



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Carrera de Biología

Crecimiento en invernadero de *Mimosa biuncifera* Benth., inoculada con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) provenientes de matorrales xerófitos del Valle del Mezquital, Hgo.

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

HERNÁNDEZ LADRÓN DE GUEVARA MARIANA

UNIDAD DE INVESTIGACION EN ECOLOGÍA VEGETAL

DIRECTOR:

DRA. ROSALVA GARCÍA SÁNCHEZ



México, D.F, Diciembre de 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIA

A mi **Ma' Carmen** que siempre ha sido el pilar, la base y la fuerza para desarrollarme en todas las áreas de la vida.

A mis hermanas, que me han apoyado y consentido, que en innumerables ocasiones han sido cómplices de mis locuras, pero que sobre todo que me aman tal y como soy y aceptan las decisiones que he tomado:

Esther, por sus consejos, su comprensión y por todo el apoyo en mis aventuras; **Isra**, gracias a los dos por compartir los dos mejores regalos de su vida. (Pabish y Mauri, los AMO)

Grace por los momentos de risa incontrolables, por los sueños cumplidos y por tu apoyo en los momentos difíciles, espero estar ahí cuando me necesites.

Josefina, mi cómplice, mi soporte, mi compañera incondicional, la causante de tantas y tantas cosas en mi vida, gracias por estar siempre conmigo. 愛している

A mi abuelita **Juanita**, la luz en mi vida, la raíz de todo, las enseñanzas y el amor que me has dado se quedaran conmigo hasta el final de mis días.

Pase lo que pase, *"Tu conmigo y Yo contigo, SIEMPRE"*.

A mis amigos parte fundamental en mi vida:

Mithzel e Indira, somos tan diferentes y a la vez tan parecidas que era inevitable no estar juntas, saben que son súper importantes para mí y que me ayudaron a salir adelante en muchas ocasiones, gracias por siempre escucharme y comprenderme, por regañarme cuando lo necesitaba, por abrazarme en momentos difíciles y por quererme, pero sobre todo por hacerme un espacio en sus vidas y en sus corazones, no imagino mi vida sin su presencia las quierooooooooo =D.

Karla, Itzel, Ely, Yolanda, Araceli, Eliceo, Reynaldo y Ozz, por todo su apoyo durante la carrera en cuestiones académicas, pero más que nada en las personales, su cariño y amistad me sacaron a flote siempre que los necesite, gracias por siempre creer en mí, incluso cuando Yo misma no lo hacía, me llevo todos los momentos de diversión y aprendizaje que compartimos en esta maravillosa aventura llena de, amor, desamor, estrés, risas, tristezas, logros y un sin número de experiencias únicas en la vida, la carrera no hubiera sido la misma sin ustedes son las únicas personas con las que me hubiera gustado vivirla. Gracias por regalarme un pedacito de su corazón y permitirme estar en el suyo.

Especialmente quisiera agradecer a "*mis viejas*", por estar tan presentes siempre, y en especial estos dos últimos años, supere la adversidad en gran medida gracias a ustedes, espero algún día poder retribuirles todo el amor y el apoyo que me han dado pero sobre todo, estar ahí en el momento justo, como ustedes lo estuvieron y lo están. Las quiero brujas!!.

Este es para ti y solo para ti: me impulsaste y no me dejaste caer, y cuando caí me levantaste, compartir contigo este momento me ayudo a comprender muchas cosas y a querer muchas otras, conoces mis sueños más oscuros, pero lo más importante es que a pesar de todo, "lo logramos", y estaremos ahí la una para la otra incluso cuando el tiempo cambie y las risas se dejen de escuchar. Te dije "este año, es nuestro año".

A todos los personajes que se cruzaron en mi camino en estos años de preparación académica, son parte de mi formación como profesional y como individuo.

A mis maestr@s que me dieron las herramientas necesarias para desarrollarme en este maravilloso mundo de conocimiento y experimentación, este logro es suyo también.

Especialmente quisiera agradecer a una persona sin la cual, no hubiera podido realizar este proyecto, la **Dr. Rosalva García Sánchez**, que no solo me brindo sus conocimientos y apoyo, sino también su calidad humana todo este tiempo, su disponibilidad y enseñanzas fueron fundamentales para mi desarrollo profesional, sus atenciones y su comprensión hacen de usted un gran académico, pero sobre todo una gran persona "Maestra Querida", siempre la recordare con mucho cariño y me esforzare para un día hacerla sentir orgullosa de esta su alumna incondicional.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a la **Dra. Rosalva García Sánchez**, por haber dirigido esta tesis, su apoyo constante en las salidas a campo y en el laboratorio, así como en las discusiones sobre mis resultados fueron fundamentales para el buen término de mi trabajo académico.

A mis sinodales Dr. Arcadio Monroy Ata, Dra .Esther Matiana García, M. en C. Balbina Vásquez Benítez y el Biol. Marco Antonio Hernández Muñoz, su apoyo académico y disposición fueron básicos para poder concluir mi tesis.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** que por medio de la **Facultad de Estudios Superiores Zaragoza**, me permitieron obtener los conocimientos, experiencia y ética, necesarios para hacer de mí un profesionalista de excelencia, luchando por enaltecer el nombre de la Universidad y de México. Solo perteneciendo a esta magna institución es que se comprende el verdadero significado de "Sangre azul y Piel dorada".

CONTENIDO

ÍNDICE	I
ÍNDICE DE CUADROS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	III
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEÓRICO	3
Zonas Áridas	3
Las Micorrizas	4
Micorrizas Arbusculares	4
Estructuras	5
Clasificación	7
Importancia y Beneficios del Uso de las Micorrizas	8
<i>Mimosa biuncifera</i> Benth.	10
Zona de Muestreo	11
JUSTIFICACIÓN	13
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS	16
MATERIAL Y MÉTODO	17
Colecta y Preparación de semillas	17
Colecta del inóculo	17
Conteo e identificación de esporas	17
Diseño experimental	18
Evaluación del crecimiento	20
Altura y Número de Hojas	20
Biomasa y Área Foliar	20
Evaluación de las Respuestas Fisiológicas	21
Contenido de Nutrientes en Tejido Foliar	21
Concentración de Clorofilas, Carotenos y Nitrato reductasa	21

Colonización Radical	22
Análisis Estadístico	23
RESULTADOS	24
Densidad e Identificación de Esporas	24
Respuestas de Crecimiento	27
Respuestas fisiológicas	30
Nutrimentos en Tejido Foliar	30
Concentración de Clorofilas, Carotenos y Nitrato reductasa	34
Colonización Radical e IDM	37
DISCUSIÓN	38
CONCLUSIONES	41
LITERATURA CITADA	42

INDICE DE CUADROS

Cuadro 12. Listado de especies de HMA en las localidades	24
Cuadro 3. Biomasa total, Área foliar, Relación raíz/vástago (RRV) y TRC	28

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Diagrama de un HMA	6
Fig. 2 Clasificación de los HMA	7
Fig. 3 <i>Mimosa biuncifera</i> Benth.	10
Fig. 4 Mapa de ubicación de las localidades Rincón y González	12
Fig. 5 Número de esporas de las localidades	23
Fig. 6 Morfoespecies de HMA	25
Fig. 7 Dinámica de crecimiento	26
Fig. 8 TRC	27
Fig. 9 Biomasa total	28
Fig. 10 Concentración de N	29
Fig. 11 Concentración de P	30
Fig. 12 Concentración de K	31
Fig. 13 Concentración de Ca	32
Fig. 14 Concentración de Mg	32
Fig. 15 Concentración de clorofilas α y β	33
Fig. 16 Clorofilas totales	34
Fig. 17 Carotenos	34
Fig. 18 Concentración de Nitrato reductasa NR	35
Fig. 19 Fracción de la colonización radical	36
Fig. 20 Porcentaje de dependencia micorrízica IDM	36

RESUMEN

En esta investigación se evaluó el efecto de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) provenientes de un matorral conservado y uno perturbado, sobre las variables de crecimiento, estado nutricional y fisiología en plántulas de *Mimosa biuncifera* Benth., en condiciones de invernadero. Los tratamientos constaron de 20 plantas para cada tratamiento, las cuales fueron inoculadas con los hongos de los matorrales conservado (RM+) y perturbado (GM+) respectivamente, cada uno de los tratamientos fueron contrastados con su respectivo testigo sin micorrizar (RM- y GM-). Después de 90 días, se observó un incremento en el crecimiento debido a la micorrización. Sin embargo, el efecto de la perturbación a través de la procedencia de los HMA fue diferente entre las variables evaluadas, la procedencia de los HMA modificaron la biomasa total seca, el área foliar, la razón raíz/vástago (RRV), los contenidos de fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), clorofila total y actividad nitrato reductasa (NR) en hoja. Esta especie obtuvo altos porcentajes de micorrización e índice de dependencia micorrízica.

Aunque los HMA tuvieron efectos sobre el crecimiento y la nutrición de las plantas de *Mimosa biuncifera*, en los diferentes tratamientos y procedencias, los resultados no permiten sugerir compatibilidad funcional entre las procedencias de los HMA y la especie estudiada, lo que se asocia al número de morfoespecies de HMA que comparten los matorrales (11 morfoespecies). El hecho de que los HMA de las dos procedencias conserven su potencial para formar micorriza con esta leguminosa puede ser un factor importante para comprender la distribución ecológica y quizás el fácil establecimiento de la especie en matorrales xerófitos del Valle del Mezquital.

INTRODUCCION

La estabilidad de los ecosistemas terrestres está determinada por su biodiversidad (Tilman *et al.*, 1996, Hooper y Vitousek, 1997), ya que la cubierta vegetal es de gran importancia para la retención de agua y la formación de suelos, es de vital importancia conocer las estrategias de establecimiento de las plantas, para la recuperación de los ecosistemas naturales. Las plántulas se establecen en micrositios específicos y desarrollan asociaciones mutualistas con la microbiota edáfica, a fin de mejorar la captación hídrica y de nutrimentos del suelo (Jasper *et al.*, 1989). En estas simbiosis, los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) desempeñan un papel determinante, tanto en la dinámica del suelo como en la sucesión vegetal (Carey y Watkinson, 1992, Allsopp y Stock, 1994). La simbiosis micorrízica arbuscular no es específica, ya que una especie de hongo puede establecer simbiosis con muchas especies vegetales (Sylvia y Williams, 1992).

En la región semiárida del Valle del Mezquital Hidalgo, se ha estudiado muy poco la comunidad vegetal, la cual es alterada continuamente por el aprovechamiento selectivo de las especies útiles y por la urbanización. La vegetación del Valle está dominada por matorrales xerófilos, donde es común encontrar a *Mimosa biuncifera* como dominante fisonómico del matorral perturbado. Esta especie es apreciada por los habitantes locales debido a los múltiples usos que se le da (cerca viva, forraje para el ganado, leña, etc.), y es particularmente importante para el ecosistema por su función como especie que mejora la fertilidad del suelo (Camargo-Ricalde, 2001). En estos matorrales las leguminosas modifican las propiedades físicas y químicas del suelo conformando microhábitats diferentes, los cuales tienen implicaciones en la diversidad y dinámica de los HMA del suelo.

Es por ello que en este trabajo se analizó el efecto de la inoculación de HMA provenientes de diferente condición (conservado y perturbado), sobre el establecimiento y desarrollo de plantas de *Mimosa biuncifera* Benth., en condiciones de invernadero, buscando la mayor efectividad de los hongos.

MARCO TEÓRICO

Zonas áridas

Los ecosistemas áridos y semiáridos son aquellos donde existe poca disponibilidad de agua, por lo que se ve limitado el establecimiento de una densa comunidad vegetal (Hunneke y Noble, 1996, Heady, 1980, Skujins, 1991). La baja disponibilidad de agua es considerada como el factor más importante que controla y limita los procesos biológicos en estos ecosistemas (Smith *et al.*, 2004). Las zonas semiáridas son áreas donde la precipitación pluvial varía entre los 350 mm y los 600 mm al año, la temperatura media anual va de los 18 a los 22° C, de acuerdo a la clasificación de Köppen (García, 1978), estos tipos de ambientes corresponden a los BW y BS con sus respectivas variantes (Rzedowski, 1994). Los periodos de sequía se presentan entre seis y ocho meses al año, la cobertura vegetal supera el 70%, la vegetación predominante corresponde a diferentes tipos de matorrales y pastizales (Villa, 1980, Skujins, 1991, Enkerlin *et al.*, 1997).

Los suelos de las zonas áridas usualmente están poco desarrollados, las superficies expuestas al viento y al agua en movimiento pueden deslavarlos y remover partículas, por esto la vegetación juega un papel importante en estos ecosistemas (Huenneken y Noble 1996). La cubierta vegetal de estas zonas es de gran importancia para las actividades ganaderas de estas regiones; desempeña funciones a corto y largo plazo, ya que protegen al terreno de la erosión, favorece la infiltración del agua en el suelo, protege las cuencas hidrológicas y contribuye a regular y modificar los microclimas.

En México las zonas áridas y semiáridas ocupan entre el 50 y 70% del territorio nacional, distribuidas por los estados de Baja California, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Durango, Zacatecas, Sn Luis Potosí, Nuevo León, Tamaulipas, Querétaro, Hidalgo y Puebla (Montaño y Monroy 2000). Por su riqueza florística, la vegetación semiárida del Valle del Mezquital Hidalgo, es la más importante del desierto Querétaro-Hidalgense, pero, al mismo tiempo, es fuertemente destruido por las actividades humanas de la región (Challenger, 1998), como el sobrepastoreo, la extracción de leña, incendios y la sobre-explotación de flora nativa (De-la-Rosa-Mera y Monroy-Ata, 2006).

Micorrizas

Las micorrizas son asociaciones mutualistas altamente especializadas que se forman entre las raíces de las plantas y algunos hongos del suelo (Harley y Smith, 1983; Brundrett, 1991; Kendrick, 1992). Es una simbiosis en la cual la planta hospedera recibe nutrimentos minerales por parte del hongo y este obtiene compuestos de carbono derivados de la fotosíntesis (Sánchez-Cólin, 2005).

Las asociaciones micorrízicas son cosmopolitas por su presencia en la mayoría de los hábitats naturales y generalistas por el amplio número de familias de plantas susceptibles de ser micorrizadas (Guevara, 2009), estas asociaciones juegan un papel muy importante en el crecimiento y desarrollo de las plantas y en el ciclaje de nutrimentos en el ecosistema (Molina, 2005). A través de la micorriza, el hongo incrementa la superficie de captación de nutrimentos para la planta, principalmente de iones fosfato y amonio disponibles en el suelo. Se estima que las hifas externas proporcionan hasta un 80% de fósforo y 25% del nitrógeno requeridos por la planta. A cambio, el hongo además de contar con un hábitat, recibe azúcares simples derivados de la fotosíntesis efectuada por el hospedero. Se ha señalado que los hongos micorrízicos asociados a las diferentes especies vegetales reciben del 4 al 20% del carbono producido por las plantas (Hernández *et al.*, 2003).

En esta asociación mutualista ambos participantes, hongo y planta, mantienen un balance de beneficios y costos positivo, ya que a pesar de los costos que representa el estar juntos, los beneficios son mayores y recíprocos, lo cual se ve reflejado en un mayor crecimiento y supervivencia de las poblaciones involucradas (Allen, 1991).

