



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**MAESTRÍA EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
AGRÍCOLA Y FORESTAL SUSTENTABLE**

TESIS DE MAESTRÍA

**EFFECTO DE LA ACTIVIDAD ENDÓFITA DEL HONGO
ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* DEBIDO A DIFERENTES
MÉTODOS DE INOCULACIÓN**

Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

PRESENTA

Ing. Guadalupe Monserrat Veloz Badillo

Director

Dr. Paul Misael Garza López

Codirectora

Dra. María Julissa Ek Ramos

Tulancingo de Bravo, Hgo., México., 06 marzo de 2025



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**MAESTRÍA EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
AGRÍCOLA Y FORESTAL SUSTENTABLE**

TESIS DE MAESTRÍA

**EFFECTO DE LA ACTIVIDAD ENDÓFITA DEL HONGO
ENTOMOPATÓGENO *Beauveria bassiana* DEBIDO A DIFERENTES
MÉTODOS DE INOCULACIÓN**

Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

PRESENTA

Ing. Guadalupe Monserrat Veloz Badillo

Director (a)

Dr. Paul Misael Garza López

Codirector (a)

Dra. María Julissa Ek Ramos

Asesores

Dra. Josefa Espitia López

Dr. Benito Flores Chávez

Dr. Oscar Arce Cervantes

Tulancingo de Bravo, Hgo., México., 05 marzo de 2025



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias Agropecuarias

School of Forestry and Environmental Studies

Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

Master's in Sciences and Technology of Agriculture and Forestry

ICAP-MCTAFS/002/2025

MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR

P R E S E N T E

Por este conducto se le comunica que el Comité Revisor asignado a la alumna **Guadalupe Monserrat Veloz Badillo**, de la Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable, con número de cuenta **270660**, que presenta el manuscrito de tesis titulado "**Efecto de la actividad endófito del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* debido a diferentes métodos de inoculación**", ha autorizado la impresión del mismo.

Sin otro particular, reitero a Usted la seguridad de mi atenta consideración.


ATENTAMENTE

"Amor, Orden y Progreso"

Santiago Tulantepec, Hgo., a 5 de marzo de 2025.


Dr. Sergio Hernández León
Coordinador de la Maestría en
Ciencias y Tecnología Agrícola y
Forestal Sustentable




Dr. Armando Peláez Acero
Director del Instituto de Ciencias
Agropecuarias



Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600
Teléfono: 771 71 72000 ext 2430
maestría_agricola_forestal@uah.edu.mx

www.uah.edu.mx



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias Agropecuarias

School of Forestry and Environmental Studies

Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

Master's in Sciences and Technology of Agriculture and Forestry

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DEL ICAp

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencias y Tecnología Agrícola y Forestal Sustentable

Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: "EFECTO DE LA ACTIVIDAD ENDÓFITA DEL HONGO ENTOMOPATOGENO *Beauveria bassiana* DEBIDO A DIFERENTES MÉTODOS DE INOCULACIÓN.", que desarrolla el estudiante **Guadalupe Monserrat Veloz Badillo**.

Asistentes:

Dr. Paul Misael Garza López

Dra. María Julissa Ek Ramos

Dra. Josefa Espitia López

Dr. Benito Flores Chávez

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por **Guadalupe Monserrat Veloz Badillo**, comunicando a la estudiante, realizó oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que La estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"
Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 15 de octubre del 2024.

Dr. Paul Misael Garza López

Dra. María Julissa Ek Ramos

Dra. Josefa Espitia López

Dr. Benito Flores Chávez



Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600
Teléfono: 771 71 72000 ext 2430
maestria_agricola_forestal@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

AGRADECIMIENTOS

Gracias al CONACHCYT por concederme la beca número 815661 con
la que se concluyó este trabajo.

Agradezco al Dr. Paul y la Dra. Josefa por siempre estar dispuestos a
resolver mis dudas y guiarme de regreso al camino de la ciencia.

A la Dra. Julissa por recibirme en su laboratorio y encontrar tiempo
para apoyarme.

Al Dr. Benito y Dr. Oscar por su tiempo.

A May y Gus.

DEDICATORIAS

A Karla y Lalo.

Mamá y papá.

Mis abuelas preciosas.

Mis abuelos.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIAS	iii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	vi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	vii
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	vii
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
Hongos entomopatógenos.....	10
Hongos endófitos	11
Beauveria bassiana.....	12
Métodos de inoculación	14
Plantas hospederas	14
Cebada	14
Avena.....	16
ANTECEDENTES	17
JUSTIFICACIÓN	18
OBJETIVOS	18
Objetivo general.....	18
Objetivos específicos	18
HIPÓTESIS	19
METODOLOGÍA.....	19
Cultivo de <i>Beauveria bassiana</i>	19
Suspensión de conidios	20
Plántulas de cebada y avena	20
Métodos de inoculación	21
Semilla	21

Hoja	21
Determinación de parámetros fisiológicos de las plantas	21
Porcentaje de germinación de las semillas sembradas	21
Unidades SPAD y altura de la planta.....	21
Materia seca	22
Determinación del porcentaje de colonización de las plántulas y aislamiento. ...	22
Análisis estadístico.....	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
Germinación.....	23
Longitud de las hojas de las plantas	25
Contenido de unidades SPAD en las hojas	27
Porcentaje de materia seca de las plantas	29
Porcentaje de colonización en tejido de hoja y raíz	30
Análisis de Componentes Principales	34
Análisis de Componentes Principales de las variables fisiológicas de las plantas	34
Análisis de Componentes Principales del porcentaje de colonización de tejido de hoja y raíz	36
CONCLUSIÓN	37
REFERENCIAS.....	38

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Porcentaje de germinación de las semillas de cebada y avena en los días 7, 14 y 28 dds. Las letras indican los grupos obtenidos en las pruebas de Tukey (HDS).	24
Gráfico 2 Longitud en cm de las plantas bajo inoculación de hoja y semilla medidas a los 7 y 14 días después de la siembra. Las letras indican los grupos obtenidos en las pruebas de Tukey (HDS).	26
Gráfico 3 Contenido de unidades SPAD en las hojas de las plantas a los 14 y 28 dds. las letras indican los grupos obtenidos en las pruebas de Tukey (HDS).	28
Gráfico 4 Porcentaje de materia seca de las plantas a los 28 dds. las letras indican el grupo obtenido en la prueba de Tukey.	29
Gráfico 5 Porcentaje de colonización del aislado silvestre del hongo endófito <i>Beauveria bassiana</i> en tejido de raíz de las plantas inoculadas a los 3 y 7 días después de ser cultivados en las placas. Las letras indican los grupos obtenidos en las pruebas Tukey (HDS).	33
Gráfico 6 Porcentaje de colonización del aislado silvestre del hongo endófito <i>Beauveria bassiana</i> en tejidos de hoja de las plantas inoculadas a los 3 y 7 días después de ser cultivadas. Las letras indican los grupos obtenidos en las pruebas de Tukey (HDS).....	33
Gráfico 7 Análisis de Componentes Principales de las variables medidas a las plantas. Variabilidad acumulada de 66.62 %.....	35
Gráfico 8 Análisis de Componentes Principales de la colonización de tejidos de hoja y raíz. Variabilidad acumulada de 94.92 %	36

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Mapa del estado de Hidalgo. Municipio de Acatlán señalado con el marcador rojo.	20
Ilustración 2 Beauveria bassiana creciendo a partir de raíz y hoja de avena forrajera variedad Esmeralda bajo inoculación de semilla.	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica Beauveria bassiana consultada en marzo del 2024 en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/176275/	13
Tabla 2. Clasificación taxonómica de la cebada consultada en marzo del 2024 en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=4513	15
Tabla 3. Clasificación taxonómica de la avena consultada en marzo del 2024 en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=4498	17

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACP: Análisis de Componentes Principales.

Dds: Días después de la siembra.

HSD: Honestly significant difference.

MS: Materia seca.

SADER: Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.

SIAP: Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera.

Uds.: Unidades.

RESUMEN

Los hongos entomopatógenos han demostrado ser una herramienta importante en la agricultura, uno de los más destacados es el hongo endófito y entomopatógeno *Beauveria bassiana*, provisto de habilidades que lo hacen efectivo en el control biológico de insectos plaga y enfermedades fitopatógenas. Este hongo provee protección prolongada a las plantas debido a su actividad endófito, todo esto es posible mientras el método de aplicación sea efectivo, es por esto que en la presente investigación se utilizaron diferentes métodos de inoculación en plantas de importancia agrícola en el estado de Hidalgo, con un aislado silvestre del hongo *Beauveria bassiana* proveniente de un suelo agrícola del municipio de Acatlán. Se inocularon las semillas y hojas de dos variedades de cebada maltera y de avena forrajera, con una concentración de 1×10^8 conidios/mL. Los métodos de inoculación fueron la inmersión de hojas y semillas en la suspensión, los cuales no influyeron en la capacidad endófito del hongo, ya que éste se estableció y se dispersó a otros tejidos de las plantas. En contraste el porcentaje de germinación disminuyó significativamente ($P < 0.05$) en las semillas inoculadas en comparación con las semillas sin tratamiento pre-siembra, lo que sugiere que la humedad del inoculo y la presencia del hongo en las semillas podrían haber retardado o inhibido la germinación, lo que hace que los métodos de inoculación en seco sean una opción a considerar.

Palabras clave: *Beauveria bassiana*, hongo entomopatógeno, actividad endófito, métodos de inoculación, cebada maltera, avena forrajera.

ABSTRACT

Entomopathogenic fungi have proven to be important tools in agriculture, with *Beauveria bassiana* being one of the most well-known. This fungus, an endophyte and entomopathogen, is recognized for its characteristics and abilities that make it effective in controlling pests and plants diseases. It provides long-lasting protection to plants due to its endophytic activity, provided that the application method is effective. In this study, different inoculation methods were tested on agriculturally important plants in Hidalgo, using a wild strain of *B. bassiana* isolated from agricultural soil in Acatlán. Seeds and leaves of two varieties of malting barley and forage oats were inoculated with a concentration of 1×10^8 conidial/mL. The inoculation methods used included immersing the leaves and seeds in the suspension, which did not affect the fungus's endophytic ability, as it established itself and translocated to other plant tissues.

However, it was found that the germination percentage of inoculated seeds significantly decreased ($P < 0.05$) compared to untreated seeds prior to planting. This suggests that both the humidity of the inoculum and the presence of the fungus on the seed may have delayed or inhibited the germination process, indicating that dry inoculation methods could be a better option.

