada bajo el estereoscopio (sobre una caja Petri cuadrículada) con el objetivo 4X. Las esporas que presentaron integridad física fueron cuantificadas y los resultados expresados en número de esporas por kg de suelo.

Con estos conteos fue calculada la cantidad de suelo a tamizar para obtener 10,000 esporas por parcela. Posteriormente se mezclaron los suelos de las seis parcelas con tratamiento convencional o agroecológico para obtener 60,000 esporas para cada tipo de manejo. Esta muestra compuesta por las seis parcelas fue tamizada de nuevo y se

resguardaron las esporas detenidas en la malla 53 μm a 4°C para su posterior uso como inóculo para los tratamientos con HMAs. Se aplicaron 1000 esporas por maceta.

Preparación del inóculo y el control sin esporas

El agua filtrada del último lavado de las esporas fue recuperada y filtrada nuevamente a través de un papel filtro de poro grueso para eliminar cualquier espora que inadvertidamente se encontrara en el agua filtrada. Este filtrado se aplicó en los tratamientos sin HMAs en el bioensayo como control negativo (NM).

El inóculo fue resuspendido en 8 L de agua destilada, posteriormente se homogenizó y se tomaron de 4-5 alícuotas de 1 ml para cuantificación y corroboración del número de esporas totales separando las esporas por gradiente de sacarosa. El volumen del inóculo se ajustó para tomar 1000 esporas en 200 ml para los tratamientos con esporas (M). El mismo volumen fue empleado para el control en los tratamientos sin esporas (NM).

Preparación de semillas

Semillas de maíz

Las semillas fueron sumergidas en solución diluída de Tween 20 (5 gotas en 100 ml de H₂O destilada estéril), posteriormente se sonicaron durante 5 minutos (con agua destilada en sonicador), la solución Tween 20 fue decantada y se agregó cloro comercial al 0.75% hasta cubrir la totalidad de las semillas. Se colocaron en termobañó a 52°C por 20 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, el cloro fue decantado en campana de flujo laminar y se realizaron tres lavados con agua destilada estéril. Las semillas fueron escurridas sobre papel secante. Con ayuda de unas pinzas, las semillas fueron ubicadas en charolas desinfectadas sobre una base de papel secante humedecido con agua destilada, tapadas y mantenidas en oscuridad a temperatura ambiente para su germinación. Todas las soluciones y el material utilizado fueron previamente esterilizados.

Semillas de frijol

Las semillas se colocaron en una solución de etanol al 50% durante un minuto, posteriormente el etanol fue retirado por decantación y se realizó lavado con hipoclorito de sodio comercial al 0.3% durante 10 minutos con agitación suave. En campana de flujo laminar las semillas se sometieron a lavados con abundante agua destilada estéril (cinco lavados con duración de un minuto c/u o hasta eliminar el aroma a cloro), en seguida se escurrieron sobre papel. Utilizando unas pinzas se ubicaron en charolas desinfectadas (sobre una base de papel secante humedecido con agua destilada) finalmente se cubrieron con otra capa de papel secante húmedo, estas fueron tapadas en oscuridad a temperatura ambiente para su germinación. Todas las soluciones y el material utilizados fueron previamente esterilizados.

Preparación de los tratamientos

El experimento se llevó a cabo en una casa sombra ubicada en el CIIDIR-IPN Unidad Sinaloa en Guasave, Sinaloa, con las condiciones climáticas y de fotoperíodo natural del 25 de noviembre del 2022 al 3 de febrero del 2023). Las macetas se llenaron con sustrato estéril (una mezcla 1:3 v/v de arena de río y vermiculita). La arena se sometió a lavados previamente y la mezcla del sustrato se esterilizó en autoclave a 120° C por una hora (dos veces) para la eliminación de microorganismos.

Llenado de macetas, inoculación y siembra

Se utilizaron macetas de plástico de 3 L (16 cm de alto por 20 cm de diámetro superior). Previo al llenado, las macetas fueron etiquetadas. El llenado o preparación de las macetas fue realizado de la siguiente manera: se colocaron 1.5 L del sustrato estéril (arena-vermiculita 1:3 v/v). Encima se agregó una capa de arena estéril (1-2 cm de espesor), sobre esta capa se agregó la suspensión de esporas (o el control del último lavado de las esporas). A continuación, se adicionó 0.5 L de sustrato, se colocaron las semillas pregerminadas de

acuerdo con cada tratamiento. Para finalizar, las semillas se cubrieron con una última capa de 0.5 L de sustrato. Se verificó que todas las macetas tuvieran orificios en su base para permitir el drenado del agua de riego.

Fertilización

Las fertilizaciones se iniciaron una semana después de la siembra. Se utilizó agua de pozo en los riegos y en la preparación de la solución nutritiva, el agua presentó un pH de 8.0 y una conductividad eléctrica (CE) de 0.75. En el Cuadro 1 se presentan la composición de la solución Long Ashton empleada.

Cuadro 1. Composición de la solución nutritiva Long Ashton empleada para la fertilización de las plantas del experimento.

Componente	Stock (g/L)	Solución final (mL/L)
KNO₃	80.8	5.0
MgSO₄ 7H₂O	73.6	4.0
Ca(NO₃)₂ 4H₂O	188.8	3.0
NaH₂PO₄ H₂O	36.8	0.6 (5 ppm de P)
Elementos trazas	–	–
solución de citratos	–	–

Antes de preparar la solución final, el agua de pozo a utilizar se ajustó previamente a pH de 5.4, el pH final de la solución nutritiva que se aplicó fue de 5.3-5.5 con una CE 2.0.

Ensayos de defensa

Para los ensayos de inducción de defensa por micorrización, fueron utilizados como fitopatógenos *S. sclerotiorum* para frijol y *E. turcicum* para maíz. Estos patógenos fueron

seleccionados debido que está documentado que son capaces de infectar frijol (Purdy, 1979) y maíz (Félix-Gastelum *et al.*, 2018), respectivamente.

Frijol vs *Sclerotinia sclerotiorum*

Foliolos de hoja de plantas de frijol (primer foliolo de la segunda hoja más joven) de diez semanas fueron desprendido de la planta y colocados en cámara húmeda (constituida por una caja de Petri con papel toalla humedecido con agua destilada estéril, sobre la cual se colocaron dos portaobjetos dispuestos en cruz para evitar que el tejido vegetal tocara el papel húmedo). Se utilizó un foliolo por planta. En el centro del foliolo desprendido dentro de la cámara húmeda se colocó un disco de agar conteniendo micelio en activo crecimiento del hongo necrótrofo *S. sclerotiorum* extraído de un cultivo previo en medio PDA. El micelio fúngico utilizado se obtuvo de esclerocios previamente colectados y germinados. La cámara húmeda fue sellada con parafilm e incubada a 19°C. El diámetro del halo necrótico ocasionado por *S. sclerotiorum* al infectar el tejido vegetal se registró a las 24, 42, 69 y 74 h posteriores a la infección (Figura 5) fue registrado fotográficamente para su posterior procesamiento en el programa ImageJ. Estos ensayos de hoja desprendida se utilizaron para comparar la inducción de defensa por micorrización en frijol por su asociación con HMAs entre las diferentes especies de frijoles estudiadas en el presente trabajo.

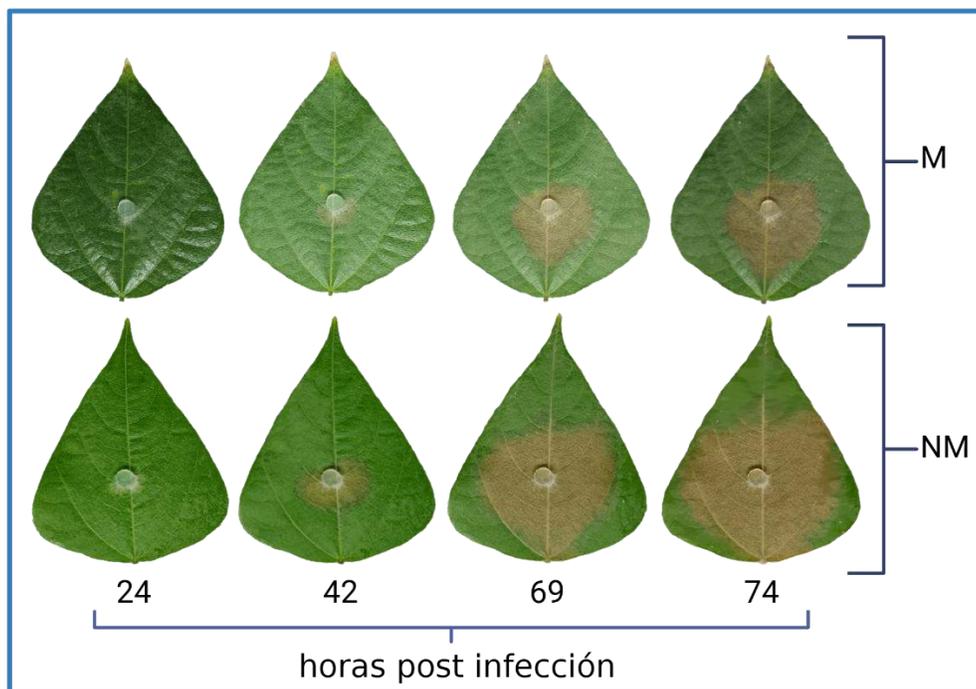


Figura 5. Infección por *S. sclerotiorum* en foliolos de FG (frijol Gordo) con tratamiento M (micorrizado) y NM (no micorrizado).

Maíz vs *Exserohilum turcicum*

Para el caso de la infección por *E. turcicum* en maíz, se evaluó el área de lesión ocasionada por el patógeno a los 3, 4 y 5 días post inoculación. El ensayo se realizó en placas Petri de 100 mm de diámetro por 15 mm de alto. Las placas contenían medio agua-agar y Bencilaminopurina (BAP) a 50 µg/ml, esto para retardar la senescencia de la hoja de maíz (Aregbesola *et al.*, 2019). Se retiró de las placas una porción del agar de aproximadamente 8 x 4 cm de manera tal que resultara un espacio sin agar en el medio de la placa. Fragmentos de hojas de maíz de 6 cm de largo (segunda hoja más joven) se colocaron con la parte abaxial hacia arriba para que los extremos del fragmento se lograran ubicar en contacto con el agar. Sobre los extremos de los fragmentos de las hojas se

colocaron recuadros de agua-agar (BAP) de aproximadamente 1.5 x 2 cm para que los extremos del fragmento de la hoja no sufrieran deshidratación. Posteriormente, se aplicaron 10 µl de una suspensión de conidios de *E. turcicum* a una concentración de 1.0×10^6 conidios/ml en el centro del fragmento de hoja de maíz. En el caso de los tratamientos control se aplicaron 10 µl de agua destilada estéril. Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente (24° C). Los fragmentos de hojas fueron fotografiados para determinar el área de lesión en un procesador de imágenes (ImageJ).

En este experimento se observó inconsistencia en los resultados de infección (Figura 6), por lo que fue imposible utilizar estos resultados para el análisis de defensa en maíz.

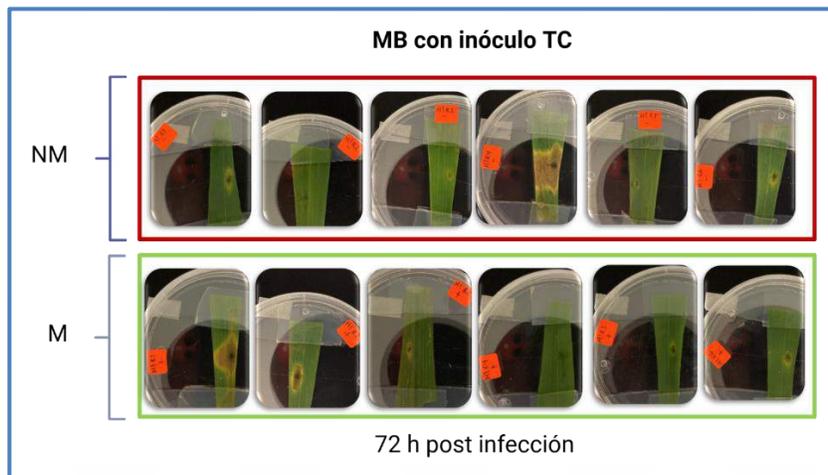


Figura 6. Ensayo en hoja desprendida, MB (maíz Blanco) con inóculo TC (tratamiento convencional) a las 72 horas post infección con el fitopatógeno *E. turcicum*. Las fotografías del panel superior corresponden a las seis réplicas del tratamiento NM, y las del panel inferior a las de M. Como se observa no hubo consistencia en el desarrollo de la infección en los tejidos probados.

Crecimiento

A lo largo del experimento se registró la longitud de la parte aérea y el número de hojas/trifolios de cada planta de forma semanal. Al final del cultivo se registró el volumen

radical, la biomasa fresca de raíces, así como de hojas y tallos de las plantas analizadas. Los pesos secos se obtuvieron después de colocar tejido fresco (raíces y parte aérea (hojas y tallos) en un horno a 65°C de tres a cuatro días, hasta obtener peso constante).

Medición de Fósforo y Nitrógeno foliar

Posterior al secado y registro de peso del tejido foliar de cada una de las muestras, se realizó un análisis de las mismas utilizando un analizador de carbono y nitrógeno de la marca LECO.

Cuantificación de la nodulación

Para obtener los datos de nodulación (reportado como número de nódulos/g de raíz), el tejido radical fue visualizado utilizando un microscopio estereoscópico y una caja de petri cuadrículada para facilitar la ubicación de los campos visualizados y los conteos (Figura 7).

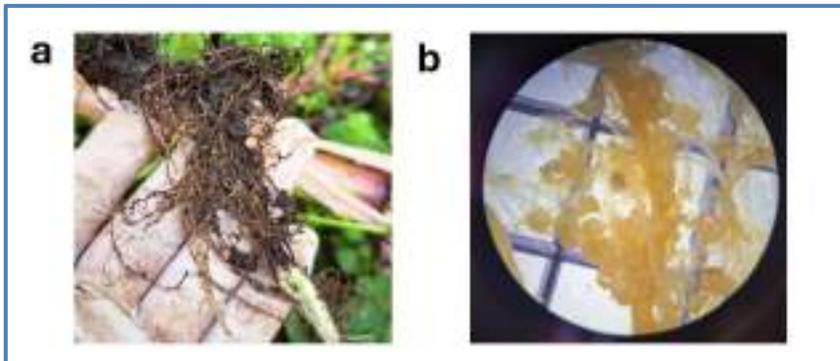


Figura 7. a) Nódulos de las plantas de frijol criollo ubicadas en las milpas de Ocotepéc, Veracruz al momento de la obtención de los suelos para la extracción de los inóculos. b) Conteo de nódulos en microscopio estereoscópico de las plantas crecidas en invernadero para el experimento.

Cuantificación del porcentaje de colonización por HMAs

Las plantas fueron cosechadas separando las raíces de la parte aérea. El sustrato pegado a la raíz fue eliminado con cuidado para preservar el tejido, el cual fue posteriormente lavado con agua corriente para eliminar lo más posible los restos del sustrato. Una tercera parte de la raíz fue colocada en etanol al 50 % para la determinación del porcentaje de colonización. Otra tercera parte fue utilizada para determinar el peso seco y la última porción fue congelada en nitrógeno líquido. Las raíces en etanol 50% fueron incubadas por un mínimo de 24 horas, posteriormente se decantó el etanol, y se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Posteriormente se les adicionó KOH al 10 % y fueron tratadas en autoclave por 5 minutos a 120°C. Posteriormente se decantó el KOH y se realizaron dos lavados con agua destilada. Para la tinción del tejido se adicionó azul de tripano (0.05% p/v) hasta cubrir la raíz y se colocó en autoclave por 5 minutos a 120°C para la fijación del colorante. Una vez decantado el colorante se agregó lactoglicerol hasta cubrir la raíz y se dejó en reposo durante tres días (Phillips y Hayman, 1970). Al finalizar se observó en microscopio y posteriormente en estereoscopio para identificar estructuras micorrízicas arbusculares tales como hifas, vesículas y/o arbuscúlos (Figura 8).

