



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
“ZARAGOZA”**

Índice de mutualismo de tres gramíneas propagadoras de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) bajo condiciones de invernadero

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I Ó L O G A

PRESENTA:

MARCELA ALEJANDRA RESÉNDIZ CARRILLO

Unidad de Investigación en Ecología Vegetal

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Arcadio Monroy Ata

Investigación realizada con financiamiento de la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA) UNAM, a través de los proyectos: PAPIIME (clave PE205109) y PAPIIT (clave: IN216610).



México, D. F., octubre de 2013.



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.

"Todos somos genios. Pero si juzgas a un pez por su capacidad de escalar árboles, vivirá toda su vida creyendo que es inútil."

Albert Einstein

No te rindas

*No te rindas, aún estás a tiempo
de alcanzar y comenzar de nuevo,
aceptar tus sombras, enterrar tus miedos,
liberar el lastre, retomar el vuelo.*

*No te rindas que la vida es eso,
continuar el viaje,
perseguir tus sueños,
destrabar el tiempo,
correr los escombros y destapar el cielo.*

*No te rindas, por favor no cedas,
aunque el frío quemé,
aunque el miedo muerda,
aunque el sol se esconda y se calle el viento,
aún hay fuego en tu alma,
aún hay vida en tus sueños,
porque la vida es tuya y tuyo también el deseo,
porque lo has querido y porque te quiero.*

*Porque existe el vino y el amor, es cierto,
porque no hay heridas que no cure el tiempo,
abrir las puertas quitar los cerrojos,
abandonar las murallas que te protegieron.*

*Vivir la vida y aceptar el reto,
recuperar la risa, ensayar el canto,
bajar la guardia y extender las manos,
desplegar las alas e intentar de nuevo,
celebrar la vida y retomar los cielos,*

*No te rindas por favor no cedas,
aunque el frío quemé,
aunque el miedo muerda,
aunque el sol se ponga y se calle el viento,
aún hay fuego en tu alma,
aún hay vida en tus sueños,
porque cada día es un comienzo,
porque esta es la hora y el mejor momento,
porque no estás sola,
porque yo te quiero.*

Mario Benedetti

DEDICATORIA:

A Pozol: Has sido un gran ejemplo, has sido el faro, has sido la gota que rompe la piedra.

A la vida: por su eterna escucha

AGRADECIMIENTOS:

Al universo: por concederme cuanto he pedido, por darme vida para defenderla, por el presente.

A mi misma: por que en este viaje pude encontrar además de conocimientos, sabiduría, lealtad, fuerza. Aprendí y no me di por vencida, por los momentos en que flaqueé, tropecé rompiéndome la maceta, por ser capaz de pegar los trozos y empezar de nuevo. Por mi gran espíritu. ¡¡gracias a mi!!

A mi madre y padre: Por todo lo vivido, por todo lo sufrido, por lo aprendido, por regalarme la vida por compartir lo mejor de sí, por la materia, por su amor. ¡¡gracias!!

A Pozol: Por romper esquemas, por transformar, por construir desde los cimientos, por tu fuerza revolucionaria, por abrir brecha para el amor. ¡¡gracias!!

A Carlos: Por cada una de las batallas ganadas, por ser más que mi compañero, mi mejor amigo, contigo siempre. ¡¡gracias!!

A mis perrij@s: por ser mis más grandes maestros y compañeros de vida, gracias por enseñarme el amor y la lealtad. A todos los que son, por lo que son. ¡¡gracias!!

A Mones: Por todo tu apoyo, por tu generosidad por ese gran corazón, por la gran tolerancia, por la paciencia, por dejarme ser y vivir, por tu cariño. ¡¡gracias!!

A mi familia y amigos: Esos corazones gigantes que me han acompañado en este viaje, por los encuentros, por sus hombros, por sus abrazos, por sus sonrisas, por el aliento que inspira, por lo que sigue. ¡¡gracias!!

A mi querida UNAM: Mi alma máter, sin mas que anotar, sin ella no hubiese sido posible. "Por una educación para todos, gratuita y de calidad. ¡¡gracias!!

A Zaragoza: que aunque te traque el Peñón y los amigos de lo ajeno, sigues en pie con toda tu gente valiosa. ¡¡gracias!!

A Arcadio Monroy, Rosalva Garía, Claudia de la Rosa, Eduardo Chimal y Maribel Flores: por sus conocimientos y aportaciones a este trabajo de manera académica y personal a su servidora, por todo su apoyo. ¡¡gracias!!

A ti que lees esto: quiero que sepas que nada es para siempre, que no hay plazo que no se cumpla y que no hay meta que no se alcance si estás dispuestX a luchar hasta conseguirlo. No te desanimas, no claudiques, no te rindas. Esta es una etapa de resistencia, es el primer paso, es la primera prueba en la que vas por ti mismo, ¡esta va por ti! Organiza tu información, ve paso a paso, pero constante, paciencia y si este trabajo ha de servirte, úsalo, pero cítame, ¡ja!

Un día tomé una clase con un hombre sabio que dijo las palabras que en ese preciso momento necesitaba escuchar: "todo está bien, nada es grave" y sentí la contención que no había encontrado. A partir de ese momento decidí dejar de "sufrir" mi carrera para empezar a disfrutarla, a amarla, a descubrir que si estaba ahí plantada no era para decidir sentarme tras de un escritorio esperando morir lentamente convirtiéndome en mi propia enemiga. Gracias a este hombre sabio pude hallar en la biología no una profesión, sino una pasión, una vocación que estoy dispuesta a defender con el alma; descubrí el gran amor por la vida que estaba escondido en alguna parte de mi materia y de mi espíritu para atreverme a vivir mis sueños. Gracias hombre sabio, aquél a quien realmente puedo llamar MAESTRO.

con cariño para Arcadio Monroy Ata

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEÓRICO	4
Simbiosis micorrícica	4
Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)	5
Clasificación taxonómica de los HMA	6
Plantas “trampa”	8
Características de plantas “trampa”	8
Plantas “trampa” a emplear en la propagación de hongos micorrizógenos arbusculares	8
<i>Bouteloua gracilis</i> (Willd. ex Kunth Lag. ex Griffiths)	
<i>Bouteloua curtipendula</i> (Michx.) Torr.	
<i>Cenchrus ciliaris</i> (L.)	
Inóculos	11
Infectividad y Efectividad	12
Propagación de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares	13
Zona de origen del suelo con esporas	13
JUSTIFICACIÓN CIENTÍFICA	14
PROBLEMÁTICA	14
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS	15
MÉTODO	16
Colecta y preparación de semillas	16
Lugar de trabajo	16
Colecta de HMA usados como inóculo	17
Preparación del sustrato	17
Selección de plantas “trampa”	17
Preparación de macetas para la propagación de hongos micorrizógenos arbusculares	17
Riego	18

Capacidad de campo	19
Evapotranspiración real semanal y acumulada	19
Eficiencia del uso del agua (WUE)	19
Supervivencia	20
Evaluación de la efectividad	20
Talla máxima	
Tasa de crecimiento relativo (TCR)	
Biomasa seca del vástago	
Obtención del inóculo multiespecífico	21
Evaluación de la infectividad	21
Conteo e identificación de esporas	23
Colonización radical	
Diseño de Índice de Mutualismo	23
Índice de eficiencia micorrícica	25
Índice de dependencia micorrícica	25
Diseño experimental	26
Diseño estadístico	26
Diagrama de flujo	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
LITERATURA CITADA	43
ANEXO	52

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1.	Porcentaje de germinación total de plantas “trampa”	28
Gráfico 2.	Temperaturas promedio en el invernadero	29
Gráfico 3.	Evapotranspiración real acumulada de los tratamientos	30
Gráfico 4.	Eficiencia en el uso del agua (WUE)	31
Gráfico 5.	Supervivencia de las plantas hospederas en cuatro tratamiento para propagar hongos micorrizógenos arbusculares	32
Gráfico 6.	Talla máxima final de las plantas trampa	33
Gráfico 7.	Biomasa seca final del vástago de las plantas trampa	35
Gráfico 8.	Colonización micorrícica arbuscular total en los cuatro tratamientos	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Representación esquemática de los distintos tipos de micorriza y las estructuras típicas formadas	5
Figura 2.	Representación esquemática de las principales estructuras de un hongo micorrícico arbuscular	6
Figura 3.	Clasificación taxonómica de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) de acuerdo a Shüßler (2011)	7
Figura 4.	Plantas “trampa”. a) <i>Cenchrus ciliaris</i> L., b) <i>Bouteloua gracilis</i> (Willd. ex Kunth) Lag. ex Griffiths, c) <i>Bouteloua curtipendula</i> (Michx.) Torr. (CONABIO, 2010)	11
Figura 5.	Localización geográfica del Parque Ecológico “Cubitos”, Hidalgo	15
Figura 6.	Diagrama de flujo. Resumen del método	27

Figura 7.	Proceso de sequía para favorecer la esporulación	34
Figura 8.	<i>Funneliformis mosseae</i>	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Descripción del índice de mutualismo (IM)	24
Cuadro 2.	Diseño experimental	26
Cuadro 3	Tasa de crecimiento relativo (TCR)	34
Cuadro 4.	Esporas de HMA del inóculo inicial comparadas con las obtenidas después de la propagación	37
Cuadro 5	Propuestas de diseño de Índice de mutualismo	40
Cuadro 6.	Índice de mutualismo comparado	40