Keywords: *Beauveria bassiana*, entomopathogenic fungus, endophytic activity, inoculation methods, malting barley, forage oats.

INTRODUCCIÓN

Hongos entomopatógenos.

Los hongos entomopatógenos constituyen el grupo de mayor importancia en el control biológico de insectos plaga. Prácticamente, todos ellos son susceptibles de padecer enfermedades causadas por estos hongos (Pacheco-Hernández y otros, 2019). Desde el punto de vista del control de plagas, el phylum Ascomycota es el que reviste mayor importancia, ya que agrupa la mayoría de hongos patógenos de insectos. Este phylum es el más diverso dentro del reino de los hongos, con formas ecológicamente diversas como descomponedores, simbioses (endófitos y líquenes), patógenos de plantas, humano y de insectos (Vianna, 2018).

Cuando sus esporas entran en contacto con la cutícula de insectos susceptibles, germinan y crecen directamente a través de ella hacia el interior del cuerpo de su hospedero. Por lo tanto, el hongo prolifera a través del cuerpo del insecto, produce toxinas y consume los nutrientes, y eventualmente lo mata (Pacheco-Hernández y otros, 2019). Una vez que el hongo entra en contacto con el insecto, hay factores que determinan el éxito en la germinación, como el contenido de agua, iones, ácidos grasos y nutrientes en la superficie del insecto, así como su estado fisiológico (Cotes, 2018).

La investigación en los últimos años ha ampliado el entendimiento de los hongos como *Beauveria bassiana* y su interacción con el suelo, las plantas y otros microbios del medio ambiente; estas investigaciones ayudan a comprender como estos hongos juegan un papel importante en la promoción del desarrollo de las raíces, crecimiento y salud a través de una relación endófito y similar a la de las micorrizas con las plantas, induciendo resistencia sistémica y antagonista de patógenos vegetales; estas propiedades son críticas en la evolución de los hongos, lo que les permite sobrevivir en el suelo y en el medio ambiente de las plantas en ausencia de un huésped artrópodo (Dara, 2019).

Hongos endófitos

Todas las plantas viven en asociación más o menos prolongada con hongos. Algunos viven como simbiosis entre las células de las plantas y se desarrollan, ya sea en armonía como endófitos o provocando enfermedades como fitopatógenos. Previamente, se ha comprobado que algunos de estos endófitos aumentan la tolerancia de las plantas huéspedes a estrés ambiental pero también a los ataques de los herbívoros y hongos fitopatógenos (Bagnères y Hossaert-McKey, 2020). El término endófito fue acuñado por el científico alemán Henrich Anton De Bary en 1884, y se utiliza para definir hongos y bacterias que ocurren dentro de los tejidos vegetales sin causar síntomas aparentes en el huésped (Vega y otros, 2008).

La relación entre los hongos endófitos y su planta hospedera puede ir desde el mutualismo hasta la patogénesis; para que ambos organismos coexistan se establece entre ellos una relación de antagonismo balanceado, que depende de la virulencia del hongo y de las defensas de la planta, las cuales varían y son influenciadas por los factores ambientales y por la etapa de desarrollo de ambos organismos. Cuando la virulencia del hongo y las defensas de la planta están en equilibrio es cuando se establece una relación endófito y, por el contrario, cuando se presenta la senescencia en la planta hospedera o se presentan signos de estrés el balance se pone a favor del hongo y este se expresa como patógeno (Sánchez-Fernández y otros, 2013).

Al establecerse la relación endófito-planta, ambos organismos producen metabolitos secundarios potencialmente tóxicos. Para que coexistan se establece un antagonismo balanceado, el cual depende de la virulencia del endófito y las respuestas de defensa de la planta. Estas defensas son influenciadas por factores ambientales y por el desarrollo de ambos organismos (Rodríguez-Mendoza y otros, 2021). Los hongos endófitos pueden contribuir a la protección de su hospedero contra factores bióticos (patógenos y herbívoros) y abióticos (estrés salino, térmico, presencia de metales, etc.) (Sánchez-Fernández y otros, 2013).

El efecto de las interacciones entre hongos endófitos e insectos herbívoros ha sido reportado principalmente para pastos usados en la agricultura; los cuales en principio se encontraban colonizados por hongos endófitos clavicipitáceos

(Ascomycota: Hypocreales: Clavicipitaceae), que son capaces de colonizar de manera sistemática la mayoría de los pastos de la familia Poaceae, Juncaceae y Cyperaceae. Los pastos inoculados han mostrado una alta resistencia al consumo foliar por insectos debido a su contenido de alcaloides biológicamente activos, los cuales pueden alterar el ciclo de vida de algunos insectos que consumen este tipo de material (Cotes, 2018).

Uno de los primeros reportes acerca de protección de plantas otorgada por algunos microorganismos endófitos fue el de Webber (1981), que abordó el caso del hongo *Phomopsis oblonga* y su control sobre el insecto plaga *Physocnemus brevilineus* en olmo holandés, esta integración contribuyó a la disminución en la dispersión del hongo patógeno *Ceratocytis ulmi*, lo que se relacionó con la producción de alcaloides y micotoxinas emitidas por el endófito. El control biológico dual de insectos y fitopatógenos ha sido reportado para los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *Lecanicillium spp.* El hongo *B. bassiana* produce una serie de metabolitos bioactivos que limitan el crecimiento de algunos hongos fitopatógenos en condiciones *in vitro*, mientras que, en ensayos en planta reduce la enfermedad causada por patógenos del suelo *Pythium spp.*, *Rhizoctonia spp.* y *Fusarium spp.* (Cotes, 2018).

Beauveria bassiana

Los hongos del género *Beauveria* son cosmopolitas y aunque se aíslan principalmente de insectos parasitados y del suelo, también son endófitos. Las especies de este género forman colonias de crecimiento lento, con una textura que va de flocosa a aterciopelada y con el tiempo polvorienta (Cepero-de García y otros, 2012).

Los primeros datos sobre *Beauveria bassiana* fueron emitidos por Agostino Bassi en 1834 cuando demostró que este hongo era el agente causal de una enfermedad en el gusano de seda. *B. bassiana* se conoce por su amplio rango de hospederos y distribución geográfica, ha sido probada por su patogenia contra más insectos plaga que cualquier otra especie de hongo (Carballo y Falguni, 2004).

Desde su descubrimiento hace casi dos siglos, se ha encontrado que *Beauveria* posee varias características favorables que lo han posicionado como uno de los principales organismos utilizados en la investigación sobre patología de insectos y en el control biológico de estos; debido a su distribución, fácil reconocimiento y aparición frecuente en la naturaleza, *Beauveria* es uno de los más reconocidos y encontrados de todos los hongos entomopatógenos. Su rango de huéspedes es extremadamente amplio, ya que infecta a más de 700 especies de insectos, y su amplia variación en virulencia hacia diferentes insectos huésped, lo convierten en uno de los más versátiles para el control biológico de insectos plaga (Vega y Blackwell, 2005); *Beauveria bassiana* es fácil de reconocer morfológicamente, con colonias característicamente blancas que con el tiempo se tornan amarillentas y en algunas cepas ocasionalmente rojizas. La parte inferior de la colonia es incolora o va de un color amarillento a rosado, con conidios traslucidos, globosos amplios y ovalados que forman racimos, como bolas de algodón o nieve (Zimmerman, 2007). Muchos aislamientos excretan un pigmento rojo en el medio de cultivo, aunque no en todas las condiciones de cultivo (Vega & Blackwell, 2005).

Tabla 1. Clasificación taxonómica *Beauveria bassiana* consultada en marzo del 2024 en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/176275/>

Super reino	Eukaryota
Reino	Fungi
Subreino	Dikarya
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hipocreales
Familia	Cordycipitaceae
Género	<i>Beauveria</i>

Métodos de inoculación

Para asegurar el establecimiento de un hongo aplicado se deben tener en cuenta factores que influyen en el establecimiento y desarrollo del hongo. La temperatura adecuada para la germinación y crecimiento de la mayoría a de los hongos entomopatógenos esta entre los 20°C y 28°C con una óptima de 25°C; esto depende también del origen de los hongos, la radiación ultravioleta puede afectar la presencia de los conidios eliminándolos disminuyendo su viabilidad después de horas de exposición, por lo que el momento de la aplicación tanto en campo como en laboratorio debe ser elegido tomando en cuenta al menos estas dos condiciones (Cotes, 2018).

Los hongos son una clase de microorganismos extremadamente diversos con diferentes formas de infección localizada en los tejidos del huésped como corteza, hojas, flores, raíces, tallo, raíces y semillas; presentan también muchos comportamientos diferentes con respecto al tipo de relación simbiótica que desarrollen con sus anfitriones (Card, 2016)

Plantas hospederas

Cebada

La cebada maltera es de gran importancia socioeconómica en México, debido a que representa el ingreso de miles de familias que habitan en zonas productoras de los Valles Altos de la mesa central, así como su uso como materia prima para la industria maltera, forrajera y en menor proporción como alimento humano. Las principales zonas productoras en México se encuentran en el centro del país, principalmente en los estados de Guanajuato, Hidalgo, Tlaxcala, Estado de México, Puebla y Michoacán, aportando aproximadamente el 90 % de la producción total (Zamora-Díaz y otros, 2008). En el año 2023 el estado de Hidalgo ocupó el primer lugar en producción de cebada grano con 166, 335 toneladas, la producción total en el país fue de 882 mil toneladas, 10.4 % menos en comparación con el promedio de los últimos 10 años y 192 toneladas menos que en el 2022 (SIAP, 2024).

La cebada ocupa el cuarto lugar en importancia en el mundo después del trigo, arroz y maíz; debido a su gran adaptación en situaciones y climas extremos, es un cultivo

ampliamente distribuido por todo el planeta; alrededor de 89 países producen este cereal, desde regiones subtropicales como África y Brasil, hasta zonas frías como Noruega y Alaska (González-González, Zamora-Díaz y Solano-Hernández, 2017). La cebada (*Hordeum vulgare*) es una planta autógama que pertenece a la familia de las gramíneas; con hojas estrechas y de color verde claro, en el punto en el que el limbo se separa del tallo, al terminar la zona envainadora de la hoja, se desarrollan dos estipulas que se entrecruzan por delante del tallo y una corta lígula dentada adherida a este (SAGARPA, 2017).

