



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

CONTRIBUCIÓN DEL MICELIO EXTERNO DE  
MICORRÍZAS ARBUSCULARES EN LA AGREGACIÓN DE  
UN SUELO CON PROBLEMAS DE EROSIÓN EN CHAMELA,  
JALISCO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

STEPHANELLA CRYSTAL PÉREZ BOLAÑOS

TUTORA

DRA. MARÍA DEL PILAR ORTEGA LARROCEA

2008





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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

Votos Aprobatorios

**Act. Mauricio Aguilar González**  
**Jefe de la División de Estudios Profesionales**  
**Facultad de Ciencias**  
**Presente**

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

**Contribución del micelio externo de micorrizas arbusculares en la agregación de un suelo con problemas de erosión en Chamela, Jalisco**

realizado por **Pérez Bolaños Stephanella Crystal** con número de cuenta **0-9423987-4** quien opta por titularse en la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dra. María del Carmen Ángeles González Chávez

Propietario Dra. Helena Cotler Ávalos

Propietario Tutor Dra. María del Pilar Ortega Larrocea

Suplente Biól. Víctor López Gómez

Suplente Biól. Diego Olivera Morales

Atentamente,

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Ciudad Universitaria, D. F., a 31 de enero de 2008

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

DR. ZENÓN CANO SANTANA

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA  
DE BIOLOGÍA

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

Esta tesis la dedico...

A Mí,  
por afrontar las adversidades y superarlas  
y llegar a lo que me propongo.

A mi pequeña Aida Valentina  
que es lo mas bello en mi vida.

A Rafa,  
el amigo, confidente, compañero y pareja  
por enseñarme a ser fuerte y por quererme tanto.

A Dulce(†), Plus(†), Gody(†), Nicé(†), Jerry I(†), Jerry II  
y mis pequeñas Lya(†), Mia(†) y la Flaca (†)  
por todo su cariño y compañía,  
los extraño mucho.

A Tita,  
la amiga,  
por su amistad y apoyo  
durante mi gran tormenta interna.

A mi familia,  
por apoyarme durante mi carrera.

A Mamá Yzzy y a Nancy,  
por quererme tanto.

Con cariño especial a  
Mamá Conchita (†),  
Yo sé que te hubiera gustado  
estar en estos momentos,  
en donde quiera que estés.

A todos los  
que han estado conmigo  
en los momentos alegres y en los menos afortunados  
y me han demostrado el valor de una amistad y su amor.

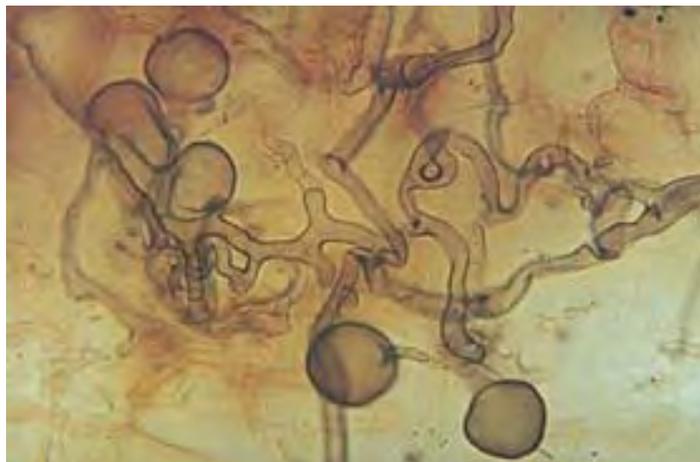
La ciencia es la más grande historia de detectives,  
una trama continúa que retiene de por vida a su  
público,  
donde las controversias entre los personajes de hoy  
son,  
como siempre, conspicuas y divertidas.

John Radder Platt, 1962.

“La vida es aquello que pasa en  
cuanto hacemos planes para el futuro”

John Lennon

*A ustedes...*



*Quiénes me enseñaron que con su presencia  
agregan las primeras partes de un todo.*

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María del Pilar Ortega Larrocea, directora de la presente tesis, que siempre me apoyó para poder concluir esta bella investigación. Por todas sus valiosas recomendaciones, aportaciones y tiempo dedicado. Asimismo, quiero manifestarle mi más profundo y sincero agradecimiento ya que aparte de ser mi directora ha manifestado su calidez humana apoyándome moralmente brindándome su comprensión. Por depositar su confianza en mí.

A la Dra. Helena Cotler del Instituto Nacional de Ecología (INE), por su asistencia en el trabajo de campo, su colaboración académica, por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo, así como por sus comentarios y sugerencias que llevaron al mejoramiento del mismo.

A la Dra. Ma. Del Carmen González Chávez del Colegio de Posgraduados, por su apoyo en el trabajo de extracción de glomalina en laboratorio, su colaboración académica, material proporcionado para las pruebas de viabilidad y por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo, así como por sus comentarios y sugerencias que llevaron al mejoramiento del mismo.

A Biól. Víctor López Gómez y al Biól. Diego Oliviera Morales, por dedicarle tiempo a la revisión de este trabajo, así como por sus comentarios y sugerencias que llevaron al mejoramiento del mismo.

A la M. en C. Kumiko Shimada Miyasaka y a la M. en C. Andrea F. Herrero del laboratorio de Edafología Ambiental del Instituto de Geología de la UNAM por su apoyo técnico y espacio proporcionado en las actividades de laboratorio.

A Dr. Ricardo Mondragón Ceballos y a la Dra. Leonor Hernández López, por el gran apoyo y amistad brindado durante mi servicio social realizado en el Laboratorio de Etología del Instituto Nacional de Psiquiatría "Dr. Ramón de la Fuente Muñiz". Gracias por todo lo que me enseñaron y el apoyo incondicional que me proporcionaron.

A la M. en C. Mónica Rangiel Villafranco del laboratorio de Microcosmos del Instituto de Geología de la UNAM, por su apoyo técnico y espacio proporcionado en las actividades de laboratorio así como su colaboración académica.

A Biól. Israel Cárdenas Camargo por su colaboración académica, comentarios y sugerencias que llevaron al mejoramiento de la presente tesis.

A mis compañeras y compañeros de laboratorio de Microcosmos del Instituto de Geología, con quienes compartí gratos momentos y fueron de gran ayuda y apoyo durante la realización de esta tesis.

A Sébastien Tisné y Lyse Longueville de la École Nationale Supérieure d'Agonomie de Montpellier y Nancy, Francia, por la determinación de glomalina en laboratorio durante su estancia de verano.

A Dr. Adolfo Andradé del laboratorio de la Unidad de Ambientes Controlados de la Facultad de Ciencias, por permitirme hacer uso de la infraestructura del Invernadero a su cargo, así como el apoyo para la realización de esta tesis.

A los Srs. informantes de la Estación de Biología de Chamela, Sr. Ceilio Prceiado de la localidad de San Mateo y al Sr. Ramiro Peña del Municipio de la Huerta, por las semillas de los pastos que nos obsequiaron para esta investigación y que nos sirvieron como hospederos.

A la M. en Ped. Aida Hernández Fernández, quien me apoyo para que continuara con la realización del trabajo experimental de mi tesis.

A la banda "Gruby", amigos de generación y de parrandas de la Facultad de Ciencias, por las porras que me daban para que terminara con mi tesis, en especial a Anahí, Carlitos, José Luis (†), Elidia.

A mis amigos del museo UNIVERSUM de la Sala "Coschando el Sol", Nicolé, Israel, Liliana, Rodrigo, Esteban y José Luis Tznango, que desde que me conocieron me brindaron su amistad incondicional y han sido un pilar importante para superar todas mis penas y participar con mis alegrías.

A mi gran amigo de UNIVERSUM, Jorge Alberto Trejo Márquez, por el gran apoyo que siempre me ha brindado y los gratos momentos que pasamos juntos.

A mis compañeros y amigos del museo UNIVERSUM de la Casita de las Ciencias del Programa PROFANIC y Ciencia en las escuelas, en especial a la Biol. Guillermina de Francisco, Nicolé, Rodrigo, Maggys, Maritza, Jessi, que desde que me conocieron me brindaron su amistad incondicional y han sido un pilar importante para superar todas mis penas y participar con mis alegrías.

A la Biol. Gabriela Jiménez Casas, por el gran apoyo incondicional que me ha brindado a mí y a mi familia.

A Esteban Jorge Galarza por su amistad y el apoyo que me ha brindado desde el momento en que lo conocí.

A la Familia López Gómez, mi Familia política, por el apoyo brindado en los momentos más difíciles y por brindarme tantas atenciones y cariño cuando más lo he necesitado.

A mi familia, que me apoyó durante mi carrera y me ha enseñado ha demostrarme a mí misma que puedo llegar a todo lo que me propongo a pesar de todas las adversidades. Por creer en mí y quererme tanto.

#### A LAS SIGUIENTES INSTITUCIONES

A la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), mi alma mater.

Al Instituto de Geología por albergarme en la realización de esta tesis

A la Estación de Biología, Chamela, Jal. y a todo el personal de la estación por las facilidades prestadas durante el muestreo de mis suelos.

Esta tesis contó con los apoyos del Programa de Becas para la Elaboración de Tesis de Licenciatura en Proyectos de Investigación (PROBETEL) de la Dirección General de Evaluación y del Proyecto No. 45243 Conacyt Jóvenes a la Investigación: *Estudio de la agregación en un microcosmos experimental.*

# CONTENIDO

Resumen	9
I. Introducción	
1.1. Erosión del suelo	11
1.2. Restauración del suelo	13
1.3. Hongo micorrízicos arbusculares y su importancia	14
1.4. Micelio externo de los hongos micorrízicos arbusculares	15
1.5. Importancia del micelio externo de los HMA en la agregación del suelo	16
1.6. Glomalina	19
II. Sitio de muestreo	
2.1. Caracterización del sitio de muestreo	22
2.2. Topografía y suelos	23
2.3. Clima	23
2.4. Vegetación	24
2.5. Tipos de manejo	24
2.6. Ubicación del sitio de muestreo	25
III. Problemática	26
IV. Objetivos	
4.1. Objetivo general	28
4.2. Objetivos particulares	28
V. Métodos	
5.1. Levantamiento del perfil y muestreo en campo	29
5.2. Obtención de germoplasma para montaje de microcosmos	29
5.3. Pruebas de germinación y caracterización del inóculo micorrízico	30
5.4. Montaje de los microcosmos experimentales	31
5.5. Cosecha de microcosmos experimentales	34
5.6. Determinación de la estabilidad de agregados en húmedo	34
5.7. Caracterización de esporas y micelio externo de HMA en los microcosmos experimentales	35
5.8. Extracción de glomalina	36

VI. Resultados	
6.1. Descripción de soliem	37
6.2. Germinación de los pastos para selección del hospedero	37
6.3. Caracterización del inóculo	39
6.4. Densidad radical	42
6.5. Abundancia de esporas en los microcosmos después de la cosecha	42
6.6. Determinación de la estabilidad de los agregados (EA) y micelio externo (ME) de hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	45
6.7. Cuantificación de glomalina fácilmente extraíble (GFE) y total (GT)	49
VII. Discusión	51
VIII. Conclusiones	56
IX. Anexos y Apéndices	
Anexo 1. Determinación de la densidad aparente.	58
Anexo 2. Extracción de esporas de hongos micorrízicos arbusculares	60
Anexo 3. Preparación de Azul de Tripán	62
Anexo 4. Porcentaje de colonización micorrízica arbuscular	64
Anexo 5. Preparación de alcohol polivinílico lactoglicerol	67
Anexo 6. Cuantificación de biomasa radical	69
Anexo 7. Aclaración de raíces	72
Anexo 8. Determinación de agregados estables en agua por el método de Yoder	75
Anexo 9. Extracción y cuantificación de micelio externo de hongos micorrízicos arbusculares	80
Apéndice I. Micario de esporas de hongos micorrízicos arbusculares del laboratorio Microcosmos Bioedáfico	84
Apéndice IB. Micario de raíces colonizadas por hongos micorrízicos arbusculares del laboratorio Microcosmos Bioedáfico	92
X. Literatura citada	93

## Resumen

Se realizó un experimento en condiciones de invernadero para estudiar el efecto de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobre la agregación de un suelo a partir de fracciones de partículas < 0.5 mm, entre 0.5 y 1.0 mm, entre 1.0 y 2.0 mm y, una proporción de estas fracciones en relación 1:1:1 (v:v:v). El diseño experimental consistió en dos tipos de unidades denominadas microcosmos, cada una con dos compartimientos en uno de los cuales se sembraron semillas de pasto Guinea (*Panicum maximum* Jacq.) micorrizadas con un inóculo mixto de HMA proveniente de un suelo de selva transformado a pastizal de la Región de Chamela, Jalisco. En el otro compartimiento, se colocó únicamente el suelo sin inóculo, separado por una membrana de 37  $\mu\text{m}$  que permitiera el paso a este compartimento únicamente del micelio pero no de las raíces. En el otro microcosmos la única diferencia fue que el pasto no fue inoculado. Los tratamientos tuvieron cinco repeticiones y el experimento se mantuvo durante seis meses bajo condiciones de invernadero manteniendo el suelo de las unidades a 90 % de la capacidad de campo, los pastos podados y con riegos mensuales con la solución nutritiva Long Ashton. Se cuantificó el porcentaje de agregados estables en agua (> 2, 1, 0.5, 0.25 y < 0.04 mm), la cantidad de micelio externo de HMA y la glomalina fácilmente extraíble (GFE) y total (GT).

Las fracciones de agregados en las que se pudieron observar efectos significativos de los tratamientos fueron en las mayores a 1 y 2 mm, formadas a partir de partículas menores a 0.5 mm. Las raíces ejercieron un efecto significativo en la macroagregación (> 2 mm) en todos los microcosmos con hospedero y en todas las fracciones de suelo probadas. No se apreció el efecto del micelio externo de los HMA en alguna fracción particular de agregados. Los valores de GFE y GT de los suelos previos al montaje de los microcosmos, no variaron antes ni después de la agregación experimental en la mayoría de los tratamientos, pero fueron constantemente mayores en los tratamientos de los suelos constituidos por partículas <0.5 mm, los cuales presentaron mayor agregación. Los tratamientos sin micorriza en esta misma fracción no mostraron este incremento al menos en la GFE por lo que es posible que los hongos arbusculares tengan un efecto inicial en la agregación de las partículas más pequeñas. El contenido de agregados > 2 mm en muestras de campo y los contenidos de glomalina en las mismas, fueron mayores en muestras control obtenidas de suelo rizosférico, en

comparación con aquellas recolectadas en donde no había cobertura vegetal y que fueron utilizadas como sustrato para estudiar la agregación experimental. En estos suelos, se logró incrementar la macroagregación a casi los valores de campo en los compartimentos donde había crecimiento radical.

Se concluye que para evaluar el efecto de los HMA en la estabilización de agregados de manera experimental, se requiere de un mayor tiempo, cantidad de inóculo, ciclos de humedecimiento y secado, así como de diversos hospederos que vayan incorporando y estabilizando de manera continua al resto de las partículas en jerarquías. La recuperación de la fracción de macroagregados estables de manera natural puede ser un proceso largo pero que se puede optimizar con la selección de especies que produzcan un sistema radical abundante y que formen micorrizas fácilmente, aumentando con ello el contenido de materia orgánica en el suelo.

## I. INTRODUCCION

### 1.1. Erosión del suelo

La degradación de los ecosistemas naturales con la pérdida parcial o total de la cobertura vegetal y el descenso de la productividad agrícola primaria, se encuentra íntimamente asociada con cambios importantes en la calidad de los suelos. Estos cambios pueden resumirse en la pérdida de estructura física y de la materia orgánica, susceptibilidad a la erosión y disminución del sustrato para las raíces finas, alteración de los ciclos de los nutrientes y su consecuente dificultad para llevar a cabo su asimilación (Rentería, 1997; Sarukhán *et al.* 2000; Zarco, 2001). También destaca la alteración de la actividad, cantidad y diversidad de los propágulos microbianos que colonizan a la rizósfera (Barea, 1998; Álvarez, 2002). En general, cuando se generan cambios en la estructura *p. ej.* estabilidad de agregados y textura del suelo, se produce una pérdida de sus capacidades productivas imposibilitando en ocasiones su recuperación (Maass *et al.*, 1988; Sarukhán *et al.*, 2000). Estos autores han considerado que tal transformación se ha llevado a grados que amenazan la productividad, lo que conlleva a la falta de desarrollo de muchas comunidades (Maass *et al.*, 1988).

La pérdida de la capacidad productiva debido al deterioro de las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos causadas por erosión, es uno de los principales problemas que enfrentan en la actualidad las industrias agrícolas y la sustentabilidad de distintos suelos. En general, la erosión hídrica, representa el principal proceso de degradación de los suelos (Maass *et al.*, 1988; Cotler *et al.*, 2007). Esta erosión se inicia cuando la estructura del suelo, su forma y estabilidad de agregados, se altera por el impacto de la lluvia (Sarukhán *et al.*, 2000) y por el desplazamiento de las partículas por escorrentía superficial debido a que los suelos se abandonan y quedan descubiertos cuando se remueve la vegetación original. Bongiovanni y Lobartini (2006) encontraron que en suelos cultivados existe un colapso en la formación de macroagregados dado que el carbono orgánico disminuye y cambia en su calidad. Las consecuencias de no poner límite a los procesos erosivos, son que en ocasiones puede haber repercusiones a gran escala como desplazamientos masivos. El deterioro que pueden presentar los suelos debido a la erosión se clasifica en varios niveles

dependiendo de la escala: 1.- a nivel de parcela o sitio, que se ocasiona cuando se dañan las propiedades (físicas y bioquímicas) del suelo y se disminuye su productividad (p. ej. disponibilidad de agua, nutrimentos para las plantas y la profundidad de enraizamiento); 2.- nivel regional o fuera del sitio, cuando la erosión origina problemas de incremento de sedimentos en presas, lagos, estuarios, etc. amenazando la vida acuática, incrementando inundaciones, contaminando aguas marinas, alterando la red de drenaje hidrológico y disminuyendo el potencial de generación hidro-eléctrica, entre otros; 3.- a nivel global, que repercute a gran escala al cambio climático, la disminución y pérdida de la biodiversidad y a la modificación del régimen hidrológico de cuencas internacionales (Cotler *et al.*, 2007).

La erosión se considera como un proceso natural que se presenta prácticamente en la mayoría de los suelos; sin embargo se incrementa cuando el hombre transforma los ecosistemas naturales a otros totalmente diferentes a los originales como consecuencia del cambio de uso de suelo. El cambio de uso de suelo es una de las principales causas de degradación en Latinoamérica (García-Oliva y Maass, 1998; Cotler *et al.*, 2007) donde más de la mitad del área original de la selva tropical caducifolia se ha transformado a pradera (Aguilar, 2000), ocasionando un grave problema de erosión del suelo (Sarukhán *et al.*, 2000). Tal es el caso de los suelos de México y Centroamérica en donde en el último medio siglo, más de 60 millones de hectáreas han sido afectadas con la erosión hídrica (Maass, 1995). Las transformaciones que sufren estos ecosistemas naturales se deben al cambio de uso de suelo para uso agropecuario y silvícola (Puricelli *et al.*, 1998; Aguilar, 2000). Los factores que se consideran las principales causas promotoras de este enorme problema son ambientales y socio-económicos (Cotler *et al.*, 2007). En México, la pobreza extrema, el alto índice de crecimiento poblacional y la falta de tecnologías adecuadas de manejo, han influenciado a la degradación de nuestros recursos naturales (Betancourt *et al.*, 1999). Otro factor importante que también ha contribuido al deterioro ambiental en todo el país y en particular en las selvas tropicales, es el poco interés y el apoyo técnico que se le presta a la agricultura de subsistencia o llamada de temporal, la cual se realiza en lugares con pendientes muy pronunciadas, bajo lluvias altamente erosivas y con cambio de la vegetación original por cultivos de rápido crecimiento que agotan los nutrimentos del suelo (Maass, 1992; 1995).

La transformación de la selva de Chamela, en el estado de Jalisco, a suelos de pastizales, se ha dado por medio de la técnica de roza, tumba y quema (RTQ). Esta se emplea frecuentemente en las zonas tropicales y se inicia con un aclareo del bosque por rozado manual con machete y de la tumba de troncos con hacha o motosierra y su posterior quema. Después, se siembra maíz por algún tiempo y posteriormente se reemplaza por pastos (Aguilar, 2000) como el de Guinea (*Panicum maximum* Jacq.) y/o el Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) para pastura del ganado vacuno (García-Oliva y Maass, 1998). Bajo ciertas condiciones, la RTQ se considera altamente conservadora del suelo (Aguilar, 2000): después de la quema se observa un incremento de algunos nutrientes disponibles y asimilables (Álvarez, 2002) como calcio y magnesio (Viro, 1974). Sin embargo, se observa que con el paso del tiempo, ocurre el agotamiento de estos nutrientes disponibles por uso continuo e intensivo y la reducción de periodos de descanso (García-Oliva y Maass, 1998). Por ejemplo, el uso de ambos pastos produce la biomasa requerida en los dos primeros ciclos, pero inmediatamente después disminuyen su producción y agotan la fertilidad del suelo, por lo cual son abandonados, ocasionando que grandes extensiones de suelo carezcan de cobertura vegetal inmediata. Además, la mayor parte de los suelos se encuentran en pendientes considerables, lo cual los expone al impacto físico de la lluvia, aumentando su susceptibilidad a la erosión posterior a la sequía y por el viento en época de secas (Maass, 1985).

## **1.2. Restauración del suelo**

Una de las principales tareas inmediatas para la recuperación de la función de los suelos es el empleo de diversas prácticas tales como el mejoramiento de suelos erosionados y la rehabilitación y recuperación de propiedades específicas de los mismos p. ej. cobertura vegetal, actividad microbiana, etc. Dichas actividades involucran la recreación de la estructura del suelo y el restablecimiento sus relaciones. Esto se puede lograr mediante prácticas que ayuden a recuperar áreas que presentan un deterioro importante o peor aún, aquellas que han perdido su actividad productiva (Sarukhán *et al.*, 2000).

Los suelos degradados por erosión se pueden rehabilitar con la introducción de especies vegetales nativas o de manejo sustentable; es decir elementos del entorno que se puedan explotar mediante un cultivo no deteriorante, siempre y cuando estas especies incrementen la resistencia de los suelos ante este proceso. La recuperación de la

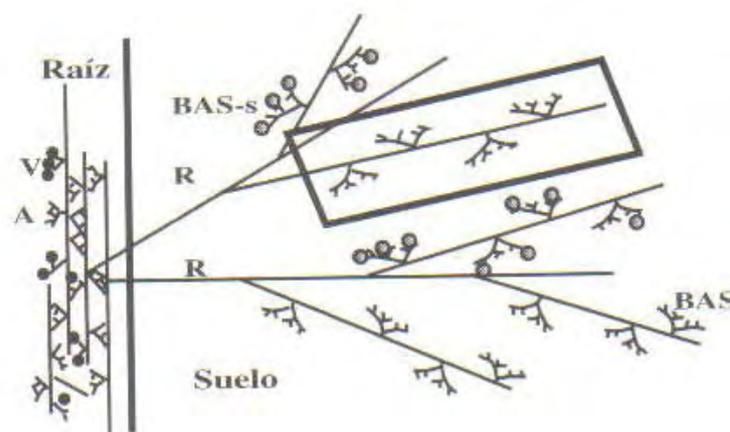
cobertura vegetal es lo más deseable debido a que estudios recientes han encontrado que las raicillas menores de 2 mm de diámetro, juegan un papel primordial en mantener la estabilidad de agregados del suelo en los primeros 10 cm, en la recuperación de la materia orgánica y en el balance en el ciclo de los nutrientes (García-Oliva y Paz-Tapia, 2001). La implementación de asociaciones biológicas promueven el establecimiento de microorganismos benéficos que se establecen en los sistemas suelo-planta y que brindan sustentabilidad a los suelos como en el caso de los microorganismos rizosféricos y los hongos formadores de micorrizas, destacando entre ellos a los hongos micorrízicos arbusculares (HMA; Barea, 2003).

### **1.3. Hongos micorrízicos arbusculares y su importancia**

Los HMA forman una simbiosis de tipo mutualista con las raíces de más del 85 % de las plantas; son hongos microscópicos biotróficos pertenecientes al Phylum Glomeromycota (Schüssler *et al.*, 2001). Los HMA aumentan la capacidad de la planta para explorar el medio (Olivé *et al.*, 1994), incrementan su resistencia y tolerancia a la sequía permitiendo su crecimiento en estas épocas (Barea, 2003) y a otras condiciones de estrés vegetal p. ej. patógenos, salinidad, acidez y elementos tóxicos (González-Chávez *et al.*, 2004). Además, favorecen la captación de nutrientes para las plantas de lenta movilidad como lo son: P, K, Cu y Zn, N, S, Ca (Miller y Jastrow, 1992; Allen *et al.*, 1998). Los HMA juegan también un papel importante en la agregación y estabilidad de las partículas de suelo a través de las hifas que crecen en el mismo y que estabilizan proteicamente a las partículas, brindando con su presencia y actividad un buen funcionamiento a los suelos (Miller y Jastrow, 1992; Olalde y Aguilera, 1998; González-Chávez *et al.*, 2004). Debido a lo anterior, en las prácticas de restauración de los suelos naturales mediante la reintroducción de diversas plantas, en la revegetación con especies autóctonas, en la recuperación de superficies sin cobertura causadas por la desertificación, contaminación por metales pesados o por salinización, se considera que los HMA son clave para frenar el deterioro del sistema suelo y recuperar más rápidamente sus funciones (Barea, 2003). Dentro de otras de las funciones importantes de la micorriza arbuscular que recientemente se ha destacado, es la participación que tiene el micelio externo (ME) en la agregación y estabilización del suelo (Olivé *et al.*, 1994; Barea, 2003; González-Chávez *et al.*, 2004).

#### 1.4. Micelio externo (ME) de los hongos micorrízicos arbusculares

El micelio externo de los HMA es el encargado de la captación de agua, de la absorción de nutrientes poco móviles como el fosfato y de algunos micronutrientes disponibles en muy pequeñas concentraciones. El ME coloniza las células corticales de las raíces formando estructuras intra- y extraradicales como apresorios, arbuscúlos, vesículas, esporas (intra- y extraradicales) y formando *de novo* micelio externo fuera de la raíz. Cultivos monoxénicos de hongos HMA *in vitro* han permitido describir con detalle el desarrollo de su fase externa. En estos sistemas, se ha observado que una vez que la simbiosis se establece funcionalmente mediante la formación de arbuscúlos, el hongo se desarrolla profundamente en el medio, dirigido principalmente por las hifas exploradoras y que constituye la mayor parte de biomasa del hongo (Fig. 1; Bago *et al.*, 2000; Barea, 2003). Estas hifas son consideradas de primer orden y van ramificándose dicotómicamente extendiendo a la colonia fúngica de manera radial dando lugar a estructuras conocidas como BAS (“branched absorbing structures”) que se pueden encontrar asociadas a esporas. Las BAS presentan una apariencia de árbol y son consideradas como estructuras externas indicadoras del establecimiento de la simbiosis de HMA, encargándose de la absorción de nutrientes minerales. El tiempo de formación de estas estructuras es de alrededor de 7 días, para después entrar en un proceso de retracción de su citoplasma para vaciarse y septarse (Bago *et al.*, 1998; Bago *et al.*, 2000).