Micorrizas Arbusculares

La micorriza arbuscular (MA), es una asociación simbiótica formada por hongos pertenecientes al phylum *Glomeromycota* y casi el 90% de las plantas, se caracteriza morfológicamente porque el hongo desarrolla estructuras altamente especializadas en el intercambio de nutrimentos denominadas arbusculos y que se forman dentro de las células corticales de su hospedero también presentan hifas

cenocíticas dentro y fuera de la raíz, estas últimas son conocidas como micelio extraradical y su función es explorar y absorber el fósforo en el suelo de forma más eficiente; otras estructuras que se forman dentro de las raíces son las vesículas las cuales son órganos de reserva para el hongo, sin embargo, no todos los géneros de HMA los forman (González *et al.*, 2005; Finlay, 2008).

Los HMA son microorganismos del suelo que contribuyen sustancialmente al establecimiento, crecimiento, productividad y supervivencia de comunidades vegetales, tanto cultivadas como naturales. Los HMA predominan en ecosistemas donde la mineralización de materia orgánica es lo suficientemente rápida para evitar su acumulación, en hábitats donde los fosfatos edáficos son escasos y en zonas donde las plantas presentan regularmente estrés hídrico (Wilcox, 1996).

Estructuras básicas de los HMA

Las micorrizas arbúsculares presentan tres estructuras básicas (Figura 1):

Arbúsculos

Los arbúsculos son normalmente terminales, pero en algunos casos se forman lateralmente en hifas (Gerdeman, 1968). La formación de arbúsculos aumenta la actividad metabólica de la célula del hospedero, la cual es principalmente debida a la transferencia bidireccional de metabolitos y nutrimentos entre la planta y el hongo (Sieverding, 1991).

Vesículas

Las vesículas son hinchamientos apicales de la hifa, las cuales contienen lípidos y son órganos de reserva del hongo. Durante situaciones de estrés (bajo suministro de agua o metabolitos desde la planta hospedera), estas reservas son utilizadas por el hongo y entonces las vesículas degeneran.

Esporas

Las esporas son de color blanco, crema, amarillo, naranja o café y a veces con tintes verdes. La forma es globosa a subglobosa, irregular y elíptica (sobre todo aquellas extraídas desde raíces micorrizadas). Los tamaños van desde 40 a 140 μm (De-la-Rosa-Mera y Monroy-Ata, 2006).

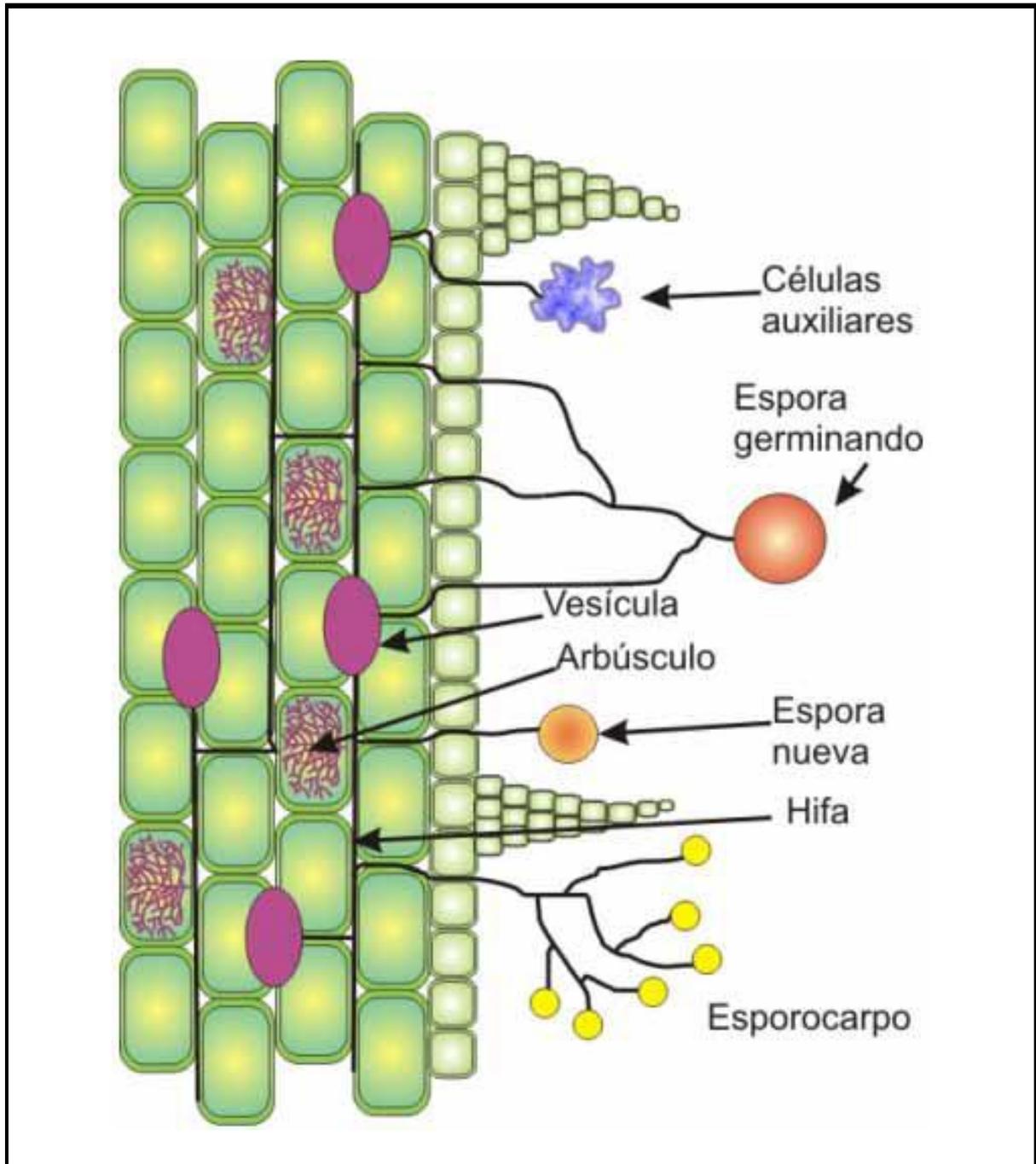


Figura 1. Diagrama de un hongo micorrizógeno arbuscular mostrando como las hifas penetran el córtex de una raíz para formar arbusculos y vesículas. Imagen realizada por Mariano García Díaz.

Clasificación

La clasificación (Figura 2) de estos hongos se ha basado en la morfología de sus esporas y en las estructuras que forman dentro y fuera de la raíz (según sea el caso).

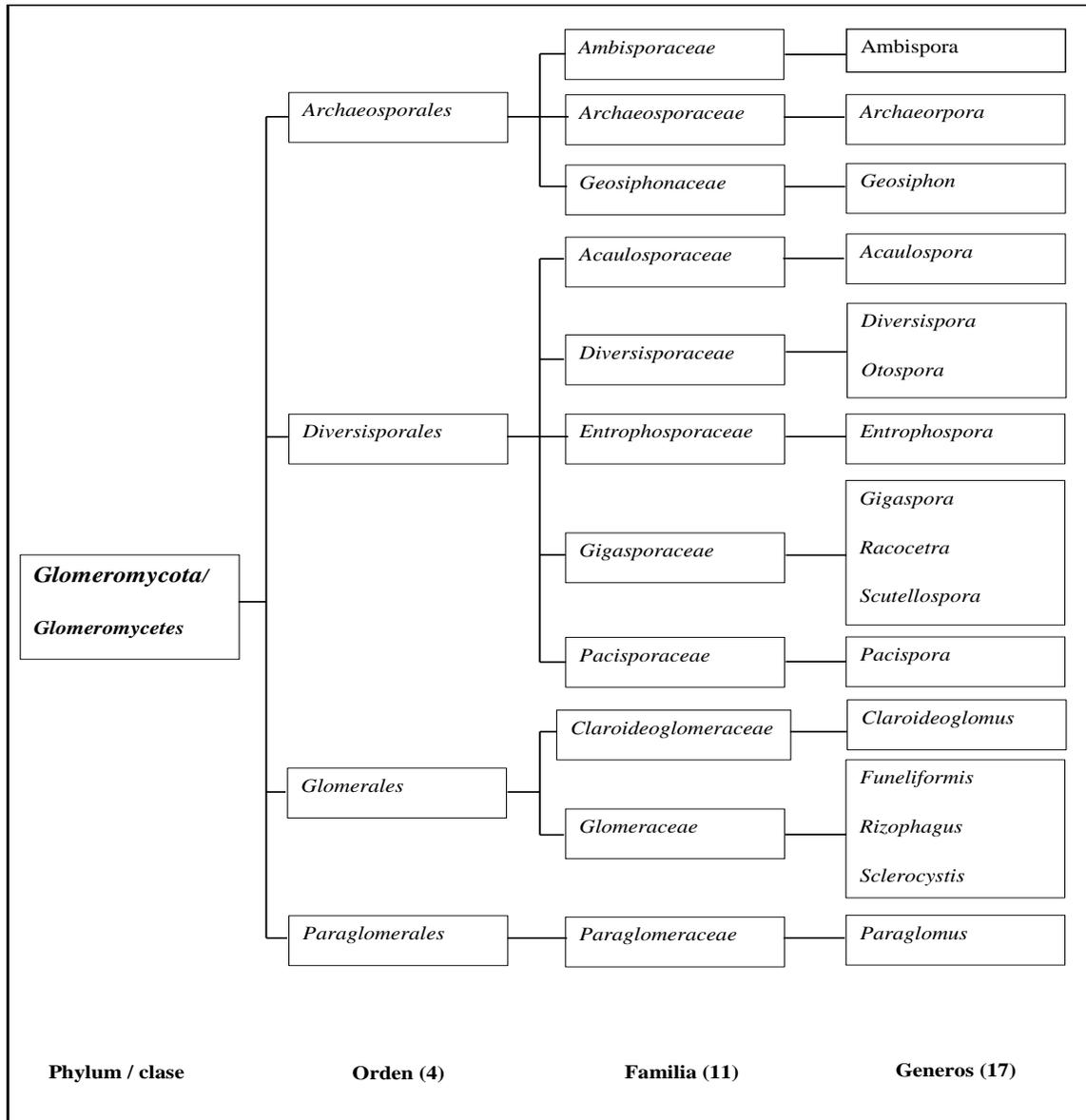


Figura 2. Clasificación de los hongos micorrízico arbúsculares (HMA) de acuerdo a Schüßler, 2011, disponible en sitio web: <http://www.lrz.de/~schuessler/amphylo/>. Cuadro editado por: Biól. Eduardo Chimal Sánchez.

Importancia y beneficios del uso de las micorrizas

El beneficio que aporta la simbiosis micorrízica a las plantas está determinado por la actividad del micelio externo del hongo, ya que éste posee mayor capacidad de absorción de los nutrientes del suelo mediante la extensa red de hifas que el hongo pueda generar. De este modo, la actividad del micelio coadyuva en la función de la raíz, sobre todo cuando esta ha agotado los nutrientes de la zona del suelo adyacente (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1999).

Los beneficios que aportan los hongos micorrízicos a las plantas hospedera son: incremento en la absorción de sales minerales, incremento en la absorción de agua, síntesis y transferencia de sustancias promotoras del crecimiento, producción de sustancias antibióticas, desarrollo más vigoroso y resistencia a condiciones ambientales estresantes como baja tensión de agua, pH y temperaturas extremos y altas concentraciones de metales pesados (Varela y Estrada, 1999). Además del beneficio nutrimental de la simbiosis, también pueden participar como agentes de biocontrol al ataque de patógenos de hábito radical. Sin embargo, esto no se debe solo al establecimiento de los hongos en el sistema radical, sino a que también intervienen en diversos factores edáficos y ambientales (Dakessian *et al.*, 1986; Abbott y Robson, 1991) e incluso en el manejo de agroecosistemas (Trejo y Ferrera-Cerrato, 1997), así como la capacidad del hongo para compensar o superar las funciones de la raíz en la absorción de nutrientes y agua.

Todos los beneficios de la micorrización tienen un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de las plantas hospederas, estos dos procesos son una combinación de eventos a diferentes niveles, desde el nivel biofísico y bioquímico hasta el orgánico, que dan como resultado el crecimiento integral de un organismo. El crecimiento puede medirse en variables como longitud, grosor o área; a menudo se mide como aumento en volumen, masa o peso (ya sea peso fresco o seco). Cada uno de estas variables describe algo diferente y rara vez hay una relación simple entre ellas en un organismo en crecimiento. Esto sucede porque el crecimiento a menudo ocurre en direcciones diferentes a distintas tasas (Bidwel, 1979).

Estudios en invernadero demuestran que la asociación simbiótica de los hongos micorrizógenos en las raíces de las plantas producen diversos cambios y/o modificaciones a nivel fisiológico, entre los que destacan los incrementos en la actividad fotosintética, por efecto de la mayor capacidad de fijación de CO₂ y, por consiguiente, el incremento de las tasas de crecimiento en la biomasa

producida, por las plantas micorrizadas en comparación con las plantas control (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1996; Olalde, 1997).

La interacción hongo-planta y los beneficios que aporta no solo a ellos mismos, sino al entorno son de gran importancia para la conservación y recuperación de zonas perturbadas, en especial de las zonas con limitantes ambientales como las comunidades áridas y semiáridas. La perturbación de estos ecosistemas se manifiesta con la pérdida de la cubierta vegetal, generalmente asociada a cambios importantes en la composición de especies vegetales, en la pérdida de propágulos de los HMA y en disminución de la fertilidad del suelo. En los ambientes con limitaciones de agua y nutrientes, como los matorrales semiáridos, la micorriza favorece el crecimiento y la supervivencia de las plantas, sin embargo, las diferentes especies de HMA difieren entre sí y en su eficiencia para incrementar el crecimiento de las plantas, estas diferencias pueden estar relacionadas con las condiciones de perturbación donde se originan los hongos micorrizógenos o con la composición de los consorcios de estos hongos, por ello es importante conocer la efectividad de los HMA sobre el crecimiento de las plantas silvestres de gran valor ecológico como *Mimosa biuncifera*.

***Mimosa biuncifera* Benth.**

El género *Mimosa* L. pertenece a la familia Fabaceae, subfamilia Mimosoideae, y se ubica en la tribu Mimoseae. *Mimosa* es un género principalmente americano, el 90% de sus especies se distribuyen del sur de Estados Unidos, a la Argentina y el resto se encuentra en África, Asia y Australia. En México, el género *Mimosa* presenta diversas formas biológicas donde predominan los arbustos erectos y árboles. Las especies de *Mimosa* se utilizan en diferentes formas: como cerca viva, combustible (leña y/o carbón), forraje para ganado caprino y ovino principalmente, material para construcción, medicinal, melífera, ornamental, peletería por el alto contenido de taninos principalmente en la corteza y como implemento agrícola (Camargo-Ricalde et al., 2001).

Mimosa biuncifera Benth., conocida como “uña de gato” es un arbusto que mide 1-2.5 m de altura, armado de cortas y recurvadas espinas de 7-8 mm de largo. Hojas bipinadas, de contorno oblongo con 3-4 pares de divisiones primarias; cada una provista de foliolulos ovales pequeños de unos 12 mm, inflorescencias axilares de 7-8 mm de diámetro, sobre pedúnculos cortos de 9-10 mm.