La planta suele tener un color verde más claro que el del trigo; las flores poseen tres estambres y un pistilo de dos estigmas; el fruto es una cariósipide con las glumillas adheridas. El tamaño del grano depende de la influencia del ambiente y sus dimensiones varían de una longitud máxima de 9.5 mm a una mínima de 6 mm. La distinción entre la cebada maltera y la forrajera se centra en el contenido de proteína; para la cebada maltera el porcentaje debe ser inferior a 12 % mientras que si su uso es forrajero debe ser superior. El contenido proteico depende de varios factores entre ellos la fertilización, tipo de suelo, temperatura y la variedad (González-González, Zamora-Díaz y Solano-Hernández, 2017).

Tabla 2. Clasificación taxonómica de la cebada consultada en marzo del 2024 en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=4513>

Reino	Viridiplantae
Filo	Streptophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	<i>Poales</i>
Familia	Poaceae
Género	<i>Hordeum</i>

Avena

La avena (*Avena sativa* L), es una planta herbácea perteneciente a la familia de las gramíneas. Posee un sistema radicular potente, con raíces abundantes, sus tallos son gruesos y rectos. Sus hojas son planas y alargadas de color verde más o menos oscuro ásperas al tacto. Se le considera una planta de estación fría y muy sensible a altas temperaturas; es exigente en agua y a su vez le perjudica el exceso de humedad; Es una planta rustica poco exigente de suelo, es utilizada principalmente en la alimentación de ganado como planta forrajera, en pastoreo, como heno o ensilado; se utiliza sola o en combinación con leguminosas forrajeras (SAGARPA, 2017).

El cultivo de la avena destaca en México como una fuente importante de alimento para la industria pecuaria; cerca del 80 % de la producción nacional se destina para consumo como forraje verde henificado y grano forrajero. Como forraje la avena tiene una alta digestibilidad, alta calidad de energía metabolizable y su fibra presenta mejores cualidades que otros cereales de grano pequeño (Espitia-Rangel y otros, 2018). En el 2023, se produjeron seis millones 681 mil toneladas, 36.4 % menos respecto del año anterior debido a menores lluvias y condiciones climáticas adversas que afectaron el desarrollo y rendimiento del cultivo; el estado de Hidalgo ocupó el lugar número 10 en cuanto a producción con 306, 502 toneladas (SIAP, 2024)

Al tratarse de un forraje muy completo para la alimentación de los animales, como ensilado o paja; en el 2022 se produjo un volumen de 10 millones 502 toneladas; 4.8 % más que el año pasado (SIAP, 2023).

Tabla 3. Clasificación taxonómica de la avena consultada en marzo del 2024 en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=4498>

Reino	Viridiplantae
Filo	Streptophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Género	<i>Avena</i>

ANTECEDENTES

Diversos son los hongos entomopatógenos reportados como endófitos de plantas como es el caso de *Beauveria bassiana*, que ha sido reportado que coloniza plantas de sorgo, (Tefera y Vidal, 2009); los autores inocularon semillas, las hojas de las plantas y suelo, reportaron que la inoculación directa en hojas fue la mejor para introducir el hongo a la planta; este mismo método fue utilizado para inocular plántulas de cebada (Veloz-Badillo y otros 2019), sumergiendo las hojas directamente en la suspensión de conidios; se reportó una diferencia en el porcentaje de colonización entre las variedades de cebada empleadas en el estudio. En un estudio realizado con plantas de maíz se inocularon las semillas con un preparado de *B. bassiana* con metilcelulosa y Maizena® para mejorar la adherencia a las semillas, dicho método tuvo un efecto positivo sobre el porcentaje de floración independientemente del método de inoculación, y que el uso de metilcelulosa y Maizena® como adherentes ayudaron a la supervivencia de los hongos en la planta, por lo que se logró reaislar el hongo, en este mismo estudio, *B. bassiana* indujo la floración temprana y la resistencia de las plantas a sequia (Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, 2020).

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad es necesario disminuir el impacto ambiental derivado de la actividad agrícola sobre el medio ambiente y los recursos, aumentando la productividad a través del uso de alternativas biológicas que aseguren la rentabilidad para el agricultor (Vinchira-Villarraga y Moreno-Sarmiento, 2019). Una de estas alternativas es el uso de microorganismos benéficos como lo son los hongos entomopatógenos. Uno de estos hongos es *Beauveria bassiana* reportado como endófito de plantas de interés agrícola como el sorgo (Tefera y Vidal, 2009), cebada (Veloz-Badillo y otros, 2019), frijol (Afandhi y otros, 2019), maíz (Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, 2020), algodón y tomate (Ownley y otros, 2008).

En estos estudios se reportaron efectos positivos en el desarrollo, crecimiento, resistencia a enfermedades y plagas, resistencia a sequia e inclusive se reportó floración temprana; por lo que explorar los efectos sobre las plantas de cebada y avena es importante tratándose de dos de los granos de importancia socioeconómica en el país y el mundo. En México, la producción de cebada supera las 734 mil toneladas anuales siendo los estados de Hidalgo y Guanajuato los mayores productores (SADER, 2017). En 2022, Hidalgo ocupó el segundo lugar a nivel nacional en producción de cebada grano con una producción anual de 191 mil 923 toneladas (SIAP, 2023). En el caso de avena forrajera según cifras del SIAP en 2022 Hidalgo ocupó el décimo lugar a nivel nacional en producción con 10 millones 502 mil toneladas (SIAP, 2023).

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el efecto del aislado del hongo *Beauveria bassiana* en plantas de cebada y avena, mediante diferentes métodos de inoculación.

Objetivos específicos

- Determinar los efectos del aislado de *Beauveria bassiana* aplicado con dos métodos de inoculación sobre el porcentaje de germinación, altura y

contenido de unidades SPAD de las hojas; así como el contenido de materia seca de las plantas de cebada y avena.

- Evaluar el porcentaje de colonización del aislado de *Beauveria bassiana* aplicado con dos métodos de inoculación, mediante el cultivo en placas Petri de fragmentos de tejidos de hoja y raíz en un medio de cultivo específico.

HIPÓTESIS

El aislado del hongo *Beauveria bassiana* aplicado con los diferentes métodos de inoculación colonizará las plantas de cebada y avena, sin afectar el crecimiento y desarrollo de las plantas de cebada y avena.

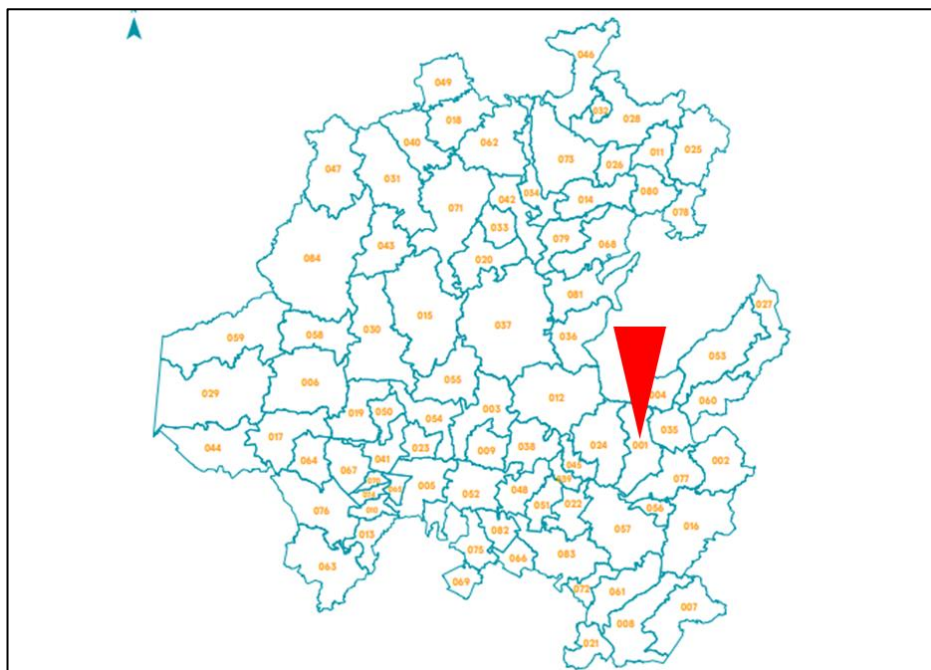
METODOLOGÍA

Cultivo de Beauveria bassiana

El aislado silvestre del hongo entomopatógeno se obtuvo de un coleóptero micosado encontrado en un suelo agrícola del municipio de Acatlán, Hidalgo, el cual es parte de la colección de hongos entomopatógenos del Instituto de Ciencias Agropecuarias.

La propagación se realizó en un medio de cultivo Maltosa Sabouraud modificado en matraces Erlenmeyer de 250 mL que contenían 50 mL del medio esterilizado en la autoclave (120°C por 15 min). Los matraces se incubaron a 28°C ± 1°C durante 8 días con un fotoperiodo específico de 12:12 h (luz-oscuridad) (Garza-López, 2012; Veloz-Badillo y otros, 2019).

Ilustración 1. Mapa del estado de Hidalgo. Municipio de Acatlán señalado con el marcador rojo.



(INEGI, 2020)

Suspensión de conidios

Para la inoculación se preparó una suspensión de conidios *B. bassiana*; se agregaron 20 mL de Tween 80 (0.05 %) al matraz utilizado en la propagación y se agitó durante 10 min. Posteriormente, se realizó el conteo de conidios en una cámara de Neubauer, y se hicieron las diluciones necesarias para obtener la concentración final de 1×10^8 conidios/mL (Garza-López, 2012).

Plántulas de cebada y avena

Se utilizaron dos variedades de cebada maltera; Josefa y Esmeralda; y de avena forrajera; Turquesa y Chihuahua. El sustrato se preparó con 80 % de Peat Moss y 20 % de perlita, el sustrato se esterilizó en la autoclave a 120°C por 30 min; se sembraron 25 semillas a una profundidad de ± 2 cm en cada maceta de 6" flexible (marca Matec ® color terracota). Las macetas se mantuvieron a temperatura

ambiente en un régimen de luz indeterminado, con un riego cada tres días con agua corriente (± 500 mL por maceta) (Veloz-Badillo y otros, 2019).

Métodos de inoculación

Semilla

Para la inoculación a las semillas se empleó como adherente la Maizena® para esto fue disuelta en agua hirviendo ($\pm 180^\circ\text{C}$) en constante movimiento y se dejó reposar hasta llegar a temperatura ambiente $\pm 25^\circ\text{C}$ para poder ser mezclada con los conidios (concentración final 2 %), las semillas se sumergieron durante 5 min en la preparación posteriormente se sembraron directamente en el sustrato (modificada de: Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, 2020).

