

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
**INGENIERÍA AMBIENTAL**

Efecto de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. sobre el enraizamiento y crecimiento de brotes en esquejes de caña de azúcar

**Tesis profesional**

Para obtener el título de:  
Licenciado en Ingeniería Ambiental

Presenta:  
Ixchel Yalit Nucamendi Cruz

Director: Dr. Miguel Ángel Salas Marina



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Octubre, 2022



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS**  
SECRETARÍA GENERAL  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES  
DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR  
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas  
Fecha: 27 de Octubre de 2022

C. Ixchel Yalit Nucamendi Cruz

Pasante del Programa Educativo de: Ingeniería Ambiental

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:

Efecto de *Trichoderma* spp y *Bacillus* spp sobre el enraizamiento y crecimiento de brotes en  
esquejes de caña de azúcar.

En la modalidad de: Tesis Profesional

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

**Revisores**

Dr. Miguel Ángel Salas Marina

Dr. Vidal Hernández García

Mtra. Edali Camacho Ruíz

**Firmas:**

Ccp. Expediente



Pág. 1 de 1  
Revisión 4

## Dedicatoria

Dedico la culminación de este proyecto a mi mami, Susana, por darme la oportunidad de llevar a cabo este proyecto, facilitándome los medios y otorgándome su apoyo.

A mi papá José, por ayudarme y aconsejarme.

Y a mi familia por ser un pilar fundamental en mi formación tanto escolar como humana.

Pero antes que todo le dedico este logro a Dios.

## Agradecimientos

Agradezco a mis padres por su apoyo en la realización de este proyecto y la conclusión de mi carrera, a mi familia por ser un pilar fundamental en mi formación como ser humano y profesionalista.

Mi más sincero agradecimiento a mi asesor de tesis, Dr. Miguel Ángel Salas Marina por brindarme su tiempo, conocimientos, apoyo y siempre alentarme, así como mis revisores Dr. Vidal Hernández García y la Maestra Edalí Camacho Ruiz, por apoyarme y ser una excelente maestra.

Agradezco a la Facultad de Ingeniería sede Villa Corzo y a su personal por su amabilidad y ayuda, además de prestarme sus instalaciones y equipos.

Así mismo agradezco a mis amigas, Mvz. Priscila, Lic. Julia, Ing. Fernanda e Ing. Lupita por brindarme su apoyo, amistad y ayudarme a llevar a cabo este proyecto. Agradezco también al Ing. Jesús, por ser un apoyo incondicional a lo largo de mi carrera y la realización de este proyecto. Al igual que la ayuda de los Ingenieros agroforestales por brindarme su apoyo para llevar a cabo este proyecto.

Agradezco a la Facultad de Ingeniería Ambiental, y a los docentes por brindarme una excelente formación académica.

Efecto de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. sobre el enraizamiento y crecimiento de brotes  
en esquejes de caña de azúcar

# Índice

Listado de abreviaturas .....	10
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	11
Planteamiento del problema .....	11
Justificación.....	13
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	14
2.1 General.....	14
2.1.1 Específicos .....	14
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	14
<b>IV. MARCO TEÓRICO</b> .....	15
4.1 Plantaciones de caña.....	15
4.1.1 Partes de la planta.....	15
4.1.2 Proceso de siembra .....	16
4.1.3 Zafra.....	17
4.1.4 Amenazas abióticas.....	17
4.1.4.1 Maleza, plagas y enfermedades .....	17
4.1.4.2 Uso de agroquímicos.....	18
4.1.5 Implicaciones de los fertilizantes en la sustentabilidad ambiental.....	18
4.1.6 Importancia para la economía.....	18
4.2 Microorganismos en el suelo.....	19
4.2.1 Bacterias y hongos.....	19
4.2.2 Interacciones biológicas en el suelo .....	19
4.2.3 Microorganismos benéficos.....	20
4.2.4 Microorganismos Promotores de crecimiento.....	20
4.3 Biofertilizantes.....	20
4.3.1 Ventajas y desventajas por el uso de biofertilizantes.....	21
4.4 <i>Bacillus subtilis</i> .....	21
4.4.1 Función.....	21
4.5 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .....	22
4.5.1 Función.....	22
4.6 <i>Trichoderma</i> .....	22
4.6.1 Función.....	22

4.7	<i>Trichoderma reesei</i> .....	23
4.7.1	<i>Función</i> .....	23
4.8	<i>Trichoderma longibrachiatum</i> .....	23
4.8.1	<i>Función</i> .....	23
4.9	<i>Antecedentes de Bacillus spp. y Trichoderma spp.</i> .....	24
<b>V.</b>	<b>Materiales y métodos</b> .....	25
5.2	<i>Diseño de muestreo</i> .....	26
5.3	<i>Material biológico</i> .....	26
5.3.1	<i>Preparación del inóculo</i> .....	26
5.4	<i>Fertilizantes comerciales</i> .....	27
5.5	<i>Tratamientos</i> .....	28
5.6	<i>Siembra e inoculación de los esquejes</i> .....	30
5.7	<i>Variables a medir</i> .....	30
5.8	<i>Análisis estadístico</i> .....	31
<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	32
6.1.	<i>Resultados</i> .....	32
6.2.	<i>Discusión</i> .....	40
6.3.	<i>Conclusiones</i> .....	43
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	45
	<b>Referencias de sitio Web</b> .....	51
	<b>Apéndice fotográfico</b> .....	53

## Índice de tablas

Tabla 1.	Cantidad de nutrientes en los fertilizantes comerciales .....	27
Tabla 2.	Requerimientos químicos por planta y su porcentaje.....	28
Tabla 3.	Tratamientos y concentraciones de microorganismos y fertilizantes por planta .....	29
Tabla 4.	Tipos de variables y medición .....	31

## Índice de gráficas

<b>Gráfica 1.</b> Efecto de Trichoderma y Bacillus sobre altura de brotes de caña de azúcar a los 116 días después de la siembra. ....	32
<b>Gráfica 2.</b> Efecto de las cepas de Trichoderma y Bacillus sobre el diámetro de los tallos; 116 días después de la siembra. ....	33
<b>Gráfica 3.</b> Efecto de las cepas de Trichoderma y Bacillus sobre el número de hojas a los 116 días después de la siembra. ....	34
<b>Gráfica 4.</b> Efecto de las cepas de Trichoderma y Bacillus sobre la longitud de la raíz a los 116 días después de la siembra. ....	35
<b>Gráfica 5.</b> Efecto de las cepas de Trichoderma y Bacillus sobre el número promedio de raíces a los 116 días después de la siembra. ....	36
<b>Gráfica 6.</b> Efecto de las cepas de Trichoderma y Bacillus sobre el peso promedio de los brotes posterior a su deshidratación. ....	37
<b>Gráfica 7.</b> Efecto de las cepas de Trichoderma y Bacillus sobre el peso seco promedio de la raíz posterior a su deshidratación. ....	38
<b>Gráfica 8.</b> Concentración promedio de clorofila presentada en los diversos tratamientos.....	39
<b>Gráfica 9.</b> Efecto de las cepas Trichoderma y Bacillus en brotes de esquejes de caña de azúcar. ....	39

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Ubicación geográfica de las instalaciones UNICACH sede Villa Corzo.....	25
<b>Figura 2.</b> Estructura de la cámara Neubauer.....	27

## Índice de formulas

<b>Fórmula 1.</b> Concentración de UFC/ml y de conidios/ml .....	26
--	----



## Índice de fotografías

<b>Fotografía 1.</b> Cepas de <i>Trichoderma</i> spp. y <i>Bacillus</i> spp.....	53
<b>Fotografía 2.</b> Siembra de esquejes de caña de azúcar.....	53
<b>Fotografía 3.</b> Procedimiento para el conteo de los hongos y bacterias, con ayuda de la cámara Neubauer.....	54
<b>Fotografía 4.</b> Procedimiento para la preparación del inóculo, así como la dosis de fertilizante correspondiente.....	54
<b>Fotografía 5.</b> Distribución de los tratamientos .....	55
<b>Fotografía 6.</b> Monitoreo de la plantación de caña a los 26 (1) y 52 (2) días después de la inoculación de microorganismos .....	55
<b>Fotografía 7.</b> Adición de tierra a las plantas de caña de azúcar.....	56
<b>Fotografía 8.</b> Plantas de caña de azúcar a los 59 días después de la siembra.....	56
<b>Fotografía 9.</b> Toma de Clorofila: a) Equipo, b) medición, c) Lectura del equipo.....	57
<b>Fotografía 10.</b> Medición de variable: (a) Altura de tallo, (b) Diámetro; (c) Registro de datos.....	57
<b>Fotografía 11.</b> Limpieza: a) Remoción de Tierra, b) lavado.....	58
<b>Fotografía 12.</b> a) y b) medición de raíz, c) conteo de raíces.....	58
<b>Fotografía 13.</b> Ejemplar representativo de los tratamientos: a) T1, T2, T3, T4; b) T5, T6, T7, T8; c) T9, T10, T11, T12.....	59
<b>Fotografía 14.</b> Ejemplar representativo de los tratamientos: a) T13, T14, T15, T16; b) T17, T18, T19, T20.....	59
<b>Fotografía 15.</b> Ejemplar representativo de los tratamientos: a) T21, T22, T23; b) T24, T25, T26.....	60
<b>Fotografía 16.</b> Almacenamiento en bolsas de papel: a) Raíz, b) Hojas y tallo.....	60
<b>Fotografía 17.</b> Organización de muestras, a) T1 al T9, b) T10 a T26.....	61
<b>Fotografía 18.</b> Medición: a) Peso seco de raíz, b) Peso seco tallo y hojas. ....	61

## **Listado de abreviaturas**

CEIEG: Comité Estatal de Información Estadística y Geográfica

CONADESUCA: Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar

FAO: (Por sus siglas en inglés) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

OMS: Organización Mundial de la Salud

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

## I. INTRODUCCIÓN

La agricultura en México es una de las principales actividades económicas, donde la caña de azúcar es un cultivo muy importante, que representa el 2.6% del Producto Interno Bruto manufacturero, el 13.8% del PIB agropecuario y el 11.6% del PIB en la industria alimentaria, y para el caso del estado de Chiapas, este se encuentra en el cuarto lugar a nivel nacional en producción (CONADESUCA, 2020).

La producción de este cultivo requiere de arduas prácticas de labranza, quema, altas dosis de fertilizantes y plaguicidas, que debido al uso intensificado son responsables de la degradación, pérdida de estructura y textura del suelo, trayendo consigo la reducción de las poblaciones de la microflora y la microfauna, así como el desbalance de nutrientes presentes en el suelo (Aguado Santacruz, 2012).

Los biofertilizantes son productos hechos a base de microorganismos no patógenos, bacterias y hongos, solos o combinados, que se incorporan a los cultivos para mejorar el crecimiento y productividad, como una alternativa amigable para el suelo. La aplicación de biofertilizantes en cultivos de caña de azúcar contribuye favorablemente en el rendimiento de caña, la conservación del suelo y ambiente (Velasco, 2014).

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar los efectos de las cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* sobre el enraizamiento y crecimiento de brotes en esquejes de caña de azúcar. Para esto se realizaron 26 tratamientos, dentro de estos se contaba con un grupo testigo y un grupo de fertilizante convencional, además de la inoculación de *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *T. reesei* y *T. longibrachiatum*, solos y en combinaciones hongo-bacteria más una dosis de fertilización química del 25 y 50 %, se evaluó una serie de parámetros de calidad, como altura del esqueje, diámetro de tallos, número de hojas, tamaño de las raíces, peso seco de brotes y raíces. De forma general se obtuvieron buenos resultados de la combinación de fertilizante químico con cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*, sin embargo, para mejores efectos se recomienda la inoculación de *B. amyloliquefaciens*.

### **Planteamiento del problema**

La agricultura representa un conjunto de técnicas y conocimientos relativos al cultivo (RAE, 2019), que juega un papel muy importante en la economía de la mayoría de los países, ya que proporciona alimentos, ingresos, empleos, ayuda a reducir la pobreza y a lograr un desarrollo integral sostenible. Sin

embargo, según la secretaria mixta FAO/OMS en el segundo foro mundial en el 2004, mencionaron que, a lo largo de todo el proceso productivo surgen procesos que pueden afectar el entorno natural y, por consiguiente, de forma directa o indirecta la salud y al desarrollo humano.

Dentro de estos procesos podemos observar prácticas incorrectas de drenaje o de riego, un alto grado de mecanización o una utilización inadecuada de la tierra, además del uso intensivo de plaguicidas y fertilizantes químicos, que provocan una degradación ambiental (FAO/OMS, 2004).

En México, la agricultura es la principal fuente de actividad económica, enfocada a la producción de cerca de 200 productos agrícolas, de los que destacan por su importancia en consumo, el maíz, frijol, trigo, arroz, sorgo, caña de azúcar, tomate, chile y las oleaginosas. Mientras que, en la región de Chiapas, dentro de los principales cultivos según CEIEG (2018) se encuentra; el maíz, caña de azúcar, café, plátano, mango y cacao. La caña de azúcar para la región de Chiapas ocupa el 4º lugar nacional y es el cultivo con destino industrial que mayor volumen aporta. Dentro de los principales lugares para el cultivo de caña en Chiapas, se encuentran los municipios de Socoltenango, Tzimol, Las Rosas, Acapetahua, Huehuetán, Huixtla, Mazatán, Tapachula, Tuxtla Chico, Tuzantán, Villa Comaltitlán y Venustiano Carranza (CONADESUCA, 2020).

El cultivo de caña de azúcar, requiere de técnicas de labranza, tales como la preparación del suelo al inicio de la siembra, al ser un tipo de cultivo muy duradero (4 a 6 años), se realiza la aplicación de productos químicos, tanto para fertilizar como pesticidas para inhibir organismos patógenos para el cultivo a lo largo de todos los ciclos de la caña (11 a 13 meses). Debido al uso intensificado de estos químicos, el suelo se degrada y pierde su estructura y textura, contribuyendo a la reducción de las poblaciones de la microflora y la microfauna, así como el desbalance de nutrientes presentes en el suelo, necesarios para la producción (Aguado Santacruz, 2012).

Según un boletín emitido por el gobierno México, en el campo se tienen problemas de baja productividad, el rendimiento promedio anual es de 80 toneladas por hectárea, el agua es insuficiente, las variedades son viejas, se tienen problemas de plagas y los suelos presentan problemas de fertilidad (CONADESUCA, 2020), los daños que se presentan tanto en suelos como cultivos, son erosión y acidificación de los suelos, lo que abre paso al incremento de malezas y enfermedades, acame del cultivo, reducción del contenido de carbohidratos, etc. Por lo que en la región se ha optado por dejar un año de descanso entre siembras para la recuperación del suelo, sin embargo, este podría no sufrir tantos

daños y tener una mejor recuperación en su descanso si se aplicaran nuevas tecnologías que permitan evitar o minimizar el uso de químicos en el suelo (Bejarano, 2017).

## **Justificación**

En la agricultura, se emplean bioestimulantes y aminoácidos, tanto para potenciar el crecimiento de cultivos, como para inhibir el ataque de organismos patógenos e insectos plaga. En el cultivo de caña de azúcar, el uso excesivo de agroquímicos, impacta negativamente en el ambiente propiciando deterioro de los suelos, disminución de la calidad del cultivo (Mata Espinosa, 2018) y por ende menos ingresos económicos netos para los agricultores, además del efecto a la salud humana. Por lo tanto, tomando en cuenta el objetivo de desarrollo sustentable 2 “hambre cero”, presente en la agenda 2030 (ONU, 2015), se busca obtener prácticas de cultivo sustentables, para poder cubrir con las demandas de alimentación, así como el rendimiento adecuado de las tierras, por lo que es necesario, implementar prácticas que puedan potenciar el crecimiento sin dañar al medio ambiente y a la salud humana, además de encontrarse a costos accesibles, mostrando mayores ventajas en comparación a los fertilizantes convencionales.

De acuerdo con el informe presentado por Biofábrica Siglo XXI, INIFAP y productores cooperantes, el municipio de Zacatepec, en el estado de Morelos gracias al uso de biofertilizantes a base de bacterias y hongos demostró que la sustitución del 50 por ciento del fertilizante químico por 3 toneladas de composta y 3 litros de biofertilizantes por hectárea, permite rendimientos de 200 t/h de caña de azúcar en el primer año y 150 t/h en cultivos de siete años. (CONADESUCA, 2020). Por otra parte, Biofábrica Siglo XXI, destacó que con la reducción de insumos químicos y su sustitución por bioinsumos es posible duplicar la vida útil del cultivo y el ingreso neto del productor, gracias a la reducción en los costos de fertilización, el aumento de rendimientos, el incremento de la cantidad de cortes y el ahorro de realizar una nueva plantación (Agrosíntesis, 2020).