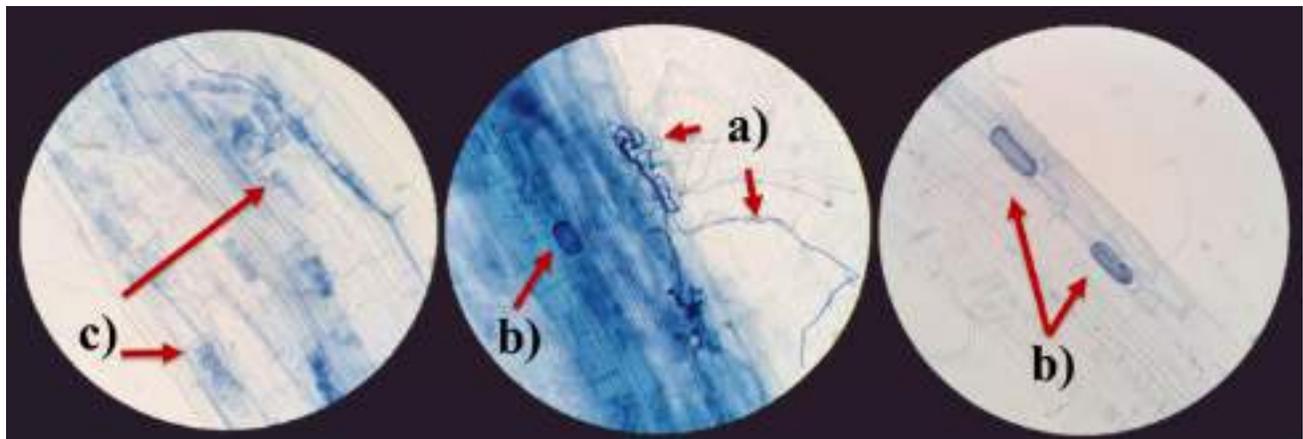


Figura 8. Raíz de FG (frijol Gordo) colonizada por HMAs donde: a) hifa, b) vesícula y c) arbusculos. Aumento 400X.

Método de intersección de campos en placas

La determinación del porcentaje de colonización se basó en el método de intersección a la línea (Giovannetti y Mosse, 1980). Se utilizó una caja de Petri en la cual se trazó una cuadrícula (de 1 cm²) en la que se colocaron las raíces previamente teñidas, y se visualizaron en un estereoscopio. Para determinar el de porcentaje de micorrización se consideraron al menos 150 intersecciones (raíces que cruzaban alguna de las líneas de la cuadrícula) y se cuantificaron las intersecciones con raíces conteniendo alguna estructura fúngica (hifas, vesículas, arbusculos, esporas) de acuerdo con lo siguiente: la evaluación inició sobre las líneas verticales de arriba hacia abajo y posteriormente sobre las horizontales de izquierda a derecha hasta cubrir todas las intersecciones de la caja (registrando el número de intersecciones colonizadas y no colonizadas por HMAs).

Para el cálculo del porcentaje de colonización total por HMA se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de colonización por HMAs} = (C/T) \times 100$$

C= número de intersecciones con raíces presentando cualquier estructura fúngica (hifas, vesículas y/o arbusculos).

T= Número total de intersecciones observadas

RESULTADOS

Frijol en monocultivo

Para la variable dependiente **producción de biomasa** el ANDEVA mostró diferencia significativa para los factores OI y Especie (tabla 2).

Cuadro 2. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente producción de biomasa; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	0,2539	1	0,2539	4,988	0,0293
MIC	0,0439	1	0,0439	0,863	0,3566
ESPECIE	9,3947	2	4,6973	92,288	0,0001
OI*MIC	0,0091	1	0,0091	0,179	0,6739
OI*ESPECIE	0,0375	2	0,0187	0,368	0,6936
MIC*ESPECIE	0,0486	2	0,0243	0,477	0,6230
Error	3,0030	59	0,0509		

Las plantas inoculadas con esporas de hongos micorrízicos obtenidas de parcelas bajo manejo tipo convencional (TC) produjeron más biomasa con respecto a las inoculadas con esporas de hongos micorrízicos obtenidas de parcelas bajo manejo agroecológico (TA) (Figura 9A). Por otra parte, el FG (frijol gordo) fue el que produjo más biomasa seguido de FA (frijol ayocote) y FE (frijol enredador), respectivamente (Figura 9B).

En cuanto al **porcentaje de colonización micorrízica** el ANDEVA mostró que no existe diferencia significativa en los factores ni interacciones entre ellos (tabla 3).

Cuadro 3. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente porcentaje de colonización por HMAs; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	161,99	1	161,99	2,3476	0,1363
ESPECIE	244	2	122	1,768	0,1886
OI*ESPECIE	38,35	2	19,17	0,2779	0,7594
Error	2001,06	29	69		

Los análisis foliares arrojaron que el **contenido de fósforo (P)** no varió entre los tratamientos probados, solo se obtuvieron resultados en FG y FA ya que la cantidad de biomasa obtenida de FE no fue suficiente para llevar a cabo la medición (tabla 4).

Cuadro 4. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de P; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	0,011	1	0,011	0,27	0,6086
MIC	0,001	1	0,001	0,01	0,9037
Especie	0,003	1	0,003	0,07	0,7909
OI*MIC	0,011	1	0,011	0,28	0,5993
OI*ESPECIE	0,044	1	0,044	1,10	0,3019
MIC*ESPECIE	0,034	1	0,034	0,84	0,3651
Error	1,377	34	0,040		

Los análisis foliares arrojaron que el **contenido de nitrógeno (N)** no varió entre los tratamientos probados, solo se obtuvieron resultados en FG y FA ya que la cantidad de biomasa obtenida de FE no fue suficiente para llevar a cabo la medición (tabla 5).

Cuadro 5. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de N; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	0,121	1	0,121	1,41	0,2418
MIC	0,026	1	0,026	0,30	0,5847
ESPECIE	0,310	1	0,310	3,61	0,0649
OI*MIC	0,000	1	0,000	0,00	0,9934
OI*ESPECIE	0,079	1	0,079	0,92	0,3431
MIC*ESPECIE	0,014	1	0,014	0,17	0,6861
Error	3,262	38	0,086		

Para la variable dependiente **nodulación** se observaron diferencias significativas en el factor OI (Tabla 6); siendo las plantas inoculadas con TA las que produjeron mayor cantidad de nódulos respecto a TC (Figura 9C).

Cuadro 6. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente nodulación; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

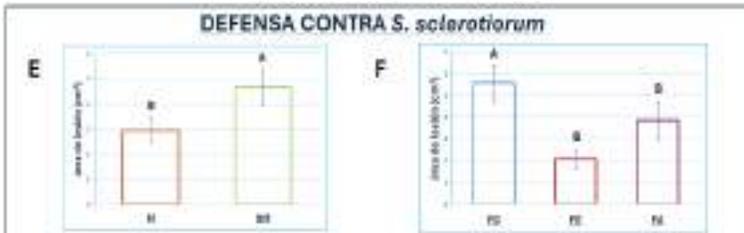
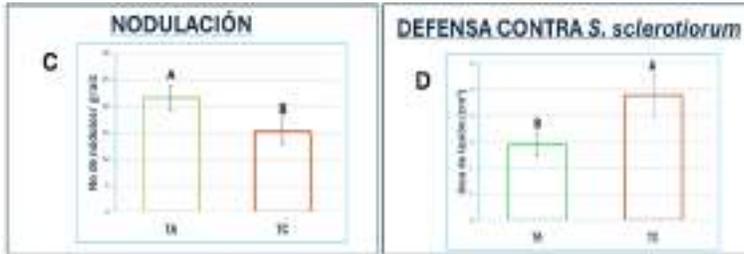
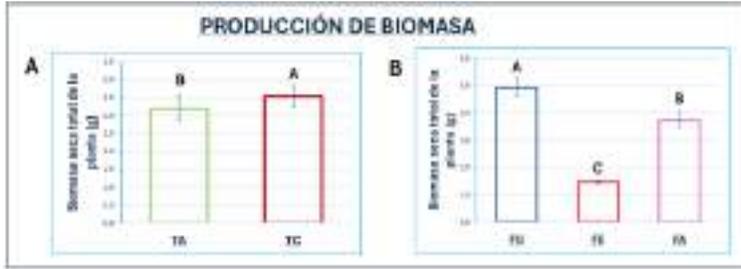
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	4,6892	1	4,6892	10,639	0,0018
MIC	0,0027	1	0,0027	0,006	0,9382
ESPECIE	0,7361	2	0,3680	0,835	0,4389
OI*MIC	1,1284	1	1,1284	2,560	0,1149
OI*ESPECIE	1,6765	2	0,8382	1,902	0,1583
MIC*ESPECIE	0,5140	2	0,2570	0,583	0,5614
Error	26,0054	59	0,4408		

En el análisis de **defensa contra el patógeno foliar** se encontraron diferencias significativas en los factores OI, MIC y especie y una interacción de segundo orden entre los factores OI-especie (tabla 7).

Cuadro 7. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente defensa contra patógeno foliar; frijol en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y especie. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	1,4984	1	1,4984	6,5448	0,0131
MIC	1,5600	1	1,5600	6,8141	0,0114
ESPECIE	5,6031	2	2,8016	12,2369	0,0001
OI*MIC	0,0579	1	0,0579	0,2531	0,6168
OI*ESPECIE	6,1944	2	3,0972	13,5283	0,0001
MIC*ESPECIE	0,2928	2	0,1464	0,6396	0,5312
Error	13,5077	59	0,2289		

En el ensayo de defensa contra *S. sclerotiorum* las plantas inoculadas con TA se defendieron mejor que las inoculadas con TC (menor área de lesión en el ensayo de hoja desprendida) (Figura 9D). En cuanto al factor MIC, las plantas micorrizadas (M) se defendieron mejor respecto a plantas control no micorrizadas (NM) (Figura 9E). Con respecto al factor especie, FG resultó ser más susceptible al patógeno seguido de FA y FE (Figura 9F), mientras que en la interacción doble OI-especie, el FA inoculado con TA se defiende mejor que al ser inoculado con TC, FG no presentó inducción de defensa, FE mostró defensa ante el patógeno independientemente de estar inoculado con TA o TC (Figura 9G).



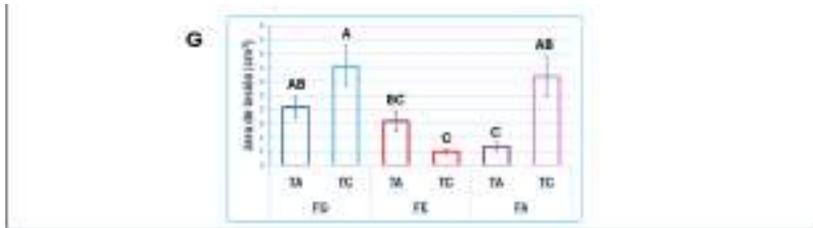


Figura 9. FRIJOL EN MONOCULTIVO. A) Producción de biomasa seca total (g) en plantas de frijol inoculadas con HMAs provenientes de parcelas con tratamiento agroecológico (TA) y tratamiento convencional (TC). B) Producción de biomasa seca en tres especies de frijol [FG (frijol Gordo), FE (frijol Enredador) y FA (frijol Ayocote)]. C) Número de nódulos/g de raíz en plantas de frijol inoculadas con TA y TC. D) Área de lesión en folíolos de plantas de frijol con HMAs provenientes de parcelas con inóculos TA y TC 69h post inoculación con *S. sclerotiorum*. E) Área de lesión en folíolos de frijol inoculados con M (HMAs) y NM (sin HMAs). F) Área de lesión en folíolos de tres especies de frijol. G) Área de lesión en folíolos de tres especies de frijol inoculados con TA y TC. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos [Tukey ($\alpha \leq 0.05$)], barras que comparten letra son similares entre ellas. Las barras de error corresponden al error estándar. Solo se consideraron las interacciones dobles.

Frijol Gordo (FG) en bicultivo

Para la variable dependiente **producción de biomasa** se encontraron diferencias significativas en los factores MIC y mono-bicultivo (tabla 8).

Cuadro 8. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente producción de biomasa; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p
OI	0,0062	1	0,0062	0,063	0,8027
MIC	1,2087	1	1,2087	12,233	0,0008
MONO-BICULTIVO	1,7721	3	0,5907	5,978	0,0010
OI*MIC	0,0007	1	0,0007	0,007	0,9342
OI*MONO-BICULTIVO	0,3785	3	0,1262	1,277	0,2884

MIC*MONO-BICULTIVO	0,1413	3	0,0471	0,477	0,6995
Error	7,5093	76	0,0988		

Los resultados de producción de biomasa seca total indicaron que las plantas micorrizadas (M) crecieron menos respecto al control no micorrizado (NM) (Figura 10A). Por otro lado, la asociación de frijol gordo con maíz amarillo (FG-MA) mostró menor crecimiento que FG en monocultivo (Figura 10B).

De acuerdo con los resultados del ANDEVA no se encontraron diferencias significativas en el **porcentaje de colonización micorrízica** en los tratamientos combinados de OI y mono-bicultivo (tabla 9).

Cuadro 9. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente porcentaje de colonización por HMAs; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p
OI	12,41	1	12,41	0,2548	0,6169
MONO-BICULTIVO	106,92	3	35,64	0,7318	0,5401
OI*MONO-BICULTIVO	300,11	3	100,04	2,0539	0,1242
Error	1704,70	35	48,71		

En cuanto al **contenido de P foliar** no hubo variaciones entre factores ni tampoco interacciones entre ellos (tabla 10).

Cuadro 10. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de P; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p
OI	0,017	1	0,017	0,38	0,5376

MIC	0,043	1	0,043	0,96	0,3294
MONO-BICULTIVO	0,029	3	0,010	0,22	0,8805
OI*MIC	0,046	1	0,046	1,04	0,3120
OI*MONO-BICULTIVO	0,028	3	0,009	0,21	0,8899
MIC*MONO-BICULTIVO	0,075	3	0,025	0,56	0,6400
Error	3,094	70	0,044		

En la variable **contenido de nitrógeno foliar** el estadístico arrojó diferencia significativa en la interacción de segundo orden entre los factores MIC*mono-bicultivo (tabla 11); las plantas del bicultivo FG-MB inoculadas con esporas de HMAs (M) tuvieron menor cantidad de N respecto al control NM (Figura 10C).

Cuadro 11. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de N; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	0,000	1	0,000	0,0	0,9244
MIC	0,003	1	0,003	0,1	0,7784
MONO-BICULTIVO	0,217	3	0,072	1,7	0,1672
OI*MIC	0,006	1	0,006	0,1	0,7018
OI*MONO/BICULTIVO	0,115	3	0,038	0,9	0,4365
MIC*MONO/BICULTIVO	0,371	3	0,124	3,0	0,0378
Error	3,003	72	0,042		

Por otro lado, en **nodulación** se encontraron diferencias significativas en el factor micorrización (tabla 12); plantas micorrizadas produjeron menor cantidad de nódulos (M) respecto al control NM (Figura 10D).

Cuadro 12. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente nodulación; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	0,3714	1	0,3714	0,997	0,3214
MIC	2,1672	1	2,1672	5,817	0,0185
MONO-BICULTIVO	0,4012	3	0,1337	0,359	0,7828
OI*MIC	0,4289	1	0,4289	1,151	0,2869
OI*MONO-BICULTIVO	0,8185	3	0,2728	0,732	0,5361
MIC*MONO-BICULTIVO	1,1776	3	0,3925	1,054	0,3743
Error	26,4498	71	0,3725		

En cuanto al análisis de **defensa contra el patógeno foliar** se encontraron diferencias significativas en los factores OI, MIC y mono-bicultivo y una interacción de segundo orden entre los factores OI*mono-bicultivo (tabla 13).

Cuadro 13. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente defensa contra patógeno foliar; FG en bicultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	2,04258	1	2,04258	9,1202	0,0036
MIC	1,10325	1	1,10325	4,9261	0,0298
MONO-BICULTIVO	5,29932	3	1,76644	7,8872	0,0001
OI*MIC	0,51013	1	0,51013	2,2777	0,1359
OI*MONO-BICULTIVO	2,25439	3	0,75146	3,3553	0,0238
MIC*MONO-BICULTIVO	0,26974	3	0,08991	0,4015	0,7524
Error	15,22941	68	0,22396		

Las plantas de FG en bicultivo con maíces inoculadas con TA presentaron mayor defensa respecto a TC (Figura 10E) y las plantas micorrizadas (M) presentaron mayor área de lesión en contraste con las utilizadas como control (NM) (Figura 10F). En cuanto a la condición de mono/bicultivo, la asociación de FG-MA aumentó la capacidad de defensa del

frijol ante el patógeno ya que el área de lesión fue menor (Figura 10G). Finalmente, los bicultivos de FG-MB y FG-MA con el inóculo TA aumentaron la capacidad de defensa de FG ante el patógeno (Figura 10H).