Frutos oscuros, comprimidos, espinosos en el margen, angostos en ambos extremos, de unos 3-5 cm de largo, por 4 mm de ancho provistos de 6-8 semillas (Sánchez-Sánchez, 1978).



Figura 3. *Mimosa biuncifera* Benth.

M. biuncifera es una especie dominante o codominante en los matorrales xerófilos del Valle del Mezquital y de otros matorrales del centro de México, este arbusto es importante dada su capacidad para retener el suelo y la humedad del mismo, así como por su aporte de materia orgánica, por mantiene la diversidad de los organismos microbianos entre ellos las bacterias fijadoras de nitrógeno y los HMA, por lo que ésta especie es clave para la restauración ecológica de estos matorrales, y por ello es importante conocer los factores que favorecen su crecimiento y la influencia de los HMA en condiciones experimentales.

Zona de muestreo

Para realizar este trabajo, se colectó material biológico en las localidades conocidas como “González-González” y “Rincón” (Figura 3) pertenecientes a los Municipios de Santiago de Anaya y Actopan, los cuales se encuentran dentro del Valle del Mezquital, Hidalgo, cuyas coordenadas geográficas son 20° 16' 12" de latitud norte y 98° 56' 42" de longitud oeste, se encuentra ubicado al norte de la Ciudad de México, la cual se encuentra a una distancia de 120 km por carretera y a 37 km de la capital del estado. Santiago de Anaya cuyas coordenadas geográficas son 20° 23' 04" latitud norte y 98° 57' 53" longitud oeste, con una altura de 2040 msn, se encuentra ubicado a 56 km. de distancia de la capital del estado. El municipio colinda al norte con los municipios de Cardonal y Metztitlán; al este con los municipios de Metztitlán y Actopan; al sur con el municipio de Actopan y San Salvador; al oeste con los municipios de San Salvador, Ixmiquilpan y Cardonal. Las semillas, el suelo y el inóculo empleados en este estudio son procedentes de estas localidades.

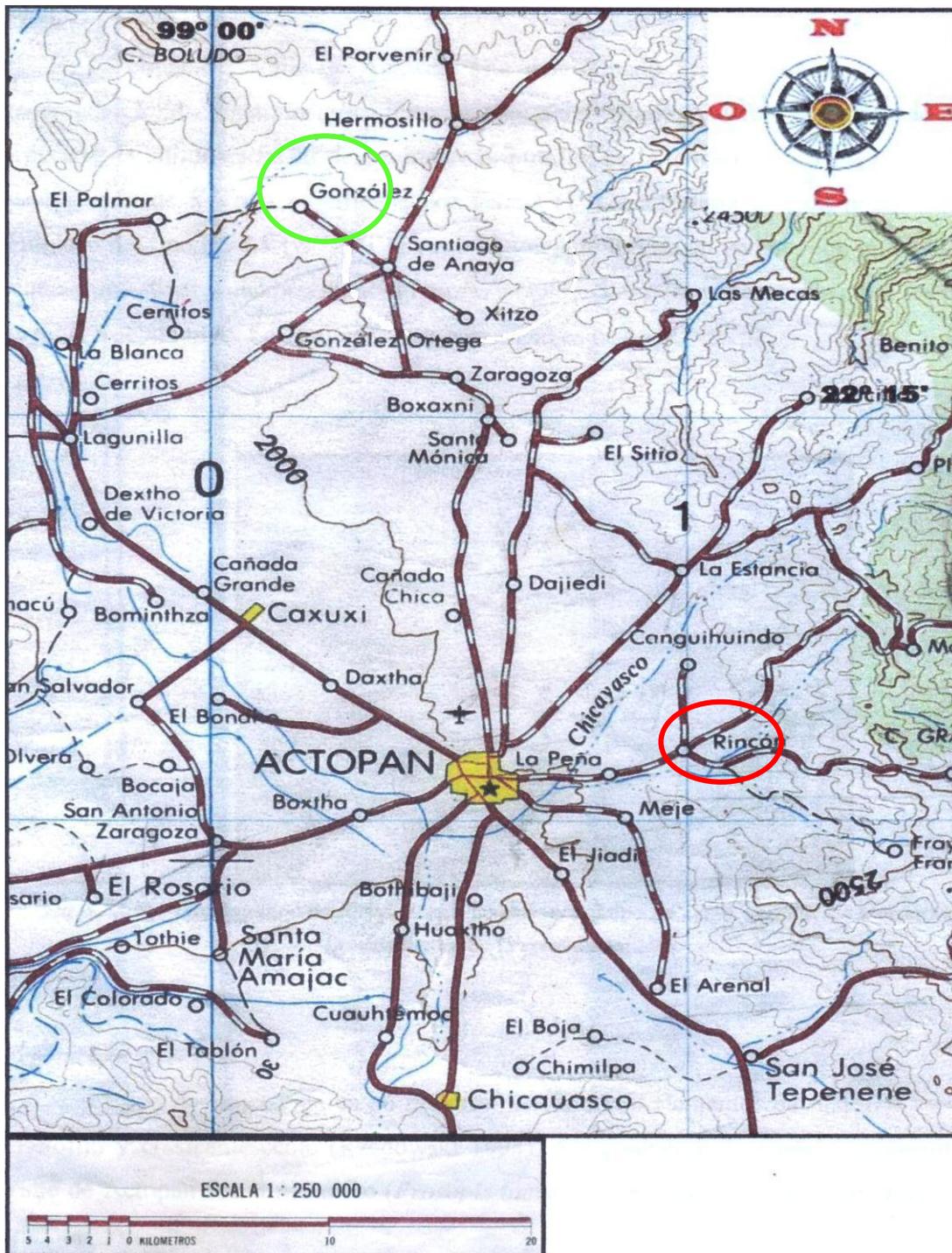


Figura 4. Mapa de ubicación de las localidades González y Rincón en el estado de Hidalgo, México.

JUSTIFICACION

La micorriza arbuscular influye en la planta hospedera, incrementando su adecuación (reproducción y supervivencia) y la producción de biomasa (Fisher y Jayachandran, 2002). Dichos hongos actúan como extensiones del sistema radical al aumentar la asimilación de nutrimentos del suelo, principalmente fósforo, debido al diámetro y longitud de sus hifas del hongo simbionte que le permite a la planta explorar un mayor volumen del ambiente edáfico (Smith y Read, 1997). Los primeros efectos en la planta relacionados con la inoculación micorrízica ocurren a nivel fisiológico y están relacionados con los procesos involucrados con la acumulación de biomasa, como la fotosíntesis y la acumulación de nutrimentos. Dekkers y Van der Werff (2001) afirman que la colonización arbuscular (CA) es un buen indicador de los beneficios de la micorriza hacia el hospedero, y la colonización micorrízica arbuscular (CMA) como un indicador del costo invertido por la planta en la producción de biomasa fúngica.

La interacción hongo-planta y los beneficios que aporta no solo a ellos mismos, sino al entorno son de gran importancia para la conservación y recuperación de zonas perturbadas, en especial de las zonas con limitantes ambientales como los ecosistemas áridos y semiáridos, y que en México ocupan 125 millones de hectáreas, lo que equivale al aproximadamente el 60% del territorio nacional (Rezedowski, 1994). La perturbación de estos ecosistemas se manifiesta con la pérdida de la cubierta vegetal, generalmente asociada a cambios importantes en la composición de especies vegetales, en la pérdida de propágulos de los HMA y en disminución de la fertilidad del suelo. En los matorrales semiáridos, la micorriza favorece el crecimiento y la supervivencia de las plantas hasta ahora estudiadas, de igual manera, los HMA reportados en estos ecosistemas son similares a los encontrados en otros ambientes o plantas. Así mismo, las especies de HMA difieren en su infectividad y efectividad al asociarse con diferentes plantas, traduciéndose en mayor o menor eficiencia en el crecimiento de las plantas, esta situación puede estar relacionada con las condiciones de perturbación o con la diversidad de estos hongos.

En los últimos años se ha publicado el efecto positivo que tienen las micorrizas, en especies con valor alimenticio como frutales; sin embargo, poco se conoce sobre los efectos de esta simbiosis en especies silvestres de los matorrales semiáridos y podría esperarse una respuesta similar, por lo que este estudio busco responder las preguntas:

¿*Mimosa biuncifera* es una planta dependiente de la micorriza en las primeras etapas de crecimiento (90 días)?.

¿Los HMA provenientes de matorrales perturbados y conservados donde *M.biuncifera*, es dominante, tienen la misma eficiencia y eficacia para micorrizar a *Mimosa biuncifera*?

HIPOTESIS

Si se encuentra diferente diversidad y abundancia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) asociados al suelo de matorrales perturbados y no perturbados donde *Mimosa biuncifera* es dominante, se espera que estos hongos tengan diferente eficiencia en la colonización micorrízica en las plántulas de *M. biuncifera* y que las variables asociadas a su crecimiento reflejen tanto la eficiencia micorrízica de los HMA como la dependencia micorrízica de *M. biuncifera*.

OBJETIVOS

Evaluar la eficiencia de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) con diferente procedencia sobre algunas variables fisiológicas asociadas al crecimiento de *Mimosa biuncifera* Benth en condiciones de invernadero.

PARTICULARES

- Cuantificar el crecimiento en la etapa inicial de *Mimosa biuncifera* al ser micorrizada con HMA provenientes del suelo de un matorral perturbado y uno conservado en condiciones de invernadero.
- Evaluar la eficiencia micorrízica de los HMA de diferente procedencia en la translocación de nutrimentos a tejido foliar (N, P, K, Ca, Mg) y en las variables funcionales: contenido de clorofilas α , β y totales, carotenos, y nitrato reductasa en plantas de *Mimosa biuncifera* de 90 días de crecimiento en condiciones de invernadero.
- Determinar la colonización y dependencia micorrízica de *Mimosa biuncifera* a los 90 días de crecimiento en invernadero.
- Cuantificar la densidad de esporas y la diversidad de los HMA contenidos en los suelos de matorral perturbado y conservado y utilizados como inóculos iniciales.

METÓDO

Colecta y preparación de semillas

Se colectaron las semillas de *Mimosa biuncifera* en los matorrales correspondientes a las localidades de González y Rincón en el Valle del Mezquital Hidalgo, se seleccionaron aquellas que no presentaron daño aparente, posteriormente se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 10% por 10 minutos, después se enjuagaron con agua destilada y se secaron a temperatura ambiente, este proceso con el fin de eliminar esporas, bacterias y microorganismos que afectaran la germinación. Se escarificaron mecánicamente con una lija de agua para estimular la germinación, posterior a esto se plantaron en los sustratos correspondientes.

Colecta de los HMA usados como inóculo

El inóculo de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), empleados se obtuvieron de suelos bajo dosel de *M. biuncifera*, en dos matorrales: en los alrededores del poblado de González-González, mismo que se consideraron como perturbados con base en el porcentaje de la cobertura vegetal y la diversidad vegetal- y el matorral conservado ubicado en los alrededores del poblado de Rincón. Los suelos colectados fueron conservados en refrigeración a 4°C en el laboratorio, se pesaron 100g de suelo para cada unidad experimental, los que fueron colocados en las macetas sobre el sustrato estéril.

Conteo e identificación de esporas

Para conocer la densidad de esporas de HMA colocados en cada maceta, se realizó el conteo de esporas en los suelos correspondientes a los sitios de estudio (Rincón y González), de acuerdo al método de tamizado en húmedo de Nicholson y Gledermann citado por Trejo *et al.*, 2008 de la siguiente manera:

Se pesaron 50g de suelo seco en un vaso de precipitados, al cual se le agregó 1L de agua de la llave y se agitó vigorosamente con un agitador mecánico (marca Oster modelo 2523-13 440-20) por 3min. Se dejó reposar de 20 a 30 segundos, después se hizo pasar el sobrenadante en una serie de tamices ordenados de mayor a menor apertura de la malla, colectando el contenido del tamiz más pequeño con ayuda de una pipeta en tubos para centrifuga, y se les agregó agua para centrifugarlos durante 5 min a 2000-2500 rpm.

Del material ya centrifugado se desechó el sobrenadante de los tubos, y se resuspendió el precipitado, al que se agregó sacarosa al 50%, para centrifugar nuevamente, esta vez entre 1500 y 2000 rpm durante 35 s a 1 min. El centrifugado se enjuagó en el tamiz más pequeño, y se depositó el material en cajas Petri para contabilizar las esporas totales, el conteo se realizó colocando una cuadrícula debajo de la caja Petri y contabilizando el número de esporas presentes en cada cuadro de 0.5 x 0.5 cm cada uno, la suma de estos se extrapoló para 100 g de inóculo y se reportó como número de esporas por 100 g de inóculo, posteriormente extraer las esporas de la caja e identificar las especies de HMA presentes en cada sitio (Rincón y González), bajo el microscopio de disección a 40x de aumento.

Diseño experimental

La fase experimental se desarrolló en el invernadero de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, en el oriente de la ciudad, el invernadero tiene una orientación de Este a Oeste. El lote experimental constó de 20 unidades experimentales (UE) por tratamiento, y 20 UE para cada testigo, de acuerdo al siguiente diseño:

$$1 \text{ planta} \times 2 \text{ tratamientos} \times 2 \text{ condiciones} \times 20 \text{ repeticiones} = 80 \text{ UE.}$$

En las UE se utilizó un sustrato compuesto por suelo (proveniente del Valle del Mezquital, Hgo.) y arena sílica en proporciones 3:1 vol/vol para permitir la permeabilidad del sustrato y la fácil penetración de las raíces, el sustrato se mezcló homogéneamente, se colocó dentro de bolsas de polipapel con aproximadamente 1 kg de este para su esterilización en el autoclave, durante dos sesiones de calor húmedo y presión a 1.2 magapascales.

Se lavaron y desinfectaron 80 macetas de polivinil carbono (PVC) de aproximadamente 30 cm de largo y 7 cm de diámetro, selladas con acetato y cinta adhesiva en la parte inferior, con una solución de hipoclorito de sodio al 10% por 10 minutos, posteriormente se enjuagaron con suficiente agua corriente.

Con el sustrato estéril se llenaron las macetas hasta 8 cm por debajo del borde superior, después se colocaron 100 g de suelo con HMA por maceta del tratamiento correspondiente o el filtrado bacteriano; Se humedeció el sustrato de cada maceta al 100%, sobre este se colocaron 3 semillas de *M. biuncifera* (previamente desinfectadas y escarificadas) y se cubrieron con aproximadamente 1cm de sustrato, dejando cerca de 2 cm de maceta libres hacia el borde superior de la maceta, se les colocó una bolsa plástica, a modo de tapa para evitar la desecación durante la germinación de la semilla, la cual se retiró en cuanto estas emergieron.

El filtrado bacteriano se obtuvo a partir de 100g de suelo, al cual se le agregó un volumen de 250 ml de agua desionizada, se agitó 30 durante minutos, se dejó reposar durante una hora y se filtró con papel Watman de 42 micras, con ello se permitió el paso de las bacterias pero no de las esporas de los HMA presentes en la muestra. Este filtrado se preparó para los suelos de los dos matorrales, de forma que cada tratamiento tuvo su correspondiente testigo. El filtrado bacteriano compensó la presencia de las bacterias contenidas en los 100g de suelo utilizados en cada unidad experimental de cada tratamiento.