En el presente proyecto de investigación se realizó la aplicación de dos cepas de la bacteria *Bacillus* spp. y del hongo *Trichoderma* spp., como biofertilizantes para los cultivos de caña de azúcar, evaluando el enraizamiento y crecimiento de los esquejes de caña de azúcar en comparación con el fertilizante convencional. Buscando obtener una alternativa sustentable y de menor costo a los fertilizantes

químicos, que al mismo tiempo ayude a detener el deterioro del suelo y mejoren la calidad del cultivo. Los resultados obtenidos podrán ser utilizados como guía para futuras investigaciones, tanto en aplicación de diferentes concentraciones de microorganismos, como en apoyo para la evaluación de los beneficios que estos otorgan. Beneficiando a mediano plazo a investigadores y agricultores, que deseen implementar biofertilizantes como una opción segura y amigable con el medio ambiente.

## II. OBJETIVOS

### 2.1 General

Evaluar los efectos de las cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* sobre el enraizamiento y crecimiento de brotes en esquejes de caña de azúcar.

#### 2.1.1 Específicos

- Evaluar el efecto de *Trichoderma longibrachiatum* C.1, *Trichoderma reesei* C.6 y de las bacterias *Bacillus subtilis* C. 42, *Bacillus amyloliquefaciens* C.49, sobre el enraizamiento y crecimiento de brotes en esquejes de caña de azúcar.
- Determinar el efecto de *Trichoderma* y *Bacillus* sobre la concentración de clorofila en las hojas de las plantas de caña de azúcar.

## III. HIPÓTESIS

La aplicación de *Bacillus spp.* y *Trichoderma spp.* como biofertilizantes tendrá efectos similares a los fertilizantes químicos convencionales en el enraizamiento y crecimiento de brotes de esquejes de caña de azúcar.

## IV. MARCO TEÓRICO

### 4.1 Plantaciones de caña

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es una gramínea tropical perenne con tallos gruesos y fibrosos que pueden crecer entre 3 y 5 metros de altura. Estos cultivos se adaptan a cualquier tipo de suelo, sin embargo, se desarrollan mejor en suelos francos, profundos y bien drenados. Requieren de altos requerimientos nutricionales, agotando a los suelos y siendo necesaria la fertilización adecuada (Ramírez, 2008). El estado de Chiapas ocupa el 4° lugar a nivel nacional de producción de caña de azúcar, donde para el año 2019 registró una cobertura de 34 mil 182 ha, mientras que en el 2011 registro 31 mil 585 ha sembradas, por lo que se detectó un aumento en la siembra de este cultivo de 12.55% (CONADESUCA, 2020).

#### 4.1.1 Partes de la planta

Las partes básicas de la estructura de las plantas de caña que definen su forma son:

- Raíz, es el sistema radical, constituido por la parte subterránea de la planta, es el órgano sostén y el medio para la absorción de nutrientes y agua del suelo; se encuentran dos tipos de raíces, las raíces primordiales y raíces permanentes.
  - Raíces primordiales: corresponden a las raíces de la estaca original de siembra; son delgadas, muy ramificadas y su período de vida llega hasta los tres meses de edad.
  - Raíces permanentes: brotan de los anillos de crecimiento de los nuevos brotes, son numerosas, gruesas, de rápido crecimiento y su proliferación avanza con el desarrollo de la planta. Su cantidad, longitud y edad dependen de la variedad y de las condiciones de suelo y humedad. La raíz de la caña es fasciculada
- Tallo, es el órgano más importante de la planta de caña, aquí se almacenan los azúcares, el número, el diámetro, el color y el hábito de crecimiento dependen de la variedad; el tallo está compuesto por:

- Nudo: es la porción dura y más fibrosa del tallo que separa dos entrenudos vecinos. El nudo, a su vez, se encuentra conformado por el anillo de crecimiento, la banda de raíces, la cicatriz foliar, el nudo propiamente dicho, la yema y el anillo ceroso.
- Entrenudo: es la porción del tallo localizada entre dos nudos. El diámetro, el color, la forma y la longitud cambian con la variedad.
- Hojas: Se origina en los nudos y se distribuye en posiciones alternas a lo largo del tallo; cada hoja está formada por:
  - Lámina foliar: es la parte más importante para el proceso de fotosíntesis, su disposición en la planta difiere con las variedades. La lámina foliar es recorrida en toda su longitud por la nervadura central y los bordes presentan protuberancias en forma aserrada.
  - Yagua o vaina: es de forma tubular, envuelve el tallo y es más ancha en la base. Puede tener presencia o ausencia de pelos urticantes en cantidad y longitud que cambian con las variedades.
- Flor: Es una inflorescencia en panícula sedosa en forma de espiga. Las espiguillas dispuestas a lo largo de un raquis contienen una flor hermafrodita con tres anteras y un ovario con dos estigmas (AGRORIENTE, 2012).

#### 4.1.2 *Proceso de siembra*

El proceso de siembra en Chiapas se realiza generalmente del mes de noviembre a enero, para esto se realiza la preparación de la tierra con ayuda de máquinas y/o herramientas de labranza, al término de la preparación del suelo se comienza con la siembra de la plantación por medio de trozos de la misma, teniendo una distancia entre surcos de 1.20 m. Según CONADESUCA (2015), de la siembra a la cosecha el cultivo puede durar desde 14 y hasta 17 meses. Después del primer ciclo y cultivo de caña el siguiente es diferente, ya que ocurre un rebrote. Por tanto, el desarrollo de las socas (segundo corte de la caña) tiene una duración de 11 a 13 meses.



### 4.1.3 Zafra

La cosecha también conocida como zafra, se puede hacer de forma mecanizada como manual. La recolección se lleva a cabo entre los once y los dieciséis meses de la plantación, es decir, cuando los tallos dejan de desarrollarse. Se lleva a cabo la quema de la plantación para eliminar las malezas que impiden el corte de la Caña, así como posibles plagas, posteriormente se realiza el corte, alineamiento y transporte al Ingenio. Por cada plantación generalmente se extraen 4 o 5 cortes (cosechas) y luego se realiza la renovación del cultivo (Ramírez, 2008), sin embargo, también pueden registrarse de 6 a 8 cosechas, si el cultivo se encuentra en óptimas condiciones.

### 4.1.4 Amenazas abióticas

La caña es un cultivo tropical de larga duración, pueden verse afectados por diversos factores, como los ambientales (lluvias, luminosidad y temperatura), que afectan de manera significativa el crecimiento y desarrollo del cultivo (CONADESUCA, 2015b). Por otro lado, se encuentran los factores edáficos, que hacen referencia a la fertilidad del suelo, puesto que la planta de caña puede tolerar condiciones severas en la fertilidad y en el equilibrio nutricional, se debe tener en cuenta el tiempo que transcurre entre una plantación y otra (cinco años o más), por lo que, a largo plazo la estabilidad del cañaveral se verá afectado.

#### 4.1.4.1 Maleza, plagas y enfermedades

Por otra parte, uno de los problemas bióticos que pueden afectar frecuentemente a las plantaciones de caña, es la presencia de maleza, que representa uno de los principales problemas de reducción en rendimiento en la caña de azúcar, esto debido a la competencia con el cultivo. Las malezas son hospedadoras de una serie de patógenos, que atacan a la caña (Toledo & Cruz Hipolito, 2017). La presencia de plagas y enfermedades en las plantaciones, es otro de los problemas bióticos, estos pueden ser el síntoma o no, de problemas fitosanitarios como indica la CONDESUCA (2015), puesto que los organismos patógenos pueden alojarse en las malezas ahí encontradas. Dentro de las plagas más importantes en México se encuentran, la rata cañera, el gusano barrenador y la mosca pinta (salivazo). Por otra parte, las enfermedades de mayor relevancia económica son el secamiento del tallo, el carbón y la roya.

#### 4.1.4.2 *Uso de agroquímicos*

El uso de agroquímicos en los cultivos de caña, que incluye tanto a fitosanitarios (para control de patógenos) que pueden presentar riesgos para la salud humana y para el suelo (Bondolich *et al.*, 2012), como de fertilizantes, donde la utilización desequilibrada de estos ha generado reducción de la fertilidad del suelo, cambios climáticos, dependencia en el uso de recursos no renovables y degradación en la composición del ecosistema del suelo, complicando la labranza y aumentando la necesidad de mano de obra (Serna Cock *et al.*, 2011).

#### 4.1.5 *Implicaciones de los fertilizantes en la sustentabilidad ambiental*

La agricultura convencional depende de la aplicación de fertilizantes minerales solubles, con el fin de lograr mayor rendimiento en los cultivos, sin embargo, debido a la aplicación excesiva se pueden presentar diversos impactos negativos, tanto en el agua como en el suelo y aire (González Ulibarry, 2019). Una fertilización desequilibrada, uso incorrecto de los plaguicidas, una utilización de maquinaria pesada o un sobrepastoreo produce procesos de degradación del suelo, como la desertización, la erosión, la disminución de materia orgánica, la contaminación, el sellado, la compactación, la pérdida de biodiversidad y la salinización, por lo que pueden privar al suelo de su capacidad para realizar sus principales funciones (FAO/OMS, 2004).

#### 4.1.6 *Importancia para la economía*

La importancia de la caña de azúcar, radica en ser la materia prima de la industria azucarera, la Ley de Desarrollo Rural Sustentable identifica a la caña como un cultivo básico del país, este se ubica como uno de los 10 cultivos más consumidos por las familias mexicanas (Delegación SADER Nayarit, 2018). El cultivo y la industrialización de la caña de azúcar, genera cerca de 2 millones de empleos directos e indirectos y una derrama económica de 30,000 millones de pesos (Ramírez-Mora *et al.*, 2018), por ende, es de suma importancia la calidad del cultivo y su cuidado.

## 4.2 *Microorganismos en el suelo*

Los microorganismos son los componentes más importantes del suelo, se encuentra una gran diversidad de microorganismos por fracción de suelo, su papel es fundamental en la fertilidad y son los responsables del desarrollo de las plantaciones, así como encargados de la transformación de los componentes orgánicos e inorgánicos que se incorporan.

### 4.2.1 *Bacterias y hongos*

Las bacterias y los hongos son los microorganismos dominantes en todos los suelos por su biomasa y actividad metabólica. En los suelos se encuentran principalmente dos grupos de bacterias, las nativas o autóctonas, que clasificadas desde su grupo funcional se encuentran como: amonificadoras, nitrificadoras, fijadoras de nitrógeno, celulolíticas y pectinolíticas. Mientras que los hongos son un grupo de organismos eucariotas, calificados en un reino distinto al de las plantas, animales y bacterias, aportan una parte significativa de la biomasa, debido a su gran tamaño. Además, son los principales agentes de descomposición en ambientes ácidos (Carrillo, 2013).

### 4.2.2 *Interacciones biológicas en el suelo*

Los microorganismos del suelo no actúan de manera aislada, sino que establecen relaciones tróficas y ambientales con el resto de la vida del suelo. Carrillo (2013), menciona que las comunidades microbianas están caracterizadas por diferentes mecanismos biológicos, como: Provisión de nutrientes específicos, moderación de la inhibición del crecimiento, cometabolismo, reacciones de transferencia, interacción entre las especies dominantes, entre otras. Las interacciones que ocurren en los suelos como el mutualismo, comensalismo, sinergismo y sintrofia, antagonismo, depredación y parasitismo, pueden darse de forma positiva como negativa, según si los implicados se benefician o perjudican mutuamente.

#### 4.2.3 *Microorganismos benéficos*

Los microorganismos benéficos del suelo, son aquellos que contribuyen a la sustentabilidad de todos los ecosistemas, como las bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios. La mayoría de las especies vegetales en los ecosistemas terrestres establecen relaciones con microorganismos rizosféricos que les permiten acceder a nutrientes esenciales para su crecimiento. Entre los numerosos microorganismos que habitan la rizosfera se incluyen las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno, los hongos de las micorrizas y las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Correa, 2013).

#### 4.2.4 *Microorganismos Promotores de crecimiento*

Se conoce a los microorganismos promotores del crecimiento (PGPR en inglés) a la población microbiana que vive en la rizosfera, estas tienen la capacidad para eliminar o contrarrestar a los fitopatógenos y/o estimular el crecimiento vegetal (Carrillo, 2013). Estos microorganismos son inoculados a los suelos, para mejorar la disponibilidad de nitrógeno, o bien como biocontrol, al inhibir la presencia de patógenos, dentro de estos grupos benéficos se pueden encontrar a las bacterias, en la especie fijadoras de nitrógeno, las productoras de antimicrobianos y las fitohormonas. Y a los hongos, quienes participan en el ciclo de los nutrientes, estimulan el crecimiento de las plantas, descomponen los residuos vegetales, producen antibióticos o son antagonistas de patógenos (Asociación Vida Sana, 2012).

### 4.3 Biofertilizantes

Los biofertilizantes, son productos hechos a base de microorganismos no patógenos, como bacterias u hongos, solos o combinados. También son conocidos como bioinoculantes, inoculantes microbianos o inoculantes del suelo, estos son agregados a los cultivos agrícolas, incrementando el suministro, disponibilidad y acceso físico a nutrientes que favorezcan su crecimiento y productividad (Aguado Santacruz, 2012).

#### 4.3.1 Ventajas y desventajas por el uso de biofertilizantes

Algunas de las ventajas de los biofertilizantes es el aumento del crecimiento y establecimiento de las plántulas, biocontrol de fitopatógenos, incrementos en los rendimientos de cultivos, reducción de la contaminación ambiental y biorremediación del suelo, gracias a la disminución del uso de químicos tanto para fertilizar como para eliminar plagas. Por su parte, el uso de biofertilizantes a base de bacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadores de fósforo, promotoras de crecimiento y abonos orgánicos, son alternativas que recalcan los efectos favorables para el rendimiento de caña y la conservación del suelo y ambiente (Velasco, 2014). Sin embargo, algunas de las desventajas radican en el costo elevado, el cual se ve reflejado en la disminución de la productividad a corto plazo, pero a largo plazo esta se recuperará. Además de los requerimientos específicos para la conservación del biofertilizante.

#### 4.4 *Bacillus subtilis*

El grupo de bacterias *Bacillus subtilis*, es proveniente del género *Bacillus*, son Gram positivas, por lo que poseen una gruesa capa de peptidoglicano y presentan ácidos teicoicos en su superficie, cuentan con morfología bacilar, movilidad flagelar, y tamaño variable (0.5 a 10  $\mu\text{m}$ ). Estas especies se encuentran distribuidas a nivel mundial debido a su habilidad para formar endosporas, lo que les otorga resistencia y potencia su aislamiento en diversos hábitats (Villarreal-Delgado *et al.*, 2018).

##### 4.4.1 Función

Los *Bacillus subtilis* actúan como promotores del crecimiento de la planta y de forma de biocontrol. Son capaces de propagarse por la rizosfera, que es el entorno en el que influyen las raíces de la planta. Tienen un promedio de 4-5% de su genoma dedicado a la síntesis de antibióticos y tiene el potencial para producir más de dos docenas de compuestos antimicrobianos estructuralmente diferentes (López, 2019).

#### 4.5 *Bacillus amyloliquefaciens*

La bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* es una bacteria de Gram positiva, que está relacionada estrechamente con bacterias de suelo de la especie *Bacillus subtilis*, es una bacteria del suelo no patógena para las plantas, es capaz de producir endosporas que le permite sobrevivir durante largos períodos de tiempo (Muradian, 2015).

##### 4.5.1 Función

*Bacillus amyloliquefaciens* se reporta como una bacteria beneficiosa que vive junto a las raíces de las plantas y que crece a medida que éstas lo hacen, alimentándose de los exudados radiculares que liberan; a cambio del alimento y del asentamiento, la bacteria protege y estimula a la planta, se describe el uso de como biofertilizante, esto debido a su capacidad para solubilizar fósforo (Torres Urbano, 2008).

#### 4.6 *Trichoderma*

Las especies del género *Trichoderma* representan un grupo de hongos filamentosos que pertenecen al Reino *Fungi*, división *Eumycota*, subdivisión *Deuteromycotina*, clase *Hyphomycetes*, orden *Hyphales (Moniliales)* y familia *Moniliaceae* (Argumedo-Delira *et al.*, 2009). Estos hongos se caracterizan por predominar en los ecosistemas terrestres y acuáticos. Poseen alta adaptabilidad a condiciones ecológicas y pueden crecer de manera saprofitica, interactúan con animales y plantas, se desarrollan en diversos sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura (Hernández-Melchor *et al.*, 2019).

