



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"

"Generación de un inóculo MA nativo a Santiago de Anaya,
Hgo. , y su potencialidad en la inoculación de *Acacia
farnesiana* y *Bouteloua curtipendula*".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

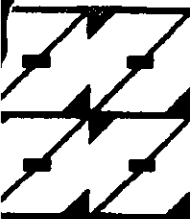
PRESENTA:

SELENE FRAGOSO IÑIGUEZ

DIRECTOR: M. EN C. ROSALVA GARCÍA SÁNCHEZ

México, D. F., 2001

297232





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis sinodales :

M. en C. Gerardo Cruz Flores
Biol. Elvia Fabiola Morales
M. en C. Ma. de Jesús Sánchez Colín
Biol. Ma. Guadalupe Cortez Moreno

especialmente a la M.en C. Rosalva García Sánchez

Por todo el apoyo, comprensión y consejos que me brindaron.

INDICE.

Resumen	1
Introducción	2
Marco Teórico.....	5
Micorrizas	5
Adquisición de fósforo.....	13
Efecto sobre patógenos	16
Los MA y el estrés Hídrico	16
Zonas áridas y su restauración	18
Especies utilizadas	20
Objetivos e Hipótesis	24
Zona de Estudio	24
Diseño experimental	26
I. Masificación del Inoculo.....	27
II. Inoculación de las plantas silvestres	28
Resultados y Discusión	34
I. Masificación del Inoculo Micorrizico	34
I.1 Número de esporas y colonización.....	34
I.2. Altura	36
II Inoculación de las plantas Silvestres	38
II.1 Número de esporas	38
II.2 Porcentaje de Inoculación micorrizica	41
II.3 Datos de crecimiento	43
a)Altura	43
b) Área foliar.....	47
c) Biomasa seca aerea.....	51
d) Relación vástago/raíz	53
II.4 Fósforo total	55
II.5 Especies micorrízicas presentes	58
Conclusiones	60
Bibliografía.....	61
Anexo I	68

Índice de Cuadros, Gráficos y Figuras

	página
Cuadro 1. Tipos de Micorrizas	6
Cuadro 2. Resultados Primera fase	34
Cuadro 3. Alturas promedio para la Parte 1, correspondiente a Jitomate y Rye grass	36
Cuadro 4. Número de esporas totales presentes en las muestras obtenidas de los tratamientos y testigos de <i>Acacia farnesiana</i> y <i>Bouteloua curtipendula</i>	39
Cuadro 5. Porcentajes de colonización total para las especies silvestres a lo largo del tiempo	42
Cuadro 6. Altura promedio para las especies silvestres a lo largo del tiempo	43
Cuadro 7. Crecimiento en área foliar de las especies silvestres a lo largo del tiempo.	48
Cuadro 8. Biomasa para las especies silvestres en los últimos 4 muestreos	51
Cuadro 9. Relación vástago / Raíz	53
Cuadro 10. Concentración de fósforo en ambas especies	55
Grafica 1. Porcentaje de colonización por vesículas arbusculares y total para Jitomate y Rye grass	34
Grafica 2. Alturas promedio para Rye grass durante la primera parte de la fase experimental	37
Grafica 3. Alturas promedio de las plantas de Jitomate durante la Primera parte de la fase experimental	38
Grafica 4. Número de esporas totales en <i>Bouteloua curtipendula</i>	39
Grafica 5. Número de esporas totales en <i>Acacia farnesiana</i>	40
Grafica 6. Porcentaje de colonización total para ambas especies	43
Gráfica 7. Altura <i>A. farnesiana</i>	45
Gráfica 8. Altura, <i>B. curtipendula</i>	46
Gráfica 9. Área foliar <i>Acacia farnesiana</i>	49
Gráfica 10. Área foliar <i>Bouteloua curtipendula</i>	50
Gráfica 11. Biomasa seca <i>Acacia farnesiana</i>	52
Gráfica 12. Biomasa seca <i>Bouteloua curtipendula</i>	52
Gráfica 13. Relación, vástago / raíz	54
Gráfica 14. Concentración de fósforo en ambas especies y sus tratamientos	56
Fig. 1. Principales formas de micorrizas asociadas a plantas superiores	5
Fig. 2. Arbusculo de MA	8
Fig. 3. Interconexiones de red miceliar	9
Fig. 4. Espora de Micorriza Arbuscular	10
Fig. 5. Vesículas de Ma entre células de raíz	11
Fig. 6. Estructuras de Micorrizas Arbusculares en raíces	12
Figura 7. Rye grass y Jitomate	20
Fig. 8. Árbol y acercamiento a una inflorescencia de <i>Acacia farnesiana</i>	22
Fig. 9. Espigas de <i>Bouteloua curtipendula</i>	23
Fig. 10.1. Santiago de Anaya, Hgo.	25
Fig. 10.2. Invernadero de la FES Zaragoza	25
Fig. 11. Clareo y tinción de raíces	30
Fig. 12. Evaluación de sitios colonizados	31
Fig. 13. Fase I, Masificación del inóculo micorrízico	35
Fig. 14. Comparación entre los distintos tratamientos de <i>Acacia farnesiana</i>	44
Fig. 15. Comparación entre los diferentes tratamientos de <i>Bouteloua curtipendula</i>	45
Fig. 16. Medición del área foliar de <i>Acacia farnesiana</i>	49
Fig. 17. Esporas del género <i>Glomus</i>	59

RESUMEN.

La perturbación de los ecosistemas es uno de los problemas ambientales más grande en nuestro planeta, la repoblación es una estrategia importante para resolverlo, sin embargo, para llegar al éxito estos programas es necesario contar con plantas silvestres propagadas en condiciones controladas y con la calidad suficiente como para asegurar su supervivencia en los sitios de plantación.

El uso de un inóculo micorrízico arbúscular favorece el establecimiento de las plantas usadas con este objetivo, para lograrlo, el primer paso consiste en la obtención del inóculo adecuado, su masificación así como una evaluación inicial. En este trabajo se pretende masificar un inóculo nativo de la región perturbada y evaluar los efectos que tenga sobre dos plantas silvestres *Acacia farnesiana* y *Bouteloua curtipendula* en condiciones de invernadero.

Del primer objetivo se deriva que el inóculo nativo se masifica más eficientemente al utilizar jitomate como planta trampa, y del segundo que es *A. farnesiana* quien resulta más beneficiada de la relación simbiótica probablemente por su condición de plántula durante el tiempo en que se llevó a cabo la experimentación.

Sin embargo aún se hace necesaria la evaluación del efecto de este inóculo sobre las mismas plantas durante las fases de transplante y establecimiento de las mismas a la zona de estudio.

INTRODUCCIÓN.

Uno de los problemas ambientales más graves derivado de las actividades de desarrollo de las grandes sociedades modernas es, sin lugar a dudas, la perturbación de los ecosistemas naturales hasta llegar a una modificación tal que provoca su destrucción. Algunas de estas actividades como la tala, el sobrepastoreo y la extracción excesiva de productos naturales, afectan directamente un componente clave de los ecosistemas, el suelo.

El suelo con sus componentes físicos y químicos representa, un hábitat natural para una gran diversidad de especies que en su conjunto forman comunidades y poblaciones de animales y vegetales, a lo largo del tiempo se ha mantenido la equivocada idea de la inagotabilidad del suelo y sus recursos, provocando en consecuencia su uso y explotación excesiva, que se manifiestan en un gradual deterioro de sus propiedades, generando fenómenos como la erosión acelerada, la desertificación, la disminución de la productividad, la extinción de muchas especies, la contaminación química, la degradación y la destrucción final de los ecosistemas (Salazar, 1997).

La degradación de los ecosistemas naturales se manifiesta en la pérdida de cubierta vegetal o en el descenso de la productividad agrícola, proceso que se asocia a cambios importantes en la calidad del suelo debido a la pérdida de la estructura, el incremento de la erosión, una carencia de nutrientes asimilables y materia orgánica, así como un descenso en la cantidad, diversidad y actividad de los grupos microbianos, puesto que las actividades de los organismos del suelo dependen en mucho de la estabilidad de la matriz estructural en la que se encuentran (Frioni *et al.*, 1999).

Esto es lamentable ya que de la diversidad natural de las comunidades microbianas, se podría obtener beneficio mediante el aislamiento e identificación de nuevas estirpes que sirvieran de inoculantes microbianos en agricultura y en programas de rehabilitación ecológica (Barea, 1998).

Uno de esos microorganismos que pueden resultar muy útiles en la regeneración de la cubierta vegetal son los Hongos Micorrizico Vesículo Arbusculares (MVA) o Micorrizas Arbusculares (MA)*. Este tipo de microorganismos está bastante bien distribuido, encontrándose asociado a la mayoría de las plantas terrestres (West,1996) en amplios intervalos de pH, existen datos que evidencian la presencia de MA en suelos con pH que van desde 2.7 a 9.2 (Siqueira *et al.*, 1984, citado por Clark, 1997).

Los hongos que forman la micorriza arbuscular son zigomicetos que se caracterizan por la producción de hifas, vesículas y arbusculos en el parénquima radical, también por una extensa red de micelio en el suelo unida al sistema radical de las plantas hospederas. Las hifas y arbusculos son las estructuras del hongo más importantes para el aporte de elementos nutrimentales desde la solución del suelo y para el transporte de los mismos a la raíz (Guzmán y Ferrera-Cerrato, 1990).

Las MA tienen sobre la planta una variedad de efectos positivos de entre los que destacan (Valdés,1989):

- * Una mayor capacidad de proveer más nutrientes tales como Fósforo, Cobre y Zinc a la planta hospedera
- * Reducción de efectos patógenos por endofitos
- * Supresión de efectos de nemátodos parásitos
- * Incremento de tolerancia a los suelos salinos y a sequía
- * Incremento en absorción de agua

La perturbación de los ecosistemas está usualmente acompañada por una disminución del número de propágulos micorrízicos ya que, debido a su baja capacidad de dispersión, son prácticamente incapaces de colonizar en los sitios perturbados. Consecuentemente las plantas no micorrízicas abundan en estos sitios, manteniendo disminuida la población de hongos MA. (Cuenca y Lovera, 1992; Munyanziza *et al.*, 1997).

* En la literatura reciente se aceptan MVA y MA como nomenclaturas correctas para estas endomicorrizas, siendo mayor la tendencia hacia la denominación MA

Es innegable la importancia que las MA pueden tener en la restauración de la cubierta vegetal, sin embargo es necesario el desarrollo de una técnica que permita obtener el inóculo apropiado para el ecosistema ya que, debido a la perturbación del mismo, será difícil que con sólo reintroducir las especies vegetales éstas encuentren sus simbiosites y se establezcan las relaciones micorrízicas necesarias para mantener el plantel vegetal.

Por ser simbiosites obligados, los hongos de la micorriza no pueden completar su ciclo de vida salvo en simbiosis con la planta, por eso, los inóculos disponibles forman una mezcla de estructuras del hongo con el substrato en crecimiento y restos de raíces. Se ha demostrado la efectividad de la inoculación con micorrizas en cultivos de plantas hortícolas frutales de las regiones templadas, cultivos tropicales y ornamentales, igualmente se han aplicado los inóculos micorrízicos en plantas de interés para repoblación y recuperación de suelos (Barea, 1998).

Ha sido demostrado que una inoculación con MA favorece el transplante de las plantas ya que se evita, por una parte, la competencia con otros microorganismos rizosféricos y por otra las plantas preinoculadas resultan ser más tolerantes al estrés del transplante (Rubio *et al.*, 1997), además los efectos benéficos de la simbiosis entre los hongos MA y las planta favorecen el establecimiento de las misma en el suelo, aliviando el estrés hídrico y nutrimental así como promoviendo su crecimiento, características claves que resultan decisivas en el establecimiento de plantas utilizadas en estrategias de repoblación (Jasper, 1994).

MARCO TEÓRICO

Micorrizas.

El nombre **micorriza**, que literalmente significa “hongo de raíz”, se refiere a la simbiosis mutualística entre determinados hongos y plantas en la que se presenta una interpenetración entre las raíces de las plantas y las hifas del hongo. La planta transfiere energía en forma de azúcares para el hongo mientras que este provee a la planta con minerales (Valdés, 1989; Ferrera-Cerrato, 1993; Barea, 1998).

La micorriza representa una estrecha asociación entre plantas y microorganismos, las raíces de la mayoría de las plantas terrestres son usualmente micorrízicas. Como regla los hongos son fuertemente o totalmente dependientes de la planta superior, mientras que la planta puede o no beneficiarse de la simbiosis (Marshner, 1995).

Las asociaciones micorrízicas pueden clasificarse en siete diferentes tipos (Fig.1)

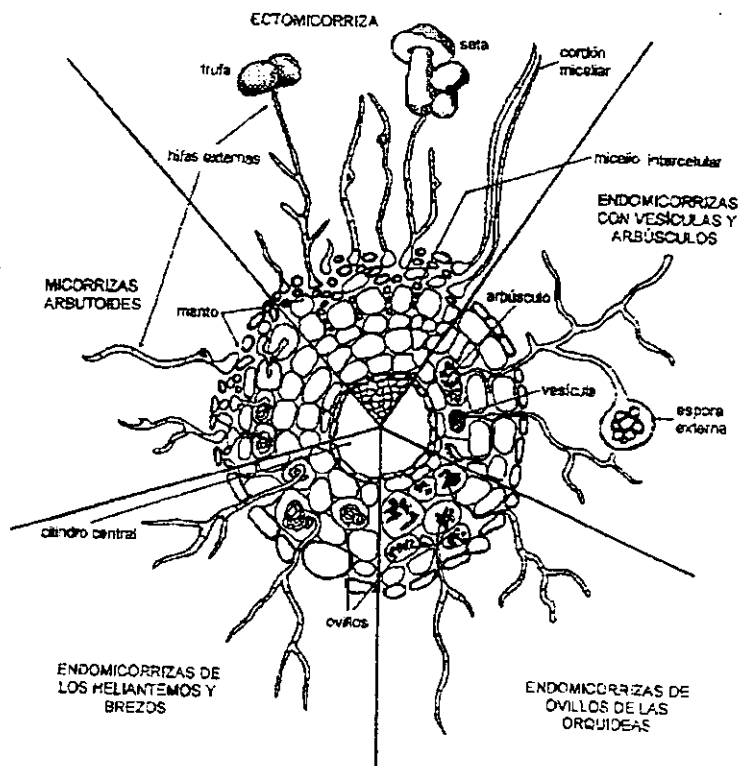


Fig.1. Principales formas de micorrizas asociadas a plantas superiores (Azcón y Barea, 1980)

Para un mejor entendimiento de la función de la micorriza se resumen en el siguiente cuadro las principales características de los diferentes tipos de asociaciones entre tipos de hongo y hospederos.

	Arbúscular	Ectomicorriza	Ectoendo	Arbutoide	Monotropoide	Ericoide	Orquitoide
Septados	-	+	+	+	+	+	+
No septados	+	+	-	-	-	-	-
Hifas intracel.	+	-	+	+	+	+	+
Manto Fungal	-	+	+ o -	+	+	-	-
Red de Hartig	-	-	+	+	+	-	-
Vesículas	+ (-)	-	-	-	-	-	-
Aclorofílicas	- (+)	-	-	- (+)	+	+	+
Taxon fungales	Ficomicetos	Basidiomicetos Ascomicetos Ficomicetos	Basidiomicetos Ascomicetos	Basidiomicetos	Basidiomicetos	Ascomicetos	Basidiomicetos
Taxon Hospedero	Briofita Pteridofita Gimnosperma Angiosperma	Gimnosperma Angiosperma	Gimnosperma Angiosperma	Ericales	Monotropaceae	Ericales	Orchidaceae

Cuadro 1. Tipos de Micorrizas (Tomado de Harley y Smith, 1983).+, indica presencia, -,ausencia.

Las más extendidas en la naturaleza son las **Micorrizas Arbúsculares** (Le Tacon, 1985; Barea, 1998), que presentan una relación simbiótica con la planta hospedera difícil de definir, sin embargo la definición más aceptada es la propuesta por Fitter (1996), como una “interacción biotrófica sostenible y no patógena entre el hongo y la planta”; colonizan cerca del 90% de las plantas terrestres, de hecho se ha propuesto que más de 25000

especies de plantas tienen potencial para formar MA (Isaac, 1992) su clasificación taxonómica más aceptada, hasta ahora, es la siguiente (basada en Morton y Benny, 1990)

Reino: Fungi

División: Eumycota

Subdivisión: Zygomycotina

Clase: Zigomicetes

Orden: Glomales	Familias	Géneros (ssp)
Suborden {	Glomineae {	Glomaceae {
		Acaulosporaceae {
	Gigasporina {	Gigasporaceae {
		Scutellospora (25)

A nivel mundial se conocen alrededor de 150 especies de estos hongos (Ref. 3*), distribuidas en tres familias y seis géneros.

La taxonomía de las MA se ha basado enormemente en la morfología de las esporas las cuales tienen típicamente entre 10 y 500 micras de diámetro y se localizan cerca de la rizosfera. Recientemente se han propuesto clasificaciones basadas en análisis a nivel molecular de las esporas (Simon *et al.*, 1993), sin embargo no es una técnica muy difundida y generalmente no pueden ser clasificadas confiablemente después del género (Helgason *et al.*, 1998; Morton y Bentivenga, 1994), además aún no existe una clasificación general para todas las especies conocidas, de hecho Morton y Redecker (2001) proponen una nueva clasificación agrupando a las especies conocidas en dos nuevas familias con dos géneros que son *Archaeospora* y *Paraglomus* basándose en métodos que incluyen la descripción morfológica y las técnicas más recientes de biología molecular, sin embargo aún no es

* Todas las páginas consultadas en internet serán citadas como Ref. y el número correspondiente

completamente aceptada por la comunidad científica por lo que para este trabajo se prefiere manejar la clasificación arriba citada (García, *com pers*).

A pesar de los esfuerzos realizados desde hace más de 25 años, existen aún demasiadas incógnitas acerca de la evolución de esta simbiosis y las relaciones filogenéticas que entre las especies de MA existen (Bentivenga y Morton, 1996). Al parecer las micorrizas arbusculares aparecieron en la historia evolutiva asociadas a las plantas, desde que estas dejaron el agua para colonizar la tierra, existe evidencia de que las endomicorrizas ancestrales eran muy parecidas a las actuales *Glomus*, se originaron hace 415 millones de años casi a la par que las primeras plantas terrestres (Simon, *op cit*) lo que explicaría la presencia de estas endomicorrizas en la mayoría de las plantas terrestres (Remy *et al.*, 1994).

Las MA penetran al interior de las células de las raíces sin producir efectos físicos evidentes (Begon, 1995), son conocidas como “Arbusculares” por la formación de estructuras intracelulares muy ramificadas llamadas arbusculos (Fig. 2), los cuales se cree son el sitio de intercambio de fósforo entre la planta y el hongo, en algunos casos se forman vesículas que contienen lípidos y son consideradas como estructuras de almacenamiento de carbono, la formación de estas estructuras puede depender tanto del simbiote como de las condiciones ambientales (Smith y Read, 1997; Pfeffer *et al.*, 1999).



Fig.2. Arbusculo de MA (Ref. 3)

Las estructuras externas de las MA son las hifas que penetran el suelo y las esporas que les permiten su propagación. Bajo el microscopio, las hifas de las MA son diferentes a las de los demás hongos del suelo, son relativamente grandes, con pequeñas ramificaciones laterales que surgen de unos ángulos de la hifa principal y cuando el hongo ha muerto

persisten en el suelo. La hifa de una MA puede representar cerca del 70% de la masa microbiana en el suelo. Debido a que para formar las micorrizas se necesitan una o pocas especies de hongos que se unen con casi todas las especies vegetales de una comunidad, el micelio micorrizico forma una extensa red interconectada en el suelo (Ref.1; Barker *et al.*, 1997).