Las macetas se regaron semanalmente a capacidad de campo con agua y con un riego de apoyo de solución Long Ashton (Hewitt, 1966) modificada para suministrar $11\mu\text{g}$ por mL^{-1} de fósforo cada tres semanas, con el fin de mantener la humedad necesaria para el desarrollo de las plantas.

Evaluación del crecimiento

Altura y número de hojas

A partir de la aparición de la primera hoja, se registró semanalmente la altura y el número de hojas de cada planta durante 14 semanas de crecimiento, y con las mediciones de la altura se calculó la tasa relativa de crecimiento (TRC). Esta variable evalúa el crecimiento de la especie de estudio, en un tiempo dado. La TRC se determinó mediante el modelo de crecimiento exponencial, el cual describe la fase inicial del desarrollo vegetal (Charles-Edwards *et al.*, 1986). Se empleó la siguiente ecuación:

$$\text{TRC} = [\ln(\text{alt final en cm}) - \ln(\text{alt inicial en cm})] / [\text{tiempo (días)}]$$

6.5.2 Biomasa y área foliar

A los 90 días de crecimiento se tomaron al azar 4 unidades experimentales por tratamiento, se cortaron las hojas para colocarlas en el integrador de área foliar modelo CI-202, CID Inc., y así obtener directamente el área foliar en cm^2 . Las hojas se retiraron del integrador y se pesaron tanto el vástago (parte aérea) y la raíz de cada una de las plantas para obtener el peso de la biomasa fresca, en una balanza analítica OHAUS, modelo IP 15KS. La biomasa seca se pesó de igual manera en la balanza ya mencionada, después de un periodo de 48 hrs. de secado en la estufa a 60°C .

Evaluación de respuestas fisiológicas

Contenido de nutrimentos en tejido foliar

Para este análisis se tomó tejido vegetal previamente secado en la estufa a 60° C por 24hrs, de 4 unidades experimentales por condición, para determinar la concentración de los siguientes nutrimentos: Nitrógeno total (N), Fósforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg), a través de espectrofotometría por emisión de plasma. Estos análisis fueron realizados en el Laboratorio de Nutrición Vegetal “Salvador Alcalde Blanco” (LABSAB) del Colegio de Postgraduados.

6.6.2 Evaluación de clorofilas, carotenos y nitrato reductasa

De igual manera se tomaron 4 unidades experimentales para la cuantificación de clorofilas y carotenos, por el método de Harborne modificado (tomado de Gutiérrez *et al.*, 1995) para ambos casos, el procedimiento fue el siguiente:

Se cortó la sexta hoja de la planta y se maceró en 10ml de acetona al 80%, agregando un poco de carbonato de calcio. La mezcla se centrifugó a 3000 rpm por 5 minutos hasta que se compactó el “pellet” en el fondo del tubo, y así tomar libremente el sobrenadante; este se llevó a volumen conocido, las muestras se mantuvieron siempre bajo hielo para evitar la oxidación y realizar adecuadamente las lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro a 645 y 663 nm para las clorofilas y a 470 nm para carotenos. Se utilizó un blanco de acetona al 80%.

Las clorofilas α , β y totales se calcularon de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Clorofila } \alpha = 12.7 (\text{absorbancia } 663\text{nm}) - 2.69 (\text{absorbancia } 645\text{nm}) = \text{mg/l}$$

$$\text{Clorofila } \beta = 22.9 (\text{absorbancia } 645\text{nm}) - 4.68 (\text{absorbancia } 663\text{nm}) = \text{mg/l}$$

$$\text{Clorofila total} = 8.02 (\text{absorbancia } 663\text{nm}) + 20.2 (\text{absorbancia } 645\text{nm}) = \text{mg/l}$$

Paralelamente, se evaluó la actividad de la enzima nitrato reductasa total extractable (NR), mediante el método propuesto por Foyer *et al.* (1998). Se tomaron las hojas frescas de 4 plantas por tratamiento y se maceraron con buffer de extracción, consistente en 50 mMops-KOH de pH 7.8, 5 mMNaF, 1 μ M Na₂MoO₄, 10 μ M FAD, 1 μ Mleupeptin, 1 μ Mmicrocystin, 0.2 g de PVP g⁻¹ de tejido fresco, 2 mM mercaptoetanol y 5 mM EDTA. Posteriormente el extracto se centrifugo a 12 000 rpm por 15 minutos, se tomó una alícuota de 200 μ L del extracto a la cual se adicionaron 200 μ L de la mezcla de reacción (50 mMops-KOH buffer pH 7.5, 1 mMNaF, 10 mM KNO₃, 0.17 mM NADH y 5 mM EDTA). La reacción se terminó después de 15 minutos con la adición de 200 μ L de sulfanilamida (1% [w/v] en 3 N HCl) y 200 μ L de naphthylethylendiaminadihydrochloride (0.02% [w/v]), y se tomaron lecturas de absorbancia a 540 nm en espectrofotómetro (Hewlett Packard HP 8453). La actividad nitrato reductasa fue expresada en micromoles de NaNO₂ por gramo de tejido fresco (μ M NaNO₂ g⁻¹).

Colonización radical

El porcentaje de colonización micorrízica, se evaluó en raíces de cuatro plantas de cada tratamiento y de cada especie. Para teñir las raíces se empleó la técnica de tinción vital, la cual revela la actividad fosfatasa alcalina del hongo (Tisserant *et al.* 1993). Las raíces fueron expuestas durante una noche a una solución buffer de 0.05 M Tris/ácido cítrico pH 9.2, con 15 unidades de celulasa mL⁻¹ y 15 unidades de pectinasa mL⁻¹. Posteriormente se colocaron en el medio de reacción consistente de 0.05 M Tris ácido cítrico pH 9.2; 1 mg·mL⁻¹ de sales de azul rápido RR; 1 mg·mL⁻¹ α -naftilfosfato; 0.5 mg·mL⁻¹ MgCl₂, y 0.8 mg·mL⁻¹ MnCl₂·4H₂O, durante 16 h.

Las raíces fueron evaluadas para estimar el porcentaje de colonización mediante microscopio óptico (objetivo de 40x), se cuantificó la frecuencia de hifas, vesículas y arbusculos, expresado en porcentaje. Además, se estimó la respuesta de las plantas a la inoculación micorrízica a través del índice de dependencia micorrízica (IDM) de acuerdo a la ecuación de Planchette *et al.*, 1983, con base en el peso seco de la biomasa que se calculó previamente.

$$\text{IDM} = (\text{Ps (+M)} - \text{Ps (-M)})/\text{Ps (+M)}$$

Ps = peso seco

+M = planta micorrizada

-M = planta no micorrizada

Análisis estadístico

Para determinar si había diferencias en los tratamientos de inoculación sobre las especies vegetales, los datos de cada variable se analizaron con una ANOVA de dos factores. Posteriormente cuando hubo diferencias significativas se realizó una prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$). Los análisis fueron realizados con el programa InfoStat/E 2011 (StatSoft 2011).

RESULTADOS

Densidad e identificación de esporas

La densidad de esporas de los sitios de procedencia del inculo fue cuantificada para cada uno de los sitios obteniendo los siguientes valores promedio, para González 341 esporas, en comparación con Rincón con 114 esporas, contenidas en 100 g de suelo para ambos casos (Fig. 5).

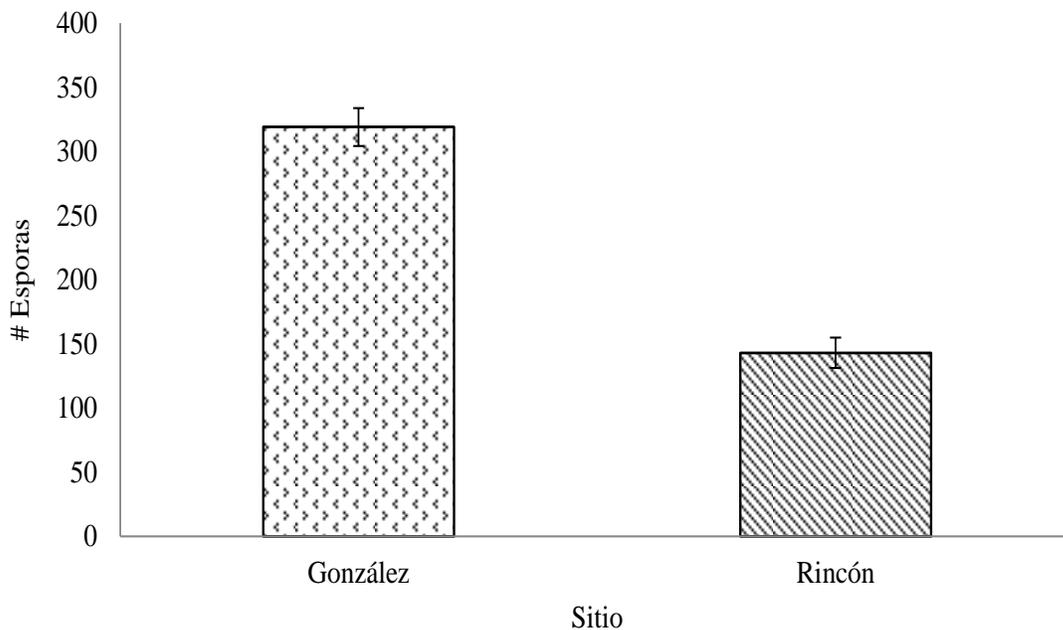


Figura 5. Número de esporas contenidas en 100g de suelo utilizados como inculo, de las diferentes procedencias Rincón (conservado) y González (perturbado).

Se identificaron las morfoespecies de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) para cada sitio de muestreo, obteniendo un total de 15 diferentes morfoespecies para González y 21 para Rincón. (Cuadro 1, Fig. 6).

Cuadro 1. Listado de las morfoespecies de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) identificadas en dos matorrales xerófilos del Valle del Mezquital, Hidalgo, México.

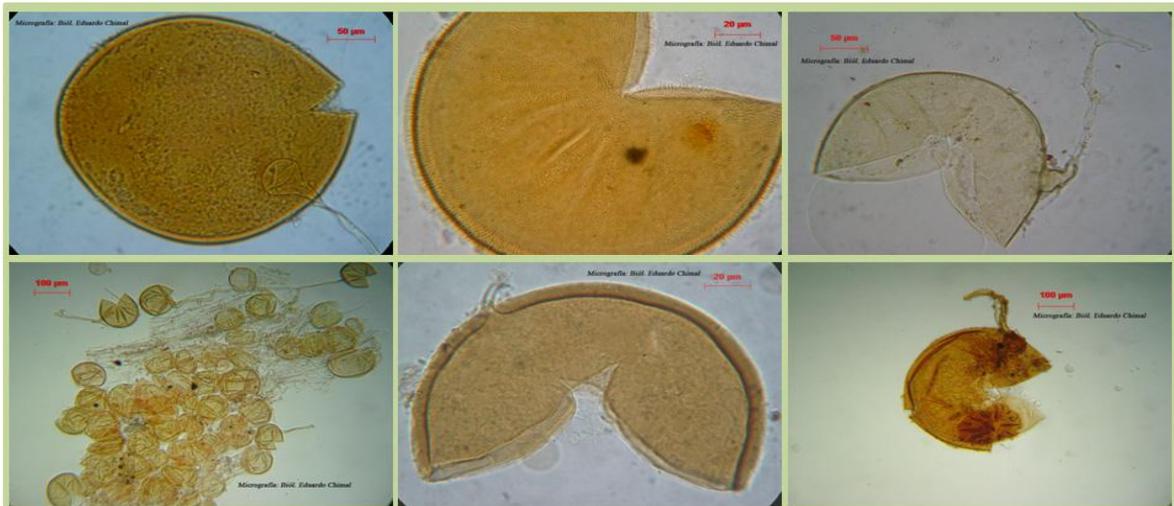
Especie HMA*/ Matorral	González	Rincón
<i>Acaulospora laevis</i>		X
<i>Acaulospora aff. mellea</i>	X	X
<i>Acaulospora spinosa</i>		X
<i>Ambispora appendicula</i>	X	X
<i>Ambispora sp1</i>	X	
<i>Claroideoglosum aff. claroideum</i>	X	X
<i>Claroideoglosum etunicatum</i>	X	X
<i>Entrophospora infrequens</i>	X	X
<i>Funneliformis geosporum</i>	X	X
<i>Funneliformis mosseae</i>	X	X
<i>Gigaspora ramisporophora</i>	X	X
<i>Glomus aggregatum</i>		X
<i>Glomus caesaris</i>		X
<i>Glomus globiferum</i>	X	
<i>Glomus tortuosum</i>		X
<i>Pacispora scintillans</i>	X	X
<i>Pacispora sp1</i>	X	X
<i>Racocetra fulgida</i>		X
<i>Racocetra gregaria</i>		X
<i>Rhizophagus intraradices</i>	X	
<i>Sclerocystis rubiformis</i>		X
<i>Sclerocystis sinuosa</i>		X
<i>Scutellospora calospora</i>	X	
<i>Scutellospora pellucida</i>		X
<i>Scutellospora scutata</i>	X	X
Morfoespecies totales	15	21

* La identificación taxonómica se sustentó en las descripciones especializadas de los diferentes géneros y especies de HMA que actualmente se encuentran disponibles en el International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) disponible a través de internet en el sitio web: <http://invam.caf.wvu.edu/> y del sitio <http://www.lrz-muenchen.de/~schuessler/amphylo/>



Hongos Micorrizogenos Arbusculares de la localidad Rincón

- a) *Scutellospora pellucida* b) *Racocetra gregaria* c) *Ambispora appendicula*
 d) *Sclerocystis rubiformis* e) *Acaulospora laevis* f) *Acaulospora sp.*



Hongos Micorrizogenos Arbusculares de la localidad González

- a) *Gigaspora ramisporophora* b) *Entrophospora infrequens* c) *Funneliformis mosseae*
 d) *Rizophagus intraradices* e) *Claroideoglobus etunicatum* f) *Scutellospora scutata*

Figura 6. Morfoespecies de hongos micorrizógenos arbusculares determinadas para cada una de las localidades (Rincón y González).