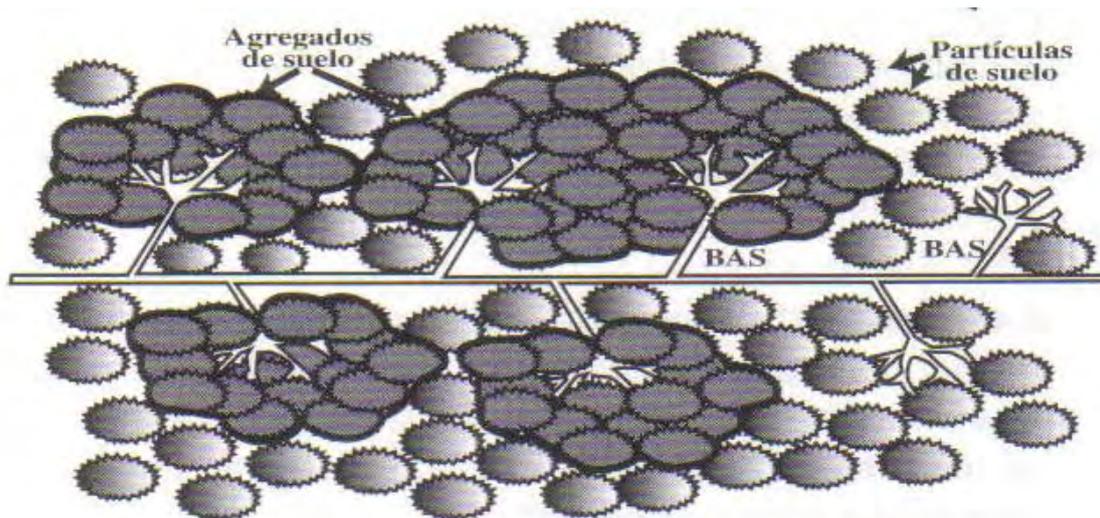


**Figura 1.** Colonia fúngica de un HMA. A la izquierda se observa la fase intraradical y a la derecha la fase extraradical. A, arbuscúlo; V, vesícula; R, hifas exploradoras; BAS, estructuras ramificadas de absorción; estas últimas constituyen el micelio externo; s, esporas (Tomado de Bago *et al.*, 2000).

### **1.5. Importancia del micelio externo de los HMA en la agregación del suelo**

Los principales procesos que influyen en la formación y estabilidad de agregados son de naturaleza físico-química y biológica (Brady y Weil, 1999; Coleman *et al.*, 2004). Los primeros son los procesos que se dan a pequeña escala y se encuentran asociados a la naturaleza mineralógica como el tipo y cantidad de arcillas. Los suelos de texturas finas con elevados contenidos de arcillas, permiten mayor y más rápida formación de microagregados (Brady y Weil, 1999). Entre los factores de mayor relevancia dentro de los procesos físico-químicos están la atracción entre partículas debido a la carga eléctrica y la expansión y contracción entre las masas de arcillas (González-Chávez *et al.*, 2004). Entre los procesos biológicos involucrados en la agregación a gran escala se encuentran: la actividad de organismos p. ej. nemátodos y lombrices, la unión de las partículas por las raíces de las plantas y los exudados de bacterias y hongos, los cuales forman redes pegajosas que unen a las partículas individuales brindándoles resistencia a la disgregación por agua o viento (Brady y Weil, 1999). En suelos arenosos donde el contenido de arcillas es bajo, los procesos biológicos mantienen la agregación casi completamente (Brady y Weil, 1999; De Gryze *et al.*, 2005). Las hifas de los hongos, en especial de los HMA, participan en la agregación del suelo mediante dos mecanismos: una acción mecánica, que une a las partículas envolviéndolas y una acción cementante por la presencia de polisacáridos extracelulares. Ambas incrementan la resistencia a la erosión reduciendo la ruptura de macroagregados durante los eventos de humedecimiento y secado del suelo (Miller y Jastrow, 1992; Denef *et al.*, 2001).

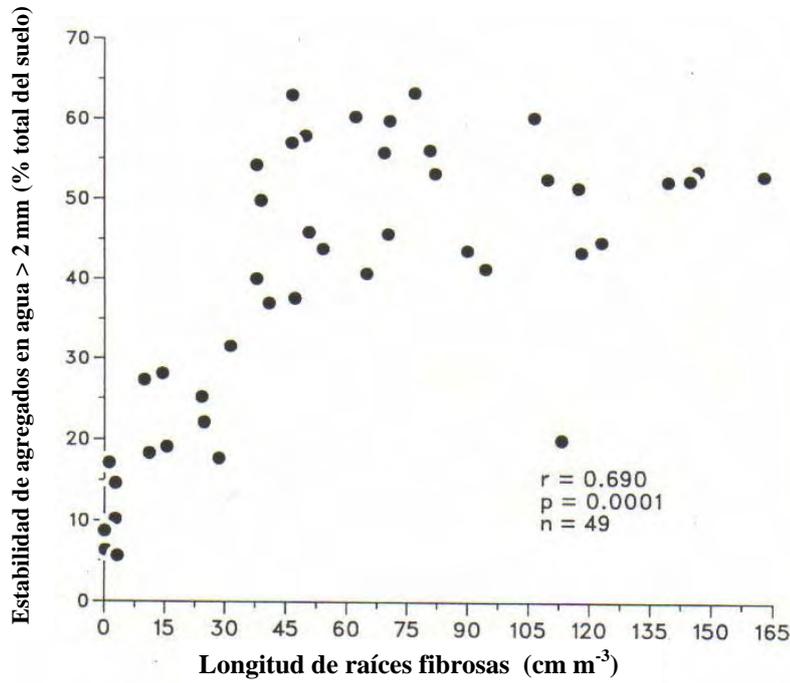
El ME rodea a la raíz hospedera de forma radial y tridimensional, incrementando con ello el volumen explorado del suelo para llevar a cabo dos de sus funciones principales: (1) la búsqueda y captación de nutrientes minerales y (2) la estabilidad de los agregados mediante la unión de partículas minerales que mejoran las características físicas, químicas y biológicas del suelo (Bago *et al.*, 2000). Estudios de cuantificación de ME realizados bajo condiciones controladas, han registrado que por cada metro de raíz colonizada, se producen entre 7 y 250 m de hifas externas (Miller y Jastrow, 1992). Esto dependerá de las condiciones de crecimiento del hongo y de la especie del mismo. El ME es importante en la conservación de los suelos debido a que contribuye significativamente a la formación de agregados estables (Fig. 2).



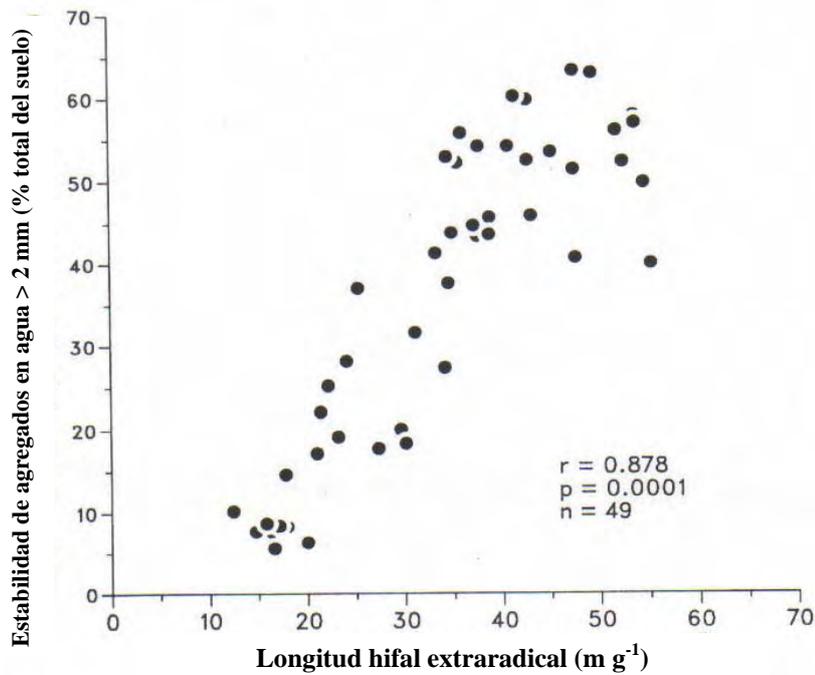
**Figura 2.** Hifa exploradora de HMA en el suelo y la cooperación de los BAS en la formación de agregados estables (Tomado de Bago *et al.*, 2000).

La estructura del suelo es la asociación y arreglo de las partículas que lo constituyen en entidades de mayor jerarquía llamadas agregados (Oades, 1993). Las partículas dentro de los agregados presentan una cohesión mas fuerte entre sí que con el resto de las partículas que los rodean. Estos agregados se consolidan gracias a diversos agentes cementantes que los mantienen unidos (Kemper y Chepil, 1965; Acevedo-Sandoval *et al.*, 2001). Los agregados se pueden clasificar con base a: 1) criterios de tipo morfológico, que describen su aspecto, forma y arreglo; 2) de la clase, que considera su tamaño según su diámetro, en un supuesto teórico de que los agregados fueran esféricos aunque son irregulares y 3) del grado, que representa su estabilidad. Sin embargo, para facilitar mayor su estudio y clasificación, los agregados también se pueden agrupar en dos clases: los microagregados, cuyo diámetro es inferior a 0.25 mm y los macroagregados, que se componen por grupos de microagregados y cuyo diámetro es superior a este número (Velásquez-Rodríguez, 1997). Los macroagregados > 2 mm son de especial interés debido a que mantienen una adecuada porosidad en el suelo, evitan la erosión, retienen el C del suelo en la materia orgánica, etc. Por otro lado, Miller y Jastrow (1990, 1992) encontraron que la estabilidad de agregados > 2 mm se relacionó positivamente con el contenido de raíces en un suelo (Fig. 3) y el contenido de éstas a su vez, se correlacionaron directa y positivamente con la abundancia de ME medido a través de la longitud total de las hifas extraradicales (Fig. 4). Esto indica que

existe una relación entre la estabilidad de los agregados del suelo y la presencia y abundancia del ME de los HMA (Bago *et al.*, 2000).

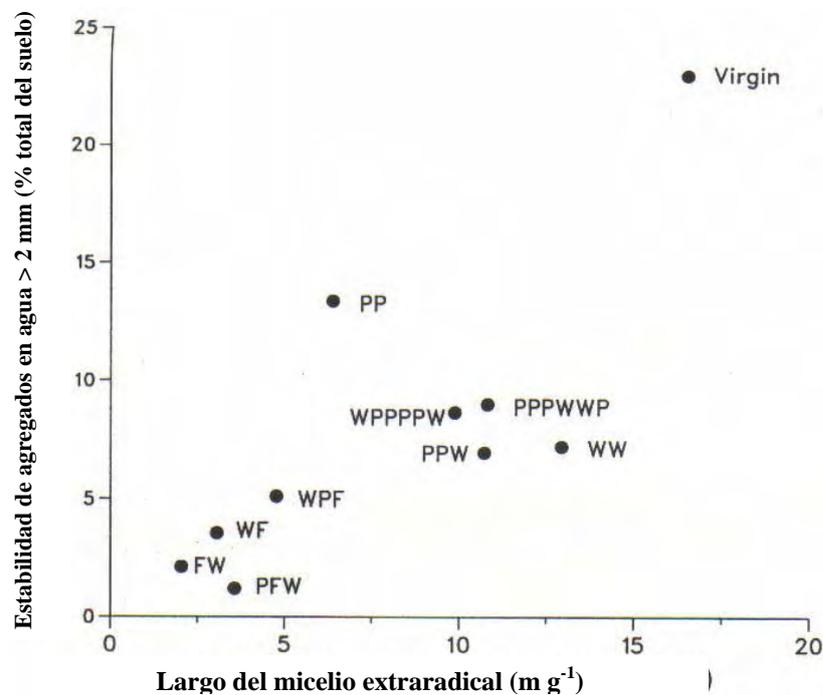


**Figura 3.** Relación entre el contenido de raíces fibrosas y el porcentaje de agregados estables en agua > 2 mm en suelos de una pradera restaurada (Tomado de Miller y Jastrow, 1992).



**Figura 4.** Relación entre las hifas extraradicales y el porcentaje de agregados estables en agua > 2 mm, en suelos de una cronosecuencia en una pradera de restauración (Tomado de Miller y Jastrow, 1992).

La relación entre la estabilidad de agregados y el largo de las hifas extraradicales en el suelo varía según su manejo (Miller y Jastrow, 1992; Borie *et al.*, 2000; Fig. 5). Por lo tanto, esta asociación simbiótica incrementa los valores del índice de estabilidad de agregados en agua MWD (“mean weight diameter”), que es una medida que pondera las proporciones en radio y peso de los agregados. Los suelos con alta agregación poseen mejor porosidad, mejor intercambio gaseoso, infiltración y capacidad de almacenamiento de agua y nutrientes (González-Chávez *et al.*, 2004), a la vez que incrementan la diversidad microbiana y controlan mejor las fuerzas erosivas (Olalde y Aguilera, 1998).

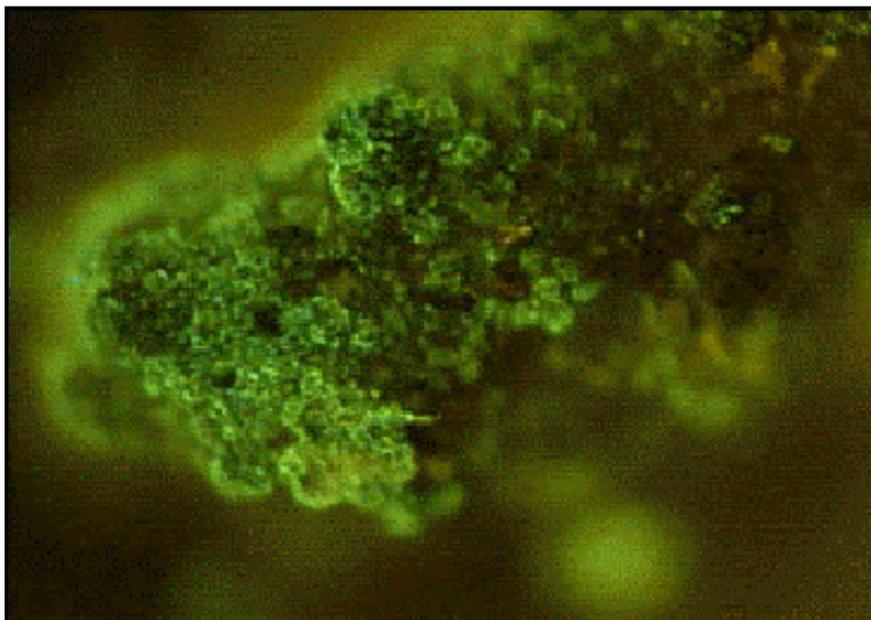


**Figura 5.** Relación de la longitud de las hifas extraradicales y el porcentaje de agregados estables en suelos bajo diferentes rotaciones de cultivos: PP, pasto viejo; PPW, rotación pasto-pasto-trigo; WW, trigo cada año; WPF, trigo-pasto-barbecho; PFW, pasto-barbecho-trigo; WF, trigo-barbecho; FW; barbecho-trigo; PPPWWP y WPPPPW, 2 años de trigo y 4 años de pasto (Tomado de Miller y Jastrow, 1992).

## 1.6. Glomalina

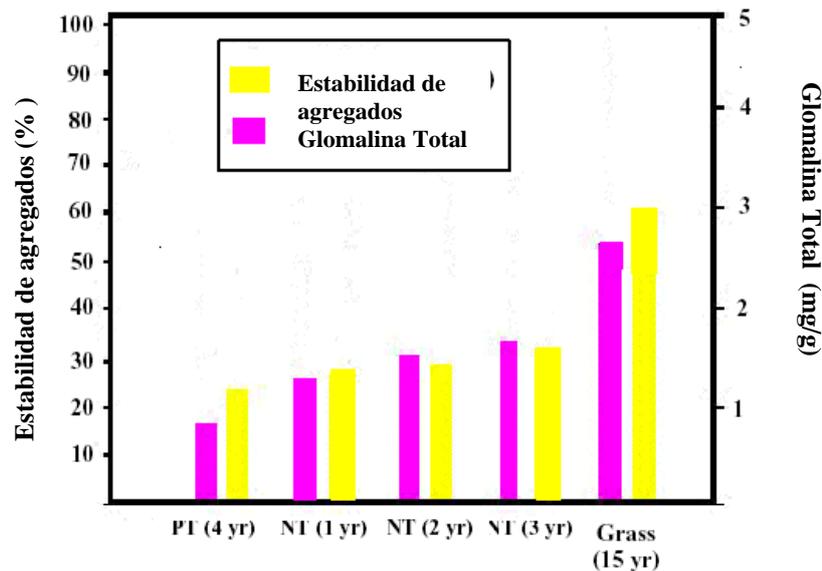
Se señala que la estabilidad estructural de los agregados del suelo se encuentra asociada preferentemente con algunas formas de materia orgánica, en particular la materia orgánica humificada que forma complejos órgano minerales que estabilizan los

agregados (González-Chávez *et al.*, 2004). Sin embargo, actualmente se considera que una proteína permite una función cementante particularmente importante en las partículas del suelo, llamada glomalina (Wright y Upadhyaya, 1998). Esta proteína se descubrió en 1996 de manera accidental y se denominó así debido a que es producida por los Glomales, denominados de esta forma general a los hongos dentro del Phylum Glomeromycota (Wright y Upadhyaya, 1996; 1998; Wright y Anderson, 2000; Schüssler *et al.*, 2001). Esta glicoproteína es producida abundantemente por las hifas de los HMA y su concentración en el suelo es proporcional a la abundancia de micelio externo (Wright y Upadhyaya, 1996). La glomalina es una glicoproteína insoluble en agua con características hidrofóbicas formada por oligosacáridos que contienen nitrógeno. La glomalina protege al recubrir a los minerales y a los agregados del suelo y permite la aireación y el drenaje del agua (Wright y Upadhyaya, 1996; 1998; Wright, 2001; Fig. 6). La glomalina es altamente estable bajo condiciones extremas en el suelo como los cambios bruscos de temperatura, y su vida media en el mismo ha sido calculada aproximadamente entre siete a 42 años (Wright y Upadhyaya, 1996; 1998; Rillig y Steinberg, 2002; Driver *et al.*, 2005). La presencia de la glomalina en el suelo de diversos ecosistemas demuestra que esta proteína se encuentra involucrada íntimamente en la estabilización de sus agregados (Wright y Upadhyaya, 1998; Rillig *et al.*, 2003; Piotrowski *et al.*, 2004, Rillig *et al.*, 2005).



**Figura 6.** Imagen donde se ve en fluorescencia (color verde) a la glomalina cubriendo a los agregados del suelo (Tomada de Wright, 2001).

La concentración de glomalina varía en el suelo y por ejemplo, esta en función de los diferentes tipos de labranza (Wright *et al.*, 1996). Los estudios sugieren que con el sistema de labranza tradicional, disminuye la producción de glomalina en contraste con los sistemas con labranza cero. Se ha encontrado que en pastizales con labranza de conservación, la erosión es baja y la distribución y la estabilidad de los agregados es mayor (Betancourt *et al.*, 2001; Wright, 2001; González-Chávez *et al.*, 2004). Sin embargo, aunque se observa una tendencia en el aumento de la glomalina en los sistemas con labranza de conservación, el porcentaje de agregados estables es inferior con respecto al de los pastizales, debido al corto tiempo que tiene el sistema en recuperación (Wright, 2001; González-Chávez *et al.*, 2004). Por lo tanto, la actividad agrícola más recomendable para incrementar la producción de la glomalina y mejorar la calidad del suelo, es la no labranza (Borie *et al.*, 2000; Wright, 2001; González-Chávez *et al.*, 2004; Figura 7).

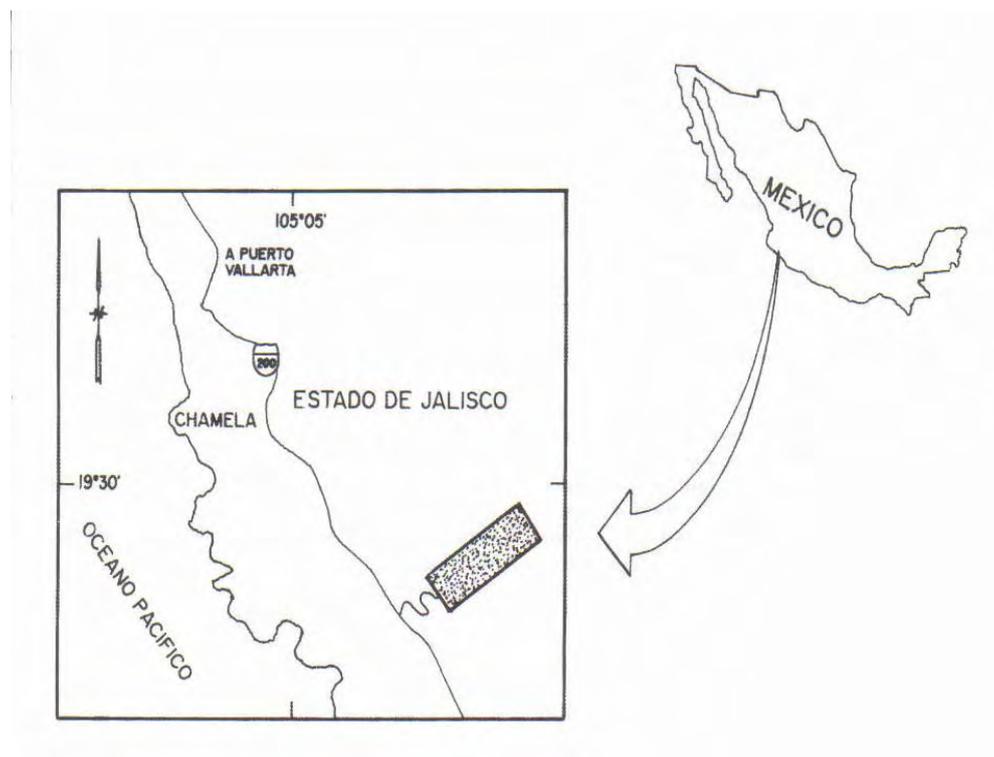


**Figura 7.** Relación entre la estabilidad de agregados y la concentración de glomalina. La cantidad de glomalina incrementa en suelos con 3 años de transición a partir de la labranza tradicional (PT) a no labranza (NT). Después de 3 años de NT se recupera a penas el 50 % de la estabilidad de agregados que ocurre en pastos perennes (Tomado de Wright, 2001).

## II. SITIO DE MUESTREO

### 2.1. Caracterización del sitio de muestreo

El muestreo de los suelos se realizó en la Estación Biológica de Chamela de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), la cual se localiza en el Estado de Jalisco, en las coordenadas (19°30'N, 105°03'W), a dos km al este de la costa y seis km al sureste de la Bahía de Chamela. La Estación se ubica en un sistema de bloque montañoso que se extiende aproximadamente por 1100 km a lo largo de la costa. Se localiza dentro de la provincia fisiográfica de la Sierra Madre del Sur, que comprende desde la parte occidental de Jalisco, limitando al oeste con el Océano Pacífico y al este y al norte con el Cinturón Neovolcánico Transversal (Cotler *et al.*, 2002; Fig. 8).



**Figura 8.** Ubicación del sitio de muestreo (Tomado de Cotler *et al.*, 2002).

## 2.2. Topografía y suelos

La región se forma por angostas bandas de pequeñas montañas y planicies entre el Océano Pacífico y la Sierra Madre del Sur. Chamela tiene un 85 % de superficie montañosa, con relieve dominado de lomeríos y planicies aluviales presentes cerca de la desembocadura de los ríos y arroyos. Su topografía comprende a lomeríos bajos y pequeñas cañadas. Las laderas presentan en general pendientes de 21° a 34° y la mayor parte del terreno no sobrepasa 150 m, en intervalos entre 10 a 580 m (Bullock, 1988; Rentería, 1997). Se considera como una región geológicamente joven y tectónicamente activa (Ceballos *et al.*, 1999). La selva baja caducifolia se localiza en lomeríos con suelos someros (Aguilar, 2000) que son suelos jóvenes con una estructura tipo migajón-arenosa clasificados como Entisoles (Zarco, 2001), con poco contenido de materia orgánica y con pH entre 6 y 7 (Álvarez, 2002).

En la Estación de Chamela predominan cinco geoformas denominadas: montañas, lomeríos, superficies de erosión, superficies de nivelación y valles (Cotler *et al.*, 2002). Las rocas parentales a partir de las cuales se han desarrollado los suelos en la región son riolita y granito. Los suelos característicos son Regosoles, Cambisoles, Litosoles y Faeozems en las sierras y además de éstos Rendzinas en los Lomeríos ubicados al pie de montaña con una altitud entre los 200 y 1000 m con dominantes litologías de rocas extrusivas ácidas (Cotler *et al.*, 2002).

El uso de suelo es de agricultura de temporal y de riego con labranza manual y mecanizada, así como pastoreo sobre la vegetación natural en praderas cultivadas. Se encuentran terrazas aluviales de tipo acumulativo, con suelos tipo Faeozem y Fluvisol, que pueden estar cubiertos por vegetación característica de la selva mediana subcaducifolia o estar en uso para la agricultura de temporal o de riego.

## 2.3. Clima

El clima es marcadamente estacional y se reconocen cuatro estaciones: la primavera seca, la de inicio de lluvias (de junio a julio), la de época de lluvias (de agosto a octubre) y la época invernal (de noviembre a inicios de marzo) en donde se presentan las últimas lluvias de la temporada (García-Oliva *et al.*, 2002). Se presenta sequía en los meses de noviembre a junio y 80 % de la precipitación ocurre entre junio

y noviembre, con lluvias ocasionales en el mes de diciembre. El periodo seco dura alrededor de 5 a 8 meses y los meses más secos son febrero y mayo (Aguilar, 2000).