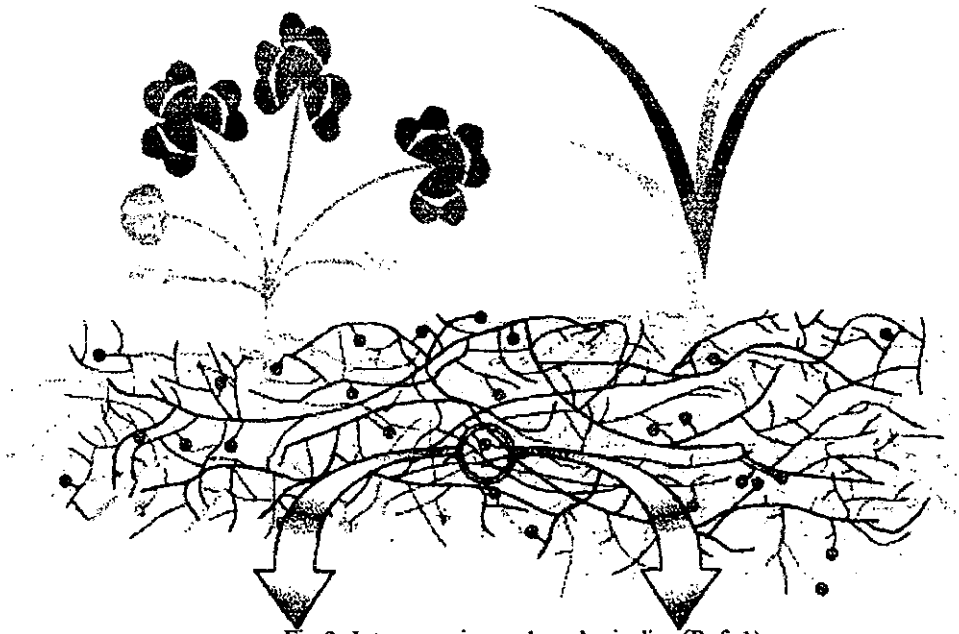


Fig.3. Interconexiones de red micelar (Ref. 1)

Experimentos realizados con ^{14}C han demostrado la existencia de esta red (Fig. 3), demostrando además, que la conexión de hifas es el mayor depósito para los asimilados de carbono, los cuales están constantemente fluyendo hacia adentro y hacia fuera del suelo (Read, 1991), y de hecho la comunicación no sólo es entre especies de plantas sino también con algunos otros microorganismos del suelo, incluyendo parásitos (Estabrook y Yoder, 1998)

En ecosistemas con suelo de bajos niveles nutrimentales, las micorrizas son una característica y un factor clave en el mantenimiento del mismo (Lovera y Cuenca, 1996), de hecho se acepta ampliamente que las micorrizas son un componente importante de la flora de la rizósfera y que juegan un papel clave en la función de la raíz y el establecimiento de las poblaciones microbianas alrededor de ellas, lo que se ha llamado **Micorrizósfera** (Linderman, 1988), de ahí que la perturbación de los ecosistemas

usualmente produce la pérdida o disminución de la actividad microbiana en el suelo, particularmente de los hongos micorrizicos, un factor ecológico clave ya que la simbiosis micorrizica juega un papel muy importante en el mantenimiento de la cobertura vegetal en los hábitats naturales, el establecimiento de la red miceliar de MA parece ser crítica para la sustentabilidad del ecosistema (Degens *et al.*, 1996; Requena *et al.*, 1996).

Las esporas (Fig. 4) para los hongos son el equivalente de las semillas para las plantas ya que permiten colonizar otras plantas y son resistentes en el ecosistema, éstas esporas son conocidas como **clamidosporas**. Algunas MA, tienen **esporocarpos** que consisten en agregaciones de esporas, las esporas MA son generalmente más grandes que las de ectomicorrizas, son lo suficientemente grandes como para verse con poco aumento y por la misma razón son difíciles de ser dispersadas por el viento, a menudo son movilizadas con el suelo, sedimentos o agua, o llevadas por lombrices de tierra y otros vectores, se considera que son generalmente menos móviles que las esporas de ectomicorrizas y les toma más tiempo reinvadir las zonas perturbadas (Ref. 1).

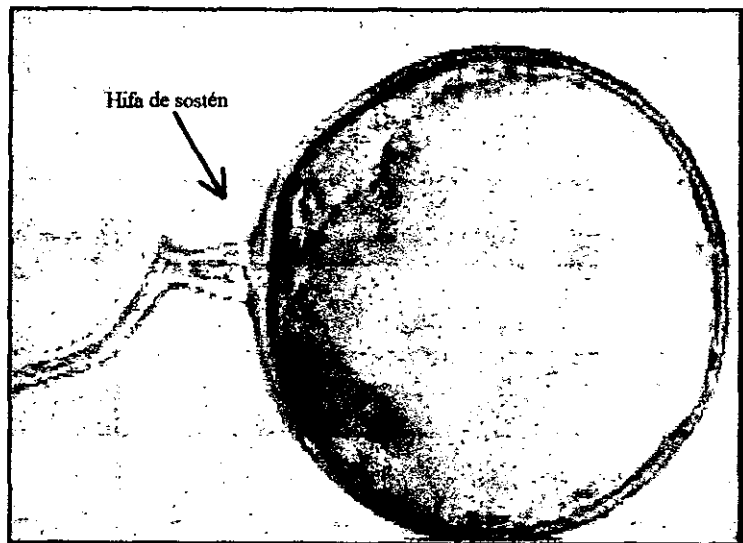


Fig. 4. Espora de Micorriza Arbúscular (Ref. 3)

La germinación de las esporas puede empezar como un “recrecimiento” de la hifa de sostén (estructura presente en las esporas de MA que la mantuvo unida a la hifa durante la formación de la espora), como sucede en *Glomus* y *Sclerocystis*, o con un engrosamiento de la pared de la espora, *Giaspora* y *Acaulospora*. Si la hifa en crecimiento de una espora germinando no encuentra una raíz susceptible de colonizar, puede restringir su crecimiento de manera que la espora continúa viva, el tamaño de las esporas de MA varía entre 10 y 500 micras siendo el tamaño más común entre 40 y 200 micras (Paul y Clark, 1989).

El hongo MA es capaz de colonizar las células epidérmicas y corticales de la raíz. En general la hifa de sujeción de esporas que se encuentran en raíces de plantas adyacentes o dispersas en el suelo, contactan la superficie radical de otra planta o de la misma en otro lugar y se diferencian formando un **apresorio**, este es el primer reconocimiento entre la planta y el hongo.

La penetración a la raíz ocurre por medio del apresorio y el hongo frecuentemente entra forzando su camino entre dos células epidérmicas. Una vez dentro el hongo puede formar enrollamientos intracelulares en las capas de células subepidérmicas, seguidas de crecimiento intercelular hacia la corteza interna, una vez alcanzado las hifas penetran las paredes de las células corticales y forman los arbusculos, la membrana plasmática de la planta no es dañada y se invagina alrededor del arbusculo, lo que resulta en la formación de un nuevo compartimiento apoplástico llamado “compartimiento de interfase arbuscular” (Harrison, 1997).

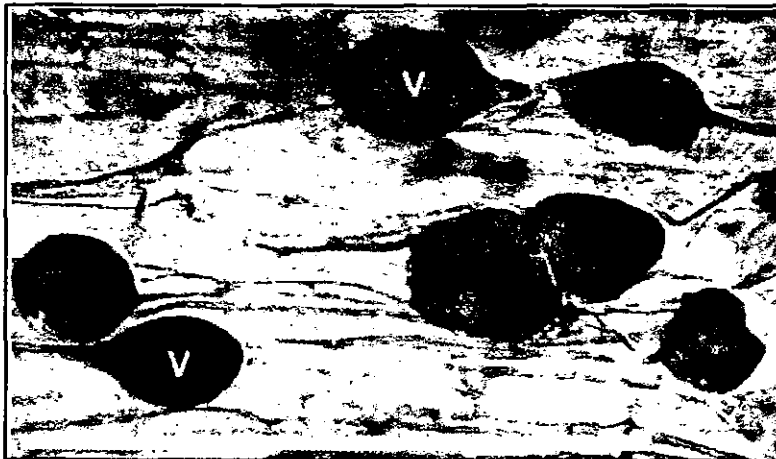


Fig. 5. Vesículas de MA entre células de raíz (Ref. 3)

Se asume que esta interfase es el sitio de intercambio de carbono y fosfato entre los simbioses, el arbusculo es referido como la estructura clave en esta simbiosis. A pesar de su carácter común, la abundancia de arbusculos puede variar y en algunas plantas se forman enrollamientos intracelulares en las células corticales y son más predominantes, en estos casos se sugiere que la interfase entre el enrollamiento y la célula puede ser significativo para el movimiento de nutrimentos. Después de la formación de arbusculos, algunas especies de hongos también forman vesículas en la raíz, estas contienen lípidos y se presume son los sitios de almacenamiento del hongo (Bonfante y Perotto, 1995).

Las **hifas extraradicales** (Fig. 6) de los hongos MA se extienden aproximadamente 8 cm más allá de las raíces, funcionando como extensiones del sistema radical para la adquisición de nutrimentos desde el suelo (Sanders y Scheikh, 1983). El ecosistema que se desarrolla por debajo de la superficie del suelo es afectado por los hongos MA ya que son importantes en el mantenimiento y estabilidad de la estructura del suelo, la cual determina características como tasa de flujo de agua, porosidad y resistencia a la erosión. Las hifas extraradicales enrollan y envuelven las partículas del suelo estabilizando los agregados, también secretan una glicoproteína conocida como **glomalina** que tiene un papel significativo en la producción y mantenimiento de agregados estabilizados con agua en el suelo (Wright y Upadhyaya, 1996).



Fig.6. Estructuras de micorrizas arbusculares en raíces de plantas (Ref.2)

Adquisición de fósforo.

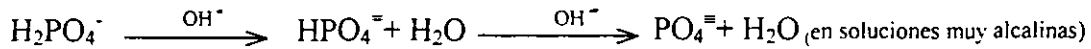
Con la posible excepción del nitrógeno, ningún otro elemento es tan decisivo para el crecimiento de las plantas en campo como el fósforo. Una carencia de este elemento es doblemente seria, puesto que evita que las plantas aprovechen otros nutrientes, por ejemplo, actualmente se reconoce universalmente la importancia del fósforo para retener al nitrógeno (Buckman y Brady, 1991).

Además el fósforo es un componente clave de moléculas como ácidos nucleicos, fosfolípidos, ATP, además de controlar la actividad de enzimas de diversas vías metabólicas (Theodorou y Plaxton, 1993).

La cantidad de fósforo en el suelo puede llegar a ser muy alta, sin embargo normalmente está presente en formas químicas que no son disponibles para las plantas, el fósforo orgánico representa entre el 20 y 80% y debe de ser mineralizado a la forma inorgánica para poder ser asimilado por las plantas ya que estas sólo lo pueden adquirir como iones ortofosfato (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}) primarios y secundarios (Jungk *et al.*, 1993; Tisdale y Nelson, 1991), sin embargo estas formas asimilables del fósforo difícilmente se encuentran en cantidad suficiente como para satisfacer las necesidades alimenticias de la planta y los fertilizantes sólo resultan una buena opción al inicio de su uso ya que en el suelo más del 80% del fósforo adicionado se inmoviliza por adsorción, (Schachtman *et al.*, 1998).

El aprovechamiento del fósforo inorgánico viene determinado por los siguientes factores: el pH, la abundancia de iones de hierro y aluminio, por el calcio asimilable, la cantidad de materia orgánica descompuesta y por las actividades de los microorganismos.

Estos factores están relacionados entre sí, ya que sus efectos dependen primordialmente de la acidez de suelo, esto determinará la forma en la que se encuentre el fósforo, así en soluciones ácidas, se encuentra solamente H_2PO_4^- (Buckman y Brady, 1991). Si el pH aumenta, predomina primero el ion $\text{HPO}_4^{=}$ y finalmente, el $\text{PO}_4^{=}$. Esto se muestra en las siguientes reacciones:



Por otro lado la adquisición de fósforo puede ser incrementada de acuerdo con la geometría y morfología de la raíz y ha sido demostrado que los sistemas radicales que tienen coeficientes volumen raíz/ volumen área superficial mayores son más efectivos en la exploración de un volumen mayor de suelo (Lynch, 1997), es aquí en donde parece ser que las micorrizas adquieren mayor importancia para el hospedero ya que éstas se desarrollan bajo condiciones de baja fertilidad especialmente de fósforo aumentando la adquisición de nutrimentos por el hospedero (Chiariello, 1982).

Las micorrizas absorben el fósforo del mismo lugar que las plantas no infectadas, de la solución del suelo, las raíces micorrizadas pueden tomar varias veces más fósforo por unidad de largo de raíz que las raíces no micorrizadas. Esto es principalmente porque se aumenta la superficie de contacto como resultado del crecimiento de la hifa, la cual puede recorrer varios centímetros desde la raíz: esta extensión permite la adquisición de fósforo fuera de la zona de depleción en el rizocilindro (Jasper y Dacy, 1993), Rhodes y Gerdemann (1975) demostraron que se puede transportar el fósforo a más de cuatro centímetros de la superficie radical a través de las hifas de hongos MA, quienes tienen la capacidad de satisfacer una gran proporción de la demanda de la planta hospedera no sólo de fósforo sino también de zinc y cobre (Marshner, 1992).

Los estudios genéticos a nivel molecular de las micorrizas arbusculares y su interacción con el hospedero, se han visto limitadas debido a la naturaleza simbiótica obligada del hongo, así que los mecanismos moleculares por los que se da la adquisición y la traslocación del fosfato entre la micorriza y la planta son desconocidos.

Azcón y Barea (1980), reportan que la traslocación del fosfato se da por la existencia de ciclocis o corrientes protoplasmáticas bidireccionales en el interior de la hifa, la presencia de gránulos de polifosfato en las vacuolas de hifas y arbusculos, particularmente cuando la infección está en sus estadios jóvenes y vigorosos, hace pensar que el ión polifosfato se trasloca de esa forma, mientras que la transferencia de fosfatos a la planta se lleva a cabo en los arbusculos los cuales degeneran y son digeridos liberándose así el fósforo contenido en ellos. Este hecho es confirmado por el tiempo de vida media que tienen dichos arbusculos el cual es de 7 a 11 días.

Los estudios de Harrison y van Buuren (1995) demuestran la existencia de un transportador de fosfato membranal en *Glomus versiforme* (GvPT), lo que lleva a pensar que el proceso de transferencia del fosfato del hongo hacia la planta ocurre en la interfase arbuscular y requiere dos pasos de transporte transmembranal: el primero para permitir el flujo del fosfato desde el hongo, y el segundo para mediar la adquisición de fosfato por la planta. (Muchnal *et al.*, 1996; Mitsukawa *et al.*, 1997).

La membrana fúngica parece tener una mayor afinidad por el fósforo que las raíces del hospedero. Esto puede contribuir a la gran eficiencia de las raíces micorrizadas, sin embargo los principales factores que contribuyen a esta eficiencia son los bajos valores de carbono y la gran área de superficie por unidad de raíz. La infección micorrízica puede incrementar la adquisición de otros nutrimentos además del fósforo, en especies anuales, la infección radical con hongos micorrízico arbusculares puede incrementar la tasa de absorción de otros cationes de micronutrimentos, como cobre y zinc. Ha sido demostrado que las hifas MA pueden fácilmente transportar zinc como sulfato hasta las raíces, las MA pueden también mejorar la asimilación de otros metales pesados como Ni, por lo que se les ha empleado en la recuperación de suelos contaminados (Marshner, 1995).

Efecto de la MA sobre organismos patógenos.

Los nematodos tienen sobre las plantas efectos negativos como son la pérdida temprana de las hojas, como si se encontraran en estrés hídrico esto es marchitas y con una disminución del crecimiento radical lo cual conduce a una reducción en la adquisición de la mayoría de los minerales (Ryan *et al* 2000).

Se ha demostrado que las MA pueden disminuir la infestación o el daño por nematodos debido principalmente a los efectos de estimulación sobre el crecimiento radical (Hussey y Randocari, 1982), Pinochet (1996), demostró que el incremento a la tolerancia de lesiones de nematodos a las plantas parece estar en la mejora de la nutrición de las plantas y no como un efecto directo de las MA. aunque en papa (Ryan, *op.cit*) se encontró que hay un aumento en la producción de sustancias químicas que pueden romper los quistes de nematodos.

Los MA y el estrés hídrico.

La deficiencia de agua es uno de los factores de estrés para las plantas más importantes a nivel mundial (Boyer, 1982) y ha sido demostrado que las plantas resisten este estrés de manera más eficiente, al ser micorrizadas (Camprubi *et al.*, 1990). En un principio se pensaba que la resistencia al estrés hídrico era meramente una conclusión del mejoramiento en la asimilación de fósforo, sin embargo esta visión ha cambiado en los últimos años debido a la evidencia de que las plantas micorrizadas transpiran más que sus similares no infectadas (Read, 1991), este descubrimiento es motivo de discrepancia entre la comunidad científica, ya que no se sabe si esto es debido a una conductancia incrementada de los estomas o a un decremento en la resistencia al transporte de agua desde el suelo provocada por la presencia de las hifas, se han realizado varios experimentos dirigidos a esclarecer esta situación sin embargo no se ha llegado aún al consenso, por otro lado en ambientes secos en donde el transporte de fósforo está limitado por el bajo potencial hídrico, la micorriza parece tener un efecto directo sobre la conductividad hidráulica proporcionando a sus hospederos tolerancia a condiciones de sequía (Varela y

Estrada, en prensa), de hecho las Micorrizas tienen mecanismos adaptativos que les permiten sobrevivir en ecosistemas áridos como son un rápido crecimiento cuando hay condiciones óptimas, producción de esporas resistentes en respuesta a la carencia de humedad y la falta de especificidad por alguna especie de planta en particular (Jacobson, 1997).

La colonización micorrízica puede tener efectos sobre la tolerancia a la sequía que no estén directamente relacionados con el agua, por ejemplo los nutrientes se encuentran menos accesibles para las plantas en este tipo de ambientes principalmente a la reducción en el tamaño de la raíz y es aquí donde las plantas micorrizadas tendrían mayor importancia debido a la presencia de hifas (Smith y Read, 1997).

Esta asociación simbiótica aparentemente ha permanecido ubicuamente en el reino vegetal debido a que ha evolucionado con otros efectos benéficos para las plantas como son defensa contra patógenos y resistencia a la sequía, además de ayudarlas a colonizar la tierra y facilitar la adquisición de nutrientes tan importantes como el fósforo, es por esto que la simbiosis MA es multifuncional (Daniell *et al.*, 1999).

Como puede deducirse de lo expuesto anteriormente, es innegable la importancia de las micorrizas hacia las plantas hospedadoras, y debido a su ubicuidad es posible pensar en ellas como alternativas para la recuperación de ecosistemas perturbados.

Es por ello y tomando en cuenta que el Valle de Actopan es una zona semiárida, que se ha pensado en la inoculación masiva de las especies silvestres de importancia en el ecosistema con especies de hongos MA que se encuentren en la zona y que sean capaces de proporcionar a la planta beneficios que le permitan adecuarse a las condiciones ambientales prevalecientes en los sitios perturbados de manera que de forma gradual se reestablezca la vegetación nativa del ecosistema. Así mismo se podrá introducir especies especies de utilidad desde el punto de vista antropocéntrico, aspecto que no debe olvidarse ya que los humanos somos parte fundamental del ecosistema y en gran medida de nosotros depende el bienestar del mismo.