##### 4.6.1 Función

Su función radica en la asociación de esta especie con la rizosfera de las plantas, o pueden relacionarse de manera endofítica. Por tanto, según Hernández-Melchor *et al.*, (2019), afirma que esta especie es promotora de crecimiento y desarrollo de las plantas. Este género es un importante contribuyente en el control de hongos fitopatógenos, ya que poseen propiedades micoparasitarias y antibióticas.

#### 4.7 *Trichoderma reesei*

*Trichoderma reesei* (*Hypocrea jecorina*), es un hongo filamentoso mesofílico y saprófito, es el organismo celulolítico más extensamente empleado en el mundo (Suesca Díaz, 2012). Su morfología distintiva incluye pigmentos conidiales verde brillante, conidióforos con un eje principal ramificado que termina en una o dos fiáldas cilíndricas de 5-8  $\mu\text{m}$ , conidias ovoide a elipsoide de 3.5-4.5 x 2.3-3.0  $\mu\text{m}$  y pigmento amarillo que exuda al agar (García Luquillas, 2020).

##### 4.7.1 Función

*T. reesei* es un ascomiceto del que históricamente se han aislado celulasas y xilanasas con aplicaciones industriales (en las industrias de los alimentos humana y animal, farmacéutica, textil, del papel y la pulpa, y energética), por lo que sus enzimas han sido ampliamente estudiadas y han servido como modelo de la degradación de la celulosa (Martínez-Anaya *et al.*, 2008). Así mismo algunos aislamientos son agentes de biorremediación, ya que degradan algunos pesticidas de alta persistencia en el ambiente, esto se deben a su capacidad de producción de enzimas y metabolitos (Suesca Díaz, 2012), de igual forma *T. reesei* se encuentra entre uno de los principales agentes de control biológico (Romero Domínguez, 2012).

#### 4.8 *Trichoderma longibrachiatum*

*Trichoderma longibrachiatum* es un hongo del género *Trichoderma*. Además de ser una especie distinta, también tipifica uno de varios claros dentro de *Trichoderma* que comprende 21 especies diferentes; es un hongo del suelo que se encuentra en todo el mundo, pero principalmente en climas más cálidos (Samuels *et al.*, 2012). *T. longibrachiatum* es un hongo de rápido crecimiento, normalmente produce colonias blanquecinas que cambian a verde grisáceo con la edad, son alargadas en forma de cilindro, en la mayoría de las cepas las partes terminales de los fiálides tienden a ser alargadas y estrechas (Caiza, 2013).

##### 4.8.1 Función

*Trichoderma longibrachiatum* crece comúnmente en el material vegetal en descomposición, donde su papel ecológico va desde el de un saprofito estricto a un parásito de otros hongos saprotróficos, utiliza

celulasas para digerir la celulosa de la biomasa de la planta en descomposición, y las quitinasas para digerir las paredes quitinosas de otros hongos (Gordillo, 2017).

Se ha sugerido que *Trichoderma longibrachiatum* podría ser utilizado como un agente de control biológico por sus efectos en parásitos y por ser letales en los quistes del nematodo *Heterodera avenae* (Samuels *et al.*, 2012), debido a que *T. longibrachiatum* es un microparásito, también ha sido investigado para su uso en la lucha contra las enfermedades fúngicas en los cultivos agrícolas (Gordillo, 2017).

#### 4.9 Antecedentes de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp.

Los microorganismos, como la bacteria *Bacillus subtilis* y el hongo *Trichoderma*, han demostrado tener efectos considerablemente buenos como biofertilizantes, tal es el caso de Pulido Jiménez (2016), en el cual evaluó el efecto de la aplicación de *Bacillus subtilis* en diferentes concentraciones ( $10^7$  y  $10^8$  UFC/ml), en cultivos de maíz y tomate, donde se encontró un incremento en el crecimiento y desarrollo de las plantas, al igual que la evaluación de Gutiérrez Calvo (2019), con 2 variedades de *Bacillus subtilis* a diferentes concentraciones, mostrando mayor crecimiento en el peso de la raíz (GB O3  $10^8$  UFC/ml) y mayor crecimiento de tallo (N937b  $10^7$  UFC/ml). Otro caso es el de Villa *et al.* (2007), quienes evaluaron cepas de *B. subtilis* frente a hongos fitopatógenos, encontrando una disminución del crecimiento micelial de estos hongos entre el 50 y 60 % en comparación con el testigo, indicando que estas cepas funcionan como bioantagonistas de estos hongos.

Según estudios de Dadrasnia *et al.* (2020), las especies de *Bacillus*, han demostrado ser eficaces y contar con un papel crucial como agentes biológicos, ya que son inductores de resistencia sistémica y promotores del crecimiento de las plantas. De acuerdo con un estudio realizado por Peña-Tovar & Pavone-Maniscalco (2020), donde se evaluó el efecto de *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento de plantas de *Capsicum annuum*, concluye en que esta cepa es capaz de promover el crecimiento en estas plantas, especialmente los relacionados al incremento en el crecimiento tanto del tipo foliar como radical y mejora sus rasgos fisiológicos.

Por otra parte, Serna Cock *et al.*, (2011) evaluaron el efecto de microorganismos biofertilizantes en macetas de plantas de caña de azúcar, observando efectos positivos de *Azospirillum brasilense* y *Trichoderma*



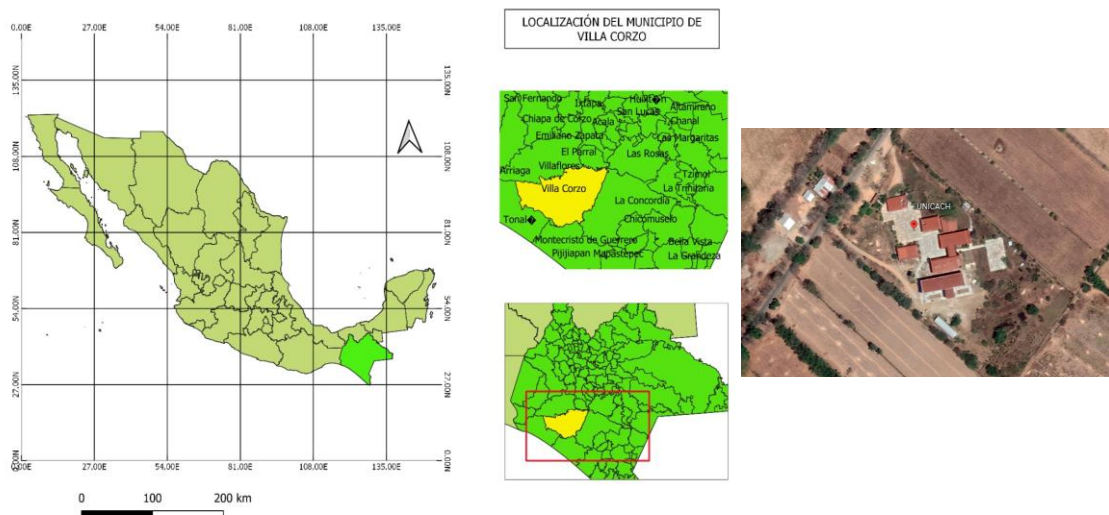
*lignorum* sobre el crecimiento de plantas y raíces de caña de azúcar. Cabe mencionar según un estudio realizado por Bolaños *et al.* (2014), *Trichoderma spp.* y *Bacillus subtilis* son capaces de establecerse en suelo y tienen la capacidad de hacer a las raíces su nicho; por lo que tienen la cualidad de equilibrar las densidades de población de organismos patógenos. Así mismo en estudios realizados por Kantar & Uysal (2020), inocularon cepas de *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens* en cultivos de papa y demostraron resultados positivos en relación al crecimiento de las plantas en combinación con fertilizantes químicos.

## V. Materiales y métodos

### 5.1 Ubicación del experimento

El experimento se realizó en la Facultad de Ingeniería sede Villa Corzo, de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), Latitud  $16^{\circ}9'44.81''N$  Longitud  $93^{\circ}16'36.77''O$ .

**Figura 1.** Ubicación geográfica de las instalaciones UNICACH sede Villa Corzo



Fuente: Elaboración propia con datos del INEGI (2020).

## 5.2 *Diseño de muestreo*

Se realizó una investigación de diseño experimental, con experimentos puros, por lo que para efectos de este estudio se realizó la siembra de los esquejes correspondientes a 26 tratamientos con 5 repeticiones cada uno, donde se realizaron inoculaciones de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp., solas y en combinación con concentraciones de 50% y 25% de dosis de fertilizante químico en brotes de caña de azúcar, además de contar con dos grupos controles, y uno sin fertilización y otro con dosis completa de fertilización química.

## 5.3 *Material biológico*

Los microorganismos benéficos utilizados en esta investigación fueron las bacterias *Bacillus subtilis* Cepa 42 (C42), *Bacillus amyloliquefaciens* Cepa 49 (C49) y los hongos *Trichoderma reesei* Cepa 6 (C6), *Trichoderma longibrachiatum* Cepa 1 (C1), todas proporcionadas por el Laboratorio de biofertilizantes y bioinsecticidas de la Facultad de Ingeniería sede Villa Corzo. Estas se sembraron en medio Papa Dextrosa Agar (PDA), los hongos incubados a 28 °C por 8 días, mientras que las bacterias se sembraron en medio de Luria Bertani (LB) incubados a 28°C por 48 horas.

### 5.3.1 *Preparación del inóculo*

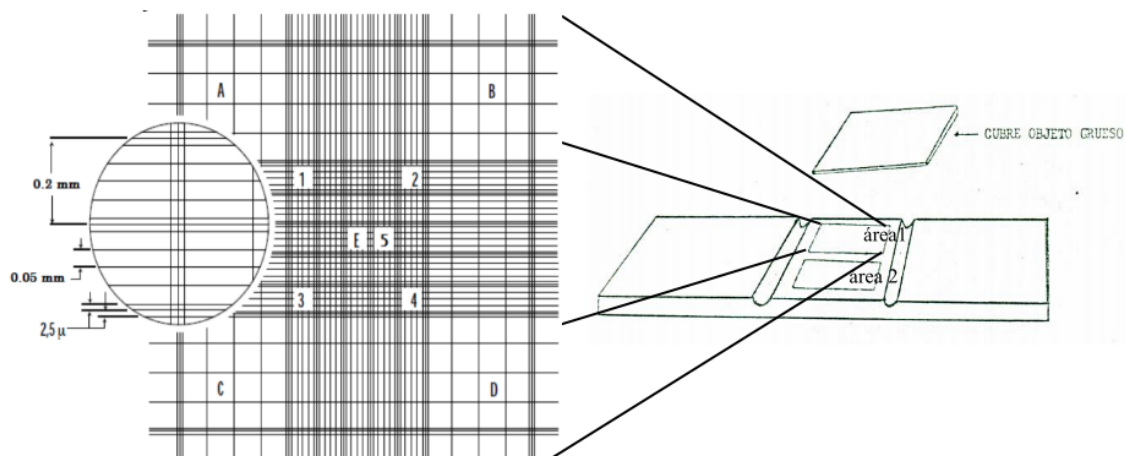
Después de la incubación de ambos microorganismos estos fueron cuantificados en una cámara Neubauer teniendo una concentración final para *B. subtilis* de  $8.8 \times 10^6$  y *B. amyloliquefaciens* de  $9.6 \times 10^6$  UFC/ml, mientras que para *Trichoderma* spp. se ajustaron las concentraciones hasta  $1 \times 10^6$  conidas/ml.

**Fórmula 1.** Concentración de UFC/ml y de conidios/ml

$$\text{Número total de células} = \frac{\text{Número promedio de células} \times \text{factor de dilución} \times 10^4}{\text{No. de cuadros contados}}$$

Fuente: obtenida de Bastidas (2015).

**Figura 2.** Estructura de la cámara Neubauer



Fuente: Peña Sánchez & Páez Mendineta (2005)

#### 5.4 Fertilizantes comerciales

Para este caso según el boletín informativo emitido por la CONADESUCA (2015), menciona que los cultivos requieren de tres nutrientes principales en la composición de los fertilizantes: el nitrógeno (100), el fósforo (150) y el potasio (50). Por lo que para satisfacer estas demandas nutricionales se utilizaron las siguientes fuentes tanto, sulfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  y fosfato diamónico o DAP  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , mostrando sus fórmulas en la tabla 1.

*Tabla 1. Cantidad de nutrientes en los fertilizantes comerciales*

<b>Tipo de Fertilizante</b>	<b>Fuente comercial</b>	<b>Cantidad de nutriente por cada 100 Kg</b>	<b>Kg/ha</b>
Fosfato diamónico (DAP) $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	18-46-00	46 kg de P 18 kg de N	326 kg 326,000 g
Sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	21-00-00	21 kg de N	196.76 kg 196,760 g

Fuente: Elaboración propia con datos de Ejeabonos (2013) y YPF (2020).

Debido a que las cantidades anteriores son propuestas por hectáreas, se buscó plasmar los requerimientos químicos por planta, donde la forma de siembra se realiza con una distancia entre surcos de 1.4 m, con líneas de caña en trozos de 45 cm, con 3 o 4 yemas cada una (Inifap, 2013), por lo tanto, para 1 hectárea hay 71 surcos con líneas de 888 yemas cada una, dando un total de 63,048 plantas aproximadamente, de tal forma que los requerimientos químicos por plantas son los expresados en la tabla 2, con sus respectivos 50% y 25%.

*Tabla 2. Requerimientos químicos por planta y su porcentaje*

<b>Tipo de fertilizante</b>	<b>g/ Planta</b>	<b>50%</b>	<b>25%</b>
Fosfato diamonico (DAP) (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	326,000 g / 63,048 plantas = 5.17 g	2.58 g	1.29 g
Sulfato de amonio (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	196,760 g / 63,048 plantas = 3.12 g	1.56 g	0.78 g

Fuente: Elaboración propia con datos del Inifap (2013).

### 5.5 *Tratamientos*

Los tratamientos empleados en este estudio se encuentran plasmados en la tabla 3, dando un total de 26 tratamientos.

Tabla 3. Tratamientos y concentraciones de microorganismos y fertilizantes por planta

Tratamiento	Microorganismo	Cantidad
T1	Control	
T2	Fertilizante convencional	1.32 g de KCL, 5.17 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 3.12 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
T3	50% fertilizante convencional + B. subtilis	0.66 g de KCL, 2.58 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1.56 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 8.8 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
T4	25% fertilizante convencional + B. subtilis	0.33 g de KCL, 1.29 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.78 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 8.8 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
T5	Bacillus subtilis	8.8 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
T6	50% fertilizante convencional + B. amyloliquefaciens	0.66 g de KCL, 2.58 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1.56 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 9.6 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
T7	25% fertilizante convencional + B. amyloliquefaciens	0.33 g de KCL, 1.29 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.78 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 9.6 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
T8	B. amyloliquefaciens	9.6 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml
T9	50% fertilizante convencional + T. reesei	0.66 g de KCL, 2.58 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1.56 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T10	25% fertilizante convencional + T. reesei	0.33 g de KCL, 1.29 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.78 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T11	T. reesei	1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T12	50% fertilizante convencional + T. longibrachiatum	0.66 g de KCL, 2.58 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1.56 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T13	25% fertilizante convencional + T. longibrachiatum	0.33 g de KCL, 1.29 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.78 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T14	T. longibrachiatum	1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T15	50% fertilizante convencional + B. subtilis + T. reesei	0.66 g de KCL, 2.58 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1.56 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 8.8 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T16	25% fertilizante convencional + B. subtilis + T. reesei	0.33 g de KCL, 1.29 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.78 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 8.8 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T17	B. subtilis + T. reesei	8.8 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T18	50% fertilizante convencional + B. subtilis + T. longibrachiatum	0.66 g de KCL, 2.58 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1.56 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 8.8 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T19	25% fertilizante convencional + B. subtilis + T. longibrachiatum	0.33 g de KCL, 1.29 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.78 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 8.8 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T20	B. subtilis + T. longibrachiatum	8.8 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T21	50% fertilizante convencional + B. amyloliquefaciens + T. reesei	0.66 g de KCL, 2.58 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1.56 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 9.6 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T22	25% fertilizante convencional + B. amyloliquefaciens + T. reesei	0.33 g de KCL, 1.29 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.78 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 9.6 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T23	B. amyloliquefaciens + T. reesei	9.6 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T24	50% fertilizante convencional + B. amyloliquefaciens + T. longibrachiatum	0.66 g de KCL, 2.58 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1.56 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 9.6 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T25	25% fertilizante convencional + B. amyloliquefaciens + T. longibrachiatum	0.33 g de KCL, 1.29 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.78 g de (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 9.6 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml
T26	B. amyloliquefaciens + T. longibrachiatum	9.6 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml + 1 x 10 <sup>6</sup> conidas/ml

Fuente: Elaboración propia

### 5.6 *Siembra e inoculación de los esquejes*

Se emplearon 130 esquejes de caña de azúcar de la variedad Mex 69-290, extraídos de la localidad de Belisario Domínguez, municipio de Socoltenango, donados por el productor Walter Pascasio.