RESUMEN

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), son microorganismos presentes en el suelo, constituyen uno de los componentes más importantes del mismo. Diversos estudios demuestran que los HMA desempeñan un papel crucial en la nutrición vegetal, al asociarse de manera obligada con plantas de todo tipo de ecosistemas, además, contribuyen a tolerar el estrés ambiental. No obstante, en las investigaciones sobre micorrizas ha sido frecuente el análisis cuantitativo sobre esta simbiosis. Por ello, es importante la generación de herramientas que integren la información obtenida de la interacción hongo-planta en términos de infectividad (capacidad del hongo para colonizar) y efectividad (efectos de la asociación sobre el desarrollo vegetal) en un solo parámetro de tipo cuantitativo. Con este fin, la presente investigación se dividió en tres etapas: **1)** La propagación de suelo con esporas proveniente del Parque Ecológico “Cubitos”, Hidalgo (clima semiárido), mediante las gramíneas *Bouteloua curtipendula*, *B. gracilis* y *Cenchrus ciliaris* como plantas “trampa”; en esta fase se determinó el potencial de propagación (densidad de esporas y riqueza de especies de HMA iniciales y finales), mediante 4 tratamientos: *B. gracilis*, *B. curtipendula*, *C. ciliaris* y *B. curtipendula* + *B. gracilis* y dos condiciones de micorrización: con HMA (M+) y sin HMA (M-); las unidades experimentales se establecieron en invernadero durante 14 semanas. **2)** El análisis de la simbiosis establecida entre las plantas y micobiontes en términos de **infectividad** (porcentaje de colonización, conteo de esporas) y **efectividad** (tasa de crecimiento relativo, supervivencia). **3)** El diseño de dos propuestas de un Índice de Mutualismo que describa de forma integral la asociación micorrízica.

Los resultados obtenidos muestran mayor supervivencia de plantas del tratamiento *C. ciliaris* comparado con *B. gracilis* en asociación con *B. curtipendula* y *B. gracilis* de manera aislada; *B. curtipendula* aislada no logró establecerse. *C. ciliaris* obtuvo significativamente una tasa relativa de crecimiento (TCR) mayor con micorriza, comparado con las otras especies ($p > 0.05$). De acuerdo con los análisis estadísticos, se encontraron diferencias en los parámetros de infectividad, hallándose que *Bouteloua* (*B. gracilis* de manera aislada y *B.g.* + *B.c.* asociadas) resultaron los mejores hospederos para propagar a los HMA en comparación con *C. ciliaris*, al obtener un mayor número de esporas. Se reportó *Funneliformis mosseae* como única especie de HMA presente en el inóculo final. Así mismo, se observaron diferencias estadísticas en el porcentaje de colonización micorrízica siendo mayor en *B. gracilis* y *B. curtipendula* asociadas. Finalmente, para integrar la información de este mutualismo cosmopolita se concluye que el Índice de Mutualismo (IM) más factible y sencillo es el que incluye a las variables: tasa de crecimiento relativo y biomasa seca comparando especies similares, pues integra resultados de infectividad y efectividad de la simbiosis, sintetizando en un parámetro cuantitativo, la dinámica de la asociación de las especies estudiadas.

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas áridos y semiáridos son de los más extensos y diversos en México, pues constituyen el 65% de la superficie del territorio (Rzedowski, 1994); estos ecosistemas se caracterizan por contar con poca disponibilidad de agua para el desarrollo vegetal, por lo que el establecimiento de densas comunidades se ve limitado (Hunneke y Noble, 1996). Estos ecosistemas albergan una gran diversidad de organismos endémicos cuya importancia biológica y ecológica es vasta. Sin embargo, la gran mayoría de las comunidades vegetales presenta cierto grado de deterioro, no sólo del paisaje o pérdida de diversidad, sino también en las condiciones del suelo (Martínez y Pugnaire, 2009).

Dado que los suelos en zonas áridas usualmente están poco desarrollados, las superficies se encuentran expuestas al viento y al agua, lo cual fácilmente puede deslavarlos y alterar sus propiedades fisicoquímicas naturales, participando en la fluctuación de las condiciones así como a los organismos que ahí habitan (Hunneke y Noble, 1996). Esto, aunado a perturbaciones ocasionadas por la actividad humana, debilitan la microbiota presente en la rizósfera y traen consigo diversas consecuencias desfavorables para el ecosistema (Barea, 1998).

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) son uno de los grupos clave de microorganismos del suelo presentes de manera natural. Los HMA cumplen diversas e importantes funciones, ya que al asociarse, ayudan entre otras cosas, a mejorar la composición de las comunidades de plantas (supervivencia, competencia, diversidad florística), así mismo, son indispensables en la composición edáfica, pues se sabe que contribuyen en los procesos de estabilización y formación, lo que mantiene su fertilidad (Requena *et al.*, 2001; Álvarez y Monroy, 2008), pues participan activamente en la formación de agregados por acción mecánica y química, por lo tanto, es necesario fomentar el cultivo dirigido de los HMA autóctonos para su reintroducción a los ecosistemas perturbados mediante programas de restauración ecológica, utilizando inóculos micorrizógenos nativos y semillas de plantas también nativas (Cuenca y Lovera, 1994; Montaña y Monroy, 2000).

En las prácticas de restauración de zonas áridas y semiáridas, se ha reportado que el establecimiento vegetal se incrementa cuando se utilizan plantas micorrizadas, las cuales tienen mayor protección y tolerancia a las condiciones adversas del suelo y el clima (Caravaca *et al.*, 2003), así mismo, en estudios recientes, también se ha sugerido que los mejores inóculos son los autóctonos pues poseen las condiciones para el desarrollo óptimo de cada especie.

Para tales fines, es necesario contar con mayor información sobre los géneros o especies de HMA que se encuentran asociados a plantas nativas de importancia ecológica para el ecosistema, así como conocer la diversidad de micorrizas arbusculares en zonas donde el deterioro vegetal se incrementa por las actividades humanas (Augé, 2001); esta información aportará seguramente claves para la elaboración de inóculos que contengan propágulos (esporas, micelio, o raíces micorrizadas) altamente efectivos capaces de mejorar el desarrollo vegetal e infectivos que incrementen el porcentaje de micorrización (Hernández y García, 2008;).

Conforme se ha avanzado en el conocimiento de la simbiosis micorrícica arbuscular, se han logrado descubrir técnicas que permiten la producción masiva de inóculos de alta calidad, efectivos para cada ambiente, especie, condiciones particulares u objetivos a alcanzar (Tapia-Gone, *et al.*, 2010), sin embargo, la producción de inóculo de HMA a gran escala se puede ver limitada por la simbiosis obligada por parte del hongo, lo que hace necesario implementar un sistema donde ambos organismos se desarrollen en condiciones controladas.

Cuando se estudia el uso de HMA en plantas con fines de restauración de ecosistemas semiáridos, es común que el análisis se presente de manera cualitativa y no cuantitativa, pues se consideran diferentes variables de crecimiento como indicadores, pero pocas veces se integran, de tal manera que el resultado es un análisis parcial de la simbiosis (Alvarez, y Monroy, 2008).

Esta investigación está dirigida a proponer un índice de mutualismo que permita conocer los efectos que la asociación con HMA genera en las plantas *Bouteloua curtipendula*, *Bouteloua gracilis* y *Cenchrus ciliaris* las cuales son parte de la flora de ecosistemas semiáridos de México, dados términos de infectividad, mismo que debe entenderse como el nivel de interacción mutualista (porcentaje de raíz colonizada, número de esporas en la rizósfera, etc.), y de efectividad: (biomasa seca del vástago, supervivencia, talla, tasa de crecimiento relativo), asociándolos en un parámetro único denominado índice de mutualismo (IM). Para esto, se debe considerar la intensidad de la interacción y la eficiencia de los HMA, mediante la propagación de muestras de suelo mediante cultivos multiespecíficos a través de plantas “trampa”; caracterizar el inóculo, obteniendo el número de esporas. Integrar los resultados obtenidos en las propuestas de índices de mutualismo y determinar con ello si este indicador permite evaluar la eficiencia e intensidad de la interacción con los HMA presentes en el suelo del sitio de manera adecuada, es decir, que refleje el nivel de interacción planta-hongo y sus efectos en el desarrollo vegetal.

MARCO TEÓRICO

Simbiosis Micorrícica

La palabra micorriza etimológicamente proviene del griego (*myces*= hongo y *rhiza*= raíz), es una simbiosis mutualista que ocurre en más del 95% de todas las especies de plantas tanto cultivadas como silvestres (Clapp *et al.*, 1996; Barea, 1998; Hernández,*et al.*, 2008), y ciertos hongos del suelo. Se trata de una simbiosis prácticamente universal, presente en la gran mayoría de los hábitats naturales (Shüßler *et al.*, 2001; Martínez y Pugnaire, 2009).

El mutualismo supone una relación benéfica para los organismos implicados, por ello, tanto el hongo como la planta se ven favorecidos por la asociación: el hongo coloniza la raíz de la planta y le proporciona nutrientes minerales y agua, mientras que las plantas suministran al hongo carbohidratos que elaboran a través de la fotosíntesis (Brundett *et al.*, 1996). También ayudan a mantener el balance hídrico de la planta y a su vez ésta incrementa la tasa fotosintética (Monroy y García-Sánchez, 2009).