Zonas áridas y su restauración

La mayor parte de las zonas áridas de la superficie de la tierra son resultado del clima. En principio, son consecuencia de la dinámica de circulación atmosférica, y se caracterizan por las lluvias escasas y la elevada insolación, sin embargo existen lugares en los que fenómenos como la erosión generan condiciones localmente xéricas o una extensión de los desiertos (Ref. 7).

En nuestro país las zonas áridas y semiáridas son el componente mayoritario representan cerca del 60% del territorio nacional (Rzedowski, 1994), como es de suponerse la problemática en estos lugares es crítica ya que en primer lugar las condiciones se hacen cada vez más extremas debido al deterioro de los ecosistemas y además por las condiciones intrínsecas de esas áreas donde la disponibilidad de nutrimentos se encuentra limitada principalmente por la escasez de agua en la que estos debieran estar disueltos para ser disponibles para las plantas.

Muchas de estas zonas con alto nivel de degradación son incapaces de recuperar de forma espontánea la cubierta vegetal, sufriendo una degradación progresiva que hace necesaria la intervención humana, con el fin de mitigar los procesos erosivos y evitar grandes perjuicios ambientales, paisajísticos, económicos y sociales.

Por tanto se hace necesaria la restauración de estos espacios degradados mediante la implantación de una cubierta vegetal, por ser la que mejor realiza misiones de protección y control , así como presentar una serie de beneficios y ventajas entre las que se incluyen: mejora del ciclo hidrológico, recuperación de la productividad del suelo, así como la defensa y restauración ecológica y paisajística de los territorios degradados (Dixon, 1990).

La restauración de un espacio degradado debe ser entendida como un proceso que se desarrolla lo largo del tiempo, en el que conviene favorecer, en un principio las acción de las especies que mejor se adapten a las condiciones climáticas, edáficas y orográficas adversas que presentan estas zonas y que además favorezcan la introducción y posterior desarrollo de especies más exigentes. con este fin es necesario tener un claro entendimiento

del ambiente, las plantas, animales y población humana, así como las interacciones entre estos factores.

Los elementos esenciales de una restauración con el mínimo costo y esfuerzo son la introducción de las plantas apropiadas y los simbioses asociados a los micrositos que provean las condiciones de suelo y humedad para un rápido establecimiento de las plantas (Bainbridge, 1990).

En este sentido la utilización de un inóculo nativo a la zona a restaurar, que por ende debe estar adecuado a las condiciones ambientales resulta ser una excelente opción ya que como ha sido expuesto, las ventajas que la micorrización provee a las plantas favorecerá la revegetación de la zona, ya que el agua es una de las principales características limitantes de la colonización en las zonas áridas. (Sharma, 1998).

Las prácticas de rehabilitación de suelos áridos perturbados con MA ya han sido propuestas (Allen, 1991). Sin embargo aún existen factores limitantes en la restauración ecológica de una zona árida como son la escasez de precipitaciones pluviales y lo azaroso de su presencia, además hay factores de perturbación que son muy difíciles de revertir o detener mientras no se generen alternativas de uso (Allen, 1989).

Por otro lado la introducción de un inóculo micorrízico en las zonas perturbadas sería un gran avance en la recuperación de las mismas ya que se ha visto que la perturbación reduce el número de propágulos microbianos, entre ellos de las micorrizas, pero se ha observado que la inoculación directa con hongos MA es ineficiente por lo que en este trabajo se pretende obtener un inóculo que sea altamente capaz de colonizar las raíces de las plantas que se pretende introducir al área perturbada.

La elección del inóculo óptimo es un paso fundamental ya que como fue demostrado por van der Heijden (1998), la planta es capaz de elegir el hongo micorrízico arbuscular que más beneficios le provea. Además de acuerdo con Gil y de Andrés (Ref. 8), la estrategia de revegetación más adecuada es la basada en la utilización de especies arbustivas, subarbustivas o herbáceas más que arbóreas. En este sentido las especies de leguminosas muestran características como rápido crecimiento, capacidad de enriquecer el suelo, y sobrevivir a condiciones adversas) que las hacen muy interesantes como especies útiles en la revegetación y restauración de la cubierta vegetal de espacios degradados, por

otro lado los pastos son componentes importantes para la formación y mantenimiento de los suelos evitando su erosión.

Especies utilizadas.

La elección de las especies que fueron utilizadas en este experimento durante la primera etapa consistió básicamente en que el jitomate (*Lycopersicon esculentum*) y el pasto rye grass (*Lolium multiflorum*) (Fig.7.) son plantas listadas como micorrizófilas, por lo que son ideales para masificar el inóculo inicial. En la segunda parte del experimento es necesario el conocimiento de la comunidad vegetal en la que se pretende incidir, por ello se optó por *Acacia farnesiana* y *Bouteloua curtipendula*. las razones básicas fueron que ambas especies están presentes en el área de estudio, son forrajeras y permiten la comparación entre plantas en este caso monocotiledóneas y dicotiledóneas que pertenecen a dos estratos diferentes, arbustivo y herbáceo y por que son plantas importantes económica y ecológicamente en el área de estudio posibilitando así una repoblación, en un momento posterior, con plantas del lugar.



Fig. 7. Rye grass y Jitomate

La leguminosa *Acacia farnesiana* (Fig 8), se distribuye desde el sudoeste de Estados Unidos hasta casi todo México excepto en las partes más secas y frías de la plataforma

central (McVaugh,1987) su nombre común es Huizache y una breve descripción botánica es la siguiente (Ref. 5):

“Arbolito o arbusto muy ramificado desde la base que alcanza 3-5 m de altura. Tronco de corteza oscura y ramaje tortuoso en zig-zag. Follaje semicaduco en ocasiones. Hojas bipinnadas, con dos espinas blancas y rectas de 2-3 cm de longitud en la base de las mismas. Cada hoja con 2-6 pares de pinnas y éstas con 10-20 pares de folíolos o pinulas de 3-8 mm de longitud, linear-oblongas, verdes, con el ápice obtuso o ligeramente agudo. Flores en glómérulos axilares dispuestos en grupos de 2-6 cabezuelas, de color amarillo dorado, fragantes, de 1-1.5 cm de diámetro. Pedúnculos pubescentes de 1.5-2 cm de longitud. Florece de enero a mayo. Su fruto es una legumbre indehiscente, cilíndrico-fusiforme, derecha o algo curvada, de color negruzco, de unos 5-9 cm de longitud. Cada fruto con 8-15 semillas insertas en una pulpa blanca y dispuestas de manera oblicua en el mismo”.

Es un árbol que proporciona varios productos de utilidad para el hombre, como son madera, utilizable como combustible y materia prima, corteza la cual por los taninos que contiene sirve como curtidor de pieles, para fabricar tinta y como astringente en medicina casera, la goma que mana del tronco se utiliza como sustituto de la goma arábica, el jugo de sus vainas inmaduras sirve para pegar porcelana. Sus flores contienen pigmentos y esencias aromáticas que son utilizadas para teñir telas y en perfumería, aunque se siembran también con fines de ornato, además son recomendadas para controlar la erosión y mejorar la fertilidad del suelo. (Niembro,1990). El exudado se usa como antiséptico oftálmico y como remedio para las hemorragias vaginales. La infusión elaborada con la flor se utiliza para la dispepsia, disentería, inflamaciones de la piel y de la membrana mucosa. Otros usos que se le atribuyen a esta especie son: para aliviar problemas digestivos, genitourinarios, infecciones, inflamaciones, heridas, del sistema músculo-esquelético, envenenamientos, problemas de la piel y para dolores en general (Ref.6).



Fig.8. Árbol y acercamiento a una inflorescencia de *Acacia farnesiana*

Bouteloua curtipendula (Fig.9), es una gramínea perenne que mide de 65-70 cm de alto y en ocasiones hasta un metro (Sánchez,1980) su nombre común es zacate banderita y su descripción taxonómica es la siguiente (Ref.6): “Planta herbácea perenne hasta de 1 m de alto, más o menos ampliamente amacollada, a veces con rizoma o estolones; hojas en su mayoría concentradas hacia la base de la planta, lígula en forma de membrana corta y fimbriada, lámina por lo general plana, hasta de 25 cm de largo y de 3 a 7 mm de ancho, a menudo pilosa cerca de la base; inflorescencia estrecha y alargada, hasta de 25 cm de largo, de 12 a 80 ramas, de 0.8 a 4 cm de largo, dispuestas en forma unilateral, desprendiéndose íntegras en la madurez; espiguillas 2 a 12 por rama, en general glabras; primera gluma de 4-5 mm de largo, la segunda más ancha y de 5.5-8.5 mm de largo; lema un poco más corta

que la segunda gluma, cortamente tridentada en el ápice, con los dientes provistos de aristas muy breves, pálea algo más corta que la lema; flor rudimentaria con la lema aristada o a veces reducida a una sola arista hasta de 10 mm de largo.”

Es una especie gramínea forrajera importante que se distribuye en el sudoeste de Estados Unidos y en el centro de México (Gould y Shaw, 1992).



Fig. 9 Espigas de *Bouteloua curtipendula*

El zacate banderita resulta apetecible para todas las especies de ganado y especies silvestres además de que dado que es perenne se encuentra todo el año, resulta de fácil digestión y de alto valor nutritivo.

Otra ventaja de éste pasto es que tiene tolerancia a la sequía y sus semillas presentan un alto porcentaje de germinación, lo que la hace una buena elección para sembrarse en suelos de textura delgada y sitios rocosos, de hecho el zacate banderita ha sido utilizado exitosamente en sitios perturbados (Ref.2), ya que es un excelente formador de suelo y evita la erosión. Se utiliza también en planes de repoblación, ya que es capaz de resistir mejor los incendios, favoreciendo así la regeneración de los ecosistemas dañados por fuego (Gosz y Gosz, 1996).

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

El presente trabajo parte de la siguiente Hipótesis:

Es posible masificar un inóculo micorrízico-arbúscular mixto, nativo a Santiago de Anaya altamente eficiente en la colonización de dos especies importantes en la zona (*Acacia farnesiana* y *Bouteloua curtipendula*), proporcionándoles ventajas cualitativas y cuantitativas en su crecimiento y desarrollo, que las convierten en plantas adecuadas para resistir condiciones ambientales adversas.

Para contrastar esta hipótesis se plantearon los siguientes objetivos:

Obtener el inóculo micorrízico-arbúscular mixto proveniente del suelo de Santiago de Anaya.

Seleccionar la especie micorrizófila adecuada para la masificación del inóculo

Realizar pruebas de potencialidad de micorrización del inóculo masificado en *Acacia farnesiana* y *Bouteloua curtipendula*.

Identificar taxonómicamente, hasta género, a los hongos micorrizicos presentes en el inóculo mixto.

ZONA DE ESTUDIO.

El lugar de donde se colectó el inóculo y las semillas de las especies vegetales para probar dicho inóculo se localiza en el municipio de Santiago de Anaya perteneciente al estado de Hidalgo, entre los paralelos 20°21' latitud norte, 98°54' y 98° 11' longitud oeste, a una altitud de 259 msnm. El clima es semárido, seco con lluvias en verano, BS₁Kw'' (i') cuya precipitación anual promedio es de 550mm concentrándose la mayor parte entre los meses de mayo y septiembre. De acuerdo a Rzedowski (1998, citado en Cruz,1992) es un

meses de mayo y septiembre. De acuerdo a Rzedowski (1998, citado en Cruz,1992) es un matorral xerófilo que incluye los matorrales micrófilo con géneros como *Mimosa*, *Prosopis*, *Flourensia*, cracicaule con géneros como *Opuntia* y *Mirtillocactus* y rosetifolio representado con los géneros *Agave* y *Yucca*, entre estos matorrales existen varias especies de gramíneas, líquenes musgos y algas.

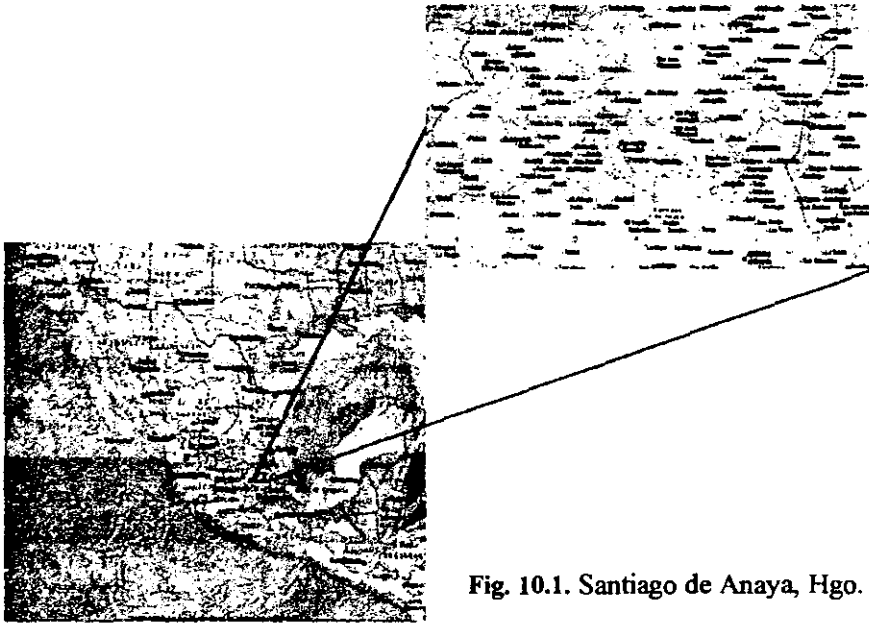


Fig. 10.1. Santiago de Anaya, Hgo.

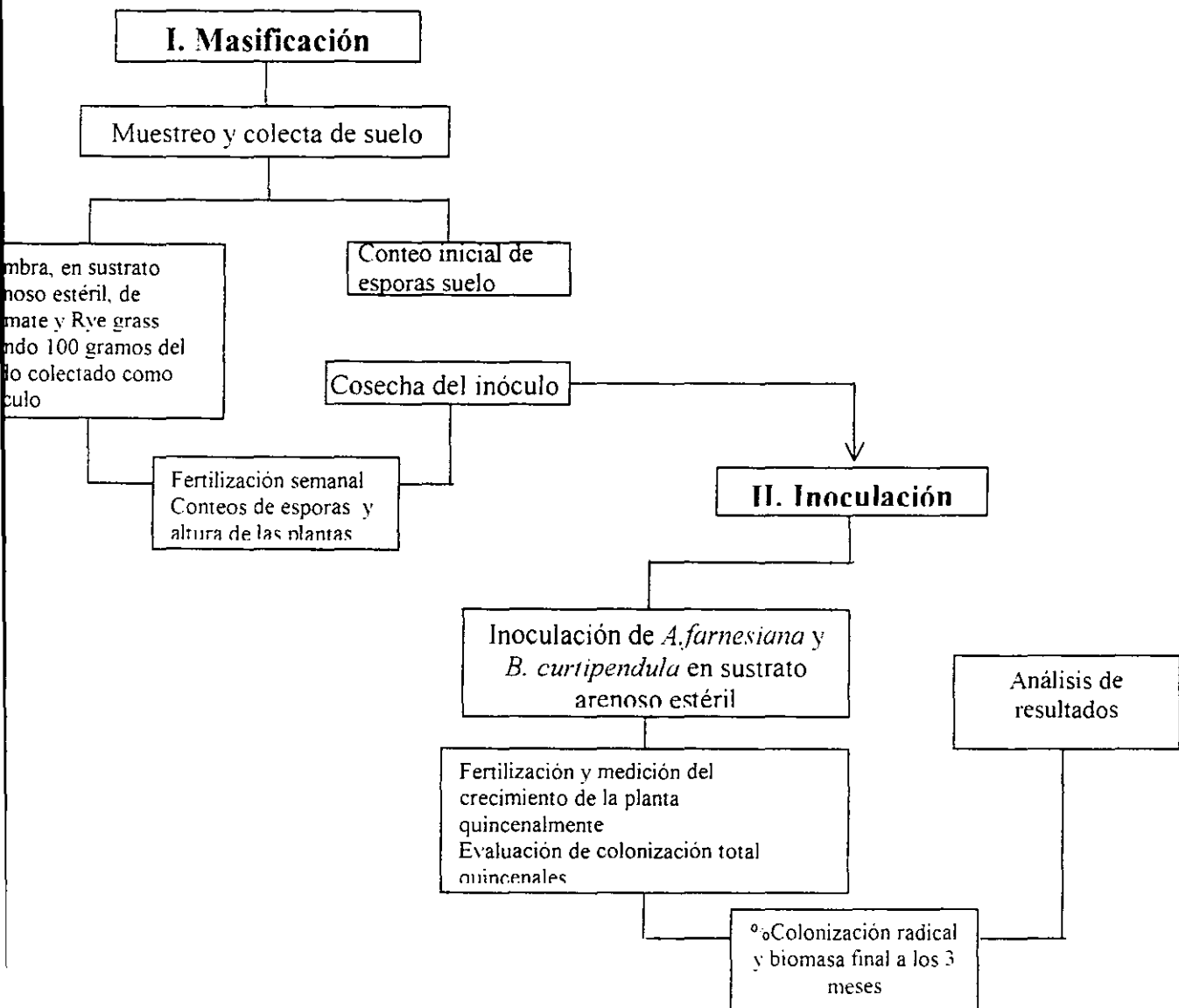
El trabajo básicamente se realizó en el invernadero de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Campo II, que se localiza en la Cd. de México a una altura de 2240 msnm



Fig. 10.2. Invernadero de la "FES Zaragoza"

DISEÑO EXPERIMENTAL

La metodología se dividirá en dos fases, la primera corresponde a la masificación del inóculo micorrízico y segunda a la inoculación de plantas silvestres, en el siguiente diagrama de bloques se resumen ambas.



I. Obtención del inóculo micorrízico

Muestreo del inóculo

Se realizó un muestreo al azar ubicando 30 puntos de 30 X 30 cm de donde se extrajo el suelo ubicado en los primeros 15 cm de profundidad, con ello se formó una mezcla compuesta de aproximadamente 10Kg que se mantuvo en bolsas de plástico a temperaturas bajas (4°C). En esta muestra se evaluó el número de esporas promedio contenidas en 100g de suelo seco. Este es el número inicial de esporas de referencia para evaluar la masificación del inóculo.

El método utilizado para la extracción y conteo de esporas en ambas fases del trabajo es el siguiente:

El método consiste en hacer una suspensión de 100 g de suelo y aproximadamente 2 litros de agua, se agitó vigorosamente durante 5 minutos y se dejó reposar por 5 minutos, con la finalidad de eliminar partículas grandes por sedimentación, la suspensión se decantó sobre tamices de 125, 105 y 44 micras ⁽²⁾, se enjuagó con agua abundante, este procedimiento se repitió tres veces, el sedimento de los tamices se colectó en probetas de 500ml, una para el tamiz de 125 y otro para los de 105 y 44 ambas probetas se llenaron hasta los 500ml con glicerina al 50% y se dejó sedimentar por 15 minutos. Finalmente se pasó el sobrenadante nuevamente a través de los tamices se lavó y se colectó en 2 vasos de precipitados y se realizó el conteo de esporas en el estereoscopio.

Masificación del inóculo

Para inducir la masificación del inóculo en invernadero se procedió a montar un experimento factorial de 40 unidades experimentales de acuerdo con el siguiente diseño:

$$2sp \times 2trat \times 10rep. = 40ue^{(3)}$$

⁽²⁾ se puede pasar por un tamiz de mayor apertura para eliminar el exceso de materia orgánica

⁽³⁾ sp = especies trat=tratamientos rep= repeticiones ue= unidades experimentales

Se utilizaron 2 especies reportadas en la literatura como altamente micorrizófilas para fungir como plantas trampa. Éstas especies son el jitomate saladed (*Lycopersicum sculentum*) y el pasto rye grass (*Lolium multiflorum*).