La siembra de los esquejes se realizó en bolsas negras para vivero de 25 x 35 cm, 2 días después de la siembra se realizó la primera inoculación de 1 ml de los microorganismos, con ayuda de una micropipeta automática de volumen variable. Las cantidades de fertilizantes empleadas fueron pesadas en una báscula digital y aplicadas a las plantas del tratamiento correspondiente. La re-inoculación de los microorganismos se realizó a los 8 y 51 días después de la siembra (DDS).

El manejo agronómico de las plantas se llevó a cabo de forma diaria, así como un riego constante.

### 5.7 *VARIABLES A MEDIR*

Las variables medidas fueron altura del brote, diámetro del tallo y número de hojas, clorofila, número y tamaño de raíces en los brotes, peso seco de los brotes y raíces a los 116 DDS. Para obtener los datos correspondientes a la altura del brote se empleó un flexómetro de la marca cable modelo MKA5020, donde se midió desde la base del brote hasta la punta de la hoja más alta. La medición del diámetro del tallo se llevó a cabo con un vernier (pie de rey), donde se tomó la medida a 1 cm aproximadamente después de la base del brote. Mientras que el conteo del número de hojas se realizó de forma manual.

La concentración de clorofila se cuantificó con ayuda de un aparato medidor de concentración clorofila (marca Apogee, modelo MC-100), la concentración se midió en dos hojas por plantas de cada tratamiento.

Las variables medidas durante el análisis destructivo se realizó con base al crecimiento de los esquejes, evaluando a esta variable de forma cuantitativa continua como se menciona en la tabla 4. Lo anterior se realizó a los 116 días después de la siembra, ya que según la ficha técnica del cultivo de caña (2015), indica que la germinación y emergencia inicia entre los 7 a 10 días después de la siembra, mientras que el crecimiento inicial se prolonga hasta los 35 días y el amacollamiento o ahijamiento comienza alrededor

de los 35 a 40 días después de la plantación y se caracteriza por el brote de varios tallos a partir de las articulaciones nodales que se encuentran en la base de los tallos primarios.

Para obtener el número y tamaño de raíces en los brotes, se extrajeron las plantas de las bolsas, se sacudieron, lavaron y midieron con ayuda de un flexómetro, además de contar las raíces de forma manual. Mientras que, para la obtención del peso seco de los brotes y raíces, estos se separaron y metieron en bolsas de papel rotuladas, para su ingreso al horno, a 70 °C por 72 horas.

*Tabla 4. Tipos de variables y medición*

<b>Variable</b>	<b>Tipo de medición</b>
Crecimiento	Altura de los brotes
	Diámetro de los tallos
	Número de las hojas en los brotes
	Tamaño de las raíces
	Número de raíces
	Peso seco de los brotes
	Peso seco de las raíces

Fuente: Elaboración propia

### 5.8 *Análisis estadístico*

La tabulación, organización de datos, así como las gráficas, se realizaron con el programa Microsoft office Excel 2016. Y los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de medidas Tukey utilizando el paquete estadístico SAS.

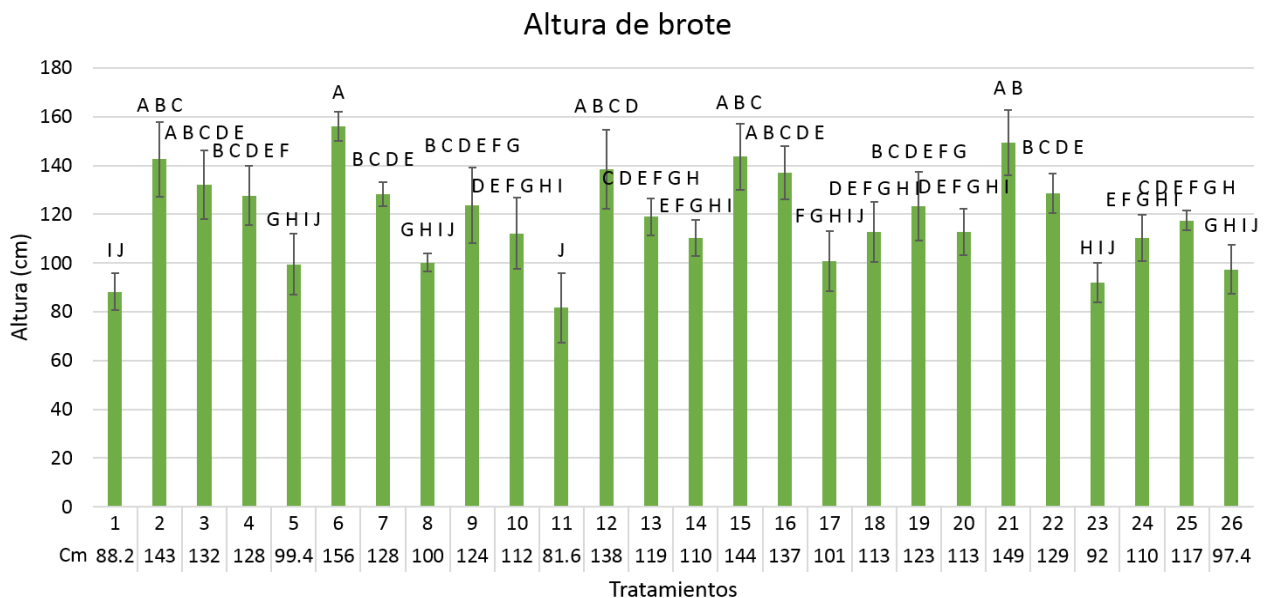
## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Resultados

#### *Altura de los brotes*

Los resultados obtenidos de la variable altura de las plantas (gráfica 1) presentaron diferencias significativas con respecto al control. Se encontró que el T6 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens*) presentó la mayor altura promedio de 156 cm, 76.8% más en comparación al grupo control o testigo (T1), el cual presentó 88.2 cm de altura; y un 9.3% más que el grupo de fertilizante convencional (T2), con una altura de 142.6 cm. También se destacaron la altura de las plantas de los tratamientos 21 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens* + *T. reesei*) y 15 (50% fertilizante convencional + *B. subtilis* + *T. reesei*), con valores de 149.4 y 143.6 cm, que corresponde a un 69.3% y 51.4% más alta comparado con el grupo de control (T1), y un aumento de 4.7% y 0.7% comparado con el grupo de fertilizante convencional (T2) respectivamente. Se comprueba la influencia de los fertilizantes químico y biofertilizantes, dosis respuesta con respecto a la altura de los brotes.

Por otro lado, los tratamientos 11 (*T. reesei*) y 1 (Control) tuvieron los valores más bajos de altura, siendo 81.6 y 88.2 cm.



**Gráfica 1.** Efecto de *Trichoderma* y *Bacillus* sobre altura de brotes de caña de azúcar a los 116 días después de la siembra. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

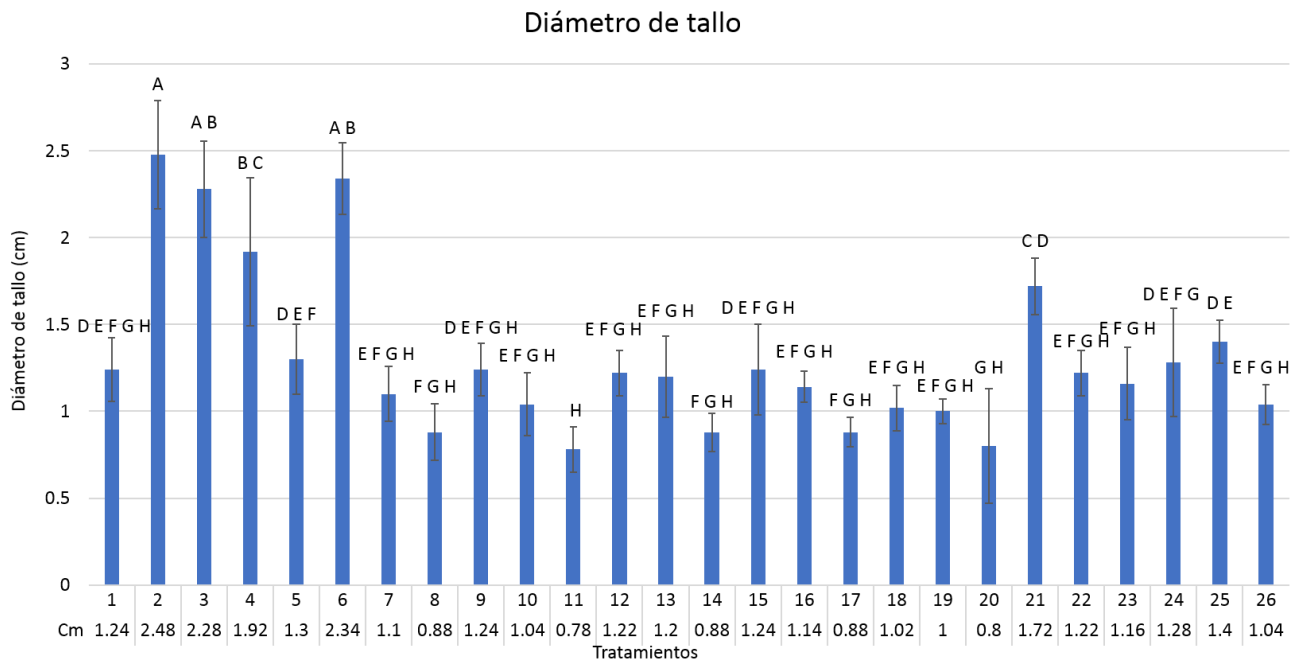


### Diámetro de tallos

Para la variable diámetro de tallo se encontró que el tratamiento de fertilización convencional (T2) presento el valor más alto de 2.4 cm, seguido del tratamiento 6 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens*) con un valor de 2.3 cm (Grafica 2), por lo que el tratamiento 6 obtuvo un 4.2% menos, sin embargo, fue un 91.6% más que el control (T1), puesto que este obtuvo un diámetro de 1.2 cm, seguido del tratamiento T3 (50% fertilizante convencional + *B. subtilis*) y 4 (25% fertilizante convencional + *B. subtilis*), con un diámetro de 2.2 y 1.9 cm respectivamente, reflejando un 83.3 y 58.3% más que el grupo control, pero un 8.3 y 20.8% menos que el tratamiento de fertilizante convencional (T2).

Los diámetros de los tallos tuvieron diferentes variaciones, sin embargo, los tratamientos 2, 4 y 6 fueron estadísticamente iguales, por lo que los biofertilizantes parecen compensar la cantidad de nutrientes faltantes comparada con la dosis completa T2.

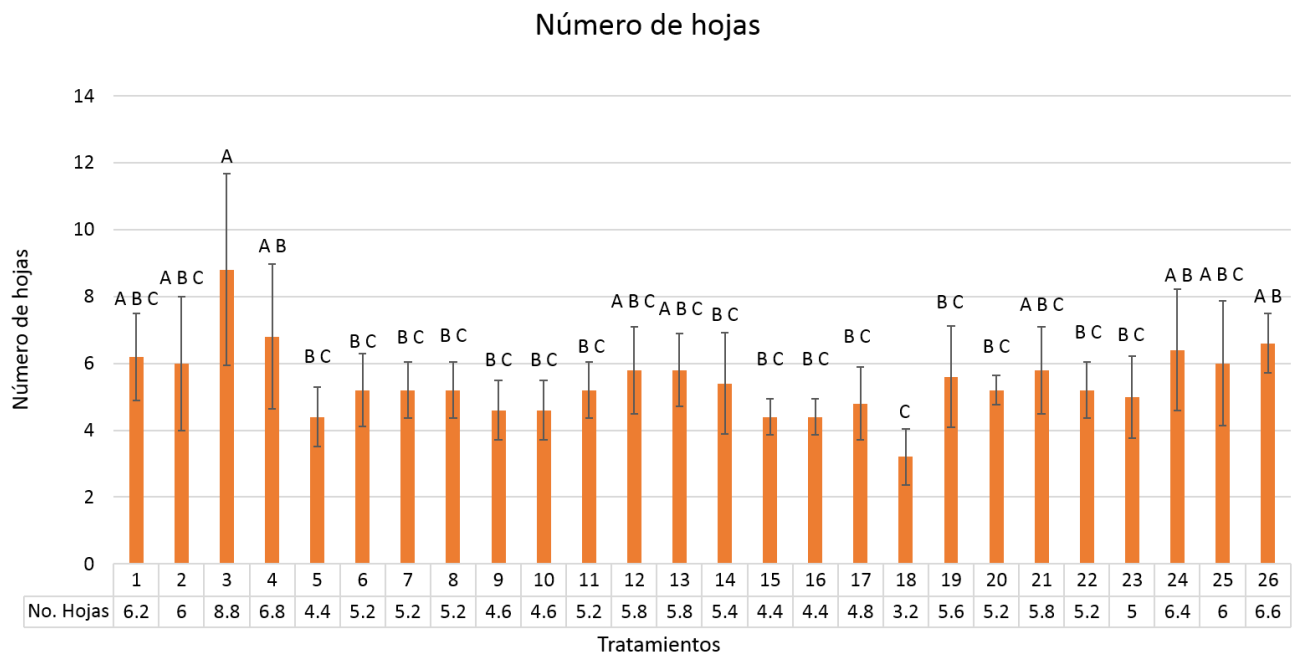
Los tratamientos 11 (*T. reesei*), 20 (*B. subtilis* + *T. longibrachiatum*), 8 (*B. amyloliquefaciens*) y 14 (*T. longibrachiatum*) mostraron menores resultados con 0.78, 0.8 y 0.88 cm respectivamente.



**Grafica 2.** Efecto de las cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* sobre el diámetro de los tallos; 116 días después de la siembra. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### Número de hojas

Para la variable número de hojas presentes en los brotes (gráfica 3), se encontró que el tratamiento 3 (50% fertilizante convencional + *B. subtilis*) presenta mayor número de hojas, ya que cuenta con un aproximado de 9 hojas, mientras que los tratamientos 4 (25% fertilizante convencional + *B. subtilis*) y 26 (*B. amyloliquefaciens* + *T. longibrachiatum*), presentaron un promedio de 7 hojas. Por otra parte, el resto de los tratamientos presentó un promedio de 6 y 5 hojas.