De acuerdo a la clasificación de Köppen modificada por García (1981) el clima es un clima cálido subhúmedo (Awoi), el más seco de los tipos subhúmedos cálidos (P/T <43.2) con lluvias en verano. La temperatura media anual es de 24.6 °C. El promedio anual de la temperatura máxima es de 30.3 °C y la mínima anual es de 19.5°C (García-Oliva *et al.*, 2002). La precipitación media anual en el periodo 1977-200 fue de 788 mm, con 1247 mm en el año más lluvioso (1992) y 452 mm en el más seco (1986) (datos de la estación Chamela) (García-Oliva *et al.*, 1995; Noguera *et al.*, 2002).

## 2.4. Vegetación

La región presenta un mosaico de tipos de vegetación, en el que predomina la selva baja caducifolia o bosque tropical seco o caducifolio (Durán *et al.*, 2002) alcanzando una altura de 10 m aproximadamente (Aguilar, 2000; Álvarez, 2002; García-Oliva *et al.*, 2002). Entre los géneros más abundantes de árboles encontramos *Lonchocarpus* spp., *Caesalpinia* spp., *Croton* spp., *Jatropha* spp. y *Cordia* spp. También se observan abundantes epifitas, líquenes y bejucos. Cerca de la estación y del mar se encuentran comunidades vegetales de manglares, tulares y vegetación característica de dunas costeras, como es la riparia, manzanillera, carrizal, acuática y también pastizales y sistemas agrícolas (Ceballos *et al.*, 1999; Noguera *et al.*, 2002).

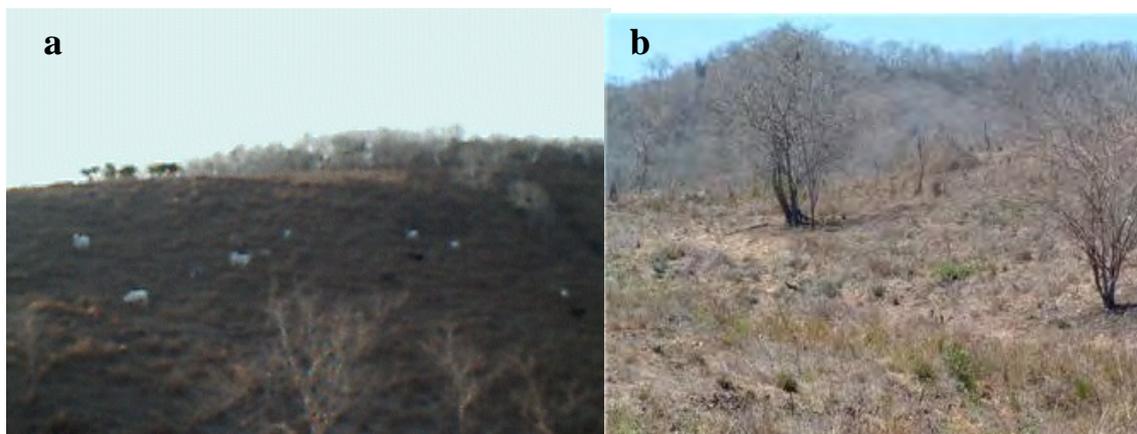
## 2.5. Tipos de manejo

La selva baja caducifolia donde se llevó a cabo el estudio, está siendo sustituida cada día principalmente por la agricultura de temporal y la implantación de praderas para la producción pecuaria que se practica en la región de Chamela (Maass, 1995; Rentería, 1997).

La siembra del maíz y la del pasto Guinea (*Panicum maximum* Jacq.) marcan el inicio de las prácticas de desmonte que posteriormente se mantienen como praderas indefinidamente, sin un claro ciclo de descanso de la tierra o barbecho (Ita-Martínez, 1983; Rentería, 1997). Las especies de gramíneas introducidas principalmente son el zacate Guinea que se considera como un pasto altamente palatable y en menor proporción el zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) apreciado por su gran resistencia a la

sequía (Ita-Martínez, 1983; Rentería, 1997). Sin embargo, se puede apreciar la presencia de otro tipo de plantas introducidas y exóticas en la región como lo son *Chloris inflata*, *Eragrostis ciliaris*, *Rhynchelitrum repens* y *Sorgo bicolor* (Castillo-Campos *et al.*, 1988; Ceballos *et al.*, 1999).

Como se destacó anteriormente, el sistema agrícola que se desarrolla es la RTQ (Maass, 1995; Rentería, 1997; Aguilar, 2000), lo cual disminuye los periodos de descanso de la tierra y ha incrementado las prácticas de desmonte con la consecuente degradación del ecosistema. El objetivo de la quema es estimular el crecimiento vegetal, reducir la acumulación de materia seca y controlar la invasión de otras hierbas, árboles y arbustos que limitan la productividad de la pradera y así permitir la liberación de nutrimentos al suelo aumentando su fertilidad (Ita-Martínez, 1983). La quema se efectúa cada 1, 2 o 3 años (Ita-Martínez, 1983; Rentería, 1997) y luego se efectúa el pastoreo por ganado, siendo la raza “cebú” la más generalizada (Maass, 1995; Rentería, 1997; Fig. 9a).



**Figura 9.** a) Pastoreo por ganado de la raza Cebú, dentro del sitio de estudio (Foto: Crystal Pérez). b) Sitio de muestreo, zona de pastizal (Foto: Patricia Balvanera).

## 2.6. Ubicación del sitio de muestreo

El sitio de estudio cuyas coordenadas UTM son: x: 493544, y: 2161418, correspondió a un pastizal derivado de la transformación para uso ganadero de la selva baja caducifolia mediante el RTQ en el ejido de San Mateo, municipio de la Huerta, Chamela, Jalisco perteneciente a la Estación de Biología (Fig. 9b).

### III. PROBLEMATICA

En la selva baja caducifolia de Chamela, el sistema ha sido transformado a praderas para la agricultura y ganadería extensiva en suelos que se encuentran ubicados en una gran pendiente y que son de poca profundidad y no tienen la aptitud para responder a este cambio de uso (Maass, 1992; Aguilar, 2000; Álvarez, 2002). Estudios realizados en este tipo de ecosistema han mostrado que los ciclos de los nutrientes de estos suelos se encuentran en un equilibrio dinámico muy frágil (García-Oliva, 1992; Rentería, 1997; Aguilar, 2000; Campo *et al.*, 2001; Zarco, 2001; Álvarez, 2002), debido especialmente a la estacionalidad de secas-lluvias a la cual la cubierta vegetal se encuentra perfectamente adaptada (Campo *et al.*, 2001). Esto significa que cualquier alteración en las propiedades de los suelos, tiene consecuencias inmediatas en p. ej. la pérdida de fertilidad, el aumento de la erosión, etc.

Una de las prácticas de urgente necesidad es la rehabilitación parcial de este ecosistema por medio de la re-introducción de especies vegetales nativas o de manejo sustentable, es decir que sirvan para cubrir la demanda de los habitantes. Se recomienda la utilización de especies adaptadas que se puedan aprovechar y que contribuyan a aumentar la resistencia de los suelos contra la erosión y/o la introducción de plantas micorrizadas, las cuales presentan una mayor tolerancia a la sequía y mejoran la estructura del suelo. Algunas especies de uso maderable y ciclos largos pueden irse reintroduciendo ya que de cualquier forma, gran parte de los pastizales han sido abandonados durante muchos años que se pudieran aprovechar en el crecimiento natural de este tipo de plantas.

Por lo tanto, es importante estudiar cuál es la condición micorrízica de las plantas de esta selva baja y de los pastizales. Al respecto, Huante *et al.* (1993) y Rincón *et al.* (1993), hicieron la primera contribución sobre la abundancia y diversidad de HMA en suelos de Chamela, encontrando que especies de lento crecimiento tenían una mayor colonización micorrízica y una cactácea, posiblemente actuaba como reservorio de micelio fúngico en época de secas. Allen *et al.* (1995) encuentran una diversidad cercana a 25 especies de HMA y Allen *et al.* (1998) discuten la importancia de esta simbiosis en la selva tropical caducifolia. Cotler y Ortega-Larrocea (2006) estudiaron la agregación del suelo como un indicador de erosión a diferentes escalas y la contribución

de distintas variables del mismo en la estabilidad de agregados, entre ellas, el contenido de micelio externo por HMA.

Sin embargo, los estudios realizados en campo, cuantifican variables que han ejercido un efecto a lo largo de mucho tiempo, como es el caso de la agregación. La introducción de prácticas de manejo sustentable comenzaría a ejercer un efecto a corto plazo y al respecto, no existe información acerca de la factibilidad de que las plantas micorrizadas con HMA puedan tener influencia inmediata en la agregación del suelo, para efectos de restauración. Este trabajo pretende cuantificar bajo condiciones experimentales, cuál podría ser la contribución de los HMA a corto plazo en la estabilidad de los agregados de suelos que han sufrido cambio de uso y que presentan signos de erosión en campo. Este conocimiento experimental hace falta para generar conocimiento básico que pueda ser aplicado en el futuro manejo de este ecosistema.

## **IV. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general**

Estudiar la agregación experimental a corto plazo bajo condiciones de invernadero, de un suelo de pastizal que ha presentado cambio de uso y signos de erosión en Chamela, Jalisco.

### **4.2. Objetivos particulares**

1. Analizar la contribución del tamaño de partícula, de las raíces de pasto y el micelio externo de la micorriza arbuscular, en la formación de diferentes agregados estables en agua a lo largo de seis meses de cultivo en condiciones experimentales.
2. Cuantificar la cantidad de micelio externo y concentración de glomalina de las muestras y relacionar su efecto con la estabilidad de agregados.

## V. METODOS

### 5.1. Levantamiento del perfil y muestreo en campo

Se hizo la caracterización del perfil de suelo de acuerdo a Siebe *et al.* (1996) para reconocer la unidad edafológica dentro de la cual se encontraba el suelo muestreado y al que previamente se hizo una caracterización visual de los signos de erosión de acuerdo a Cotler *et al.* (2002).

Las muestras de suelo se tomaron en el mes de mayo del 2003 en un pastizal que no había sido quemado durante la estación de secas. La recolecta se diseñó tomando muestras al azar en 10 puntos a lo largo de un transecto sin cobertura vegetal ubicado entre pastos que crecían en macollos dispersos y donde se presentaron signos de erosión del suelo por arrastre. Se determinó la densidad aparente en el horizonte superficial (0-5 cm) gravimétricamente (Schlichting *et al.*, 1995) (Anexo 1).

Las muestras de suelo para obtener el inóculo de hongos micorrízicos se tomaron a 20 cm de profundidad en la rizosfera de pastos. En el laboratorio, el suelo se disgregó a mano, quitando previamente los restos orgánicos sin descomponer como hojarasca, raíces y ramas, junto con las rocas. El suelo se tamizó a diferentes tamaños, obteniendo fracciones entre 1 y 2 mm, 500 y < 500 µm. Una vez tamizado, se almacenó en seco para después ocuparlo en el montaje de los microcosmos experimentales.

Para determinar la estabilidad de agregados (EA) *in situ*, se tomaron aproximadamente 250 g de una muestra de suelo sin perturbar del horizonte superficial. La muestra se tomó con ayuda de una mitad de un envase *tetrapack* (capacidad de un litro) para evitar ser manipulada y compactada o pulverizada durante su recolección, transporte y almacenamiento.

### 5.2. Obtención de germoplasma para montaje de microcosmos

Para la obtención del germoplasma que sería utilizado en los microcosmos experimentales como hospederos, se seleccionaron pastos que se emplean en las prácticas agrícolas en la zona de estudio. Se acudió a la localidad de San Mateo en Chamela, donde los señores Cecilio Preciado y Ramiro Peña del Municipio de la Huerta, proporcionaron 500 g de semillas de cada uno de los siguientes pastos: Guinea, Buffel, Andropogon y Tanzania. Las semillas se guardaron en bolsas de papel de estraza

para optimizar su almacenamiento a temperatura ambiente en un gabinete con control de humedad.

### **5.3. Pruebas de germinación y caracterización del inóculo micorrízico**

Con el objeto de seleccionar el mejor hospedero para llevar a cabo los estudios de agregación, se realizaron pruebas de germinación con los pastos obtenidos en la localidad. La germinación se realizó bajo condiciones estándar: desinfectación de semillas con hipoclorito al 10 % 10', seguidas de tres lavados con agua destilada estéril, siembra en cajas con papel filtro Whatman no. 2 e incubación a 25 °C en oscuridad durante 20 días. El registro de la germinación se cuantificó para todas ellas al final de este periodo.

Con el objetivo de calcular la dosis de inóculo que se utilizaría para los experimentos en invernadero, se realizó la caracterización de los propágulos de HMA. Esta se realizó con los suelos recolectados en cada uno de los diez puntos de muestreo en campo en una submuestra de 20 g previamente homogeneizada. Se cuantificó la abundancia de esporas por el método de extracción por tamizado en húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963). El porcentaje de colonización de las raíces según lo descrito por Phillips y Hayman (1970) (Anexos 2, 3 y 4, respectivamente). Los resultados de abundancia de esporas y porcentaje de colonización permitieron calcular que el inóculo apropiado consistiría de 200 g de cada punto de muestreo. Las diez submuestras se mezclaron y homogeneizaron en una bandeja, quitando el exceso de materia orgánica y piedras. El peso del suelo seco que se obtuvo fue de 2 kg para la obtención del inóculo. Posteriormente se lavó en húmedo reteniéndolo en una malla > 37 µm obteniendo un total de 76 g húmedos (sin exceso de agua). De este total, se pesaron 21 muestras iguales previa homogeneización, cada una de 3.5 g. para la posterior inoculación en 20 microcosmos y una muestra para caracterización del inóculo. De los esporotipos encontrados y las raíces aclaradas, se elaboraron laminillas de respaldo montadas en alcohol polivinílico lactoglicerol (PVLG) que se encuentran en la colección del Micario del Laboratorio Microcosmos Bioedáfico del Departamento de Edafología del Instituto de Geología de la UNAM (Anexo 5).

#### 5.4. Montaje de los microcosmos experimentales

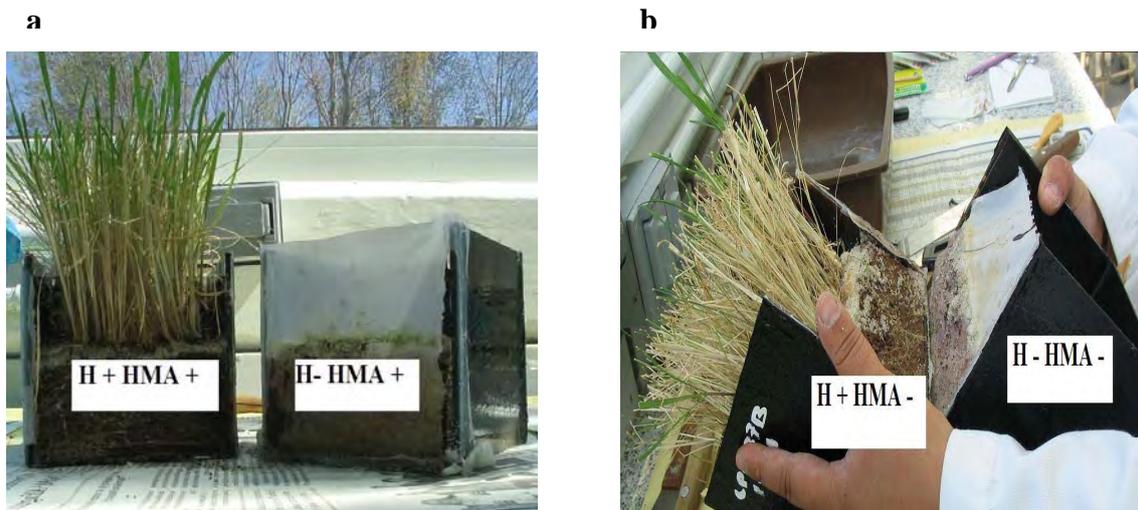
De acuerdo a los resultados de germinación, se seleccionó al pasto de Guinea porque presentó una completa germinación para llevar a cabo el establecimiento de las unidades experimentales denominadas microcosmos. El diseño experimental se resume en el siguiente cuadro:

**Cuadro I.** Descripción de las claves y de los tratamientos utilizados para el experimento de agregación en invernadero.

<b>Efecto:</b>	<b>Fracción de suelo:</b>	<b>Hospedero:</b>	<b>Inóculo :</b>
Agregación radical	< 500 $\mu$ m	pasto Guinea (H+)	con HMA (+)
Agregación fúngica	0.5 – 1.0 mm	sin pasto (H-)	sin HMA (-)
Agregación control	1.0 – 2.0 mm		
	Mezcla de fracciones 1:1:1		
	(<0.5, 0.5 – 1, 1.0-2.0 mm)		

Con los tratamientos descritos arriba, se elaboraron las claves que se ilustran en la figura 10:

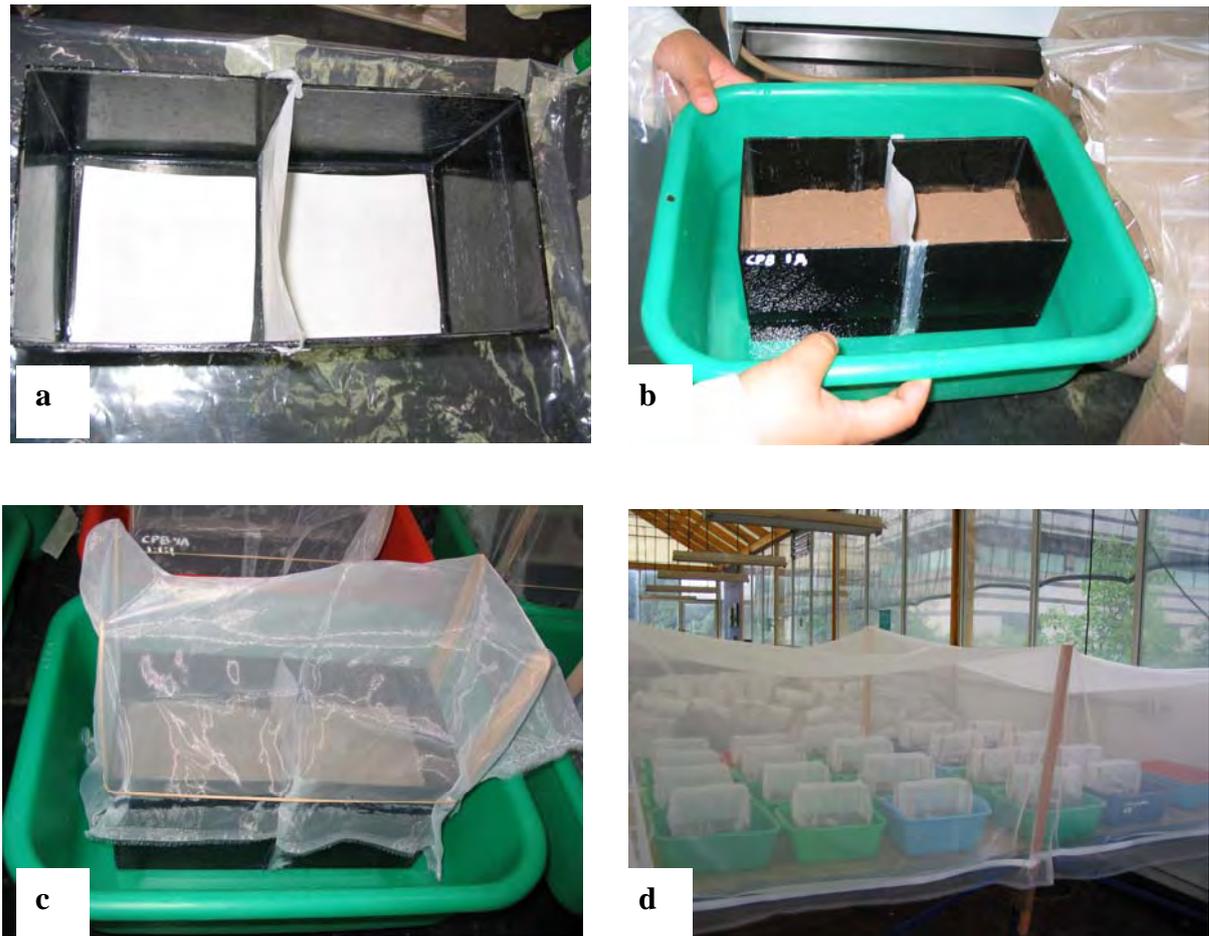
H+HMA+<0.5 m	H-HMA+<0.5 m	H+HMA-<0.5 m	H-HMA-<0.5 m
H+HMA+0.5-1.0 m	H-HMA+0.5-1.0 m	H+HMA-0.5-1.0 m	H-HMA-0.5-1.0 m
H+HMA+1.0-2.0 m	H-HMA+1.0-2.0 m	H+HMA-1.0-2.0 m	H-HMA-1.0-2.0 m
H+HMA+1:1:1	H-HMA+1:1:1	H+HMA-1:1:1	H-HMA-1:1:1



**Figura 10.** Microcosmos experimentales: **a)** microcosmos con hospedero y micorriza (H+ HMA+), microcosmos sin hospedero y micorriza (compartimiento de micelio externo) (H- HMA+). **b)** Microcosmos con hospedero y sin micorriza (H+ HMA-), microcosmos sin hospedero y sin micorriza (H- HMA-).

Los microcosmos experimentales se diseñaron tipo peceras cúbicas con acrílicos de 12 x 12 cm de alto por 10 x 10 cm de fondo unidos con silicón y perforados con 5 orificios en la parte basal para permitir el riego por capilaridad (Fig. 11). Cada unidad consistió de dos compartimientos unidos a la mitad por medio de una membrana de 37  $\mu\text{m}$ , la cual permitió sólo el paso del micelio externo de los HMA (Fig. 10a). Los microcosmos una vez armados, se desinfectaron con cloro al 10 %, se enjuagaron con agua destilada y se secaron en la campana de flujo laminar. Una vez secos se introdujeron en bolsas plásticas estériles para evitar su contaminación hasta su uso.

Se montaron un total de 5 microcosmos por fracción de suelo, excepto para la fracción con suelo tamizado a partículas < 500  $\mu\text{m}$  donde se completaron únicamente cuatro. Se colocó un papel filtro Whatman no. 2 en la base de cada unidad y se añadieron en cada compartimiento 450 g de suelo de cada tratamiento previamente esterilizado por irradiación a 15 kG (Fig. 11a y b). Se regaron a capacidad de campo (cc) por capilaridad previamente a su inoculación y se registró su peso al 100%.



**Figura 11.** Unidades experimentales: a) microcosmo con filtro previo al montaje, b) microcosmo con suelo, c) microcosmo montado, d) vista general del experimento en el invernadero.

Los tratamientos con micorriza (+) fueron inoculados con los 3.5 g que se obtuvieron de la sección descrita anteriormente por cada microcosmos y se desinfectaron con cloramina T y una gota de tween 80 (detergente) por 10 minutos, lavados con tres enjuagues de agua destilada estéril. Al ser introducido el inóculo al suelo, se le agregaron 10 mL de antibiótico (estreptomicina-gentamicina 2 % p:v). A los compartimientos con hospedero, se les sembraron 20 g de semillas de pasto de Guinea, previamente desinfectadas en cloro al 15 % por 15 min, posteriormente en cloro al 10 % por 10 minutos y enjuagadas tres veces con agua destilada estéril.

Una vez inoculados y con semillas de pasto, a cada microcosmo se le añadió una capa de arena de Ottawa (previamente desinfectada en autoclave por 20 min a 15 lb de presión). Cada microcosmo se introdujo en una palangana para evitar su movimiento y facilitar su transporte en sus posteriores riegos. Todos fueron cerrados por la parte de

arriba con tela tipo organza sostenida con abatelenguas (ambos desinfectados previamente), para evitar su contaminación en el invernadero (Fig. 11c). Con los microcosmos con el tratamiento sin micorriza (-) se siguió el mismo método antes mencionado pero sin inoculación. Cabe mencionar que se montó un microcosmo experimental de control con el tratamiento de suelo con las tres fracciones 1:1:1, al cual se le dejó al 100 % de su capacidad de campo y se mantuvo en el invernadero sin riego alguno hasta que este se secó completamente para la posterior determinación de su EA.

Los microcosmos se mantuvieron en invernadero en una mesa protegida con tela tipo organza para evitar la contaminación (Fig. 11d). El experimento se mantuvo durante 6 meses y durante este tiempo, se tomaron datos de temperatura y humedad y se realizó el riego de los mismos por medio de capilaridad, a 90 % de su capacidad de campo con agua corriente y con solución nutritiva Long Ashton alternadas. La poda de los pastos se realizó cada mes. Previo a la cosecha, la cantidad de agua adicionada se redujo paulatinamente a 80 %.

### **5.5. Cosecha de los microcosmos experimentales**

Se registraron los datos de humedad previos a la cosecha última en ambos compartimentos, que consistió en el desmonte de los mismos quitando cuidadosamente la arena superficial y desarmando las unidades por las partes de unión del acrílico (Fig. 10a). El bloque de suelo obtenido se recuperó sobre un tamiz de 8 mm y se disgregó cuidadosamente.

Se observó si se formaron agregados y la forma en la cual éstos se rompían (angulares, ovoides, subangulares). En los microcosmos con hospedero, el pasto se podó previamente hasta su base y posteriormente se podó todo extrayendo cuidadosamente las raíces. Las raíces se separaron de los agregados y se pesaron en seco, se determinó su volumen por desplazamiento de agua en una probeta de 100 cc (Anexo 6). Se tomó una muestra de raíces finas que se aclararon y tiñeron (Anexo 7) para su posterior observación al microscopio.

### **5.6. Determinación de la estabilidad de agregados en húmedo**

Las muestras de suelos fueron secadas a temperatura ambiente en el cuarto de secado de muestras del Instituto de Geología de la UNAM y una vez secas se procedió a

realizar el análisis de estabilidad de agregados en húmedo (fracciones > 2, > 1, > 0.5, > 0.25 y <0.037 mm) por el método del Yoder (1936) (Anexo 8). Este análisis consiste en determinar la distribución de los tamaños de agregados que han resistido la acción mecánica de disgregación del agua al ser sumergidos varias veces en un recipiente con agua.

El tiempo durante el cual el efecto del agua ejerce su acción (10 min) se debe mantener constante para todas las muestras. Sin embargo, el número de sumergimientos de los tamices en el equipo utilizado difería entre el inicio del procesamiento de cada tanda de muestras y el final, debido al calentamiento del aparato. Por esto, se decidió realizar la calibración del número de vueltas de inmersión, ajustándolo a 445 inmersiones que fue el número obtenido más constante (Cuadro II).

**Cuadro II.** Calibración del equipo motorizado para estabilidad de agregados.

Muestra	Tiempo	Número de vueltas de inmersión
1	10 minutos	445
2	10 minutos	520
Descanso	10 minutos	Descanso
3	10 minutos	445
4	10 minutos	380
5	10 minutos	625
6	10 minutos	445

### 5.7. Caracterización de esporas y micelio externo de HMA en los microcosmos experimentales

La abundancia de esporas en los microcosmos después del experimento se realizó de la misma forma que para la caracterización del inóculo (ver arriba), a partir de una muestra de 50 g de suelo previamente homogeneizada de cada uno. Se elaboraron preparaciones permanentes de los morfotipos observados y los datos se registraron en la base de datos del Micario de la Colección descrita anteriormente.