Se utilizó sustrato estéril conformado por una mezcla 1:1 de suelo arenoso y gravilla silica en macetas plásticas de 2Kg que se limpiaron con alcohol y antes de colocarlas en el banal, éste se roció con una solución al 50% de blanqueador (hipoclorito de sodio), realizado esto se colocaron las macetas y se procedió al llenado con suelo estéril, hasta aproximadamente $\frac{3}{4}$ de la maceta, en este momento se colocaron 100 g del suelo muestreado de Santiago de Anaya a cada maceta excepto a las macetas que servirían de testigo, se completó el volumen de suelo y se procedió a la siembra. se regaron regularmente (manteniendo húmedo el suelo) con agua destilada. El testigo fue preparado colectando 100 ml de filtrado de 100 g de suelo con el fin de agregar toda la microflora de vida libre (Rubio *et al.*, 1997).

Se esperó la emergencia de las plantas y se procedió a regar las macetas semanalmente con la solución nutritiva de Long Ashton (ver anexo1), la cual tiene como principal característica una dosis baja de fósforo (10.25 ppm).

Después de tres meses se realizó “la cosecha”, la cual consistió en retirar la parte aérea de la planta y coleccionar la raíz y el sustrato por tratamiento, evaluando en tres repeticiones de cada tratamiento el porcentaje de colonización radical, por el método de clareo y tinción de Phillips y Hayman (1970), realizando un conteo final de las esporas presentes en el suelo rizosférico de cada especie, esto con la finalidad de reconocer la especie más eficaz en la masificación del inoculo inicial y con ello se generó el inóculo empleado en la segunda fase del experimento.

II. Inoculación de las especies silvestres

Una vez elegido el inóculo más eficiente generado en la primera fase, que consistió básicamente de una mezcla de suelo rizosférico y raíces micorrizadas (Estaún *et al.*, 1997),

se procedió a la siembra en sustrato estéril (mezcla arenosa) de *Acacia farnesiana* y *Bouteloa curtipendula*.

Estas plantas serán utilizadas como sensor para evaluar la potencialidad que tiene el inoculo para colonizar especies silvestres, por lo que se diseñó un experimento factorial con dos tratamientos:

$$2sp \times 2trat \times 20rep = 80ue$$

El primer tratamiento consistió en colocar el inóculo masificado y en el segundo sólo un filtrado de éste utilizando como medida estándar 100g de inóculo para cada unidad experimental, ya sea en forma sólida o en filtrado.

Las semillas empleadas fueron extraídas de los frutos y seleccionadas manualmente, se desinfectaron y en el caso de *A. farnesiana* se escarificaron haciendo una perforación en la testa en el lado opuesto al micrópilo.

Durante la duración de ésta segunda fase se midieron los siguientes parámetros.

- * Longitud del vástago (cada 15 días)
- * Rendimiento en biomasa (relación vástago /raíz) (cada 15 días)
- * Fósforo total en parte aérea a los tres meses
- * Número de esporas y área foliar (quincenal)
- * % de colonización en las raíces (quincenal)

Para este último punto fue necesario seguir la técnica ilustrada en las Fig. 11 y 12 (Tomadas de Brundett, 1996) , y aplicar los siguientes pasos (Brundett, *op cit*):

1.- Lavar perfectamente las raíces , ponerlas en suspensión agitar algunos minutos con agitador magnético y tomar una muestra de 200 segmentos más o menos.

2.- Calentar las raíces en una solución de KOH al 10%, p/V a unos 90°C, cambiar la solución las veces que sea necesaria hasta que deje de ser oscura; se enjuagan las raíces con

peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 10% V/V, para eliminar los residuos de pigmentos que puedan perjudicar la observación. El tratamiento con KOH tiene por objeto eliminar el citoplasma de las células, de esta manera se logra una mejor coloración de las hifas.

3.- Se lavan cuidadosamente las raíces con agua dos veces y una vez con ácido láctico al 5%

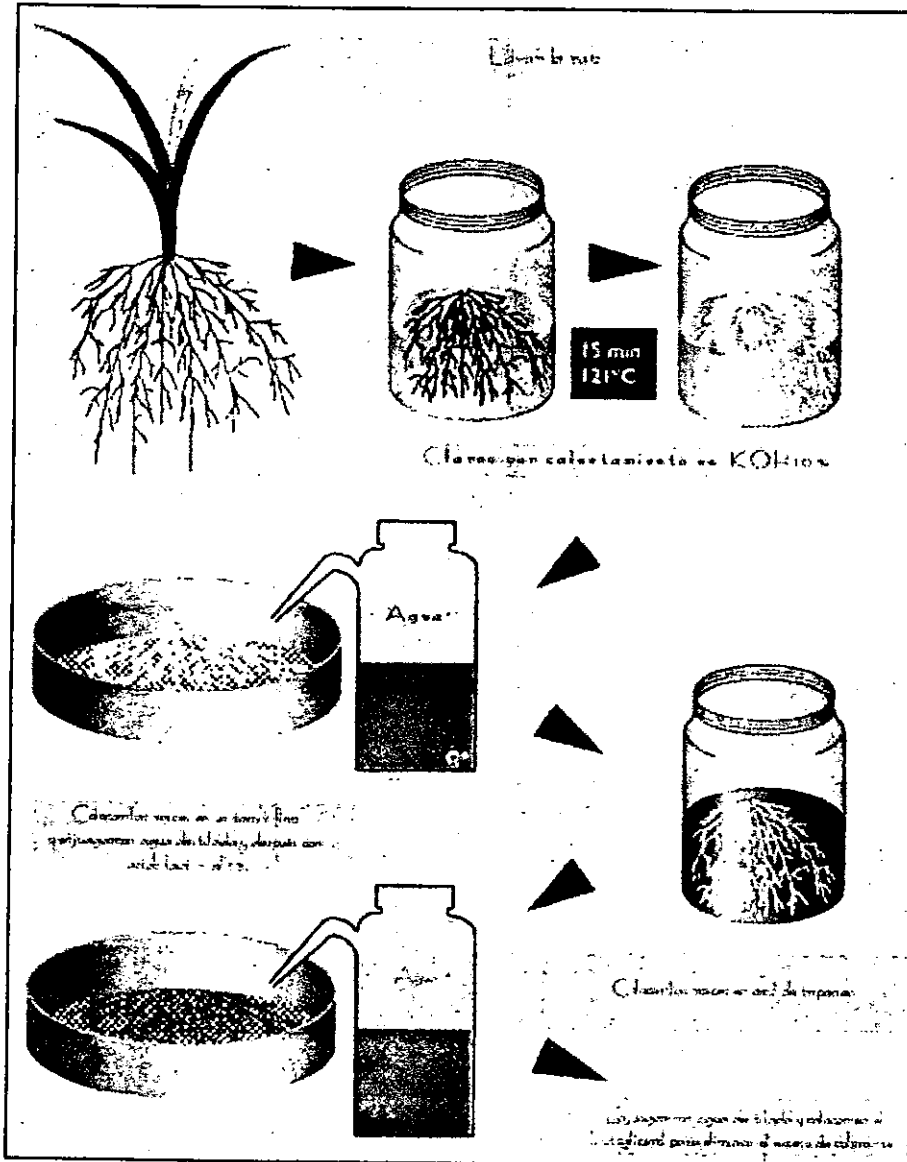


Fig.11. Clareo y tinción de raíces

4.- Colocar los segmentos de las raíces en un vaso de precipitado de 100 ml y agregar 50 ml de la solución colorante (azul de tripano).

Calentar sobre una placa a unos 90°C durante 5 o 10 minutos

5.- Quitar el exceso de colorante colocando las raíces coloreadas por un máximo de 24hrs. en una caja de Petri con lactoglicerol.

6.- Las raíces coloreadas se colocan paralelamente sobre el portaobjetos al que se ha agregado 1 o 2 gotas de lactoglicerol, de 10 a 15 segmentos pueden ser montados en la laminilla. Después se coloca encima un cubreobjetos y se presiona para sacar el exceso de lactoglicerol y aplastar las raíces, generalmente se prepara un centenar de segmentos para obtener una buena media.

7.- La observación de las raíces se hace en el microscopio generalmente a un aumento de 10X y 40X, se hace un recorrido transversal a las raíces en tres direcciones, se anotan los segmentos colonizados por el tipo de estructura presente, la cantidad de puntos observados, con ello se calcula el porcentaje de colonización total y por estructura.

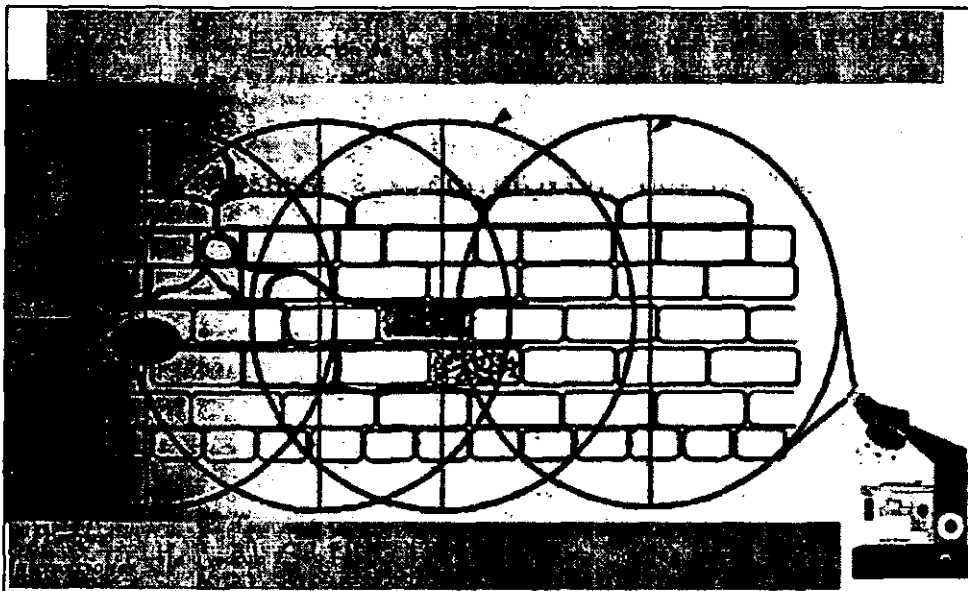


Fig.12 Evaluación de sitios colonizados

Fósforo Total

Al término de la última fase se hicieron pruebas de contenido de fósforo en las plantas (Método del Vanadato molibdato), con la finalidad de observar las posibles diferencias en la absorción de éste entre tratamientos, esperando que fuera mayor la cantidad de fósforo presente en las plantas inoculadas, el método se describe a continuación y las soluciones utilizadas aparecen en el anexo 1.

1. Pesar 0.2g de tejido vegetal seco y molido pasado por una maya del #20 y colocarlo en un matraz Kjeldhal
2. Agregar 3ml de ácido nítrico y 2 de ácido perclórico concentrados
3. Digerir previamente 30min a una temperatura menor a 160°C
4. Concluir la digestión hasta aclarar la muestra.
5. Enfriar y aforar a 10ml decantando la solución obtenida en el paso anterior
6. Colocar 1ml del extracto filtrado, agregar 1.5ml de la solución de Vanadato-Molibdato y aforar a 10 ml
7. Leer al espectrofotómetro a 470 nm contrastando con una curva patrón realizada a partir de una la solución estándar de fosfato.

Extracción de esporas para identificación

Para el montaje de las esporas en la segunda fase se utilizó el método de extracción con azúcar el cual consiste básicamente en pesar 20g de suelo, agregar agua de la llave y agitar vigorosamente 3 minutos, se decanta un minuto y se pasa por un tamiz de 44 micras, este paso se realiza dos veces más, el material que queda en el tamiz se centrifuga con agua destilada durante 3 minutos a 2500 rpm, se tira el sobrenadante y se agrega la solución saturada de azúcar, se centrifuga nuevamente 1 minuto a 2500 rpm y se recoge el

sobrenadante en el tamiz de 44 micras enjuagándolo abundantemente con agua destilada, se pasa a una caja Petri y se procede al montaje (Walker, 2001).

1. Preparar el portaobjetos con una etiqueta y 2 gotas de PVLG (alcohol polivinílico), a una de las gotas de PVLG se agrega melzer
2. Colocar con una pinza de 1 a 5 esporas iguales en cada gota del y colocar un cubreobjetos cuidadosamente.
3. Presionar ligeramente el cubre objetos con la intención de romper las esporas y observar algunas estructuras
4. Dejar secar la preparación y sellar el cubreobjetos con barniz transparente
5. Observar al microscopio óptico (Schenck, 1990).

Resultados y Discusión

I. Masificación del inóculo micorrízico

I.1 Número de esporas y porcentaje de colonización

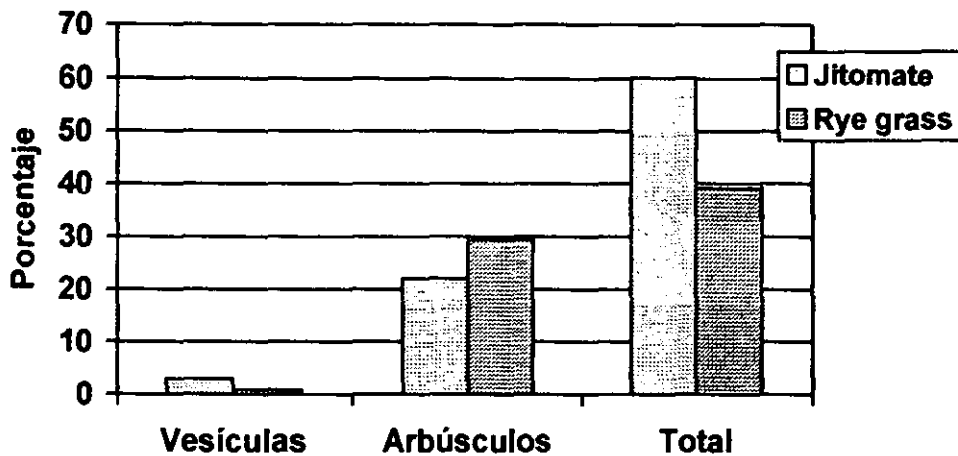
El suelo de Santiago de Anaya, Hidalgo, que es un sitio altamente perturbado se hace evidente si se observa el número de esporas con que se inició el experimento, resultó con una alta potencialidad de aumento en el número de esporas, mismos que se obtuvieron al final de la fase de masificación (Cuadro 2).

Los resultados se muestran en el siguiente cuadro:

	N° esporas		%Colonización		
	inicial	Final	Vesículas	Arbúsculos	Total
Jitomate	240	2922	2.90	22.0	60.2
Rye grass	240	946	0.85	29.4	39.2

Cuadro 2. Resultados de la masificación del inóculo usando dos especies micorrizofilas

Porcentaje de colonización por Arbúsculos vesículas y total



Grafica 1. Porcentaje de colonización por arbusculos, vesículas y total para Jitomate y Rye grass

Por otro lado el uso de parte del sistema radical de la planta trampa junto con el suelo más cercano a ella ha sido una práctica efectiva y común para manejar los inóculos (Biermann *et al*, 1983; Vimard *et al*, 1999) de hecho en un trabajo reciente, Staddon y Fitter (2001), demostraron que después de un tiempo las hifas internas y los arbusculos declinan su viabilidad, sin embargo las esporas presentes en el inóculo podrían iniciar la colonización además de que algunos fragmentos de hongos con estructuras viables podrían estar presentes y promover la infección, las vesículas parecen tener un papel importante en la viabilidad del inóculo e incluso Smith y Read, (1997), las describieron como: "... semejante a las esporas, almacenan grandes cantidades de lípidos y contienen muchos núcleos, los cuales con su delgada pared sugieren tener una función como propágulos o de soporte para el crecimiento de las hifas intraradicales", aunque esto no quiere decir que las vesículas tengan un papel primordial en la micorrización, de hecho no están presentes todo el tiempo e inclusive algunas veces no se forman (McGee, 1997).

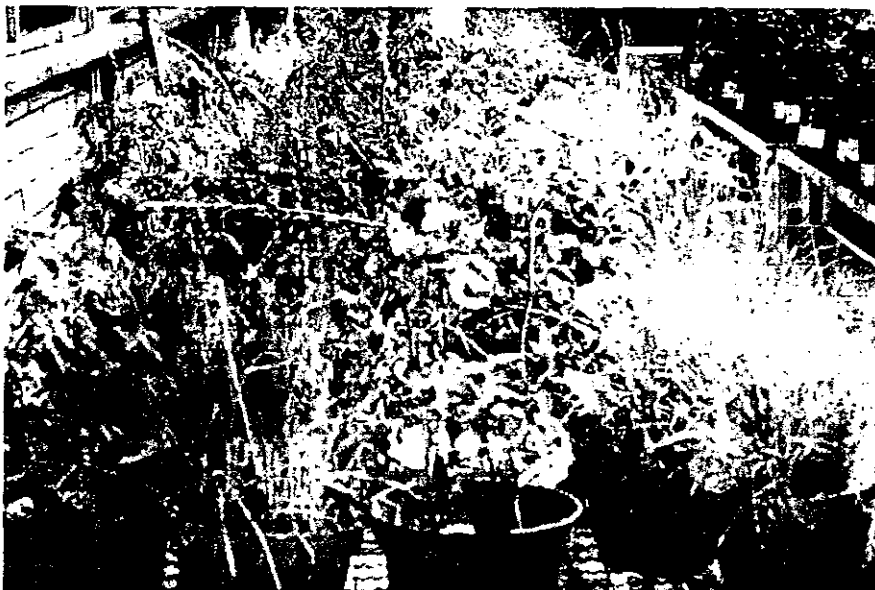


Figura13. Fase I , Masificación del inóculo micorrizico en invernadero

Conforme a los resultados obtenidos, es posible que las esporas sean el componente del inóculo que resultó más eficiente en la colonización de las especies utilizadas en la segunda parte, ya que estas son bastante abundantes mientras que las vesículas estarían prácticamente ausentes del inóculo ya que tienen un porcentaje muy bajo (Gráfica 1), por lo menos las que se usaron con jitomate y suelo proveniente de Santiago de Anaya, además, dado que la cosecha del inóculo se hizo durante tiempos en los que se tuvieron condiciones adversas para el riego de las plantas, se podría decir que estuvieron en cierto nivel de estrés hídrico, esto explica porque se encontró mayor abundancia de esporas ya que como es reportado por Arroyo, *et al.*, (1998) se encuentra un aumento en el número de esporas cuando se induce la sequía.

I.2 Altura

Los datos de alturas alcanzados por las plantas se presentan a continuación en el cuadro 3.