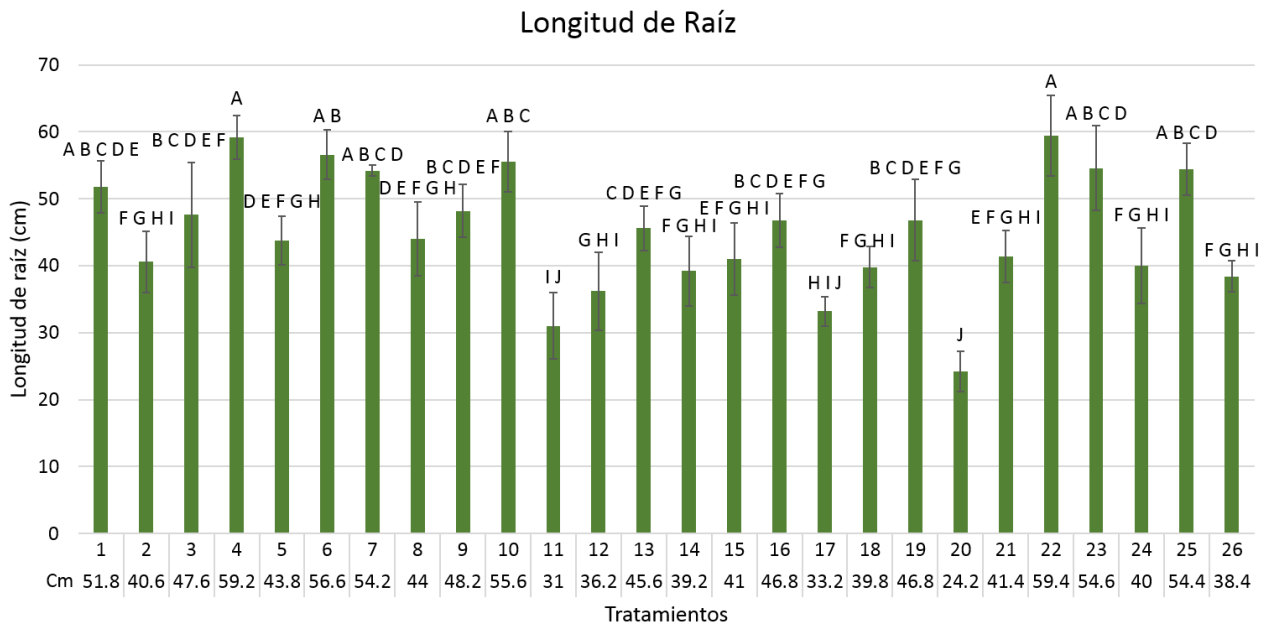
**Gráfica 3.** Efecto de las cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* sobre el número de hojas a los 116 días después de la siembra. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### Longitud de las raíces

En la gráfica 4 se presentan los resultados obtenidos de la variable longitud de las raíces. En este experimento se encontró que los mejores tratamientos fueron: T22 (25% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens* + *T. reesei*), T4 (25% fertilizante convencional + *B. subtilis*) y T6 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens*). Con valores de longitud de 59.4, 59.2 y 56.6 cm respectivamente, lo que representa 46.3, 45.8 y 39.4% mayor crecimiento de las raíces, comparado con el tratamiento de fertilizante convencional (T2) y 14.7, 14.3 y 9.2% mayor crecimiento que el control (T1). Mientras que el

tratamiento 20 (*B. subtilis* + *T. longibrachiatum*), tuvo una longitud de 24.2 cm, lo que representa un decrecimiento del 53. 2% en comparación al T1 y un 40.3% en comparación al T2.

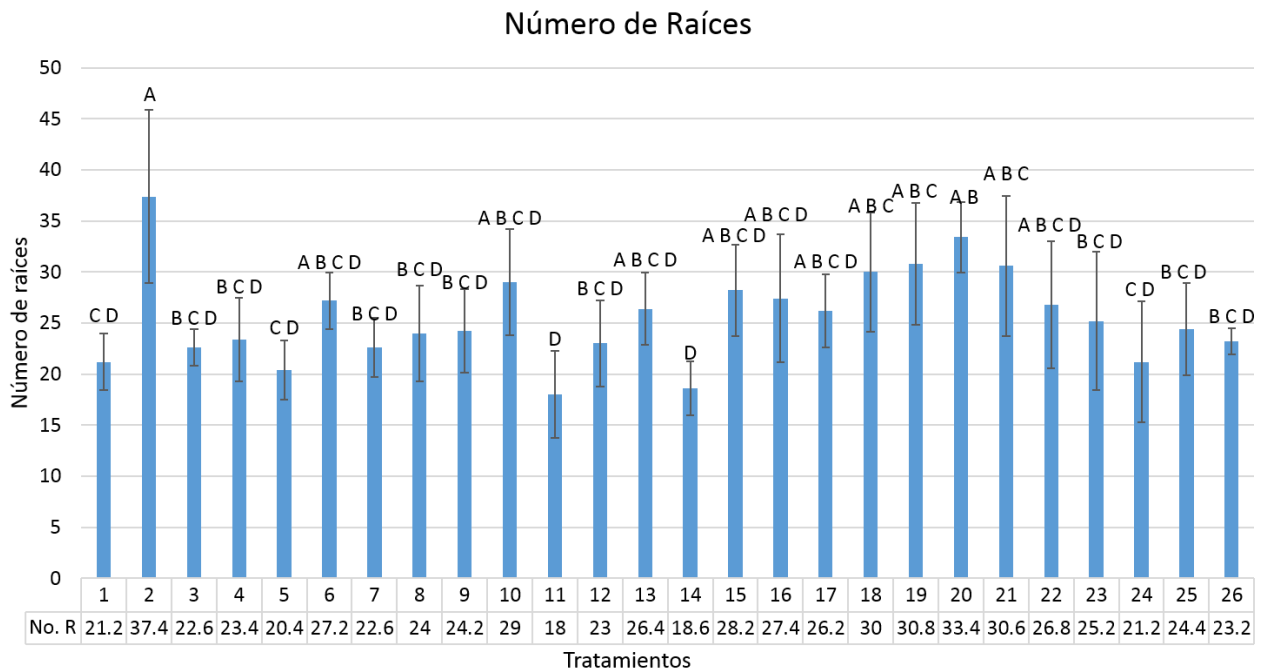
Por lo que en la variable longitud de las raíces tuvieron mayor efecto los tratamientos que tenían combinaciones de fertilizantes con microorganismos, en especial aquellas en combinación con la bacteria *B. amyloliquefaciens*.



**Gráfica 4.** Efecto de las cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* sobre la longitud de la raíz a los 116 días después de la siembra. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

#### Número de raíces

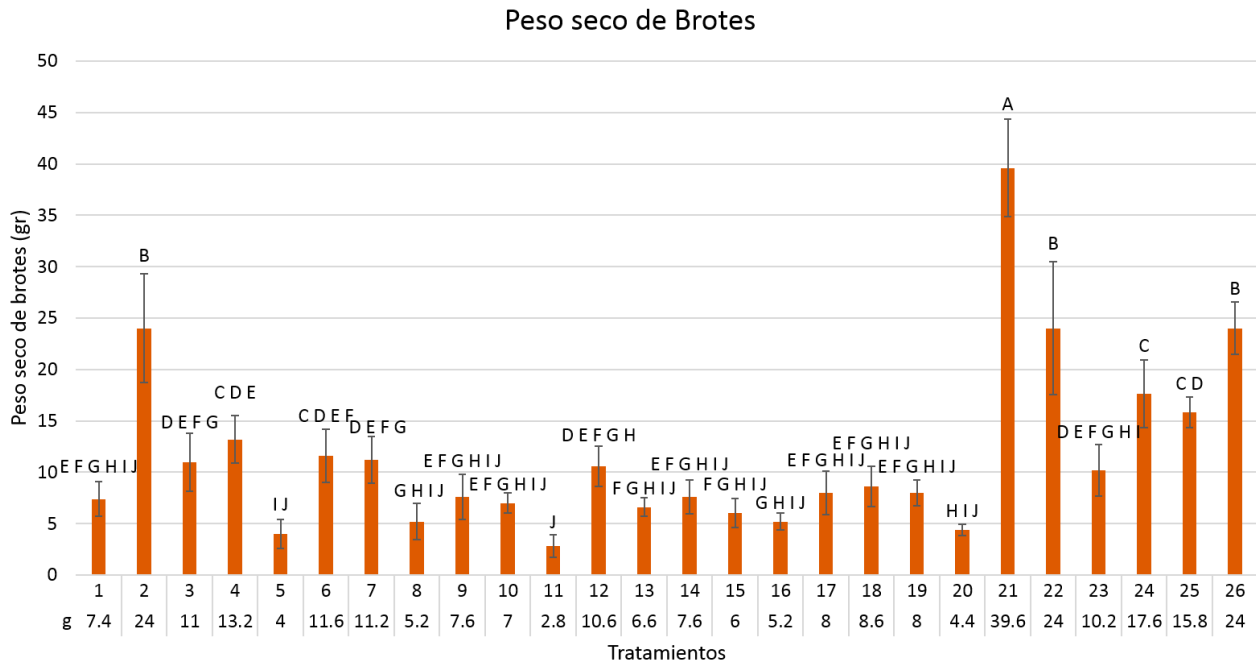
Los resultados obtenidos del número de raíces están representados en la gráfica 5, donde se encontró que el mejor tratamiento fue el fertilizante convencional (T2) con un valor promedio de 37 raíces por planta, seguido del tratamiento 20 (*B. subtilis* + *T. longibrachiatum*), con 33 raíces, mientras que los tratamientos 19 (25% fertilizante convencional + *B. subtilis* + *T. longibrachiatum*), 21 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens* + *T. Reesei*) presentaron un promedio de 31 raíces y el tratamiento 18 (50% fertilizante convencional + *B. subtilis* + *T. longibrachiatum*), presentó 30 raíces, los cuales fueron superiores al control (T1) que presentó valores de 21 raíces. Mientras que el menor número de raíces fue el de los tratamientos 11 (*T. reesei*) y 14 (*T. longibrachiatum*) con valores de 18 raíces. Es importante mencionar que, aunque hubo diferencias numéricas estadísticamente estos tratamientos fueron iguales.



**Gráfica 5.** Efecto de las cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* sobre el número promedio de raíces a los 116 días después de la siembra. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

#### *Peso seco de los brotes*

En la gráfica 6 se presentan los resultados de peso seco de los brotes, donde se encontró que el mejor tratamiento fue el 21 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens* + *T. reesei*), con un peso promedio de 39.6 gr, seguido de los tratamientos 26 (*B. amyloliquefaciens* + *T. longibrachiatum*), 22 (25% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens* + *T. reesei*) y T2 fertilizante convencional todos con valores de 24 gr comparados con el control (T1) que presento un peso mientras que el grupo control (T1) que presentó un peso promedio de 7.4 gr. La mayoría de los tratamientos superaron al grupo control en más del 21%, salvo los tratamientos 11 (*T. reesei*), 5 (*B. subtilis*), 20 (*B. subtilis* + *T. longibrachiatum*), 8 (*B. amyloliquefaciens*), 16 (25% fertilizante convencional + *B. subtilis* + *T. reesei*), 15 (50% fertilizante convencional + *B. subtilis* + *T. reesei*) y 13 (25% fertilizante convencional + *T. longibrachiatum*), con valores de 2.8, 4, 4.4, 5.2, 5.2, 6 y 6.3 gr respectivamente.

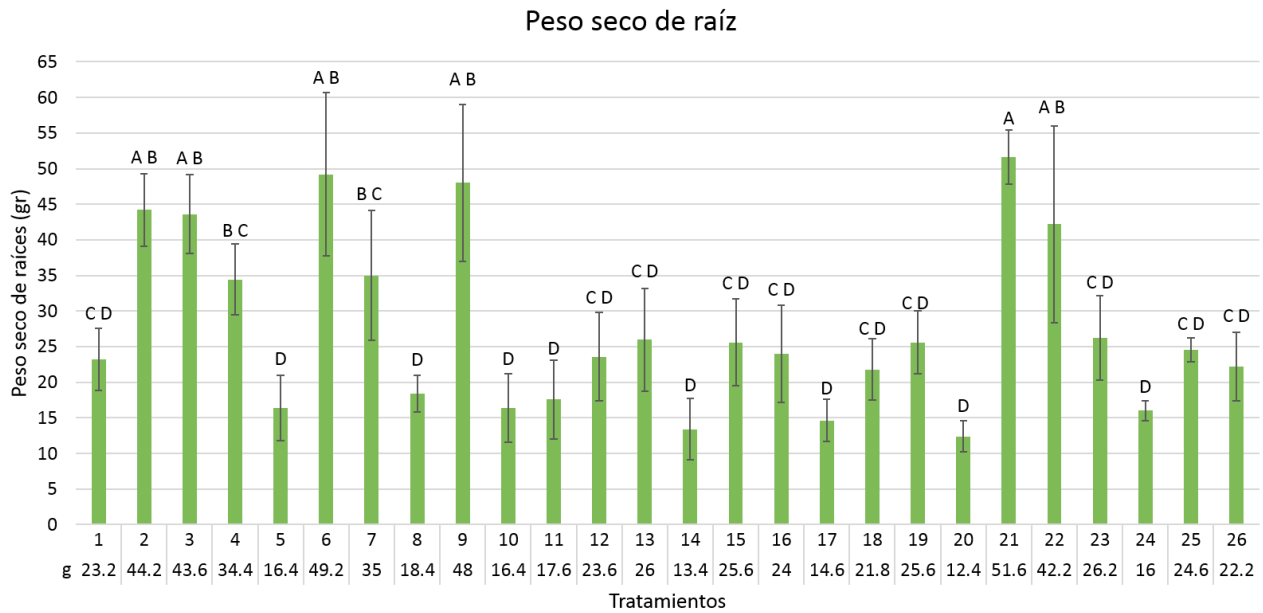


**Gráfica 6.** Efecto de las cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* sobre el peso promedio de los brotes posterior a su deshidratación. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

#### *Peso seco de raíces*

Los resultados del peso seco de las raíces se expresan en la gráfica 7, donde el tratamiento que obtuvo mejores resultados fue el 21 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens* + *T. reesei*), obteniendo un peso de 51.6 g, el cual supera un 122.4% al grupo control (T1), con un peso de 23.2 g, así también fue 16.7% mayor que el grupo de fertilizante convencional (T2), con 44.2 g. Seguido de los tratamientos 6 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens*) y 9 (50% fertilizante convencional + *T. reesei*), con un promedio de 49.2 y 48 gr respectivamente, obteniendo un 112% y 106.9% más en comparación al control, sin embargo, se obtuvo un 11.3% y 8.6% menos que el tratamiento correspondiente al fertilizante convencional.

La mayoría de los tratamientos tuvieron valores superiores al T1 y T2, salvo los tratamientos 20 (*B. subtilis* + *T. longibrachiatum*), 14 (*T. longibrachiatum*), 17 (*B. subtilis* + *T. reesei*), 24 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens* + *T. longibrachiatum*), 5 (*B. subtilis*), 10 (25% fertilizante convencional + *T. reesei*) y 11 (*T. reesei*), con valores de 12.4, 13.4, 14.6, 16, 16.6, 16.4 y 17.6 gr respectivamente, quienes presentaron los valores más bajos.

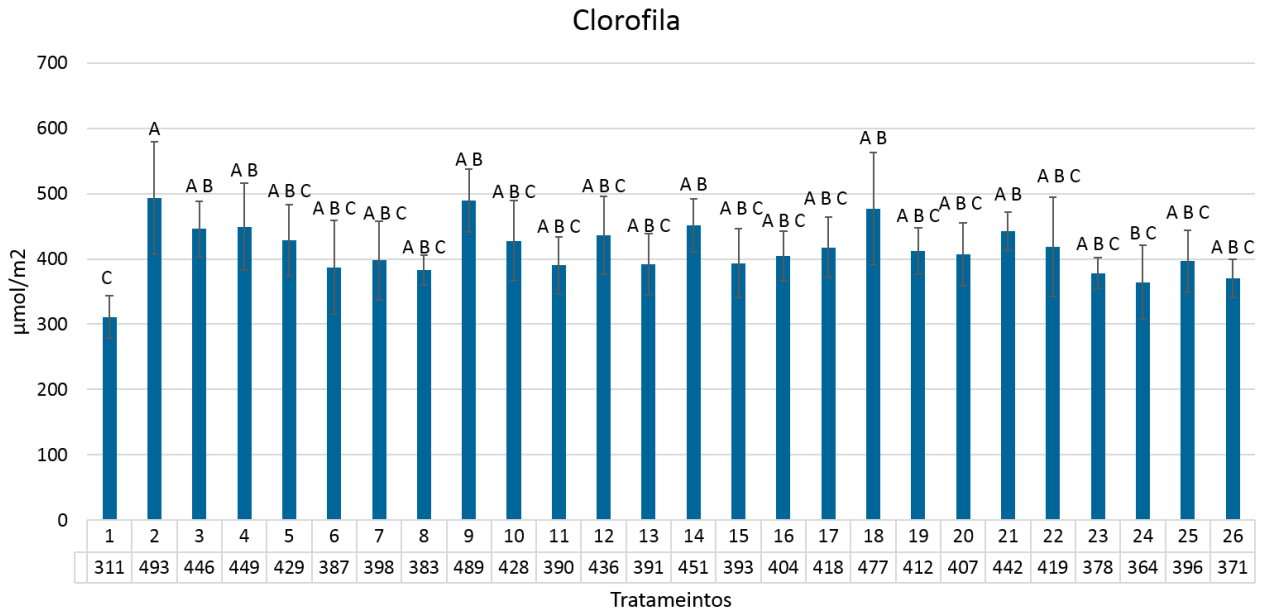


**Gráfica 7.** Efecto de las cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* sobre el peso seco promedio de la raíz posterior a su deshidratación. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### Concentración de clorofila