Hoja

Transcurridas 4 semanas de la siembra se preparó una suspensión de conidios con una concentración conocida de 1×10^8 conidios/mL, este procedimiento se realizó en la campana de flujo laminar previamente esterilizada con etanol al 70 %; se sumergieron las hojas de las plántulas en la suspensión de conidios preparada en un vaso de precipitado estéril (Tefera y Vidal, 2009; Veloz-Badillo y otros, 2019).

Determinación de parámetros fisiológicos de las plantas

Porcentaje de germinación de las semillas sembradas

Para calcular el porcentaje de germinación se realizaron conteos a los 7, 14 y 28 días después de la siembra (dds) (modificado de Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, 2020); se tomaron en cuenta las semillas que emergieron formando plántulas, el cálculo se realizó teniendo en cuenta el número total de semillas sembradas.

Unidades SPAD y altura de la planta

Estos parámetros se midieron a los 14 y 28 dds, a una hoja por planta se le midieron las unidades SPAD con el SPAD-502 Plus meter ® en la parte media de la hoja. Al mismo tiempo midió la altura de cada una de las plantas con ayuda de una regla de más de 50 cm (Veloz-Badillo y otros, 2019).

Materia seca

Para determinar la materia seca se pesaron las plantas, para esto se retiraron del sustrato, se lavaron con agua corriente las raíces, y se secaron con un paño y se pesaron en una balanza analítica obteniendo el peso inicial (PI), posteriormente se introdujeron en un horno de secado a una temperatura de $\pm 80^{\circ}\text{C}$ hasta alcanzar un peso constante, obteniendo el peso seco (PS) (modificado de: Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, 2020). Con los datos obtenidos se calculó la materia seca de las plantas con la fórmula $MS=(PI-PS) /PI$ (De la Roza-Delgado y otros, 2011).

Determinación del porcentaje de colonización de las plántulas y aislamiento.

A los 28 dds y posterior determinar el peso fresco de las plantas, se tomaron 3 plantas por maceta seleccionadas al azar. Dichas plantas se esterilizaron en una solución de hipoclorito de sodio (0.5 %) durante 2 min, seguido de un enjuague en alcohol (70 %) por 2 min y terminando con un enjuague en agua estéril durante 2 min. Con ayuda de tijeras y pinzas estériles se tomaron 10 trozos de hoja y 10 trozos de raíz de ± 0.5 cm y se sembraron en placas Petri en medio de cultivo Sabouraud adicionado con un antibiótico 0.05 g/L de medio (Cloramphenicol Sigma-Aldrich®). Se contaron las unidades formadoras de colonias a los 3 y 7 días después de la siembra de los tejidos (Tefera y Vidal, 2009; Veloz-Badillo, 2019).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en esta investigación se analizaron en el programa Excel con extensión de XLSTAT 2023.5 (1363) (Microsoft®) bajo un diseño experimental de bloques completos al azar, se aplicó la prueba de ANOVA con comparaciones múltiples de Tukey (HSD) ($\alpha=0.95$).

Se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP); para conocer las correlaciones entre las variables estudiadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

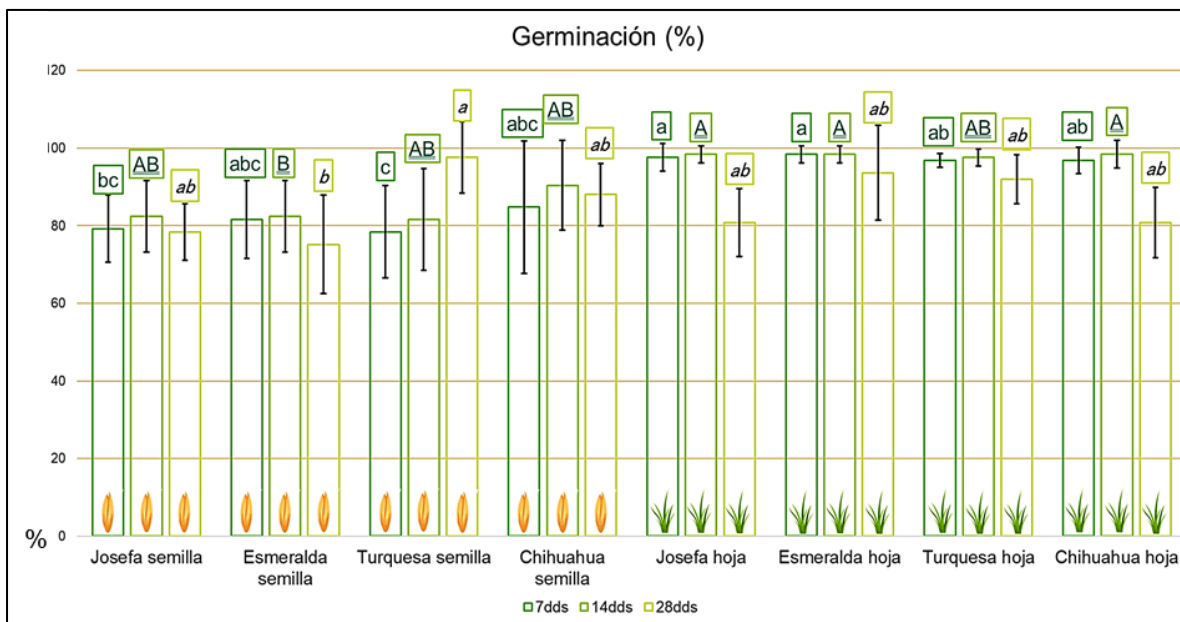
Germinación

Para evaluar el efecto de la combinación del hongo y la Maizena® como adherente en las semillas inoculadas se evaluó el porcentaje de germinación y de aquellas bajo inoculación de hojas a las que las semillas no se les realizó tratamiento previo a la siembra. Estos datos fueron tomados en 3 fechas diferentes a los 7, 14 y 28 dds, se aplicaron las pruebas de medias de Tukey (HDS) que arrojaron diferencias significativas ($P < 0.05$) que se ve reflejado en las letras obtenidas para cada día del muestreo

El porcentaje de germinación a los 7 y 14 dds de las semillas inoculadas en general se observó bajo, en la variedad turquesa de avena tuvo 78.4 y 81.6 en estos dos días respectivamente, comparado con aquellas a las que no se les aplicó nada pre siembra (inoculación de hoja donde) el promedio más alto lo tuvo la variedad turquesa en ambos días (98.4 %); (Grafico 1) por lo que en ambos días el porcentaje de germinación más alto se encuentra en las semillas sin tratamiento previo y los más bajos en las semillas inoculadas con el hongo, esto cambio en el día 28 en el que hubo cambios en los porcentajes de germinación lo que significa que disminuyó el número de plantas por lo que no se presentaron diferencias marcadas entre los métodos de inoculación, pero si entre variedades, presentándose así el porcentaje más alto en la avena variedad turquesa de inoculación de semilla con un 97.6 % y el más bajo en la cebada variedad esmeralda ambas bajo inoculación de semilla; es importante mencionar que la inoculación de hojas se realizó el día 14 por lo que es probable que ese proceso estresará algunas de las plantas lo que se reflejó en la disminución del porcentaje de germinación teniendo porcentajes que pasaron de 98.4 % en el día 14 a 80.4 % en el día 28 en avena variedad chihuahua con la inoculación de hoja siendo este el cambio más drástico. En el caso de la variedad Turquesa de avena bajo inoculación de semilla mejoro notoriamente en comparación con mediciones anteriores de 78.4 % a los 7 días a 97.6 % a los 28 mostrando capacidad de adaptación ante la presencia del hongo en el momento de la germinación. En semillas de maíz inoculadas con dos cepas de *Beauveria*

bassiana con dos adherentes Maizena® y metilcelulosa, encontraron que a los 5 dds los porcentajes de germinación fueron bajos en general a excepción de la metilcelulosa con una de las cepas ($23\pm 10\%$), en el día 14 Maizena® mejoró sus porcentajes, pero no superó a la metilcelulosa, las diferencias se encontraron también entre las cepas en combinación con los adherentes (Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, 2020); en semillas de chile poblano inoculadas con dos cepas de *B. bassiana* y una de *Metarhizium anisopliae* no obtuvieron diferencias significativas en el porcentaje de germinación de semillas de chile pero el porcentaje superior al 80% se obtuvo con la cepa BB42 de *B. bassiana*, los porcentajes de germinación de las semillas inoculadas con las tres cepas superaron hasta con un 10% a las semillas control (Ortíz-Espinoza, 2019). En este caso, es evidente que las semillas de cebada y avena inoculadas tuvieron que adaptarse a las condiciones a las que fueron sometidas, así como a la presencia del hongo por lo que se vio afectado el porcentaje de germinación de estas.

Gráfico 1 Porcentaje de germinación de las semillas de cebada y avena en los días 7, 14 y 28 dds. Las letras indican los grupos obtenidos en las pruebas de Tukey (HDS).