Tratamiento	15 días (1)	45 días (2)	75 días (3)
Rye grass Inoculado	26.70 A*	30.84 A	33.29 A
Rye grass noInoculado	24.71 A	29.30 A	31.83 A
Jitomate Inoculado	4.58 a	21.34 a	28.13 a
Jitomate no Inoculado	4.03 a	18.75 a	23.77 a

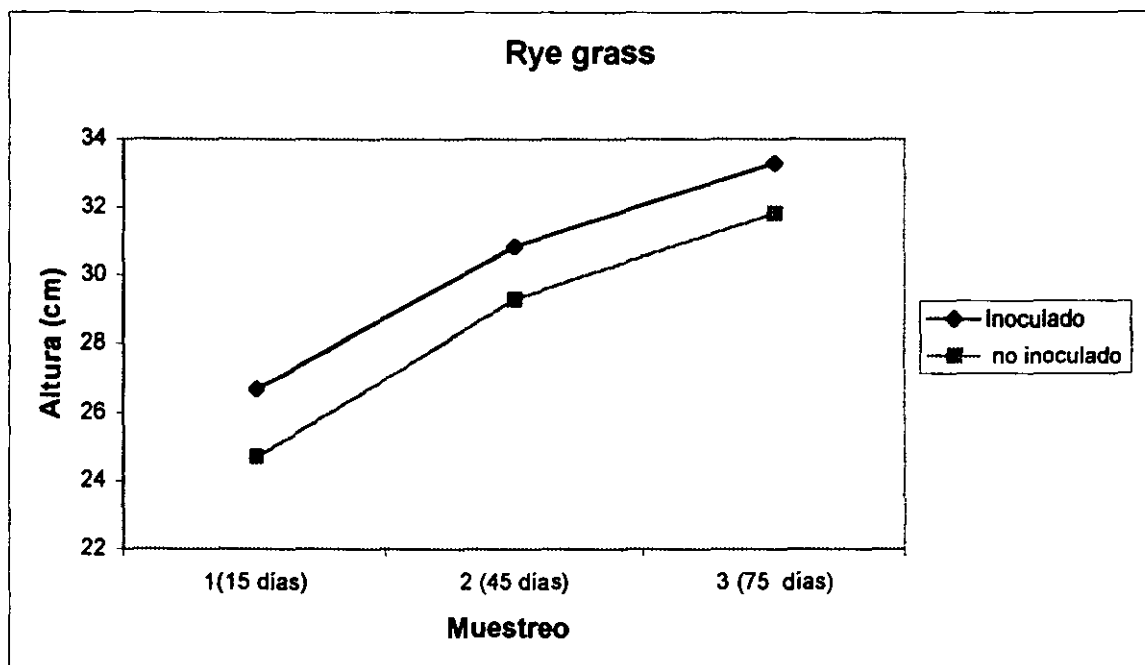
Cuadro 3. Alturas promedio para la Parte 1, correspondiente a Jitomate y Rye grass, (1),(2) y (3) corresponden al número de muestreo que se gráfica

* Letras iguales denotan que no hay diferencias significativa

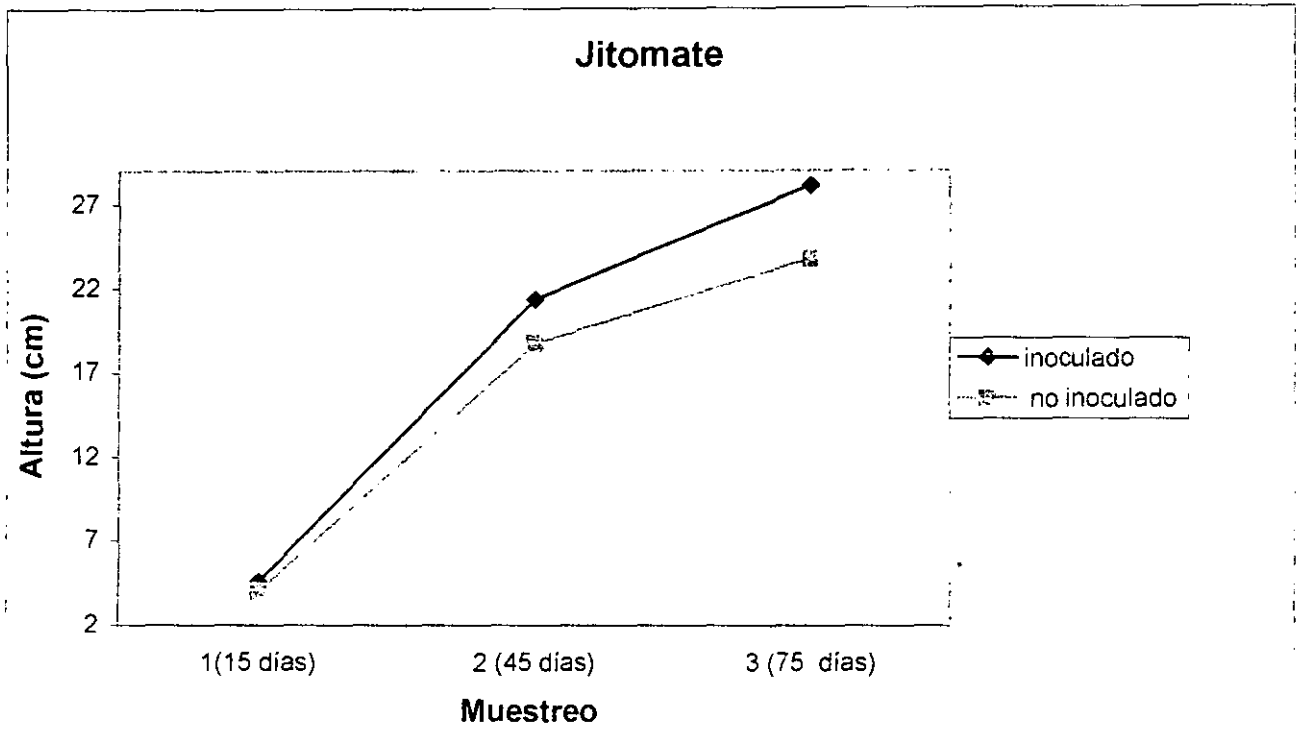
Como se puede observar en las gráficas (2 y 3), el incremento de altura en Rye grass es evidente desde el primer muestreo, pero en jitomate la diferencia se incrementa con el tiempo.

Del análisis estadístico (análisis de varianza) de esta primera parte se desprende que no existen diferencias significativas en las alturas promedio de las plantas entre tratamientos (Jitomate inoculado contra no inoculado y pasto inoculado contra no inoculado) ($P \leq 0.05$), a pesar de que se observaron diferencias en el número de esporas y en el porcentaje de colonización total entre los diferentes tratamientos como puede observarse en el cuadro 2.

El jitomate fue la planta que finalmente se eligió como la especie más eficiente en la masificación del inóculo, con base en los datos arrojados por los distintos parámetros que se presentan en el cuadro 1.



Grafica 2. Alturas promedio para Rye grass durante la primera parte de la fase experimental



Grafica 3. Alturas promedio de las plantas de jitomate durante la Primera parte de la fase experimental

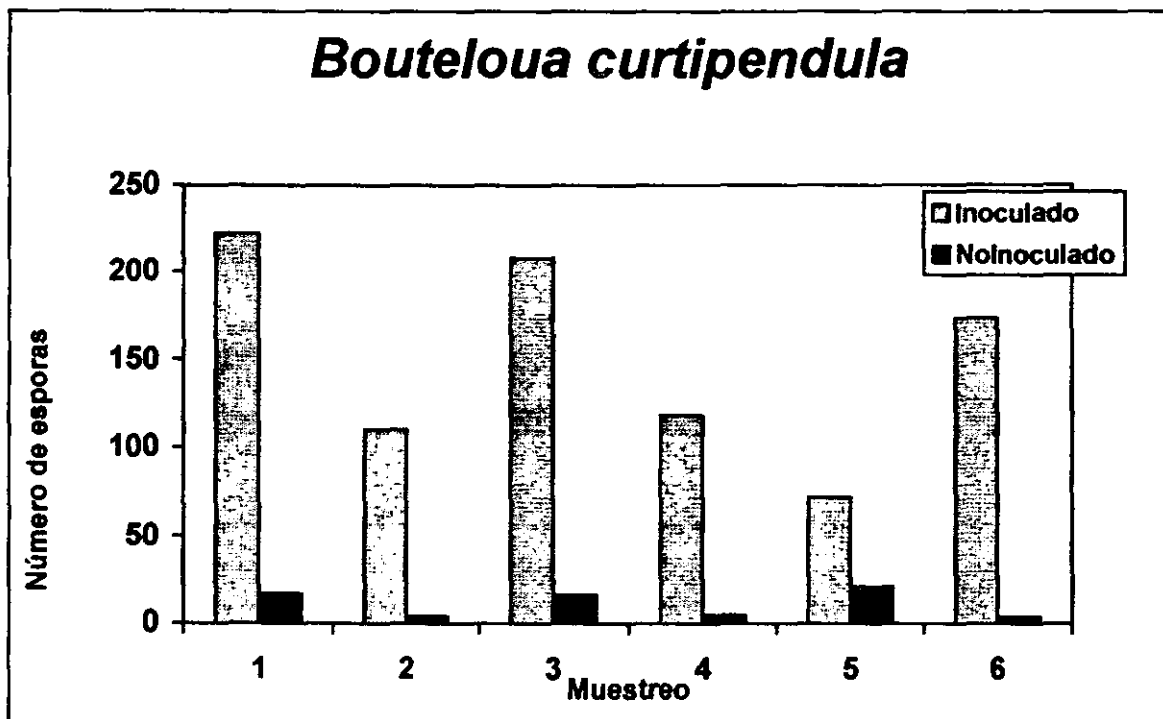
II. Inoculación de las plantas silvestres

II.1. Número de esporas

Como se observa en la cuadro 4, el número de esporas para *A. farnesiana* varía a lo largo del tiempo y es de cierta forma irregular, ya que no hay tendencia al aumento o a la disminución, aunque al observar los valores graficados (Gráfica 5), se puede ver que realmente tienden a disminuir con respecto al tiempo con un pico durante el tercer muestreo para después decrecer regularmente.

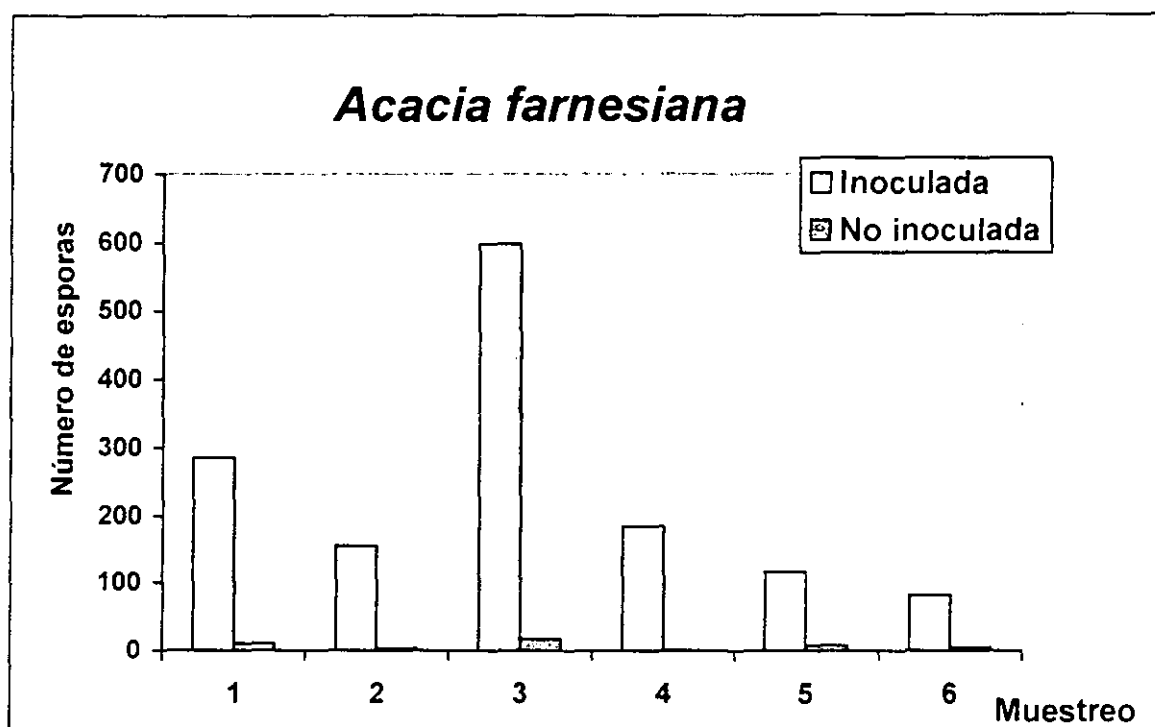
Esporas totales (100g de suelo)				
Edad (muestreo)	<i>A. farnesiana</i>		<i>B. curtipendula</i>	
	Inoculada	No inoculada	Inoculado	No Inoculado
15 días (1)	286	11	222	17
30 (2)	154	3	110	4
45 (3)	598	17	208	16
60 (4)	184	1	118	5
75 (5)	117	8	72	21
90 (6)	82	5	174	4

Cuadro 4. Número de esporas totales presentes en las muestras obtenidas de los tratamientos y testigos de *Acacia farnesiana* y *Bouteloua curtipendula*



Grafica 4. Número de esporas en 100 g de suelo seco de *Bouteloua curtipendula*

En todo el experimento se puede considerar que el número de esporas presentes es bajo, lo que hace suponer que las esporas del inóculo han germinado y se encuentran activas formando las micorriza.



Grafica 5. Número de esporas totales en 100g de suelo seco de *Acacia farnesiana*

A diferencia de *A. farnesiana*, *B. curtispindula* presenta un comportamiento bastante irregular, comienza con un número de esporas alto, en el segundo muestreo, este número disminuye a la mitad aproximadamente, en el tercer muestreo se incrementa para disminuir en los dos muestreos siguientes y finalmente subir en el sexto al nivel del tercer muestreo, este comportamiento se aprecia mejor en la grafica 4.

Los números de esporas presentes para esta especie son bajos y menores que los presentados por *A. farnesiana*.

Una posible respuesta a la disminución en el conteo de esporas en la inoculación de las especies silvestres, es el hecho de que las esporas estuvieran activas, en su fase de hifas, colonizando a la planta hospedera y por eso se encontraron en menor cantidad que al inicio, además dado que el experimento se llevó a cabo en invernadero es posible que a pesar de las altas temperaturas a las que estuvieron expuestas las plantas no hubo estrés por sequía ya que siempre fueron regadas con solución nutritiva y agua destilada por lo que la planta continuaba con su desarrollo normal y las micorrizas no necesitaban esporular para soportar condiciones de estrés, esto concuerda con los resultados sobre colonización total en los que se muestra un incremento en este parámetro conforme pasa el tiempo.

II.2. Porcentaje de colonización micorrízica

Como se esperaba los testigos tuvieron poco o nulo porcentaje de colonización, en ambas especies, en el caso de *A. farnesiana* el porcentaje de colonización tiene una tendencia al incremento conforme pasa el tiempo, aunque durante el cuarto muestreo hay una disminución el porcentaje más alto de colonización es de 47 %y el más pequeño de 14% correspondientes al sexto (90 días) y primer muestro (15 días) respectivamente, los datos se agrupan en el cuadro 5.

En el caso de *B. curtispindula* existe un comportamiento más o menos constante durante los primeros cinco muestreos con valores de entre 9 y 12%, sin embargo, en el sexto muestreo hay un aumento del doble en el porcentaje de colonización (23%).

Aunque en ambas especies hubo una tendencia al incremento en el porcentaje de colonización con respecto al tiempo, en el caso de *A. farnesiana* fue de forma más gradual mientras que en *B. curtispindula* sólo aumentó al final del experimento y siempre mantuvo porcentajes menores a los del huizache, estas tendencias se pueden observar claramente en la grafica 6.

Porcentaje de Colonización total

Edad (muestreo)	<i>A. farnesiana</i>		<i>B. curtipendula</i>	
	Inoculada	No inoculada	Inoculada	No inoculada
15 días (1)	14	0.1	0	0.8
30 (2)	16	0	9	0
45 (3)	35	0	12	0
60 (4)	23	0	11	0
75 (5)	37	0	11	1.6
90 (6)	47	0.3	23	1.6

Cuadro 5. Porcentajes de colonización total para las especies silvestres a lo largo del tiempo

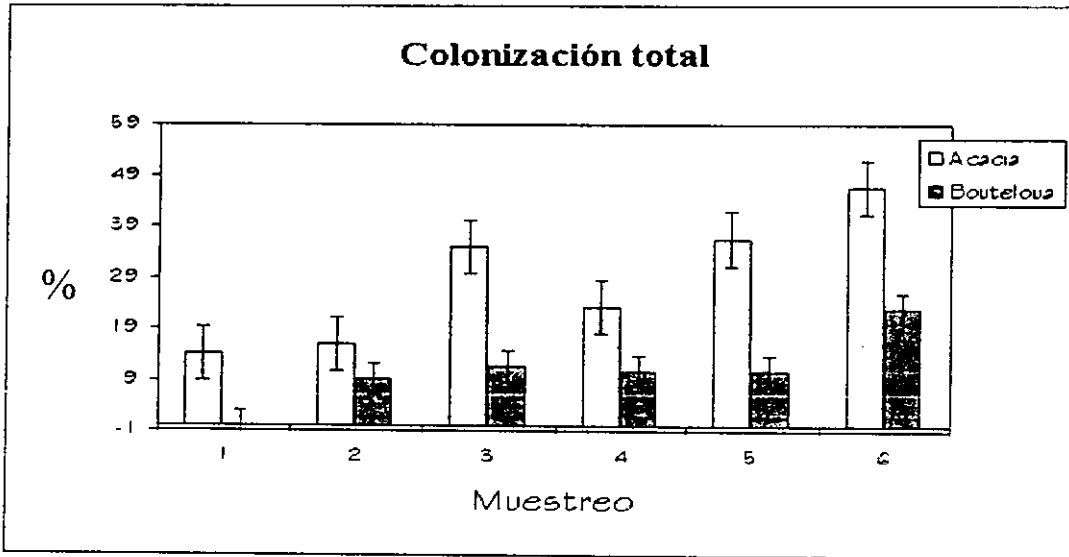
En cuanto al porcentaje de colonización, se puede observar una disminución en este valor para *Acacia farnesiana* en el mes de mayo (muestreo 4, 60 días), ello puede deberse a las condiciones ambientales a las que estuvieron expuestas las plantas durante este mes ya que el aumento de la temperatura fue bastante grande en este periodo, sin embargo la tendencia al aumento se recuperó en junio (6° muestreo, 90 días).

Para *Bouteloua curtipendula* a pesar de que sí hay un aumento en el porcentaje de colonización, este no es suficiente como para que se observe gráficamente lo que indica que *Acacia farnesiana* es la especie que se coloniza con mayor facilidad por los hongos micorrízicas arbusculares presentes en el inóculo (Gráfica 6).

Según Jasper *et al.*, (1993) y Chamizo-Checa *et al.*, (1998) la colonización disminuye cuando aumenta la esporulación y viceversa aumenta cuando hay menos esporas, como lo demuestran los datos para ambos parámetros, al relacionarlos se puede observar que realmente el porcentaje de colonización aumenta cuando el número de esporas es menor.

Hablando de la potencialidad del inóculo, los datos mostrados son consistentes con lo reportado por Munro *et al* (1999) y Corkidi y Rincón (1998), quienes demostraron que se obtuvieron gracias a la inoculación plantas más altas y con crecimientos más veloces y

que conforme avanza el tiempo la potencialidad del inóculo aumenta (medida como porcentaje de colonización).



Gráfica 6. Porcentaje de colonización total para ambas especies

II.3. Datos de crecimiento

a) Altura

Edad (muestreo)	Altura (cm)			
	<i>A. farnesiana</i>		<i>B. curtipendula</i>	
	Inoculada	Testigo	Inoculada	testigo
15 días (1)	20.18	11.44	31.80	29.80
30 (2)	22.81	11.84	33.78	31.175
45 (3)	26.45	12.625	36.66667	32.72
60 (4)	26.61 A	13.79 B	34.94 a	31.69 a
TRC (cm/día)	0.029	0.027	0.024	0.024

Cuadro 6. Alturas promedio para las especies silvestres a lo largo del tiempo. TRC tasa relativa de crecimiento

En el caso de *A. farnesiana*, los datos muestran que la altura de las plantas se vio aumentada en el caso de las plantas fueron inoculadas con respecto a las que fueron testigos y al observar la gráfica 7, es evidente que la diferencia en el incremento en altura es constante a lo largo del experimento.