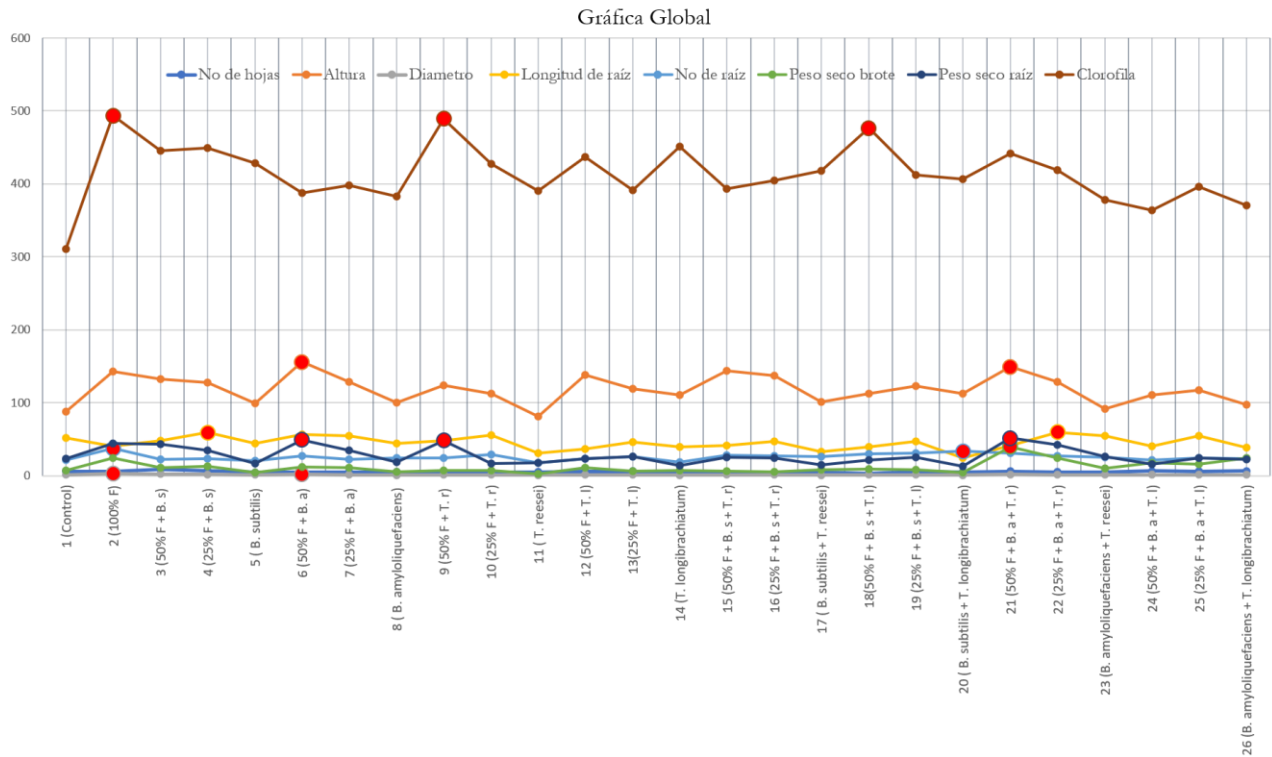
En lo que respecta a la concentración de clorofila en hojas el Tratamiento 2 (fertilizante convencional), obtuvo un promedio de  $493.4 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ , representando un 58% más que el T1 (control), el cual obtuvo una concentración promedio de  $311.8 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ . Seguido de los tratamientos 9 (50% fertilizante convencional + *T. reesei*), 18 (50% fertilizante convencional + *B. subtilis* + *T. longibrachiatum*) y 14 (*T. longibrachiatum*), que obtuvieron concentraciones de  $489.1 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ ,  $476.5 \mu\text{mol}/\text{m}^2$  y  $450.7 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ , lo que representa un incremento de 56.8%, 52.8% y 44.5% respectivamente en comparación con el T1 (control) y un 8.7%, 3.4% y 8.6% menos que el tratamiento 2 correspondiente al fertilizante convencional.

Todos los tratamientos donde se aplicaron microorganismos fueron numéricamente un poco mayores que el grupo control, sin embargo, estadísticamente todos fueron iguales, por lo que no hubo diferencia significativa.



**Gráfica 8.** Concentración promedio de clorofila presentada en los diversos tratamientos. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Por otra parte, en la gráfica 9, se presenta de manera integral los resultados de las variables evaluadas.



**Gráfica 9.** Efecto de las cepas *Trichoderma* y *Bacillus* en brotes de esquejes de caña de azúcar.

## 6.2. Discusión

El empleo de microorganismos benéficos ha producido efectos importantes en relación a la promoción de crecimiento (Leal-Almanza *et al.*, 2018). En este estudio se evaluó la inoculación de las bacterias *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* y los hongos *T. reesei*, *T. longibrachiatum*, en esquejes de caña de azúcar de la variedad Mex 69-290; por medio de las variables altura de los brotes, diámetro del tallo, número de hojas presentes en los brotes, longitud de raíces, número de raíces, peso seco de brotes y raíces, así como el nivel de clorofila. De forma general refleja que agregar microorganismos y combinarlos con concentraciones diferentes de fertilizante, genera un efecto significativo en el crecimiento de los brotes, tal como se puede observar en las variables de altura y diámetro de tallo, pese a que los tallos pueden ser diferentes en altura y diámetro, incluso a la misma edad en una variedad (Asociación de técnicos azucareros de México, 2018).

El tratamiento 6 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens*), registró de manera significativa resultados más altos en relación a la altura del brote, con un 76.8% mayor al control, de igual forma se puede denotar la efectividad en la altura de aquellos tratamientos con la mezcla de la bacteria *Bacillus*. Estos tratamientos presentan resultados similares a lo reflejado en el estudio de cultivos de papa, donde resalta la obtención de mayor altura de los tallos para los tratamientos en combinaciones de fertilizante convencional y mezcla microbiana de *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens* (Kantar & Uysal, 2020), esto debido a la función de las bacterias *Bacillus* como promotores de crecimiento, ya que tienen efectos en el crecimiento vegetal a través de la síntesis de hormonas vegetales, como auxinas, citocininas y giberelinas (S. López, 2019), así mismo es importante recalcar la cantidad de fertilizante aplicada, ya que el porcentaje de la cantidad de fertilizante convencional en conjunto con los microorganismos represento efectos significativos en la longitud del brote.

En lo relacionado al diámetro del tallo se encontró que el tratamiento 2, correspondiente a la fertilización química convencional obtuvo mejores resultados, seguido del T6 (50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens*), el cual obtuvo un diámetro de 2.3 cm, 91.6% mayor al control, seguido del T3 (50% fertilizante convencional + *B. subtilis*) con un diámetro de 2.2 cm, de la misma forma que en el estudio generado a partir de cepas de *Bacillus subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens* empleado en maíz forrajero, donde se demuestra que, la inoculación con *Bacillus amyloliquefaciens*, se mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en diámetro de tallo. Por lo que detalla que desde un punto de vista



sustentable con los aislados recuperados y reduciendo la dosis de fertilización química a la mitad de la dosis recomendada, se alcanzaron rendimientos similares al tratamiento químico (Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020). Lo anterior debido a que estas bacterias (*Bacillus* spp.) asociadas a plantas se caracterizan por su actividad simultánea de promoción el crecimiento vegetal y biocontrol, ya que estos efectos fortalecen las plantas y las hacen más resistentes contra los patógenos y viceversa (Wu *et al.*, 2015). Por lo que se puede denotar la importancia de la combinación de una mezcla microbiana con una concentración de fertilizante convencional para la obtención de resultados pertinentes.

La cantidad de hojas presentes en los brotes de caña fue proporcional para todos los tratamientos, ya que estas presentaban en promedio de 6 a 7 hojas por planta, por lo tanto, no se presentaron diferencias estadísticas.

La longitud de las raíces obtuvo mejores resultados en el tratamiento 22, el cual se conformó de 25% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens* + *T. reesei*, con una longitud promedio de 59.4 cm, siendo 14.7% mayor que el grupo control y 46.3% más que el grupo con fertilizante convencional. De acuerdo a los resultados obtenidos se pudo observar una tendencia de mayor longitud en aquellos tratamientos con *B. amyloliquefaciens* añadido, además de una concentración de 25% de fertilizante convencional. Estos resultados son similares al experimento realizado en plántulas de jitomate (*Solanum lycopersicon L.*), donde se incrementó significativamente la altura de la planta y longitud de raíz, justificando que esta cepa, tiene la capacidad para producir biosurfactinas (lipopéptidos), responsables de incrementar la movilidad de *Bacillus* para una rápida colonización radicular (Ruiz-Cisneros *et al.*, 2019). Por otra parte, se menciona que los resultados positivos de la inoculación de cepas de *Bacillus*, se debe a sus múltiples atributos como excelentes colonizadores de raíces, mejoradores del crecimiento de raíz, promotores del rendimiento del cultivo, inductores de resistencia al estrés abiótico, entre otros (Beneduziet *et al.*, 2012). A su vez, Acurio Vásconez y España Imbaquingo (2016), mencionan que el género *Trichoderma* promueve el crecimiento radicular, por lo que las plantas de maíz y algunos pastos colonizadas por este hongo requirieron un 40% menos de fertilizantes nitrogenados.

En cuestión al número promedio de raíces, se encontró al tratamiento con fertilizante convencional como el mejor ya que obtuvo en promedio 37 raíces, posteriormente el tratamiento 20, con una

combinación de *B. subtilis* + *T. longibrachiatum*, obteniendo un promedio de 33 raíces siendo mayor que el grupo T1. Lo anterior se debe a que las cepas de *Bacillus* están consideradas como promotor de crecimiento con potencial para incrementar el rendimiento en las plantas, por lo que su implementación como agentes de control biológico es debido a sus características de alta capacidad de colonización de la raíz (Bolaños *et al.*, 2014). Por otra parte *Bacillus subtilis* es una bacteria rizosférica que promueve el crecimiento vegetal que sintetiza fitohormonas como son; el ácido indolacético, ácido abscísico, giberelinas y citoquininas, que beneficia al crecimiento de la raíz y aumenta el número de pelos radiculares (Tejera-hernández & Heydrich-pérez, 2011). Por otra parte Vargas-Bejarano *et al.* (2012) realizó un estudio con plántulas de algodón transgénico inoculadas con *Trichoderma longibrachiatum*, mostrando un mayor porcentaje de raíces de 2° (46%), 3° (73%) y 4° (98%) orden con respecto a las plantas testigos. Indicando que la inoculación de esta cepa puede favorecer el desarrollo de la arquitectura radicular y generar un mejor aprovechamiento de nutrientes.

De acuerdo a los resultados obtenidos de peso seco de brotes el tratamiento 21 correspondiente a la inoculación de 50% fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens* + *T. reesei*; obtuvo en promedio los mejores resultados con un peso de 39.6 gr, sobrepasando al peso de los brotes correspondientes al testigo y al tratamiento fertilizante convencional. Al igual que el peso seco de brotes, los resultados correspondientes al peso seco de raíces, demostró que el tratamiento 21 obtuvo mejores resultados con un peso de 51.6 gr, correspondiente al 122% mayor que el tratamiento control y 16.7% mayor que el tratamiento fertilizante convencional. Así mismo en ambos parámetros se obtuvieron resultados sobresalientes de aquellos tratamientos adicionados con *B. amyloliquefaciens* y una dosis de 50% de fertilizantes convencional.

Lo anterior se debe a que el empleo de *Bacillus* como biofertilizante, no solo mejora el desarrollo y producción de las plantas, sino que, según Sanchez Lopez *et al.* (2016) la aplicación de cepas de *Bacillus* permitió una mayor producción de biomasa aérea y radicular como lo demostró en su estudio con las plantas de *P. clandestinum*, Por su parte Zhang *et al.* (2009) aplicaron diversas cepas de *Bacillus* en tratamiento a semilla y directo al suelo, en cultivo de soya contra *Fusarium oxysporum* y *F. graminearum*, y reportaron que incrementa el peso seco de raíz de 8.4 a 19%. Por lo tanto si existe un efecto positivo en la masa seca de la raíz, por ende se verá reflejado en el mejoramiento general de la salud de la planta (Rojas-Badía *et al.*, 2020). Por otro lado, las cepas de *Trichoderma* también juegan un papel fundamental

puesto que el desarrollo y la eficiencia de *Trichoderma* spp depende también en gran medida del tipo de sustrato y las condiciones en las que se desarrolla, mientras mayor sea la colonización de este en las zonas radicular de la planta mayor será el efecto de biocontrol a nivel de campo (Peña-Tovar & Pavone-Maniscalco, 2020).

La toma de clorofila se puede percibir como la cantidad de energía lumínica que las plantas toman y transforman en energía química a través de la fotosíntesis. En este estudio los resultados de clorofila fueron mejores en aquellas plantas adicionadas con una dosis completa de fertilizante convencional siendo la lectura de esta de 493.4  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ . Seguido del tratamiento 9 compuesta por 50% fertilizante convencional + *T. reesei*; con una lectura de 489.1  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ , de acuerdo a los resultados obtenidos se pudo denotar que todos los tratamientos superan al tratamiento control. De la misma forma se registró en los estudios realizados por López, A. C. (2021), en plántulas de Yerba mate inoculadas con aislamientos de *Trichoderma* sp presentaron mayor contenido de clorofila con diferencias estadísticamente significativas en comparación a las plantas inoculadas con el tratamiento control. Moya *et al.* (2020) obtuvo un aumento de clorofila de hasta el 9% en plantas de cebada inoculadas con *Trichoderma* spp en comparación con los controles. Lo anterior se debe al efecto estimulante que otorgan las cepas *Trichoderma* logrando una mayor capacidad fotosintética, ya que la capacidad fotosintética de una planta tiene relación con la cantidad de  $\text{CO}_2$  fijado, que dará como consecuencia la síntesis de carbohidratos que serán utilizados por la planta para su desarrollo (López-Tolentino *et al.*, 2016).

### 6.3. Conclusiones

Los microorganismos *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Trichoderma reesei* y *Trichoderma longibrachiatum*, en combinación con concentraciones de 25% y 50% de fertilizante convencional pueden ser empleados como biofertilizantes en los esquejes de caña, ya que demostraron resultados significativos en la promoción del crecimiento comparado con los controles.

Siendo más efectivos en relación a altura del brote, peso seco de raíz, aquellas combinaciones con un 50% de fertilizante, mientras que aquellas combinaciones de 25% de fertilizante presentaron resultados significativos en la longitud de raíz. Por otra parte, en relación al peso seco de los brotes se registraron resultados significativos con ambas concentraciones de fertilizantes. El diámetro de tallo, número de

raíces y concentración de clorofila obtuvieron mejores resultados con una dosis completa de fertilización química, sin embargo, la diferencia estadística entre estos y una dosis de 50% fue mínima, mientras que el número de hojas actúa de manera proporcional para todos los tratamientos.

En relación a la efectividad de las diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*, se puede denotar un resultado mayor en relación a altura del brote y diámetro de tallo, en la combinación 50% de fertilizante convencional + *B. amyloliquefaciens*, sin embargo, se obtienen mejores resultados para la elongación de raíz, así como mayor peso seco de raíz y peso seco de brotes de la combinación *B. amyloliquefaciens* + *T. reesei*, con una dosis de fertilizante. Por otra parte, se puede obtener mayor número de raíces de la combinación de *B. subtilis* + *T. longibrachiatum*. En lo referente a la concentración de clorofila, esta fue mayor en aquellos tratamientos adicionados con *T. reesei* y 50% de fertilizante convencional, sin embargo, se pueden obtener resultados similares en la combinación de *B. subtilis* + *T. longibrachiatum*.

Por lo tanto, aquellas combinaciones de fertilizante convencional con la bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* proporcionan mejoras para el cultivo de caña de azúcar en relación a la promoción del crecimiento, cabe destacar que *Trichoderma* spp. en conjunto con *Bacillus* spp. son efectivas como promotores de crecimiento, logrando mejoras en diversas áreas del crecimiento de la planta.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este proyecto, se señala que puede existir una reducción de costos de fertilización al incluir biofertilizantes con microorganismos *Bacillus amyloliquefaciens* en conjunto con la fertilización química. Teniendo así mejoras en el crecimiento, cabe destacar que es necesario ahondar más en estas investigaciones, puesto que el ciclo fisiológico del cultivo de la caña de azúcar es extenso (12 meses), y se requieren estudios del ciclo completo para recabar información acerca del rendimiento que estas llegan a presentar.