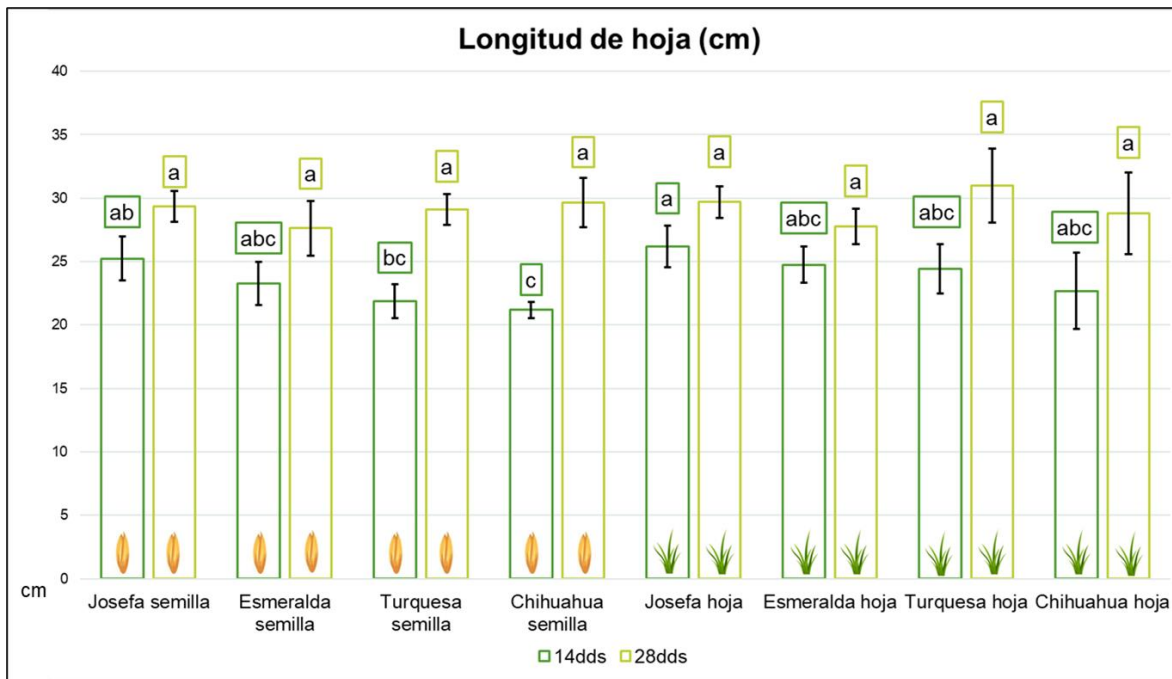


Longitud de las hojas de las plantas

La longitud se determinó en dos momentos, a los 14 y 28 dds, en el Gráfico 2 se muestran estas dos tomas juntas para observar el cambio al transcurrir los días. La primera toma a los 14 dds arrojó diferencias significativas ($P < 0.05$) en las longitudes, a simple vista se observa que los promedios más bajos de longitud de las plantas son de las dos variedades de avena bajo inoculación de semilla 21.8 cm en turquesa y 21.1 cm en chihuahua comparado con los 24.4 cm y 22.6 cm de estas variedades bajo inoculación de hoja, en el caso de las variedades de cebada los promedios fueron de 26.1 cm en Josefa y 24.7 en esmeralda. Para los 28 días las longitudes no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) por lo que es posible decir que lograron adaptarse e igualaron en cuanto tamaño después de ambos procesos de inoculación, las plantas de avena variedad turquesa llegaron a un promedio de altura de 30 cm. Tefera y Vidal (2009) inocularon plantas de sorgo con *Beauveria bassiana* usando la inoculación se semillas, de hojas y “soil drench” y no encontraron diferencias significativas en la longitud de las plantas entre los métodos de inoculación esto coincide con lo encontrado en 2020 en maíz en donde emplearon dos adherentes y varias cepas del hongo *B. bassiana* al inocular semillas de maíz no reportaron efectos significativos en la longitud de las plantas (Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, 2020); en bioensayos con hongos endófitos aislados de raíces de plantas colectadas en el humedal de la costa occidental de la península de Corea, encontraron que las plántulas de arroz Waito-C tratadas con el filtrado Lt-1-3-3 (*Giberella intermedia*) mostraron un aumento en la longitud de los brotes (9.3 cm) y la longitud de la plántula (20.1 cm) en comparación con los otros filtrados (Kalmuratova y otros, 2021). En cebada Veloz-Badillo y otros (2019) evaluaron las variedades Josefa y Esmeralda inoculando las hojas de estas con 3 concentraciones de *B. bassiana* (1×10^6 , 1×10^7 y 1×10^8); en las plántulas de la variedad Josefa inoculadas con la concentración de 1×10^7 conidios /mL mostraron el mayor crecimiento, aunque no obtuvieron diferencias significativas ($P > 0.05$); en las plántulas de la variedad Esmeralda inoculadas con la concentración 1×10^7 conidios/mL presentaron mayor longitud lo que fue significativamente diferente en

comparación con los otros tratamientos ($P < 0.05$) las plántulas no inoculadas presentaron las longitudes más cortas en esta variedad.

Gráfico 2 Longitud en cm de las plantas bajo inoculación de hoja y semilla medidas a los 7 y 14 días después de la siembra. Las letras indican los grupos obtenidos en las pruebas de Tukey (HDS).

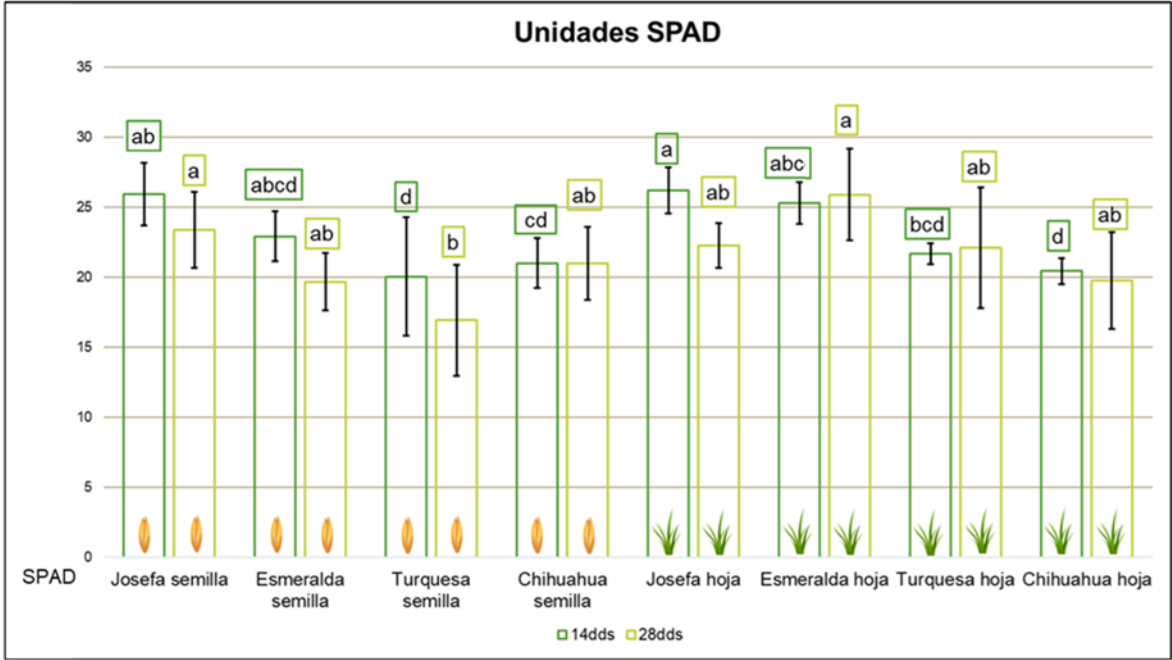


Contenido de unidades SPAD en las hojas

Para determinar si los métodos de inoculación y como resultado la presencia del hongo en las plántulas de cebada y avena tuvo algún efecto sobre el estado de la planta se determinaron las unidades SPAD en los días 14 y 28 dds. En el Gráfico 3 observamos que el contenido fluctúa entre los momentos en que fueron determinados por ejemplo en avena variedad Turquesa bajo inoculación de semilla paso de un promedio de 20.04 unidades SPAD a los 14 dds a 16.93 unidades SPAD a los 28 dds se nota una disminución al contrario con la variedad Josefa de cebada bajo inoculación de hoja que a los 14 dds arrojó un promedio de 26.19 unidades SPAD y 22.28 a los 28 dds mostrando un aumento. Se observan similitudes entre los datos de la variedad chihuahua de avena bajo ambos métodos de inoculación a los 14 dds con 20.9 unidades SPAD en las inoculadas por semilla y 20.4 a las inoculadas por hoja. No hay diferencias concretas que indiquen que esas diferencias o similitudes sean debido a los métodos o la presencia del hongo; esto podría deberse a la edad de las hojas o el momento de la toma; así como Kandel en 2020 demostró que conforme se acercaba el momento de la cosecha las unidades SPAD en hojas de maíz decaían, lo que coincide con lo que Callejas (2013) encontró en hojas de uva de mesa en las que no solo hubo diferencias entre las edades de las hojas si no también en la posición de estas con respecto al racimo y la hora en la que se realizaron las tomas. En pruebas con plántulas de dos variedades de cebada, inoculadas con diferentes concentraciones de *B.bassiana*, en la variedad Josefa no obtuvieron diferencias significativas en el contenido de unidades SPAD de las plantas oscilando entre la 20 y 35 unidades SPAD incluyendo los controles, y en el caso de la variedad Esmeralda las unidades SPAD más bajas se obtuvieron con la concentración 1×10^6 conidios/mL, y los valores más altos con la concentración 1×10^7 conidios/mL, a las 3 semanas las plantas bajo la concentración 1×10^7 conidios/mL fueron superiores al resto de tratamientos, lo que podría deberse a las diferencias inherentes de las plantas (Veloz-Badillo, 2019).

Lo que indica que son muchos los factores que afectan el verdor de las hojas.

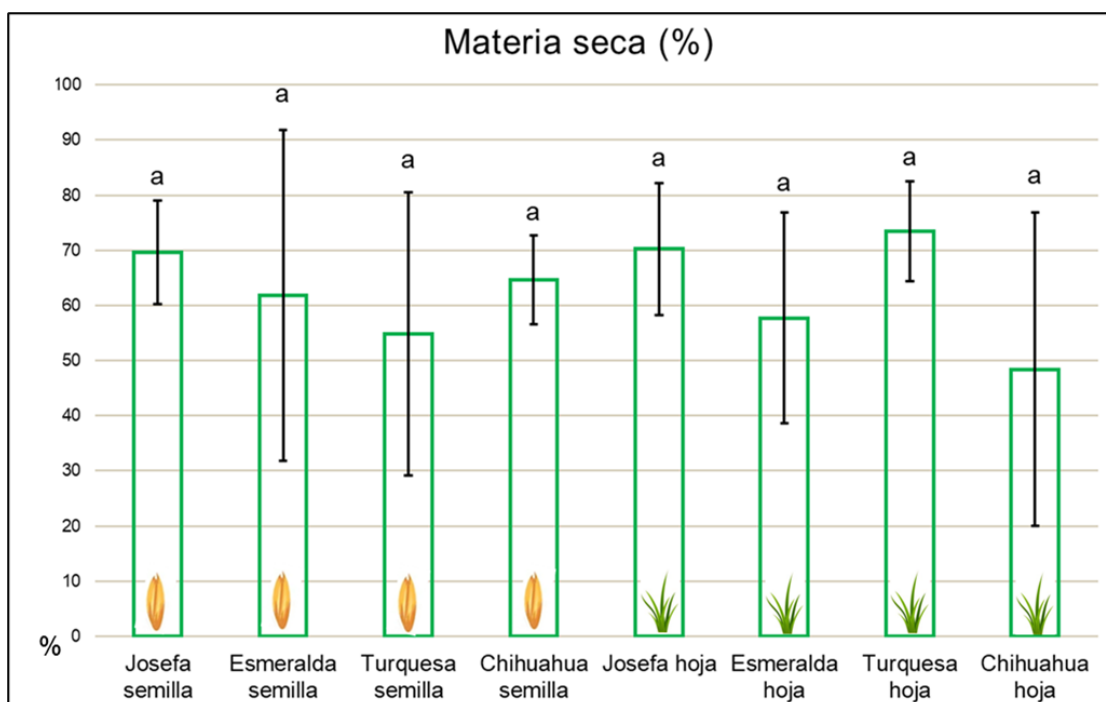
Gráfico 3 Contenido de unidades SPAD en las hojas de las plantas a los 14 y 28 dds. las letras indican los grupos obtenidos en las pruebas de Tukey (HDS).