Respuestas de crecimiento

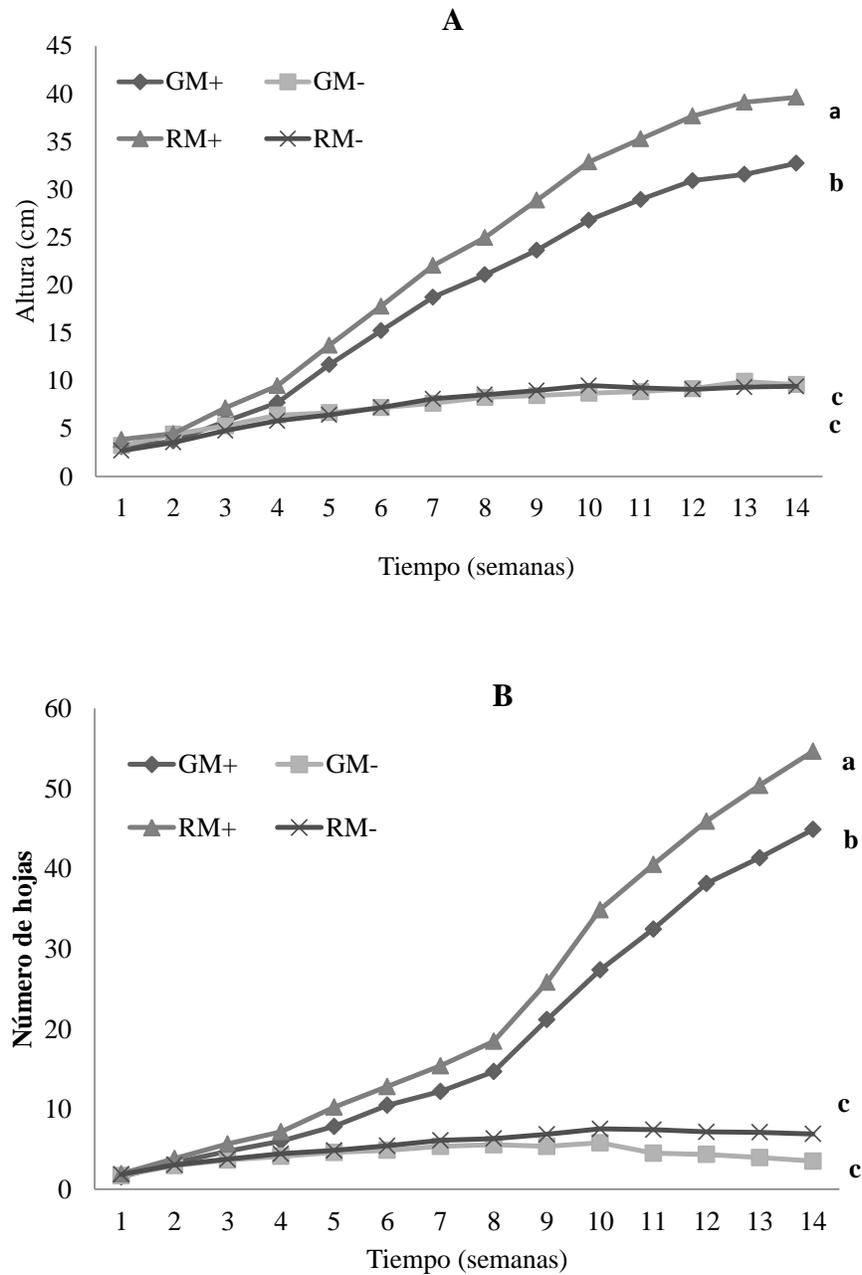


Figura 7. Dinámica de crecimiento en altura (**A**) y número de hojas (**B**) de *Mimosa biuncifera* inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inoculo de González, RM+ = inoculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero durante 90 días. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos y letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre sitios (Tukey $\alpha=0.05$), $n=20$.

El crecimiento en altura y número de hojas fue significativamente ($p \leq 0.05$) favorecido por la presencia de los HMA (Fig. 7), se muestra el crecimiento continuo en altura y número de hojas de las plantas de *Mimosa biuncifera*, durante 90 días, donde se aprecia que las plantas inoculadas con los HMA (RM+ y GM+) presentan mayor crecimiento y número de hojas en comparación con su contraparte sin micorriza (RM- y GM-), en cuanto a la procedencia de los HMA en la variable altura no se encontró diferencia significativa, contrario a esto en el número de hojas sí se observa una diferencia significativa ($p \leq 0.05$), teniendo que, los HMA provenientes de Rincón (RM+) promovieron mayor crecimiento y número de hojas que los HMA provenientes de González (GM+). La inoculación de HMA no tuvo efectos significativos ($p \leq 0.05$) en la TRC (Fig. 8) entre los tratamientos micorrizados (RM+ y GM+), pero sí con sus respectivos tratamientos testigos (RM- y GM-).

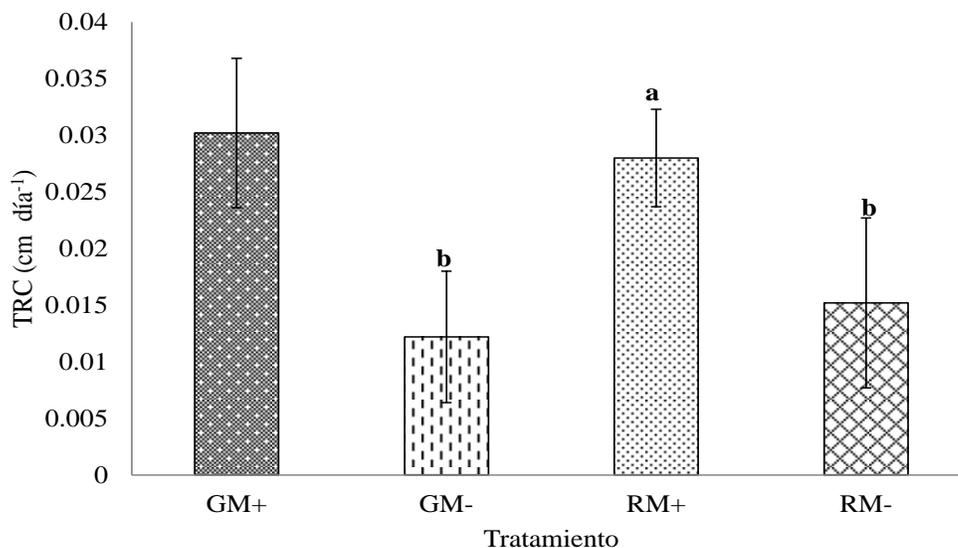


Figura 8. Tasa relativa de crecimiento (TRC cm día⁻¹) de *Mimosa biuncifera* inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inoculo de González, RM+ = inoculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero durante 90 días. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey $\alpha=0.05$), n=20.

Cuadro 2. Biomasa total, área foliar, y relación raíz/vástago en plántulas de *Mimosa biuncifera* inoculadas con dos tratamientos que difieren en la procedencia de los HMA, en condiciones de invernadero para la semana 14 (90 días) n=4 para cada tratamiento.

Tratamiento	Biomasa total (g)	Área foliar (cm ²)	Raíz/vástago (g g ⁻¹)	TRC (cm día ⁻¹)
GM+	0.79 ± 0.06 b	212.57 ± 6.35 a	0.52 ± 0.44 a	0.03 ± 0.006 a
GM-	0.40 ± 0.14 bc	9.67 ± 1.84 c	0.11 ± 0.14 a	0.01 ± 0.005 b
RM+	1.91 ± 0.37 a	118.07 ± 6.84 b	0.39 ± 0.13 a	0.03 ± 0.004 a
RM-	0.14 ± 0.06 c	19.57 ± 6.35 c	1.61 ± 1.33 a	0.02 ± 0.007 b

*Tratamiento: GM+ = con inóculo de González micorrizado, RM+ = con inóculo de Rincón micorrizado y los tratamientos testigo (GM- y RM-) Medias con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes entre tratamientos (Tukey $\alpha \leq 0.05$), n = 4. Valor después del promedio indica la desviación estándar.

En la Figura 9, podemos observar el efecto de la micorriza sobre la biomasa total en la plantas de *Mimosa biuncifera*, presentan diferencias estadísticas entre el tratamiento micorrizado de Rincón (RM+) y su testigo no micorrizado (RM-), los tratamientos del sitio González (GM+ y GM-) no presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$), pero si se observa diferencia estadística entre sitios.

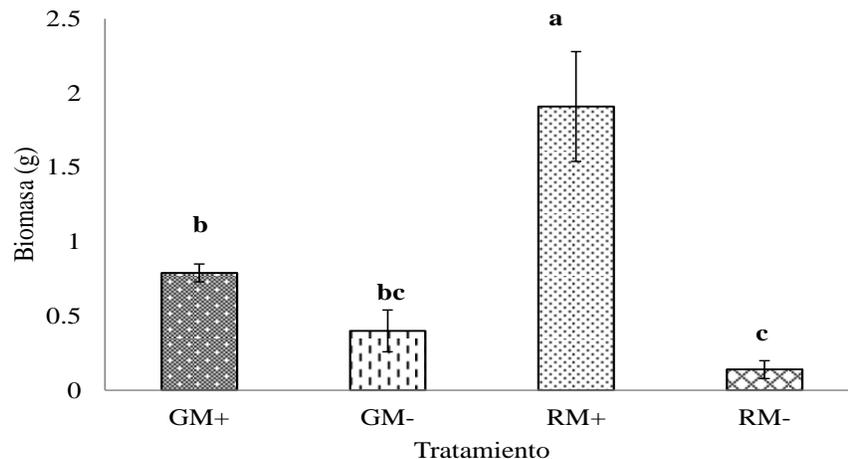


Figura 9. Biomasa total (g) de *Mimosa biuncifera* inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inóculo de González, RM+ = inóculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos y letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre sitios (Tukey $\alpha = 0.05$), n=20.

Respuestas fisiológicas

Nutrientes en tejido foliar

Para los nutrientes se presentan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos en la concentración de P, K, Ca y Mg. En el caso de N (Fig. 10) no hubo diferencias ($p > 0.05$) entre los tratamiento micorrizados (RM+ y GM+) y los no micorrizados (RM- y GM-), pero si hubo diferencias entre tratamientos micorrizados y no micorrizados.

Para el P (Fig. 11), la mayor concentración se obtuvo en los tratamientos del sitio Rincón tanto micorrizado como no micorrizado, y presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con los tratamientos del sitio González (GM+ y GM-).

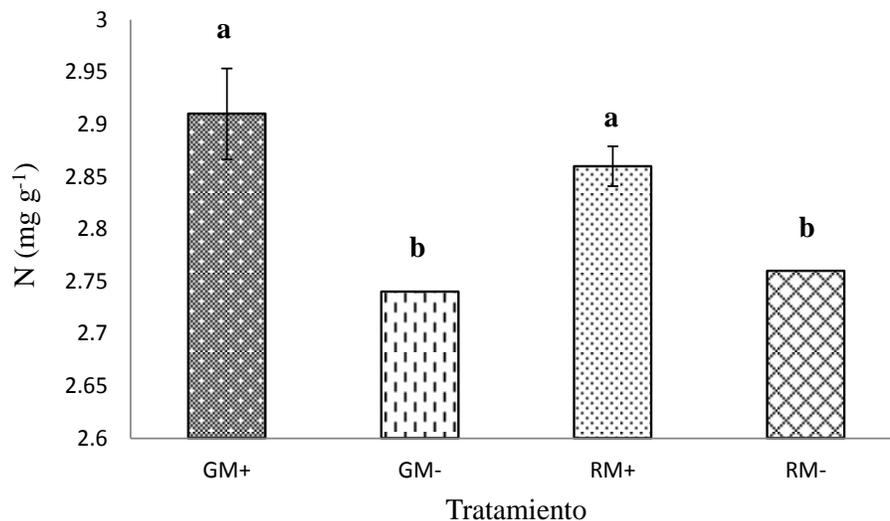


Figura 10. Concentraciones promedio de Nitrógeno (N), en tejido foliar de las plantas de *Mimosa biuncifera*, inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inóculo de González, RM+ = inóculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos y letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre sitios (Tukey $\alpha=0.05$), $n=20$.

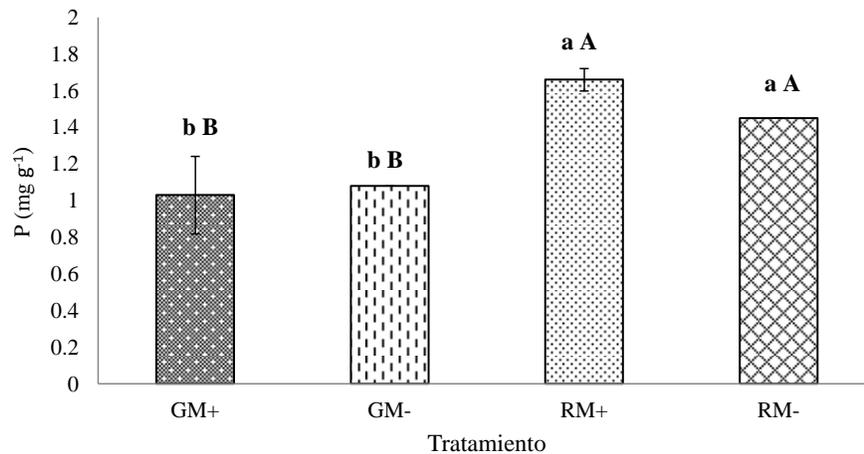


Figura 11. Concentraciones promedio de Fosforo (F), en tejido foliar de las plantas de *Mimosa biuncifera*, inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inoculo de González, RM+ = inoculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos y letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre sitios (Tukey $\alpha=0.05$), n=20.

La concentración de nutrimentos está dada en gramos del nutrimento por gramo de tejido foliar seco, en cuanto al nitrógeno, se pueden observar diferencias en ambos tratamientos micorrizados y no-micorrizados estos últimos presentaron menor contenido foliar de N, en cuanto a los sitios de procedencia también podemos apreciar una diferencia no tan marcada en la concentración del nutrimento, teniendo a GM- con el valor más bajo de todos. En el caso del P, se obtuvieron valores más altos en Rincón para ambos tratamiento micorrizados (M+) y no-micorrizados (M-), en comparación de González donde se obtuvieron los valores más pequeños, la diferencia entre tratamientos de este sitio es mínima, en comparación de Rincón donde se aprecia que el tratamiento M+ contiene una mayor concentración de P.

Para el caso de K, Ca y Mg (Fig. 12, 13 y 14), las plantas del tratamiento no micorrizado (RM- y GM-), tuvieron mayor concentración que los tratamientos micorrizados (RM+ y GM+), para el K (Fig. 12) se observa que el tratamiento GM+ es significativamente diferente de RM+ y RM-, y este último a su vez es diferente de GM-. El Ca (Fig. 13) presenta diferencias estadísticas entre los tratamientos micorrizados (RM+ y GM+) y los no micorrizados (RM- y GM-) y el Mg (Fig. 14) muestra diferencias significativas entre todos los tratamientos, micorrizados (RM+ y GM+) y no micorrizados (RM- y GM-) y entre ellos.

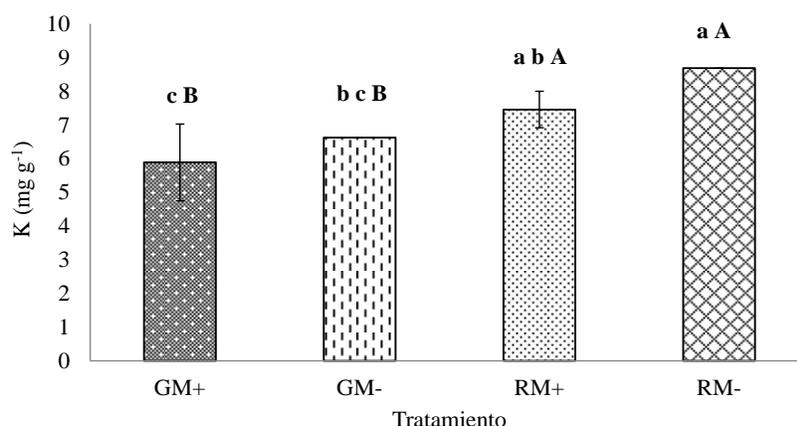


Figura 12. Concentraciones promedio de Potasio (K), en tejido foliar de las plantas de *Mimosa biuncifera*, inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inoculo de González, RM+ = inoculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos y letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre sitios (Tukey $\alpha=0.05$), $n=20$.