De la fracción de agregados > 2 mm de cada microcosmos experimental, se cuantificó el micelio externo por el método de Jakobsen (1998) (Anexo 9) a partir de 5 g

de cada muestra de suelo. Las laminillas donde se recuperó el micelio se fijaron con PVLG y se depositaron en la misma colección.

### **5.8. Extracción de glomalina**

Finalmente, se extrajo la glomalina extractable y total en el Laboratorio de Edafología del Colegio de Posgraduados bajo la asesoría de la Dra. Ma. Del Carmen González. Para dicha extracción se utilizaron cuatro de las cinco repeticiones de los tratamientos descritos. En primera instancia se extrajo la glomalina fácilmente extraíble, para lo cual se utilizó 1 g de suelo de cada muestra, se le agregaron 8 mL de citrato de sodio 20 mM, pH 7 y posteriormente se colocaron en la autoclave a 121 °C por 30 minutos. El extracto se centrifugó a 10 000 g por 10 minutos. El sobrenadante se separó del sedimento y se re-extrajo con 8 mL de citrato de sodio 50 mM, pH 8 en una autoclave a 121 °C por 1 h. Este paso de extracción correspondió a la glomalina total y se realizó en forma secuencial hasta que el extracto fue de color amarillento claro. Los sobrenadantes de esta extracción secuencial se combinaron. En los extractos respectivos se determinó la concentración de proteínas totales como descrito por Wright y Uphadyaya (1998). Los resultados se expresaron como glomalina fácilmente extraíble y la total (mg) en relación a 1 g de suelo, respectivamente.

## VI. Resultados

### 6.1. Descripción del soliem

Los resultados sobre la caracterización del soliem se presentan en el Cuadro III. El suelo descrito se ubicaba en una ladera rectilínea sobre tobas donde se encontraba un pastizal no quemado recientemente con áreas sin cobertura vegetal (Fig. 12a). La descripción presenta dos horizontes diferenciados principalmente por cambios en la estructura, contenido y tipo de poros y abundancia de raíces. El perfil corresponde a un Regosol Eutríco (Fig. 12b; FAO, 1988; Cotler *et al.*, 2002).



**Figura 12.** Zona de estudio. **a)** Ladera de pastizal no quemado y **b)** Perfil de suelo ubicado en la base.

### 6.2. Germinación de los pastos para selección del hospedero

Los resultados de la prueba de germinación del germoplasma obtenido en campo para seleccionar al hospedero en los microcosmos experimentales se resumen en el Cuadro IV.

### Cuadro III. Evaluación de sitio (Cuenca del Río Chamela)

**Fecha:** 11/05/03

**Uso de tierra:** pastizal

**UTM x:** 493544 **y:** 2161418

**Exposición:** E (70°)

**Geoforma:** ladera rectilínea sobre toba

**Pendiente:** 1°

**Historial:** Pastizal no quemado. Pasto en macollos dispersos con mucha área de suelo desnudo donde hay signos de erosión hídrica (terracetas +/- 3 cm, flujos laminares, arrastre de partículas).

PROFUNDIDAD (cm.)	TEXTURA	PIEDRAS	COLOR	ESTRUCTURA	POROS	DENSIDAD APARENTE (g/cm <sup>3</sup> )	RAICES	LIMITE	PH
0-6	FRANCO ARCILLO ARENOSA	0-5 % GRAVAS CHICAS	5 YR 2/3	SUBANGULAR MEDIO DÉBIL SE ROMPE EN GRANULAR	COMUNES FINOS EXPET	1.40	ALTA	CLARO UNIFORME	6
6-23	FRANCO ARCILLO ARCILLOSA	10% GRAVAS FINAS Y MEDIANAS	5 YR 3/3	SUBANGULAR MEDIO MODERADO SE ROMPE A SUBANGULAR FINO	POCOS MEDIANOS EXPET TUBULARES		BAJA	CLARO IRREGULAR	6
23 +/- 31	-	Alto contenido de gravas y piedras.	-	-	-	-	Sin presencia de raíces.	-	-

**Cuadro IV.** Germinación (%) de los diferentes pastos obtenidos en la localidad.

<b>Pasto</b>	<b>Germinación (%)</b>
Guinea	100
Buffel	60
Andropogón	0
Tanzania	75

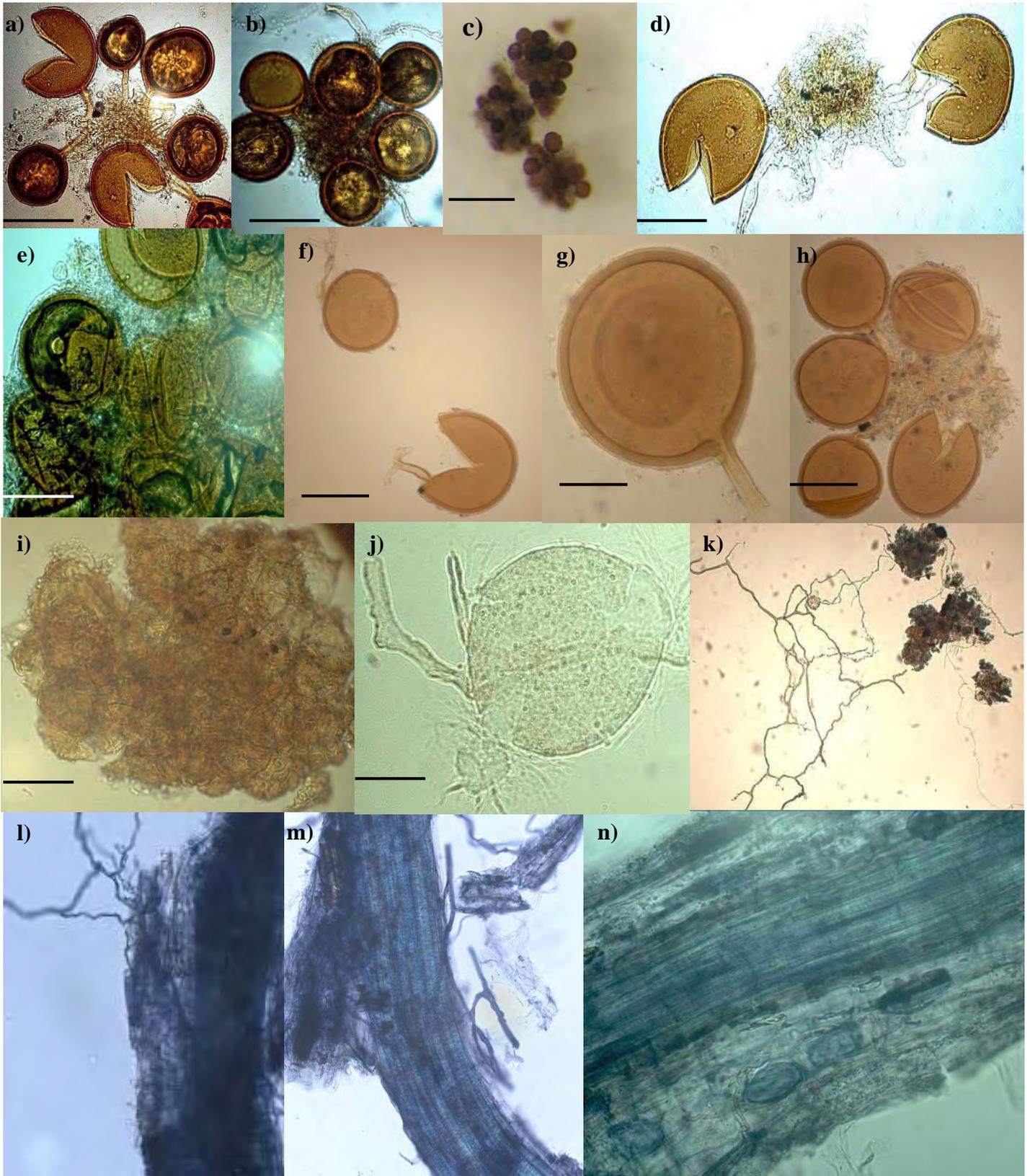
### **6.3. Caracterización del inóculo**

Los resultados de la caracterización de cada una de las muestras que se usaron para conformar el inóculo se muestran en el Cuadro V. Se registraron al menos tres morfoespecies del género *Glomus*, dos de ellas en forma esporocárpica (Fig. 13c e i). Algunas de las muestras no presentaban esporas viables y otras esporas en abundancia en esporocarpos laxos (Fig. 13b-c). La caracterización del inóculo indicó que la mezcla contenía una adecuada representación de las especies, raíces colonizadas y micelio externo (Fig. 13 k). Los datos de las esporas y las raíces se encuentran en la base de datos de la colección del Micario del Laboratorio Microcosmos Bioedáfico del Instituto de Geología (Apéndices 1A Y B).

**Cuadro V.** Caracterización de las muestras del inóculo.

SUBMUESTRA	ESPORAS Y ESPOROCARPOS (en 100 g suelo)	CARACTERIZACIÓN
1	5, 0	Esporocarpos de <i>Glomus</i> afin <i>sinuosa</i> (syn. <i>Sclerocystis sinuosa</i> ) flotando, de color café oscuro y café rojizo. Esporas libres redondas casi del tamaño de los esporocarpos (300 $\mu$ m) y esporas minúsculas muy degradadas en su citoplasma de color amarillo claro sólo flotando. Las esporas vivas fueron de color café claro de <i>Glomus</i> sp. Raíces secas y pocas frescas muy pequeñas con micelio externo.
2	--	Se observó micelio externo (cenocítico) de hongos arbusculares, raíces secas y poca frescas muy pequeñas (0.5 cm).
3	100, 10	Raíces y raicillas frescas. Micelio café septado muy abundante. 20 esporas muy turgentes y esporocarpos de <i>Glomus</i> afin <i>ambisporum</i> .
4	--	Raíces frescas en poca cantidad.
5	--	Raíces y raicillas finas frescas abundantes. Micelio café septado en poca cantidad.
6	0, 20	Micelio café entre la raíz. Esporocarpos de <i>G.</i> afin <i>ambisporum</i> flotando con raíces viejas.
7	--	Esporocarpos de <i>G.</i> afin <i>sinuosa</i> muertos.
8	0, 10	Raíces viejas abundantes. Micelio externo en poca cantidad, micelio café septado. Esporocarpo de <i>G.</i> afin <i>sinuosa</i> .
9	12, 0	Esporas vivas de <i>Glomus</i> sp. Se encontró micelio amarillo cenocítico.
10	--	Esporas muertas. Micelio café septado y micelio externo.
inóculo	9,5*	Siete esporas café claro, un esporocarpo con esporas cafés, un esporocarpo ovoide con esporas blancuzcas, un esporocarpo de <i>G.</i> afin <i>sinuosa</i> muerto con peridio y esporas, tres esporocarpos de <i>G.</i> afin <i>ambisporum</i> con gotas lipídicas y esporas blancuzcas, 23 % de colonización en las raíces.

\*el inóculo se caracterizó únicamente en 3.5 gramos que fue la cantidad aplicada por unidad experimental.



**Figura 13. Inóculo. Morfotipo I. a-c)** *Glomus* afin *ambisporum* (<http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/Glomaceae/Glomus/ambisporum/ambisporum.htm>); morfotipo II **d-h)** *Glomus* sp. 1; morfotipo III **i)** *Glomus* afin *sinuosum*; <http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/Glomaceae/Glomus>; morfotipo IV **j)** *Glomus* sp. 2; **k)** micelio externo **l-n)** raíces colonizadas. Barra = 50 µm, 500 µm (c), 25 µm.

#### 6.4. Densidad radical

Los resultados sobre la abundancia de las raíces indicaron que se mantuvieron las mismas proporciones cuando ésta fue determinada por volumen o biomasa (Fig. 14). Se encontró un efecto significativo de tamaño de partícula bajo la que se tamizó el suelo para formar el sustrato en el desarrollo de las raíces. En la fracción más fina se obtuvo un menor desarrollo radical y éste fue aumentando conforme el incremento en el tamaño de partículas. La estructura que más favoreció el crecimiento radical fue la más granular e inclusive fue mejor con la mezcla en la misma proporción (1:1:1) de distintas fracciones. No se encontró ningún efecto de los tratamientos con micorriza en la abundancia de raíces. El tratamiento sin micorriza en la fracción 0.5-1.0 mm destacó por su abundancia de raíces y presentó los valores mas altos de peso seco.

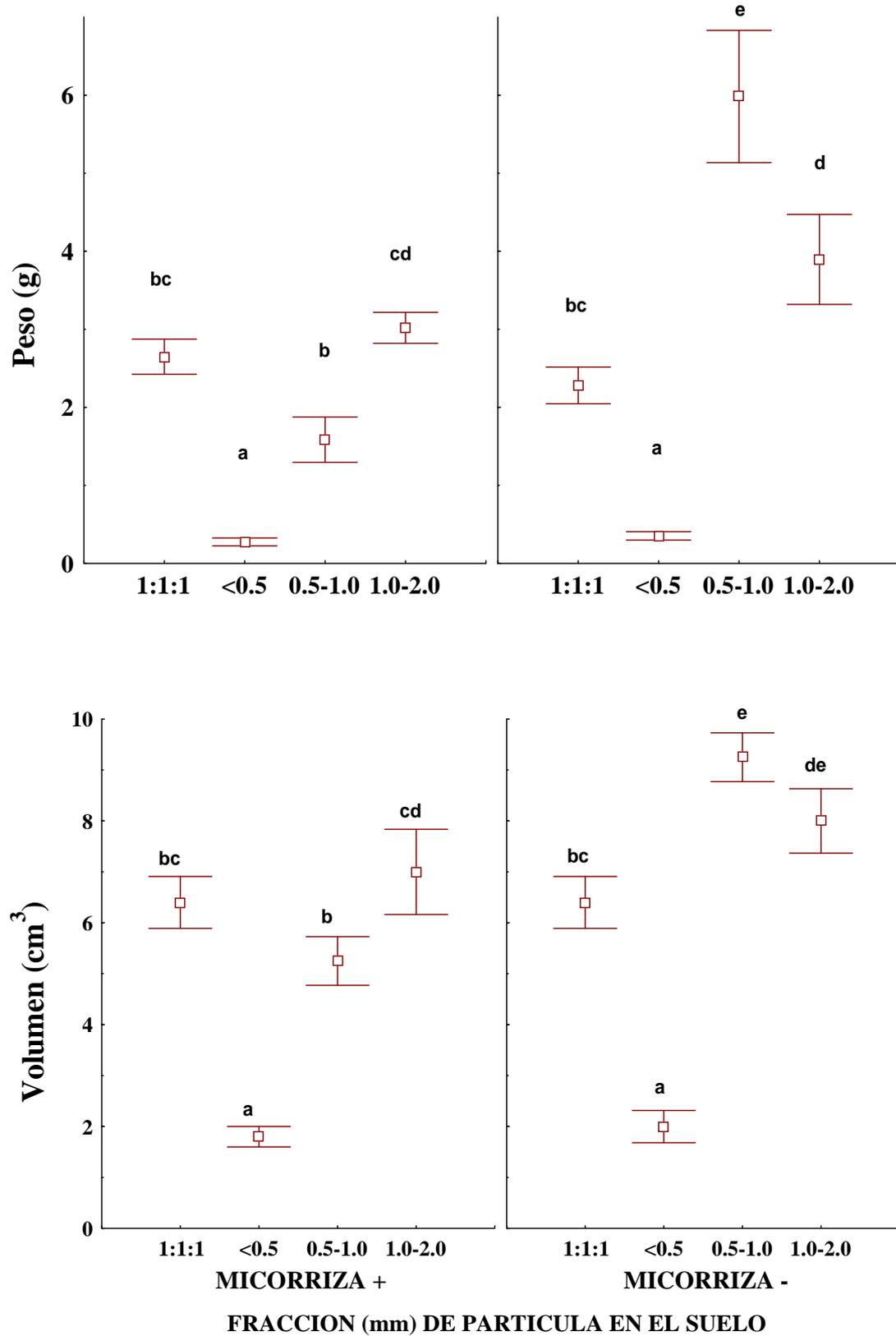
#### 6.5. Abundancia de esporas en los microcosmos después de la cosecha

La abundancia de esporas en suelo de los microcosmos experimentales se presenta en el Cuadro VI y los diferentes esporotipos encontrados se presentan en la Figura 15 (mayor información se encuentra en el Apéndice 1). Se aprecia que solamente en el tratamiento de hospedero micorrizado se encontraron esporas de nueva formación con una esporosfera densa y gotas lipídicas abundantes de manera notoria en la fracción de 1.0 - 2.0 mm. Todos los morfotipos encontrados fueron diferentes de los del inóculo original y el morfotipo V (*Glomus* sp. 3) fue abundante en la mayoría de las fracciones.

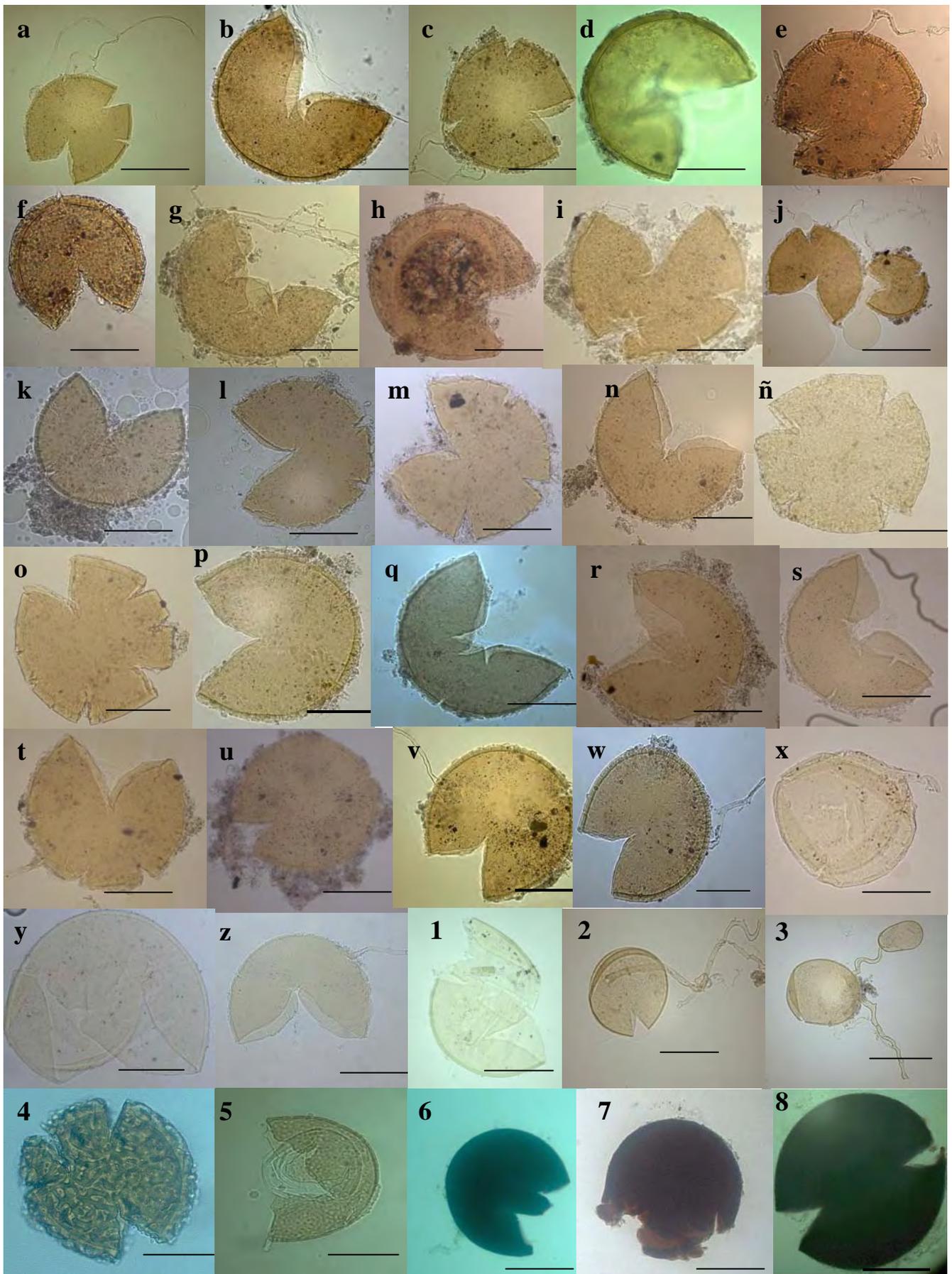
**Cuadro VI.** Abundancia de esporas ( $\pm$  e. e.) en el suelo de los microcosmos experimentales después de la cosecha.

FRACCION	HOSPEDERO +		HOSPEDERO -	
	HMA+	HMA-	HMA+	HMA-
1:1:1	6 $\pm$ 2.5 <b>b*</b>		0 $\pm$ 0 <b>a</b>	
<0.5	1 $\pm$ 0.9 <b>a</b>			
0.5-1.0	4 $\pm$ 2.8 <b>b</b>			
1.0-2.0	9 $\pm$ 2.0 <b>c</b>			

\* Letras distintas indican diferencias significativas a  $p= 0.05$ .



**Figura 14.** Peso seco (a) y volumen de las raíces (b) en los distintos tratamientos. Letras diferentes denotan diferencias significativas  $p < 0.05$ .



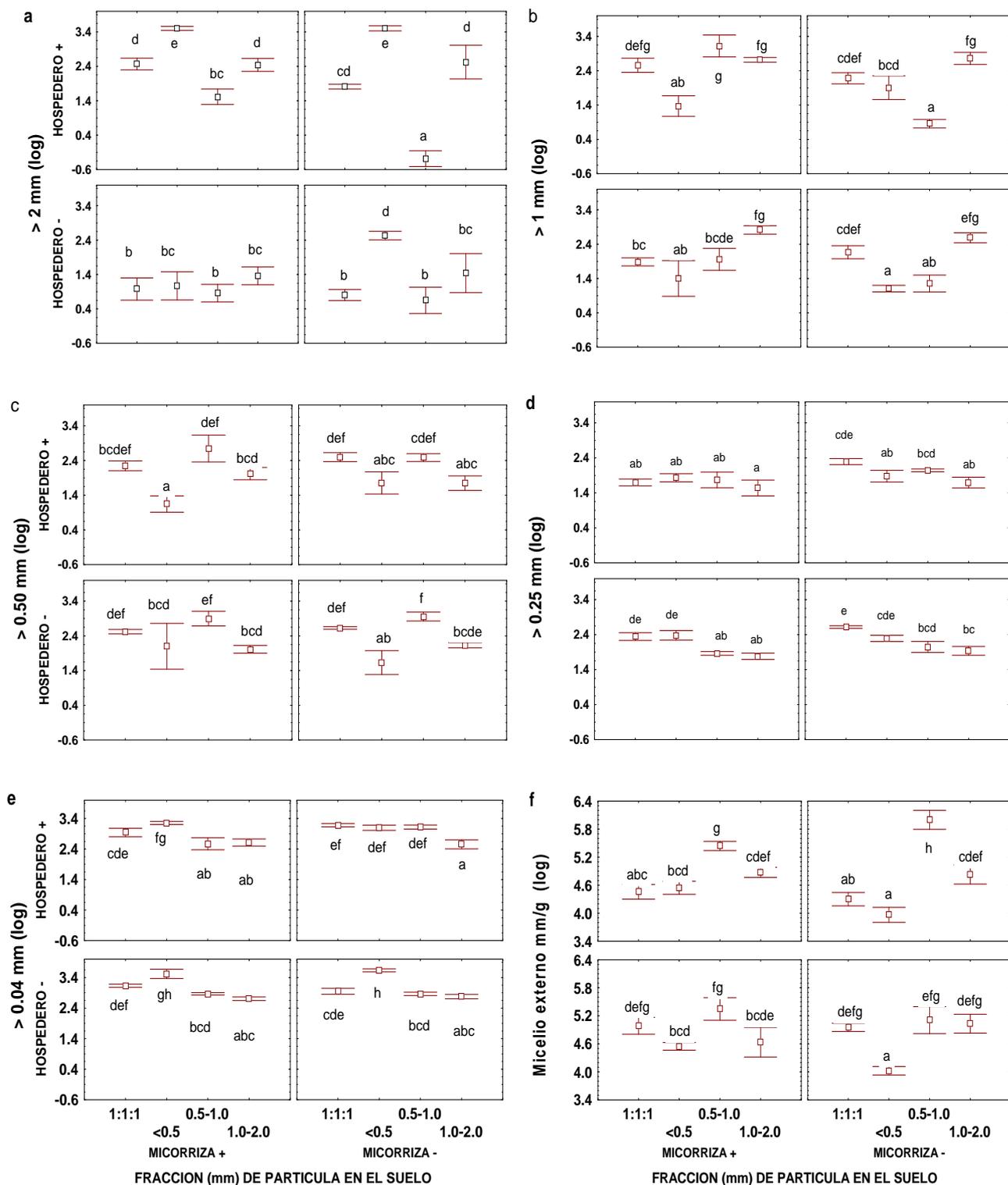
**Figura 15.** Morfotipo V. *Glomus* sp. 3: **a-d)** MCC7H+M+0.5-1.0, **e-h)** MCC1H+M+1:1:1, **i-o)** MCC18H+M+1.0-2.0, **p-s)** MCC17H+M+1.0-2.0, **t-u)** MCC20H+M+1.0-2.0, **v)** MCC3H+M+1:1:1, **w)** MCC16H+M+1.0-2.00. Morfotipo VI. *Glomus* sp. 4: **x)** MCC16, **y-z)** MCC7, **1)** MCC20, **2)** MCC1, **3)** MCC5H+M+1:1:1. Morfotipo VII. *Acaulospora* sp. 1: **4)** MCC6H+M+0.5-1.0. Morfotipo VIII. Afín *Acaulospora* sp. 2: **5)** MCC6. Morfotipo IX. *Glomus* sp. 5: **6)** MCC5. Barra= 50  $\mu$ m, 30  $\mu$ m (8).

## **6.6. Determinación de la estabilidad de los agregados (EA) y micelio externo (ME) de hongos micorrízicos arbusculares (HMA)**

Para la evaluación paramétrica de las diferentes fracciones de agregados estables en agua, se transformaron matemáticamente los porcentajes y se presentan graficados en la Figura 16. Los agregados  $> 2$  mm en los tratamientos con hospedero (efecto de las raíces) fueron mayores que en los compartimientos sin hospedero. Además del efecto de las raíces, el tamaño inicial de las partículas también tuvo un efecto positivo en la formación de este tamaño de agregados; ya que la fracción del sustrato  $< 0.5$  mm produjo una mayor agregación significativa cuando los suelos estuvieron sin influencia de las raíces. El efecto del micelio externo sólo fue significativo y positivo en la fracción de sustrato de 0.5 - 1 mm con hospedero micorrizado.