Porcentaje de materia seca de las plantas

Los métodos de inoculación, en combinación con las variedades utilizadas no tuvieron un efecto significativo ($P > 0.05$) sobre el porcentaje de materia seca (MS) de las plantas que se ve reflejado en el Gráfico 4. Lo que coincide con lo encontrado por Tefera y Vidal (2009) donde ninguno de los métodos de inoculación que emplearon tuvo un efecto significativo sobre el contenido de materia seca en las plantas de sorgo. A diferencia de pruebas en chile poblano en donde la inoculación de semillas incrementó el peso seco del área foliar en comparación con la aspersión de hojas (Ortiz-Sánchez, 2020).

Gráfico 4 Porcentaje de materia seca de las plantas a los 28 dds. las letras indican el grupo obtenido en la prueba de Tukey.

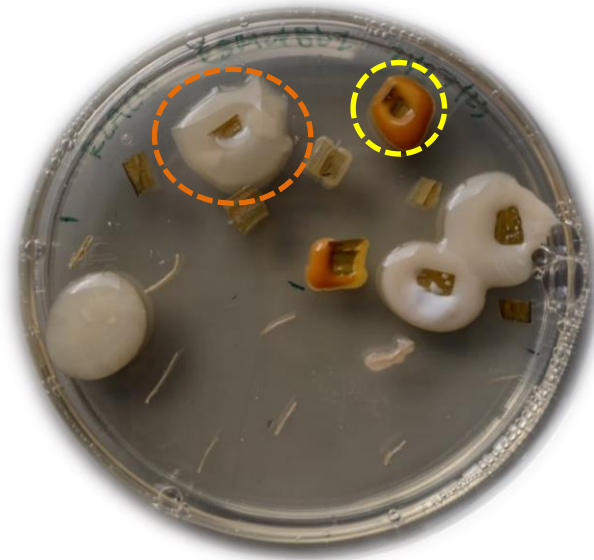


Porcentaje de colonización en tejido de hoja y raíz

Para determinar que el hongo se estableció como endófito de los tejidos de las plantas de cebada y avena, así como, el desplazamiento a otros tejidos, se determinó el porcentaje de colonización de fragmentos de raíz y hoja de las plantas inoculadas estos datos analizados y comparados en los Gráficos 5 y 6 con los datos de raíz y hoja respetivamente. Los porcentajes entre raíz y hoja son visualmente parecidos entre ambos tejidos en ambos momentos en los que se realizaron los conteos, como en la cebada variedad Josefa bajo inoculación de semilla con un 33.3 % de colonización en raíz y hoja (7 días), lo que indica que el aislado silvestre del hongo *B. bassiana* se estableció como endófito con ambos métodos y que, además, trasladó a otras partes de la planta haciendo posible que en la inoculación de hojas el hongo creciera de fragmentos de la raíz, y en la inoculación de semillas este creciera a partir de hojas. Se observan porcentajes significativamente bajos como es el caso de la colonización de raíz en la inoculación de semilla en la variedad chihuahua de avena forrajera con 20 % de colonización en raíz a los 3 y 7 días después de su cultivo en las placas de petri, lo que podría deberse a la agresividad del lavado de las raíces y a la fragilidad de estas en comparación a las hojas. El porcentaje más alto de colonización se presentó en tejido de raíz de plantas de avena turquesa bajo inoculación de hoja con un 96.6 % de colonización. En concreto, el método de inoculación no influye en la capacidad del hongo de establecerse como endófito en cebada y avena. Se obtuvieron diferencias significativas en raíz a los 3 y 7 días, y en hoja a los 7 días ($P < 0.05$), los datos del porcentaje de colonización en tejido de hoja a los 3 días no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$). En una investigación hecha en semillas de maíz en la que inocularon con *B. bassiana* empleando Maizena® como adherente obtuvieron un 100 % de colonización en tejido de raíz y 50 % en hoja lo que contrasta con los datos del gráfico 5 y 6 dónde los porcentajes de inoculación son muy similares entre raíz y hoja bajo inoculación de semilla (Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, 2020); En pruebas hechas con chile poblano (Órtiz-Sanchez, 2020) encontraron que independientemente del hongo entomopatógeno, la inoculación por semilla duplicó

la colonización de hoja, raíz y tallo en comparación con la aspersión de hojas. Rajab y otros (2020) inocularon pepino con *B. bassiana* donde el hongo se estableció con todos los métodos de inoculación usados, pero los mayores porcentajes de recuperación del hongo se obtuvieron con la inmersión de semillas y “soil drench”. En un estudio en cebada con las variedades Josefa y Turquesa en el que evaluaron 3 concentraciones del hongo *B. bassiana* al inocular las hojas de las plantas encontraron que el tratamiento con la concentración más baja 1×10^6 conidios/mL provocó una colonización más baja que las otras concentraciones en ambas variedades; en la variedad Josefa el porcentaje de colonización más alto se presentó en la concentración 1×10^8 conidios/mL (68 %) y el menor (17 %) con la concentración 1×10^8 conidios/mL; lo mismo se reportó con la variedad Esmeralda, el hongo se estableció con las 3 concentraciones en mayor o menor porcentaje, y este logro crecer a partir del tejido de hojas de las plantas semanas después de la inoculación lo que muestra la sobrevivencia en la zona de la inoculación (las hojas). En las pruebas con cebada y avena al cultivar tejidos de hoja y raíz, no solo se comprobó que el hongo sobrevive en el tejido inoculado, si no que logró moverse en los tejidos de la planta.

Ilustración 2 *Beauveria bassiana* creciendo a partir de raíz y hoja de avena forrajera variedad Esmeralda bajo inoculación de semilla.



En la Ilustración 2, se observa como el hongo creció a partir de los tejidos de la planta, rodeando estos como se observa en el círculo naranja, el hongo también generó pigmentos como en el círculo amarillo los cuales podrían ser *beauvericina*, *bassiacridina* y/o *basianólido*, que bien han sido aislados e investigados de cepas de *Beauveria bassiana*, sin embargo, no son exclusivos de este hongo (Borgues y otros, 2010).

Gráfico 5 Porcentaje de colonización del aislado silvestre del hongo endófito *Beauveria bassiana* en tejido de raíz de las plantas inoculadas a los 3 y 7 días después de ser cultivados en las placas. Las letras indican los grupos obtenidos en las

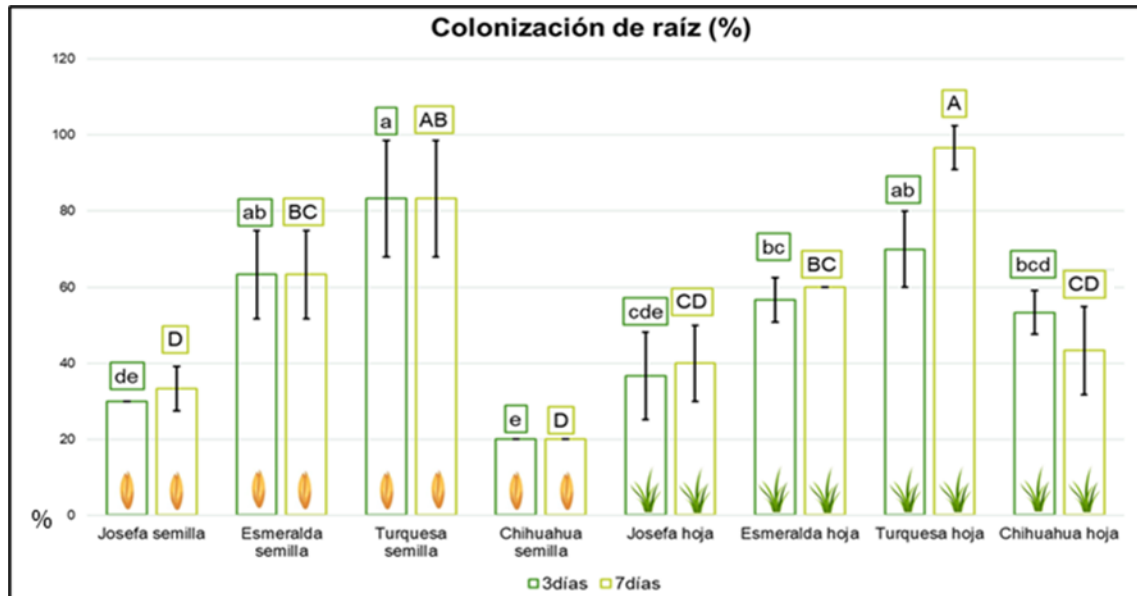
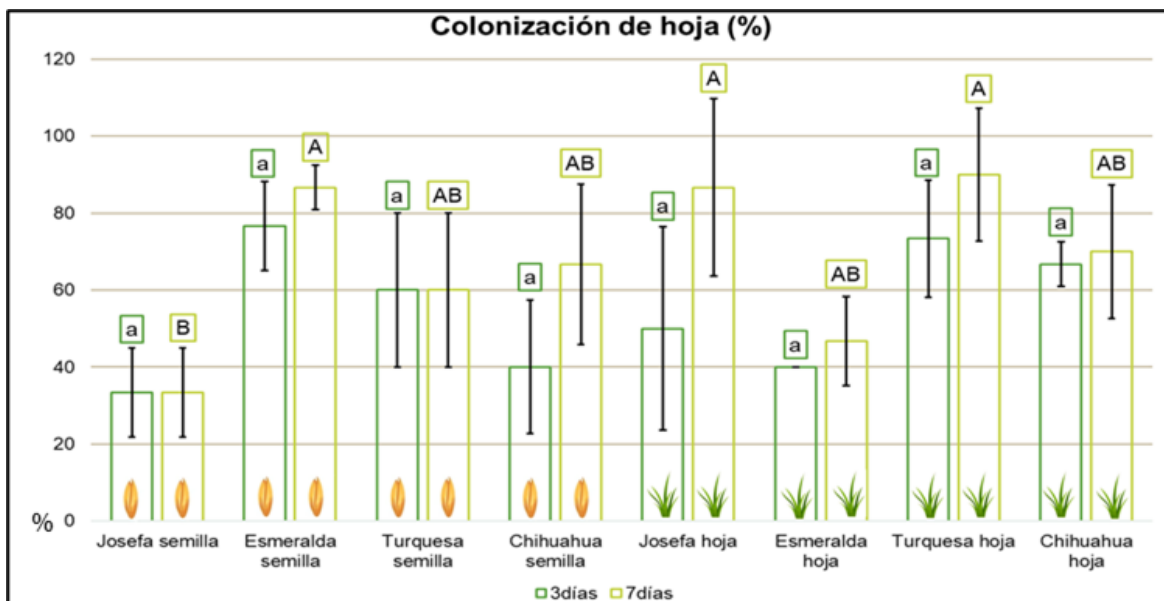


Gráfico 6 Porcentaje de colonización del aislado silvestre del hongo endófito *Beauveria bassiana* en tejidos de hoja de las plantas inoculadas a los 3 y 7 días después de ser cultivadas. Las letras indican los grupos obtenidos en las pruebas de Tukey (HDS).