Esta asociación muestra la eficiencia de la asociación mutualista, su globalidad y la estrecha coevolución planta-hongo micorrícico, así como su relevancia en el reino vegetal (Montaño y Monroy, 2000). Dado que es tan común, también resulta ser diversa, pues se han descrito al menos siete diferentes tipos de micorriza: arbuscular, arbutoide, ericoide, monotropoide, orquideoide, ectomicorriza y ectendomicorriza, que se caracterizan por las estructuras que el hongo forma dentro de la raíz, así como por las plantas y los hongos involucrados (Harley y Smith, 1983) (Fig. 1).

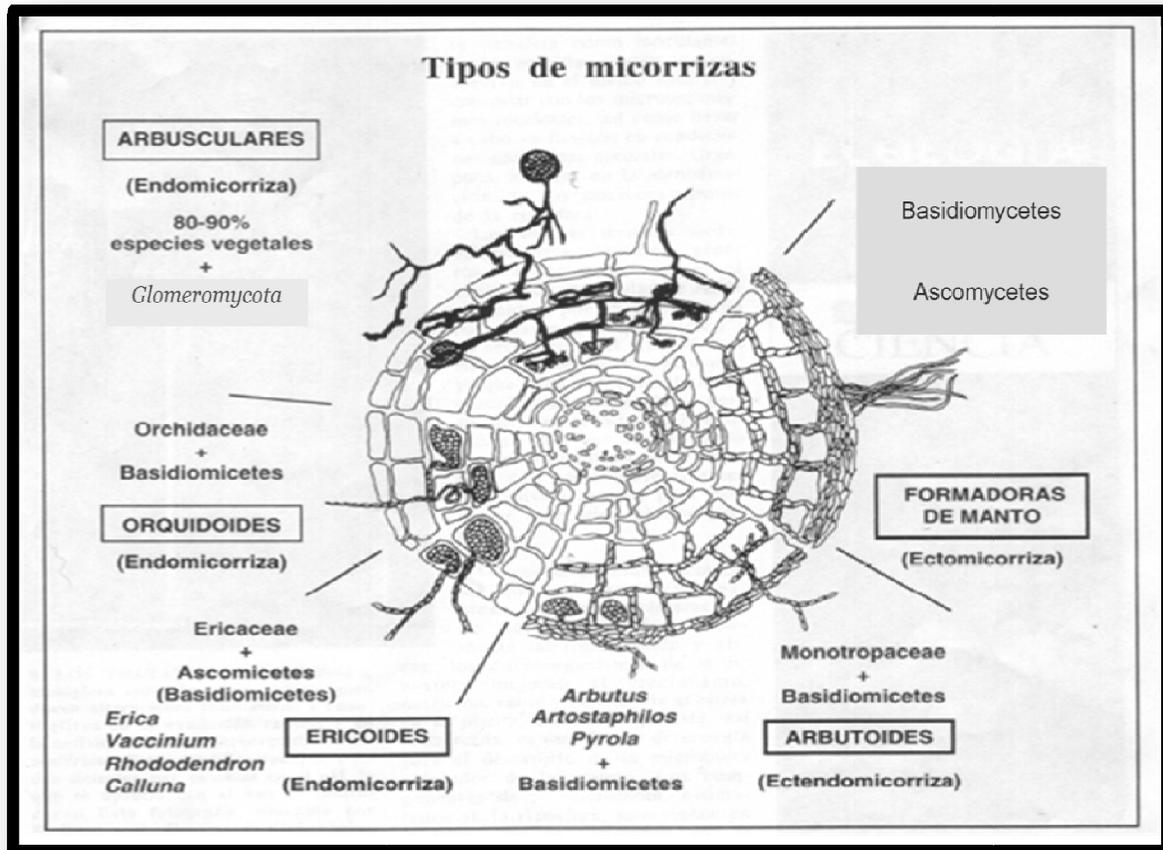


Figura 1. Representación esquemática de los distintos tipos de micorriza y las estructuras típicas formadas (Tomado de Barea, 1998).

Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

Los hongos micorrizógenos arbusculares forman quizá la asociación micotrófica mas importante con distribución global (Larcher, 2003), además de que son fundamentales en la estructura y diversidad de la vegetación (Hartnett y Wilson, 1999).

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) de una comunidad vegetal madura conforman una malla que interconecta las raíces de las plantas mediante una densa y extensa red de hifas, las cuales por un lado, crecen a lo largo del córtex radical, en el interior de raicillas finas; por otro lado, las hifas externas se expanden en el sustrato; éstas últimas son alargadas, dimórficas y están compuestas de una red tosca, irregular y gruesa (Allen, 1991; Parniske, 2008) (figura 2).

Los hongos formadores de micorriza arbusculares son simbiontes obligados y no pueden cultivarse fuera de las raíces vivas de las plantas por lo que dependen totalmente de la planta fotosintética (Smith y Read 1997). Las esporas de estos hongos germinan en el suelo y colonizan las células corticales de una planta huésped. El hongo, dentro de la raíz, invagina el plasmalema de la célula vegetal y produce una estructura profusamente ramificada llamada arbusculo, que es el sitio de intercambio de nutrimentos entre el hongo y la planta. La formación de esta estructura es una característica común de todos los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) (Brundett, *et al*, 1996).

Conforme la colonización micorrícica comienza a envejecer, el hongo produce sobre las raíces o dentro de ellas, estructuras de almacenamiento llamadas vesículas, las cuales contienen abundantes lípidos (Bonfante-Fasolo, 1984).

Clasificación taxonómica de los HMA

En un inicio, la clasificación de los HMA se basaba en caracteres morfológicos de las esporas pero con ayuda de las técnicas moleculares se inició la secuenciación del ARN ribosomal logrando grandes hallazgos como el de Schüßler *et al.* (2001) quienes los propusieron como un grupo monofilético y establecieron el Phylum *Glomeromycota*. Sus resultados indicaron que se encuentran filogenéticamente más cercanos a los Phyla *Ascomycota* y *Basidiomycota* que con el Phylum *Zigomycota* donde eran anteriormente agrupados. Con estas investigaciones y muchas más se ha contribuido enormemente a precisar su clasificación (figura 3) (Díaz-Hernández, 2012).

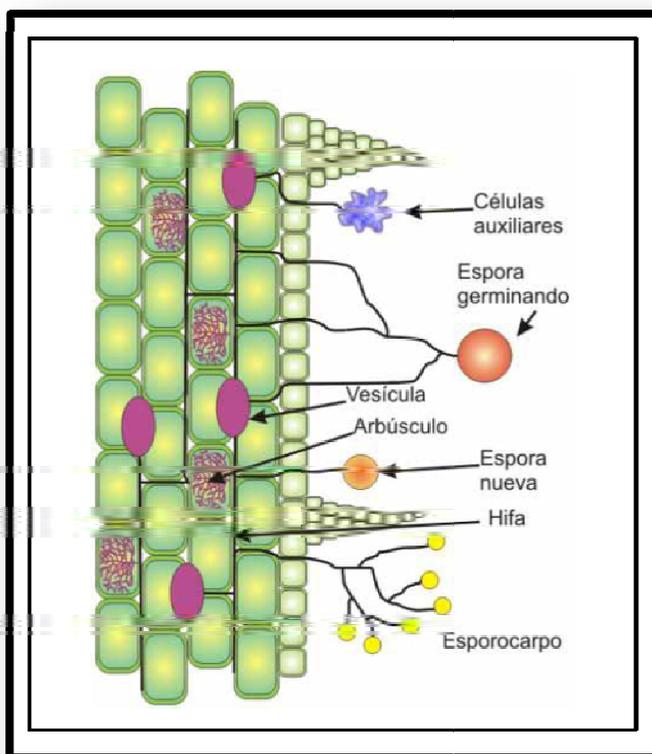


Figura 2. Representación esquemática de las principales estructuras de un hongo micorrícico arbuscular. Las hifas penetran la raíz para formar arbusculos y vesículas. (Tomado de García- Díaz, 2007) .