## VII. REFERENCIAS

- Acurio Vásconez, R. D., & España Imbaquingo, C. K. (2016). Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma* spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). *La Granja*, 25(1), 53. <https://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- Aguado Santacruz, G. A. (2012). Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura. In G. A. Aguado (Ed.), *CIRCE-INIFAP* (Primera ed). INIFAP/SAGARPA. <file:///C:/Users/W7/Downloads/Libro-biofertilizantes.pdf>
- Argumedo-Delira, R., Alarcón, A. R., Ferrera-Cerrato, O., & Peña-Cabriales, J. J. (2009). Revisión / Review El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Revista Internacional de La Contaminacion Ambiental*, 25(4), 257–269.
- Asociación Vida Sana. (2012). Microorganismos del suelo y biofertilización. *Vida Sana*, 1/39. [http://cultivos-tradicionales.com/upload/file/dossier-5\\_microorganismos-del-suelo-y-biofertilizacion-2.pdf](http://cultivos-tradicionales.com/upload/file/dossier-5_microorganismos-del-suelo-y-biofertilizacion-2.pdf)
- Bastidas, O. (2015). *Fórmula de la cámara de Neubauer* (p. 2). [https://studylib.es/doc/4540608/fórmula-de-la-cámara-de-neubauer](https://studylib.es/doc/4540608/f%C3%B3rmula-de-la-c%C3%A1mara-de-neubauer)
- Bejarano, F. (2017). Los plaguicidas altamente peligrosos en México. In *Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México, A.C. (RAPAM)*. <http://ciudadanosenred.com.mx/en-mexico-se-usan-186-plaguicidas-altamente-peligrosos/>
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35(4 SUPPL.), 1044–1051. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572012000600020>
- Bolaños, B. T., González Hernández, H., Zavaleta Mejía, E., Sánchez, P., Mora Aguilera, G., & Nava Díaz, C. (2014). Colonización de *Trichoderma* y *Bacillus* en plántulas de agave tequilana weber, var. Azul y el efecto sobre la fisiología de la planta y densidad de fusarium. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 32(1), 62–74.
- Bondolich, C., Miazzo, D., & Dolso, S. (2012). *Aportes a la agenda del sector agroindustrial*. <https://doi.org/10.1128/AAC.03728-14>
- Caiza, V. (2013). Colección, identificación y pruebas de eficacia invitro de (*Trichoderma* sp.) en el control

- biológico de (*Botrytis cinerea*) en la finca florícola Picasso Roses. [Universidad Politécnica Salesiana]. In *Universidad Politécnica Salesiana*. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Carrillo, L. (2013). 3. Microbios del suelo 4. Interacciones. In M. R. Ahrendts Benítez (Ed.), *Manual de Microbiología Agrícola* (1st ed., pp. 69–118). Editorial Universitaria de Jujuy. Facultad de Ciencias Agrarias.
- CONADESUCA. (2015a). *Boletín técnico informativo “Nutrición del cultivo de caña de azúcar y uso eficiente de fertilizantes.”*
- CONADESUCA. (2015b). Ficha técnica del cultivo de caña de azúcar ( *Saccharum Officinarum* L .) Publicación Enero 2015. In *Ficha Técnica*. SAGARPA.
- Correa, O. S. (2013). Los microorganismos del suelo y su rol indiscutido en la nutrición vegetal. In R. S. Díaz-Zorita Martín; Correa, Olga; M.V. Fernández Canigia; Lavado (Ed.), *Aportes de la microbiología a la producción de los cultivos* (1ra ed., Issue August, pp. 1–10). Editorial de la Facultad de Agronomía. [https://www.researchgate.net/publication/306960003\\_LOS\\_MICROORGANISMOS\\_DEL\\_SU\\_ELO\\_Y\\_SU\\_ROL\\_INDISCUTIDO\\_EN\\_LA\\_NUTRICION\\_VEGETAL](https://www.researchgate.net/publication/306960003_LOS_MICROORGANISMOS_DEL_SU_ELO_Y_SU_ROL_INDISCUTIDO_EN_LA_NUTRICION_VEGETAL)
- Dadrasnia, A., Usman, M. M., Omar, R., Ismail, S., & Abdullah, R. (2020). Potential use of *Bacillus* genus to control of bananas diseases: Approaches toward high yield production and sustainable management. *Journal of King Saud University - Science*, 32(4), 2336–2342. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.03.011>
- Delegación SADER Nayarit. (2018). *La caña de azúcar y su importancia para la industria azucarera*. SAGARPA. <https://www.gob.mx/sader/nayarit/articulos/la-cana-de-azucar-y-su-importancia-para-la-industria-azucarera?idiom=es%0Ahttps://www.gob.mx/sagarpa/nayarit/articulos/la-cana-de-azucar-y-su-importancia-para-la-industria-azucarera?idiom=es>
- Ejeabonos. (2013). *Ficha técnica Dap 18-46-00* (p. 4). <https://recintodelpensamiento.com/ComiteCafeteros/HojasSeguridad/Files/Fichas/FTDAPEjeabonos2017411122011.pdf>
- García Luquillas, K. R. (2020). *Obtención de biopelículas fúngicas mixtas de *Trichoderma reesei* y *Aspergillus spp.* y análisis de expresión génica de celulasas mediante PCR cuantitativa* [Universidad Nacional Agraria La

- Molina]. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/4424/garcia-luquillas-katherine-ruth.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Gordillo, A. (2017). Efectividad de aislados nativos de *Trichoderma* spp., en el control biológico del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood de las raíces de tomate (*Solanum lycopersicum*) [Universidad Nacional de Loja]. In *Universidad Nacional De Loja*. [http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17025/1/TESIS WILSON FERNANDO.pdf](http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17025/1/TESIS_WILSON_FERNANDO.pdf)
- Gutiérrez Calvo, A. E. (2019). *Evaluación del efecto de Bacillus subtilis en la promoción del crecimiento en maíz* [Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas]. <https://repositorio.unicach.mx/bitstream/handle/20.500.12753/448/2655.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 35(1), 98–112. <https://doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
- Inifap. (2013). Tecnología para el cultivo de la caña de azúcar en riego en el estado de San Luis Potosí. In *Planta, soca y resocas*. <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Paquetes2012/83.pdf>
- Kantar, F., & Uysal, A. (2020). Effect of *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens* culture on the growth and yield of off-season potato (*Solanum tuberosum* L.). *Acta Agronómica*, 69(1), 26–31. <https://doi.org/10.15446/acag.v69n1.73832>
- Leal-Almanza, J., Gutiérrez-Coronado, M. A., Castro-Espinoza, L., Lares-Villa, F., Cortes-Jiménez, J. M., & de los Santos-Villalobos, S. (2018). Microorganismos promotores de crecimiento vegetal con Yeso agrícola en papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo casa sombra. *Agrociencia*, 52, 1149–1159.
- López, A. C. (2021). *Selección y caracterización de microorganismos con capacidad antifúngica y fertilizante aislados de la rizosfera de plantas de yerba mate de la provincia de Misiones para su aplicación como promotores del crecimiento vegetal* [Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/119072>
- López, S. (2019). *Bacillus* un género que alberga especies que cumplen diversos roles biológicos. *Infive-Conicet UNLP*, 1–26.

- López-Tolentino, G., Lira-Saldivar, R. H., & Méndez-Argüello, B. (2016). Medición de intercambio gaseoso, área foliar e índice de clorofila en plantas elicitadas con nanopartículas. *Agronano Tecnología*, 112–126.  
<https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/338/1/Medici%C3%B3n%20de%20Intercambio%20Gaseoso%2C%20%C3%81rea%20Foliar%20e%20%C3%8Dndice%20de%20Clorofila%20en%20Plantas%20Elicitadas%20con%20Nanopart%C3%ADculas.pdf>
- Mata Espinosa, H. (2018). Los contaminantes en el cultivo e industrialización de la caña de azúcar. *Agro Productividad*, 2(1).  
<https://revistaagroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/594>
- Martínez-Anaya, C., Balcázar-López, E., Dantán-González, E., & Folch-Mallol, J. L. (2008). Celulasas fúngicas: Aspectos biológicos y aplicaciones en la industria energética. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 50(3–4), 119–131. [https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2008/mi08-3\\_4i.pdf](https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2008/mi08-3_4i.pdf)
- Moya, P., Barrera, V., Cipollone, J., Bedoya, C., Kohan, L., Toledo, A., & Sisterna, M. (2020). New isolates of *Trichoderma* spp. as biocontrol and plant growth–promoting agents in the pathosystem *Pyrenophora teres*-barley in Argentina. *Biological Control*, 141(June 2019), 104152.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104152>
- Peña-Tovar, E., & Pavone-Maniscalco, D. (2020). Efecto de *Trichoderma* spp. sobre el desarrollo de plántulas de *Capsicum annum* L. (pimentón) y el biocontrol del hongo fitopatógeno *Sclerotium* sp. In L. G. Ramírez Merida (Ed.), *Agrobiología: una visión general y sus aplicaciones* (Issue October, p. 11). Mérida Publishers. <https://doi.org/10.4322/mp.2020.001>
- Peña Sánchez, R. R., & Páez Mendineta, J. E. (2005). *Guía para el cálculo de la concentración de inóculo*.
- Pulido Jiménez, A. C. (2016). *Evaluación del efecto de Bacillus subtilis EA-CB0575 en la promoción de crecimiento de Zea mays y Solanum lycopersicum a nivel de invernadero*. Universidad EAFIT.
- Ramírez-Mora, E., Perez-Vazquez, A., Landeros-Sánchez, C., Martínez-Dávila, J. P., Villanueva-Jiménez, J. A., & Lagunes-Espinoza, L. del C. (2018). Uso histórico de plaguicidas en caña de azúcar del DR035 La Antigua, Veracruz. *Acta Universitaria*, 28(4), 42–49.  
<https://doi.org/10.15174/au.2018.1644>



- Ramírez, M. Á. (2008). *Cultivos para la producción sostenible de biocombustibles: Una alternativa para la generación de empleos e ingresos Módulo V: Caña de azúcar* (Comunica (ed.); Primera ed).
- Rodríguez-Hernández, M. G., Gallegos-Robles, M. Á., Rodríguez-Sifuentes, L., Fortis-Hernández, M., Guadalupe Luna-Ortega, J., & González-Salas, U. (2020). Native *Bacillus* spp. Strains as sustainable alternative in the yield of corn forage. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 323–331. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.690>
- Rojas-Badía, M. M., Bello-González, M. A., Ríos-Rocafull, Y., Lugo-Moya, D., & Rodríguez Sánchez, J. (2020). Utilización de cepas de *Bacillus* como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales. *Acta Agronómica*, 69(1), 54–60. <https://doi.org/10.15446/acag.v69n1.79606>
- Romero Domínguez, E. (2012). *Efecto de Trichoderma spp. en la promoción de crecimiento de maíz, vía síntesis de ácido indol acético* [Instituto Politécnico Nacional]. [https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/27316/Efecto de Trichoderma spp. en la promoción de crecimiento de maíz%2C vía síntesis de AIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/27316/Efecto%20de%20Trichoderma%20spp.%20en%20la%20promoción%20de%20crecimiento%20de%20maíz%20vía%20síntesis%20de%20AIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Ruiz-Cisneros, M. F., Olivas-Orozco, G. I., Acosta-Muñiz, C. H., Sepúlveda-Ahumada, D. R., Zamudio-Flores, P. B., Berlanga-Reyes, D. I., Salas-Marina, M. A., Cambero-Campos, O. J., & Rios-Velasco, C. (2019). Efecto de cepas de *Bacillus* solas y en interacción con hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate. *Revista Bio Ciencias*, 6(541), 1–17. <http://revistabiociencias.uan.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/541/397>
- Samuels, G. J., Ismaiel, A., Mulaw, T. B., Szakacs, G., Druzhinina, I. S., Kubicek, C. P., & Jaklitsch, W. M. (2012). The *Longibrachiatum* clade of *Trichoderma*: a revision with new species. *Fungal Diversity*, 55(1), 77–108. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0152-2>
- Sanchez Lopez, D. B., Pérez Pazos, J. V., & David Hinestroza, H. A. (2016). Efecto de las PGPB sobre el crecimiento *Pennisetum clandestinum* bajo condiciones de estrés salino. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 18(1), 65–72. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.50413>
- Serna Cock, L., Arias García, C., & Valencia Hernández, L. J. (2011). Biofertilización, una alternativa al uso de fertilizantes químicos en caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). *Alimentos Hoy*, 20(24), 69–82. <http://www.alimentoshoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/18/18>
- Suesca Díaz, A. (2012). Producción de enzimas celulolíticas a partir de cultivos de *Trichoderma* sp. con

- biomasa lignocelulósica [Universidad Nacional de Colombia]. In *Universidad Nacional de Colombia*. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/10652/300054.2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tejera-hernández, B., & Heydrich-pérez, M. M. R. M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(3), 131–138.
- Toledo, A., & Cruz Hipolito, H. (2017). *Control de malezas en el cultivo de caña de azúcar con herbicidas preemergente*. <https://www.atamexico.com.mx/wp-content/uploads/2017/11/3.-AGRICULTURA-CA%C3%91ERA.pdf>
- Torres Urbano, A. G. (2008). *Uso de Bacillus amyloliquefaciens como control biológico para cenicilla polvorienta del rosal Sphaerotheca pannosa* [Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”]. [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4997/T16924\\_TORRES\\_URBANO\\_ARGELIA\\_GUILLERMINA%2C\\_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4997/T16924_TORRES_URBANO_ARGELIA_GUILLERMINA%2C_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Vargas-Bejarano, E., Méndez-Trujillo, V., Vázquez Angulo, J., González-Mendoza, D., & Grimaldo Juárez, O. (2012). Physiological changes in transgenic cotton inoculated with *Trichoderma* spp. *Phyton*, 81(1), 101–105. <https://doi.org/10.32604/phyton.2012.81.101>
- Velasco, J. (2014). Los biofertilizantes y la producción de caña de azúcar (*Saccharum spp.*). *Agro Productividad*, 7(2), 60–64. <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>
- Villa, P., Alfonso, I., Rivero, M. J., & González, G. (2007). Evaluación de cepas de *Bacillus subtilis* bioantagonistas de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*. *ICIDCA: Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 41(1), 52–56.
- Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & De los Santos-Villalobos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1), 95–130. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1706-5>
- Wu, L., Wu, H.-J., Qiao, J., Gao, X., & Borriss, R. (2015). Novel Routes for Improving Biocontrol Activity of *Bacillus* Based Bioinoculants. *Frontiers in Microbiology*, 6(DEC), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01395>

YPF. (2020). *Sulfato de amonio 21-0-0 24s* (p. 2).  
<https://www.ypf.com/productosyservicios/Paginas/YPF-Sulfato-de-Amonio.aspx>

Zhang, J. X., Xue, A. G., & Tambong, J. T. (2009). Evaluation of Seed and Soil Treatments with Novel *Bacillus subtilis* Strains for Control of Soybean Root Rot Caused by *Fusarium oxysporum* and *F. graminearum*. *Plant Disease*, 93(12), 1317–1323. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-12-1317>

### Referencias de sitio Web

AGRORIENTE. (3 de Diciembre de 2012). *AGRORIENTE*. Obtenido de MORFOLOGIA DE LA CAÑA: <https://agrioriente.wordpress.com/morfologia-de-la-cana/>

Agrosintesis. (5 de noviembre de 2020). *Agrosintesis*. Obtenido de Sustituyendo fertilizante químico por biológico: <https://www.agrosintesis.com/250-ton-ha-en-cana-de-azucar-en-morelos/>

Asociacion de tecnicos azucareros de México. (12 de marzo de 2018). *Curso "Tecnología azucarera para no azucareros"*. Obtenido de <http://www.atamexico.com.mx/wp-content/uploads/2018/04/1.-Curso-Motzorongo.pdf>

Ceieg. (Julio de 2018). *Dirección de Geografía, Estadística e Información*. Obtenido de Chiapas Información Agrícola 2017: <http://www.ceieg.chiapas.gob.mx/productos/files/BECH/Agricultura.pdf>

CONADESUCA. (12 de Agosto de 2020). *Concluye la zafra 2019/2020*. Obtenido de Gobierno de México: [https://www.gob.mx/conadesuca/prensa/concluye-la-zafra-2019-2020?idiom=es#:~:text=Al%2031%20de%20marzo%20del,millones%20261%20mil%20207%20t\).](https://www.gob.mx/conadesuca/prensa/concluye-la-zafra-2019-2020?idiom=es#:~:text=Al%2031%20de%20marzo%20del,millones%20261%20mil%20207%20t).)