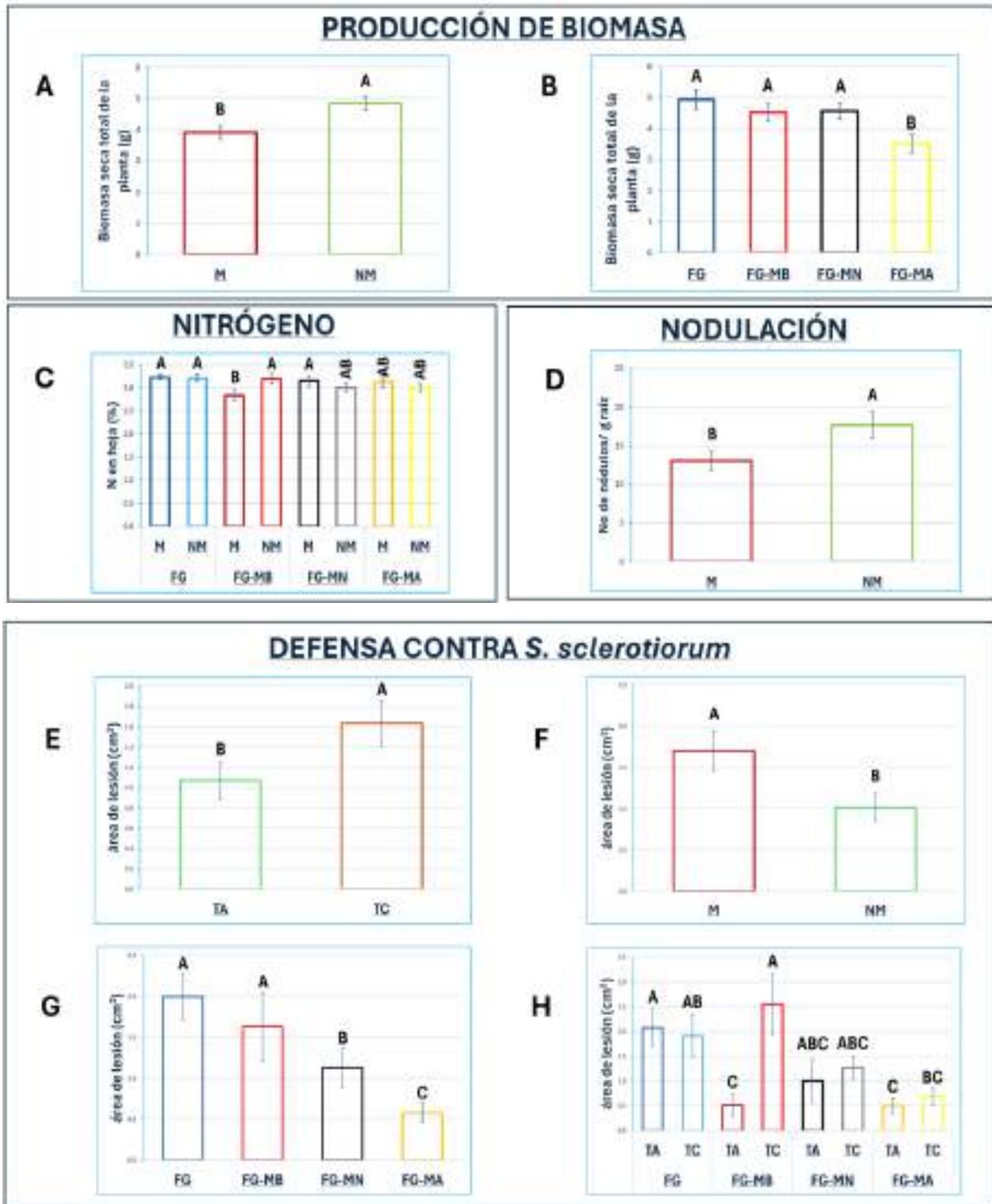


Figura 10. FG EN BICULTIVO. A) Producción de biomasa seca en plantas de frijol Gordo (FG) micorrizadas (M) y no micorrizadas (NM). B) Producción de biomasa seca en plantas de FG en mono y bicultivo con tres morfotipos de maíz [FG-MB (maíz Blanco), FG-MN (maíz Negro) y FG-MA (maíz Amarillo)]. C) Contenido de N foliar en FG y bicultivos (FG-MB, FG-MN y FG-MA) inoculados con esporas de HMAs (M) y control no micorrizado (NM). D) Número de nódulos/g de raíz en FG inoculado con esporas de HMAs (M) y control no micorrizado (NM). E) Área de lesión en folíolos de frijol Gordo (FG) inoculado con TA (tratamiento agroecológico) y TC (tratamiento convencional) 69 h post infección con fitopatógeno (*S. sclerotiorum*). F) Área de lesión en folíolos de plantas de FG micorrizadas (M) y folíolos de plantas control no micorrizadas (NM). G) Área de lesión de FG en mono y bicultivo con tres morfotipos de maíz. H) Área de lesión de FG en mono y bicultivo con tres morfotipos de maíz inoculados con TA y TC. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos [Tukey ($\alpha \leq 0.05$)], barras que comparten letra son similares entre ellas. Las barras de error corresponden al error estándar. Solo se consideraron las interacciones dobles.

Maíces en monocultivo

En los análisis de la variable dependiente **producción de biomasa** el ANDEVA arrojó diferencia significativa en el factor micorrización (MIC) (Tabla 14); las plantas de maíz del control no micorrizadas (NM) crecieron más que las micorrizadas (M) (Figura 11A).

Cuadro 14. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente producción de biomasa; maíces en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y morfotipo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	0,812	1	0,812	0,3494	0,5567
MIC	12,914	1	12,914	5,5573	0,0217
GENOTIPO	1,421	2	0,711	0,3058	0,7377
OI*MIC	1,779	1	1,779	0,7656	0,3851
OI*GENOTIPO	0,203	2	0,101	0,0437	0,9573
MIC*GENOTIPO	5,201	2	2,600	1,1190	0,3333

Error	139,425	60	2,324		
--------------	---------	----	-------	--	--

En cuanto al **porcentaje de colonización micorrízica** se encontraron diferencias significativas en la interacción de segundo orden entre los factores OI*morfotipo (tabla 15); el MB tuvo menor porcentaje de colonización respecto a MN (ambos con inóculo TA) (Figura 11B).

Cuadro 15. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente porcentaje de colonización por HMAs; maíces en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo) y morfotipo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	10,43	1	10,43	0,1899	0,6664
MORFOTIPO	308,97	2	154,48	2,8137	0,0770
OI*MORFOTIPO	591,41	2	295,71	5,3859	0,0105
Error	1537,31	28	54,90		

Para el **contenido de P foliar** se encontraron diferencias significativas en el factor micorrización (tabla 16); Los maíces inoculados con esporas de HMAs (M) presentaron menor captación de P que los control no micorrizados (NM) (Figura 11C).

Cuadro 16. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de P; maíces en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y morfotipo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
--	--------------------------	---------------------------	-----------------------	----------	----------

OI	0,017	1	0,017	0,36	0,5521
MIC	0,619	1	0,619	12,67	0,0007
GENOTIPO	0,073	2	0,036	0,74	0,4803
OI*MIC	0,160	1	0,160	3,28	0,0753
OI*GENOTIPO	0,050	2	0,025	0,51	0,6007
MIC*GENOTIPO	0,109	2	0,055	1,12	0,3340
Error	2,931	60	0,049		

Para el **contenido de N foliar** se encontraron diferencias significativas en el factor micorrización (tabla 17); Los maíces inoculados con esporas de HMAs (M) presentaron menor captación de P que los control no micorrizados (NM) (Figura 11D).

Cuadro 17. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de N; maíces en monocultivo, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y morfotipo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	1,665	1	1,665	3,06	0,0853
MIC	3,747	1	3,747	6,89	0,0110
MONO/BICULTIVO	1,003	2	0,502	0,92	0,4031
OI*MIC	1,856	1	1,856	3,41	0,0696
OI*MONO/BICULTIVO	0,378	2	0,189	0,35	0,7077
MIC*MONO/BICULTIVO	2,402	2	1,201	2,21	0,1188
Error	32,076	59	0,544		

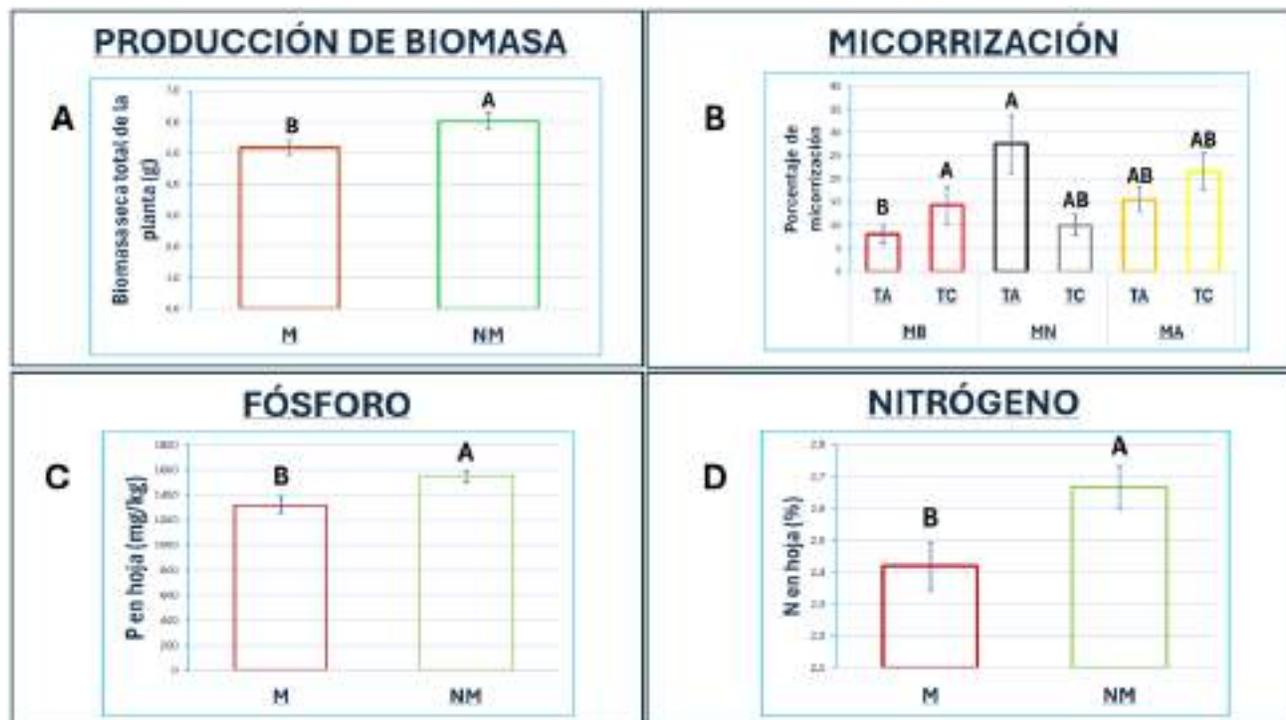


Figura 11. MAÍZ EN MONOCULTIVO. A) Producción de biomasa seca total en plantas de maíz micorrizadas (M) y no micorrizadas (NM). B) Porcentaje de colonización micorrizica en MB (maíz Blanco), MN (maíz Negro) y MA (maíz Amarillo) con inóculos TA y TC. C) Contenido de P foliar en plantas de maíz M y NM. D) Contenido de N foliar en plantas de maíz M y NM. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos [Tukey ($\alpha \leq 0.05$)], barras que comparten letra son similares entre ellas. Las barras de error corresponden al error estándar. Solo se consideraron las interacciones dobles.

Maíces en bicultivo con frijol Gordo (FG)

Para los maíces en bicultivo el análisis de la variable dependiente **producción de biomasa** seca arrojó diferencia significativa en los factores MIC (micorrización) y monocultivo (tabla 18).

Cuadro 18. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente producción de biomasa; maíces en bicultivo con FG, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	2,819	1	2,819	1,461	0,2292
MIC	21,897	1	21,897	11,347	0,0010
MONO-BICULTIVO	90,090	5	18,018	9,337	0,0001
OI*MIC	1,562	1	1,562	0,810	0,3701
OI*MONO-BICULTIVO	8,149	5	1,630	0,845	0,5208
MIC*MONO-BICULTIVO	23,922	5	4,784	2,479	0,0356
Error	229,634	119	1,930		

Plantas de maíz crecidas en bicultivo con FG e inoculadas con esporas de HMAs (M) crecieron menos que las no micorrizadas (NM) (Figura 12A). El bicultivo de los tres morfotipos de maíz con FG disminuyó su crecimiento, pero solo para el MN la diferencia fue significativa (Figura 12B).

En cuanto al **porcentaje de colonización micorrízica** se encontraron diferencias significativas en el factor mono-bicultivo y en la interacción de los factores OI*mono-bicultivo (tabla 19).

Cuadro 19. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente porcentaje de colonización por HMAs; maíces en bicultivo con FG, considerando los factores OI (Origen del Inóculo) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p
OI	101,46	1	101,46	1,8562	0,1783
MONO-BICULTIVO	675,37	5	135,07	2,4711	0,0426
OI*MONO-BICULTIVO	911,14	5	182,23	3,3337	0,0103
Error	3170,39	58	54,66		

El porcentaje de colonización micorrízica de MA disminuyó al cultivarse en asociación con FG, en cambio, MB y MN no se vieron afectados por la asociación con la planta de frijol (bicultivo) (Figura 12C). El MB tuvo menor porcentaje de colonización por HMAs respecto a MN (ambos inoculados con TA) (Figura 12D).

En la variable dependiente **contenido de P foliar** encontramos diferencias significativas en los factores OI y MIC, además de una interacción entre OI*mono-bicultivo (tabla 20).

Cuadro 20. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de P; maíces en bicultivo con FG, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	0,362	1	0,362	5,6	0,0197
MIC	1,162	1	1,162	18,0	0,0001
MONO-BICULTIVO	0,697	5	0,139	2,2	0,0637
OI*MIC	0,065	1	0,065	1,0	0,3169
OI*MONO-BICULTIVO	0,838	5	0,168	2,6	0,0291
MIC*MONO-BICULTIVO	0,140	5	0,028	0,4	0,8251
Error	7,701	119	0,065		

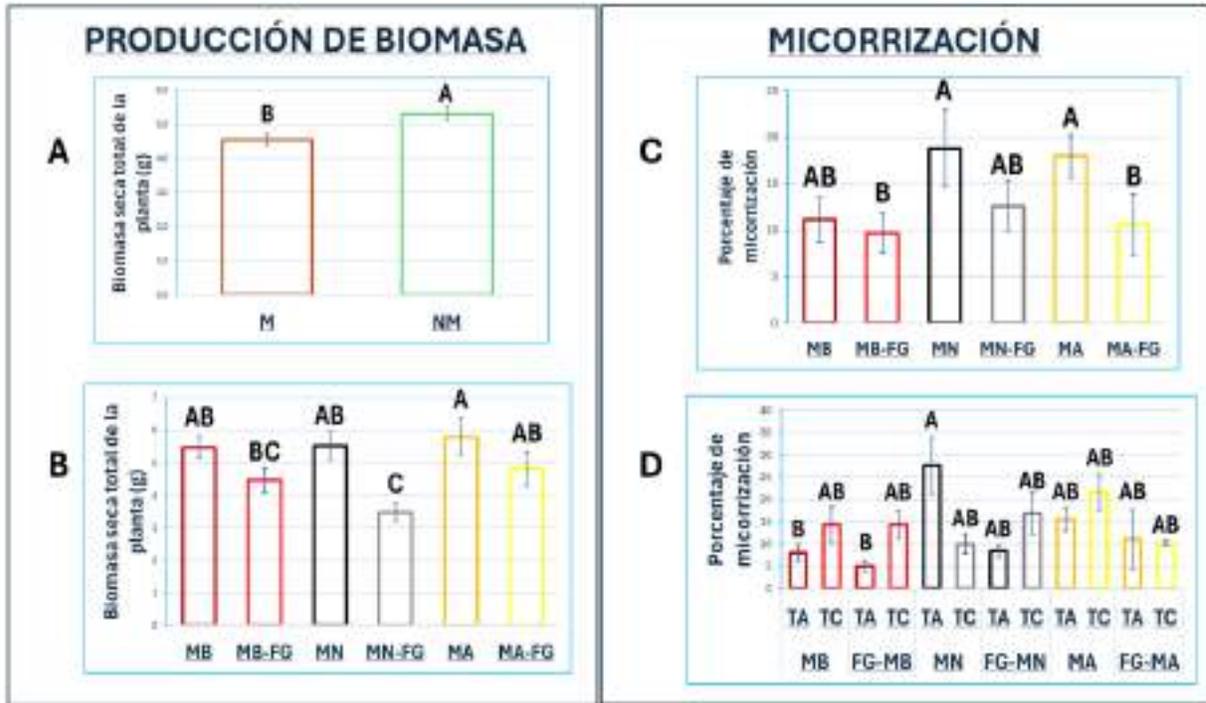
Los maíces inoculados con TA tuvieron mayor contenido de P respecto a los inoculados con TC (Figura 12E). Plantas de maíz micorrizadas (M) lograron una menor captación en contraste con las no micorrizadas (NM) (Figura 12F). El MA en bicultivo con FG e inoculado con TA tuvo mayor contenido de P respecto al inoculado con TC (Figura 12G).