En el porcentaje de agregados  $> 1$  mm el efecto de la presencia del hospedero fue menos notorio y el efecto del micelio externo fue también significativo en la misma fracción de sustrato 0.5 – 1 mm (Fig. 16).

Los porcentajes de agregados de tamaños menores a 1 mm (0.5 mm y 0.25) fueron muy parecidos debido a que en estos tratamientos, se está cuantificando a los agregados que ya se habían formado al iniciar el experimento (fracciones de sustrato 1:1:1 y 0.5 – 1.0 mm) y que por tanto, los incluyen. De esta manera, una agregación a fracciones mayores o iguales solamente se aprecia cuando se parte de suelo tamizado a partículas  $< 0.5$  mm. Por otro lado, en el tratamiento con micorriza y hospedero, se ve una disminución en esta fracción debido a que se está consolidando a agregados mayores de 2 mm.



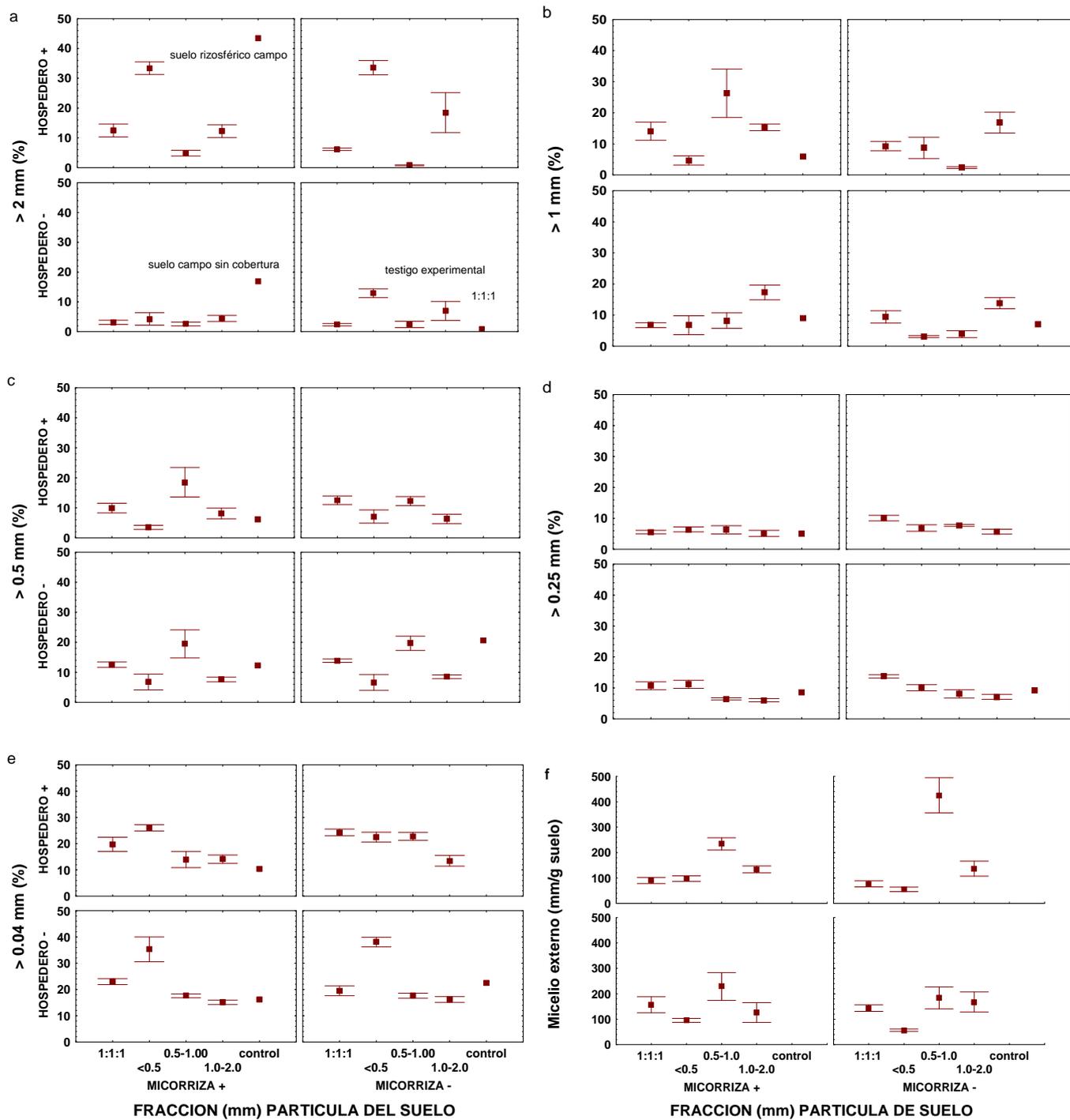
**Figura 16.** Agregados estables en agua (a-e) y micelio externo de HMA (f) en los distintos tratamientos de los microcosmos experimentales. Cada barra corresponde al e. e. de 5 repeticiones. Las variables se transformaron en logaritmos para ser comparadas en estadística paramétrica. Letras diferentes denotan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre todos los tratamientos dentro de un tamaño de agregados.

En la fracción de microagregados menores de 0.25 y 0.5 mm, se observa que todos los tratamientos con hospedero tienden a disminuir su abundancia con y sin micorriza. Esta disminución se debe a que las partículas en este rango de fracción están formando agregados > 1 mm.

Finalmente, los microagregados entre la fracción 0.25 – 0.04 mm sólo fueron mayores en los tratamientos con tamaño de partículas de sustrato < 0.5 mm.

En la Fig. 17 se representan los porcentajes sin transformar de las mismas fracciones de agregados de la Figura 16 y se incluyen los resultados de agregación de los dos tipos de controles, de campo y experimentales que no tienen repeticiones. Estos controles se colocaron en el extremo derecho de cada una de las gráficas aunque no corresponda a un tratamiento experimental en invernadero. Sin embargo se colocaron en las mismas gráficas porque tiene un equivalente experimental: cuando la muestra provino del suelo rizosférico en campo se colocó en los tratamientos con hospedero micorrizado (ubicado en las gráficas superiores izquierdas de cada tamaño de agregado estable en agua determinado). Los valores de las muestras de suelo no rizosférico o sin cobertura vegetal, se colocaron en los tratamientos experimentales equivalentes a sin hospedero pero con efecto del micelio externo (ubicado en las gráficas inferiores izquierdas). También se incorporó en estos gráficos el valor del control experimental, que consistió en una mezcla proporcional (1:1:1) de las tres fracciones iniciales (>2, >0.5, <0.5 mm) colocadas en un microcosmo que se regó una sola vez y se dejó secar. Con este se pudo verificar que la agregación analizada fuera el resultado de los distintos tratamientos en el tiempo y no de una reagrupación física de las partículas por el efecto del mojado y secado.

De este modo, los valores de los porcentajes de partículas > 2 mm obtenidos en las muestras testigos naturales del suelo rizosférico y sin cobertura, superan a la de su equivalente experimental con y sin hospedero, respectivamente. No se hicieron comparaciones estadísticas debido a que los testigos no tuvieron repeticiones. Para todas las demás fracciones cuantificadas, el porcentaje de microagregados es similar o inclusive es ligeramente menor (*v. gr.* > 1, > 0.04 mm). Los agregados en el microcosmos experimental testigo fueron similares en todas sus fracciones que los tratamientos sin hospederos después de los 6 meses en invernadero. Esto es particularmente importante en los agregados > 2 mm que no se pudieron haber formado porque las fracciones iniciales no los contenían y sí contenían una mezcla proporcional de las fracciones inferiores.



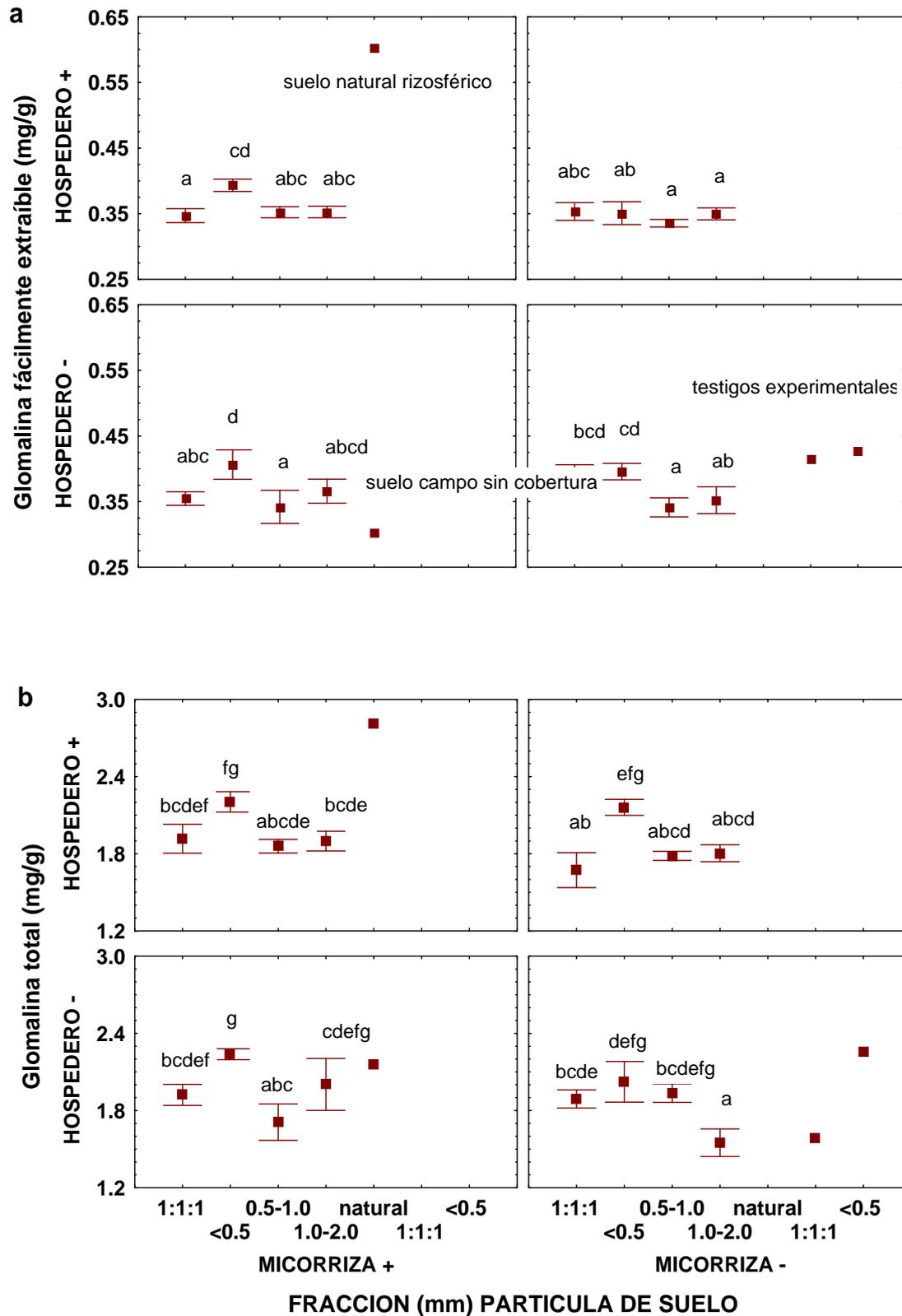
**Figura 17.** Porcentaje de las distintas fracciones de agregados estables en agua (a-e) y micelio externo ( $\text{mmg}^{-1}$  suelo) de HMA (f) en los microcosmos experimentales y en controles naturales *in situ* (suelos de campo) y previos al experimento. Cada barra corresponde al e. e. de 5 repeticiones.

Por otro lado, los contenidos de micelio externo (Figs. 16f y 17f) no parecen tener relación con los tratamientos micorrizados si no con el tamaño de partícula de sustrato siendo mayor en los tratamientos con fracciones entre 0.5 a 1 mm. Los tratamientos con fracciones < 0.5 mm tienden a contener menor cantidad de micelio externo y se presenta un caso excepcional de la fracción 0.5-1 mm en el tratamiento hospedero sin micorriza que parece tener relación con el contenido mayor de raíces mostrado en la Fig. 14.

### **6.7. Cuantificación de glomalina fácilmente extraíble (GFE) y total (GT)**

El contenido de GFE fue menor que la GT en todos los tratamientos (Fig. 18). A su vez, la GFE fue mayor en los tratamientos micorrizados de la fracción < 0.5 mm. La concentración de GFE en muestras de campo rizosféricas fue casi el doble que la experimental, pero fue menor a la experimental con micorrizas cuando los suelos provienen de suelo de campo sin cobertura. La concentración de GFE en los suelos rizosféricos en campo fue casi del doble que en los suelos sin cobertura. Experimentalmente, no se observó efecto del hospedero en este tipo de glomalina y la su cantidad en el suelo después del experimento no se incrementó siendo únicamente ligeramente mayor en la mezcla de tamaños de partícula 1:1:1 y < 0.5.

El contenido de GT presentó tendencias similares que el de GFE. La GT en suelos rizosféricos de campo también fue casi del doble que en los suelos experimentales y mayor en los suelos de campo rizosféricos que en los desnudos; aunque en los suelos desnudos el contenido no varía mucho del de los experimentales. Las mayores concentraciones de ambos tipos de glomalina se presentaron en los tratamientos con los suelos con tamaño de partículas < 0.5 mm.



**Figura 18.** a) Concentración de glomalina fácilmente extraíble y b) glomalina total en los suelos de los microcosmos y en controles naturales *in situ* (suelos de campo) y previos al experimento. Cada barra corresponde al e. e. de 4 repeticiones. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre todos los tratamientos de cada inciso ( $p < 0.05$ ).

## VII. Discusión

La agregación del suelo a partir de distintos tamaños de partículas estuvo regulada por varios procesos. El primero de ellos fue el tamaño de las partículas en sí mismo, en donde se quería conocer si existía una diferencia entre los diversos tamaños que facilitara su re-agregación. En este sentido, los resultados muestran que el tamaño de las partículas iniciales tiene una influencia notoria en la formación de los agregados  $> 2\text{mm}$ ; ya que ninguno de los tratamientos tuvo agregados estables de este tamaño anteriores al experimento. Los agregados de este tamaño se consideran macroagregados y son muy importantes debido a que promueven una buena estructura a los suelos, aeración, fertilidad, etc. (Wright y Hons, 2005).

Se observó que las partículas  $< 0.5\text{ mm}$  formaron agregados estables *de novo* más fácilmente que el resto de las fracciones, lo cual puede ser lógico si se considera que partículas de tamaños más pequeños tienen mayor superficie y podrán reagruparse y consolidarse más fácilmente en unidades mayores. Deneff *et al.* (2001) encontraron agregación experimental en suelos a partir de partículas  $< 250\ \mu\text{m}$  a los 14 días. Esto se debe a que en la granulometría de partículas menores, predomina la naturaleza mineral cuya atracción se puede deber a diferentes fuerzas cohesivas (Tarchitzky *et al.*, 2000). Esta agregación fue notoria hasta 40 % en los microcosmos con raíces.

Por otro lado está el efecto de las raíces en la agregación en donde se observa que en la formación de macroagregados  $> 2\text{ mm}$  y en algunos  $> 1\text{mm}$ , los tratamientos cuyos compartimentos tenían hospedero, independientemente de la micorriza, tuvieron una mayor agregación. En el resto de las fracciones pareció no haber un efecto significativo en la agregación *de novo* por las raíces, pero sí se observa una disminución en la fracción  $> 0.25\text{ mm}$  en los tratamientos con raíces. Es posible que la fracción que consolida a los macroagregados esté partiendo de tamaños de partículas de estos diámetros. Las raíces de las plantas consolidan a los agregados mediante la formación de sustancias cementantes exudadas como mucigel (Traore *et al.*, 2000) y también por la acción física de crecimiento radical que ejerce presión en la unión de las partículas (Bearden y Petersen, 2000). Otros autores (Acevedo-Sandoval *et al.*, 2001) observaron que el pasto var. Rhodes tiene una gran habilidad para consolidar agregados estables en seco y húmedo.

El efecto del inóculo micorrízico no fue significativo en la formación de agregados de los diferentes tamaños de partícula, excepto en algunas de las fracciones

base (0.5-1.0 mm), especialmente en los compartimentos con hospedero en los agregados  $> 1$  y  $> 0.5$  mm. Desafortunadamente estos datos no pudieron ser correlacionados con algún parámetro confiable de colonización por hongos micorrízicos como el porcentaje de colonización radical. Cabe destacar que esto se intentó pero el procesamiento de las muestras no fue el adecuado y se perdió el córtex radical. Sin embargo, la producción de esporas nuevas (morfotipos de la Figura 15) que no habían sido registradas en ninguna de las muestras de caracterización del inóculo (Cuadro V), permitió verificar indirectamente que hubo colonización en los microcosmos. Por otro lado, se observó una tendencia a obtener el mismo morfotipo (*Glomus* sp. 3) en la mayoría de las repeticiones de los microcosmos analizados. Esto puede mostrar que la especie propagada proviene del inóculo de raíz o quizá del micelio externo y que después de las condiciones experimentales en invernadero generó esporas nuevamente. Algunos autores han observado que el efecto de los HMA en la agregación de manera experimental no es siempre evidente o es posterior al crecimiento vegetativo (De Gryze *et al.*, 2005; Bearden, 2001; Piotrowski *et al.*, 2004).

El contenido de micelio externo podría ser otra variable a cuantificar que permitiera constatar que los microcosmos experimentales estuvieron micorrizados y que el micelio externo cuantificado fue generado durante la investigación y no el que estaba en el suelo anteriormente. La tinción con azul de Tripano no discrimina la viabilidad. Una tendencia al incremento del contenido de micelio externo se observó en los microcosmos con plantas micorrizadas que tuvieron mayor agregación en la fracción anteriormente mencionada, 0.5-1.0 mm. Sin embargo, los datos de los microcosmos de la misma fracción en el compartimento de hospedero sin micorriza fueron contrarios. No se encuentra una explicación clara a este último valor en las tres repeticiones y es posible que en esta fracción de agregados en particular, hubiera mayor concentración de micelio anterior al experimento. No se tuvieron membranas control para conocer los contenidos de micelio en el suelo antes del experimento y también es posible que el micelio cuantificado no correspondiera a hongos micorrízicos arbusculares. Esto surge también de la observación de que aún cuando el valor de micelio externo en el microcosmos sin micorriza con hospedero es mayor, no tiene relación alguna con los contenidos de glomalina. Rillig *et al.* (2003) evidenciaron los problemas en distinguir la micorriza arbuscular de los hongos saprobios, a pesar de que el micelio cenocítico pudiera ser un carácter inconfundible, tiende a septarse fisiológicamente bajo situaciones de estrés o envejecimiento retrayendo su citoplasma. Otros investigadores

han discutido sobre la ausencia de correlación entre esta variable y la estabilidad de agregados y en gran medida lo atribuyen a las dificultades metodológicas en el momento de la evaluación (Borie *et al.*, 2000; Feneey *et al.*, 2004). Olivé *et al.* 1994 realizaron un experimento de doble compartimento para estudiar el efecto del ME en la agregación. A los 85 días cuantificaron la estabilidad de agregados en los rangos >1-1.4 y 1.4 a 2 mm sin encontrar correlaciones entre la cantidad de éstos y la cantidad de ME, aún cuando confirmaron que las raíces estaban colonizadas.

Los contenidos de GFE y GT mostraron también resultados interesantes sobre la agregación experimental en la fracción base <0.5 mm. En ambos casos, se incrementó significativamente la concentración en los tratamientos micorrizados y permaneció constante en la GFE en el tratamiento de hospedero sin micorriza. Esto permitiría confirmar que sí hay un efecto significativo de los HMA sobre la agregación en una de las fracciones o al menos que la estabilización de esta proteína en las partículas de suelo más pequeñas pueden tener un efecto inmediato en su agregación en tiempos cortos (seis meses en invernadero). Rillig *et al.* (2001) establecieron que el tiempo que perdura la glomalina en una selva tropical puede ser de 6 a 42 años. Por tanto no es sorprendente que los procesos de agregación en los suelos extensamente documentados en la literatura con relación a los HMA (Bethlenfalvay *et al.*, 1999, Augé *et al.*, 2001; Wright, 2001), se deba a un efecto producido a largo plazo. Por otro lado, anterior al descubrimiento de esta proteína, se consideraba que la agregación se debía a un complejo organo-mineral muy estable en el suelo, difícil de caracterizar. Wright y Upadhyaya (1998) establecieron que la mayor concentración de glomalina se encuentra en el complejo de arcillas del suelo. Esto es coherente con que los contenidos de ambas glomalinas son más altos en los tratamientos con tamaños de partículas menores.

En conclusión, los compartimentos en los que se observó mayor efecto general en la formación de agregados estables fueron los de hospedero micorrizado. Aunque es difícil separar el micelio de HMA y sus efectos, de la participación de efectos de las raíces (Miller y Jastrow, 1990; Olivé *et al.*, 1994). A corto plazo, se puede ver que la acción de las raíces es sinérgica cuando están micorrizadas y pudiera ser factible que el efecto solo del micelio externo en la agregación sea notorio en un mayor tiempo.

Los resultados muestran que la agregación natural de las muestras recolectadas en campo y los contenidos de glomalina, son el resultado de un proceso que lleva muchos años en consolidarse y en el que la cobertura vegetal tiene efecto determinante. La estructura del suelo, es un parámetro sintético que se da por la conjunción de

múltiples variables como la textura, el contenido de carbono, etc. (Tisdall, 1991; Schlecht-Pietsch *et al.*, 1994; Six *et al.*, 2000). Parámetros edáficos como la textura, contenido de MO o pH no fueron cuantificados en este estudio y que hubieran podido explicar posiblemente de mejor manera que en los inicios de la agregación, las propiedades de los suelos tengan una influencia inmediata y en segundos procesos comiencen las variables biológicas (Borie *et al.*, 2000; Deneff *et al.*, 2001; De Gryze *et al.*, 2005; García-Oliva *et al.*, 2006). Sin embargo, la intención del trabajo fue demostrar que el efecto *per sé* de los hongos micorrízicos también es consecuencia de un proceso de interacción con la biota del suelo (hospederos) y sus partículas y que es difícil de producir a corto plazo. Por otro lado, efectos físicos como el humedecimiento y secado también han sido mostrados como parte fundamental en el efecto de agregación (Deneff *et al.*, 2005).

De este modo se destaca que la agregación natural en los edafosistemas tiene otro factor clave que es el tiempo. Por esta razón, las correlaciones que se establecen en la literatura entre el micelio externo, el contenido de glomalina y la estabilidad de agregados mayores a 2 mm han resultado ser altamente significativas (Wright y Updahyaha, 1996). Sin embargo, se debe considerar que en cualquier práctica de restauración, se partirá de suelos cuya estructura ha sido modificada y en la mayoría de los casos, cuya cobertura vegetal ha sido disminuida considerablemente si no es que completamente. Otras variables; como el contenido de carbono orgánico que estabiliza los agregados también disminuye con la erosión superficial de los horizontes orgánicos (García-Oliva *et al.*, 1995; 1999), por lo que restablecer el tipo adecuado de cobertura vegetal, adaptado a las condiciones edáficas es el primer proceso que nos permitirá una agregación rápida y con ello, una disminución de la erosión superficial.

En este estudio se seleccionó una variedad de pasto que se utiliza en la localidad para evaluar su efecto a corto plazo en la estabilización de los suelos que ya tenían signos de erosión diagnosticada en campo (terracetas, pérdida de cobertura vegetal, etc.). Las gramíneas son especies que generan abundantes raíces y son usadas para propagar inóculo, lo que significa que establecen muy fácilmente simbiosis con HMA. Castellanos *et al.* (1991; 2001) cuantificaron el porcentaje de biomasa radical de raíces finas en estos ecosistemas y encontraron que más del 70 % se da en los primeros 10 cm de profundidad. Recurrir al germoplasma que la gente usa localmente y evaluarlo experimentalmente, pudiera permitir que siga siendo utilizado por la gente con una buena aceptación (Maass *et al.*, 1998). Sin embargo, en este estudio, no se pretende

valorar si es adecuado o no que la gente utilice pasto de Guinea para controlar la erosión, dado que no un estudio comparativo entre las variedades de pasto usadas ni tampoco se evaluó si el manejo del pastizal en si es apropiado para la aptitud de estos suelos. En este sentido, estudios posteriores pudieran enfocarse en seleccionar otro tipo de hospederos prometedor para la restauración idónea, es decir, especie nativas pionera o de fácil propagación representativas del bosque seco caducifolio.

Con estos resultados, se pudo demostrar que el tamaño de partículas tiene una influencia en la macroagregación inmediata de estos suelos. En este tipo de pastizales, ha aumentado la proporción de los microagregados debido al cambio de uso de suelo (Cotler y Ortega-Larrocea, 2006). Por lo tanto, utilizando buenas prácticas de manejo, se puede recuperar la macroagregación ya que con esto, de inmediato se mejora la estructura del suelo, se aumenta la porosidad, se conserva la materia orgánica y se facilita su recuperación y sus funciones. De Gryze *et al.* (2005) encontraron un muy bajo porcentaje de agregación del suelo cuando no se le adicionaban sustratos orgánicos, siendo menor al 3 % en suelos arcillosos después de tres semanas. Barthès y Roose (2002) calculan que la pérdida de suelo está inversamente relacionada con el contenido de macroagregados > 2 mm.

Kummerov *et al.* (1990) encuentran que la producción de biomasa radical en estas selvas tropicales puede llegar hasta un 85 % de la productividad primaria neta, incluyendo con esto a los HMA. La diversidad de HMA encontrados en este trabajo fue baja en comparación a la encontrada en selva por Allen *et al.* (1998), pero se continúa observando la predominancia de los morfotipos del género *Glomus* en los pastizales encontrados por los mismos autores y en este trabajo.

## VIII. Conclusiones

El proceso de agregación de un suelo fraccionado en partículas de distintos diámetros y en una mezcla de las mismas, fue observado experimentalmente bajo condiciones de invernadero que duraron seis meses. La duración del experimento fue insuficiente para poder apreciar un efecto significativo de los HMA como ha sido observado bajo condiciones naturales.

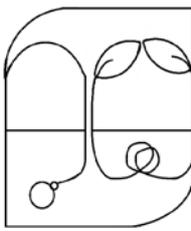
El tamaño inicial de la partícula, así como el efecto radical fueron las dos variables en las que se observó una notoria macroagregación. En el sustrato formado de la fracción de partículas  $<0.5$  mm, se pudieron observar efectos significativos en la agregación debido a los tratamientos con hospedero; éstas partículas se unieron para estabilizar nuevamente agregados  $> 1$  y  $2$  mm. Las raíces ejercieron, a corto plazo, un efecto significativo en la consolidación inmediata de estos agregados.