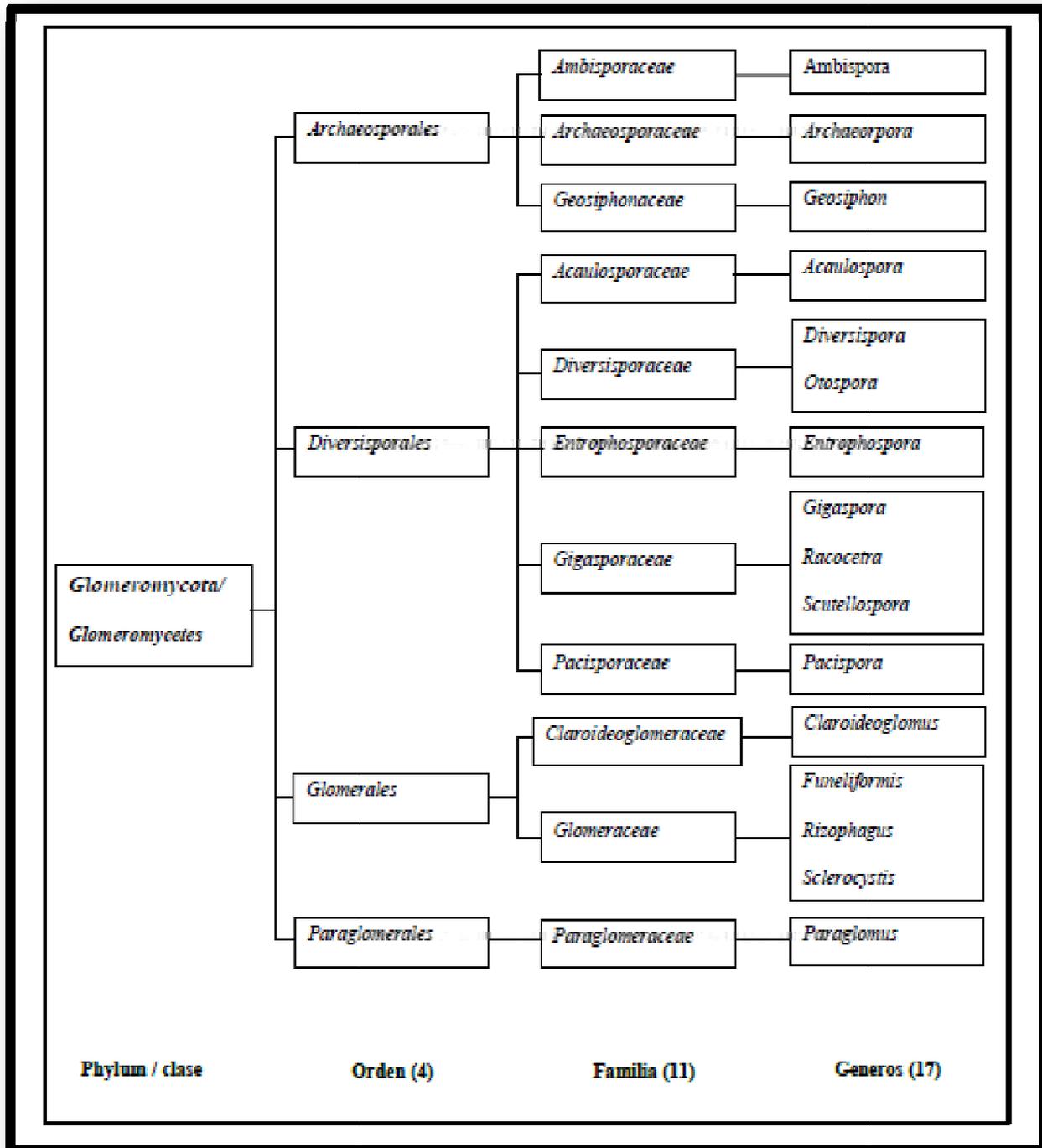


Figura 3. Clasificación sistemática de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) de acuerdo a Schüßler, 2011, disponible en el sitio web: <http://www.lrz.de/~schuessler/amphylo/>. Figura editada por: Biól. Eduardo Chimal Sánchez

Plantas “trampa”

Una planta “trampa” es un vegetal generalista que sirve como hospedero vivo, altamente micotrófico y que permite la obtención de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares multiespecíficos (Trejo- Aguilar *et al.*, 2008; Álvarez *et al.*, 2008).

Características de plantas “trampa”

- 1) Debe ser altamente micotrófica (dependiente del hongo)
- 2) No debe presentar selectividad a las diferentes especies de hongos micorrícicos arbusculares
- 3) Deben adaptarse a un amplio rango de condiciones y climas
- 4) Deben ser de rápido crecimiento y ciclo de vida corto
- 5) No deben requerir de grandes áreas en el invernadero o en laboratorio
- 6) Debe ser perenne y soportar podas periódicas por si se requiere mantener por mucho tiempo en las unidades experimentales
- 7) Deben tener alto porcentaje de germinación
- 8) No deben ser altamente susceptibles de enfermedades comunes o parásitos (Chimal, S. *et al.* 2010).

Plantas “trampa” a emplear en la propagación de hongos micorrizógenos arbusculares

Género Bouteloua

Género formado por plantas herbáceas perennes con tallos delgados; hojas con frecuencia concentradas en la base de la planta, las lígulas a menudo en forma de anillo de pelos; inflorescencia constituida básicamente de una a muchas ramas espiciformes (a menudo unilaterales), que de ser más de una se disponen a manera de racimo; espiguillas sésiles, por lo general, muchas en cada espiga las cuales están dispuestas en 2 hileras a lo largo de un raquis mas o menos aplanado. Las espiguillas por lo general cuentan con 1 a 2 flores hermafroditas y 0 a 3 flores masculinas o estériles, frecuentemente rudimentarias; glumas uninervadas, desiguales o casi iguales, a veces con arista corta. La lema de la flor es fértil y nervada, dichas nervaduras a menudo terminan en aristas. La pálea es membranácea, a veces biaristada; la segunda flor con frecuencia conspicuamente 1 a 3- aristada, a veces reducida a tales aristas. Es un género endémico de América, con unas 40 especies, en su mayoría mexicanas. (Rsedowzki, 2001).

Bouteloua gracilis (Willd. ex Kunth Lag. ex Griffiths)

Planta herbácea perenne, de hasta 70 cm de alto a menudo forma macollos densos y en ocasiones llega a establecer césped; con frecuencia rizomatosa; Tiene una vaina foliar glabra o con algunos pelos largos, lígula en forma de franja de pelos cortos. La lámina es plana, al menos en la base, hasta de 30 cm de largo, glabra, con algunos pelos largos. Tiene 1 a 4 ramas de la inflorescencia, por lo común de 2 a 6 cm de largo. Posee entre 40 a 100 espiguillas, por lo general, densamente dispuestas a manera de peine, el raquis aplanado, con la espiguilla apical simulando una prolongación del mismo. La primera gluma mide entre 3 a 3.5 mm; la segunda, por lo general de 5 a 7 mm de largo, con frecuencia largamente pilosa en su nervadura central. La lema es más corta que la segunda gluma, pubescente, provista de 3 aristas de 1 a 3 mm de largo, pálea casi del mismo largo de la lema. Cuenta con 1 o 2 flores rudimentarias. La primera 3-aristada y con un mechón de pelos en la base, la segunda sin aristas; grano angostamente obovoide, de 2.5 a 3 mm de largo (Rsedowzki, 2001).

Ampliamente distribuida en el Valle de México, sin ser planta frecuente. Se reporta en altitudes de 2250- 3100 msnm. En vegetaciones de pastizal y matorral xerófilo, pero principalmente en la vegetación secundaria. Conocida del suroeste de Canadá hasta Oaxaca. En grandes extensiones de la parte norte del país esta gramínea domina los pastizales. En algunos sectores del Valle de México se comporta como invasora (Escalante, 1995).

En los dos tipos de comunidades (pastizal y matorral) se le considera como uno de los pastos nativos con mayor valor forrajero. Crece en suelos francos, con pH ligeramente ácido (5.5 a 6.5) (Parrazales y Suárez, 2005), así como en suelos arenosos profundos nivelados o con pendientes suaves; cuando crece en suelos calcáreos con pH de neutro a ligeramente básico (7.0 a 8.0) o en pendientes gravosas y escarpadas (CONABIO, 2010).

Las temperaturas que se registran en las diferentes zonas de distribución de la especie en México, van de -10 °C a 40 °C, con precipitaciones de 350 a 800 mm anuales. Sin embargo, *B. gracilis* es un especie que difícilmente se establece por semilla, ya que requiere de un período continuo de 8 a 10 semanas de humedad para su germinación, establecimiento y crecimiento inicial y estas condiciones son poco frecuentes en las zonas áridas y semiáridas de México (Escalante, 1995; García *et al.*, 2005) (figura 4).

Bouteloua curtipendula (Michx.) Torr.

Planta herbácea perenne hasta de 1 m de alto, ampliamente amacollada, a veces presenta rizomas o estolones; Las hojas en su mayoría se encuentran concentradas hacia la base de la planta. La lígula es en forma de membrana corta y fimbriada; lámina por lo general plana,

hasta de 25cm de largo y hasta 7 mm de ancho, a menudo pilosa cerca de la base. La inflorescencia es estrecha y alargada, mide hasta de 25 cm de largo. Se describen de 12 a 80 ramas que miden entre 0.8 a 4 cm de largo, éstas se hallan dispuestas en forma unilateral, desprendiéndose íntegramente en la madurez: Tiene de 2 a 12 espiguillas por rama, en general glabras; La primera gluma miden entre 4 a 5 mm de largo, la segunda gluma es más ancha pues mide 5.5 a 8.5 mm de largo. La lema es un poco más corta en la segunda gluma, apenas tridentina en el ápice, con los dientes provistos de aristas muy breves, pálea algo más corta que la lema. Ampliamente distribuida en el Valle de México, con excepción de las partes más húmedas y en altitudes que van de los 2250 a los 2650 msnm. Se describe en pastizales y matorrales xerófilos, en suelos más bien poco profundos. Conocida desde el sur de Canadá hasta Argentina. (Rzedowski, 2001).

Es un pasto de importancia forrajera (Rodríguez, 1982). Se encuentra en selvas bajas caducifolias alteradas, pastizales y matorrales xerófilos, en altitudes que van de 800 a 2650msnm. Se distribuye en los estados de Chihuahua, Durango, Guerrero, Jalisco, Michoacán y Oaxaca (CONABIO, 2010) (figura 4).

Cenchrus ciliaris L.

El zacate buffel es una forrajera muy útil en las regiones áridas; esta especie presenta resistencia a altas temperaturas (45 °C) y en algunos cultivares, al frío invernal (-10 °C). Además presenta una marcada tolerancia al estrés hídrico y moderada a la salinidad. Desafortunadamente se convierte en invasora fácilmente, no sólo en cultivos sino también en la vegetación natural (CONABIO, 2010; Carrillo *et al.*, 2004).