Para el K se encontró que Rincón contiene los valores más altos de concentración de este nutriente, teniendo a los tratamientos no micorrizados (M-) con mayor cantidad que los (M+) para ambos sitios. El calcio y el magnesio, para ambos casos se pudo observar diferencias entre tratamientos, donde los testigos no-micorrizados (M-) presentan las concentraciones más altas de ambos nutrientes, en comparación con los tratamientos micorrizados (M+), en cuanto a los sitios González contiene mayor concentración en los testigos (sin micorrizar) y Rincón en los micorrizados.

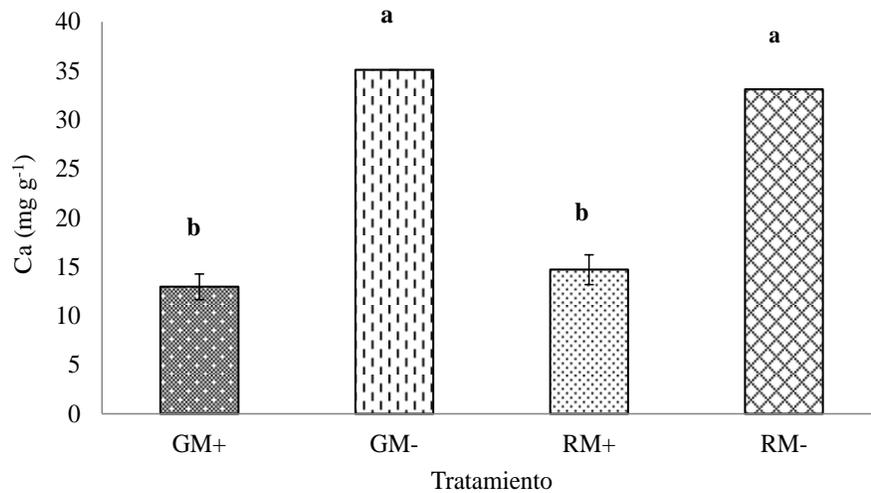


Figura 13. Concentraciones promedio de Calcio (Ca), en tejido foliar de las plantas de *Mimosa biuncifera*, inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inoculo de González, RM+ = inoculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey $\alpha=0.05$), n=20.

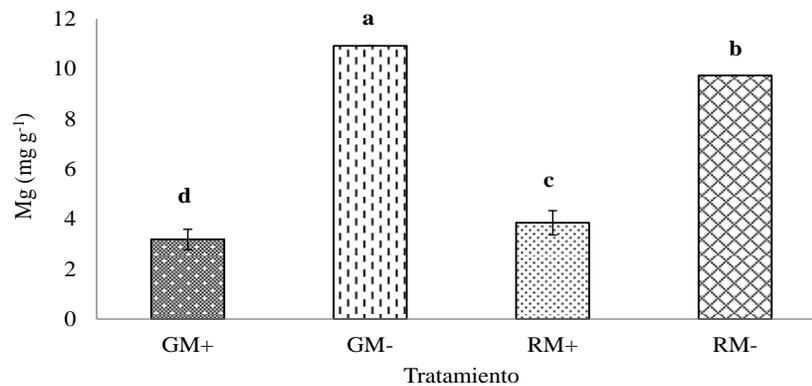


Figura 14. Concentraciones promedio de Magnesio (Mg), en tejido foliar de las plantas de *Mimosa biuncifera*, inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inoculo de González, RM+ = inoculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey $\alpha=0.05$), n=20.

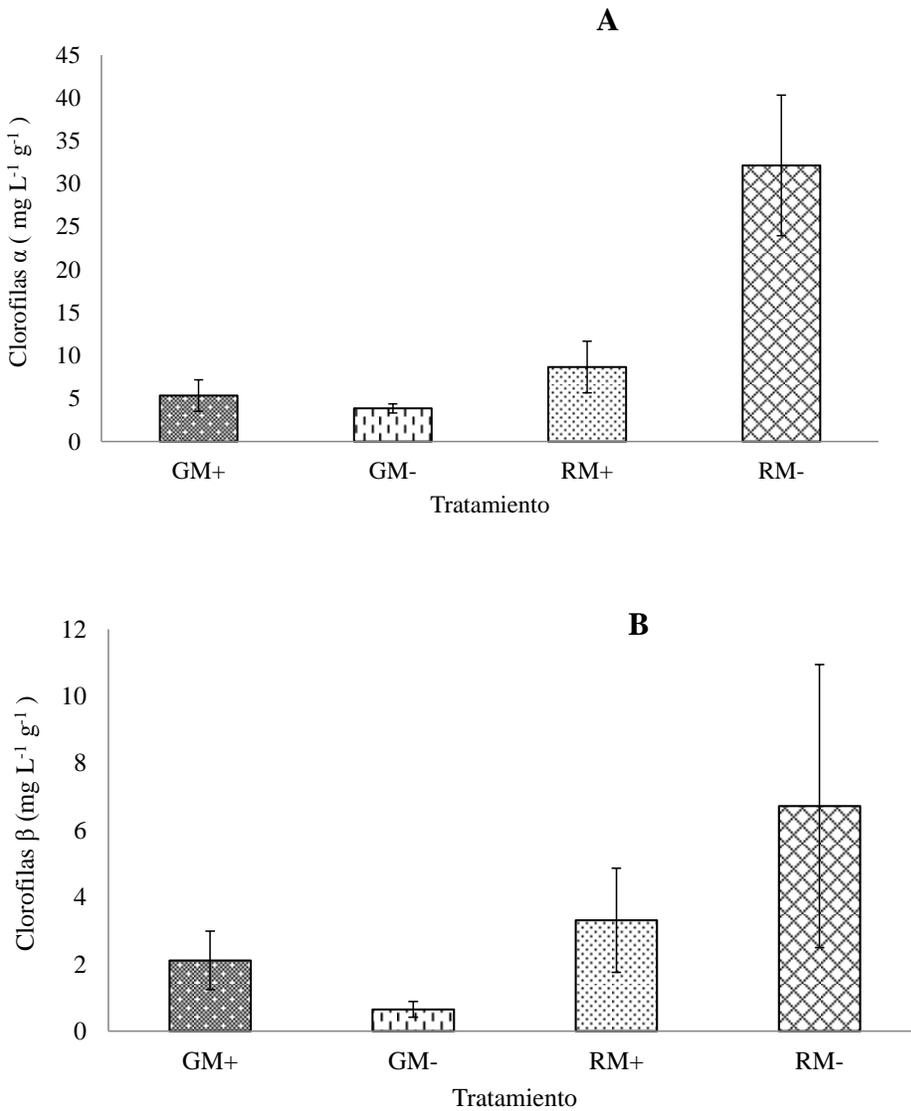
Concentración de clorofilas, carotenos y nitrato reductasa

Figura 15. Concentraciones promedio de Clorofilas α (A) y β (B), en tejido foliar de las plantas de *Mimosa biuncifera*, inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inoculo de González, RM+ = inoculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero. n=4.

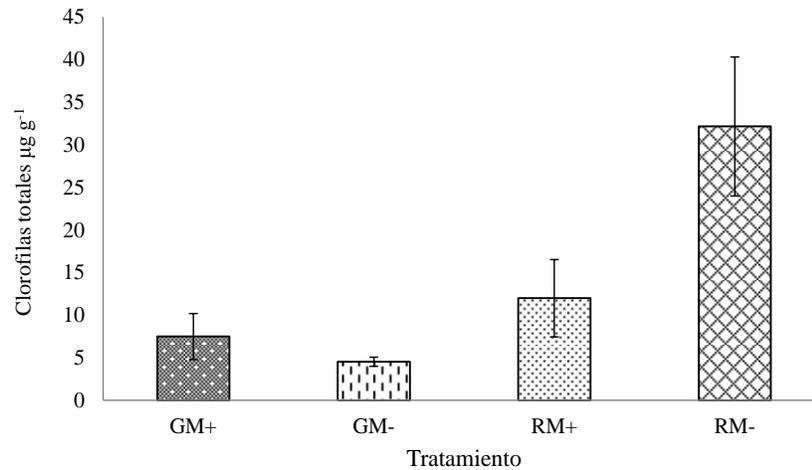


Figura 16. Concentraciones promedio de clorofilas totales, en tejido foliar de las plantas de *Mimosa biuncifera*, inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inoculo de González, RM+ = inoculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero. n=4.

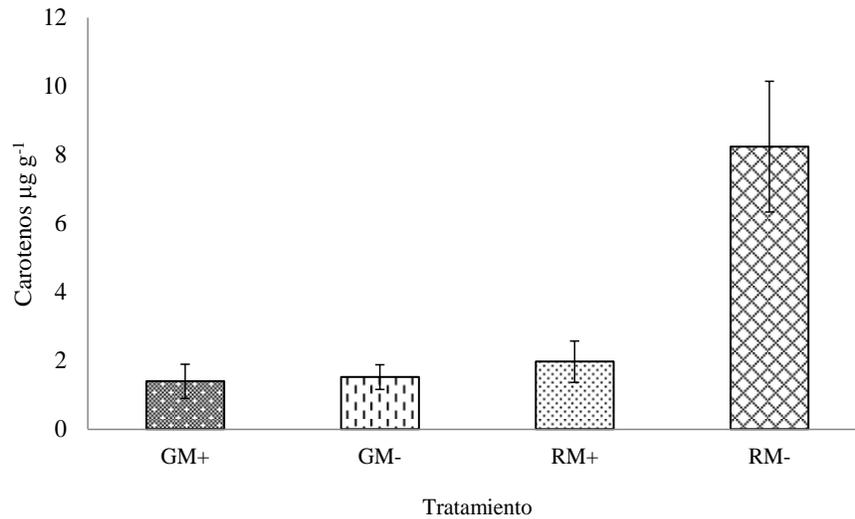


Figura 17. Concentraciones promedio de Carotenos, en tejido foliar de las plantas de *Mimosa biuncifera* inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inoculo de González, RM+ = inoculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos y letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre sitios (Tukey $\alpha=0.05$), n=4.

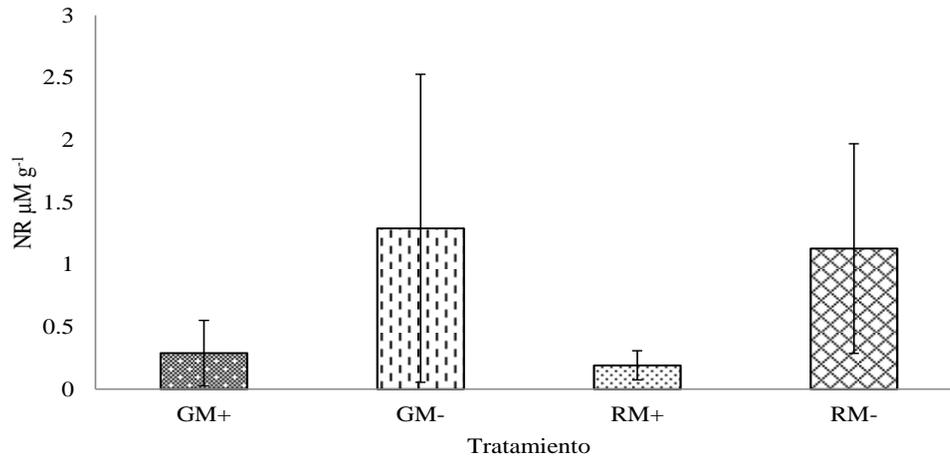


Figura 18. Concentraciones promedio de nitrato reductasa NR en tejido foliar de las plantas de *Mimosa biuncifera*, inoculada con los HMA de dos matorrales. GM+ = inoculo de González, RM+ = inoculo de Rincón y los testigos (GM- y RM-), bajo condiciones de invernadero, n=4.

Las concentraciones de clorofilas α , β , totales y carotenos (Fig 15, 16 y 17), no presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en ninguno de los casos, pero el tratamiento RM- mostro las concentraciones mas altas, de igual forma para la concentracion de nitrato reductasa (Fig 18), no mostro diferencias significativas entre ningun tratamiento y los correspondientes a no-micorrizados mostraron las concentraciones mas altas.

Colonización radical e índice de dependencia micorrizica (IDM)

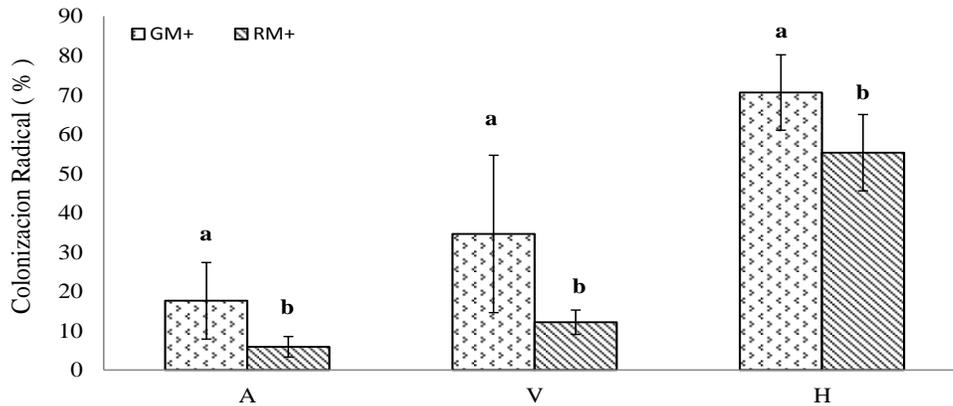


Figura 19. Fracción de la colonización micorrizica en raíces de *Mimosa biuncifera* inoculada con dos tratamientos que difieren en la procedencia de los HMA GM+ = inoculo de González micorrizado, RM+ = inoculo de Rincón micorrizado, y los tratamientos testigos (GM- y RM-) al termino de 90 días de crecimiento bajo condiciones de invernadero. Letras diferentes indican diferencias estadísticas (Tukey $\alpha=0.05$), n=4.

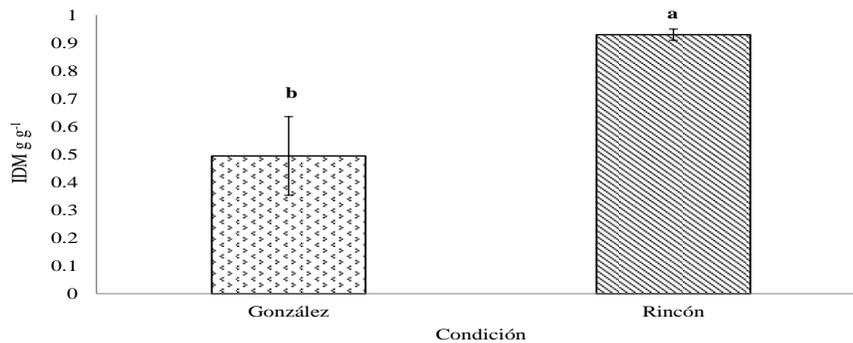


Figura 20. Porcentaje de dependencia micorrízica en *Mimosa biuncifera* inoculada con dos tratamientos que difieren en la procedencia de los HMA GM+ = inoculo de González micorrizado, RM+ = inoculo de Rincón micorrizado, y los tratamientos testigos (GM- y RM-) al termino de 14 semanas (90 días) de crecimiento bajo condiciones de invernadero. Letras diferentes indican diferencias estadísticas (Tukey $\alpha=0.05$), n=4.