No se pudo apreciar la participación de los HMA relacionada con el contenido de micelio externo con alguna fracción particular de agregados. Esto puede deberse a que en la técnica de cuantificación utilizada, no se hacen diferencias en la viabilidad de las hifas y por tanto, no se discrimina entre el micelio que existía en el suelo y el generado bajo las condiciones experimentales.

Las cuantificaciones de glomalina fácilmente extraíble y total, parecieron no variar en la mayoría de los tratamientos, exceptuando en la fracción  $<0.5$  mm que presenta una mayor agregación en los tratamientos con micorriza. Se corrobora lo que ya se había postulado por otros autores anteriormente acerca de que en las fracciones finas de suelo, existe una mayor concentración de glomalina. Es posible que esta mayor retención tenga un efecto directo en la consolidación inmediata de estas fracciones menores. Los tratamientos sin micorriza en la fracción lábil que correspondería a la proteína que se estaría produciendo inmediatamente, no mostraron diferencias. Esto sugiere que es posible que de manera experimental a corto plazo, los hongos arbusculares tengan un efecto inicial agrupando a las partículas menores.

El contenido de agregados en la fracción  $> 2$  mm a partir de muestras de campo y del contenido de glomalina en las mismas, son mayores en suelo rizosférico en

comparación con el obtenido donde no había cobertura vegetal. Los valores de glomalina fácilmente extraíble y total de los suelos de suelo sin cobertura que sirvieron para montar el experimento, no varían antes y después de la agregación experimental. Esto pone de manifiesto que la recuperación de la estabilidad de los agregados en los suelos erosionados, está estrechamente relacionada con su contenido de partida y que al igual que el efecto rizosférico puede llegar a recuperarse en un tiempo relativamente rápido con raíces micorrizadas. A su vez, los valores de campo, con respecto a los valores experimentales de ambas variables fueron mayores. Dado a que el experimento fue elaborado con los suelos que carecían de cobertura vegetal, se observa que la macroagregación y estabilización puede ser rápidamente lograda con el crecimiento radical. Sin embargo, es muy probable que el efecto del micelio externo requiera de mucho más tiempo para poder ser notorio en la estabilización de las partículas del suelo.

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP) LABORATORIO DE EDAFOLOGIA AMBIENTAL (LEA)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00x
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 1-2.
	ANEXO 1	16-04-2008
	<b>Determinación de la densidad aparente (método del cilindro)</b>	Versión: 2

### Propósito

Determinar la densidad aparente en muestras inalteradas de suelos. El conocimiento de la densidad aparente es importante para poder calcular el volumen de poros en el suelo. Además es necesario conocer la densidad aparente para poder calcular el contenido de compuestos del suelo en base de un volumen definido del mismo.

### Principio

Sacar con un cilindro una muestra inalterada de un volumen definido en el campo, secarla a 105°C en la estufa para eliminar el agua, cuantificar la masa sólida del suelo por gravimetría y relacionarla con el volumen.

### Técnicas relacionadas

- PRESOPLEA Muestreo
- PRESOPLEA Balanza
- PRESOPLEA Estufa
- PRESOPLEA Levantamiento morfoedafológico

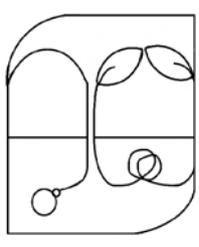
### Equipo y material

- Cilindros de metal o plástico de un volumen definido (100 cm<sup>3</sup>)
- Nucleador para cilindros
- Marro de hule
- Espátula
- Papel aluminio
- Estufa
- Cajas de Petri
- Balanza granataria
- Desecador

### Reactivos

No aplica.

<u>Autor:</u> A. Herre.	Fuente: PRESOP-LEA
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u> Pilar Ortega.	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP) LABORATORIO DE EDAFOLOGIA AMBIENTAL (LEA)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 2-2.
	ANEXO 1	16-04-2008
	<b>Determinación de la densidad aparente (método del cilindro)</b>	Versión: 2

## Muestra

Muestra inalterada de suelo (PRESOP-LEA levantamiento morfoedafológico).

## Procedimiento

Regresando del campo se desempacan las muestras quitando las cubiertas de aluminio y teniendo cuidado de que no haya pérdida de muestra. Se sacan las muestras de los cilindros colocándolas en cajas Petri taradas (peso caja Petri vacía=X). Éstas se meten a la estufa a 105 °C durante 24 horas (nota: no meter las muestras con los cilindros de plástico porque estos se funden). Verificar que el orificio de ventilación en la parte superior de la estufa se encuentre abierto.

Se sacan las muestras de la estufa, se meten a un desecador y se espera a que se enfríen para posteriormente pesarlas en una balanza con una precisión de 0.1 g (Peso Y).

## Cálculos

### a) Densidad aparente:

Al peso de la caja Petri antes de meterse a la estufa (Peso X) se le resta el peso después de secar la muestra (Peso Y) para obtener el peso de la muestra secada a 105 °C (Peso Z).

La densidad aparente (d.a.) es el cociente entre el peso Z y el volumen del cilindro con el cual se tomó la muestra:

$$d.a. (gcm^3) = ((\text{Peso Y (g)} - \text{Peso X (g)}) / \text{Volumen del cilindro (cm}^3))$$

### b) Volumen de poros (VP):

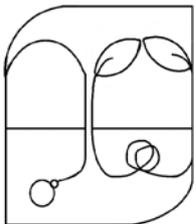
$$VP = 1 - (d.a./d.r.)$$

Con d.r. densidad real

## Referencia

Schlichting, E., H-P. Blume y K. Stahr. 1995. Bodenkundliches Praktikum. Pareys Studentexte 81, 2a. Edición, p. 96-97.

<u>Autor:</u> A. Herre.	Fuente: PRESOP-LEA
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u> Pilar Ortega.	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP) MICROCOSMOS BIOEDAFICO</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 1-2.
	ANEXO 2	16-04-2008
	<b>Extracción de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (tamizado en húmedo y decantación).</b>	Versión: 2

### Propósito

Aislamiento y conteo de esporas de hongos micorrízicos de una muestra de suelo.

### Principio

Método utilizado para el aislamiento de esporas de hongos micorrízicos arbusculares del suelo. Este método se basa en suspender una muestra de suelo en agua corriente y pasarla por varios tamices de apertura de malla descendente. Por lo general, se utilizan cribas de 500, 250 y 100  $\mu\text{m}$  con la finalidad de aislar las esporas lo más limpias posibles y/o hacer el conteo.

### Técnicas relacionadas

No aplica.

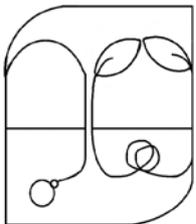
### Equipo y material

Vaso de precipitado de 1 L  
Cajas Petri de vidrio previamente cuadrículadas con plumón indeleble  
Gendarme  
Tamiz de 0.032 mm  
Piceta

### 1. Reactivos

Agua corriente

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños.	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP) - MICROCOSMOS BIOEDAFICO</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 2-2.
	ANEXO 2	16-04-2008
	<b>Extracción de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (tamizado en húmedo y decantación).</b>	Versión: 2

### Muestra

Muestra de suelo rizosférico.

### Procedimiento

Elaborar una suspensión de suelo (la cantidad depende de la procedencia de la muestra) en aproximadamente 1 L de agua. Agitar mecánicamente durante 5 minutos con un gendarme y dejar reposar unos segundos hasta observar que las partículas grandes sedimenten. Pasar la suspensión a través de un tamiz de 0.032 mm y repetir el proceso dos veces más lavando el material en el tamiz con abundante agua hasta limpiarlo perfectamente de partículas de limo y arcilla. Finalmente la fracción obtenida se debe de repartir en cajas petri de vidrio previamente cuadrículadas. Examinar cada una de las muestras obtenidas con ayuda de un microscopio estereoscópico para la identificación y cuantificación de esporas presentes en la muestra de suelo.

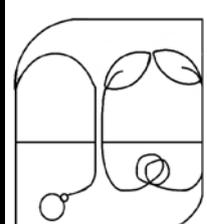
### Cálculos

El resultado final se debe de expresar como el número de esporas por los gramos de suelo seco utilizados.

### Referencia

Gerdemann, J.W. y T.H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal. Endogone species extracted by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46: 235-234.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 1-2.
	ANEXO 3	16-04-2008
	<b>Preparación azul de Tripán</b>	Versión: 2

### Propósito

Describir el procedimiento para la preparación del azul de Tripán-lactoglicerol, utilizado en la tinción de raíces aclaradas para la observación de hongos micorrízicos arbusculares.

### Principio

El azul de Tripán es un colorante que se adsorbe a las paredes celulares con contenidos de quitina como las de los hongos. Su afinidad a estos componentes de membrana, permite que sea utilizado para contrastar estructuras internas de hongos micorrízicos arbusculares que se forman intraradicalmente en raíces cuyo contenido celular ha sido eliminado con KOH para transparentarlas.

### Definiciones

No aplica

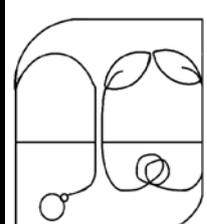
### Presops relacionadas

PRESOP MCC Aclaración de raíces.

### Equipo y material

1 probeta de 50 mL  
 1 probeta de 25 mL  
 1 probeta de 5 mL  
 1 vaso de precipitado de 100 mL  
 1 varilla de vidrio  
 1 espátula  
 Cajas de Petri  
 Guantes de látex  
 Balanza granataria  
 Agitador magnético (opcional)  
 Magneto mediano (opcional)

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	<u>Fuente:</u>
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 2-2.
	ANEXO 3	16-04-2008
	<b>Preparación azul de Tripán</b>	Versión: 2

### Reactivos

Agua destilada	25 mL
ácido láctico	25 mL
glicerol	50 mL
azul de Tripán	0.5 g

### Muestra

Raíces aclaradas.

### Procedimiento

1. Preparación del colorante (azul de Tripán 0.05% en lactoglicerol): en un vaso de precipitados de 100 mL. se agregan 25 mL. de agua destilada, 25 mL del ácido láctico y 50 mL. de glicerol. Se homogeneizan con ayuda de la varilla de vidrio o se ponen en un agitador magnético con imán. Se agregan 0.5 g de azul de Tripán y se revuelve hasta que no queden motas del colorante. Se afora a un litro y se guarda en un recipiente etiquetado. El azul de Tripán como muchos colorantes es tóxico celular por lo que debe ser tratado con guantes y los desperdicios deben ser confinados para un tratamiento especial. **NO VERTER A LA TARJA.**

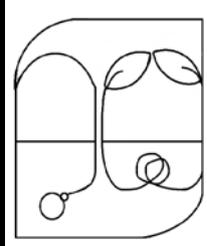
2. El colorante se añade a las raíces colocadas en tubos de ensaye cubriéndolas completamente y se deja a temperatura ambiente por 24 h. Pasado este tiempo, las raíces se colocan en una caja de Petri y se les añade lactoglicerol para esparcirlas. Con ayuda de un microscopio estereoscópico se verifica que las estructuras internas se hayan teñido. Si hay un exceso de tinción, se pasan las raíces a solución de glicerol y se enjuagan con ésta.

### Referencias

Brundrett M., Bougher N., Dell B., Grove T. And Manajczuk N., 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and agriculture. ACIAR Monograph 32. Pags.: 179-181.

Phillips, J. M., D. S. Hayman. 1970. Improve procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 1-3.
	ANEXO 4	16-04-2008
	<b>Porcentaje de colonización micorrízica arbuscular en raíces</b>	Versión: 2

## Propósito

Obtener el porcentaje de colonización de hongos micorrízicos en raíces de una muestra de suelo.

## Principio

El porcentaje de colonización de las raíces permite conocer el grado de ocupación de un hongo micorrízico arbuscular en una raíz y la identificación de las distintas estructuras presentes para determinar su abundancia y estado fenológico.

## Técnicas relacionadas

- PRESOP MCCPX "Recolecta, extracción y selección de raíces"
- PRESO MCCPX "Limpieza de las raíces"
- PRESOP MCCPX "Aclaración de raíces"
- PRESOP MCCPX "Tinción de raíces"
- PRESOP MCCPX "Fijación de raíces para su preservación"

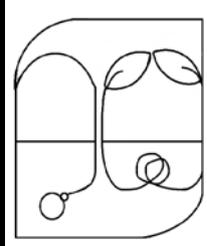
## Equipo y material

- Microscopio óptico
- Mica laminada

## Reactivos

No aplica

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

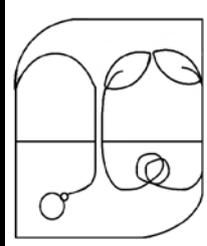
	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP) -Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 2-3.
	ANEXO 4	16-04-2008
	<b>Porcentaje de colonización micorrízica arbuscular en raíces</b>	Versión: 2

### Procedimiento

La evaluación de la colonización de las raíces se realiza contando bajo 200 aumentos todas las raíces de la preparación y localizando los 100 puntos de intersección donde había colonización. Así se logra verificar el número de estructuras de hongos micorrízicos en cada una de las raíces (10 raíces por laminilla) por lo que esto presenta un porcentaje.

1. Una vez montadas las raíces, se le extienden sobre la laminilla una placa o mica transparente que tiene dibujada una rejilla. La rejilla tiene que tener 10 líneas trazadas horizontales.
2. A continuación observamos de manera cuidadosa y ordenada cada una de las líneas horizontales que conforman la rejilla, anotando:
  - a) Los contactos que se producen entre las raíces y las líneas anteriores.
  - b) Los puntos anteriores que además de contacto (intersección), presentan colonización por un hongo (espora, hifa, arbusculo o vesícula).
3. Se calcula el sumatorio de todas las intersecciones producidas y de todas aquellas que además contaban con presencia fúngica.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 3-3.
	ANEXO 4	16-04-2008
	<b>Porcentaje de colonización micorrízica arbuscular en raíces</b>	Versión: 2

### Cálculos

El porcentaje de colonización radicular (CR) se obtiene a partir del cociente: Ni / Ti, siendo Ni = número de intersecciones infectivas, y Ti = Total de intersecciones producidas (figura 1).

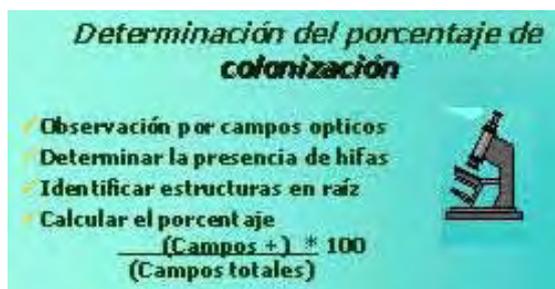
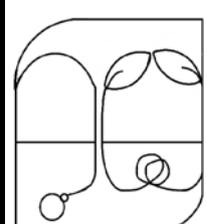


Figura 1. Cálculo del porcentaje de colonización en raíces.

### Referencias

Phillips, J. M. y D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. 55: 158-161.

Autor: Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:	Firma

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 1-2.
	ANEXO 5	16-04-2008
	<b>Preparación de alcohol polivinílico -lactoglicerol (PVLG)</b>	Versión: 2

### Propósito

Describir el procedimiento para la preparación del alcohol polivinílico-lacto glicerol (PVLG), utilizado en el montaje de preparaciones semipermanentes de raíces micorrizadas.

### Principio

El alcohol polivinílico es un polímero que solidifica a temperatura ambiente y forma una matriz transparente en donde se conservan intactas de manera casi permanente, distintas estructuras biológicas como esporas de hongos micorrízicos o raíces previamente tratadas. Esta resina tiene una densidad óptica que permite una adecuada observación al microscopio sin causar interferencias, además de que es soluble en agua, en caso de que se requiera rescatar la estructura fijada para llevar a cabo otro procedimiento.

### Técnicas relacionadas

PRESOP MCCP Aclaración de raíces

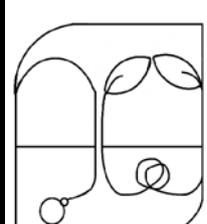
PRESOP MCCP Tinción de raíces

PRESOP MCCP Aislamiento y montaje de esporas de HMA

### Equipo y material

- 1 probeta de 10 mL
- 1 probeta de 50 mL
- 1 probeta de 5 mL
- 1 vaso de precipitado de 50 mL
- varilla de vidrio
- espátula
- balanza
- parrilla de calentamiento con agitador
- agitador magnético pequeño
- vidrio de reloj
- goteros de 50-100 mL
- caja de Petri
- Portaobjetos estándares
- Cubreobjetos largos ( 6 cm)

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 2-2
	ANEXO 5	16-04-2008
	<b>Preparación de alcohol polivinílico -lactoglicerol (PVLG)</b>	Versión: 2

### Reactivos

alcohol polivinílico*	0.93 g
agua destilada	15 mL
ácido láctico	10 mL
glicerol	1 mL

\* (BDH Product 29791). M.W. aprox. 115.000 87% hydrolised, 40c P viscosity of 4 % aqueous solution at 20 °C.

### Muestra

Raíces teñidas en azul de Tripán.

### Procedimiento

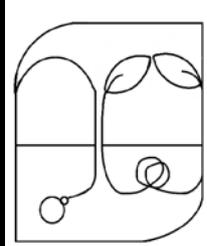
1. En un vaso de precipitados de 50 mL. se agregan 15 mL. de agua destilada y se calienta previamente en el agitador con el magneto. Se tapa con el vidrio de reloj procurando se evapore lo menos posible. Posteriormente se agrega el alcohol polivinílico lentamente para evitar que éste se agrume, regulando la temperatura para evitar el hervor y la agitación para acelerar su dilución. Una vez que se haya disuelto el alcohol polivinílico (éste tarda un tiempo considerable, no desesperarse), se agrega el ácido láctico y el glicerol, se homogeneiza en calor con una agitación suave constante procurando que se evapore lo menos posible de agua para que no se polimerice antes de tiempo. Se deja reposar a temperatura ambiente tapado hasta que las burbujas hayan salido y se dispensa en goteros marcados.

2. Se vacían las raíces teñidas en una caja de Petri y se dispersan en la misma. Se seleccionan al azar y se colocan 10 segmentos de raíces verticalmente en un portaobjetos, separados unos de otros por una distancia mínima de 0.5 cm. Se añaden gotas de la solución de PVLG en medio de cada raíz una por raíz. Se coloca un cubreobjetos con cuidado de que no se salgan ni se desacomoden las raíces y con ayuda de una goma de lápiz se extiende toda la resina de manera que cubra el interior completamente de la preparación aplicando presión. Los restos de la solución saldrán por los lados por lo que esto se hace con cuidado en una toalla absorbente. Se limpia la preparación con toalla absorbente y alcohol 70 %, se espera su secado y se marca la preparación con los datos pertinentes. Se deja polimerizar libre del polvo por 24 h o hasta que solidifique (depende del PM del alcohol). El resto de las raíces se guardan en tubos Eppendorf marcados para posteriores repeticiones. Regularmente se prepara un duplicado por muestra.

### Referencia

Omar, M. B., Bolland, L. and Heather, W. A. 1979. A permanent manting medium for fungi. Bulletin of the British Mycological Society 13, 13-32.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	<u>Fuente:</u>
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 1-3.
	ANEXO 6	16-04-2008
	<b>Cuantificación de la biomasa radical</b>	Versión: 2

### Propósito

Obtener el volumen y/o biomasa de raíces de una muestra de suelo.

### Principio

El desplazamiento del volumen al sumergir raíces en un cilindro con un volumen conocido de agua, permite conocer con exactitud el volumen que ocupan éstas en el suelo. A su vez, el peso en fresco o seco de las raíces, permite conocer la proporción en peso que ocupan éstas en una cantidad conocida de suelo.

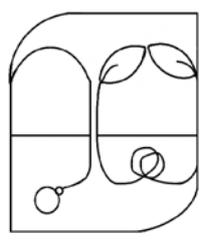
### Técnicas relacionadas

- PRESOPMCCP Recolecta, extracción, selección y preservación de raíces.

### Equipo y material

- Vaso de precipitados de 200 mL
- Probetas volumétricas de 10, 20 y 50 mL
- Bandeja de plástico grande
- Tamiz de 0.47 mm apertura
- Pinzas de disección
- Cajas de Petri
- Estufa
- Balanza
- Cubeta
- Guantes de látex
- Dos palos de madera de 30 cm o mayores

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 2-3.
	ANEXO 6	16-04-2008
	<b>Cuantificación de la biomasa radical</b>	Versión: 2

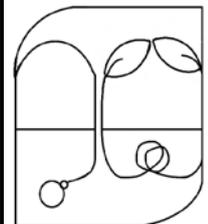
### Reactivos

- Agua corriente.

### Procedimiento

1. Se pesa el vaso de precipitado vacío y se anota el valor en la libreta de datos.
  2. De cada muestra de suelo, se toma el equivalente del volumen del vaso de precipitado (200 mL), cuidando de no dejar espacios golpeando el mismo para que se acomoden las partículas. Se pesa el vaso con la muestra de suelo y se anota el dato.
  3. Ya pesada la muestra, se coloca en una bandeja cubriendo el suelo con agua. Con guantes se desbaratan los agregados y terrones de suelo con cuidado, procurando que todo el suelo quede "desintegrado".
  4. Se coloca el tamiz sobre la una cubeta con cuidado de que no caiga, fijándolo con dos palos de madera. La muestra de la bandeja se pasa por este tamiz debajo del grifo de agua en la tarja y se lava con agua corriente sobre el tamiz las veces que sean necesarias hasta observar las raíces limpias.
  5. Con ayuda de las pinzas se recolectan las raíces cuidando de no dejar raicillas en el mismo y se colocan en papel secante o absorbente de cocina. Se toma el peso en fresco de las raíces, tarando el peso de la toallita o en una caja de Petri seca. Todas las raíces deben estar libres de partículas de suelo y se sacan del tamiz con la menor cantidad posible de suelo. El agua utilizada para el lavado de suelo que queda en la bandeja, se elimina en un jardín o zona destinada para residuos de suelo inocuos.
- Nunca vaciar a la tarja con el suelo porque se tapa.**
6. Dependiendo de la abundancia radical, se selecciona una probeta volumétrica de 10, 20 ó 50 mL. Se llena a la mitad del volumen con agua corriente y se colocan dentro las raíces. Se anota el volumen de agua desplazado por las raíces en décimas de mL..
  7. Se sacan las raíces de la probeta y se colocan de nuevo a secar en una toallita de papel en un lugar seco aproximadamente 24 h.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

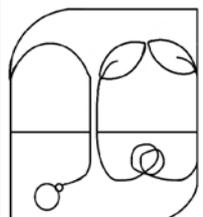
	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 3-3.
	ANEXO 6	16-04-2008
	<b>Cuantificación de la biomasa radical</b>	Versión: 2

8. Las muestras de raíces ya secas se ponen en una base de una caja de Petri, previamente numerada y pesada anteriormente. La base se coloca en la estufa a 100 °C por 24 h a peso constante. Verificar que la abertura de la estufa no esté cerrada para que el vapor de agua se elimine. Se sacan las bases, se dejan enfriar en un desecador y se pesan.

### Cálculos

Peso seco de raíces = Peso de base de la caja Petri con raíces – peso de la base de la caja Petri  
 volumen radical = volumen de agua final con las raíces en la probeta – volumen inicial sin raíces.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN</b> <b>(PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 1-3.
	ANEXO 7	16-04-2008
	<b>Aclaración de raíces</b>	Versión: 2

### Propósito

La aclaración es un tratamiento anterior a la tinción, permitirá al momento de observar las raíces al microscopio, una mejor visión de las estructuras que las constituyen; en este caso para la búsqueda de esporas de hongos micorrizicos arbusculares.

### Principio

El hidróxido de potasio es una sustancia de pH alcalino que ocasiona la destrucción del citoplasma de células vegetales mediante lisis de la membrana vegetal vaciando con esto su contenido sin afectar la pared celular (formada principalmente de celulosa) ni las esporas o hifas de hongos micorrizicos arbusculares (parte de su constitución es de quitina).

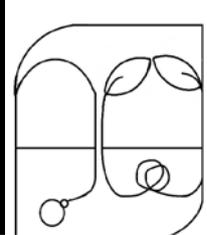
### Técnicas relacionadas

-PRESOP MCCP Recolecta, extracción, selección y preservación de raíces.

### Equipo y material

- 2 Matraces aforados de 1 L
- Tubos de ensayo
- Cajas de Petri
- Microscopio estereoscópico
- Agujas de disección
- Pinzas de disección largas (30 cm)
- Tijeras de disección
- Gradilla
- Guantes de látex
- Parafilm

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 2-3.
	ANEXO 7	16-04-2008
	<b>Aclaración de raíces</b>	Versión: 2

### Reactivos (con guantes)

- Hidróxido de potasio (KOH) al 10%: pesar 100 g de KOH y disolver en aproximadamente 500 mL. de agua destilada, se afora a un litro. Este procedimiento genera calor por lo que se debe hacer lentamente, revolviendo con cuidado la base del matraz.

- Ácido clorhídrico (HCl) al 10 %: agregar lentamente por las paredes del matraz aforado bajo campana de extracción, 170 mL de HCl (pureza 36 %) a 800 mL de agua destilada, aforar a un litro.

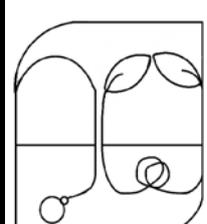
### Muestra

Las muestras de raíces se tratan de acuerdo con los procedimientos indicados en los PRESOP MCCP "Recolecta, extracción, selección y preservación de raíces" .

### Procedimiento

1. Las raíces se cortan en segmentos entre 2-4 cm. de largo, esto para que el aclarado sea uniforme.
2. Se introducen raíces a lo máximo, un tercio del volumen del tubo de ensayo en el mismo.
3. Se agrega con ayuda de guantes, KOH al 10 % de tal forma que las raíces queden cubiertas por la solución y se previene que no se sobrepasen 2/3 del volumen del tubo de ensayo. Se tapan con parafilm y se rotulan los tubos. Se dejan en reposo en la gradilla bajo la campana de extracción por 24 h\*. Se revisa periódicamente el grado de aclaración de las raíces bajo microscopio: con pinzas de disección se vacían las raíces en una caja de Petri SIN DERRAMAR CONTENIDOS y se observan bajo el microscopio estereoscópico con iluminación reflejante para observar si pasa la luz a través de las mismas. Si aún están oscuras o blancuzcas, se regresan nuevamente al tubo de ensayo y se les agrega más solución aclarante bajo las mismas condiciones. La solución anterior que debe quedar de un color amarillento, se vierte en un recipiente marcado con "desperdicios de KOH". Se esperan nuevamente 24 h para realizar la segunda observación y se repite el mismo procedimiento cuidando de que los tejidos de las raíces no se desintegren. Si pasado este tiempo todavía no transparentan, se pueden poner los tubos en una estufa a 60 °C con tapa para evitar la salida de gases tóxicos.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP) -Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 3-3.
	ANEXO 7	16-04-2008
	<b>Aclaración de raíces</b>	Versión: 2

4. Una vez que las raíces están lo suficientemente claras (esto es importante, por que si no es así, al momento de observarlas al microscopio no será fácil identificar las estructuras internas de las raíces), el KOH se neutraliza con HCl al 10 % de la misma manera. El tiempo de neutralización es de 30 min. en la solución ácida y los restos del ácido también se vierten en un recipiente rotulado aparte.