Su centro de origen se encuentra en África y ha sido introducido como planta forrajera en zonas cálidas y secas del mundo: América, Eurasia, Oceanía; en México se encuentra ampliamente distribuida, sobre todo en el norte del país, hallándose en plena expansión, también hacía partes más frías (Ribbota, 2005).

Es una planta exótica perenne, tallos erectos, ramificados, glabros, de 25 cm a 1m de alto; vainas comprimidas, glabras o pilosas cerca del cuello, margen hialino, lígula ciliada, de 0.5 a 2.5 mm de longitud, láminas foliares planas, que miden de 3 a 24 cm de longitud, de 2 a 8 mm de ancho, escabrosas o pilosas, sobre todo en la base. Su inflorescencia en forma de espiga cilíndrica y densa mide de 2 a 12 cm de longitud y de 1 a 2.5 cm de ancho, de raquis flexible y escabroso, entrenudos de 0.8 a 2 mm de longitud; fascículos alargados, de 9 a 13 mm de longitud y de 3 a 4 mm de ancho, pubescentes, cerdas erectas o algo curvas, unidas únicamente en la base o un poco mas arriba, antrorsamente escabrosas o ciliadas o plumosas (Rzedowsky, 2001).

Presenta de 2 a 4 espiguillas por fascículo, las cuales tienen de 2.5 a 4.7 mm de longitud. La primera gluma mide de 1 a 1.25 mm de longitud, es uninervada, delgada y membranácea. La segunda gluma mide 1 a 3 mm de longitud, La lema de la flor interior masculina, es de 2 a 4.5 mm de longitud. Pálea de 2 a 4 mm de longitud, parcialmente cubierta por la lema; flor fértil de 2.2 a 5 mm de longitud y de 1 a 1.5 mm de ancho. Se ha descrito que crecen a altitudes de hasta 2250 msnm. Se le cataloga como maleza ruderal, al parecer de introducción reciente al Valle de México (Rzedowski, 2001) (figura 4).

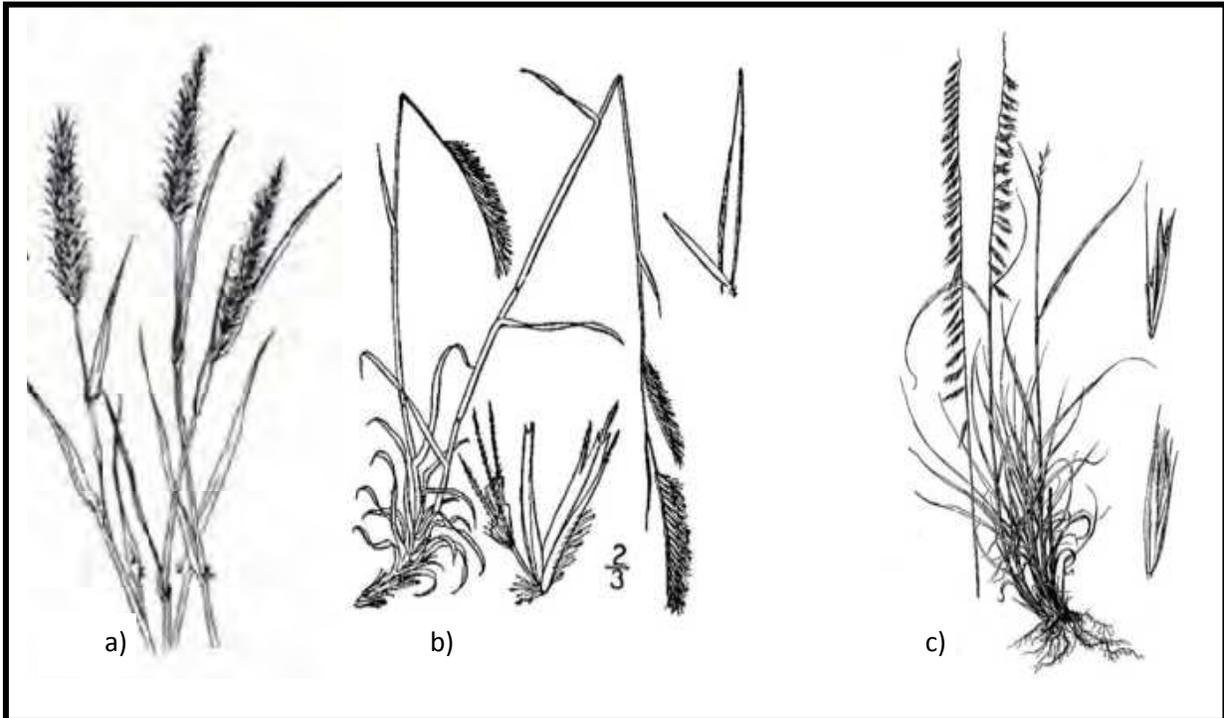


Figura 4. Plantas “trampa” a) *Cenchrus ciliaris* L., b) *Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunth) Lag. ex Griffiths, c) *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. (CONABIO, 2010).

Inóculos

Al considerar que los HMA necesitan obligadamente a su hospedero para desarrollarse, uno de los métodos mas ampliamente usado para propagarlos es el empleo de macetas conteniendo suelo y una o varias plantas micorrizófilas (Guadarrama-Chávez, *et al.*, 2008).

La inoculación de las especies vegetales con HMA se recomienda en la fase de plántula en condiciones de invernadero. El inóculo a utilizar puede consistir de: esporas, micelio o fragmentos de raíces colonizadas también es usualmente utilizado un compuesto de las tres anteriores, todos ellos pueden provenir de “macetas trampa” o de suelo tomado directamente del campo.

- a) Raíces, en este caso el inóculo son las raíces colonizadas por HMA y representan una fuente rápida de colonización para las plántulas. La cantidad recomendada fluctúa alrededor de 10 g de raíces secas (Guadarrama, Chávez, *et al.*, 2008).
- b) Micelio, son las hifas que se desarrollan de manera extrarradical, su utilización no es muy profusa debido al tiempo que implica su separación y las cantidades obtenidas son muy variables y el tiempo de colonización, debido a la viabilidad de éste (Palenzuela, *et al.* 2002, Carvalho y Correia, 2003).
- c) Esporas. Son estructuras de resistencia producidas por los HMA que, dependiendo del ambiente donde se desarrollen, presentan diferentes grados de latencia, son utilizadas comúnmente en estudios de crecimiento y se recomienda contar con 150 esporas en buenas condiciones, para ser inoculadas por plántula.

Un inóculo mixto es aquél que cuenta tanto con esporas como con raíces colonizadas y micelio presente en el suelo. Este tipo de inóculo es el más recomendable debido a que hay especies de hongos cuya propagación es principalmente a través de micelio y otras por esporas, de esta forma se asegura la presencia de muchas más especies fúngicas que en los casos individuales anteriores.

Infectividad y efectividad

Dos de los conceptos comúnmente empleados para estudiar la respuesta de la planta a la presencia de los HMA en condiciones de invernadero son la infectividad y la efectividad. La primera es una capacidad que tiene la especie o especies fúngicas en particular para colonizar las raíces de una planta hospedera y explorar el suelo, así como su capacidad de persistir en el sistema productivo, es decir, la intensidad de la interacción mutualista como tal. Mientras que la efectividad es la capacidad que tiene los HMA para influir favorablemente en el desarrollo de una especie vegetal con la que se pretenda asociar, en comparación con otra planta que crece en las mismas condiciones pero con ausencia de éstos (Guadarrama *et al.*, 2008; Tapia- Goné, 2010). Por ello, la magnitud de los beneficios que conlleva a esta asociación depende de la compatibilidad y complementariedad fisiológica con la especie de hongo que coloniza, de la historia de vida de la planta, de la fertilidad del suelo, la radiación solar, la disponibilidad de agua para la planta, la competencia o herbivoría (en condiciones naturales), entre otros.

Aún cuando se conoce sobre la asociación entre ambos simbioses, no se ha logrado hasta el momento, que exista un índice que correlacione ambas características. Por ello, en el presente trabajo se propone un índice que vincule ambos parámetros en uno solo, de tal modo que pueda estandarizarse el efecto de la simbiosis en diversas plantas de interés, sin que ello dependa únicamente del enfoque del investigador.

Propagación de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares.

La técnica más usada de propagación es el cultivo de HMA sobre plantas llamadas "trampa" (hospederos altamente micotróficos, en suelo desinfectado o estéril adecuado), buscando obtener una alta capacidad de intercambio catiónico, aireación y retención de humedad (Habte y Osorio, 2001). El sustrato además, debe permitir producción abundante de propágulos, fácil manipulación, que sea recurso de la zona a trabajar y que no sea costoso, usando esporas seleccionadas, raíces colonizadas, micelio o suelo que contenga todos estos propágulos para iniciar la colonización micorrízica de las raíces de las plantas (Ferguson y Wodhead, 1992).

Zona de origen del suelo con esporas

El Área Nacional Protegida (ANP) Parque Ecológico "Cubitos", se ubica al suroeste de la ciudad de Pachuca y se localiza dentro de los 20° 06' y 20° 07' N, 98° 44' y 98° 45' W y cuenta con una superficie de 132 hectáreas (CONABIO; 2010) (figura 5).