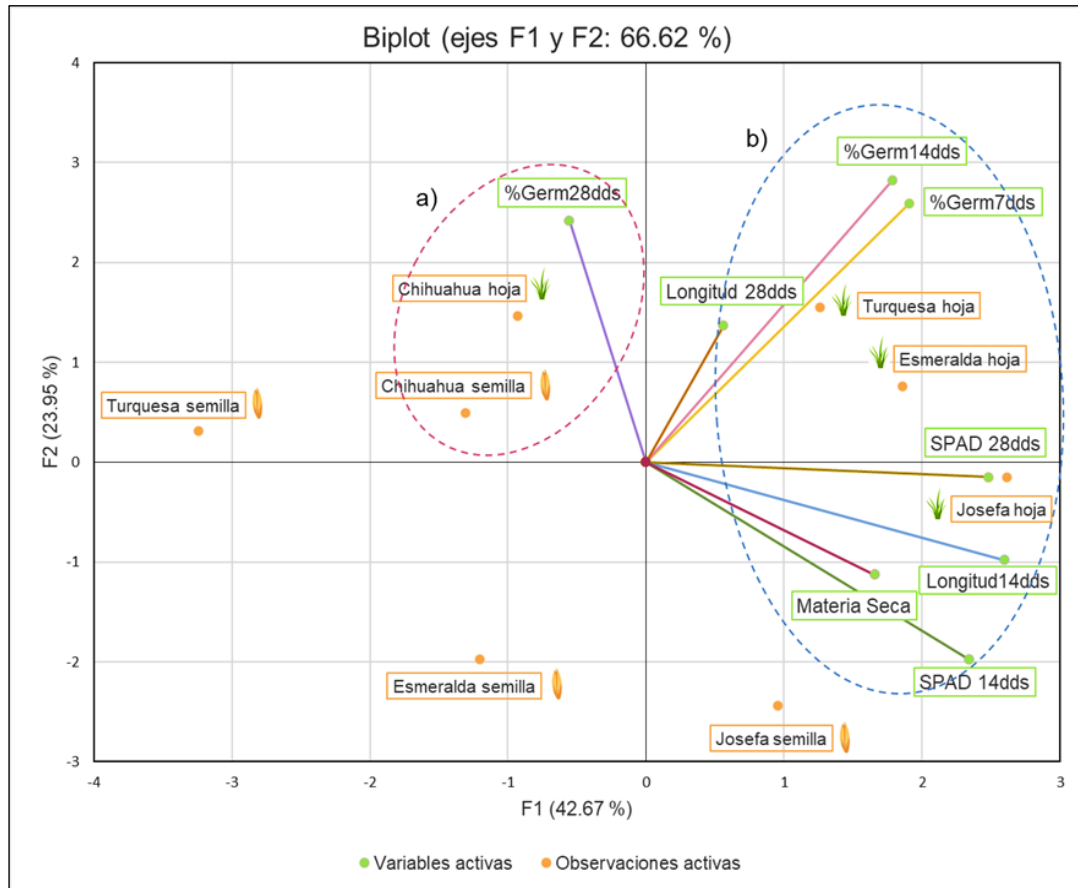


Análisis de Componentes Principales

Análisis de Componentes Principales de las variables fisiológicas de las plantas

El Análisis de Componentes Principales generó una gráfica de 2 ejes (Gráfico 7), el eje F1 muestra el 42.67 % y el eje F2 el 23.95 % de la variabilidad de los resultados obtenidos las variables fisiológicas de las plantas en las hojas y semillas de avena y cebada bajo las condiciones establecidas en el estudio. El Gráfico 7 es el resultado de un análisis exploratorio el cual sirve para visualizar y analizar rápidamente las correlaciones entre las variables, construye un conjunto de factores correlacionados (XLSTAT®). En el análisis se generaron dos clústeres, Gráfico 7 a): en este clúster observamos que el porcentaje de germinación a los 28 días se agrupo con la variedad Chihuahua de avena forrajera bajo ambos métodos de inoculación y en el clúster b) las variables porcentaje de germinación (7,14 y 28dds) SPAD (14 y 28dds), porcentaje de materia seca, Longitud (14 y 28dds) se agruparon con la inoculación de hoja en cebada variedad Josefa y las 2 variedades de avena forrajera variedad Turquesa y esmeralda. Veloz-Badillo y otros (2019) realizaron un ACP para evaluar el comportamiento de sus variables y tratamientos, que consistieron en diferentes concentraciones del hongo *B. bassiana* al inocular dos variedades de cebada, determinaron la correlacionaron entre ellas conforme aumentaba la concentración del inoculo (tratamientos). Por lo que el Análisis de Componentes Principales es una herramienta útil en la rama de la agricultura para el estudio de microorganismos en el manejo de cultivos pre y post cosecha al analizar mediciones de p variables en n individuos permitiendo así el estudio de las interrelaciones entre estos datos, como por ejemplo al explorar la correlación entre las actividades en el manejo postcosecha de frutos para encontrar los adecuados para prolongar la vida de anaquel de los cultivos (Fernández-Chuairey y otros, 2022). El ACP es una herramienta que sirve también para elegir microorganismos de entre otros para su uso como control biológico de insectos plaga en función de sus características metabólicas relacionadas con actividad virulenta como enzimas degradadoras de cutícula, proteasas y quitinasas (Castrejón-Antonio y otros, 2023)

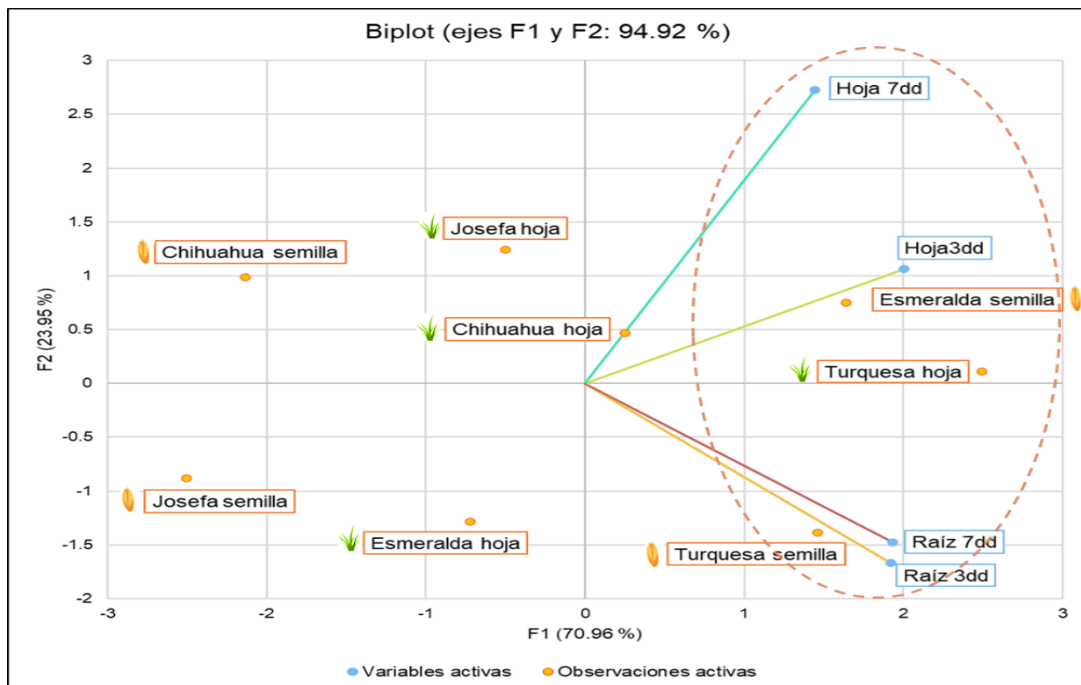
Gráfico 7 Análisis de Componentes Principales de las variables medidas a las plantas. Variabilidad acumulada de 66.62 %.



Análisis de Componentes Principales del porcentaje de colonización de tejido de hoja y raíz

El Gráfico 8 muestra la gráfica obtenida del ACP de la colonización de los tejidos en función de los métodos de inoculación, el eje F1 muestra el 70 % y el eje F2 muestra el 23.95 % de la variabilidad de los resultados obtenidos del porcentaje de colonización de tejido de hoja y raíz. Se generó un gran clúster en este los porcentajes de inoculación de tejidos de raíz y hoja (3 y 7 días) se agruparon en conjunto con la variedad turquesa bajo inoculación de hoja y semilla, y con la variedad Esmeralda bajo inoculación de semilla, esto no es indicativo de que solo en estas variables hubiera inoculación, si no que estas tuvieron un efecto mayor sobre las variables medidas.

Gráfico 8 Análisis de Componentes Principales de la colonización de tejidos de hoja y raíz. Variabilidad acumulada de 94.92 %



CONCLUSIÓN

- ◆ El aislado silvestre del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* logró establecerse como endófito y moverse en los tejidos de las plantas de avena y cebada independiente del método de inoculación.