DISCUSIÓN

El crecimiento y nutrición foliar en *M. biuncifera* como respuesta a la inoculación con HMA procedentes de dos matorrales con diferente grado de perturbación y por lo mismo con diferente riqueza de HMA y densidad de esporas, permitió discutir la hipótesis de que los sitios con mayor diversidad de HMA generan mejor respuesta en el crecimiento vegetal, y en efecto, la presencia de la micorriza sobre el crecimiento fue notorio con respecto a sus testigos no micorrizados en ambos matorrales Rincón y González, al comparar los sitios, las diferencias fueron significativas ($p \leq 0.05$) entre ellos, fue RM+ quién produjo mayor crecimiento tanto en altura como en número de hojas de *M. biuncifera*, en cuanto a la TRC no presento diferencias significativas entre el origen de los HMA, pero si entre estos y sus respectivos testigos (RM- y GM-).

El aumento en biomasa y las variables que de ella derivan como la relación raíz parte aérea (RRV), varió cuantitativamente en función de la procedencia de los HMA, teniendo que las plantas inoculadas con HMA provenientes del matorral conservado (Rincón) tuvieron valores más altos de biomasa que los del matorral perturbado (González). La relación RRV fue menor en las plantas micorrizadas en el caso de Rincón, lo que muestra la tendencia a reducir la raíz debido a la presencia de hifas extra-radicales que complementan la función de la raíz, contrastando con las plantas sin micorriza cuyos valores de RRV fueron más altos. Sin embargo, los valores de RRV obtenidos en las plantas micorrizadas fueron bajos en comparación a lo reportado por Bethlenfalvay y Dakessian (1984) o Aerts y Chapin (2000) quienes para especies arbustivas silvestres reportan valores más altos de RRV y a lo reportado por Monroy-Ata y García-Sánchez (2009) para las mismas especies vegetales, pero con HMA procedentes de matorrales deteriorados.

Uno de los beneficios más importantes de la micorriza en las plantas es el incremento en la eficiencia para la absorción de nutrimentos especialmente fósforo (Treseder y Allen 2002, Smith y Read 2008), lo que mejora significativamente el estado nutricional de las plantas. El efecto de la inoculación en la fase de establecimiento de las plántulas de *M. biuncifera* se reflejó en mayor concentración de fósforo foliar en comparación con los testigos esta vario de acuerdo a la procedencia de los HMA. Lo anterior concuerda con Green *et al.* (1998) quienes indican que este

efecto es una importante respuesta producida por los micosimbiontes a nivel foliar en las plantas, ya que favorecen la fotosíntesis y actúa en el metabolismo de las plantas en forma de ATP.

Las plantas inoculadas con los HMA del tratamiento RM+ tuvieron mayor concentración de fósforo, pero en nitrógeno la mejor respuesta ocurrió con el tratamiento GM+, mostró respuestas diferentes debidas a la procedencia de los HMA; sin embargo, estas respuestas no fueron constantes hacia una procedencia particular, lo que sugiere que tal vez, las respuestas se deban a algunas de las especies de HMA compartidas entre las procedencias; además, las distintas especies de los HMA pueden estar desempeñando funciones diferentes en la nutrición de la planta, tal como lo han propuesto Kiers *et al.* (2000) y Burrows y Pflieger (2002).

Las concentraciones de Ca y Mg fueron mayores en las plantas no micorrizadas, sugiriendo que los HMA, de cualquiera de las procedencias evaluadas, no fueron eficientes en la translocación de estos dos elementos, de manera contraria a lo que sugiere la mayoría de la literatura que menciona que la micorriza favorece la absorción de Ca y Mg (Johnson *et al.* 2003, Smith y Read 2008). El calcio es esencial en la división celular y en el funcionamiento de la membrana celular, mientras que el magnesio activa las enzimas involucradas en la fotosíntesis y forma parte de la molécula de la clorofila (Taiz y Zeiger 2006). La concentración de K foliar presentó diferencias en cuanto a la procedencia de los HMA, no así con sus testigos.

Con el incremento de fósforo en el tejido foliar se estimula también la fotosíntesis, lo que puede explicar la respuesta en la concentración de clorofila total en las dos leguminosas. Las plantas inoculadas con los HMA del tratamiento RM+ presentaron mayor concentración de clorofila total que los del tratamiento GM+.

Estos resultados no muestran una tendencia en el proceso fotosintético de cada una de las plantas bajo los diferentes tratamiento, esto es que la concentración de clorofila es mayor en plantas no micorrizadas que en las micorrizadas, estos resultados no son congruentes, puesto que en investigaciones realizadas con plantas inoculadas, los parámetros de concentración de clorofilas y tasa fotosintética por regla general tienden a aumentar en comparación con las de sus testigos (Smith y Read 1997).

Los resultados, de este trabajo, muestran que la micorriza arbuscular estimula el ritmo de crecimiento de *Mimosa biuncifera* donde la procedencia de los HMA afectó a la mayoría de las variables evaluadas.

La información disponible sugiere que los HMA no son específicos en sentido estricto, pero se ha propuesto que existen respuestas diferenciales entre las especies vegetales y los HMA que las colonizan (Barea *et al.* 2002, Smith *et al.* 2004). Este tipo de respuesta se presentó con respecto a los HMA provenientes de los matorrales estudiados. Los HMA que proceden del matorral Rincón generaron las mejores respuestas en el crecimiento y fisiológicas de *M. biuncifera*, con respecto a los HMA provenientes del matorral González, lo cual correspondió con el sitio de mayor riqueza de HMA, sugiriendo que las especies de HMA de esta procedencia tuvieron mayor potencialidad para mejorar la nutrición mineral de la planta.

Los porcentajes de colonización micorrízica fueron altos para ambos matorrales para Rincón 70% y 55% para González, de igual forma Rincón presenta un índice de dependencia micorrízica mayor (0.92) que González (0.49). La dependencia micorrízica, en la etapa evaluada y en condiciones experimentales, sugieren que *Mimosa biuncifera* se comportará en los matorrales como un arbusto de crecimiento rápido y oportunista. Cada leguminosa responde de manera diferente a la micorrización, y de acuerdo con lo propuesto por Klironomos (2003) y Martínez y Pugnaire (2009) para los ecosistemas áridos, la interacción planta-HMA evaluada como el grado de dependencia micorrízica, es una forma de estimar la influencia de los HMA sobre la estructura de las poblaciones vegetales.

Los resultados sugieren que los HMA de cualquiera del matorral perturbado y conservado tienen suficiente diversidad de HMA para producir un efecto benéfico en el crecimiento de *M. biuncifera*, lo que puede deberse a la semejanza de morfoespecies de HMA que comparten los dos matorrales, asimismo, el hecho de que los HMA de las dos procedencias conserven su potencial para formar micorriza con ésta leguminosa puede ser importante para entender como esta especie conserva su densidad en la cubierta vegetal de los matorrales del Valle del Mezquital, Hgo.

CONCLUSIONES

- 1.- El matorral conservado presento 21 morfoespecies de HMA y el matorral perturbado presento 19 morfoespecies de HMA
- 2.- *Mimosa biuncifera* formo micorrizas con los HMA de las dos matorrales, la micorriza favoreció su establecimiento y crecimiento.
- 3.- La absorción de nutrimentos en las plantas micorrizadas fue mayor que en las plantas sin micorrizar y con los HMA del matorral conservado la respuesta fue mejor, aunque no se presentaron diferencias significativas hacia una procedencia, es decir la respuesta fue muy variable.
- 4.- Los matorrales conservado y perturbado aún cuentan con suficiente riqueza o densidad de esporas de HMA para inducir respuestas favorables en el crecimiento de las plantas., lo que sugiere que estos sitios son una buena fuente potencial de inóculos.

LITERATURA CITADA

- Abbot L.K. y A.D. Robson, 1991, Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas, *Agriculture ecosystems and environment*, 35:121-150.
- Aerts R. y F.S. Chapin III, 2000, The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns, *Advanced Ecological Research*, 30:1-67.
- Alarcón A., Ferrera-Cerrato, R., 1999, Manejo de las micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas, *Terra*, Vol. 17 No. 3, México, pp. 179-191.
- Allen M. F., 1991, *The Ecology of Mycorrhizae*, University Press, Cambridge.
- Allsopp N. y W. D. Stock, 1994, Mycorrhizas, seed size and seedling establishment in a low nutrient environment, *En: Read, D.J., D.H Lewis, A.H. Fitter y I.J. Alexander (eds.), Mycorrhizas in ecosystems*, CAB International, pp. 59-65.
- Barea J.M., R. Azcon-Aguilar y C. Azcon-Aguilar, 2002, Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality, *Antonie van Leeuwenhoek*, 81:343-351.
- Bethlenfalvay G.J. y S. Dakessian, 1984, Grazing effects on mycorrhizal colonization and floristic composition of the vegetation on a semiarid range in Northern Nevada, *Journal of Range Management*, 37:312-316.
- Bidwel, R.G.S., 1979, *Fisiología Vegetal*, Ed. AGT editor, Mex., D.F.
- Burrows R.L. y F.L. Pflieger, 2002, Arbuscularmycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity, *Canadian Journal of Botany*, 80:120-130.
- Brundrett M.C., 1991, Mycorrhizae in natural ecosystems, *Advances in ecological research*, 21:171-313.
- Camargo Ricalde S.L., R. Grether, A. Martínez-Bernal, V. García-García y S. Barrios-del-Rosal, 2001, Especies Útiles Del Genero *Mimosa* (Fabaceae-Mimosoideae) En México, *Boletín de la Sociedad Botánica*, 68:33-44.

- Carey P. y A. Watkinson, 1992, A field study using the fungicide benomil to investigate the effect of mycorrhizal fungi on plant of fitness, *Journal of ecology*, 90:550-555.
- Charles-Edwards D. A., D. Doley y G.M. Rammington, 1986, Modeling plant growth and development, Academic Press, Marrickville, Sydney, pp. 14-16.
- Challenger A., 1998, Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. Pasado, presente y futuro, CONABIO, Instituto de Biología, UNAM, Agrupación Sierra Madre, A.C., México, pp. 847.
- Dakessian S., M.S. Brown y G.J. Bethlenfalvay, 1986, Relationship of mycorrhizal growth enhancement and plant growth with soil water and texture, *Plant soil*, 94:439-443.
- Dekkers, T.B.M. y P.A. Van Der Werff, 2001, Mutualistic functioning of indigenous arbuscularmycorrhizae in spring barley and winter wheat after cessation of long-term phosphate fertilization, *Mycorrhiza*, 10: 185-201.
- De-la-Rosa-Mera C. y A. Monroy-Ata, 2006, Mosaicos de vegetación para la restauración ecológica en una zona semiárida, *Revista especializada en ciencias Químico-Biológicas, Nota científica, México*, 9(2):96-100.
- Di Rienzo J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. González, M. Tablada, C.W. Robledo, InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Enkerlin C., G. Cano, A. Garza y E. Vogel, 1997, *Ciencia ambiental y desarrollo sostenible*, Internacional Thompson Editores, México, 690 pp.
- Finlay R. D., 2008, Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium, *Journal of Experimental Botany*, 59: 1115-1126.
- Fisher JB, K. Jayachandran, 2002, ArbuscularMycorrhizal Fungi Enhance Seedling Growth in Two Endangered Plant Species from South Florida, *International Journal of Plant Science*, 163: 559-566.

- Foyer C.H., M.H. Valadier, A. Migge y T.W. Becker, 1998, Drought-induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves, *Journal of Plant Physiology*, 117: 283-254.
- García E., 1978, Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, 2ª Ed., Instituto de geografía, UNAM, México.
- Gerdeman J.W., 1968, Vesicular-arbuscularmycorrhizal and plant growth, *Annual Review of Phytopathology* , 6:397-418.
- Green C.D., A. Stodolay R.M. Augé, 1998, Transpiration of detached leaves from mycorrhizal and nonmycorrhizal cowpea and rose plants given varying abscisic acid, pH, calcium and phosphorus, *Mycorrhiza* 8:93-99.
- González M.F.; A. Monroy-Atta, A.E. García, A.M. Orozco, 2005, Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en el desarrollo de plántulas de *Opuntia streptacantha* Lem. Sometidas a sequía, en condiciones de invernadero, *Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 8:5-10.
- Gutiérrez R.M., C.R. San Miguel, S.T. Nava, S.A. Larqué, 1995, *Métodos Avanzados En Fisiología Vegetal Experimental*, Ed. Talleres Gráficos del Colegio de Posgraduados, Edo. México.
- Guevara O.M., 2009, *Especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y su influencia en la tolerancia y bioacumulación de sales en Portulacaoleracea l. y Beta vulgaris var. cicla l.* tesis de licenciatura en biología. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México.
- Harborne J.B., 1998, *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and Hall, London UK.
- Harley J. y S. Smith, 1983, *Mycorrhizal symbiosis*, Academic Press, Londres, Gran Bretaña. pp. 483.
- Hewitt E. J., 1966, *Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition*, Tech. Commun, 22. Common wealth Agricultural Bureau, Farnham, United Kingdom. Pp: 187-246.