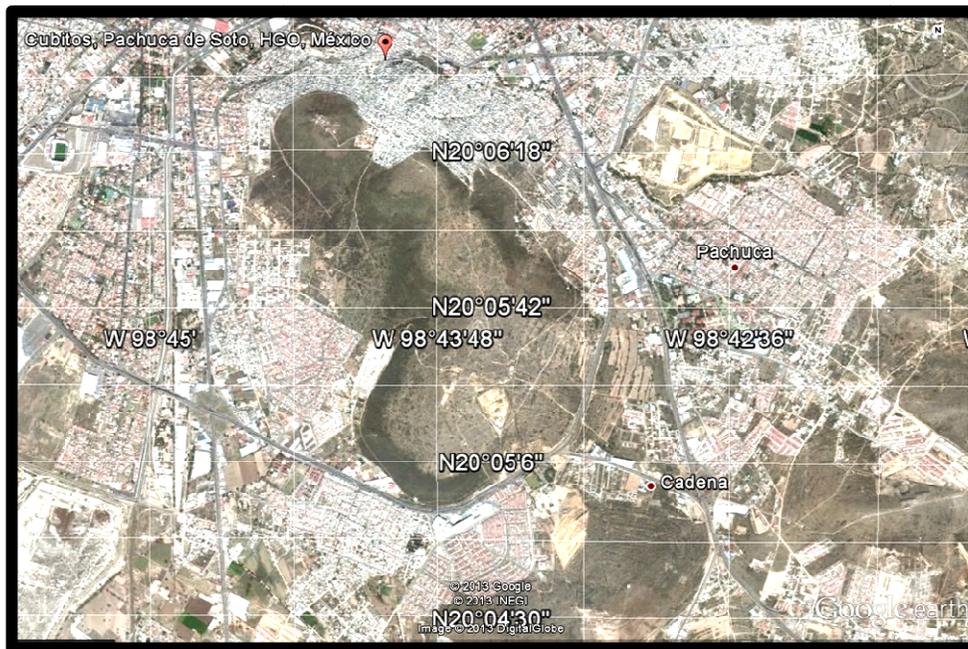


Figura 5. Localización satelital de la zona de origen del inóculo inicial. Fuente: <http://www.google.com>

Su clima es seco templado BS1 k (w) w" (I) G y seco semi-cálido BS0 k (w) w" (I) G, con temperatura media anual de 16 y 20°C y 550 mm de precipitación media anual concentrada en los meses de junio a septiembre y con un período de sequía de 6 a 8 meses (García, 2004). La vegetación es del tipo matorral espinoso, representado por árboles de

talla baja (<15 m), espinosos, abundan las leguminosas y llegan a formar agrupaciones con géneros como *Mimosa*, *Prosopis* y *Flourensia*; matorral crascicaule con géneros como *Opuntia* y *Myrtillocactus*; y un matorral desértico rosetófilo representado por los géneros *Agave* y *Yucca* (Rzedowzki, 1994).

JUSTIFICACIÓN CIENTÍFICA

Ha sido probado en numerosas investigaciones que la inoculación con HMA puede mejorar el establecimiento de la mayoría de las plantas. En el estudio de la simbiosis micorrícica arbuscular, han ocurrido importantes vertientes. Una es el estudio de las relaciones simbióticas como tal, en función de sus efectos, tales como la resistencia, resiliencia, condición, vigor y productividad. Para ello, se requiere obtener información sobre la biología básica de los HMA y de las plantas con las que se asocian. Otra vertiente, es la aplicación de estos conocimientos para la mejora de las técnicas de propagación de esporas, cuya contribución es la de mejorar los procesos de obtención de inóculos, con el fin de aislar a los organismos más eficientes, para producir inóculos de alta calidad y que sean funcionales a las condiciones de cada suelo, explotando así las posibilidades potenciales de estos HMA (Brundett, 2002; Morton, 2001).

Asimismo, la creación de herramientas que optimicen el manejo de esta información, la cual hasta el momento, puede ser analizado desde diferentes puntos de vista, ya sea del hongo, de la planta o de la asociación, dependiendo del enfoque del autor (Guadarrama Chávez *et al.*, 2008). Así, el índice planteado en la presente investigación puede ser utilizado para evaluar cuantitativa e integralmente los resultados obtenidos de la experimentación de inocular plantas con HMA.

PROBLEMÁTICA

Desde hace algunas décadas, el estudio de la simbiosis micorrícica en México ha ido evolucionando; cada vez se realizan más investigaciones en las que se ha sugerido el uso hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) como mejoradores de las condiciones del suelo degradado, así como de cultivos agrícolas, pues se saben las facultades de los HMA como optimizar los recursos y mejorar las condiciones del suelo, entre otras. La restauración ecológica es una disciplina tenido mejor éxito en programas de reintroducción cuando estas han sido micorrizadas. La propagación de los HMA a través de plantas “trampa” ha resultado exitosa, aunque la mayoría de las veces los hospederos son especies agrícolas y escasamente plantas nativas para obtener inóculos. Al respecto, cada vea se sabe más acerca de la interacción entre los simbiosistas estudiados. Por lo anterior, este trabajo tuvo como finalidad responder a la siguientes preguntas: Si *Bouteloua gracilis*, *Bouteloua curtipendula* y *Cenchrus ciliaris* son empleadas como plantas “trampa” ¿Cuál de estas especies fue la mejor propagadora en número de esporas de HMA? ¿Cuál de las especies

mencionadas fue la mejor planta “trampa” para propagar morfoespecies? ¿Qué especie tiene una mayor colonización micorrícica? ¿Es útil integrar la tasa de crecimiento relativo (TCR) y la biomasa vegetal en un modelo indicador del nivel de asociación micorrícica?

HIPÓTESIS

En la asociación micorrícica de las gramíneas perennes *Bouteloua curtipendula*, *Bouteloua gracilis*, la mezcla de ambas o *Cenchrus ciliaris*, es necesario el uso de herramientas que evalúen cuantitativamente la interacción entre los HMA y sus fitobiontes. Por ello, se espera desarrollar un índice de mutualismo que integre la infectividad y la efectividad, usando los parámetros: porcentaje de colonización, la tasa de crecimiento relativo, la biomasa seca del vástago o ambos respectivamente en un solo enunciado matemático mediante el cual se facilite la información obtenida de estos cultivos.

OBJETIVO

a) General:

- ❖ Determinar la efectividad e infectividad en la asociación micorrícica de tres especies de gramíneas de zonas semiáridas: *Bouteloua curtipendula*, *Bouteloua gracilis*, la mezcla de ambas o *Cenchrus ciliaris*, a fin de proponer un índice de mutualismo con base en los criterios: biomasa, tasa de crecimiento relativo y colonización micorrícica.

b) Particulares:

- ❖ Determinar el potencial de asociación de los hongos micorrizógenos arbusculares con las gramíneas bajo estudio, mediante el porcentaje de colonización de raíces.
- ❖ Comparar el número de esporas y de especies presentes en el inóculo inicial (suelo con esporas) con el inóculo final.
- ❖ Determinar la efectividad de hongos micorrizógenos arbusculares provenientes del Parque Ecológico “Cubitos” en tres gramíneas, mediante las variables: tasa de crecimiento relativo y biomasa de los fitobiontes seleccionados.
- ❖ Diseñar un índice de mutualismo y compararlo con el Índice de eficiencia micorrícica (Phavaphutenon, 1996) e Índice de dependencia mutualística (Plenchette, 1983).

MÉTODO

El proyecto se diseñó considerando tres fases: a) Propagación de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares a través de plantas generalistas (“trampa”). b) Evaluación de la efectividad e infectividad del inóculo. c) Diseño y aplicación de un índice de mutualismo (IM).

Colecta y preparación de semillas

Las semillas de *Bouteloua gracilis* se colectaron en el Parque Ecológico Cubitos, Pachuca, Hidalgo. Con coordenadas 20° 6' y 20° 7' latitud norte y 98° 44' y 98° 45' latitud oeste en octubre de 2009.

Las semillas de *Cenchrus ciliaris* y *Bouteloua curtipendula* se adquirieron de un lote comercial proveniente de California, E.U. y colectadas en agosto y septiembre de 2009, respectivamente.

Las semillas tuvieron un tratamiento pregerminativo que tiene como fin eliminar el posible estado de latencia de las semillas y con ello, estimular su germinación. El pretratamiento más exitoso en porcentaje de germinación según Rodríguez- Ochoa (1982), fue la imbibición en agua de las semillas durante 12 horas.

Se pesaron 2 g de semilla por unidad experimental, se desinfectaron con una solución de agua más hipoclorito de sodio al 5% en proporción 1:10 durante 3 minutos. Se sometieron al tratamiento pregerminativo, para posteriormente ser sembradas mediante voleo. Se regaron a capacidad de campo.

Mediante la siguiente fórmula se estimó el porcentaje de germinación:

$$\% \text{ de Germinación} = [(\text{No. de semillas}) / (\text{No. de semillas totales})] \cdot 100$$

Una vez germinadas las semillas, se cubrieron con plástico para crear efecto invernadero y así favorecer las condiciones de humedad y calor, con la finalidad de favorecer el establecimiento de las plántulas.

Lugar de trabajo

El experimento se llevó a cabo en el invernadero de la Unidad de Investigación en Ecología Vegetal de la FES Zaragoza que se encuentra en el oriente de la ciudad; el invernadero tiene una orientación de norte-sur, en su eje principal. El experimento tuvo una duración de 14 semanas. Durante este tiempo, se registraron las temperaturas máximas y mínimas del sitio.