5. Las raíces neutralizadas se pasan por un tamiz pequeño (37  $\mu\text{m}$ .) y se lavan bajo el chorro del agua. Las raíces se acidifican para que el colorante (azul de Tripán, etc.) pueda retenerse y absorberse por las estructuras fúngicas a un pH ácido. Lavadas están listas para teñirse y se colocan en el tubo de ensaye limpio y seco.

\* Si las raíces están lignificadas y/o suberizadas, se deben tratar previamente con  $\text{H}_2\text{O}_2$  o realizar el procedimiento de aclaración en autoclave durante 15 min. A 15 lb. de presión.

#### Cálculos

No aplica.

#### Referencias

Brundrett M., Bougher N., Dell B., Grove T. And Manajczuk N., 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and agriculture. ACIAR Monograph 32. Pags: 179-181.

Phillips, J. M., D. S. Hayman. 1973. Improve procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.

#### Anexo

No aplica.

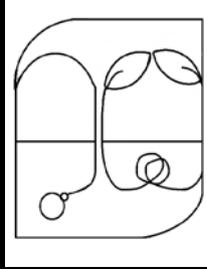
#### Observaciones

No aplica.

#### Notas

No aplica.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 1-5.
	ANEXO 8	16-04-2008
	<b>Determinación de agregados estables en agua por el método de Yoder</b>	Versión: 2

### Propósito

Determinar la estabilidad de los agregados del suelo en distintas Fracciones o tamaños, después de someterlos mecánicamente al agua.

### Principio

Los agregados son un conjunto de partículas inorgánicas y componentes orgánicos del suelo que están unidos por distintas fuerzas que los estabilizan y que los mantienen así en jerarquías de tamaño. Naturalmente, fuerzas de diferente índole separan a estos conjuntos tales como la lluvia, el crecimiento radical, el viento, el humedecimiento y secado del suelo, etc. En el laboratorio, se aplican dispositivos para someter al las fuerzas hídricas a los agregados y verificar el grado de estabilidad o coherencia que guardan después de sumergirse varias veces en una volumen de agua. Determinando el peso y la fracción de estos agregados a partir de una muestra conocida de suelo, se generan índices de estabilidad que reflejan la resistencia de distintos suelos a la erosión dependiendo de los procesos de estudio.

### Técnicas relacionadas

La determinación de la estabilidad de agregados depende de las técnicas empleadas y los aparatos seleccionados.

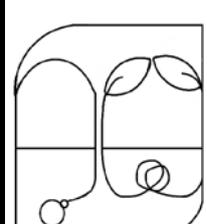
- PRESOPS MCC recolecta en campo para determinación de agregados

### Equipo y material

#### Equipo:

- 1 equipo automatizado (con motor BAMCO 3666A) para sumergir los tamices (foto 1).
- 1 balanza granataria con precisión a miligramos.
- 1 estufa de secado de convección con rango de temperatura hasta 115 °C.
- 1 sonificador.
- 1 cronómetro.

Autor: Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:	Firma

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP) - Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 2-5.
	ANEXO 8	16-04-2008
	<b>Determinación de agregados estables en agua por el método de Yoder</b>	Versión: 2

### Material:

- Tamiz de 8 mm.
- Tamices de 21.5 cm de diámetro de distintas mallas dependiendo las fracciones que se deseen estudiar. Las aperturas clásicas son:
  - 2.00 mm
  - 1.00 mm
  - 0.50 mm
  - 0.25 mm
- 1 cápsula de porcelana por cada tamiz (en caso de repeticiones, considerar 2 por cada fracción). De cada una de ellas se deberá saber previamente su peso a PC.
- 1 frasco de vidrio de 250 mL de boca ancha por cada tamiz (en caso de repeticiones, considerar 2 por cada fracción).
- 1 gendarme
- 1 piceta de 500 mL
- 1 desecador de L
- 1 atomizador de nebulización fina de 500 mL

### Reactivos

- 25 L de agua destilada.

### Muestra

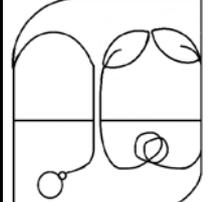
La muestra recolectada de campo se disgrega cuidadosamente y completamente sobre el tamiz de 8 mm. Se eliminan restos orgánicos grandes como hojas, varitas, raíces y piedras.

### Procedimiento

Los tamices serán colocados en orden descendente de acuerdo a su apertura de malla, dejando el más chico hasta abajo. Por otro lado, se calculará el nivel de agua de la cuba que permita cubrir la base del tamiz superior junto con la muestra cuando la pila de tamices son sumergidos en la misma.

La muestra problema deberá ser homogeneizada y 100.00 g se pesarán y colocarán en el centro del tamiz superior de manera dispersa, es decir, no concentrar la muestra en una pila en el centro. Con ayuda de un atomizador, se aplicará un rocío muy fino encima de la muestra con cuidado de NO aplicarlo directamente sobre y mojarla toda, e impidiendo directamente la caída de gotas gruesas. Una vez que la muestra cambie de color indicando que se ha humedecido completamente (se observa ligeramente lustrosa pero no brilla, si brilla el agua ha llenado todos los poros y los agregados se pueden reblandecer), se procede a sumergir el conjunto de tamices en la cuba de agua.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	<u>Fuente:</u>
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP) -Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 3-5.
	ANEXO 8	16-04-2008
	<b>Determinación de agregados estables en agua por el método de Yoder</b>	Versión: 2

La primera ocasión se deberá tener cuidado cuando el agua logra entrar en el espacio vacío de todos los tamices inferiores. Una vez que esta puede fluir adecuadamente, se enciende el aparato y se toma el tiempo durante el cual los tamices se sumergirán (10 min o no de vueltas, ver nota al final). Pasado este tiempo, se apaga el aparato y todos los tamices se sacan del agua. Cada fracción se recuperará en una cápsula de porcelana con ayuda de un gendarme y/o piceta con el mínimo de agua posible. Las cápsulas se rotularán con el número de muestra y fracción y se meterán a una estufa a 105 °C hasta sequedad. Las partículas de materia orgánica que queden flotando (restos de hojas, raíces secas, etc.) deberán ser retiradas cuidadosamente de la superficie. Se registrará el peso de cada fracción a PC.

El suelo seco obtenido en la cápsula de porcelana corresponde a la fracción de agregados que resistieron la acción erosiva del agua. Sin embargo, partículas grandes del tamaño de las arenas, pueden confundirse con agregados de menor tamaño, por lo que es necesario hacer un ajuste de los pesos, eliminando esta fracción. Para tal efecto, se recupera la fracción seca de cada cápsula en un frasco al que se le agregan 200 mL. de agua corriente. El frasco se sumerge en un baño ultrasónico procurando que el nivel de agua exterior supere el interior para garantizar que las ondas viajen en toda el agua dentro del frasco. Se deja actuar 5 min. y se recupera la muestra una vez que el aparato haya FINALIZADO (no meter los dedos cuando esté en funcionamiento). Esta muestra se vacía en el mismo tamiz de la fracción que corresponde. Las rocas minúsculas y las arenas sueltas se recuperan nuevamente en la cápsula de porcelana, se llevan a sequedad a PC a 105 °C.

### Cálculos

En el anexo siguiente se presenta la hoja de toma de datos que deberá ser elaborada en Excel para facilitar la obtención en porcentaje de cada fracción de interés.

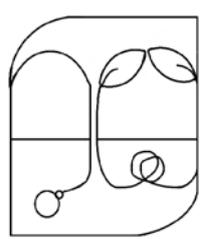
% DE AGREGADOS DE LA FRACCIÓN  $x_{mm}$  (A) ESTABLES EN AGUA (G) =

$$100 - (D - E)$$

INDICE DE ESTABILIDAD DE AGREGADOS

$$MWD \text{ (MEAN WEIGHT DIAMETER)} = \sum (a_i w_i)$$

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP) -Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 4-5.
	ANEXO 8	16-04-2008
	<b>Determinación de agregados estables en agua por el método de Yoder</b>	Versión: 2

y,

Peso parcial = Peso agregados – Peso arenas

Donde:

ai = Tamaño de la abertura del tamiz

wi = Peso parcial/ Peso total de la muestra

Peso total = 100 grs.

### Anexo

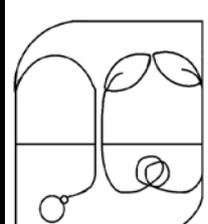
Muestra	Fracción de agregados (tamaño de tamiz) A	Peso de la cápsula B	Peso de la cápsula con suelo C	Peso del suelo con arenas D (C – B)	Peso de las arenas E	Peso de los agregados sin arenas F	Porcentaje de la fracción G (100 – F)

### Referencias

Klute, A. 1986. Methods of Soil Analysis: Physical and Mineralogical Methods (Agronomy, No 9). AMER. Society of Agronomy; 2nd edition.

Oleschko, L. K. 1995. Prácticas de física de suelos. Apuntes. Colegio de posgraduados, estado de México, México. 110 p.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 5-5.
	ANEXO 8	16-04-2008
	<b>Determinación de agregados estables en agua por el método de Yoder</b>	Versión: 2

### Observaciones

La técnica de obtención de pesos de las distintas Fracciones de agregados estables al agua en un suelo mediante el equipo Yoder, disminuye la variabilidad de los resultados obtenidos por las técnicas manuales. Esto se debe a que es un equipo mecánico el que sumerge los tamices en un tiempo dado, por tanto, no depende del individuo ni tampoco del número de muestras que se corran durante el día. Sin embargo, en los equipos diseñados de manera casera, hemos observado que el calentamiento del motor hace que el número de veces en que los tamices se sumergen, va aumentando entre muestra y muestra con una variación considerable. Se debe hacer una curva de calibración de este valor dependiendo el número de tamices a usarse y el número de muestras que se corren en el día ajustando el tiempo o número de inmersiones.

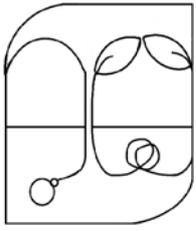
### Notas

Para el equipo de fabricación casera utilizado en este trabajo el número de vueltas se ajustó el número de vueltas a 445 (el promedio central de varias repeticiones en 10 minutos).



Foto 1. Equipo automatizado (con motor) para sumergir los tamices.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 1-4.
	ANEXO 9	16-04-2008
	<b>Extracción y cuantificación del micelio externo de hongos micorrízicos arbusculares.</b>	Versión: 2

### Propósito

Describir el procedimiento para la extracción y cuantificación de micelio externo de hongos micorrízicos arbusculares.

### Principio

La extracción del micelio externo de hongos y en particular de hongos micorrízicos arbusculares que se encuentran en el suelo se realiza mediante su dispersión y suspensión en agua después de agitarse en una solución dispersante de arcillas y romper los conjuntos hifales en una licuadora.

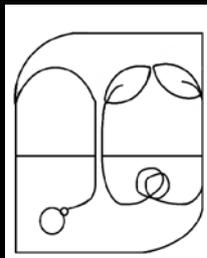
### Técnicas relacionadas

- PRESOPMCC Recolecta De muestras rizosféricas para HMA
- PPRESOP MCC tinción de raíces (anexo 3).
- PRESOP MCC alcohol polivinílico (Anexo 4).

### Equipo y material

- Gendarme
- Tamiz de 38  $\mu\text{m}$ .
- Botellas de plástico con tapa de 250 mL
- Probeta de 100 mL
- Pipeta de 10 mL
- Propipeta
- Agitador
- Vaso de precipitados de 250mL
- Licuadora para esquimos
- Micropipeta de 1 mL, 3 mL
- Puntillas para micropipeta
- Bomba de vacío
- Kit de filtración 1225 Sampling Manifold
- Membranas para filtración (Millipore; tipo RA; tamaño de poro 1.2 $\mu\text{m}$ )

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 2-4.
	ANEXO 9	16-04-2008
	<b>Extracción y cuantificación del micelio externo de hongos micorrizicos arbusculares.</b>	Versión: 2

### Reactivos

Solución de hexametáfosfato de sodio (35.7 gL<sup>-1</sup>)  
Azul de Tripán 0.05 % en lactoglicerol

### Muestra

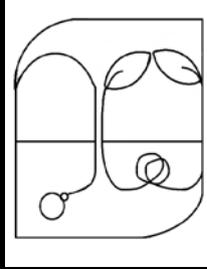
Muestra de suelo rizosférico fresca (50 g).

### Procedimiento

#### a) Extracción del micelio externo

- 1) Preparar una muestra de suelo (30 g) en húmedo, rompiendo los agregados cuidadosamente. Homogenice bien la muestra removiendo las raíces.
- 2) Secar la muestra de suelo ( mínimo 30 g) de 50 a 60 °C
- 3) Pesar 2 repeticiones de 5 g de cada muestra de suelo, introduciendo esas dos repeticiones por separado en botellas de plástico con tapa de 250 mL.
- 4) Añadir a cada una de las muestras 100 mL de agua desionizada más 12 mL de solución de hexametáfosfato de sodio (35.7 gL<sup>-1</sup>).
- 5) Poner las muestras perfectamente tapadas en un agitador a velocidad media por 30 minutos.
- 6) Verter la solución de cada botella en un tamiz de 38 µm. Enjuagar la botella con el material restante dos veces más sobre el tamiz o hasta que no queden residuos de suelo.
- 7) Con mucho cuidado, lavar el material que se vertió sobre el tamiz.
- 8) Después de haber lavado nuestra muestra perfectamente en el tamiz incorporarla en una probeta de 100 mL.
- 9) Aforar hasta 50 mL. y verterla en el vaso para esquimo.
- 10) Repetir el paso anterior hasta completar 250 mL en el vaso para esquimo enjuagando la probeta de modo que no quede suelo en la misma. **NO SOBREPASAR EL VOLUMEN EXTRACTAMENTE 250 ML.**
- 11) Batirlo en el esquimero a alta velocidad por 30 segundos.
- 12) Decantar la muestra rápidamente en un vaso de precipitado de 300 mL y dejar la muestra sin moverla durante 1 minuto, evitando cualquier vibración por la mesa a la muestra.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 3-4.
	ANEXO 9	16-04-2008
	<b>Extracción y cuantificación del micelio externo de hongos micorrizicos arbusculares.</b>	Versión: 2

- 13) Con la ayuda de la micropipeta de 5 mL, tomar 5 mL sumergiendo la puntilla de la micropipeta a una profundidad de 4 cm de la superficie de agua.
- 14) La alícuota de 3 mL se vierte en el equipo de filtración el cual contiene la membrana Millipore tipo RA de 1.2 µm. con un diámetro de 2.5 cm.
- 15) Se conecta al vacío el equipo de filtración enjuagándose con agua destilada una vez.
- 16) Una vez enjuagada la muestra se añaden 2 mL de azul de Tripán y se deja tiñendo la membrana por 5 minutos cuidando que el líquido no se vaya del recipiente por el vacío que queda.
- 17) Transcurridos los 5 minutos y viendo que la membrana se encuentra teñida, esta se enjuaga con agua destilada en el mismo dispositivo.
- 18) Con la ayuda de pinzas, la membrana se retira cuidadosamente y se monta en un portaobjetos para una posterior observación.
- 19) Se repiten los pasos del 13 al 18 para una segunda repetición, colocando la membrana de la repetición junto a la primera en el mismo portaobjetos.
- 20) Se deja secar y posteriormente se añade alcohol polivinílico, colocando un cubreobjetos sobre las mismas.

#### b) Procedimiento de cuantificación del micelio externo.

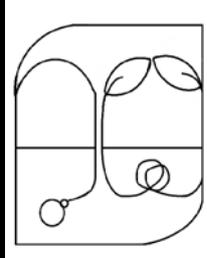
A un aumento de 200 × y con la ayuda de un ocular cuadrulado y usando el método de intersección de líneas, se cuantifican las estructuras de micelio en la membrana en un total de 25 campos escogidos al azar y que distribuidos en toda el área del filtro. En cada uno de los campos, contar el micelio externo que intersecciona con las líneas de la cuadrícula y que se encuentra de color azul, reconociendo en el caso de los hongos micorrizicos arbusculares un micelio aceptados o cenocíticos (cuando joven) y con una apariencia tipo tortuosa. En caso de observar micelio viejo, éste puede ser septado pero los septos no son regulares.

#### Cálculos (basados en Tennant, 1975)

- a. Medir la longitud de la unidad en un ocular graduado de 10 x 10 en el filtro en mm. usando el micrómetro (es la misma magnitud que ha sido usada para contar los filtros).
- b. La longitud total (mm.) de las hifas en el área filtrada estimada por los 25 campos observados (H) es:

$$H = 11/14 \times N \times \text{unidad de la cuadrícula}^*$$

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

	<b>PROCEDIMIENTO ESTANDARIZADO DE OPERACIÓN (PRESOP)-Microcosmos Bioedáfico</b>	MCCP-00X
	Departamento de Edafología, Instituto de Geología, UNAM	pág.: 4-4.
	ANEXO 9	16-04-2008
	<b>Extracción y cuantificación del micelio externo de hongos micorrizicos arbusculares.</b>	Versión: 2

En donde N = número total de intersecciones en 25 campos observados.

c. Calcular el área filtrada en el filtro (FA) en mm<sup>2</sup>.

$$FA = \pi r^2$$

d. Calcule el área del filtro por los 25 campos (área contada= CA):

$$CA = (10 \times \text{campo})^2 \times 25 \text{ (mm}^2\text{)}$$

e. Calcule la longitud total de la hifa en el filtro (HL):

$$HL = (H/CA) \times FA \quad (\text{mm})$$

f. Calcule la longitud total de hifas en la muestra del suelo (TL):

$$TL = ((HL/3 \text{ mL}) \times 250 \text{ mL})/5\text{g}, \quad (\text{mm/g})$$

En donde 5 g es el peso de la muestra del suelo en seco, 250 mL., es el volumen de agua destilada donde se suspendió la muestra de suelo y 3 mL. es la alícuota sustraída por la pipeta y vaciada sobre el filtro.

\*usualmente 0.05

### Referencias

Nicholson, T. H. 1959. Mycorrhizae in the Gramineae. I. Vesicular-arbusculaar endophytes, With special reference to the external phase. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 42: 421-438.

Tennant, D. 1975. A test of a modified line intersect method of estimating root length. *J. Ecol.* 63: 995-1001.

Jakobsen, I. 1998. Extraction and quantification of soil hyphae. Pp. 7-9. In: Kling, M. (Ed). *Development and Function of the Mycelium of Arbuscular Mycorrhizal Fungi*. Swedish University of Micro-Biological Sciences, Sweden.

<u>Autor:</u> Dra. Ma del Pilar Ortega y P. de B. S. Crystal Pérez Bolaños	Fuente:
<u>Vo. Bo. encargado de aseguramiento de calidad:</u>	<b>Firma</b>

**APENDICE 1. MICARIO DE ESPORAS DE HONGOS ARBUSCULARES DE LA COLECCIÓN DEL LABORATORIO  
MICROCOSMOS BIOEDAFICO**

CLAVE PREPARACION (MICARIO)	CLAVE PERSONAL	PREPARACIÓN DE:	ESPECIE	FECHA COSECHA O AISLADO DEL MATERIAL	FECHA DE AISLADO DEL MATERIAL
MCCMHAe039	CPB esporocarpo inóculo 1 preparación	espora café de esporocarpo de Sclerocystis diseccionado	<i>Sclerocystis</i>	18/06/2003	16/07/2003
MCCMHAe040	CPB esporocarpo inóculo 2 preparación	espora café de esporocarpo de Sclerocystis diseccionado	<i>Sclerocystis</i>	18/06/2003	16/07/2003
MCCMHAe041	CPB esporocarpo inóculo 3 preparación	espora café aplastada de esporocarpo de Sclerocystis diseccionado	<i>Sclerocystis</i>	18/06/2003	16/07/2003
MCCMHAe042	CPB inóculo <i>Sclerocystis</i>	7 esporas de esporocarpo de Sclerocystis diseccionado	<i>Sclerocystis</i>	18/06/2003	16/07/2003
MCCMHAe043	CPB inóculo espora con hifa y espora hija CPB inóculo espora amarilla hialina c/ citoplasma blanco	2 esporas de esporocarpo de Sclerocystis diseccionado espora aplastada café claro de esporocarpo de Sclerocystis diseccionado	<i>Glomus</i> sp.	18/06/2003	16/07/2003
MCCMHAe044	CPB 1º esporocarpo inóculo	espora café oscuro de esporocarpo de Sclerocystis diseccionado	<i>Glomus</i> sp.	18/06/2003	16/07/2003
MCCMHAe045	CPB inóculo esporocarpo 1	espora café oscuro de esporocarpo de Sclerocystis diseccionado	<i>Glomus</i> sp.	18/06/2003	16/07/2003
MCCMHAe047	CPB inóculo	espora de esporocarpo de Sclerocystis diseccionado	<i>Glomus</i> sp.	18/06/2003	16/07/2003
MCCMHAe048	CPB 2º esporocarpo inóculo	espora de esporocarpo de Sclerocystis diseccionado	<i>Glomus</i> sp.	18/06/2003	16/07/2003
MCCMHAe049	CPB 1c/p espora 1	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe050	CPB 1c/p espora 2	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe051	CPB 1c/p espora 3	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe052	CPB 1 c/p espora 4	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe053	CPB 1c/p espora 5	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe054	CPB 2c/p	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe055	CPB 3 c/p	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe056	CPB 5 c/p	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe057	CPB 5 c/p	esporocarpo café negro	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe058	CPB 5 c/p espora 1	espora madura con espora pequeña unidas por hifa de sostén	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe059	CPB 5 c/p espora 2	espora café negra	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe060	CPB 6 c/p espora 1	espora	<i>Acaulospora</i> (?)	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe061	CPB 6 c/p espora 2	espora	sin determinar	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe062	CPB 7 c/p	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe063	CPB 7 c/p espora 1	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe064	CPB 7 c/p espora 2	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe065	CPB 7 c/p espora 3	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004

CLAVE PREPARACION (MICARIO)	FOTOBIONTE (HOSPEDERO)	TIEMPO Y CONDICIONES DE CULTIVO	FECHA DE ELABORACIÓN	MEDIO DE MONTAJE	TINCIÓN O REACCIÓN	MEDIDAS DEL EJEMPLAR
MCCMHAe039	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	no	86 x 81 (20X) microscopio Zeiss 1963
MCCMHAe040	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	no	86 x 76.1 (20X) microscopio Zeiss 1963
MCCMHAe041	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	no	95.2 x 86 (20X) microscopio Zeiss 1963
MCCMHAe042	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	no	95.2 x 95.2 (20X) microscopio Zeiss 1963
MCCMHAe043	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	no	90.4 x 100 (20X) microscopio Zeiss 1963. 350 (40X) Leica
MCCMHAe044	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	no	86 x 90.4 (20X) microscopio Zeiss 1963
MCCMHAe045	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	no	109.4 x 100 (20X) microscopio Zeiss 1963
MCCMHAe046	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	no	47.6 x 76.1 (20X) microscopio Zeiss 1963
MCCMHAe047	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	no	105 x 105 (20X) microscopio Zeiss 1963
MCCMHAe048	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	no	485.5 x 366.5 (20X) microscopio Zeiss 1963
MCCMHAe049	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG+Melzer	no	81X 86 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe050	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	06/03/2007	PVLG	no	124 X 133.2 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe051	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG+Melzer	no	109.4 X 109.4 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe052	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	124 X 119 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe053	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	69 X 62 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe054	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	109.4 X 95.2 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe055	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	102.3 X 105 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe056	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG+Melzer	no	86 X 90.4 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe057	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	07/03/2007	PVLG	no	no se midió
MCCMHAe058	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	76.1 X 71.4 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe059	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	07/03/2007	PVLG	no	43X 43(20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe060	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	07/03/2007	PVLG	no	15 X 17,5 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe061	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	06/03/2007	PVLG	no	62 X 74 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe062	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	06/03/2007	PVLG	no	114.2 X 107.1 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe063	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	114.2 X 102.3 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe064	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	78.5 X 86 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe065	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	95.2 X 88 (20X) microscopio Zeiss 1963.