Finalmente, para la variable de respuesta **contenido de N foliar** encontramos diferencias significativas en los factores OI y MIC, además de una interacción entre OI*mono-bicultivo (tabla 21).

Cuadro 21. ANDEVA multifactorial para la variable dependiente contenido de N; maíces en bicultivo con FG, considerando los factores OI (Origen del Inóculo), MIC (micorrización) y mono-bicultivo. Solo se probaron las interacciones de segundo orden. Se presentan en rojo los factores o interacciones con diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
OI	15,24	1	15,24	31,77	0,0001
MIC	5,65	1	5,65	11,78	0,0008
MONO/BI	4,19	5	0,84	1,75	0,1292
OI*MIC	1,04	1	1,04	2,16	0,1444
OI*MONO/BICULTIVO	8,22	5	1,64	3,42	0,0064
MIC*MONO/BICULTIVO	2,80	5	0,56	1,17	0,3299
Error	55,66	116	0,48		

Los maíces inoculados con TA tuvieron mayor contenido de N respecto a los inoculados con TC (Figura 12H). Plantas de maíz micorrizadas (M) lograron una menor captación en contraste con las no micorrizadas (NM) (Figura 12I). El MA en bicultivo con FG e inoculado con TA tuvo mayor contenido de P respecto al inoculado con TC (Figura 12J).



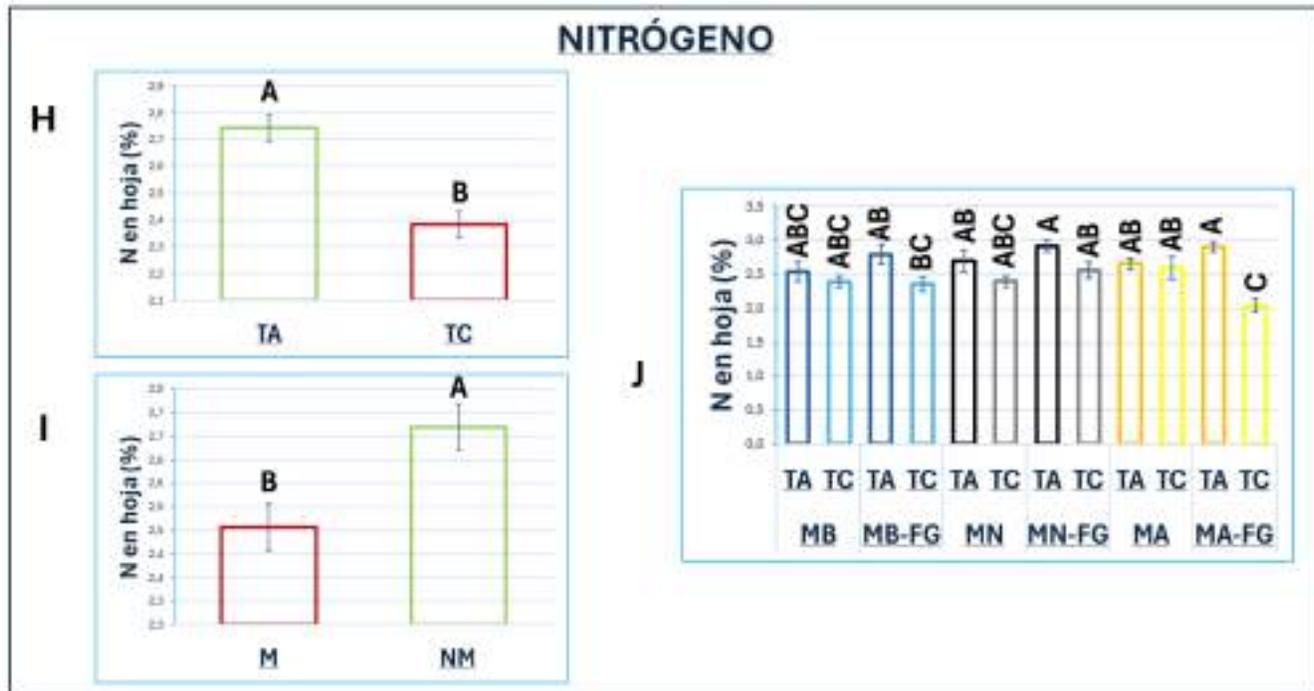
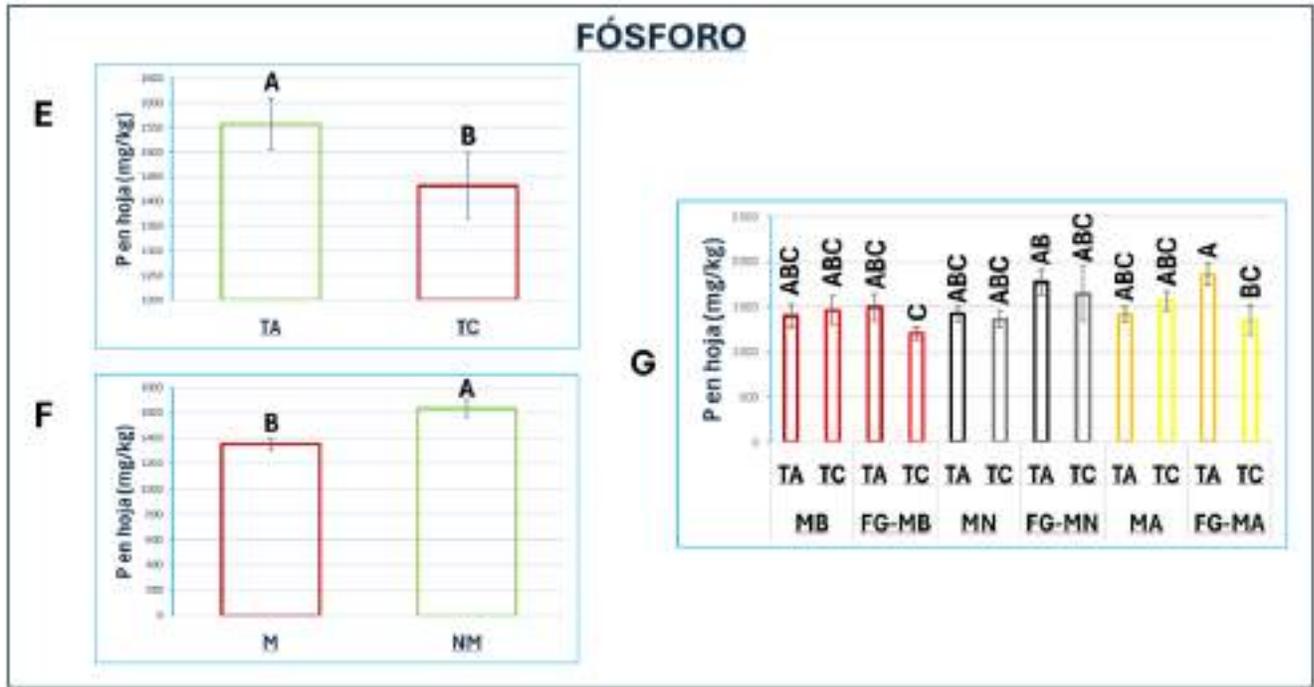


Figura 12. MAÍCES EN BICULTIVO CON FG. A) Biomasa seca total (g) en plantas de maíz micorrizadas y no micorrizadas (NM). B) Producción de biomasa seca en tres morfotipos de maíz [MB (maíz Blanco), MN (maíz Negro) y MA (maíz Amarillo)] en mono y bicultivo con frijol Gordo (FG). C) Porcentaje de colonización por HMAs en MB, MN y MA en mono y bicultivo con FG. D) Porcentaje de colonización por HMAs en MB, MN y MA en mono y bicultivo con FG con inóculos provenientes de TA (tratamiento agroecológico) y TC (tratamiento convencional). E) Contenido de P foliar en maíces inoculados con TA y TC. F) Contenido de P foliar en maíces M y NM. G) Contenido de P foliar en tres morfotipos de maíz (MB, MN y MA) en mono y bicultivo con FG inoculados con TA y TC. H) Contenido de N foliar en maíces con inóculos TA y TC. I) Contenido de N foliar en maíces micorrizados (M) y no micorrizados (NM). J) Contenido de N foliar en MB, MN y MA en mono y bicultivo con FG, inoculados con TA y TC. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos [Tukey ($\alpha \leq 0.05$)], barras que comparten letra son similares entre ellas. Las barras de error corresponden al error estándar. Solo se consideraron las interacciones dobles.

DISCUSIÓN

Efecto de la micorrización sobre el crecimiento, nodulación, nutrición y defensa de maíces y frijoles (H1)

Se ha documentado extensamente que la asociación micorrízica arbuscular induce el crecimiento en diversas especies vegetales (para revisión Smith y Read, 2008). Es por esto que se hipotetizó que la micorrización induciría un aumento en la biomasa de maíces y frijoles crecidos en macetas en condiciones de invernadero e inoculados con HMAs obtenidos de parcelas agrícolas de Ocotepéc, Veracruz. Sin embargo, los resultados del ANDEVA no apoyan esta hipótesis, ya que para maíz, la acumulación de biomasa fue menor en las plantas micorrizadas, y en el caso del frijol, el crecimiento no se vio afectado, excepto en la condición de bicultivo, en donde el efecto fue negativo.

En el caso de maíz, aunque existen trabajos en los que se reporta una respuesta positiva en el crecimiento por micorrización (Chen *et al.*, 2023; Battani *et al.*, 2017). también se ha reportado que la respuesta es negativa o neutra. Por ejemplo, Londoño *et al.* (2023), estudiaron la respuesta de crecimiento de un maíz criollo y cuatro híbridos, encontrando que la respuesta dependió del genotipo y de la etapa de crecimiento de las plantas, siendo neutra en una etapa avanzada de desarrollo, y positiva, negativa o neutra en una etapa más temprana. Para las tres especies de frijol estudiadas en la presente tesis, la micorrización no mostró efecto en el crecimiento, consistente con lo que ha sido observado anteriormente para dos variedades de frijol común (Regional 87 y Azufrado Higuera) (Mora-Romero *et al.*, 2015), aunque en dicho trabajo también se reportó inducción de crecimiento por micorrización en una de las variedades analizadas (A-55), de manera similar a otros reportes (Tajini *et al.*, 2012; Recchia *et al.*, 2018). Todo esto apoya la idea de que el genotipo es uno de los factores determinantes en la respuesta de crecimiento por micorrización. Esto indica que los morfotipos de maíces criollos estudiados en la presente tesis son afectados en su crecimiento bajo las condiciones del experimento y en la etapa de desarrollo analizada.

Por otro lado, ya que el costo de C para que una planta mantenga al hongo en simbiosis puede llegar a ser hasta del 20% del carbono fijado (Jakobsen and Rosendahl, 1990), la cantidad de C que la planta tiene que destinar para mantener la simbiosis puede afectar negativamente su propio crecimiento comparado con las plantas no colonizadas. También, Son y Smith (1988) señalan que una respuesta de crecimiento negativa a la micorrización puede ser causada por una condición de baja irradiación, por su influencia en la fotosíntesis y la fijación de C. El experimento de la presente tesis se llevó a cabo en una casa-sobra

(estructura totalmente cubierta con malla antiáfidos y una malla sombra adicional sobre la parte superior de la estructura), en donde el nivel de irradiación en los meses del experimento fue aproximadamente del 10 al 20% menor de la irradiación al exterior (sin malla sombra). Por lo tanto, es posible que la respuesta de crecimiento negativa en las plantas micorrizadas se deba en parte al genotipo de la planta, y por otro a la relativa baja irradiación a la que las plantas fueron expuestas durante el experimento. Todo esto sugiere que existe un balance delicado entre el crecimiento de una planta micorrízica y el costo energético que implica para la planta mantener al hongo heterotrófico (Son y Smith, 1988).

En el presente trabajo se observó que la micorrización tuvo efecto en el número de nódulos en bicultivo, en donde el número fue menor. Esto es contrario a lo que se esperaba ya que se ha reportado que la micorrización aumenta la nodulación (Varma, 1979; Tajini *et al.*, 2011). Sin embargo, Ballesteros-Almanza *et al.* (2010) reportaron que cinco genotipos de frijol mostraron disminución en el número de nódulos cuando las plantas fueron inoculadas con *Rhizobium* y el HMA *G. intrarradices* con respecto a cuando solo fueron inoculados con *Rhizobium*. También, Bethlenfalvay *et al.* (1982) reportaron en frijol común un efecto negativo en la fijación de nitrógeno por *Rhizobium* debido a la micorrización arbuscular. Esto sugiere que frijol es susceptible de ser afectado negativamente en la nodulación por la colonización micorrízica, al menos en experimentos en macetas bajo condiciones controladas como en esta tesis. La regulación entre ambas simbiosis es compleja.

También se hipotetizó que la micorrización causaría una mayor acumulación de nutrientes como P y N (Battani *et al.*, 2017; Smith y Read, 2008; Kaeppler *et al.*, 2000). en concordancia con la hipótesis de que la micorrización causaría aumento en biomasa vegetal (discutida arriba). Sin embargo, en el presente trabajo no solo no se observó aumento en el contenido de nutrientes, si no una disminución tanto en P y N, la cual fue consistente con la disminución en biomasa, por lo que la hipótesis se rechaza. Esta disminución en el crecimiento y en el contenido de nutrientes fue principalmente observado en maíz, crecido tanto en monocultivo como en bicultivo. En concordancia con esto resultados, Wang *et al.* (2018) reportaron que la disminución de biomasa causada por la micorrización fue acompañada de una disminución en el contenido de N en el híbrido de maíz Denghai3719 (DH3719). La acumulación de biomasa está directamente relacionada a la asimilación de C por la planta, a la demanda de C por cada uno de los simbiosis y la transferencia de nutrientes de los simbiosis a la planta. Sin embargo, la cantidad de C, N y P que se intercambia entre la planta y los simbiosis microbianos depende varios factores como las

condiciones ambientales (Johnson, 2010), la especie de planta y microorganismos involucrados (Smith, 2004) y de las interacciones entre ellos.

La micorrización induce una respuesta de defensa contra diversos patógenos como hongos, bacterias, oomicetos, insectos herbívoros y nemátodos (para revisión ver Weng et al., 2022; Fiorilli et al., 2024), por lo que se hipotetizó que la micorrización en frijol induciría una mayor defensa contra un patógeno foliar como *Sclerotinia sclerotiorum*. Este patógeno es un hongo cosmopolita capaz de infectar a más de 400 especies vegetales (Bolton et al., 2006). La enfermedad que causa este patógeno en frijol se le denomina moho blanco, y se caracteriza por presentar lesiones acuosas necróticas y la proliferación de micelio algodonoso en hojas, pétalos, tallos y vainas. No existe información que sugiera la presencia de este hongo en las zonas de Veracruz donde se colectaron las especies estudiadas en este trabajo, sin embargo, ensayos preliminares del grupo de trabajo demostraron que Frijol Gordo, Frijol Enredador y Frijol Ayocote son susceptibles a este patógeno. Con base en esto, se utilizó *S. sclerotiorum* como un patógeno modelo para estudiar la respuesta de defensa del frijol Gordo, Enredador y Ayocote en los tratamientos ya descritos.

En concordancia con esta hipótesis, la micorrización en frijol causó inducción de defensa contra *S. sclerotiorum* cuando fue crecido en monocultivo. La respuesta de defensa inducida por micorrización o MIR es un fenómeno ya documentado, no solo en frijol (Mora-Romero et al., 2015), sino en numerosas especies vegetales contra diversos tipos de patógenos (Weng et al., 2022; Fiorilli et al., 2024), por lo que la respuesta de MIR en frijol en monocultivo fue la esperada.

En contraste, la micorrización causó una disminución en la defensa de frijol cuando fue crecido en bicultivo con maíz. Los inóculos micorrízicos utilizados en este trabajo, además de contener esporas de HMAs estaban compuestos de la microbiota acompañante, es decir, de microorganismos acarreados en el inóculo, ya que no se utilizaron antibióticos durante el procedimiento de aislamiento. Por lo tanto, se asume que al menos algunos de estos microorganismos pudieron haberse establecido en rizósfera del frijol y maíz cultivados en este trabajo. Una evidencia de esto es que las plantas de frijol presentaron nódulos, derivados de rizobios que debieron haber estado contenidos en la microbiota acompañante. Por lo tanto, una posible explicación a la disminución de la defensa en frijol en bicultivo es que exudados de las plantas de maíz pudieron haber afectado la respuesta de defensa del frijol a través de la modificación de la microbiota establecida con respecto a la microbiota del frijol en monocultivo. Por otro lado, la influencia de la microbiota en la respuesta inmune de

las plantas con las que se asocia también ya ha sido reportado, (Yu *et al.*, 219; Yuan *et al.*, 2018; Stringlis *et al.*, 2018a, 2018 b).