- Heady F., 1980, Características de las tierras áridas, sus recursos y su uso, *En*: Hernández C.L., C.S. Argüero, G.P. Chávez, M.Y. Orea, R.M.A. Romero y S.I. Gallén, 2003, Hongos Micorrízicos del Pedregal de San Ángel, Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Hooper P.V. y P.M. Vitousek, 1997, The effects of plant composition and diversity on ecosystems processes, *Science*, 277:1302-1305.
- Huenneke L. y I. Noble, 1996, Ecosystem Function of Biodiversity in Arid Ecosystems, *En*: Functional Roles of Biodiversity: a Global Perspective, Mooney, H., Cushman, J., Medina, Salas, O. y Schulze, E. (Eds.), SCOPE, Inglaterra, pp. 99-127.
- Jasper D. A., L. K. Abbott y A.D. Robson, 1989, Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of VA Mycorrhizal fungi, *New Phytol*, 112: 93-99.
- Johnson N.C., D.L. Rowland, L. Corkidi, L.M. Egerton-Warburton y E.B. Allen, 2003, Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semiarid grasslands. *Ecology* 84:1895-1908.
- Kiers E.T., C.E. Lovelock, E.L. Krueger y E.A. Herre, 2000, Differential effects of tropical arbuscularmycorrhizal fungal inocula on root colonization and tree seedling growth: implications for tropical forest diversity. *Ecology Letters* 3:106-113.
- Klironomos J.N., 2003, Variation in plant response to native and exotic arbuscularmycorrhizal fungi, *Ecology* 84:2292-2301.
- Martínez L.B. y F.I. Pugnaire, 2009, Interacciones entre comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Ecosistemas*, 18:44-54.
- Montaño-Arias N. y A. Monroy-Ata, 2000, conservación ecológica de suelos en zonas áridas y semiáridas en México, *Ciencia y Desarrollo*, (154):26-37.
- Monroy-Ata A. y R. García-Sánchez, 2009, Los hongos micorrizógenos arbusculares en prácticas de restauración de vegetación semiárida, pp. 11-23 *En*: Monroy-Ata A y R. García-

- Sánchez (Eds.). Plantas y hongos: micorrizas arbusculares un mutualismo esencial en las zonas semiáridas. FES Zaragoza UNAM.
- Olalde, P.V., 1997, Fisiología De Plantas Micorrizadas. P. 51 *En*: Memorias del VI Congreso Nacional de Micología/IX Jornadas Científicas Tapachula, Chiapas.
- Plenchette C, J.A. Fortiny V. Furlan, 1983, Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhiza dependency under field conditions. *Plant and Soil* 70:199-209.
- Rezedowski, J., 1994, Vegetación en México, Limusa Noriega Ediciones. México, 432 pp.
- Sánchez-Colín M.J., 2005, Micorrizas. Aspectos Generales, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, pp. 160.
- Sánchez-Sánchez O., 1978, La flora del Valle de México. Editorial D.F.
- Schulze E.D. y H.A. Mooney, 1993, Biodiversity and ecosystem function, Berlin, Springer.
- Sieverding E., 1991, Vesicular-arbuscularmycorrhizal management in tropical agrosystems, Deutsche Gesellschaft Editors, Berlin.
- Skujins, J., 1991, Semiarid lands and deserts, Soil resource and reclamation, Dekker, M., Inc., USA, 668 pp.
- Smith S. y D.A. Read, 1997, Mycorrhizal symbiosis. Academic Press. Gran Bretaña.
- Smith S.E., F.A. Smith y I. Jakobsen, 2004, Functional diversity in arbuscularmycorrhizal (AM) symbioses: The contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake, *New Phytologist* 162:511-524.
- Smith S.E. y D.I. Read, 2008, Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, San Diego, USA.
- Sylvia D.M. y S.E. Williams, 1992, Vesicular arbuscular mycorrhizae and environmental stress, pp. 101-124, *En*: Bethlenfalvay G.J. y R.G. Linderman (Eds.) Mycorrhizae in sustainable agriculture. Special publication, 64:101-124.

- Taiz L. y E. Zeiger, 2006, *Plant physiology*, Sinauer associates Inc. Berlín, Alemania.
- Tilman D., D. Wedin y J. Knopps, 1996, Productivity and sustentability influenced by biodiversity in grassland ecosystem, *Nature* 379: 718-720.
- Tisserant B., V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi, y A. Gollotte, 1993, *En: plant histochemical staining of fungal alkaline phosphatase activity for analysis of efficient arbuscularmycorrhizal infections*. *Mycological Research* 97: 245-250.
- Trejo A.D. y R. Ferrera-Cerrato, 1997, Ecología de la endomicorriza arbuscular en diferentes agroecosistemas productores de café, P 52, *En: Memorias del IV congreso nacional de micología / IX Jornadas científicas*, Tapachula, Chiapas.
- Trejo A.D., R.R. Zuleta y C.L. Lara, 2008, *Manual De Practicas Para El Estudio De La Simbiosis Micorrizógena Arbúscular*, Ed. Hidalgo 9 Universidad Veracruzana, Xalapa.
- Treseder K.K. y M.F. Allen, 2002, Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscularmycorrhizal fungi: a model and field test, *New Phytologist*, 155:507-515.
- Varela L., y A. Estrada-Torres, 1999, El papel de los microorganismos de la rizosfera y de la micorriza en la absorción de nutrimentos minerales y agua, en *ecofisiología vegetal y conservación de recursos genéticos*, Ed. Orellana R., Escamilla J.A., Larqué-Saavedra, CICY, México.
- Villa S., 1980, The Mexican deserts, *En: Arid land resource inventories: developing const-efficient methods*, Gyde, L., Caballero, M., Driscoll, R. y Bonner, W. (Eds.), United Status Department of Agriculture, and Forest service, General Technical Report WO-28, U.S.A., pp. 18-20.
- Wilcox H., 1996, *En: Plant roots: the hidden half* (eds. Y. Waisel, A. Eshel & U. Kafkafi), Marcel Dekker, Inc., 680-721, New York.

<http://www.lrz.de/~schuessler/amphylo/> consultada 13 de Mayo de 2011

<http://invam.caf.wvu.edu/> - consultada el 13 de marzo de 2011

<http://www.lrz-muenchen.de/~schuessler/amphylo/> - consultada el 17 de febrero de 2011.

ANEXOAnálisis estadístico de la variable **ALTURA****Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13562.15	3	4520.72	107.44	<0.0001
SITIO	149.15	1	149.15	3.54	0.0638
CONDICION	13413.00	2	6706.50	159.38	<0.0001
Error	2987.50	71	42.08		
Total	16549.65	74			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=2.99259

Error: 42.0774 gl: 71

SITIO	Mediasn	E.E.	
G	21.17 39	1.04	A
R	24.53 36	1.08	B

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)***Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=5.58806**

Error: 42.0774 gl: 71

CONDICION	Mediasn	E.E.	
RM-	9.42 19	1.49	A
GM-	9.60 20	1.45	A
GM+	32.74 19	1.49	B
RM+	39.65 17	1.57	C

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$)*Análisis estadístico de la variable **# de HOJAS****Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	37780.02	3	12593.34	155.43	<0.0001
SITIO	624.92	1	624.92	7.71	0.0070
CONDICION	37155.09	2	18577.55	229.29	<0.0001
Error	5752.46	71	81.02		
Total	43532.48	74			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=4.15260*Error: 81.0206 gl: 71*

SITIO	Mediasn	E.E.	
G	24.20 39	1.44	A
R	30.77 36	1.50	B

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)***Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=7.75414***Error: 81.0206 gl: 71*

CONDICION	Mediasn	E.E.	
GM-	3.50 20	2.01	A
RM-	6.89 19	2.07	A
GM+	44.89 19	2.07	B
RM+	54.65 17	2.18	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable TRC

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4.6E-03	3	1.5E-03	40.12	<0.0001
SITIO	1.4E-06	1	1.4E-06	0.04	0.8513
CONDICION	4.6E-03	2	2.3E-03	60.16	<0.0001
Error	2.7E-03	71	3.8E-05		
Total	0.01	74			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00286*Error: 0.0000 gl: 71*

SITIO	Mediasn	E.E.	
G	0.02 39	9.9E-04	A
R	0.02 36	1.0E-03	A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)***Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00533***Error: 0.0000 gl: 71*

CONDICION	Mediasn	E.E.	
GM-	0.01 20	1.4E-03	A
RM-	0.01 19	1.4E-03	A
RM+	0.03 17	1.5E-03	B
GM+	0.03 19	1.4E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **BIOMASA SECA TOTAL****Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7.36	3	2.45	57.91	<0.0001
SITIO	0.74	1	0.74	17.43	0.0013
CONDICION	6.62	2	3.31	78.16	<0.0001
Error	0.51	12	0.04		
Total	7.86	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.43197*Error: 0.0423 gl: 12*

CONDICION	Mediasn	E.E.			
RM-	0.14	4	0.10	A	
GM-	0.41	4	0.10	A	B
GM+	0.79	4	0.10		B
RM+	1.92	4	0.10		C

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)*Análisis estadístico de la variable **BIOMASA FRESCA TOTAL****Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	37.60	3	12.53	158.59	<0.0001
SITIO	2.80	1	2.80	35.45	0.0001
CONDICION	34.80	2	17.40	220.17	<0.0001
Error	0.95	12	0.08		
Total	38.54	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.59018*Error: 0.0790 gl: 12*

CONDICION	Mediasn	E.E.			
RM-	0.38	4	0.14	A	
GM-	0.70	4	0.14	A	
GM+	2.26	4	0.14		B
RM+	4.25	4	0.14		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **RRV**

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	38.89	3	12.96	2.27	0.1331
SITIO	13.64	1	13.64	2.38	0.1485
CONDICION	25.25	2	12.63	2.21	0.1527
Error	68.66	12	5.72		
Total	107.55	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=5.02202

Error: 5.7217 gl: 12

CONDICION	Mediasn	E.E.	
GM-	0.11	4	1.20 A
RM+	0.40	4	1.20 A
GM+	0.52	4	1.20 A
RM-	3.93	4	1.20 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **AF**

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	92869.22	3	30956.41	26.90	<0.0001
SITIO	2886.01	1	2886.01	2.51	0.1416
CONDICION	89983.21	2	44991.60	39.09	<0.0001
Error	12659.36	11	1150.85		
Total	105528.58	14			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=83.62550

Error: 1150.8509 gl: 11

CONDICION	Mediasn	E.E.	
GM-	9.67	4	16.96 A
RM-	19.57	4	16.96 A
RM+	118.08	4	16.96 B
GM+	212.57	3	19.59 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **N**

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.08	3	0.03	48.60	<0.0001
SITIO	7.6E-04	1	7.6E-04	1.34	0.2696
CONDICION	0.08	2	0.04	72.23	<0.0001
Error	0.01	12	5.6E-04		
Total	0.09	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.04989

Error: 0.0006 gl: 12

CONDICION	Mediasn	E.E.
GM-	2.74 4	0.01 A
RM-	2.76 4	0.01 A
RM+	2.87 4	0.01 B
GM+	2.91 4	0.01 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **P**

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1.07	3	0.36	29.28	<0.0001
SITIO	0.98	1	0.98	80.45	<0.0001
CONDICION	0.09	2	0.04	3.69	0.0564
Error	0.15	12	0.01		
Total	1.21	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.23162

Error: 0.0122 gl: 12

CONDICION	Mediasn	E.E.
GM+	1.04 4	0.06 A
GM-	1.09 4	0.06 A
RM-	1.46 4	0.06 B
RM+	1.66 4	0.06 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **K**

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	17.35	3	5.78	14.50	0.0003
SITIO	13.21	1	13.21	33.12	0.0001
CONDICION	4.14	2	2.07	5.19	0.0238
Error	4.79	12	0.40		
Total	22.13	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.32588

Error: 0.3988 gl: 12

CONDICION	Mediasn	E.E.			
GM+	5.89	4	0.32	A	
GM-	6.63	4	0.32	A	B
RM+	7.46	4	0.32		B C
RM-	8.70	4	0.32		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **Ca**

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1658.18	3	552.73	550.43	<0.0001
SITIO	0.05	1	0.05	0.05	0.8307
CONDICION	1658.13	2	829.07	825.62	<0.0001
Error	12.05	12	1.00		
Total	1670.23	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=2.10388

Error: 1.0042 gl: 12

CONDICION	Mediasn	E.E.			
GM+	12.96	4	0.50	A	
RM+	14.71	4	0.50	A	
RM-	33.12	4	0.50		B
GM-	35.09	4	0.50		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **Mg****Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	189.64	3	63.21	627.69	<0.0001
SITIO	0.26	1	0.26	2.61	0.1323
CONDICION	189.38	2	94.69	940.23	<0.0001
Error	1.21	12	0.10		
Total	190.85	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.66627*Error: 0.1007 gl: 12*

CONDICION	Mediasn	E.E.			
GM+	3.18	4	0.16	A	
RM+	3.85	4	0.16		B
RM-	9.75	4	0.16		C
GM-	10.93	4	0.16		D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)*Análisis estadístico de la variable **CLOROFILAS α** **Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	499.81	3	166.60	1.40	0.2915
SITIO	113.41	1	113.41	0.95	0.3487
CONDICION	386.40	2	193.20	1.62	0.2384
Error	1431.28	12	119.27		
Total	1931.09	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=22.92915*Error: 119.2736 gl: 12*

CONDICION	Mediasn	E.E.			
GM+	5.37	4	5.46	A	
RM+	8.67	4	5.46	A	
GM-	12.97	4	5.46	A	
RM-	20.32	4	5.46	A	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **CLOROFILAS β** **Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	50.68	3	16.89	1.67	0.2271
SITIO	26.56	1	26.56	2.62	0.1316
CONDICION	24.12	2	12.06	1.19	0.3381
Error	121.74	12	10.14		
Total	172.41	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=6.68708*Error: 10.1448 gl: 12*

CONDICION	Mediasn	E.E.
GM+	2.11 4	1.59 A
GM-	2.76 4	1.59 A
RM+	3.31 4	1.59 A
RM-	6.72 4	1.59 A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)*Análisis estadístico de la variable **CLOROFILAS TOTALES****Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	838.79	3	279.60	1.42	0.2844
SITIO	249.74	1	249.74	1.27	0.2816
CONDICION	589.05	2	294.52	1.50	0.2624
Error	2357.84	12	196.49		
Total	3196.63	15			

Análisis estadístico de la variable **CAROTENOS****Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	369.36	3	123.12	4.29	0.0284
SITIO	93.56	1	93.56	3.26	0.0963
CONDICION	275.80	2	137.90	4.80	0.0294
Error	344.72	12	28.73		
Total	714.07	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=11.25272

Error: 28.7265 gl: 12

CONDICION	Mediasn	E.E.		
GM+	1.40 4	2.68	A	
RM+	1.97 4	2.68	A	
GM-	4.26 4	2.68	A	B
RM-	13.36 4	2.68		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **NO2**

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5.78	3	1.93	3.84	0.0388
SITIO	0.37	1	0.37	0.74	0.4057
CONDICION	5.40	2	2.70	5.39	0.0214
Error	6.02	12	0.50		
Total	11.79	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.48669

Error: 0.5014 gl: 12

CONDICION	Mediasn	E.E.	
RM+	0.19 4	0.35	A
GM+	0.29 4	0.35	A
RM-	1.13 4	0.35	A
GM-	1.64 4	0.35	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **COLONIZACION**

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	16310.01	3	5436.67	116.60	<0.0001
SITIO	234.32	1	234.32	5.03	0.0447
CONDICION	16075.69	2	8037.84	172.39	<0.0001
Error	559.53	12	46.63		
Total	16869.53	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=14.33625

Error: 46.6272 gl: 12

CONDICION	Mediasn		E.E.		
GM-	0.00	4	3.41	A	
RM-	0.00	4	3.41	A	
RM+	55.28	4	3.41		B
GM+	70.59	4	3.41		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **IDM**

Análisis de la varianza

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.40	3	0.80	156.30	<0.0001
SITIO	0.19	1	0.19	36.87	0.0001
CONDICION	2.21	2	1.11	216.01	<0.0001
Error	0.06	12	0.01		
Total	2.47	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.15032

Error: 0.0051 gl: 12

CONDICION	Mediasn		E.E.		
GM-	0.00	4	0.04	A	
RM-	0.00	4	0.04	A	
GM+	0.49	4	0.04		B
RM+	0.93	4	0.04		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)

Análisis estadístico de la variable **RRV**

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8.00	3	2.67	8.56	0.0026
SITIO	0.27	1	0.27	0.88	0.3676
CONDICION	7.72	2	3.86	12.40	0.0012
Error	3.74	12	0.31		
Total	11.73	15			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.17176

Error: 0.3115 gl: 12

CONDICION	Mediasn		E.E.		
RM-	0.79	4	0.28	A	
GM+	1.91	4	0.28	A	B
GM-	2.15	4	0.28		B
RM+	2.74	4	0.28		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0.05$)