En los datos finales se ve que las plantas inoculadas de *A. farnesiana* son el doble de altas que las no inoculadas mientras que en el caso de *B. curtispindula* el aumento en talla de las plantas inoculadas con respecto a las no inoculadas es de aproximadamente un 10% lo que sugiere que el efecto de la micorrización es menor para esta especie, esto último se ve apoyado por los datos de TRC que fueron calculados para ambas especies y sus tratamientos, ya que no existen diferencias entre estos valores para los dos tratamientos de *B. curtispindula* mientras que para *A. farnesiana* si existe una variación.

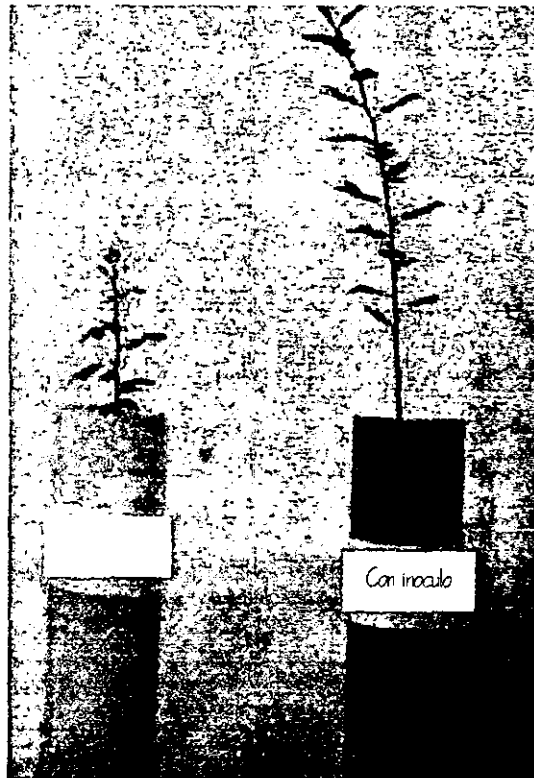
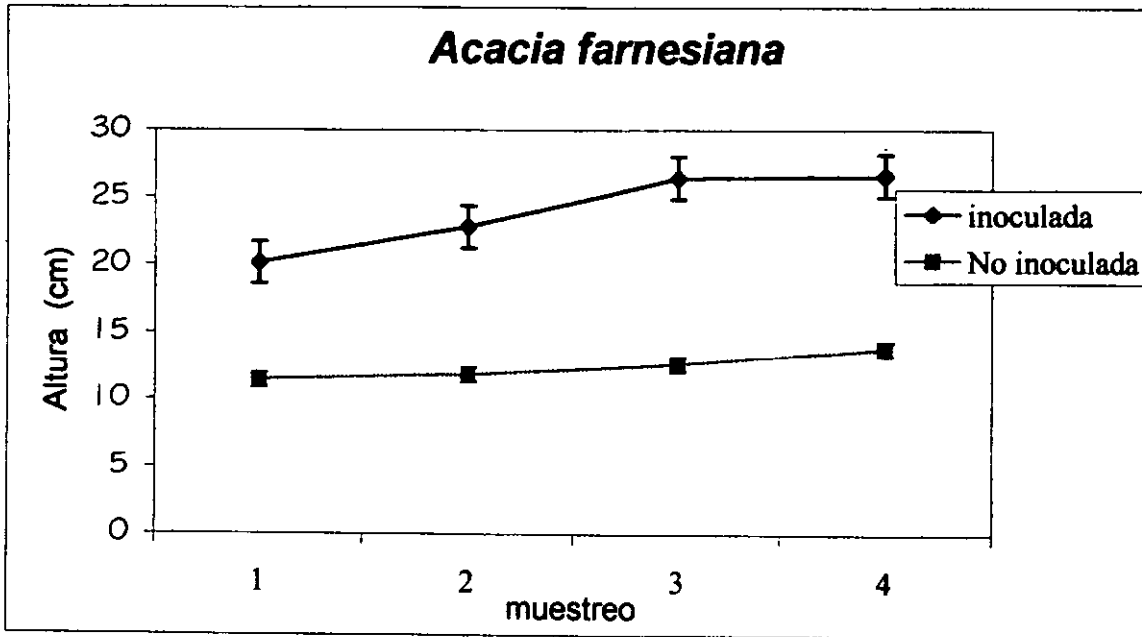


Figura 14. Comparación entre los distintos tratamientos de *Acacia farnesiana*



Gráfica 7. Altura promedio a lo largo del experimento para *A. farnesiana*

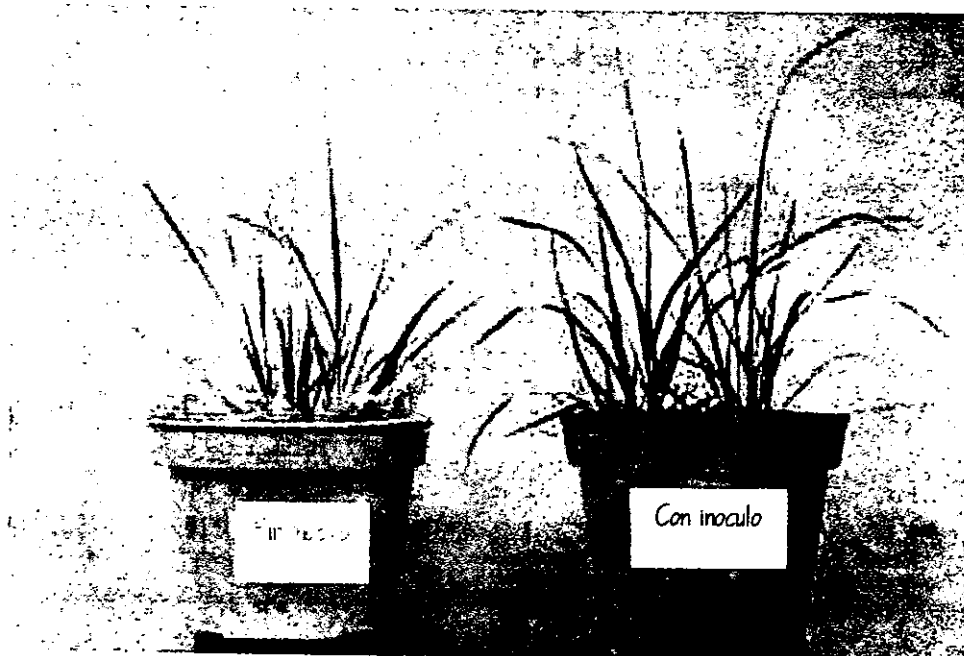
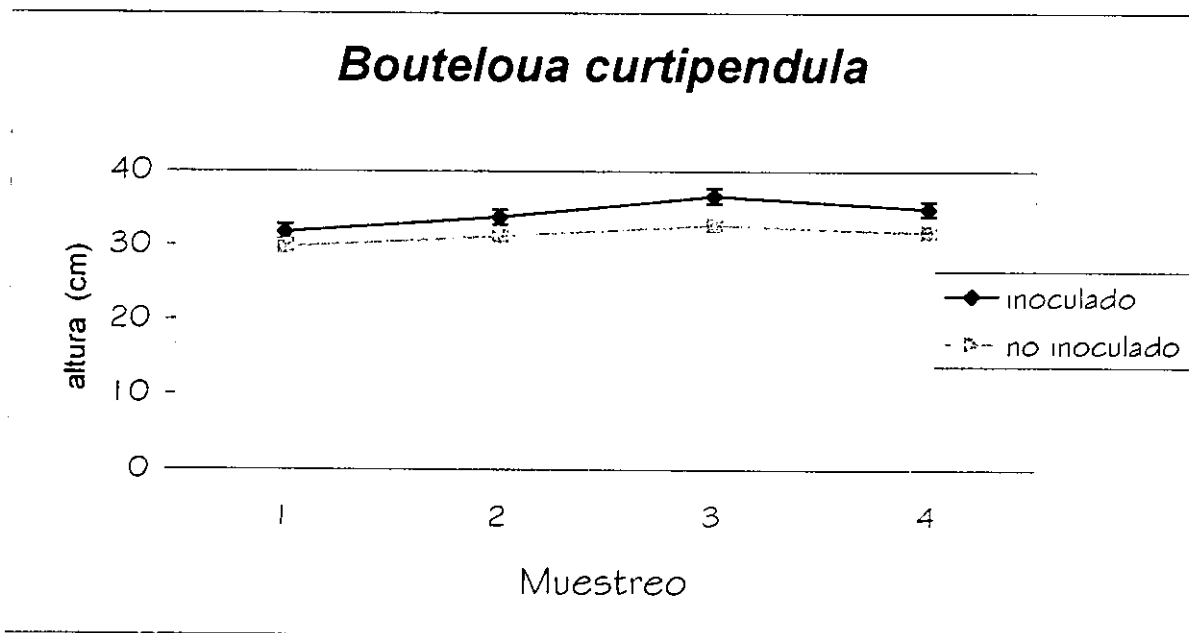


Figura 15. Comparación entre los diferentes tratamientos de *Bouteloua curtipendula*

Para *B. curtipendula*, no es evidente un aumento aunque de hecho existe (9% en el último muestreo) es muy poco para considerarlo.

Al observar los datos de la cuadro 6 para *B. curtipendula* (gráfica 8) se observa que ambas curvas están casi a la misma altura.



Gráfica 8. Altura, *B. curtipendula*

A partir del análisis estadístico (ANOVA) se determinó que no existen diferencias significativas en el incremento de altura para el pasto mientras que para la acacia si, como es evidente en las gráficas 7 y 8 ($P \leq 0.05$).

Los datos sobre alturas de las plantas inoculadas y no inoculadas, así como entre las especies bajo estudio apoyan los beneficios obtenidos por la planta cuando esta es inoculada, y al comparar las gráficas para las dos especies en los diferentes tratamientos (graficas 7 y 8) se observa que la especie que tiene el mayor incremento en altura es *Acacia farnesiana*.

b) Area foliar

Otro parámetro que es de comparación entre las dos especies de plantas es el del área foliar (cuadro 7), en el caso de *Acacia farnesiana* se observa un incremento en el área foliar con respecto al testigo en todos los muestreos aunque hay una disminución en el quinto muestro en ambos casos, de manera que la tendencia al aumento se mantiene constante. En la gráfica 9 se observa que el incremento se empieza a hacer notable a partir del 2º muestreo, ya que en el primero aparentemente las plantas tenían la misma área foliar.

En *B. curtipendula* también se observan diferencias entre el testigo y el tratamiento siendo mayores los valores para área foliar en las plantas que fueron inoculadas, sin embargo el comportamiento mostrado en la gráfica 10 es difícil de interpretar, si se observa sólo la línea correspondiente a las plantas inoculadas el incremento en área foliar aparece gradualmente, al observar la línea correspondiente a los testigos se ve que los valores para área foliar son prácticamente los mismos durante los dos primeros muestreos, en el tercer muestreo se separan y el mayor área es para el testigo, aunque en el cuarto muestreo baja otra vez, esta vez con valores menores que el tratamiento y a partir de este punto los valores para el testigo siempre fueron menores que para el tratamiento.

Edad (muestreo)	Área foliar (cm ²)			
	<i>A. farnesiana</i>		<i>B. curtipendula</i>	
	Inoculada	testigo	Inoculada	Testigo
15 días (1)	11.68	8.30	22.04	21.18
30 (2)	33.21	22.39	22.39	12.88
45 (3)	43.95	24.52	41.97	91.30
60 (4)	65.16	31.96	109.35	59.02
75 (5)	44.96	24.71	99.84	60.67
90 (6)	63.59	27.80	164.90	113.00
%Incremento en el último muestreo	128		46	

Cuadro 7. Crecimiento en área foliar de las especies silvestres a lo largo del experimento.

Para poder comparar ambas especies fue necesario, calcular el porcentaje de incremento para el último muestreo, en *Acacia farnesiana* este valor fue de 128% y para *Bouteloua curtipendula* del 46%, lo que significa que para el huizache el incremento en área foliar de las plantas inoculadas fue de poco más del doble con respecto a sus testigos, mientras que para el zacate navajita de sólo la mitad, así que los resultados muestran que ambas plantas crecen mejor cuando están inoculadas, pero las que mejor responden a este efecto son los huizaches.

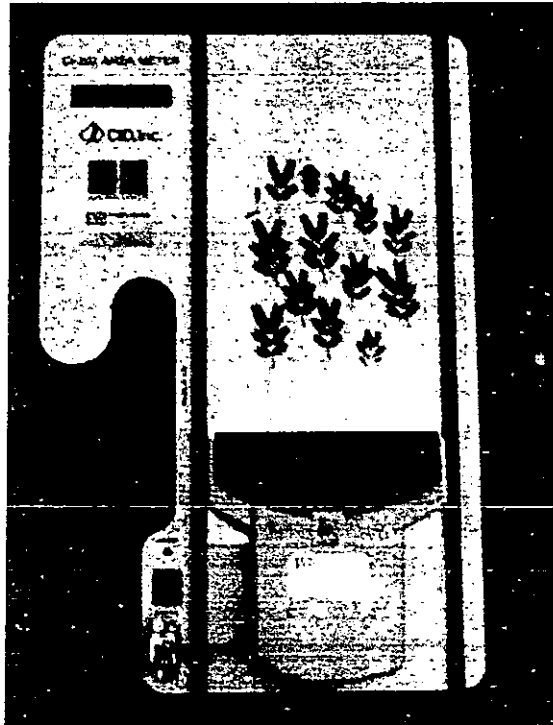
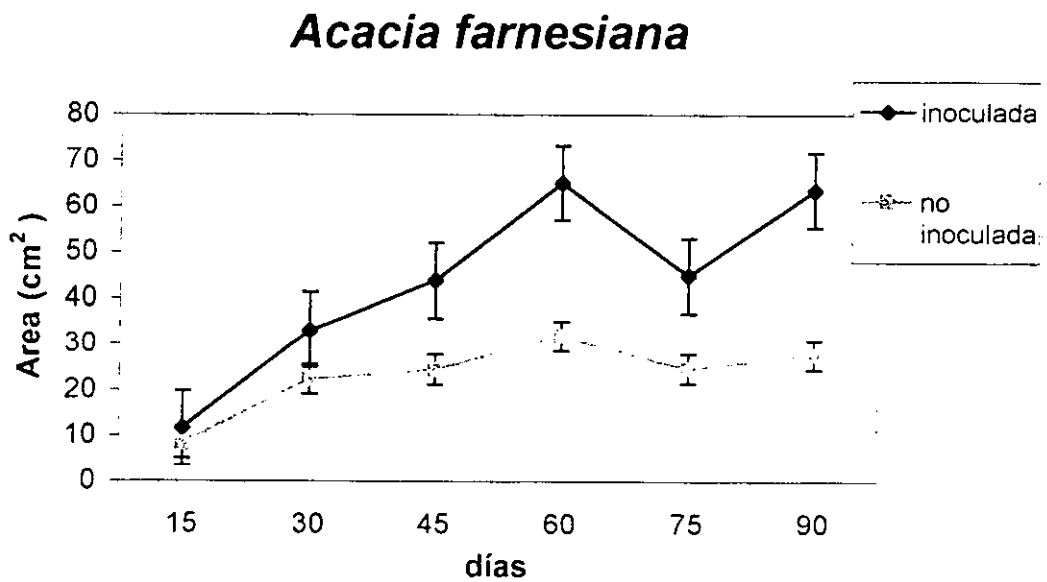
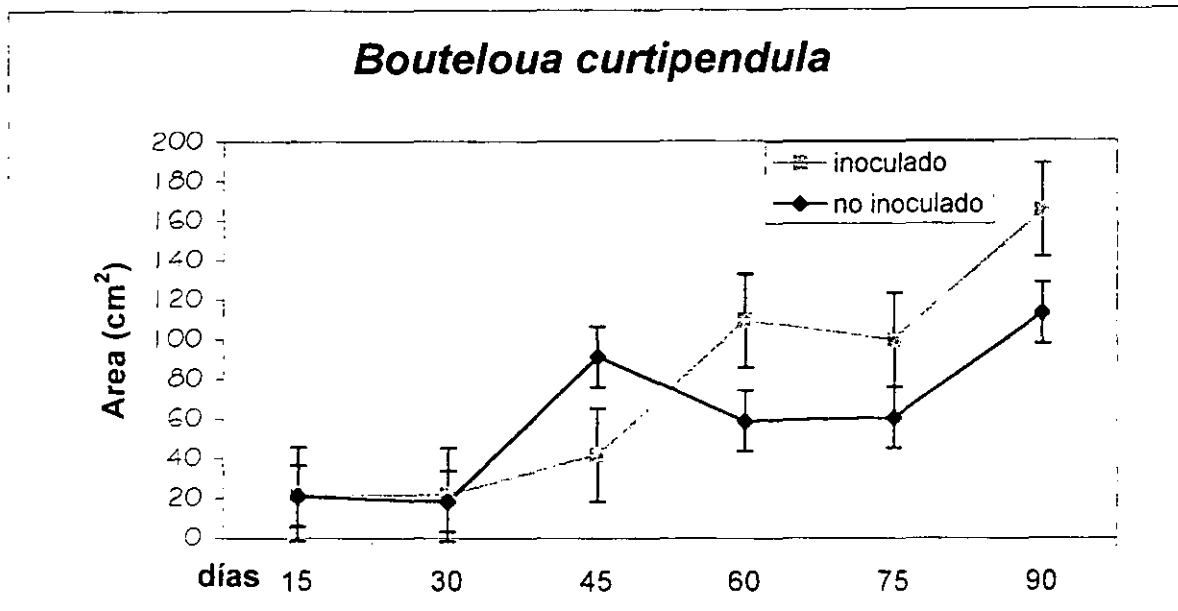


Figura 16. Medición del área foliar de *Acacia farnesiana*



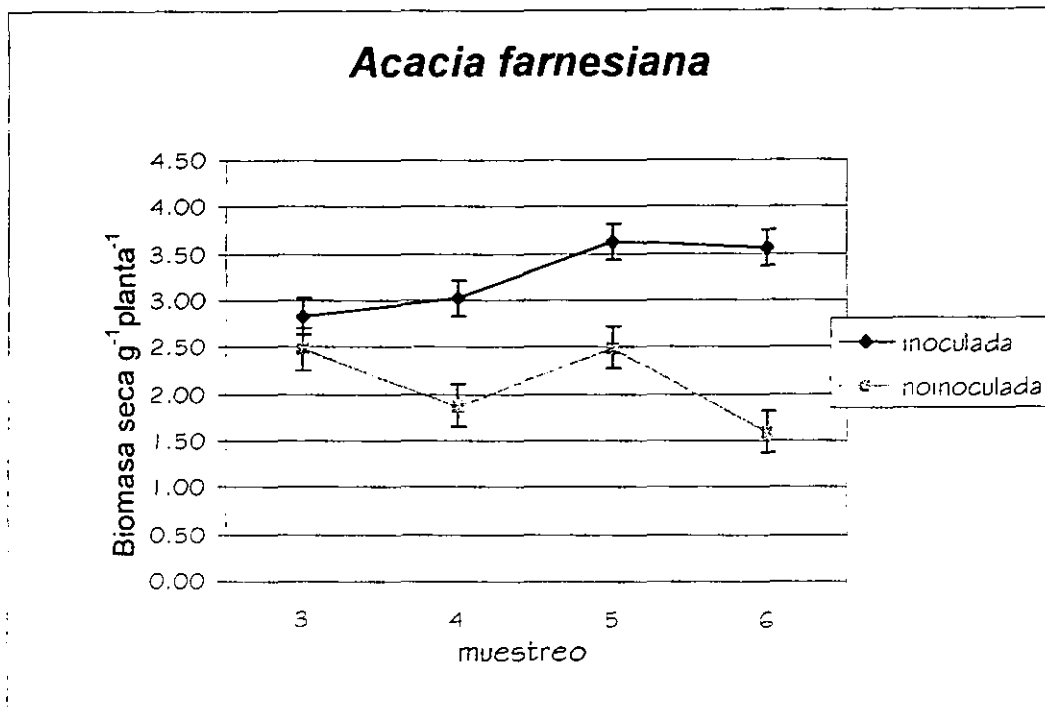
Gráfica 9. Área foliar promedio para *Acacia farnesiana*



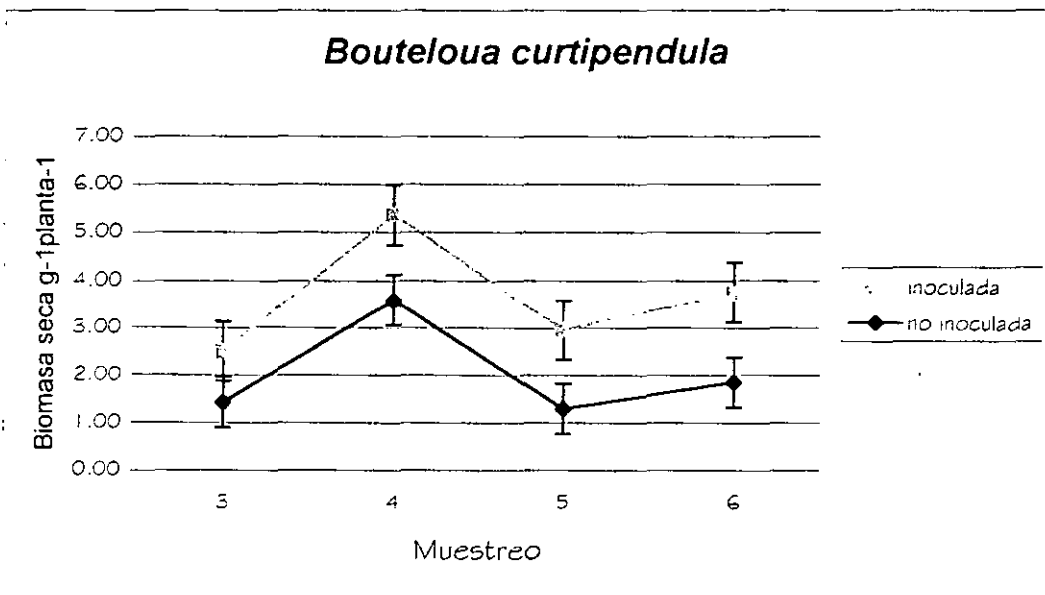
Gráfica10. Área foliar *Bouteloua curtipendula*.