En resumen, el efecto de la micorrización en las plantas de frijol y maíz fue negativo en la mayoría de los tratamientos y parámetros evaluados, por lo que las hipótesis relacionadas con este factor fueron rechazadas o parcialmente aceptadas.

Efecto del inóculo agroecológico sobre la micorrización, crecimiento, nutrición, nodulación y defensa de plantas de maíz y frijol (H2)

Existe evidencia de que al implementar estrategias de cultivo de tipo agroecológicas se aumenta la riqueza y diversidad de especies microbianas de los suelos agrícolas en contraste con el empleo de estrategias convencionales (Lupatini *et al.*, 2017). Una de las características del sistema agroecológico es la diversidad de especies vegetales, lo cual influye positivamente en la diversidad de microorganismos del suelo (Morales *et al.*, 2022; Saleem *et al.*, 2019; Maitra, 2019), incluyendo hongos micorrízicos arbusculares (Zhang *et al.*, 2020). Tal aumento en la diversidad de especies microbianas incluye bacterias promotoras de crecimiento vegetal, por lo que en esta tesis se hipotetizó que plantas crecidas con inóculos TA aumentarían su crecimiento y su nutrición.

Los resultados del presente trabajo indicaron que, en frijol, el origen del inóculo TA tuvo efecto negativo en la acumulación de biomasa, pero no en el contenido de nutrientes en donde no se observó diferencia con TC; mientras que en maíz, la biomasa no se vió afectada por TA, pero tanto P como N aumentaron su contenido. Ya ha sido documentado que la microbiota de los sistema agroecológicos es más diversa que en los convencionales (Sünnemann *et al.*, 2021), esto podría sugerir que el mayor contenido en la toma de P y N en las plantas de maíz inoculadas con TA es por el potencial aumento en la diversidad de microorganismos en este inóculo, ya sea de hongos micorrízicos arbusculares o de especies microbianas presentes en la microbiota acompañante. La solubilización de P y la capacidad de hacerlo más disponible para la planta puede ser llevada a cabo por bacterias de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* (Restrepo *et al.*, 2015), géneros que podrían estar representados diferencialmente en los inóculos TA con respecto a los TC. También en maíz se observó en una interacción doble, en donde el contenido de P y N en maíz Amarillo en bicultivo con frijol Gordo fue menor en TC que en TA. Una posible explicación es que los inóculos TA tengan mayor abundancia de bacterias promotoras de crecimiento o especies microbianas más eficientes para la transferencia de nutrientes al maíz con respecto al inóculo TC (Sünnemann *et al.*, 2021). Esto podría esperarse también para las especies de HMAs,

porque cada especie de HMA puede tener efectos distintos en la eficiencia en la transferencia de nutrientes a la planta (Smith, 2004). La elucidación de la composición microbiana de los inóculos TA y TC permitirá corroborar estas hipótesis.

El origen del inóculo no tuvo efecto en el porcentaje de micorrización en los tratamientos, con la excepción de maíz en monocultivo, encontrándose una interacción doble entre los factores origen del inóculo y morfotipo, en donde TA afectó de manera diferencial a maíz Blanco (menor porcentaje de micorrización) y al maíz Negro (mayor porcentaje de micorrización). Esta repuesta diferencial entre morfotipos de maíz ya ha sido reportada. En un trabajo realizado en Los Tuxtlas, Veracruz, se reportó que el maíz Negro fue el mejor de los morfotipos probados para captar P (Sangabriel-Conde *et al.*, 2015). Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que este maíz criollo puede colonizarse de manera más eficiente con los inóculos provenientes de parcelas agroecológicas TA, lo que podría explicar la mayor toma de P en el trabajo de Sangabriel-Conde *et al.* (2015). Aunque, en el presente trabajo el factor morfotipo no fue significativo para el contenido de P, sí sugiere que maíz Negro podría tener una tendencia a micorrizarse más y tomar más P que los otros morfotipos estudiados.

Por otro lado, la nodulación en frijol aumentó con el inóculo TA, lo cual apoya la idea de que este inóculo pudiera haber contenido más bacterias diazotróficas tanto de vida libre como endosimbióticas. Estos resultados son concordantes con los reportados recientemente por Jalloh *et al.* (2024), en donde analizaron los microbiomas de un sistema de bicultivo (maíz-leguminosa) con uno de monocultivo, encontrando mayor número de especies microbianas benéficas en los suelos con bicultivo incluyendo bacterias relacionadas con la fijación de nitrógeno. Hay evidencia que indica que la microbiota del suelo puede influir en la respuesta inmune de las plantas en su interacción no solo con otros microorganismos de la rizosfera sino también con aquellos que inducen defensa contra patógenos (Vannini *et al.*, 2021). Ya que se espera que los inóculos TA sean más diversos que los TC (Sünnemann *et al.*, 2021, Jalloh *et al.*, 2024) se hipotetizó que los inóculos TA inducirían defensa en las plantas de frijol.

Los resultados del ANOVA indicaron que tanto las plantas en plantas de frijol crecidas en monocultivo y en bicultivo con maíz, e inoculadas con TA, aumentaron su defensa (presentaron menor área de lesión en hojas por *S. sclerotiorum*) respecto a las TC, por lo que la hipótesis se acepta. Esta inducción de defensa en frijol puede ser el resultado de la interacción del frijol tanto con los HMAs, como con bacterias de la microbiota acompañante

de los inóculos. Aunque el factor origen del inóculo no tuvo efecto en el porcentaje de micorrización ni en el contenido de nutrientes, los HMAs pueden haber contribuido a la inducción de defensa en frijol, tal como ha sido reportado (Mora-Romero *et al.*, 2015a; 2015b) en variedades de frijol común. No se puede descartar la posibilidad de que componentes de la microbiota acompañante hayan contribuido a la defensa observada, ya es muy posible que los inóculos TA contengan bacterias promotoras de crecimiento capaces de disparar resistencia sistémica adquirida (Jalloh *et al.*, 2024).

Efecto del factor monocultivo y bicultivo sobre el % de micorrización, contenido de nutrientes, crecimiento, nutrición y defensa de plantas de maíz y frijol (H3).

La milpa es un sistema de policultivo, por lo que estudiar la respuesta de plantas en condiciones de monocultivo y contrastarlo con el cultivo con múltiples especies (bicultivo o policultivo) contribuirá a entender las ventajas de uno u otro sistema. Una de las ventajas del policultivo en la milpa es que los productos de las diferentes especies vegetales pueden complementar las necesidades nutricionales de las familias que utilizan este sistema agrícola como medio de subsistencia, no solo en términos de carbohidratos y proteínas, sino también de micronutrientes y vitaminas (Falkowski *et al.*, 2021; Novotny *et al.*, 2021), de tal manera, que una milpa con varios cultivos resulta más beneficiosa en términos alimenticios, más sustentable y ambientalmente responsable, que un monocultivo.

Una planta crecida en monocultivo o acompañada por otras especies vegetales puede afectar su interacción con la microbiota del suelo. Por otro lado, las plantas en bicultivo tendrían que competir por espacio y nutrientes con respecto a las crecidas en monocultivo, pudiendo afectar su crecimiento y nutrición. Por todo esto, se hipotetizó que plantas crecidas en monocultivo tendrían mayor crecimiento, porcentaje de micorrización, nodulación y toma de nutrientes que las plantas en bicultivo.

Los resultados mostraron que, en frijol, no hubo diferencias significativas en crecimiento, porcentaje de micorrización, nodulación y contenido de nutrientes entre las plantas crecidas en monocultivo con respecto al bicultivo. Lo mismo se observó en maíz en monocultivo, sin embargo, en bicultivo, el crecimiento fue afectado negativamente para los tres morfotipos de maíz, aunque solo fue significativo para el caso del maíz Negro con Frijol Gordo. También se observó que el porcentaje de colonización micorrízica fue siempre menor en los maíces en bicultivo, aunque solo fue significativa para el caso de maíz Amarillo con frijol Gordo. Estos resultados apoyan la hipótesis planteada. Posiblemente la competencia por espacio y

nutrientes entre las dos especies explique estos resultados. Por lo tanto, estos resultados apoyan parcialmente la hipótesis.

En este análisis se observó también una interacción doble entre los maíces crecidos en mono y bicultivo con el origen del inóculo, observándose que en maíz Blanco presentó menores niveles de micorrización en TA tanto en mono como en bicultivo, en contraste con maíz Negro en donde se encontraron los mayores niveles de micorrización en monocultivo en TA. Estos resultados sugieren que el maíz es más afectado por el bicultivo (posiblemente por los exudados de la planta de frijol y por la naturaleza de los inóculos de HMAs) en su crecimiento y en su porcentaje de micorrización con respecto al frijol en bicultivo. También, hay evidencia que indica que la respuesta de crecimiento en especies en monocultivo y bicultivo depende del genotipo; por ejemplo, el bicultivo de tomate con puerro estimuló en crecimiento de la parte aérea de la planta de tomate con respecto a tomate en monocultivo, mientras que tomate con a la albahaca lo disminuyó (Hage-Ahmed *et al.*, 2013), tal como en esta tesis se reporta para el frijol en bicultivo con maíz.

Por otro lado, crecer junto a otra planta en un sistema de bicultivo implica una situación de estrés por competencia de recursos. El estrés tanto abiótico como biótico pueden llevar a encender mecanismos de defensa en las plantas mediante la estrategia de compartir la misma ruta de señalización de ácido jasmónico (Wang *et al.*, 2020); basados en esto se hipotetizó que las plantas de frijol crecidas en monocultivo se defenderían menos que las correspondientes en bicultivo.

Los resultados indicaron una interacción doble entre el tipo de inóculo y la condición de mono y bicultivo en frijol, en donde, por un lado, plantas de frijol Gordo en bicultivo con maíz Amarillo presentaron mayor defensa (menor área de lesión tanto en TA como en TC) que plantas de frijol en monocultivo, lo cual apoya la hipótesis. Esto mismo se observó con respecto al área de lesión del frijol Gordo en bicultivo con maíz Blanco, pero solo con el inóculo TA, ya que no se observó diferencia en el área de lesión de esta combinación con inóculo TC, con respecto al monocultivo. En este caso, la hipótesis se aceptó parcialmente.

La microbiota del suelo, ya sean HMA o bacterias promotoras de crecimiento, tiene una influencia directa en la inducción de mecanismos de defensa en las plantas. En general, esta protección es del tipo de la resistencia sistémica inducida (ISR) para bacterias promotoras de crecimiento, o resistencia inducida por micorrización (MIR) para la colonización micorrízica. Este mecanismo de resistencia está regulado por algunas hormonas vegetales como el ácido jasmónico o su derivado metilado (MeJA), etileno, y

otros intermediarios de la ruta de las oxilipinas (Hashem *et al.*, 2019). Como los exudados de raíces impactan directamente sobre las especies vegetales en bicultivo y también sobre las comunidades microbianas (Upadhyay *et al.*, 2022; Li *et al.* 2019), es de esperarse que la inducción de defensa por micorrización y por bacterias del suelo también impacten la inducción de defensa de las plantas.

Efecto del factor Especie (frijol) o Morfotipo (maíz) sobre el crecimiento, nutrición, % micorrización, nodulación y defensa de plantas de maíz y frijol H4.

Uno de los factores que determinan la respuesta de las plantas a la interacción con microorganismos benéficos como HMAs, bacterias promotoras de crecimiento y con otras especies vegetales es su genotipo (Londoño *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2023; Vannini *et al.* 2021). Por lo tanto, se hipotetizó que la respuesta del factor Especie (frijol) o Morfotipo (maíz) causaría una respuesta diferencial en crecimiento, nutrientes, porcentaje de micorrización, nodulación y defensa entre los genotipos estudiados.

Para el caso de frijol, se observó un efecto diferencial en el crecimiento de las tres especies, siendo el frijol Gordo el que acumuló más biomasa, el frijol Enredador el que acumuló menos y frijol Ayocote en un nivel intermedio. Por lo tanto, la hipótesis se acepta. Este patrón de las especies de frijol estudiadas es consistente con lo que se observa en su crecimiento en el lugar donde se utilizan para cultivo y donde se colectaron (Ocotepéc, Veracruz). Sin embargo, en frijol monocultivo, ni el porcentaje de micorrización, contenido de nutrientes, y/o la nodulación fueron diferenciales en las tres especies. Por lo tanto, las hipótesis relacionadas a estos parámetros se rechazan.

En cuanto a defensa, se observó que las tres especies de frijol mostraron diferencias, siendo el frijol Gordo el que se defendió menos (teniendo mayor área de lesión), seguida del frijol Ayocote y finalmente frijol Enredador el cual presentó la mayor defensa (menor área de lesión).

Esta patrón inverso entre crecimiento y defensa en las tres especies de frijol fue también observado por Vannini *et al.* (2021) en un experimento con trigo y con la combinación de bacterias promotoras de crecimiento (*Azospirillum brasilense* y *Paraburkolderia graminis*) y el hongo micorrízico *Funneliformes mosseae*, en donde se encontró que tanto la colonización solo con *F. mosseae* y la combinación *F. mosseae*-*P. graminis* mostraron una mayor inducción de defensa ante el patógeno *Xanthomonas translucens*, y a la vez menor crecimiento, principalmente de la parte aérea de la planta. La energía disponible para crecer

y para desplegar mecanismos de defensa no es ilimitada, cómo se responde ante esta disyuntiva parece depender de cada especie vegetal. Por lo tanto, la hipótesis se acepta.

En este trabajo, el frijol Gordo fue la única especie que pudo probarse en bicultivo con los tres morfotipos de maíz, mientras que los tres morfotipos de maíz fueron probados solamente con frijol Gordo. Aunque no se obtuvieron resultados de la respuesta de crecimiento de frijol Enredador y Ayocote en bicultivo, sí se monitoreó la respuesta del crecimiento de frijol Gordo en bicultivo con cada uno de los morfotipos de maíz. Lo que se observó fue que frijol Gordo en bicultivo con maíz Blanco y Negro no afectó su crecimiento, a diferencia del frijol Gordo en bicultivo con maíz Amarillo, en donde su crecimiento se vió disminuido. Aunque este experimento podría sugerir un efecto alelopático del maíz amarillo sobre el frijol Gordo (Jabran, 2017; Niculaes *et al.*, 2018), es posible que esta se haya observado en el sistema de macetas por competencia, ya que normalmente en campo no se observa inhibición del crecimiento del frijol Gordo con el maíz Amarillo.

Con respecto a maíz, los tres morfotipos en bicultivo con frijol Gordo no mostraron diferencia en respuesta a los parámetros estudiados, con la excepción de porcentaje de micorrización, en donde se observó una interacción doble, el maíz Blanco tuvo menos % de colonización que maíz Negro (ambos en TA). Esto apoya la hipótesis de que los diferentes morfotipos muestran respuestas distintas en el porcentaje de micorrización.

CONCLUSIONES

los inóculos aislados de parcelas agroecológicas (TA) afectaron principalmente a frijol aumentando la nodulación en monocultivo y la defensa tanto en mono como en bicultivo, pero sin afectar negativamente la micorrización.

El bicultivo tuvo un efecto negativo en el crecimiento y micorrización en maíz, mientras que en frijol afectó la defensa pero dependiendo de la especie de frijol y del tipo de inóculo (TA o TC).

Las tres especies de frijol mostraron efectos diferenciales en el crecimiento y la defensa, observándose una relación inversa entre estos dos parámetros. Mientras que los morfotipos de maíces mostraron diferencias en micorrización y en crecimiento.

Estos resultados sugieren que el manejo agroecológico favorece comunidades microbianas que promueven inducción de mecanismos de defensa contra patógenos y la nutrición de las plantas, y que los beneficios son dependientes del genotipo de cada especie involucrada.