CONADESUCA. (27 de agosto de 2020). *Gobierno de México*. Obtenido de El uso de biofertilizantes a base de bacterias y hongos para elevar la producción de la caña de azúcar: <https://www.gob.mx/conadesuca/prensa/el-uso-de-biofertilizantes-a-base-de-bacterias-y-hongos-para-elevar-la-produccion-de-la-cana-de-azucar-articulo>

FAO/OMS. (Octubre de 2004). *Segundo foro mundial FAO/OMS de autoridades de reglamentación sobre inocuidad de los alimentos*. Obtenido de Los riesgos emergentes relacionados con el medio ambiente y las nuevas tecnologías: <http://www.fao.org/3/y5871s/y5871s0p.htm>

González Ulibarry, P. (2019). Consecuencias ambientales de la aplicación de fertilizantes. *Biblioteca del congreso nacional de Chile*, 1-5.

Muradian, M. (22 de Octubre de 2015). *Microbe wiki*. Obtenido de Mandy Brosnahan at the University of Minnesota-Twin:

[https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus\\_amyloliquefaciens#References](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus_amyloliquefaciens#References)

ONU. (2015). *Naciones Unidas*. Obtenido de Objetivos de desarrollo sostenible:

<https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/hunger/>

RAE. (2019). *Real Academia Española*. Obtenido de Agricultura: <https://dle.rae.es/agricultura>

## Apéndice fotográfico



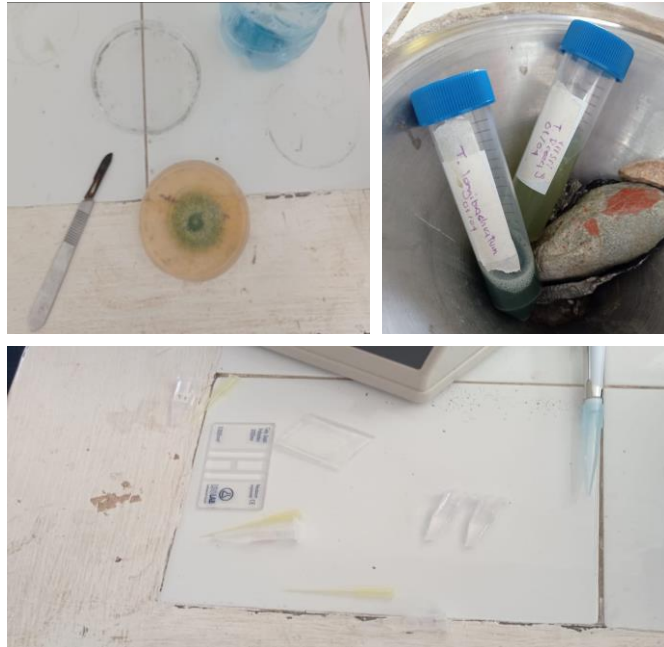
**Fotografía 1.** Cepas de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp.

Ambos cultivos tuvieron las condiciones adecuadas para su reproducción, el caso de *Trichoderma* spp. denota su color verdoso, mientras que para los *Bacillus* spp. se presentó turbiedad.



**Fotografía 2.** Siembra de esquejes de caña de azúcar

Se llevo a cabo la siembra de 260 esquejes de caña de azúcar, correspondiente a los 26 tratamientos, estos fueron colocados en la Facultad de Ingeniería Agroforestal sede Villa corzo.



**Fotografía 3.** Procedimiento para el conteo de los hongos y bacterias, con ayuda de la cámara Neubauer

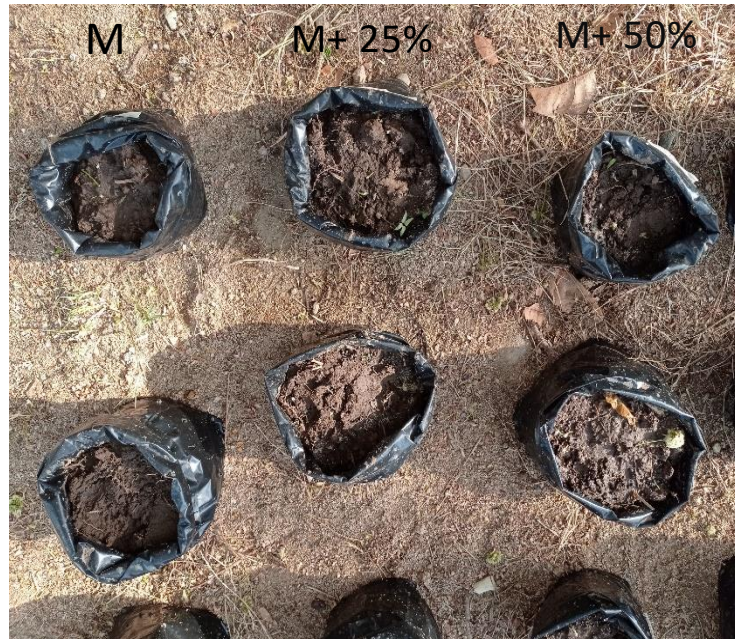
Se realizó la dilución de las cepas de hongos y bacterias en concentraciones de 1: 1000, y se realizó el conteo de estos con la cámara Neubauer.



**Fotografía 4.** Procedimiento para la preparación del inóculo, así como la dosis de fertilizante correspondiente

Se llevó a cabo las diluciones correspondientes tanto de las cepas de *Trichoderma* spp. como de *Bacillus* spp., además del pesado correspondiente a 100%, 50% y 25%, de fertilizante químico con ayuda de la balanza analítica.





**Fotografía 5.** Distribución de los tratamientos

Se aplicaron un total de 26 tratamientos distribuidos de esta forma, entre *T. reesei*, *T. longibrachiatum*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, combinaciones hongo-bacteria, además de añadir concentraciones de 50% y 25% de fertilizante químico.



**Fotografía 6.** Monitoreo de la plantación de caña a los 26 (1) y 52 (2) días después de la inoculación de microorganismos

Seguimiento del crecimiento de los brotes de caña de azúcar a los 26 y 52 días después de la inoculación.





*Fotografía 7. Adición de tierra a las plantas de caña de azúcar*

Se añadió más tierra a las plantas para poder observar si existe o no un efecto, ya que estas habían perdido un porcentaje de tierra debido al drenaje del agua.



*Fotografía 8. Plantas de caña de azúcar a los 59 días después de la siembra*





a) b) c)

**Fotografía 9.** Toma de Clorofila: a) Equipo, b) medición, c) Lectura del equipo

La toma de clorofila se realizó un día antes de la toma de parámetros finales, de forma al azar en 1 hoja de 4 repeticiones por cada tratamiento, lo anterior con ayuda de un clorofilómetro, marca Apogeo, modelo C-100.



a) b) c)

**Fotografía 10.** Medición de variable: (a) Altura de tallo, (b) Diámetro; (c) Registro de datos

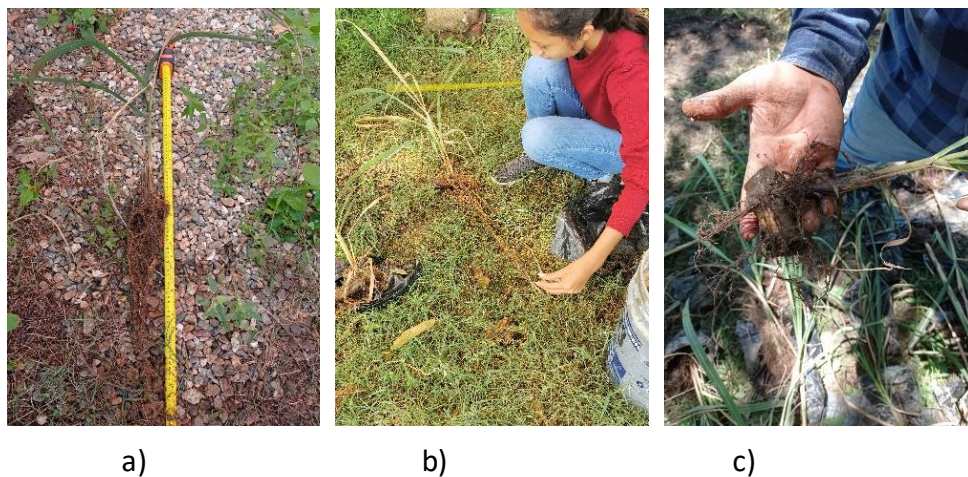
Se llevo a cabo la medición de la altura de los brotes con ayuda de un flexómetro marca cable modelo MKA5020, donde se midió a partir de la base del tallo hasta la punta de la hoja más larga en el brote. La medición del diámetro de tallo se realizó con ayuda de un Vernier, el cual fue colocado a una distancia

de 1 cm de la base del tallo y se procedió a medir. El conteo de hojas por brote se realizó de forma manual.



**Fotografía 11.** Limpieza: a) Remoción de Tierra, b) lavado

Se llevo a cabo la remoción de las plantas de sus respectivas bolsas; por lo que se extrajeron las plantas, se removi6 la tierra y se llev6 a cabo el lavado de raices para quitar el excedente de tierra.

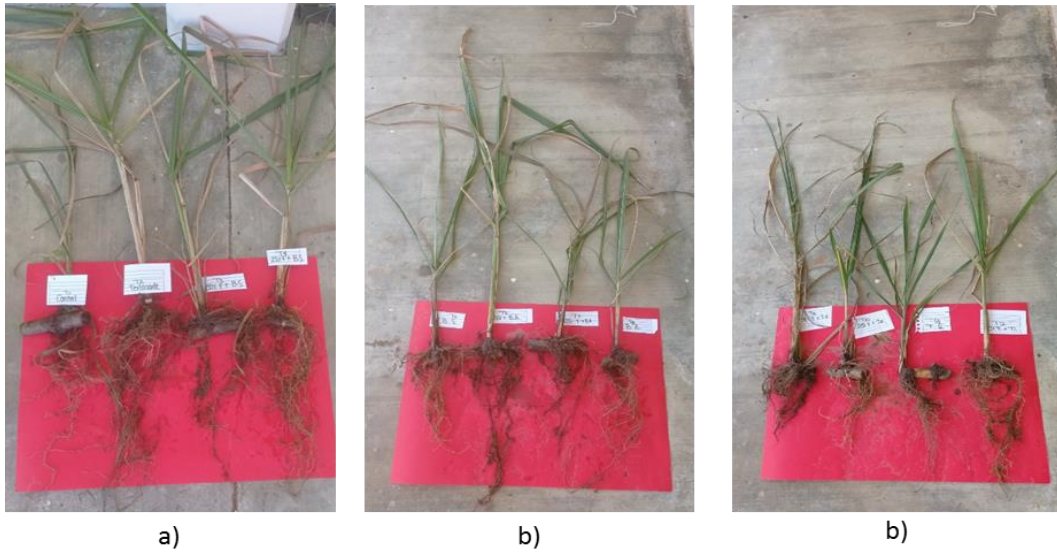


**Fotografía 12.** a) y b) medición de raíces, c) conteo de raíces

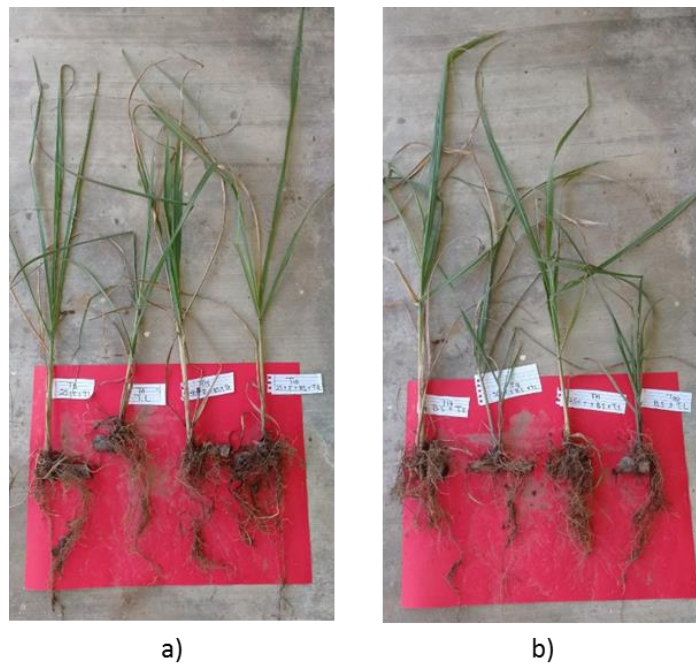
La longitud de raíces fue medida desde la base de la planta hasta la punta de la raíz más larga, con ayuda de un flexómetro. Así mismo el conteo de raíces se llev6 a cabo de forma manual.



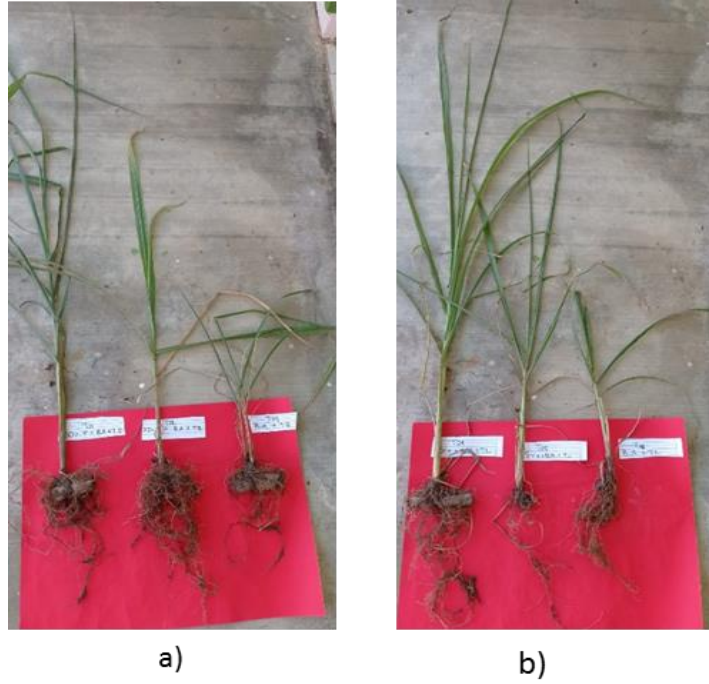
Ejemplares representativos de cada tratamiento.



**Fotografía 13.** Ejemplar representativo de los tratamientos: a) T1, T2, T3, T4; b) T5, T6, T7, T8; c) T9, T10, T11, T12.



**Fotografía 14.** Ejemplar representativo de los tratamientos: a) T13, T14, T15, T16; b) T17, T18, T19, T20.



**Fotografía 15.** Ejemplar representativo de los tratamientos: a) T21, T22, T23; b) T24, T25, T26.



**Fotografía 16.** Almacenamiento en bolsas de papel: a) Raíz, b) Hojas y tallo.

Para conocer el peso seco del brote y la raíz, los ejemplares fueron puestos en bolsas de papel debidamente rotuladas.

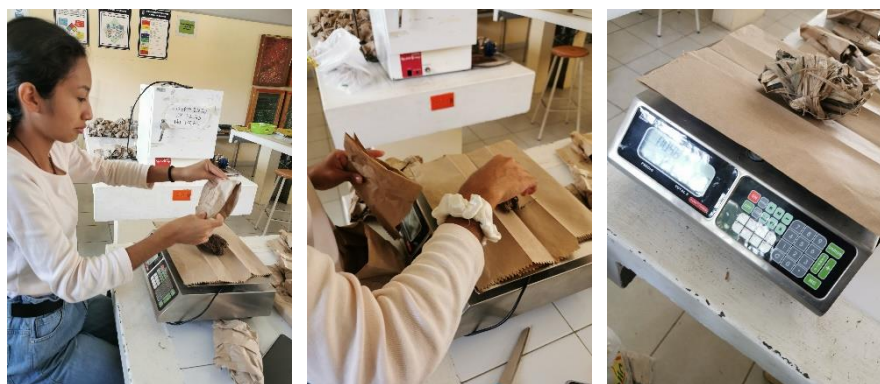


a)

b)

**Fotografía 17.** Organización de muestras, a) T1 al T9, b) T10 a T26.

Se llevo a cabo la organización de los ejemplares rotulados para ser ingresados al horno a una temperatura de 70 °C por 72 horas.



a)

b)

**Fotografía 18.** Medición: a) Peso seco de raíz, b) Peso seco tallo y hojas.

72 horas después del ingreso de ejemplares al horno, fueron retirados y pesados con ayuda de una báscula para obtener el peso en gramos de raíces y hojas correspondientes a cada tratamiento.