CLAVE PREPARACION (MICARIO)	COLOR EN EL MOMENTO DEL AISLADO	COLOR ACTUAL	CARACTERISTICAS GENERALES	FECHA DE INGRESO AL MICARIO	OBSERVACIONES
MCCMHAe039	café amarilla oscura ambar	café amarilla oscura ambar	sin ornamentación	30/03/2007	En esta laminilla se encuentran 5 esporas sueltas de color amarillo ambar, 4 de ellas se encuentran con su hifa de sostén. Estas esporas se encuentran sin aplastar.
MCCMHAe040	café	café	sin ornamentación	30/03/2007	En esta laminilla se encuentran montadas 16 esporas de color café amarillo ambar. Solo dos esporas de estas 6 se encuentran sueltas las demás se encuentran unidas.
MCCMHAe041	café amarillo oscuro ambar	café amarillo oscuro ambar	sin ornamentación	30/03/2007	Esporocarpo café amarillo ambar
MCCMHAe042	café claro	café claro	con hifa de sostén	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe043	café clara	café clara	con hifa de sostén y con micelio acompañada de otra	30/03/2007	Espora rota
MCCMHAe044	café amarilla claro	café claro	con hifa de sostén y al aplastarla no se observó salida de lípidos	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe045	café oscuro	café oscuro	con hifa de sostén	30/03/2007	en esta laminilla se encuentran 20 esporas solo 6 se encuentran unidas
MCCMHAe046	café oscuro	café oscuro	sin ornamentación	30/03/2007	En esta laminilla se encuentran 16 esporas café-amarillo
MCCMHAe047	café	café	sin ornamentación	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe048	café	café	con esporas blancas y gotas lipídicas	30/03/2007	En esta laminilla se encuentran 15 esporas amarillo claro
MCCMHAe049	café amarilla	café amarilla	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe050	café amarilla	café amarilla	ninguna	30/03/2007	10/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada.
MCCMHAe051	café amarilla	café amarilla	espora aplastada	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe052	café amarilla	café amarilla	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe053	café amarilla	café amarilla	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe054	café amarilla	café amarilla	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe055	café amarilla	café amarilla	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe056	café amarilla	café amarilla	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe057	café negra	café negra	se observa el peridio	30/03/2007	10/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada. Al re-montarla se liberó la otra espora que se encontraba junto a ella, quedando en la laminilla solo 1 espora del esporocarpo. Se observa el peridio acompañada con hifa e hifa de sostén en una misma laminilla
MCCMHAe058	café amarilla	café amarilla	espora madura con una joven unidas por hifa de sostén	30/03/2007	10/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada. En esta misma laminilla quedaron 2 esporas más, una rota y otra aplastada. Las tres esporas son muy negras lo cual impidió un buen acervo fotográfico. Presenta ornamentación dentada.
MCCMHAe059	café negra	negra	Presenta ornamentación dentada.	30/03/2007	09/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada.
MCCMHAe060	espora café	café	morfotipo similar a <i>Acaulospora</i>	30/03/2007	09/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada.
MCCMHAe061	espora café	café	morfotipo especie a	30/03/2007	09/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada.
MCCMHAe062	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	09/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada.
MCCMHAe063	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe064	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe065	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna

**CLAVE  
PREPARACION  
(MICARIO)**

**INFORMACION ADICIONAL**

**MCCMHAe039**

**MCCMHAe040**

**MCCMHAe041**

**MCCMHAe042**

**MCCMHAe043**

**MCCMHAe044**

**MCCMHAe045**

**MCCMHAe046**

**MCCMHAe047**

**MCCMHAe048**

**MCCMHAe049** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe050** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe051** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe052** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe053** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe054** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe055** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe056** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe057** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe058** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe059** Hospedero + Micorriza + Fracción 1:01:01

**MCCMHAe060** Hospedero + Micorriza + Fracción 0,5-1,0

**MCCMHAe061** Hospedero + Micorriza + Fracción 0,5-1,0

**MCCMHAe062** Hospedero + Micorriza + Fracción 0,5-1,0

**MCCMHAe063** Hospedero + Micorriza + Fracción 0,5-1,0

**MCCMHAe064** Hospedero + Micorriza + Fracción 0,5-1,0

**MCCMHAe065** Hospedero + Micorriza + Fracción 0,5-1,0

Las muestras de suelo con inóculo se recolectaron en una ladera rectilínea sobre toba con exposición Este (70°) y pendiente 1. El pastizal presenta signos de erosión por arrastre en terracetos ± 3 cm.

CLAVE PREPARACION (MICARIO)	CLAVE PERSONAL	PREPARACIÓN DE:	ESPECIE	FECHA COSECHA O AISLADO DEL MATERIAL	FECHA DE AISLADO DEL MATERIAL
MCCMHAe066	CPB 7 c/p espora 4	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe067	CPB 7 c/p	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe068	CPB 16 c/p	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe069	CPB 16 c/p espora 2	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe070	CPB 17 c/p espora 1	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe071	CPB 17 c/p espora 2	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe072	CPB 17 c/p espora 3	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe073	CPB 17 c/p espora 4	espora rota	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe074	CPB 18 c/p espora 1	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe075	CPB 18 c/p espora 2	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe076	CPB 18 c/p espora 3	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe077	CPB 18 s/p espora 1	espora madura con espora pequeña unidas por hifa de sostén	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe078	CPB 18 s/p espora 2	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe079	CPB 18 s/p espora 3	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe080	CPB 18 s/p espora 4	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe081	CPB 18 s/p espora 5	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe082	CPB 20 c/p espora 1	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe083	CPB 20 c/p espora 2	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe084	CPB 20 c/p espora 3	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004
MCCMHAe085	CPB 20 c/p espora 4	espora	<i>Glomus</i> sp.	13/01/2004	09/05/2004

CLAVE PREPARACION (MICARIO)	FOTOBIONTE (HOSPEDERO)	TIEMPO Y CONDICIONES DE CULTIVO	FECHA DE ELABORACIÓN	MEDIO DE MONTAJE	TINCIÓN O REACCION	MEDIDAS DEL EJEMPLAR
MCCMHAe066	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG+Melzer	no	128.5 X 138 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe067	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	07/03/2007	PVLG	no	86 X 76.1 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe068	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG+Melzer	no	81 X 76.1 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe069	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	62 X 57.1 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe070	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	81 X 90.4 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe071	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	95.2 X 119 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe072	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG+Melzer	no	105 X 124 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe073	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	06/03/2007	PVLG	no	95.2 X 100 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe074	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	81 X 90.4(20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe075	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG+Melzer	no	97.5 X 100 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe076	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	133.2 X 105 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe077	no/ compartimento de ME	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	76.1 X 81 (20X) microscopio Zeiss 1963.
				PVLG		121.3 X 95.2 y la otra espora 17,5 X 16,5 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe078	no/ compartimento de ME	6 meses en invernadero	09/05/2004		no	
MCCMHAe079	no/ compartimento de ME	6 meses en invernadero	06/03/2007	PVLG	no	121.3 X 95.2 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe080	no/ compartimento de ME	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	114.2 X 136 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe081	no/ compartimento de ME	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	74 X 64.2 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe082	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	95.2 X 105 (20X) microscopio Zeiss 1963.
MCCMHAe083	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	06/03/2007	PVLG+Melzer	no	no se midió
MCCMHAe084	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	90.4 X 86 (20X) microscopio Zeiss 1963
MCCMHAe085	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	6 meses en invernadero	09/05/2004	PVLG	no	128.5 X 95.2 (20X) microscopio Zeiss 1963.

CLAVE PREPARACIÓN (MICARIO)	COLOR EN EL MOMENTO DEL AISLADO	COLOR ACTUAL	CARACTERISTICAS GENERALES	FECHA DE INGRESO AL MICARIO	OBSERVACIONES
MCCMHAe066	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe067	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	10/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada.
MCCMHAe068	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe069	amarilla-café	amarilla-café	morfotipo diferente	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe070	amarilla-café	amarilla-café	espora aplastada	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe071	amarilla-café	amarilla-café	espora aplastada	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe072	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe073	amarilla-café	amarilla-café	espora rota	30/03/2007	13/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada. se encuentra con otra espora grande que no se midió por estar muy dañada
MCCMHAe074	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	dañada
MCCMHAe075	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe076	amarilla-café	amarilla-café	espora parasitada	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe077	amarilla-café	amarilla-café	con hija acompañada	30/03/2007	se encuentra con otra espora
MCCMHAe078	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe079	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	13/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada.
MCCMHAe080	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe081	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe082	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe083	amarilla-café	amarilla-café	Con hifa de sostén	30/03/2007	ninguna
MCCMHAe084	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	11/05/04 fecha inicial de montaje, esta laminilla fue re-montada. Con hifa de sostén
MCCMHAe085	amarilla-café	amarilla-café	ninguna	30/03/2007	ninguna

**CLAVE  
PREPARACION  
(MICARIO)**

**INFORMACION ADICIONAL**

---

<b>MCCMHAe066</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 0,5-1,0
<b>MCCMHAe067</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 0,5-1,0
<b>MCCMHAe068</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe069</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe070</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe071</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe072</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe073</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe074</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe075</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe076</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe077</b>	Hospedero - Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe078</b>	Hospedero - Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe079</b>	Hospedero - Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe080</b>	Hospedero - Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe081</b>	Hospedero - Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe082</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe083</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe084</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0
<b>MCCMHAe085</b>	Hospedero + Micorriza + Fracción 1,0-2,0

**APENDICE 1B. MICARIO DE RAICES COLONIZADAS POR HMA DE LA COLECCIÓN DEL LABORATORIO  
MICROCOSMOS BIOEDAFICO**

CLAVE PREPARACION (MICARIO)	CLAVE PERSONAL	PREPARACIÓN DE:	ESPECIE	FECHA COSECHA O AISLADO DEL MATERIAL	FECHA DE AISLADO DEL MATERIAL
MCCMHA037	CPB raiz inoculo L1	Raíces (aclaradas en KOH al 10% y teñidas con azul Tripán)	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	18/06/2003	16/07/2003
MCCMHA038	CPB raiz inoculo L2	Raíces (aclaradas en KOH al 10% y teñidas con azul Tripán)	Pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	18/06/2003	16/07/2003

CLAVE PREPARACION (MICARIO)	FOTOBIONTE (HOSPEDERO)	TIEMPO Y CONDICIONES DE CULTIVO	FECHA DE ELABORACIÓN	MEDIO DE MONTAJE	TINCIÓN O REACCION	MEDIDAS DEL EJEMPLAR
MCCMHA037	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	Azul Tripán 0.05% en lactoglicerol	1 cm aproximadamente cada raíz (10 raíces por laminilla)
MCCMHA038	Macollo de pasto Guinea ( <i>Panicum maximum</i> Jacq.)	inóculo	28/08/2003	PVLG	Azul Tripán 0.05% en lactoglicerol	1 cm aproximadamente cada raíz (10 raíces por laminilla)

CLAVE PREPARACION (MICARIO)	COLOR EN EL MOMENTO DEL AISLADO	ESTADO DE LA ACLARACION	FECHA DE INGRESO AL MICARIO	INFORMACION ADICIONAL
MCCMHA037	Blanco	Buena	30/03/2007	Las muestras de suelo con inóculo se recolectaron en una ladera rectilínea sobre toba con exposición Este (70°) y pendiente 1. El pastizal presenta signos de erosión por arrastre en terracetos ± 3 cm.
MCCMHA038	Blanco	Buena	30/03/2007	Las muestras de suelo con inóculo se recolectaron en una ladera rectilínea sobre toba con exposición Este (70°) y pendiente 1. El pastizal presenta signos de erosión por arrastre en terracetos ± 3 cm.

## X. LITERATURA CITADA

Acevedo-Sandoval, O., A. Velásquez-Rodríguez, D. Flores-Román. 2001. Agregación por especies vegetales y abonos orgánicos en tepetates fracturados en condiciones de invernadero. *Terra* 19: 363-373.

Aguilar, F. M. 2000. Impacto de la roza-tumba y quema sobre la composición y actividad de los hongos micorrízicos arbusculares de una selva baja caducifolia. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 92 p.

Álvarez, S. S. A. 2002. Efecto de la perturbación en la interacción micorrízica vesículo-arbuscular en un ecosistema tropical estacional. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F. 71 p.

Allen, E. B., M. F. Allen, D. J. Helm, J. M. Trappe, R. Molina, E. Rincón. 1995. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. Pp. 47-62. In: Collins, H. P., G. P. Robertson, M. J. Klug (Eds.). *The significance and regulation of soil biodiversity*. Kluwer Academic Publishers, Amsterdam.

Allen, E. B., E. Rincón, M. F. Allen, A. Pérez-Jimenez, P. Huante. 1998. Disturbance and Seasonal Dynamics of Mycorrhizae in a Tropical Deciduous Forest in Mexico. *Biotropica* 30(2): 261-274.

Augé, R.M., E. Kubikova, J. L. Moore. 2001. Foliar dehydration tolerance of mycorrhizal cowpea, soybean and bush bean. *New Phytologist* 151: 535-542.

Bago, B., C. Azcón-Aguilar, A. Goulet, Y. Piché. 1998. Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 139:375-388.

Bago, B., C. Azcón-Aguilar, Y. Shachar-Hill, P. E. Pfeffer. 2000. El micelio externo de la micorriza arbuscular como Puente simbiótico entre la raíz y su entorno. Pp. 78-92. In: Alarcón, A., R. Ferrera-Cerrato. Ed. *Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. Mundi Prensa, México.

Barea, J. M. 1998. Biología de la rizosfera. *Investigación y Ciencia*: 74-81.

Barea, J. M. 2003. Las micorrizas arbusculares componente clave en la productividad y estabilidad de agroecosistemas. *API del CSIC*: 1-4.

Barthès, B., E. Roose. 2002. Aggregate stability as an indicator of soil susceptibility to runoff and erosion; validation at several levels. *Catena* 47: 133-149.

Bearden, B. N. 2001. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and soil water characteristics of vertisols. *Plant and Soil* 229: 245-258.

Bearden, B. N., L. Petersen. 2000. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and aggregate stability of a vertisol. *Plant and Soil* 218: 173-183.

- Betancourt P., J. González, B. Figueroa, F. González. 1999. Materia orgánica y caracterización de suelos en proceso de recuperación con coberturas vegetativas en zonas templadas de México. *Terra* 17 (2): 139-148.
- Betancourt, P., A. Hernández, J. L. Oropeza, V. Ordaz. 2001. Rendimiento de especies forrajeras y caracterización de suelos degradados por erosión hídrica. *Rev. Fac. Agron* 18: 56-67.
- Bethlenfalvay, G. J., I. C. Cantrell, K. L. Mihara, R. P. Schreiner. 1999. Relationships between soil aggregation and mycorrhizae as influenced by soil biota and nitrogen nutrition. *Biol. and Fertility of Soils* 28 (4): 356-363.
- Bongovianni, M. D., J. C. Libartini. 2006. Particulate organic matter, carbohydrate, humic acid contents in soil macro- and microaggregates as affected by cultivation. *Geoderma*, 136 (3): 660-665.
- Borie, F. R., R. Rubio, A. Morales, C. Castillo. 2000. Relación entre densidad de hongos micorrizógenos arbusculares y producción de glomalina con las características físicas y químicas de suelos bajo cero labranza. *Revista Chilena de Historia Natural* 73 (4): 1-11.
- Bradford, G. R., A. L. Page, J. L. Lund, W. Olmstead. 1975. Trace element concentrations of sewage treatment plants available lead, cadmium and molybdenum in mine tailings and contaminated soils. Agronomy Society of America, Madison, Wisconsin.
- Brady, N. C., R. R. Weil. 1999. *The nature and properties of soils*. 20th ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Bullock, S. H. 1988. Rasgos del ambiente físico y biológico de Chamela, Jalisco. México. *Folia Entomológica Mexicana* 77: 5-17.
- Campo, J., J. M. Maass, V. J. Jaramillo, A. M. Yrizar, J. Sarukhán. 2001. Phosphorus cycling in a Mexican Tropical dry forest ecosystem. *Biogeochemistry* 53: 161-179.
- Castellanos, J., J. M. Maass, J. Kummerow. 1991. Root mass in a tropical dry forest. *Plan and Soil* 131: 225-228.
- Castellanos, J., V. J. Jaramillo, R. L. Stanford, J. B. Kauffman. 2001. Slash-and-burn effects on fine root biomass and productivity in a tropical dry forest ecosystems in México. *Forest Ecology and Management* 148: 41-50.
- Ceballos, G., A. Szekely, A. García, P. Rodríguez, F. Noguera. 1999. Programa de manejo de la Reserva de la Biosfera Chamela Cuixmala. Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT, México, D. F. 141 p.
- Coleman, C., D. A. Crossley, P. F. Hendrix. 2004. *Fundamentals of Soil Ecology*, Second Edition. Elsevier Academic Press, USA.

Cotler, H., S. Cortina, E. Sotelo, J. Domínguez, M. Zorrilla, L. Quiñones. 2007. La conservación de suelo: un asunto de interés público. *Gaceta Ecológica* 83: 5-71.

Cotler, H., E. Durán, C. Siebe. 2002. Caracterización morfo-edafológica y calidad de sitio en un bosque tropical caducifolio. p. 17-79. In: F. A. Noguera, J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete y M. Quesada Avendaño (Editores). *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM. México.

Cotler, H., Ortega-Larrocea M. P. 2006. Effects of land use on soil erosion in a tropical dry forest ecosystem, Chamela watershed, Mexico. *Catena* 65: 107 – 117.

Ita-Martínez, C. 1983. Patrones de producción agrícola en un ecosistema tropical estacional en la Costa de Jalisco, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 183 p.

De Gryze, S., J. Six, C. Brits, R. Merckx. 2005. A quantification of short-term macroaggregate dynamics: influences of wheat residue input and texture. *Soil Biol. and Biochem.* 37: 55-66.

Denef, K., J. Six, H. Bossuyt, S. D. Frey, E. T. Elliot, R. Merckx, K. Paustian. 2001. Influence of dry-wet cycles on the interrelationship between aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamic. *Soil Biol. and Biochem.* 33: 1599-1611.

Driver, J. D., E. William, M. C. Rillig. 2005. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. and Biochem.* 37: 101-106.

Durán, E., P. Balvanera, E. Lott, G. Segura, A. Pérez-Jiménez, A. Islas, M. Franco. 2002. Estructura, composición y dinámica de la vegetación. Pp. 443-472. In: F. A. Noguera, J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete y M. Quesada Avendaño (Editores). *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM. México.

Estación Chamela, <http://www.ibiologia.unam.mx/ebchamela>, última revisión, 27 de marzo del 2008.

Feeney, D. S. T. Daniell, P. D. Hallett, J. Illian, K. Ritz, I. M. Young. 2004. Does the presence of glomalin relate to reduced water infiltration through hydrophobicity? *Canadian J. Soil Science* 84: 365-372.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1988. Soil World Resource. Report 60. Rome.

García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Tercera edición. Ed. Larrios. México. 71 p.

García-Oliva, F. 1992. Erosión y pérdida de nutrientes del suelo en una cronosecuencia de uso agropecuario en un ecosistema estacional mexicano. Tesis de Doctorado. Instituto de Ecología, UNAM, México.

García-Oliva, F., J. M. Maass. 1998. Efecto de la transformación de la selva a pradera sobre la dinámica de los nutrientes en un ecosistema tropical estacional en México. *Bol. Soc. Bot.* 62: 39-48.

García-Oliva, F., M. Paz-Tapia. 2001. Dinámica estacional de la biomasa de las raíces finas asociadas a agregados del suelo en un ecosistema tropical estacional. *Bol. Soc. Bot.* 69: 13-19.

García-Oliva F., J. M. Maass, L. Galicia. 1995. Rainstorm analysis and rainfall erosivity of a seasonal tropical region with a strong cyclonic influence on the Pacific coast of Mexico. *Journal of Applied Meteorology* 34: 2491-2498.

García-Oliva, F., R. Martínez-Lugo, M. Mass. 1995. Long-term erosion as determined by <sup>137</sup>Cs redistribution in an undisturbed and perturbed tropical deciduous forest ecosystem. *Geoderma* 68: 135-147.

García-Oliva, F., R. L. Stanford, E. Kelly, 1999. Effects of slash-and-burn management on soil aggregate organic C and N in a tropical deciduous forest. *Geoderma* 88: 1-12.

García-Oliva, F., A. Camou, J. M. Maass. 2002. El clima de la Región Central de la Costa del Pacífico Mexicano. Pp- 3-10. In: Noguera F. A., Vega J. H. García-Alderete A. N. M. Quesada (eds.). *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM. México.

García-Oliva, F., J. F. Gallardo Lancho, N. M. Montaña, P. Islas. 2006. Soil carbon and nitrogen dynamics followed by a forest-to-pasture conversion in western Mexico. *Agroforestry Systems* 66: 93-100.

Gerdemann, J. W., T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46: 235-234.

González-Chávez, M. C., M. C. Gutiérrez-Castorena, S. Wright. 2004. Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. *Terra Latinoamericana* 22: 507-514.

Huante, P., E. Rincón, E. B. Allen. 1993. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on seedling growth of four tree species from the tropical deciduous forest in Mexico. *Mycorrhiza* 2: 141-145.

Jakobsen, I. 1998. Extraction and quantification of soil hyphae. Pp. 7-9. In: Kling, M. (Ed). *Development and Function of the Mycelium of Arbuscular Mycorrhizal Fungi*. Swedish University of Micro-Biological Sciences, Sweden.

Kemper, W. D., W. S. Chepil. 1965. Size distribution of aggregates. Pp. 499-510. In: Black, C.A. (Ed.), *Method of Soil Analysis*. Vol. I, Pt. 2. American Society Agronomy, Madison, WI. USA.

Kummerow, J. J. Castillanos, M. Maas, A. Larigauderie. 1990. Production of fine roots and seasonality of their growth in a Mexican deciduous forest. *Vegetatio* 90: 73-80.

- Maass, J. M. 1985. Soil erosion and nutrient losses in tropical agroecosystems under various management techniques. PhD Dissertation, University of Georgia Athens.
- Maass, M. 1992. The use of litter-mulch to reduce erosion on hilly land in Mexico. Pp. 383-391. *In: H. Hurni, K. Tato (eds.). Erosion, conservation and small-scale farming*, Geographisca Bernensia, ISCO and WASWC.
- Maass, J. M. 1995. Tropical deciduous forest conversion to pasture and agriculture. Pp. 399-422. *In: Bullock, H., Money, A., Medina, E. (Eds.), Seasonally Dry Tropical Forest*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Maass, J. M., C. F. Jordan, J. Sarukhan. 1988. Soil erosion and nutrient losses in seasonal tropical agroecosystems under various management techniques. *J. Applied Ecol.* 25: 595-607.
- Miller, R., J. Jastrow. 1990. Hierarchy of root and mycorrhizal fungal interactions with soil aggregation. *Soil Biol. Biochem.* 22 (5): 579-584.
- Miller R. M., J. D. Jastrow. 1992. The application of VA Mycorrhizae to Ecosystem Restoration and reclamation. Pp. 438-467. *In: Allen, F. Ed. Mycorrhizal functioning. An Integrative plant-fungal process*. Chapman & Hall, New York, USA.
- Noguera, F. A., J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete, M. Quesada Avendaño (Editores). 2002. *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 568 p.
- Oades, J. M. 1993. The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure. *Geoderma* 56: 377-400.
- Olalde V., L. Aguilera. 1998. Microorganismos y biodiversidad. *Terra* 166 (3): 289-292.
- Olivé, F. D., J. Hooker, C. Watson. 1994. Efecto de diferentes hongos micorrízicos sobre la agregación y estabilidad del suelo. *Prácticas ecológicas para una agricultura de calidad*. Ier. Congreso de la Sociedad española de Agricultura Ecológica. Toledo.
- Phillips, J. M., D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycological Society* 55: 158-161.
- Piotrowski, J. S., T. Denich, J. N. Klironomos, J. M. Graham, M. C. Rillig. 2004. The effects of arbuscular mycorrhizas on soil aggregation depend on the interaction between plant and fungal species. *New Phytologist* 164: 365-373.
- Puricelli C. A., J. C. Silenzi, A. Ferraroti. 1998. Cambios de la estabilidad de agregados de dos suelos por el pastoreo rotativo intensivo (PRI) Nro. 60. 7 p.

- Rentería, L. 1997. Biomasa y almacén de carbono radical en tres comunidades vegetales en la costa de Jalisco, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F. 46 p.
- Rillig, M. C., S. F. Wright, K. A. Nichols, W. F. Schmidt, M. S. Tom. 2001. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant and Soil* 233: 167-177.
- Rillig, M. C., P. D. Steinberg. 2002. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification? *Soil Biol. and Biochem.* 34: 1371-1374.
- Rillig, M. C., F. T. Maestre, L. J. Lamit. 2003. Microsite differences in fungal hyphal length, glomalin, and soil aggregate stability in semiarid Mediterranean steppes. *Soil Biology & Biochemistry* 35: 1257-1260.
- Rillig, M. C., E. R. Lutgen, P. W. Ramsey, J. N. Klironomos, J. E. Gannon. 2005. Microbiota accompanying different arbuscular mycorrhizal fungal isolates influence soil aggregation. *Pedobiologia* 49: 251-259.
- Rincón, E., P. Huante, Y. Ramírez. 1993. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on biomass production by the cactus *Pachycereus pecten-aboriginum*. *Mycorrhiza* 3:79-81.
- Sarukhán, J., M. Maass, V. Jaramillo, A. Martínez-Yrizar, F. García-Oliva, Pérez-Jiménez, C. Tinoco, J. López-Blanco, H. Cotler, A. Miranda. 2000. Estructura y Dinámica de un Bosque Tropical seco: Aspectos funcionales y Consecuencias de las Perturbaciones a Diferentes Escalas. Avances del proyecto financiado por CONACYT del período 1999-2003.
- Schlecht-Pietsch, S., U. Wagner, T. H. Anderson. 1994. Changes in composition of soil polysaccharides and aggregate stability after carbon amendments to different textured soils. *Appl. Soil Ecol.* 1: 145-154.
- Schlichting, E., H. P. Blume, K. Stahr. 1995. *Bodenkundliches Praktikum*. Pareys studentexte 81. 2a. ed. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, Wien.
- Schüssler, A., D. Schwarzott, C. Walker. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105(12): 1-12.
- Siebe C., R. Jahn, K. Stahr. 1996. Manual para la descripción y evaluación ecológica de suelos en el campo. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Publicación especial 4. México. 57 p.
- Six, J., E. T. Elliot, K. Paustian. 2000. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biol. Biogem.* 32: 2099-2103.
- Tarchitzky, J. P. G. Hatcher, Y. Chen. 2000. Properties and distribution of humic substances and inorganic structure-stabilizing components in particle-size fractions of cultivated Mediterranean Soils. *Soil Science* 165: 328-342.

Tisdall, J. M. 1991. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and Soil* 159: 115-121.

Traore, O., V. Groleau-Renaud, S. Plantureux, A. Tubeileh, V. Boeuf-Tremblay. 2000. Effect of root mucilage and modeled root exudates on soil structure. *European J. Soil Science* 51: 575-581.

Velásquez-Rodríguez, A. S. 1997. Disgregación, alteración y agregación de dos niveles de trituración de tepetates del estado de Morelos por especies vegetales perennes en condiciones de invernadero. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 147 p.

Viro, P. J. 1974. Effects on fire on grasslands. Pp. 139-194. *In: Kozlowski, T. T., C. E. Ahlgren (eds.) Fire and Ecosystems*. Academic Press, N. Y., USA.

Wright, S. F., M. Franke-Snyder, J. B. Morton, A. Upadhyaya. 1996. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant and soil* 181: 193-203.

Wright, S. F., A. Upadhyaya. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein from arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science* 161: 575-586.

Wright, S. F., A. Upadhyaya. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and soil* 198: 97-107.

Wright, S. F., R. L. Anderson. 2000. Aggregate stability and glomalin in alternative crop rotations for the central Great Plains. *Biol. Fertil. Soils* 31: 249-253.

Wright, S. 2001. *Glomalin, a manageable soil glue*. [http://invam.caf.wvu.edu/methods/mycorrhizae/glomalin\\_brochure.pdf](http://invam.caf.wvu.edu/methods/mycorrhizae/glomalin_brochure.pdf) última versión revisada febrero 15 2008.

Wright, S., F. M. Hons. 2005. Soil carbon and nitrogen storage in aggregates from different tillage and crop regimes. *Soil Sc. Soc. Am. J.* 69: 141-147.

Yoder, R. E. 1936. A direct method of aggregate analysis of soils and a study of the physical nature of erosion losses. *Journal of the American Society of Agronomy* 28: 337-351.

Zarco, A. 2001. Dinámica y distribución espacial y temporal del C y N en el suelo en un ecosistema tropical estacional: un enfoque de paisaje. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F. 84 p.