BIBLIOGRAFÍA

- Abawi G. S. and Grogan R. G., (1979). Epidemiology of Diseases Caused by *Sclerotinia* Species. *Phytopathology* 69:899. DOI:10.1094/Phyto-69-899
- Abbas, H.; Cartwright, R.; Shier, W. 2006. Aflatoxin and fumonisin contamination of corn (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. *Crop Prot.* 25: 1-9.
- Abeer Hashem, Baby Tabassum, Elsayed Fathi Abd_Allah. (2019). *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, Volume 26, Issue 6, Pages 1291-1297. ISSN 1319-562X. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>.
- Agrios, G. N. 2005. *Fitopatología*, 2da edición. México, Limusa, 952 p.
- Aguk, J.A.; Karanja, N.; Schulte-Geldermann, E.; Bruns, C.; Kinyua, Z.; Parker, M. Control of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) in potato (*Solanum tuberosum*) using rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza fungi. *Afr. J. Food Agr. Nutr. Dev.* **2018**, 18, 13371–13387. DOI: [10.18697/ajfand.82.16905](https://doi.org/10.18697/ajfand.82.16905)
- Aguilar J., Illsley C., Marielle C. (2003). "Los Sistemas agrícolas de maíz y sus procesos técnicos", en *Sin maíz no hay país*. Eds. Esteva G., Marielle C. (Ciudad de México: Consejo Nacional para la Cultura y las Artes), 83–122
- Altieri, M. A., y Nicholls, C. I. (2007). *Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas* (Vol. 2). Icaria editorial.
- Al-Karaki, G. N. 2000, Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza*, vol. 10, no. 2, pp. 51-54, ISSN 0940- 6360, 1432-1890, DOI 10.1007/s005720000055.
- Álvarez Solís José David; Muñoz Arroyo Ramón; Huerta Lwanga Esperanza; Nahed Toral José. Balance parcial de nitrógeno en el sistema de cultivo de maíz (*Zea mays* L.) con cobertura de leguminosas en Chiapas, México. *Agronomía Costarricense* 40(1): 29-39. ISSN:0377-9424/2016
- Andrade, F. H. (2016, abril). Los desafíos de la agricultura. Recuperado 2 de diciembre de 2022, de <https://infolibros.org/pdfview/8814-los-desafios-de-la-agricultura-fernando-h-andrade/>
- Apodaca-Sánchez MA. (2009). Principales enfermedades infecciosas del frijol en Sinaloa y su manejo. Jornada de transferencia de tecnología del cultivo de frijol. Folleto técnico Fundación Produce Sinaloa. México. pp. 7-26.
- Ávila-Bello, C. H., Hernández-Romero, Á.H., Mendoza-Briseño, M. A., Vázquez-Luna D. (2018). Sistemas complejos, matrices agroecológicas y manejo de recursos forestales: Un ejemplo de aplicación en Los tuxtlas, Veracruz, México. *Sostenibilidad* 10. doi: 10.3390/su10103496

- Ayala, A.V., R. Schwentesius, G. Almaguer, y A. Gómez. 2008. Competitividad del frijol mexicano frente al de Estados Unidos en un contexto de liberalización comercial. *Región y Sociedad* 20(42):37-72.
- Azarpazhooh, Elham and Ahmed, Jasim. (2022). Composition of Raw and Processed Dry Beans and Other Pulses. CH 6. In: *Dry Beans and Pulses. Production, Processing, and Nutrition*. Editors Siddiq M y Uebersax MA. 2. ed. P.131-157
- Bacon, C.; Nelson, P. 1994. Fumonisin production in corn by toxigenic strains of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum*. *J Food Protect.* 57: 514-521.
- Back, M. A., Haydock, P. P. J., and Jenkinson, P. (2002). Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. *Plant Pathol.* 51, 683–697. doi: 10.1046/j.1365-3059.2002.00785.x
- Ballesteros-Almanza L, Altamirano-Hernandez J, Peña-Cabriales JJ, Santoyo G, Sanchez-Yañez JM, Valencia-Cantero E, Macias-Rodriguez L, Lopez-Bucio J, Cardenas-Navarro R, Farias-Rodriguez R. (2010). Effect of co-inoculation with mycorrhiza and rhizobia on the nodule trehalose content of different bean genotypes. *Open Microbiol J.* 4:83-92. doi: 10.2174/11874285801004010083.
- Bethlenfalvay Gabor J., Pacovsky Raymond S., Bayne Henry G., and Stafford Allan E. (1982). Interactions between Nitrogen Fixation, Mycorrhizal Colonization, and Host-Plant Growth in the *Phaseolus-Rhizobium- Glomus* Symbiosis. *Plant Physiol.* 70, 446-450.
- Battini F, Grønlund M, Agnolucci M, Giovannetti M, Jakobsen I. (2017). Facilitation of phosphorus uptake in maize plants by mycorrhizosphere bacteria. doi: 10.1038/s41598-017-04959-0.
- Beirinckx, S., Viaene, T., Haegeman, A., Debode, J., Amery, F., Vandenaabeele, S., *et al.* (2020). Tapping into the maize root microbiome to identify bacteria that promote growth under chilling conditions. *Microbiome* 8: 1–13.
- Bever, J. D.; Dickie, I. A.; Facelli, E.; Facelli, J. M.; Klironomos, J.; Moora, M.; Rillig, M. C.; Stock, W. D.; Tibbett, M. y Zobel, M. (2010). Rooting theories of plant community ecology in microbial interactions. *Trends in Ecology and Evolution*, vol. 25, pp. 468-478. ISSN 0169-5347.
- BITOCCHI, E. *et al.*, “Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Mesoamerica and the Andes”, *New Phytol*, 2013, 197, pp. 300–313.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., & Grove, T., (1996) *Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture*.
- BOLTON, M.D., THOMMA, B.P.H.J. and NELSON, B.D. (2006). *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 7: 1-16. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x>

- Borges *et al.* (2008). Recomendaciones de ingestión de nutrimentos para la población Mexicana. Bases fisiológicas. Tomo 2. Ed. Panamericana México.
- Boro, M., Sannyasi, S., Chettri, D. *et al.* (2022). Microorganisms in biological control strategies to manage microbial plant pathogens: a review. *Arch Microbiol* **204**, 666 <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03279-w>.
- Boutaj, H., Chakhchar, A., Meddich, A., Wahbi, S., El Alaoui-Talibi, Z., Douira, A., Filali- Maltouf, A., El Modafar, C., (2021). Mycorrhizal autochthonous consortium induced defense-related mechanisms of olive trees against *Verticillium dahliae*. *J. Plant Dis. Prot.* 128 (1), 225–237.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture Mycorrhizas of Australian Plants View project Banksia Woodland Restoration Project View project. June 1982, 374 pp
- Buenrostro, M., 2009. Las bondades de la milpa. *Ciencias* 93-92, 30-32.
- Cavaglieri Lilia, Orlando Julieta and Etcheverry Miriam. (2007). Rhizosphere microbial community structure at different maize plant growth stages and root locations. *Microbiological research*, Vol.164. doi:10.1016/j.micres.2007.03.006
- Chaparro, J.M., Badri, D.V., and Vivanco, J.M. (2014). Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development. *ISME J* 8: 790–803.
- Chen Jiaxin, Wang Lei, Liang Xinran, Li Bo, He Yongmei, Zhan Fangdong. (2023). An arbuscular mycorrhizal fungus differentially regulates root traits and cadmium uptake in two maize varieties. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 264, ISSN 0147-6513. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115458>.
- Diacono, M., Montemurro, F. (2010). Efectos a largo plazo de las enmiendas orgánicas sobre la fertilidad del suelo. Una revisión. *Agronomía para el Desarrollo Sostenible* 30, 401–422. <https://doi.org/10.1051/agro/2009040>
- Dinesh R, Srinivasan V, Hamza S, Manjusha A. (2010). Short term incorporation of organic manures and biofertilizers influences biochemical and microbial characteristics of soils under an annual crop [Turmeric (*Curcuma longa* L.)]. *Bioresource Technology*, 101, 4697–4702.
- Dora Ma. Sangerman-Jarquín, Jorge A. Acosta-Gallego, Rita Shwenstesus de Rinderman, Miguel Ángel Damián Huato y Bertha Sofía Larqué Saavedra. (2010). CONSIDERACIONES E IMPORTANCIA SOCIAL EN TORNO AL CULTIVO DEL FRIJOL EN EL CENTRO DE MÉXICO. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.1 Núm.3 1 de julio - 30 de septiembre, 2010 p. 363-380
- Ebel, R., Pozas Cárdenas, J. G., Soria Miranda, F. y Cruz González, J. (2017). Manejo orgánico de la milpa: rendimiento de maíz, frijol y calabaza en monocultivo y policultivo. *Terra Latinoamericana: organo científico de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C.* 35(2), 149.

Eke, P., Chatue Chatue, G., Wakam, L.N., Kouipou, R.M.T., Fokou, P.V.T., Boyom, F.F. (2016). Mycorrhiza consortia suppress the fusarium root rot (*Fusarium solani* f. sp. *Phaseoli*) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biol. Control* 103, 240–250.

Falkowski, T.B., Chankin, A., Diemont, S.A.W. *et al.* (2019). More than just corn and calories: a comprehensive assessment of the yield and nutritional content of a traditional Lacandonon Maya *milpa*. *Food Sec.* 11, 389–404. <https://doi.org/10.1007/s12571-019-00901-6>

Félix-Gastélum, Rubén; Lizárraga-Sánchez, Glenda Judith; Maldonado-Mendoza, Ignacio Eduardo; Leyva-Madrigal, Karla Yeriana; Rodríguez, Gabriel Herrera-; Espinoza-Matías, Silvia Confirmación de la identidad de *Exserohilum turcicum*, agente causal del tizón foliar del maíz en Sinaloa. *Revista mexicana de fitopatología*, vol. 36, núm. 3, Septiembre-Diciembre, 2018, pp. 468-478 DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1803-1

Fiorilli, V. Martínez-Medina, A. and Pozo, Maria J. and Lanfranco, L. (2024). Plant Immunity Modulation in Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis and Its Impact on Pathogens and Pests. *Annual Review of Phytopathology*. vol.62, pp.127-156. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-121423-042014>

Fonteyne, S., Castillo Caamal, J. B., Lopez-Ridaura, S., Van Loon, J., Espidio Balbuena, J., Osorio Alcalá, L., Martínez Hernández, F., Odjo, S., & Verhulst, N. (2023). Review of agronomic research on the milpa, the traditional polyculture system of Mesoamerica. *Frontiers in Agronomy*, 5, 1115490. <https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1115490>

Fred, E. B., I. L. Baldwin, and E. McCoy. (1932). *Root nodule bacteria and leguminous plants*. Univ. of Wisconsin Press, Madison, WI

Gage, Joseph. (2004). Infection and Invasion of Roots by Symbiotic, Nitrogen-Fixing Rhizobia during Nodulation of Temperate Legumes. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*. doi:10.1128/MMBR.68.2.280-300.2004

Galvez, L., D. D. Douds, L. E. Drinkwater, and P. Wagoner. 2001. Effect of tillage and farming system upon VAM fungus populations and mycorrhizas and nutrient uptake of maize. *Plant and Soil* 228 (2):299–308. doi:10.1023/A:1004810116854

García-Gutiérrez, Cipriano, y Guadalupe Durga Rodríguez-Meza. (2012). Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Ra Ximhai*. Vol. 8, Núm. 3, pp: 1-10.

García, J.A., G. Rodríguez, A. Sáenz, y S. Rebollar. 2006. Políticas para mejorar la competitividad de la producción de maíz y frijol en México. *Rev. Fitotec. Mex.* 29:115-121. García Mendoza. (2009, septiembre). *Guía técnica para el cultivo de frijol en los municipios de Santa Lucía, Teustepe y San Lorenzo del Departamento de Boaco, Nicaragua*. Recuperado 4 de diciembre de 2022, de <http://repiica.iica.int/DOCS/B2170E/B2170E.PDF>

- García-Salazar, José Alberto., Ramírez-Jaspeado, Rocío., Ávila-Soler, Enrique y Ramírez-Barraza, Brenda A. (2023). ¿ES POSIBLE DISMINUIR LA DEPENDENCIA ALIMENTARIA DE MAÍZ EN MÉXICO? *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 46 (3): 299-307, 2023
- Gelderblom, W.; Kriek, N.; Marasas, W.; Thiel, P. (1992). Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B1 in rats. *Carcinogenesis* 12: 1247-1251.
- Giovannetti y Mosse, 1980 (Giovannetti M and Mosse B 1980 An evaluation of techniques for measuring vesiculararbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* **84**, 489–500).
- Gliessman, S. R. (2014). *Agroecology: The ecology of sustainable food systems*. Florida: CRC Press
- González *et al.*, (2020). *LA DIETA DE LA MILPA*, Modelo de alimentación mesoamericana saludable y culturalmente pertinente. https://www.academia.edu/77378003/LA_DIETA_DE_LA_MILPA
- Guerrero, H. M., Preciado, O. R. y Ortega C. A. 2013. Diversidad y distribución del maíz nativo y sus parientes silvestres en México.
- Guzmán Duchén, Daniel, & Montero Torres, Julio. (2021). Interacción de bacterias y plantas en la fijación del nitrógeno. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 8(2), 87-101. Epub 31 de agosto de 2021. <https://doi.org/10.53287/uyxf4027gf99e>
- Hage-Ahmed K, Krammer J, Steinkellner S. (2013). The intercropping partner affects arbuscular mycorrhizal fungi and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* interactions in tomato. *Mycorrhiza*. 543-50. doi: 10.1007/s00572-013-0495-x. Epub 2013 Apr 3. PMID: 23549903; PMCID: PMC3778835.
- Hashem, A., Akhter, A., Alqarawi, A.A., Singh, G., Almutairi, K.F., Abd Allah, E.F., (2021). Mycorrhizal fungi induced activation of tomato defense system mitigates *Fusarium* wilt stress. *Saudi J. Biol. Sci.* 28 (10), 5442–5450.
- Holland Bethany L. , Matthews Megan L., Bota Pedro, Sweetlove Lee J., Long Stephen P., and C. diCenzo George. (2023). A genome-scale metabolic reconstruction of soybean and *Bradyrhizobium diazoefficiens* reveals the cost–benefit of nitrogen fixation. *New Phytologist* 240: 744–756. DOI: 10.1111/nph.19203
- Jabran, K. (2017). Maize Allelopathy for Weed Control. In: *Manipulation of Allelopathic Crops for Weed Control*. SpringerBriefs in Plant Science. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-53186-1_4
- Jakobsen I and Rosendahl L. (1990). Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. *New Phytologist* **115**, 77–83.

- Jalloh, A.A., Mutyambai, D.M., Yusuf, A.A. *et al.* (2024). Maize edible-legumes intercropping systems for enhancing agrobiodiversity and belowground ecosystem services. *Sci Rep* **14**, 14355. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-64138-w>
- Jansa, J., Finlay, R., Wallander, H., Smith, F.A., Smith, S.E. (2011). Role of Mycorrhizal Symbioses in Phosphorus Cycling. In: Bünemann, E., Oberson, A., Frossard, E. (eds) *Phosphorus in Action. Soil Biology*, vol 26. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_6
- Johnson, N.C., Wilson, G.W., Bowker, M.A., Wilson, J.A., Miller, R.M., (2010). Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **107**, 2093–2098.
- Jung, S. C.; Martínez-Medina, A.; Lopez-Raez, J. A. y Pozo, M. J. Mycorrhiza-Induced Resistance and Priming of Plant Defenses. *J. Chem. Ecol.*, 2012, vol. 38, pp. 651-664. ISSN 1573-1561.
- Klironomos JN. (2003). Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology* **84**, 2292–2301.
- Lanz, B., Dietz, S. y Swanson, T. (2018). The Expansion of Modern Agriculture and Global Biodiversity Decline: An Integrated Assessment. *Ecological Economics*, **144**, 260-277. 10.1016/J.ECOLECON.2017.07.018
- Lara-Capistrán, Liliana, Hernández-Montiel, Luis Guillermo, Reyes-Pérez, Juan José, Preciado Rangel, Pablo, & Zulueta-Rodríguez, Ramón. (2019). Respuesta agronómica de *Phaseolus vulgaris* a la biofertilización en campo. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, **10**(5), 1035-1046. Epub 03 de marzo de 2020. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.936>
- Lehmann, A., Rillig, M.C., (2015). Understanding mechanisms of soil biota involvement in soil aggregation: a way forward with saprobic fungi? *Soil Biol. Biochem.* **88**, 298–302. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.06.006>.
- Leiva-Mora, Michel, Páez Martínez, Pedro Pablo, Bernal Cabrera, Alexander, Pérez Salinas, Marco Oswaldo, Muñoz Espinoza, Manolo, Vasquez Freytez, Carlos Luis, & León Gordón, Olguer Alfredo. (2020). El complejo de especies de *Sclerotinia* y su importancia fitopatológica en cultivos tropicales. *Centro Agrícola*, **47**(Supl. 1), 29-32. Recuperado en 04 de noviembre de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025357852020000500029&lng=es&tlng=es.
- Letourneau, Deborah & Armbricht, Inge & Salguero, Beatriz & Montoya-Lerma, James & Jiménez, Elizabeth & Daza, Martha & Escobar, Selene & Galindo, Victor & Gutierrez-Chacón, Catalina & López, Sebastián & López Mejía, Jessica & Acosta-Rangel, Aleyda & Rangel, Janine & Rivera-Pedroza, Leonardo & Saavedra-Rodríguez, Carlos & Torres, Alba & Reyes, Aldemar. (2011). Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. *Ecological applications: a publication of the Ecological Society of America*. **21**. 9-21. 10.2307/29779633.