Colecta de los HMA usados como inóculo

El inóculo de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), empleados se obtuvieron de la rizósfera de las gramíneas de *B. gracilis* y *B. curtipendula*, en el Parque Ecológico “Cubitos”, Hidalgo, en zonas consideradas como medianamente conservadas. Los suelos colectados fueron conservados a temperatura ambiente. Se pesaron 200 g de suelo para cada unidad experimental, los cuales se incorporaron con las raíces del mismo. Este suelo y sus componentes, fueron la fuente de propágulos (esporas y raíces) de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) iniciales, los cuales fueron colocados en las macetas sobre el sustrato estéril.

Preparación del sustrato

Se realizó una mezcla de sustrato conformada por arena sílica de tamaño mediano y suelo extraído de Parque Ecológico Cubitos, Pachuca, Hidalgo, en una proporción de 1:2 (v:v). La muestra de suelo con esporas presenta textura franco-arenosa (27% limo, 38% arena, 38% arcilla). Contiene 9.61% de materia orgánica, tiene un pH de 7.6, 0.2 % de Nitrógeno, 5.94 mg/kg de fósforo (Pérez y Rodríguez, 2010).

La arena sílica se agregó con el objetivo de facilitar la infiltración del agua, mejorar la aireación del sueño, evitar su compactación y favorecer la micorrización mejorando la textura del sustrato. Una vez mezclado, el sustrato se esterilizó en autoclave, durante tres periodos de una hora a temperatura de 120 °C y presión de 15 libras por pulgada cuadrada.

Selección de plantas “trampa”

La selección de las plantas “trampa” se llevó a cabo tras una investigación bibliográfica determinando que las plantas seleccionadas son altamente micotróficas, de rápido crecimiento y pertenecen al paisaje de los ecosistemas con clima árido y semiárido, precisamente de donde se obtuvieron las muestras de suelo con esporas que se utilizarán para propagar los HMA.

Preparación de macetas para la propagación de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

El procedimiento para esta etapa fue el siguiente:

- 1) Lavar y desinfectar con hipoclorito de sodio al 5% los contenedores plásticos cuyas dimensiones fueron de 24 X 19 cm y 10 cm de profundidad.

- 2) Se esterilizaron 3000 g de sustrato por unidad experimental, colocándose dentro de bolsas de polipapel en una autoclave por 3 intervalos de 1 hora cada uno. Se dejó a temperatura ambiente de 24 a 48 horas previas a su utilización.
- 3) En cada unidad se sembraron 2 g de semilla de cada especie de planta “trampa” (*Bouteloua gracilis*, *Bouteloua curtipendula* y *Cenchrus ciliaris* y una mezcla 1:1 de las dos especies de *Bouteloua* en 10 contenedores con inóculo, más 5 unidades por cada tratamiento no micorrizado.
- 4) Se tamizaron 200 g de sustrato del sitio con una malla de 2 mm y se incorporaron con el sustrato por cada unidad experimental. Estas macetas se mantuvieron en condiciones de invernadero siendo regadas a capacidad de campo durante 14 semanas.
- 5) Se adicionó un filtrado resultado de la suspensión de 200 g de suelo o inóculo inicial, al cual se le agregó un volumen de 250 mL de agua bidestilada, se agitó durante 15 minutos, se dejó reposar durante 1 hora y se filtró con un tamiz de 42 micras. El objetivo de éste es permitir el paso de bacterias y otros componentes del suelo pero no de las esporas de HMA presentes en la muestra, delimitando los efectos del estudio a las micorrización. Este filtrado bacteriano compensó la presencia de bacterias de suelo utilizados en cada unidad experimental de cada tratamiento.

Las unidades experimentales utilizadas como testigo contuvieron el filtrado bacteriano en lugar de los 200 g de suelo con esporas.

- Tratamiento micorrizado M+. Se agregaron 3400 g de la mezcla de sustrato, mezcla de suelo-arena-sílica + 200 g de suelo con esporas o inóculo inicial.
- Tratamiento no micorrizado M-. Se agregaron 3400 g de la mezcla de sustrato, mezcla de suelo-arena-sílica + filtrado bacteriano.

Riego

Las unidades experimentales fueron pesadas semanalmente (para determinar la evapotranspiración real) y se regaron con agua de la llave a capacidad de campo; cada semana se midió la altura promedio de las plantas.

Dependiendo de la temperatura registrada, el riego se realizó de una a tres veces por semana; en estos casos se realizó una suma semanal de la cantidad de agua agregada en mililitros, posteriormente se promedió el número de riegos para obtener un valor semanal.

Capacidad de campo

La capacidad de campo (CC) se determinó a fin de conocer la máxima capacidad de retención del agua de acuerdo al sustrato utilizado por maceta en los diferentes tratamientos (Maderrey, 2005), y con base en ellos calcular el agua requerida para el riego semanal. Esta técnica consiste en determinar la CC haciendo pasar una cantidad conocida de agua en otra de suelo seco por un papel filtro y con la ayuda de un embudo, dejando reposar 24 horas hasta obtener un peso constante. Finalmente se realizó el cálculo con la siguiente fórmula:

$$CC = \frac{Psh - Pss}{Pss} \times 100$$

Donde:

Psh = peso de suelo húmedo

Pss= Peso de suelo seco

Evapotranspiración real semanal y acumulada

La evapotranspiración es la cantidad de agua perdida semanalmente por evaporación del suelo de la maceta más la transpiración de la planta (Rodríguez, 2011): Esta se obtuvo mediante promedios de una diferencia de pesos obtenidos cada semana durante las 14 que duró el experimento.

$$ETR = PIS - PFS$$

Donde:

PIS= Peso al Inicio de la semana (después de cada riego)

PFS= Peso al final de la semana (antes del riego)

Para obtener la evapotranspiración real acumulada, se sumó la cantidad de agua agregada durante el tiempo del experimento y se transformaron las unidades en milímetros. Según la siguiente expresión:

$$ETR = ETR_{\text{semana 1}} + ETR_{\text{semana 2}} + \dots + ETR_{\text{semana 14}}$$

Eficiencia en el uso del agua

La eficiencia en el uso del agua, o WUE por sus siglas en inglés (Water Use Efficiency) se define como la proporción entre la materia seca producida y el consumo de agua en un periodo determinado; este cociente es importante en zonas semiáridas pues determina qué especies (o bajo qué condiciones) producen mayor biomasa por unidad de agua consumida.

En esta investigación se definió la eficiencia en el uso del agua a partir de la siguiente ecuación (Salisbury y Ross, 1994, citado por Díaz-Hernández, 2011):

$$WUE = (\text{g de biomasa aérea total}) / \text{kg de agua irrigada total}$$

Por lo que las unidades en las que se expresa son: g de biomasa/ kg de agua

Supervivencia

La supervivencia de las plantas se registró semanalmente desde el inicio del periodo de desarrollo en el invernadero, cuando las plántulas alcanzaron una talla mínima de 5 cm. Al término del experimento, se calculó el porcentaje de número de plantas vivas respecto al número inicial de plantas.

Evaluación de la efectividad

El estudio de la efectividad de los HMA en las plantas está enfocado en el estudio de los beneficios que la planta recibe del hongo, los cuales se pueden medir a través de la supervivencia u otras variables de crecimiento.

a) Talla máxima

La altura se calculó a partir de un promedio de 10 individuos de diversas tallas por 7 unidades experimentales. Se seleccionaron 5 unidades al azar. La misma se comenzó a medir una vez que se establecieron los organismos y que tuvieron una talla mínima de 5 cm. Se reportó la altura promedio final.

b) Tasa de crecimiento relativo (TCR)

Se calculó a partir de la altura máxima con base a la altura de los organismos de acuerdo a la siguiente fórmula propuesta por Grime (1989) y Villar *et al.* (2004) en Rodríguez, (2011):

$$TCR = [\ln(\text{altura final}) - \ln(\text{altura inicial})] / \text{Número de días}$$

c) Biomasa seca del vástago

La biomasa seca del vástago de las gramíneas se determinó obteniendo el 100% de la biomasa aérea de las plantas establecidas en 7 unidades experimentales seleccionadas al azar por cada tratamiento micorrizado y 3 por cada tratamiento no micorrizado, retirando al organismo de la raíz, mediante corte con tijeras de jardinería, para posteriormente secar en estufa a 35 ° C hasta obtener un peso constante (Hunt *et al.* 2002; Rodríguez, 2011).

Obtención del inóculo multiespecífico

Posterior a las 14 semanas de cultivo, se suspendió el riego por los próximos 25 días para favorecer los procesos de esporulación de los HMA.

Una vez secas las plantas de gramíneas, se podaron a nivel de suelo. El sustrato de cada unidad experimental se homogeneizó, desfragmentando agregados y cortando en porciones pequeñas las raíces secas. Se tomaron 100 g de cada unidad experimental y se colocaron en muestras compuestas de 1000 g, mismas que se almacenaron en bolsas de polipapel con etiquetas a 4 °C.

Evaluación de la infectividad

La infectividad está directamente relacionada con la capacidad del hongo de interactuar con la planta, en este caso:

Conteo de esporas y caracterización del inóculo

A partir de los inóculos multiespecíficos obtenidos, se realizó una caracterización de los HMA propagados según la técnica de tamizado en vía húmeda por cada 100 g de suelo, descrito por Gendermann y Nicholson, (1963), en combinación con la técnica de flotación en azúcar (Brundett, 1996; Chimal, 2010; Trejo *et al.*, 2008).