REFERENCIAS

- Afandhi, A., Widjayanti, T., Emi, A.A.L. *et al.* Endophytic fungi *Beauveria bassiana* Balsamo accelerates growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Chem. Biol. Technol. Agric.* **6**, 11 (2019). <https://doi.org/10.1186/s40538-019-0148-1>
- Bagneres, A.,G., Hossaert-McKey M., (2020), *Ecología Química*,(75-76) ISTE Group,.
- Borges, D., Díaz, A. O., San Juan, A. N., & Gómez, E. (2010). Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógenos. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 44(3), 49-55.
- Carballo, M., Falguni, G. (2004) *Control biológico de insectos mediante hongos entomopatogenos.*, Carballo, M., Hidalgo, E. y Rodríguez, A. (Ed) Control Biológico de Plantas Agrícolas (1ªed., pp 33-34) (Serie técnica. Manual técnico/CATIE; N°53).
- Card, S., Johnson, L., Teasdale, S., & Caradus, J. (2016). Deciphering endophyte behaviour: the link between endophyte biology and efficacious biological control agents. *FEMS microbiology ecology*, 92(8), fiw114. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw114>
- Castrejón-Antonio, J. E. ., Montecinos-Matías, R. ., Tamez-Guerra, P. ., Garza-López, P. M. ., & Ek-Ramos, M. J. . (2023). Selección de cepas de *Beauveria bassiana* para el control de *Xyleborus affinis* (Curculionidae: Scolytinae). *Avances En investigación Agropecuaria*, 27(Especial), Págs 3–4. <https://doi.org/10.53897/RevAIA.23.27.09>
- Cepero-de García, M., C., Restrepo-Restrepo, S., Franco-Molano, A., E., Cárdenas-Toquia, M., E., V. Vargas Estupiñán, N., (2012) *Biología de Hongos*, (2ra ed 124pp). Universidad de los Andes, Colombia.
- Cotes, A. M., (2018) Capítulo 6: Hongos entomopatógenos en el control biológico de insectos plaga. Espinel Correal, C., Torres Torrez, L., A., Villamizar Rivero, L., F., Bustillo Pardey, A., E., Zuluaga Mogollon, M., V., Cotes Prado A., M., (Ed), *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros* (1ªed., Vol1., 338-363pp) AGROSAVIA
- Cotes, A., M., (2018) Capítulo 19: Los hongos endófitos en el control biológico de fitopatógenos e insectos plaga. Aragón, S., M., Beltrán-Acosta C., (Ed), *Control Biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros* (1ra ed., Vol2., 854-873pp) AGROSAVIA.
- Dara, S. K. (2019). *Non-Entomopathogenic Roles of Entomopathogenic Fungi in Promoting Plant Health and Growth*. *Insects*, 10(9), 277. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/insects10090277>
- De La Roza-Delgado, B., Martínez Fernández, A., & Argamentería Gutiérrez, A. (2011). DETERMINACIÓN DE MATERIA SECA EN PASTOS Y FORRAJES A PARTIR DE LA TEMPERATURA DE SECADO PARA ANÁLISIS. *Pastos*, 32(1), 91-104. Recuperado de <https://polired.upm.es/index.php/pastos/article/view/1308/1312>

- Espitia-Rangel, E., Villaseñor-Mir H. E., Tovar-Gómez R., de la O-Olán M., & Limón-Ortega A. (2018). Momento óptimo de corte para rendimiento y calidad de variedades de avena forrajera. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 3(4), 771–783. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i4.1430>
- Fernández-Chuairey, L, Rangel-Montes de Oca, L, Varela-Nualles, M, Pino-Roque, J A, del Pozo-Fernández, J, & Lim-Chamg, N U. (2022). Análisis de componentes principales, una herramienta eficaz en las Ciencias Técnicas Agropecuarias. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 31(1), . Epub 12 de noviembre de 2021. Recuperado en 28 de mayo de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2071-00542022000100010&lng=es&tlng=es.
- Garza-López, P.M. (2012). Análisis de la relación entre le estrés oxidativo y la infectividad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. D.F., México.
- González-González M., Zamora-Díaz M., & Solano-Hernández S. (2017). Evaluación agronómica y física en líneas avanzadas de cebada maltera. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 7(1), 159–171. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i1.380>
- INEGI, (2020). Panorama sociodemográfico de Hidalgo: Censo de población y vivienda 2020 (Documento PDF). <https://www.inegi.org.mx/app/buscador/default.html?q=acatlan+hidalgo>
- Khalmuratova, I., Choi, D. H., Kim, J. G., & Lee, I. S. (2021). Endophytic Fungi of Salt-Tolerant Plants: Diversity and Ability to Promote Plant Growth. *Journal of microbiology and biotechnology*, 31(11), 1526–1532. <https://doi.org/10.4014/jmb.2106.06007>
- Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, L., Tamez-Guerra, P., Gómez-Flores, R. *et al.* Endophytic *Beauveria bassiana* promotes drought tolerance and early flowering in corn. *World J Microbiol Biotechnol* 36, 47 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02823-4>
- NCBI Taxonomy (31 de marzo del 2024) Avena sativa. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=4498>
- NCBI Taxonomy (31 de marzo del 2024) Hordeum vulgare. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=4513>
- NCBI Taxonomy, (31 de marzo del 2024) Beauveria bassiana. <https://normas-apa.org/referencias/citar-pagina-web/>
- Ortiz-Espinoza, Emmanuel, Villegas-Rodríguez, Fabiola, Delgado-Sánchez, Pablo, Hernández-Arteaga, Socorro, José, Marín, Ramírez-Tobías, Hugo & and, Francisco. (2019). Inoculation with entomopathogenic fungi reduces seed contamination, improves seed germination and growth of chilli seedlings. *African Journal of Agricultural Research*. 14. 1463-1471. 10.5897/AJAR2019.14061.
- Ortiz-Espinoza, Emmanuel, Villegas-Rodríguez, Fabiola, Ramírez-Tobías, Hugo Magdaleno, Hernández-Arteaga, Luisa Eugenia del Socorro, & Marín-Sánchez, José. (2020). La inoculación con hongos endófitos entomopatógenos en semilla genera una respuesta

- fisiológica y promueve el crecimiento vegetal en plantas de chile poblano en invernadero. *Nova scientia*, 12(25), 00025. Epub 17 de febrero de 2021. <https://doi.org/10.21640/ns.v12i25.2586>
- Ownley B.H, Griffin MR, Klingeman W.E, Gwinn KD, Moulton JK, Pereira RM. *Beauveria bassiana*: endophytic colonization and plant disease control. *J InvertebrPathol.* 2008 Jul; 98(3):267-70. doi: 10.1016/j.jip.2008.01.010. Epub 2008 Mar 15. PMID: 18442830.
- Pacheco-Hernández, M. L., Reséndiz-Martínez, J.F., & Arriola-Padilla, V. J. (2019). Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(56), 4-32. Epub 30 de abril de 2020. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>
- Rajab, L., Ahmad, M. & Gazal, I. (2020). Endophytic establishment of the fungal entomopathogen, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil., in cucumber plants. *Egypt J Biol Pest Control* 30, 143. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00344-8>
- Rodríguez, R J , White, J F , Arnold, A E , & Redman, R S (2009) Fungal endophytes: diversity and functional roles *The new Phytologist*, 182(2), 314-330 doi:10 1111/ j 1469-8137 2009 02773.x.
- Rodríguez-Mendoza, C., A., Hernández L, R., Perez-Armendariz B. y Juárez N., Z. Bacterias y hongos endófitos de la familia Cactaceae y sus aplicaciones. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.328>
- SADER Hidalgo *Cebada maltera en la región de Apan, Hidalgo*. (07 de agosto de 2020) <https://www.gob.mx/agricultura/hidalgo/articulos/cebada-maltera-en-la-region-de-apan-hidalgo?idiom=es>
- SAGARPA. (2017) *Avena Forrajera Mexicana*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- SAGARPA. (2017). *Cebada grano, mexicana*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Sánchez-Fernández, R. E., Sánchez-Ortiz, B. L., Sandoval-Espinosa, Y.K. M., Ulloa-Benítez, Á., Armendáriz-Guillén, B., García-Méndez, M. C., & Macías-Rubalcava, M. L. (2013). Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 16(2), 132-146. Recuperado en 10 de septiembre de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2013000200006&lng=es&tlng=es.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SAGARPA) (13 de mayo de 2017) *La cebada: más allá de la cerveza*. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/cebada-cereal-milenario>
- SIAP, (2024) *Panorama Agroalimentario 2024*. Edición, 2024.

- Tefera, T., y Vidal, S. (2009). Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *BioControl*.
- Vega F.E., Posada F., Aime M. C., Pava-Ripoll M., Infante F., Rehner S. A. (2008) *Entomopathogenic fungalendophytes*, Biological Control.
- Vega, F., y Blackwell, M. (Eds) (2005). *Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution*. Oxford University Press.
- Veloz-Badillo, G.M, Riveros-Ramírez J, Angel-Cuapio A, Arce-Cervantes O, Flores-Chávez B, Espitia-López J, Loera O, Garza-López PM. The endophytic capacity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* caused inherent physiological response in two barley (*Hordeum vulgare*) varieties. *3 Biotech*. 2019 Jan;9(1):12. doi: 10.1007/s13205-018-1548-9. Epub 2019 Jan 2. PMID: 30622850; PMCID: PMC6314951.
- Vianna M. F. (2018) Capacidad biocida de hongos entomopatógenos para el control de plagas del tabaco (*Nicotianatabacum* L.) (Tesis Doctoral), Instituto de Botánica C. Spegazzini. La Plata, Argentina.
- Vinchira-Villarraga, D. M., & Moreno-Sarmiento, N. (2019). Control biológico: Camino a la agricultura moderna. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 2-5. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860>
- XLSTAT®. (20 de mayo del 2024) Que es un análisis de componentes principales. Centro de ayuda XLSTAT. <https://help.xlstat.com/es/6776-analisis-de-componentes-principales-en-excel>
- Zamora-Díaz, M., Solano-Hernández, S., Gómez-Mercado, R., Rojas-Martínez, I., Ireta-Moreno, J., Garza-García, R., & Ortiz-Trejo, C. (2008). Adabella: variedad de cebada maltera para valles altos de la mesa central de México. *Agricultura técnica en México*, 34(4), 491-493. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172008000400012&lng=es&tlng=es.
- Zimmerman, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 553-596.