- Leyva-Madrugal, K. Y., Larralde-Corona, C. P., Apodaca-Sánchez, M. A., Quiroz-Figueroa, F. R., Mexia-Bolaños, P. A., Portillo-Valenzuela, S., ... & Maldonado-Mendoza, I. E. (2015). Fusarium species from the Fusarium fujikuroi species complex involved in mixed infections of maize in Northern Sinaloa, Mexico. *Journal of Phytopathology*, 163(6), 486-497.
- Leyva-Trinidad, D. A., Pérez-Vázquez, A., Bezerra da Costa, I. y Formighieri Giordani, R. C. (2020). El papel de la milpa en la seguridad alimentaria y nutricional en hogares de Ocotlán Texizapan, Veracruz, México. *Polibotánica*, 0(50)
- Londoño, D.M.M., Meyer, E., González, D. et al. (2019). Landrace maize varieties differ from conventional and genetically modified hybrid maize in response to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* **29**, 237–249. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00883-5>
- Li Y., Duan T., Nan Z., Li Y. (2021) Arbuscular mycorrhizal fungus alleviates alfalfa leaf spots caused by *Phoma medicaginis* revealed by RNA-seq analysis, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 130, Issue 2, Pages 547–560, <https://doi.org/10.1111/jam.14387>
- Li, Chun-Xia., Fu, Xue-Peng., Zhou, Xin-Gang., Liu, Shou-Wei., Xia, Ye., et al., (2019). Treatment With Wheat Root Exudates and Soil Microorganisms From Wheat/Watermelon Companion Cropping Can Induce Watermelon Disease Resistance Against Fusarium oxysporum f. sp. niveum. doi: 10.1094/PDIS-08-18-1387-RE
- Liu, R.J.; Dai, M.; Wu, X.; Li, M.; Liu, X.Z. Suppression of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood] on tomato by dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria. *Mycorrhiza* **2012**, 22, 289–296. DOI: 10.1007/s00572-011-0397-8
- Locqueville, J., Labeyrie, V., McKey, D., Sanabria, O. L., & Caillon, S. (2022). Semi-Domesticated Crops Have Unique Functional Roles in Agroecosystems: Perennial Beans (*Phaseolus dumosus* and *P. coccineus*) and Landscape Ethnoecology in the Colombian Andes. *Journal of Ethnobiology*, 42(2), 198-216. <https://doi.org/10.2993/0278-0771-42.2.198>
- López-Ridaura S., Barba-Escoto L., Reyna C., Hellin J., Gerard B., van Wijk M. (2019). Seguridad alimentaria y agropecuaria en la sierra occidental de Guatemala. *Seguridad alimentaria*. 11, 817–833. doi: 10.1007/s12571-019-00940-z
- Lupatini Manoeli , Korthals Gerard W. , de Hollander Mattias , Janssens Thierry K. S. , Kuramae Eiko E. (2017). Soil Microbiome Is More Heterogeneous in Organic Than in Conventional Farming System. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 7. ISSN=1664-302X. DOI=10.3389/fmicb.2016.02064
- Neidy, L. C. (2013). *Entre la agricultura convencional y la agroecología. El caso de las practicas de manejo en los sistemas de produccion campesina en el municipio de silvania*. Recuperado el 4 de diciembre de 2022, de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/12482/CaldasMejiaRobertoFelipe2013.pdf?sequence=3>

- Novotny IP, Tiltonell P, Fuentes-Ponce MH, López-Ridaura S, Rossing WAH. (2021). The importance of the traditional milpa in food security and nutritional self-sufficiency in the highlands of Oaxaca, Mexico. *PLoS ONE* 16(2): e0246281. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246281>
- Nuss, Emily T. and Tanumihardjo, Sherry A. (2010). Maize: A Paramount Staple Crop in the Context of Global Nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. doi: 10.1111/j.1541-4337.2010.00117.x
- Maitra, Sagar. (2019). Enrichment of Biodiversity, Influence in Microbial Population Dynamics of Soil and Nutrient Utilization in Cereal-Legume Intercropping Systems: A Review. *International Journal of Bioresource Science*. Vol.6 DOI: 10.30954/2347-9655.01.2019.3
- Marasas, W. 1993. Occurrence of *Fusarium moniliforme* and fumonisins in maize in relation to human health. *South Afric Med J*. 83: 382-382.
- Martínez-Camacho, Y. D., Negrete-Yankelevich, S., Maldonado-Mendoza, I. E., Núñez-de la Mora, A., & Amescua-Villela, G. (2021). Manejo agroecológico con diversificación intra e interespecífica como alternativa al manejo convencional de nutrientes del suelo en la agricultura familiar de maíz. *Agroecología y Sistemas Alimentarios Sostenibles*, 46(3), 364–391. <https://doi.org/10.1080/21683565.2021.2015736>
- Martínez-García, L. B., Korthals, G., Brussaard, L., Jørgensen, H. B., and De Deyn, G. B. (2018). Organic management and cover crop species steer soil microbial community structure and functionality along with soil organic matter properties. *Agric. Ecosyst. Environ.* 263, 7–17. doi: 10.1016/j.agee.2018.04.018
- Mora-Romero G.A., Cervantes-Gámez R.G., Galindo-Flores H., González-Ortíz M.A., Félix-Gastélum R., Maldonado-Mendoza I.E., Salinas Pérez R., León-Félix J., Martínez-Valenzuela M.C. and López-Meyer M. (2015). Mycorrhiza-induced protection against pathogens is both genotype-specific and graft-transmissible. *Symbiosis* 66:55–64. DOI:10.1007/s13199-015-0334-2
- Mora-Romero, G. A., López-Meyer, M., Ramírez-Douriet, C. M., Del Carmen Martínez-Valenzuela, M., De Los Ángeles Romero-Urías, C., Herrera-Rodríguez, G., & Félix-Gastélum, R. (2016). Evaluación de la susceptibilidad a *Sclerotinia sclerotiorum* en cuatro genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) micorrizados. *Interciencia*, 41(2), 127–132
- Morales Marianela Estefanía, Iocoli Gastón Alejandro, Villamil María Bonita, Zabaloy María Celina. (2022). Efecto de los cultivos de cobertura invernales sobre el microbioma del suelo: revisión sistemática de la literatura. *Revista Argentina de Microbiología*, Volume 54, Issue 1, Pages 57-70, ISSN 0325-7541, <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.02.008>.
- Mt.Pleasant, J. (2016). Food Yields and Nutrient Analyses of the Three Sisters: A Haudenosaunee Cropping System. *Ethnobiology Letters*, 7(1), 87–98. <https://doi.org/10.14237/eb1.7.1.2016.721>

- Navarro BL, Campos RdA, Gasparoto MCdG, von Tiedemann. (2021). A. In Vitro and In Planta Studies on Temperature Adaptation of *Exserohilum turcicum* Isolates from Maize in Europe and South America. *Pathogens*; 10(2):154. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020154>
- Niculaes, Claudiu, Aleksej Abramov, Laura Hannemann, and Monika Frey. (2018). "Plant Protection by Benzoxazinoids—Recent Insights into Biosynthesis and Function" *Agronomy* 8, no. 8: 143. <https://doi.org/10.3390/agronomy8080143>
- Oldroyd, Giles E.D. and Murray, Jeremy D. and Poole, Philip S. and Downie, J. Allan. (2011). The Rules of Engagement in the Legume-Rhizobial Symbiosis. *Annual Review of Genetics*, Volume 4. 119-144. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132549>
- Peng Yumei, Xu Huasen, Shi Jia, Wang Zi, Lv Junfei, Li Long, Wang Xiang. (2024). Soil microbial composition, diversity, and network stability in intercropping versus monoculture responded differently to drought. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Volume 365.108915. ISSN 0167-8809. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2024.108915>.
- Qin Zefeng, Tian Yinghao, Hao Wenying, Zhang Junling, Feng Gu, Christie Peter, Gai Jingping. (2024). Identifying the predictors of mycorrhizal response under multiple fertilization regimes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Volume 365, 108926, ISSN 0167-8809. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2024.108926>
- Razak, N.A., Gange, A.C. Multitrophic Interactions Between Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Foliar Endophytic Fungi and Aphids. *Microb Ecol* **85**, 146–156 (2023). <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01937-y>
- Recchia Gustavo H., Konzen Enéas R., Cassieri Fernanda, Caldas Danielle G. G., Tsai Siu M. (2018). Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Leads to Differential Regulation of Drought-Responsive Genes in Tissue-Specific Root Cells of Common Bean. *Frontiers in Microbiology*, VOL. 9. ISSN=1664-302X. DOI=10.3389/fmicb.2018.01339
- Restrepo Gloria, Moreno Marulanda, Pérez Sandra, Díaz Yeised, Baldani Acela, Hernández Vera y Rodríguez Annia. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, Vol. 46, No. 1, pp. 63-76.
- Reyes-Tena, Alfredo. Quiñones-Aguilar, Evangelina., Rincón-Enríquez, Gabriel y López-Pérez, Luis. (2016). Micorrización en *Capsicum annum* L. para promoción de crecimiento y bioprotección contra *Phytophthora capsici* L. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.7 Núm.4 p. 857-870.
- Rillig MC, Aguilar-Trigueros CA, Bergmann J, Verbruggen E, Veresoglou SD, Lehmann A. (2015). Plant root and mycorrhizal fungal traits for understanding soil aggregation. *New Phytol.* 205:1385–88.

- Saharan, G. S., Naresh Mehta. (2008). Economic Importance. In: *Sclerotinia Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8408-9_4. Pp. 41-45.
- Säle Verena, Aguilera Paula, Laczko Endre, Mäder Paul, Berner Alfred, Zihlmann Urs, van der Heijden Marcel G.A., Oehl Fritz. (2015). Impact of conservation tillage and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 84, Pages 38-52, ISSN 0038-0717, <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.005>.
- Saleem, Muhammad and Hu, Jie and Jousset, Alexandre. (2019). More Than the Sum of Its Parts: Microbiome Biodiversity as a Driver of Plant Growth and Soil Health. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, vol. 50. pag. 145-168 doi = "<https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062605>".
- Sangabriel-Conde, W., Negrete-Yankelevich, S., Maldonado-Mendoza, I.E. *et al.* (2013). Las razas nativas de maíz criollo de Los Tuxtlas, México, muestran una dependencia micorrízica variable para la absorción de P. *Biol Suelos Fértiles* 50, 405–414. <https://doi.org/10.1007/s00374-013-0847-x>
- Sangabriel-Conde Wendy, Maldonado-Mendoza ignacio E., Mancera-López Maria Elena, Cordero-Ramírez Jesús Damián, Trejo-Aguilar Dora, Negrete-Yankelevich Simoneta. (2015). Glomeromycota associated with Mexican native maize landraces in Los Tuxtlas, Mexico. *Applied Soil Ecology*, Volume 87, Pages 63-71, ISSN 0929-1393, <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.10.017>.
- Sartori, M., Nesci, A. & Etcheverry, M. (2015). *Infeción de Fusarium verticillioides y contenido de fumonisinas en granos de maíz de plantas con inflorescencias femeninas cubiertas y no cubiertas*. Recuperado 2 de diciembre de 2022, de <http://scielo.org.ar/pdf/refca/v47n1/v47n1a18.pdf>
- Satish Kumar, Diksha, Satyavir S. Sindhu and Rakesh Kumar. (2022). Biofertilizers: An ecofriendly technology for nutrient recycling and environmental sustainability, *Current Research in Microbial Sciences*, Volume 3,100094, ISSN 2666-5174, <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100094>.
- Schwartz HF, Singh SP (2013). Breeding common bean for resistance to white mold: A review. *Crop Sci*. 53: 1-13.
- Sharma J., Rathore S. R., Godika S., Suresh Meena, and Chhagan Lal. 2017. *Sclerotinia sclerotiorum* – A threat and challenge for crops. *International Journal of Agricultural and Life Sciences- IJALS* (2017), Volume 3 (2) pp.188-194
- Simon, Z., Mtei, K.M., Gessesse, A., & Ndakidemi, P.A. (2014). Aislamiento y caracterización de rizobios fijadores de nitrógeno de suelos cultivados y no cultivados del norte de Tanzania. *Revista Americana de Ciencias de las Plantas*, 05, 4050-4067.

- Singh, S.R., Zargar, M.Y., Najar, G.R., Peer, F.A. & Ishaq, M.I. (2011). Integrated use of organic and inorganic fertilizers with bio-inoculants on yield, soil fertility and quality of apple (*Malus domestica*). *Journal of the Indian society of Soil Science*, 59(4): 362-367, ISSN: 0974-0228.
- Smith Sally, Jakobsen Iver and Smith Frank. (2004). Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: The contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist* Vol.162. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01039.x
- Son CL, Smith SE. (1988). Mycorrhizal growth responses: interactions between photon irradiance and phosphorus nutrition. *New Phytologist* **108**, 305–314.
- Stringlis, I. A., Proietti, S., Hickman, R., Van Verk, M. C., Zamioudis, C., & Pieterse, C. M. J. (2018). Root transcriptional dynamics induced by beneficial rhizobacteria and microbial immune elicitors reveal signatures of adaptation to mutualists. *Plant Journal*, 93, 166–180. <https://doi.org/10.1111/tbj.13741>
- Stringlis, I. A., Zhang, H., Pieterse, C. M. J., Bolton, M. D., & De Jonge, R. (2018). Microbial small molecules Weapons of plant subversion. *Natural Product Reports*, 35, 410–433. <https://doi.org/10.1039/C7NP00062F>
- Stuart Sweeney, Douglas G. Steigerwald, Frank Davenport, Hallie Eakin. Mexican maize production: Evolving organizational and spatial structures since 1980. *Applied Geography* 39 (2013) 78-92
- Sünnemann, M., Alt, C., Kostin, J.E., Lochner, A., Reitz, T., Siebert, J., Schädler, M., & Eisenhauer, N. (2021). Low-intensity land-use enhances soil microbial activity, biomass and fungal-to-bacterial ratio in current and future climates. *Journal of Applied Ecology*, 58, 2614–2625. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14004>
- Ortega, G. (2009). Agroecología vs agricultura convencional. *Base Investigaciones Sociales*. Recuperado el 4 de diciembre de 2022, de <http://www.baseis.org.py/wp-content/uploads/2014/03/1395155082.pdf>
- Perales, R. H. (2009). Maíz, riqueza de México. *Ciencias* 92-93. Recuperado el 4 de diciembre de 2022, de https://www.researchgate.net/publication/43070743_Maiz_riqueza_de_Mexico
- Pineda, J. S. T. (2017). Impacto ambiental por el uso excesivo de monocultivo. Recuperado el 1 de diciembre de 2022, de https://www.academia.edu/31290903/Impacto_ambiental_por_el_uso_excesivo_de_monocultivo_o_Environmental_impact_from_overuse_of_monoculture
- Polanco, J. A. y T. Fores M. 2008. Bases para una política de I&D e innovación de la cadena de valor del maíz. *Foro Consultivo Científico y Tecnológico*, A. C. México, D. F. 244 p.
- Purdy, L. H. (1979). *Sclerotinia sclerotiorum*: History, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. *Phytopathology*, 69, 875–880.