El área foliar es un parámetro sensible a los cambios ambientales, en particular a la temperatura y humedad presente en el sistema, por lo que presenta variación con el transcurso del tiempo, particularmente en el caso de *Bouteloua curtipendula* quien presenta mucha variación en sus respuestas como resultado de su forma de vida, principalmente por lo costoso que le resulta la producción de su follaje, de manera que en estas especies es en el follaje donde se notará cualquier cambio ambiental.

El incremento en el área foliar puede ser extrapolado como un aumento en la producción de fotosintetatos, lo que apoyaría que las plantas con mayor área sean las más colonizadas, ya que como lo indican Liu *et al.*, (2000) para las plantas con relación vástago/raíz mayores, deben satisfacer la demanda de fotosintetatos de las micorrizas que hospedan, para que a su vez, estas exploren una mayor área y les provean los nutrientes necesarios.



Gráfica 11. Biomasa seca g⁻¹ planta⁻¹ para *Acacia farnesiana*



Gráfica 12. Biomasa seca g⁻¹ planta⁻¹ para *Bouteloua curtipendula*

c) Rendimiento en biomasa seca

Biomasa aérea tratamiento $^{-1} \text{g planta}^{-1}$				
Edad (muestreo)	<i>A. farnesiana</i>		<i>B. curtipendula</i>	
	inoculada	testigo	inoculada	testigo
45 días (3)	2.83	2.48	2.50	1.43
60 (4)	3.02	1.86	5.36	3.59
75 (5)	3.62	2.49	2.96	1.29
90 (6)	3.55	1.59	3.75	1.86

Cuadro 8.. Biomasa para las especies silvestres en los últimos cuatro muestreos

En el cuadro 8, se muestran los valores para la biomasa en peso seco que sólo pudo ser medida a través de la parte aérea, debido a que los valores para raíz seca no se pudieron obtener ya que se usaron las raíces para los ensayos de colonización total, se observa un incremento en el rendimiento para las plantas inoculadas de *Acacia farnesiana*, mientras que para las de *Bouteloua curtipendula*, la tendencia inicial fue hacia un aumento de la biomasa, alcanzando el mayor valor en la segunda fecha (30 días), después decae y se incrementa ligeramente en la última fecha, sin embargo el comportamiento de las curvas entre las plantas inoculadas y las no inoculadas, fue similar a lo largo del experimento, esto se observa de manera muy clara en la gráfica 12.

d) Relación vástago/raíz

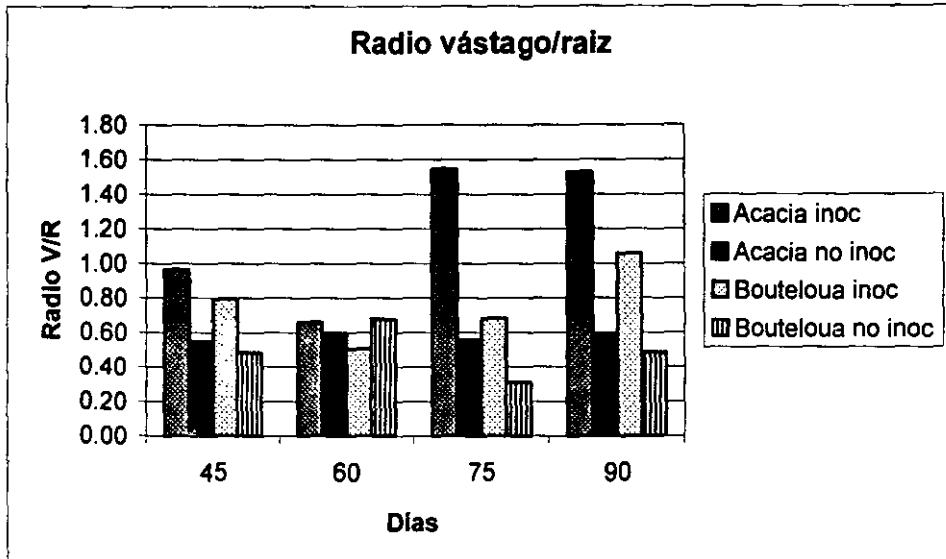
Como se puede ver los resultados se podrían dividir y no habría una clara tendencia sobre a cual de las dos plantas nativas realmente le beneficia más la asociación micorrízica, así que a continuación se presentan los valores de la relación vástago/ raíz para las dos especies y sus diferentes tratamientos de manera que se observa que, efectivamente, el mayor rendimiento lo obtiene *Acacia farnesiana* inoculada, seguida por *Bouteloua curtipendula* inoculada, aunque por una gran diferencia, los dos testigos (ambas especies) no presentaron realmente diferencias en el radio, lo que demuestra que éste parametro es realmente afectado por la inoculación micorrízica.

Los datos se presentan en la cuadro 9 y la gráfica 13

Relación vástago/raíz				
Edad (muestreo)	<i>A. farnesiana</i>		<i>B. curtipendula</i>	
	Inoculada	testigo	Inoculada	testigo
45 días (3)	0.96	0.55	0.79	0.48
60 (4)	0.66	0.59	0.50	0.68
75 (5)	1.54	0.55	0.68	0.31
90 (6)	1.52	0.58	1.05	0.48

Cuadro 9. Relación vástago / Raíz, para todos los tratamientos considerados

Esta relación muestra que para *A. farnesiana* el crecimiento de las plantas inoculadas es tres veces mayor que para las no inoculadas, mientras que para *Bouteloua curtipendula* es de sólo dos veces mayor.



Gráfica 13. relación, vástago /raíz

La relación Vástago/Raíz que demuestra que la raíz en las plantas micorrizadas es más pequeña, lo que sugiere que las Micorrizas están jugando un papel decisivo en la toma tanto de nutrimentos como de agua, que de acuerdo a los resultados de Kothari *et al.*, (1990), puede ser reflejado en otros cambios morfológicos en la raíz, no solo en el tamaño, sino también en la exodermis radical que facilitarían la toma de agua y el transporte de nutrimentos.

La simbiosis planta MA usualmente incrementa la biomasa de la planta y la fotosíntesis y dirige el flujo de una fracción significativa de los fotoasimilados de su hospedero al hongo, los estimados varían pero las plantas pueden dirigir del 4 al 20% más de fotoasimilado al sistema radical micorrizado. (Bago y Azcón, 2000), como la biomasa no fue medida en raíz debido a que no se tenían datos de raíz seca puesto que se usaron las raíces para las evaluaciones de colonización, sólo se puede hablar de ella como un resultado más de la actividad fotosintética, de cualquier manera, el comportamiento es el mismo que

más de la actividad fotosintética, de cualquier manera, el comportamiento es el mismo que con el área foliar, aquellas plantas más colonizadas presentaron un mayor rendimiento expresado en biomasa seca como lo muestran la tabla 8 y las gráficas 11 y 12.

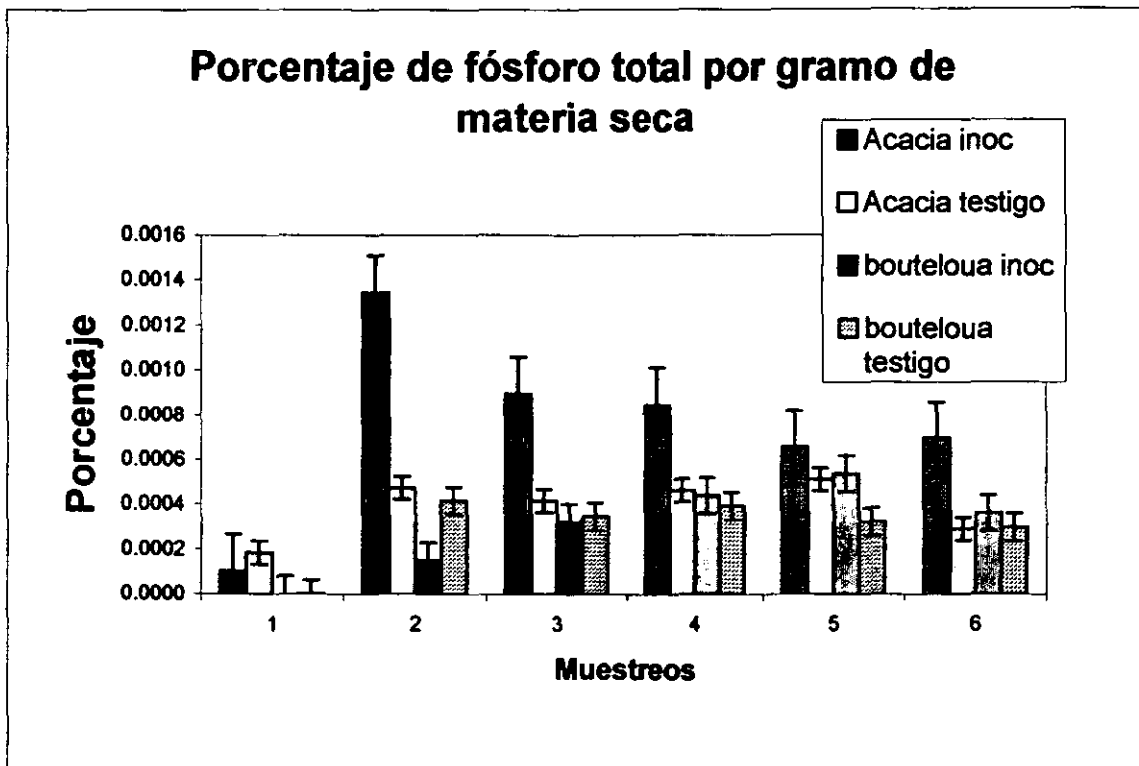
II.3 Fósforo Total

Finalmente el último parámetro que se presenta es el referente al fósforo, los resultados y graficas para fósforo se presentan en las siguientes figuras (cuadro 10 y gráfica 14).

Edad (muestreo)	Porcentaje de fósforo por gramo de materia seca			
	<i>Acacia farnesiana</i>		<i>Bouteloua curtipendula</i>	
	Inoculadas	No inoculadas	Inoculadas	No inoculadas
15 días (1)	0.00010	0.00019		0.00000
30 (2)	0.00135	0.00048	0.00015	0.00042
45 (3)	0.00090	0.00042	0.00032	0.00035
60 (4)	0.00085	0.00047	0.00044	0.00039
75 (5)	0.00066	0.00051	0.00054	0.00032
90 (6)	0.00070	0.00029	0.00036	0.00030

Cuadro 10. Concentración de fósforo total en tejido foliar de ambas especies

En cuanto al fósforo, como es sabido éste es un elemento muy importante que cuando es limitante fomenta la micorrización (Chiariello *et al.*, 1982). Además un incremento en la asimilación de fósforo puede traducirse en un incremento en la relación vástago/raíz (Liu *et al.*, *op cit*), de manera que se esperaba que fuera *A. farnesiana* quien presentará una mayor cantidad de fósforo en tejido ya que fue la especie que mayor coeficiente vástago/raíz tuvo y rendimiento en biomasa.



Gráfica 14. Concentración de fósforo en ambas especies y sus tratamientos

No se observan claras diferencias en cuanto al contenido de fósforo en el tejido vegetal hacia el final del experimento, es durante el segundo muestreo existe un evidente aumento de cerca del triple para *A. farnesiana* y del doble para *B. curtipendula* con respecto a sus testigos, lo que indicaría que durante el periodo en el que se tomó el segundo

muestreo, (abril), la toma de fósforo fue mayor en las plantas inoculadas, esto se explica por que las plantas necesitaban un mayor aporte del elemento para incrementar su crecimiento rápidamente, medido en altura y área foliar, crecimiento que va disminuyendo conforme transcurre el tiempo, en *B. curtispindula* porque iniciará la etapa de floración y en *A. farnesiana* porque entrará en una etapa de letargo.

La homogeneidad de las condiciones ambientales generadas por el invernadero y la fertilización semanal (a pesar de ser baja en fósforo), hace no necesario que la micorriza mantenga su aporte elevado de fósforo a la planta y por lo tanto se conservó más o menos constante la cantidad de fósforo total presente en el vástago.

De manera particular para el pasto la tendencia muestra un incremento en la cantidad de fósforo durante los muestreos intermedios y al parecer la tendencia es hacia el aumento en la cantidad de fósforo total al igual que para los huizaches, no se observa que la micorrización haya beneficiado a *B. curtispindula* en con un aporte mayor de fósforo total, esto se puede explicar debido a que este pasto tiene un sistema radical lo que le permite explorar una mayor área de suelo (en comparación con los huizaches), lo que, de acuerdo a Lynch (1995) repercutiría en una mayor efectividad en la exploración de un volumen mayor de suelo, minimizando el valor de las hifas extraradicales, por lo menos en condiciones de invernadero.

Las diferencias para los contenidos de fósforo entre especies que se presentaron son consistentes con los resultados de Zhu *et al.*, (2000) quienes encuentran que a las características de las raíces son determinantes, siendo las del pasto raíces más grandes pueden explorar un mayor volumen de suelo, sin embargo en el caso de *A. farnesiana*, la colonización resulta necesaria puesto que seguramente no ha alcanzado el máximo de desarrollo, debido a lo largo de sus etapa de plántula, y es por ello que depende más de la inoculación en esta etapa.

Sin embargo las plantas siguen presentando condiciones deficientes de fósforo ya que como lo reporta Marschner (1995) se considera que la mayoría de las plantas tiene deficiencia de este nutrimento cuando las cantidades presentes son menores del 0.2%, por lo que se puede decir que la micorrización no fue significativa al considerar este parámetro, este comportamiento puede deberse a las condiciones del experimento ya que se mantuvo

en un sustrato inerte y el único aporte de fósforo fue la solución nutritiva de Long-Ashtong, que resultó insuficiente para las plantas de 3 meses de edad.

II.5 Especies micorrízicas presentes en el Inóculo

Finalmente de las preparaciones que se hicieron para conocer los géneros presentes en el inóculo se obtuvieron los siguientes géneros: *Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, siendo el que más se encontró en cantidad de esporas y diversidad *Glomus* e incluso se pudieron distinguir cuatro diferentes morfoespecies de éste género, aunque sin llegar a su determinación.



Figura 17. Esporas de *Glomus spp* y *Sclerocystis spp*

Como lo reportan Sigüenza *et al.*, (1999) parece ser que las esporas son propágulos de menor importancia para algunas especies de *Glomus*, pero muy importantes para la mayoría de los hongos de los géneros *Acaulospora*, y *Scutellospora*, además es posible que las esporas más abundantes sea porque no encuentran raíces para colonizar, por lo que restaría conocer que especies y géneros de HMA son más infectivos en cada una de las especies vegetales consideradas y comparar su efecto con los resultados del inóculo mixto usado en este trabajo.

Aunque definitivamente el suelo es el sustrato más natural para llevar a cabo los estudios de MA, la dificultad para controlar sus características físicas y químicas y su actividad biológica pueden dificultar en ocasiones la interpretación de los resultados obtenidos (Bago *et al.*, 2000), se sugiere que los inoculos se masifiquen en un sustrato estéril y neutro aunque ello implique que para sostener algunos cultivos se deba utilizar una solución nutritiva y mantener a las plantas por periodos relativamente cortos.

Conclusiones.

Con base en los resultados es evidente que el uso del inóculo micorrízico facilitará la reintroducción de las especies silvestres utilizadas (*Acacia farnesiana* y *Bouteloua curtipendula*), a la zona de estudio ya que disminuirá el estrés por sequía al que se verían sometidas y serían más resistentes dado que se favorece su crecimiento y la adquisición de nutrimentos, principalmente fósforo, sin embargo hacen falta más evaluaciones del inóculo, en cuanto a su composición y su relación con un suelo completo y semejante al de la zona de estudio, antes de su introducción al ecosistema para garantizar el éxito de cualquier programa de repoblación vegetal.

Antes de utilizar el inoculo generado en este trabajo es conveniente evaluar plantas colonizadas con éste en campo, a fin de conocer sus ventajas en el ecosistema además de observar el efecto que otros factores pudieran tener sobre las plantas y que en esta ocasión pudieron ser controladas, como es el caso de la microbiota que no se agregó a las unidades experimentales pero que estará presente en el ambiente natural. De manera que no es posible recomendar el inoculo para la repoblación vegetal sin antes evaluar sus resultados en campo.

Finalmente las siguientes son las conclusiones que se obtienen del presente trabajo:

* La mejor especie masificadora para el inóculo mixto nativo a Santiago de Anaya resultó el Jitomate (*Licopersicum sculentum*)

* El inóculo mixto nativo permite una eficiente colonización de las especies estudiadas, principalmente de *Acacia farnesiana*

* La inoculación resultó más ventajosa desde el punto de vista del crecimiento para *Acacia farnesiana* debido a su condición de plántula durante el experimento.

* En ambas especies se obtuvieron mayores rendimientos cuando fueron inoculadas.