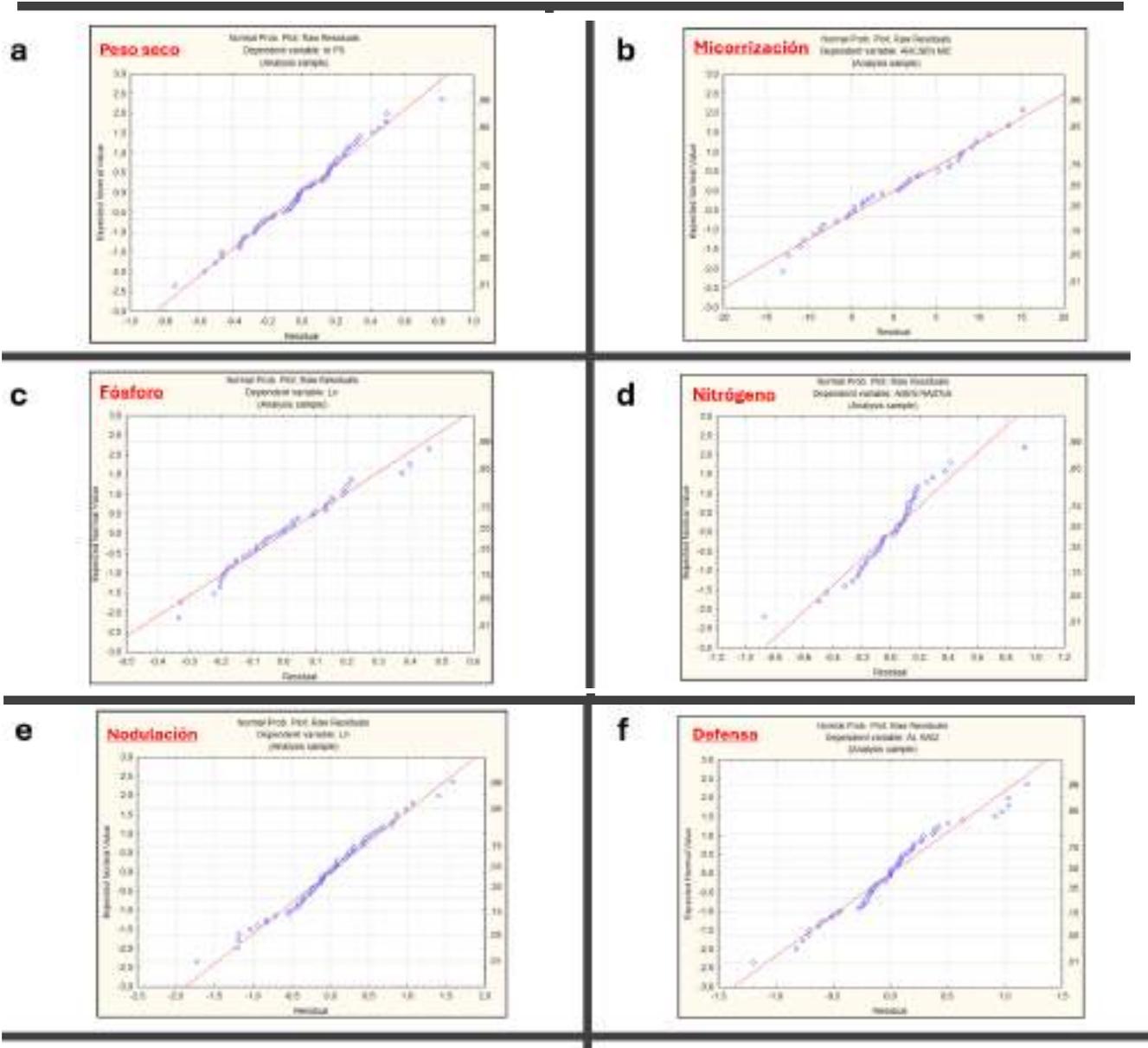
- Rabie, G. H. y Almadini, A. M. "Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress". *African Journal of Biotechnology*, vol. 4, no. 3, 2005, p. 210, ISSN 1684-5315.
- Reddy, T. R., Reddy, P. N., Reddy, R. R., & Reddy, S. S. (2013). Management of turicum leaf blight of maize caused by *Exserohilum turcicum* in maize. *International journal of scientific and Research Publications*, 3(10), 1-4.
- Reich, J. & Chatterton, S. (2023) Predicción de enfermedades de campo causadas por *Sclerotinia sclerotiorum*: una revisión. *Patología Vegetal*, 72, 3–18. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/ppa.13643>
- Rosen, C. J., and D. L. Allan. 2007. Exploring the benefits of organic nutrients sources for crop production and soil quality. *HortTechnology* 17 (4):422–30. doi:10.21273/ HORTTECH.17.4.422.
- Ryan, M. H., and J. H. Graham. 2018. Little evidence that farmers should consider abundance or diversity of arbuscular mycorrhizal fungi when managing crops. *New Phytologist* 220 (4):1092–107. doi:10.1111/nph.15308.
- Tajini F, Trabelsi M, Drevon JJ. (2012). Combined inoculation with *Glomus intraradices* and *Rhizobium tropici* CIAT899 increases phosphorus use efficiency for symbiotic nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). doi: 10.1016/j.sjbs.2011.11.003.
- Tamburini, G., R. Bommarco, T. C. Wanger, C. Kremen, M. G. A. van der Heijden, M. Liebman, and S. Hallin. 2020. Agricultural diversification promotes multiple ecosystem services without compromising yield. *Science Advances* 6 (45). doi: 10.1126/sciadv.aba1715.
- Taschen, E., Amenc, L., Tournier, E., Deleporte, P., Malagoli, P., Fustec, J., Bru, D., Philippot, L., Bernard, L., (2017). Cereal-legume intercropping modifies the dynamics of the active rhizospheric bacterial community. *Rhizosphere* 3, 191–195. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.011>.
- Trejo, D., Barois, I. & Sangabriel-Conde, W. (2016). Disturbance and land use effect on functional diversity of the arbuscular mycorrhizal fungi. *Agroforest Syst* 90, 265–279. <https://doi.org/10.1007/s10457-015-9852-4>
- Upadhyay Sudhir K., Srivastava Abhishek K., Rajput Vishnu D., Chauhan Prabhat K., Bhojiya Ali Asger, Jain Devendra, Chaubey Gyaneshwer, Dwivedi Padmanabh, Sharma Bechan, Minkina Tatiana. (2022). Root Exudates: Mechanistic Insight of Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Sustainable Crop Production. *Frontiers in Microbiology*, VOL.13, ISSN=1664-302X. DOI=10.3389/fmicb.2022.916488
- Vallejos-Torres, G., Arévalo, L., Cáceres, B., Solís, R., (2023). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on biological control of coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix* BERK. & BROOME). *Bioagro* 35 (1), 21–32.

- Vallejos Torres, G., Saboya Pisco, A., & Arevalo Lopez, L. A. (2021). Efecto Bioprotector de Micorrizas Arbusculares en la Reducción de Roya (*Hemileia vastatrix*) en la Región San Martín. *Revista Agrotecnológica Amazónica*, 1(1), 34-44. <https://doi.org/10.51252/ra.a.v1i1.122>
- Vannini C, Domingo G, Fiorilli V, et al. (2021). Proteomic analysis reveals how pairing of a Mycorrhizal fungus with plant growth-promoting bacteria modulates growth and defense in wheat. *Plant Cell Environ.* 44: 1946–1960. <https://doi.org/10.1111/pce.14039>
- Varma A. K. (1979). Vesicular-arbuscular Mycorrhiza and Nodulation in Soybean. *Folia Microbiol.* 24, 501-502.
- Wang, H., & Chen, Y. (2024). Protecting plants from pathogens through arbuscular mycorrhiza: Role of fungal diversity. *Microbiological research*, 289, 127919. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127919>
- Wang X, Feng H, Wang Y, Wang M, Xie X, Chang H, Wang L, Qu J, Sun K, He W et al. (2021). Mycorrhizal symbiosis modulates the rhizosphere microbiota to promote rhizobia–legume symbiosis. *Molecular Plant* 14: 503–516.
- Wang, Yun., Mostafa, Salma., Zeng, Wen and Jin, Biao. (2021). Function and Mechanism of Jasmonic Acid in Plant Responses to Abiotic and Biotic Stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. doi:10.3390/ijms22168568
- Wang Xin-Xin, Wang Xiaojing, Sun Yu, Cheng Yang, Liu Shitong, Chen Xinping, Feng Gu, and Kuyper Thomas W. (2018). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Negatively Affect Nitrogen Acquisition and Grain Yield of Maize in a N Deficient Soil. *Frontiers in Microbiology*, Vol.9. ISSN=1664-302X. DOI:10.3389/fmicb.2018.00418
- Weng, W.; Yan, J.; Zhou, M.; Yao, X.; Gao, A.; Ma, C.; Cheng, J.; Ruan, J. Roles of Arbuscular mycorrhizal Fungi as a Biocontrol Agent in the Control of Plant Diseases. *Microorganisms* 2022, 10, 1266. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071266>
- W.G.D. Fernando, S. Nakkeeran, y Zhang. (2004). Ecofriendly methods in combating *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. pp. 329-347. ISBN: 81-7736-217-8
- Yang, J., Lan, L., Jin, Y., Yu, N., Wang, D., and Wang E. (2022). Mechanisms underlying legume–rhizobium symbioses. *J. Integr. Plant Biol.* 64: 244–267. <https://doi.org/10.1111/jipb.13207>.
- Yuan, J., Zhao, J., Wen, T., Zhao, M., Li, R., Goossens, P., ... Shen, Q. (2018). Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection. *Microbiome*, 6, 156. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0537-x>
- Yu K, Pieterse CMJ, Bakker PAHM, Berendsen RL. (2019). Beneficial microbes going underground of root immunity. *Plant Cell Environ.* 42: 2860–2870. <https://doi.org/10.1111/pce.13632>

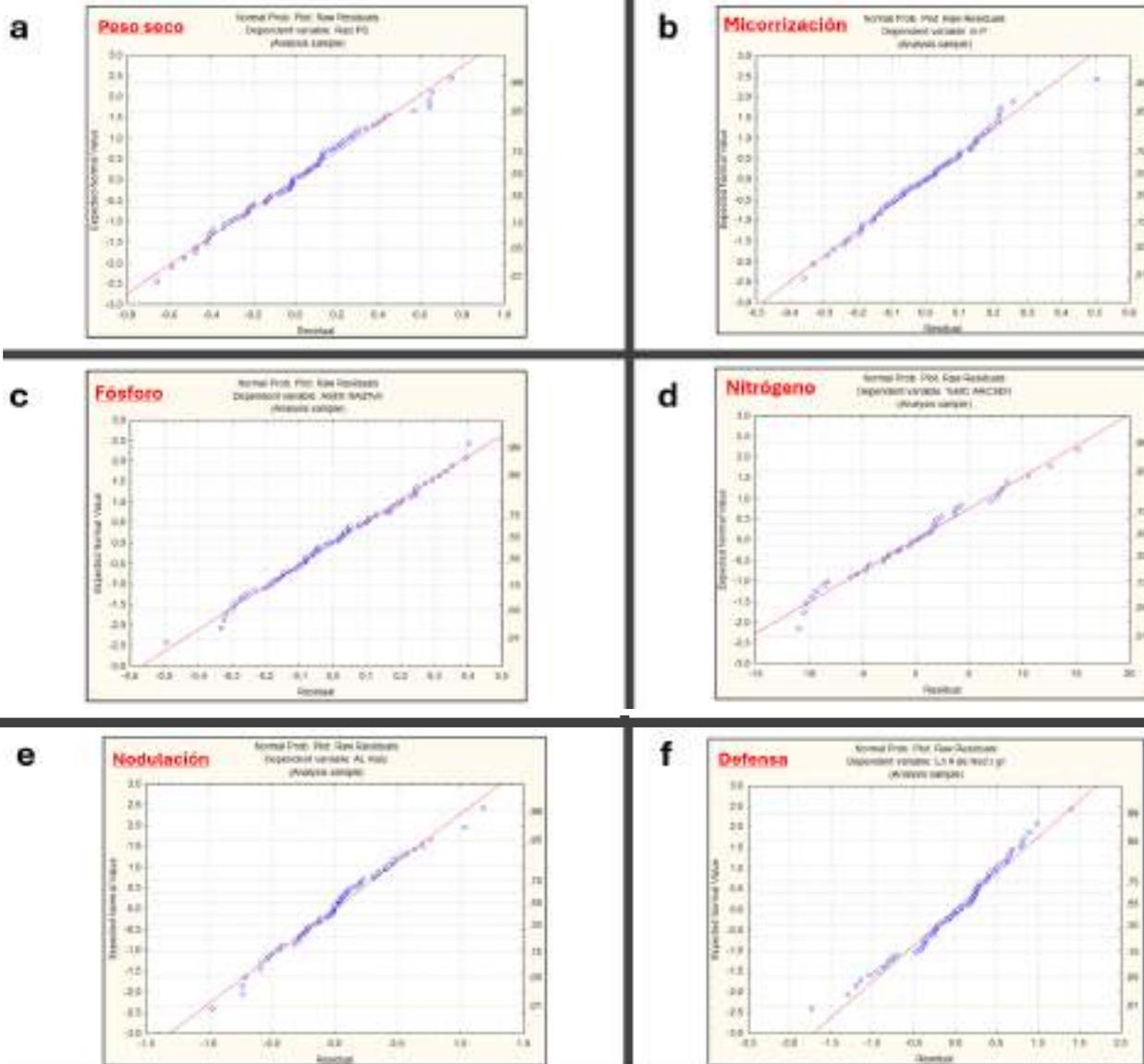
- Yu Y, Gui Y, Li Z, Jiang C, Guo J, Niu D. (2022). Induced Systemic Resistance for Improving Plant Immunity by Beneficial Microbes. *Plants* (Basel). Doi: <https://doi.org/10.3390/plants11030386>
- Zanatta *et al.*, (2019). Morphological and Patogenic Characterization of *Sclerotinia Sclerotiorum*. *Journal of Agricultural Science*; Vol. 11, No. 8; 2019 ISSN 1916-9752 E-ISSN 1916-9760
- Zhang Runzhi, Mu Yao, Li Xinrui, Li Shumin, Sang Ping, Wang Xuerong, Wu Haolei, Xu Ning. (2020). Response of the arbuscular mycorrhizal fungi diversity and community in maize and soybean rhizosphere soil and roots to intercropping systems with different nitrogen application rates. *Science of The Total Environment*. Volume 740. 139810.ISSN 0048-9697. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139810>.

APÉNDICE

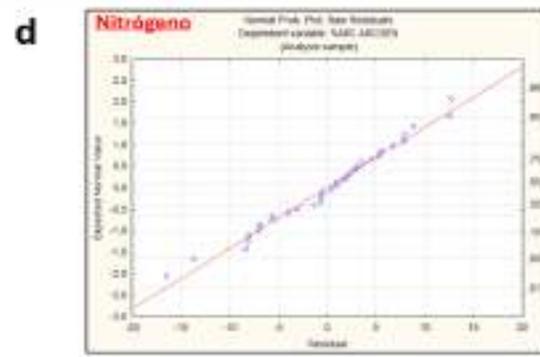
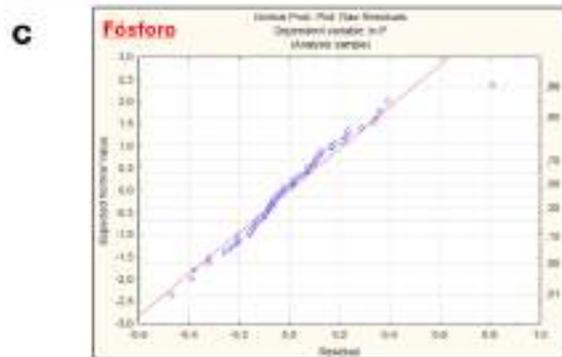
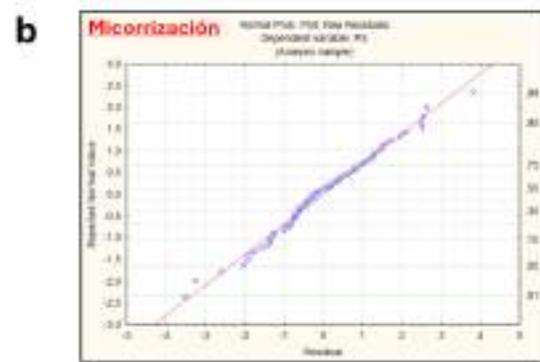
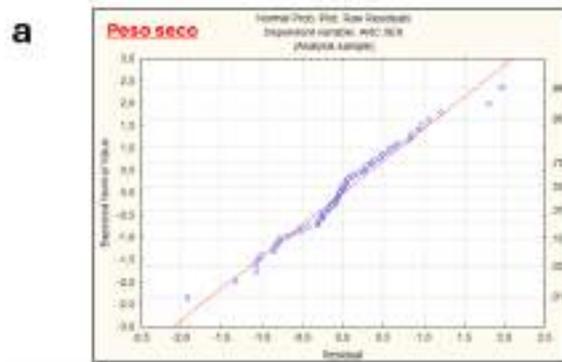
Apéndice A. Gráficas QQ-plot de los datos del experimento de frijol en monocultivo: a) variable dependiente peso seco, b) micorrización, c) contenido de fósforo, d) contenido de nitrógeno, e) nodulación y f) defensa contra un patógeno foliar.



Apéndice B. Gráficas QQ-plot de los datos del experimento de frijol en bicultivo con maíces: a) variable dependiente peso seco, b) micorrización, c) contenido de fósforo, d) contenido de nitrógeno, e) nodulación y f) defensa contra un patógeno foliar.



Apéndice C. Gráficas QQ-plot de los datos del experimento de maíces en monocultivo
a) variable dependiente peso seco, b) micorrización, c) contenido de fósforo, d) contenido de nitrógeno, e) nodulación y f) defensa contra un patógeno foliar.



Apéndice D. Gráficas QQ-plot de los datos del experimento de maíces en bicultivo con FG a) variable dependiente peso seco, b) micorrización, c) contenido de fósforo, d) contenido de nitrógeno, e) nodulación y f) defensa contra un patógeno foliar.