* Se considera en general que el inoculo tiene una alta potencialidad, (medida como porcentaje de colonización) y particularmente para *Acacia farnesiana*.

Bibliografía.

- Allen, Edith. 1989. La restauración de zonas áridas perturbadas con especial referencia a los hongos micorrízicos. *Journal of Arid Enviroments*. 17:279-286.
- Allen, M.F. 1991. *The ecology of Mycorrizae*. Cambridge University Press.
- Arroyo, A. V. y M Martínez. 1997. Efecto de la doble inoculación, MVA y *Azospirillum*, en cultivos de Maíz (*Zea mays*) de dos sitios del estado de México. Tesis. UNAM. FES - Zaragoza.
- Arroyo, A. V., Martínez, M., y M de Jesús Sánchez C. 1998. Efecto de las Micorrizas Vesículo Arbusculares (VA) en cultivos de maíz en dos sitios del Estado de México. . *In* : Avances de la investigación micorrízica en México. R. Zululeta R, M.A. Escalona, D. Trejo, Editores, 1998. Universidad Veracruzana
- Azcón-G C. Y J.M. Barea. 1980. Micorrizas. *Investigación y Ciencia* (47):8-16.
- Bainbridge, D.A. 1990. The restoration of agricultural ds and drylands. *In*: Environmental restoration Science and strategies for restoring the Earth. John J. Burger. Restoring THE Earth. Islan Press. USA.
- Bago, B., Pfeffer P., y Shachar-Hill Y. 2000. Carbon Metabolism and transport in arbuscular mycorrizas. *Plant Physiol* 124:949-959
- Bago, B, Azcón, A.C., Shachar, H. Y. Y P.E. Pfeffer., 2000. El micelio externo de la micorriza arbuscular como puente simbiótico entre la raíz y su entorno. *in* : Ecología, fisiología y biotecnología de la Micorriza Arbuscular, A. Alarcón y R Ferrera-Cerrato. Editores., IRENAT-Colegio de Postgraduados, Montecillo. Mundi Prensa México
- Barea, J. M. 1998. "Biología de la rizosfera". *Investigación y Ciencia*. Núm. 256
- Barker, S.J., Tagu, D., y G., Delp. 1997. Regulati of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbioses. *Plant Physiol*. 116: 1201-1207.
- Bentivenga, S.P. y J. B. Morton. 1996. Congruence of fatty acid methyl ester profiles and morphological characters of arbuscular mycorrhizal fungi in Gigasporaceae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93: 5659-5662.
- Biermann B, Linderman RG (1983) Effect of container plant growth medium and fertilizer phosphorus on establishment and host growth response to vesicular-arbuscular mycorrhizae. *J Am Soc Hortic Sci* 108 : 962-971
- Bonfante P., Perotto, S. 1995. strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytol* 130: 3-21.
- Boyer, J.S., 1982. Plant Productivity and environment. *Science*. 218: 443-448.
- Brundett M., Bougher N, Dell B, Grave T y N. Malajczuk. 1996. Working with Mycorrhizas in forestry an Agriculture. Australian Centre for international Agr. Res. Monograph 32, Canberra. 374 pp.

- Buckman H.O. y N.C. Brady. 1991. Naturaleza y Propiedades de los Suelos. Limusa UTEHA. 4ª Edición. México.
- Begon, M., Harper J.L. y CR.Townsend.1995. Ecología, individuos poblaciones y comunidades. Omega, Barcelona. España.
- Camprubí, A., Estaún, V., Calvet, C., Pera, J., 1990. Infectivity and effectivity of *Glomus mosseae* in four different species of medicinal plants. *Symbiosis* 9:305-307.
- Chamizo-Checa, L.Varela y A. Estrada-Torres. 1998. Abundancia y composición de especies de hongos micorrízicos Arbusculares en un sistema de policultivo. *In* : Avances de la investigación micorrízica en México. R. Zululeta R, M.A. Escalona, D. Trejo, Editores, 1998. Universidad Veracruzana
- Chiariello n., Hickman J.C. y H. Mooney. 1982. Endomicorrhizal role for interspecific Transfer of Phosphorus ina comunity of Annual Plants. *Science* 217:941-943.
- Clarck, R. B. 1997. Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization & host plant growth and mineral adquisition at low pH. *Plant & Soil* 192:15-22.
- Corkidi, L., y E. Rincón. 1998. Micorrizas Arbusculares e un ecosistema de dunas costeras del Golfo de México. *In* : Avances de la investigación micorrízica en México. R. Zululeta R, M.A. Escalona, D. Trejo, Editores, 1998. Universidad Veracruzana
- Cruz, R. J.A. 1992. Interacciones entre los estratos arboreo y arbustivo con la vegetación herbácea en una zona de matorral en el valle de Actopan, Hgo. Tesis de licenciatura en biología. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
- Cuenca, G y M. Lovera. 1992. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae in disturbed & Revegetated sites from La Gran Sabana, Venezuela. *Can. J. Bot.* Vol. 70
- Daniell, T.J. Hodge, A. Young, P y Fitter A. How many fungis does it takes to change a plant community?. *Trends in Plant Science.* 4:3,81-82.
- Degens , B.P., Sparling, G.P.Abbott, L.K.1996. Increasing the length of hyphae in a sandy soil increases the amount of water-stable aggregates. *Applied Soil Ecology* 3:149-159
- Dixon,R., 1990. Land imprinting for Dryland Revegetation and restoration. *In*:Environmental restoration Science and strategies for restoring the Earth.John J. Burger. Restoring THE Earth. Islan Press. USA.
- Estaún, V., Savé, R y C. Biel. 1997. AM inoculation as a biological tool to improve plant revegetation of a disturbed soil with *Rosmarinus officinalis* under semi-arid conditions.*Applied Soil Ecology*, 6: 223-229.
- Estabrook, E., y J.I.Yoder.1998.Plant-PlantCommunications: Rhizosphere Signaling between Parasitic Angiosperms and Their Hosts *Plant Physiol* 116: 1-7

- Ferrera-Cerrato, R., González, Ch.M.C.A. y M.M. Rodríguez. 1993. Manual de Agromicrobiología. Ed. Trillas. México
- Fitter, A.H. y B. Moyersoen. 1996. Evolutionary Trends in root-microbes symbioses. Phil. Trans. R. Soc. Lond. 13:351, 1367-1375.
- Frioni, Lillian, H. Minasian, R. Volfovicz, 1999. Arbuscular Mycorrhizae and Ectomicorrhizae in Native Tree legumes in Uruguay. Forest ecology and Management 115:41-47.
- Gould, W.F. y R.B. Shaw. 1992. Gramíneas, Clasificación Sistemática. AGT editores. México, 381pp
- Gosz, R.J. y J.R. Gosz. 1996. Species interactions on the biome transition zone in New Mexico: Response of blue grama (*B. gracilis*) & black grama (*B. eripoda*) to fire & herbivory. Journal of arid Enviroments 34: 101-114
- Guzmán-Plazola, R. A. Y R. Ferrera-Cerrato. 1990. La endomicorriza VA en las leguminosas. Edit. Centro de edafología. Col de Postgraduados. Montecillo, México.
- Harrison. M.J. 1997. The arbuscular mycorrhizal simbiosis: an undergroun asociation. Trends in Plant Science. 2:2,54-60.
- Harrison, M.J. y van Buuren M. 1995. A phosphate transporter from the micorrhizal fungus *Glomus versiforme* . Nature 378(6557):626-629.
- Harley, J.L. y S.E. Smith, 1983. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press. Londres. 583 pp.
- Helgason, T, Darniell, T. J., Husband R., Fitter, A.H. y J.Pw. Young. 1998. Ploughing up the Wood Wide Web. Nature 394:431
- Hussey, R.S., Rondocadori, R.W., 1982. Vesicular Arbuscular Mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. Plant Dis. 16:9-14
- Isaac, Susan, 1992. Fungal-plant interactions. The University Printing House, Cambridge, gran Bretaña.
- Jacobson, K- 1997. Moisture and substrate stability determine VA-mycorrhizal fungal communitu distribution and structure in an arid grassland. Journal of Arid Environments. 35:59-75
- Jasper, D.A., 1994. Management of mycorrhiza in revegetation. Dev. Plant Soil Sci. 56:211-220.
- Jasper, D.A., Abbott, L.K. y A.D. 1993. The survival of infective hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in root. New Phytol. 124: 473-480.
- Jasper, a y A . Dacy . 1993. Root characteristics of native plants species in relation to the benefit of mycorrhizal colonization for phosphorus uptake, Plant And Soil 155/156: 281-284
- Jungk, A., Seeling B., y J Gerke. 1993. Mobilization of different phosphate fractions in the rhizosphere. Plant Soil 155/156: 91-94

- Kothari, S.K., Marshner, H., George, E., 1990. Effect of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations in maize. *New Phytol.* 116: 303-311.
- Le Tacon, F. 1985. Las micorrizas, una cooperación entre plantas y hongos. *Mundo Científico* 5(49):776-784.
- Linderman RG (1988) Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopath* 78: 366–371 citado en *Mycorrhiza* (1996) 6:91–97
- Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R.I. y D.L. Smith. 2000. Mycorrhizae formation and nutrient uptake of new corn (*Zea mays* L.) hybrids with extreme canopy and leaf architecture as influenced by soil N and P levels. *Plant and Soil* 221:157-166
- Lovera, M., y G. Cuenca. 1996. Arbuscular mycorrhizal infection in Cyperaceae and Gramineae from natural, disturbed and restored savannas in La Gran Sabana, Venezuela *Mycorrhiza* 6 : 111–118
- Lynch J. 1997. Root architecture and plant productivity. *Plant Physiol* 109:113.
- Marshner, H. 1992 Nutrient dynamics at the Soil-Root interface (Rhizosphere). *in* mycorrhizas in ecosystems edited by D.J. Read, D. H. Lewis, A. H. Fitter y J. Alexander. CAB international. U.K. pp 3-12
- Marshner, 1995 . *Mineral Nutrition in Higher Plants*. 2 ed. Academic Press London.
- McGee, P.A. Pattinson, G.S., Heath, R.A., Newman, C.A., Allen, S.J., 1997. Survival of propagules of arbuscular mycorrhizal fungi in soils eastern Australia used to grow cotton. *New Phytologist* 135:773-780.
- McVaugh, R. 1987. *Flora novo galiciana. A descriptive account of the vascular plants of western Mexico. Vol 5. Leguminosae.* W.R. Anderson. Editor. Ann Arbor. The University of Michigan Press.
- Mitsukawa, N., Okumura, S., Shirano, Y., Sato, S., Kato, T., Harashima, S., y D. Shibata. 1997. Overexpression of an *Arabidopsis thaliana* high-affinity phosphate transporter gene in tobacco cultured cells enhances cell growth under phosphate-limited conditions *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94, 7098–7102
- Morton, J.B., Benny, G.L., 1990. Revised Classification of arbuscular Mycorrhizal fungi (Zigomicetes): a new order, Glomales, Two new suborders, Glominae and Gigasporinae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an amendment of Glomaceae. *Mycotaxon* 37, 471-491.
- Morton, J.B., S.P. Bentivenga. 1994. Levels of diversity in endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes) and their role in defining taxonomic and non-taxonomic groups. *Plant Soil* 159:47-59.
- Morton, J.B. y D. Redeck, 2001. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera Archaeospora and Paraglomus, based on a concordant molecular and morphological characters. *Mycologia*, 93:1, 181-195.
- Muchna, U.S., J.M. Pardo y K. G. Raghothama, 1996. Phosphate transporters from the higher plant *Arabidopsis thaliana* (ion uptake yeast complementation). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 93:10519–10523.

- Munro R.C., Wilson J, Jefwa, J., y K.W. Mbutia. 1999. A low-cost method of mycorrhizal inoculation improves growth of *Acacia tortilis* seedlings in the nursery. *Forest Ecology and Management* 113 :51-56
- Munyanziza, E., Kehri, H.K y D.J. Bagyaraj. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agro-ecosystem function in the tropics: The role of mycorrhiza in crops and trees. *Applied Soil Ecology* 6:77-85
- Niembro, R.A. 1990. Árboles y Arbustos útiles de México. Limusa-Noriega. 2ª reimpresión. México, 206 pp
- Paul, E.A. y F.E. Clark. 1989. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press Inc. San Diego California. EUA.
- Phillips, J.M., Hayman, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans.Br.Mycol. Soc.* 55: 158-160.
- Pfeffer, P.E., Douds Jr., Guillaume Be'card, y Y. Shachar-Hill. 1999. Carbon Uptake and the Metabolism and Transport of Lipids in an Arbuscular Mycorrhiza. *Plant Physiology*, 120:587-598,
- Pinochet, J., Calvet, C., Camprubi, A., Fernández, C., 1996. Interactions between migratory endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal fungi in perennial crops: a review. *Plant Soil* 185: 183-190.
- Read D.J. 1991. Mycorrhizas in Ecosystems- Nature's Response to the "Law of the Minimum". *In: Frontiers in Mycology. Honorary and General Lectures from the fourth International Mycological Congress, Regensburg, Germany.* Editado por D.L. Hawsworth. CAB international 1991. UK
- Remy, W., Taylor, T.N., Hass, H., Kerp, H., 1994. Four Hundred million-years-old vesicular arbuscular mycorrhizal. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91:11841-11843.
- Requena, N., Jeffries, P., Barea, J.M., 1996. Assessment of natural mycorrhizal potential in a desertified semiarid ecosystem. *Applied Environmental Microbiology* 62, 842-847.
- Rhodes, L.H. y J.W. Gerdermann. 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non mycorrhizal onions. *New Phytol.* 75:555-561.
- Rubio R, Cepeda M, Borien F. Y A. Contreras. 1997. Efecto de hongos micorrizógenos arbusculares sobre el crecimiento de algunas hortalizas en almácigo y posterior trasplante. *Agricultura Técnica (Chile)* 57(3):161-168
- Ryan, N.A., E.M. Duffy, A.C. Cassells, P.W. Jones. 2000. The effect of mycorrhizal fungi on the hatch of potato cyst nematodes. *Applied Soil Ecology* 15:233-240.
- Rzedowski, J. 1994. *La vegetación de México*. Limusa, México.
- Salazar, Pedro. 1997. *Difusión ecológica: una estrategia para el mejoramiento integral del ambiente, en Los suelos de Tabasco, Restauración conservación y uso.* Gobierno Constitucional del estado de Tabasco.
- Sánchez, S, Oscar. 1980. *La flora del Valle de México*. Editorial Herrera, 6ª edición, México. 519pp

- Sanders, F.E. y N.A. Scheikh . 1983. The development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in plant root systems. *Plant and Soil*. 71:223-246.
- Schachtman, D.P. Reid, R.J. y S.M. Ayling. 1998. Phosphorus uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiol*. 116:447-4
- Schenck, N e Y. Pérez. 1994. *Manual for the identification of VA Mycorrhizal Fungi*. Synergistic Publications. USA.
- Sharma, K.D. 1998. The hydrological indicators of desertification. *Journal of árid Environments* 29.121-132.
- Sigüenza, C., Espejel, I., y E.B. Allen. 1999. Seasonality of mycorrhizae in coastal sand dunes of Baja California. *Mycorrhiza* 8 : 305-314
- Simon, L., Bousquet J., Lévesque R.C. y M Lalonde. 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular plants. *Nature* 363: 67-69
- Smith, S. E. y D.J. Read. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press London.
- Staddon, P.L. y A.H. Fitter. 2001. The differential vitality of intraradical mycorrhizal structures and its implications.
- Theodorou, M.E. y W.C. Plaxton. 1993. Metabolic adaptations of plant respiration to nutritional phosphate deprivation. *Plant Physiol*. 101:339-344.
- Tisdale, S.L. y W.L. Nelson. 1991. *Fertilidad de los suelos y fertilizantes*. Limusa-UTEHA. México.
- Van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, P., Boller, T., Wiernken, A. y Sanders, I.R. 1998. Mycorrhizal Fungal diversity determines plant biodiversity ecosystem variability and productivity. *Natur* 396, 69-72
- Valdés, M. 1989. "Aspectos ecofisiológicos de las Micorrizas. *Boletín de la sociedad Botánica de México*. 49:19-30
- Varela F. L., y A. Estrada-Torres. El papel de los microorganismos de la rizosfera y de la micorriza en la absorción de nutrientes minerales y agua. En prensa
- Vimard B. M. St-Arnaud V. Furlan y J.A. Fortin. 1999. Colonization potential of in vitro-produced arbuscular mycorrhizal fungus spores compared with a root-segment inoculum from open pot culture. *Mycorrhiza* 8 : 335-338
- Walker, .2001. Curso taller de taxonomía de HMA., Jalapa Veracruz
- West, H.M. 1996. Competition between *Holcus lonatus* and *Dactylis glomerata*. *Ecology*. 1996. 84:426-438.
- Wright, S.F., Upadhyaya, A., 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci*. 161: 575-586.
- Zhu, Y.G., Laidlaw, A.S., Christie, P., y M.E.R. Hammond. 2000. The specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in perennial ryegrass-white clover pasture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 77: 211-218.
- Atlas mundial , ENCARTA. Microsoft, 1993-1996.

- ref.1. <http://treeoflifenuresery.com/>
ref.2. [www.fs.fed.us/database/feis/plants/graminoid7boucur/value and use.html](http://www.fs.fed.us/database/feis/plants/graminoid7boucur/value_and_use.html)
ref.3. www.ff.csiro.au/research/mycorrhiza/vam.html
ref.4. [//beta.semarnap.gob.mx/pfnm/AcaciaFarnesiana/](http://beta.semarnap.gob.mx/pfnm/AcaciaFarnesiana/)
ref.5. www.guiaverde.com
ref.6. [//beta.semarnap.gob.mx/pfnm/BoutelouaCurtipendula/](http://beta.semarnap.gob.mx/pfnm/BoutelouaCurtipendula/)
ref.6. <http://www.sequia.edu.mx/articulos/hge-01.html>
ref.8. <http://dgpa2.comadrid.es/agricultura/boletin/24072000/leguminosas.html> (Ing. Agr. Javier Gil y Dr. Eusebio F. de Andrés)

Anexo 1

a) Solución Nutritiva Long Ashton (LANS) Dr. Fred T. Davies Jr., Horticulture & ForestScience Dpt, Texas A&M University

Soluciones Stock	g/L	Cantidad de Stock (ml) para 1L
KNO_3	80.8	5 ml
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	73.6	5 ml
$Ca(NO_3)_2 \cdot H_2O$	188.8	5 ml
$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	36.8	1.25 ml para 10.25 ppm
Elementos traza	-	1 ml
Citratos (añadir justo antes de fertilizar)	-	5 ml

Elementos traza	g/l
$MnSO_4 \cdot H_2O$	1.69
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.25
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.29
H_3BO_3	3.10
NaCl	5.9
$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot H_2O$	0.088

Solución Citratos	g/l
$FeC_6H_5O_7$	4.9
$H_3C_5H_2O_7$	4.9

b) Solución Colorante para raices

a) Azul de tripano en Lactoglicerol, 0.05% (0.0005g/ml)

b) Lactoglicerol: Acido Láctico 85% 500 ml

Glicerol 500ml y Agua destilada 100 ml

c) Solución extractora de Morgan:

Para la evaluación de fósforo

100 g de acetato de sodio trihidratado disueltos en 500 ml de agua destilada, agregar 30 ml de ácido acético glacial, aforar a un litro y ajustar pH a 4.8 con ácidoacético o Hidóxido de sodio.

d) Solución tipo de Fosfatos 25 ppm;

Para la evaluación de fósforo

Se disuelven 1.1098 g de difosfato de potasio en un litro de solución extractora de morgan