Se describieron los morfotipos, densidad y abundancia de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares presentes en el sustrato por cada 100 g de suelo, posteriormente se extrapolaron los datos en función de la cantidad de inóculo obtenido producto de la propagación de los HMA.

Procedimiento:

Se pesaron 50 g de suelo seco en un vaso de precipitados, se suspendió en un litro de agua corriente. Posteriormente, se agitó con la ayuda de un agitador mecánico (marca Oster modelo 2523-13 440-20) por 5 minutos. Se dejó reposar de 15 a 20 segundos para después decantar el sobrenadante en una serie de tamices de diferentes tamaños de poro, colectando el contenido del tamiz más pequeño con una piseta en dos tubos para centrífuga. La centrifugación se llevó a cabo durante 5 minutos a 2000-2500 rpm.

Del material ya centrifugado se desechó el sobrenadante de los tubos, se resuspendió el precipitado y se le agregó sacarosa al 50% para centrifugar nuevamente, esta vez entre las 1500 y 2000 rpm durante 1 minuto. El centrifugado se enjuagó en el tamiz más pequeño para ser depositado en cajas petri previamente cuadrículadas en campos visuales de 0.5 cm x 0.25 cm. Los datos obtenidos se extrapolaron a 100 g de suelo reportándose como número

de espora por cada 100 g de suelo. Cada tratamiento se analizó por triplicado en un microscopio estereoscópico a 10 x de aumento.

Colonización radical

La técnica que se empleó fue la evaluación de la colonización micorrícica arbuscular total y fraccionada en el sistema radical de plantas de interés mediante la técnica de tinción propuesta por Phillips y Hayman (1970), con modificaciones y consejos de Vierheilig *et al.* (2005) y Hernández- Cuevas (2008). De acuerdo al siguiente procedimiento:

Obtención de raíces

Se obtuvieron al azar, las raíces de las plantas contenidas en tres unidades experimentales al azar una vez que el periodo sin riego terminó. Se obtuvieron las más finas de la zona rizosférica (menores a 2 mm de grosor), mediante una pala para jardinería.

Clareo y tinción de raíces con azul de tripano al 0.05 %

1. Se lavaron las raíces con agua de la llave, para después cortarlas en segmentos de 3-4 cm y colocarlas en frascos plástico de 250 ml y dentro de cajas histológicas a los cuales se les agregó KOH al 5% para cubrirlas. Se procedió a calentarlas en autoclave a 15lb de presión durante 15-30min, enseguida se eliminó el KOH y se enjuagaron las raíces con agua de la llave.

2. Las raíces se cubrieron con HCl al 10% durante 10 min.

3. Se decantó el HCl y sin enjuagar las raíces se añadió una solución de azul tripano al 0.05% durante 24h a temperatura ambiente o por 30 a 40 min en baño maría.

4. Se decantó el colorante con ayuda de un tamiz de 44 micras o coladera para evitar la pérdida de raíces. Se enjuagaron con una piseta para eliminar el exceso de colorante.

5. Las raíces se colocaron en lactoglicerol para eliminar la tinción excesiva y obtener un mejor contraste entre las células corticales de la raíz y las estructuras de los HMA.

6. Las raíces teñidas se colocaron en una caja de Petri donde se cortaron en secciones de 1.5 cm de longitud procurando hacer el corte con un bisturí, se tomaron al azar 20 segmentos y se posicionaron en forma paralela a lo largo de un portaobjetos, se adicionó agua o PVLG y mediante “squash” se colocó un cubreobjetos. Las preparaciones se dejaron secar a 60° C por 24 h. Cada muestra se elaboró por triplicado.

Se revisaron los campos ópticos y se registró la presencia ausencia de hifas, vesículas y/o arbusculos, independientemente de la intensidad de la colonización. El porcentaje de la micorrización se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de colonización total: } (\text{No. de segmentos colonizados}) / (\text{No. de segmentos totales}) \times 100$$

Debido a la poca información sobre las especies que colonizan a la planta, es necesario complementar esta técnica con conteo y determinación de esporas pues estas revelan la abundancia y diversidad de los HMA dentro de un ecosistema, además de elementos importantes en la taxonomía de este tipo de organismos (Varela y Trejo, 2001).

Diseño del índice de mutualismo (IM)

En este trabajo se determinó la correlación entre la efectividad e infectividad del inóculo de HMA sobre las plantas propagadoras. La infectividad se mide a través del porcentaje de colonización micorrícica de las raíces de la especie empleada como modelo u organismo de comparación. La efectividad se mide a través de parámetros del desarrollo vegetal claves, como la biomasa total y la tasa de crecimiento relativo (TCR).

Una vez establecidas las plántulas, se evaluaron los efectos de la asociación con base a los criterios en términos de infectividad (colonización micorrícica, densidad y diversidad de esporas en el suelo) y efectividad: TCR, producción de biomasa total (g). Con estos datos se obtuvo el índice de mutualismo (IM).

- a) Considerando biomasa total ó TCR (efectividad) y porcentaje de colonización micorrícica (infectividad):

$$\text{IM} = [\text{Bt (M+)} / \text{Bt(M-)}] (\% \text{ de colonización micorrícica})$$

$$\text{IM} = [\text{TCR (M+)} / \text{TCR (M-)}] (\% \text{ de colonización micorrícica})$$

- b) Integrando biomasa total, TCR, y porcentaje de colonización micorrícica (infectividad) =

$$\text{IM} = [\text{Bt(M+)}/(\text{Bt (M-)})*[\text{TCR(M+)}] (\% \text{ Colonización micorrícica})$$

donde:

Bt= Biomasa total (g) tanto de las plantas micorrizadas (M+) como de las plantas no micorrizadas (M-).

TCR= Tasa de crecimiento relativo

El índice es adimensional y sus valores varían entre 0 a >100, de acuerdo a la siguiente tabla:

Cuadro 1. Descripción del índice de mutualismo (IM)

IM	Nivel	Tipo de asociación	Conectividad
0-20	+	Laxa	Menor
20-40	++	Intermedia	Media
40-60	+++	Vinculante	Alta
60-80	++++	Muy vinculante	Muy alta
80 a >100	+++++	Vinculación Total	Total

Este índice se utilizó para evaluar la correlación entre la infectividad y le efectividad de los cuatro inóculos de HMA, generados con las diferentes plantas “trampa”

Índice de eficiencia micorrícica (IEM)

Se estimó la respuesta de las gramíneas a la inoculación micorrícica a través del Índice de Eficiencia Micorrícica (IEM) de acuerdo a la ecuación de Phavaphutanon (1996), con base en el peso seco de la biomasa previamente calculado y de acuerdo al a siguiente fórmula:

$$\text{IEM} = \frac{[\text{Ps (M+)}] - [\text{Ps (M-)}]}{[\text{Ps (M+)}]} * 100$$

Donde Ps= Peso seco

M+= Peso seco de plantas micorrizadas y M-= Peso seco de plantas no micorrizadas

Índice de dependencia micorrícica (IDM)

Se estimó la respuesta de las gramíneas a la inoculación micorrícica a través del Índice de dependencia micorrícica (IDM) de acuerdo a la ecuación que relaciona las variables de crecimiento o rendimiento de las plantas micorrizadas con las no micorrizadas, expresadas a su vez en porcentaje (Plenchette, 1983).

La ecuación de la dependencia micorrícica es la siguiente:

$$\text{IDM} = \frac{[\text{Ps (M+)}] - [\text{Ps (M-)}]}{[\text{Ps (M+)}]} * 100$$

Donde: PsM+ es el peso seco total de la planta micorrizada y Ps M- es el peso seco total de la planta no micorrizada.

Diseño experimental

El lote experimental constó de 10 macetas (Unidades experimentales) por tratamiento (repeticiones) y 10 macetas como testigo de acuerdo a la siguiente nomenclatura:

4 tratamientos (T) X 2 condiciones de micorrización = 80 macetas o UE

Cuadro 2. Diseño experimental

M+ (Con inóculo)	M- (Sin inóculo)
<i>Bouteloua gracilis</i>	<i>Bouteloua gracilis</i>
<i>Bouteloua curtipendula</i>	<i>Bouteloua curtipendula</i>
<i>Cenchrus ciliaris</i>	<i>Cenchrus ciliaris</i>
Una mezcla 1:1 de semillas <i>B. gracilis</i> y <i>B. curtipendula</i>	Una mezcla 1:1 de semillas <i>Bouteloua gracilis</i> y <i>Bouteloua curtipendula</i>

Diseño estadístico

En cada lote, al final de la fase de propagación (14 semanas) se analizaron las siguientes variables de respuesta:

- No. de esporas/ 100 g de suelo, morfoespecies y diversidad de esporas.
- Tasa de crecimiento relativo (TCR)
- Evapotranspiración real (ETR) acumulada
- Supervivencia de las unidades
- Biomasa seca del vástago

El tratamiento estadístico aplicado a esta investigación consistió en una comparación de medias de unidades micorrizadas (M+) y no micorrizadas (M-), previa prueba de Normalidad y homocedasticidad utilizando ANOVA de dos factores y la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos, según fuese el caso, utilizando el programa estadístico InfoStat/E, versión 2011.

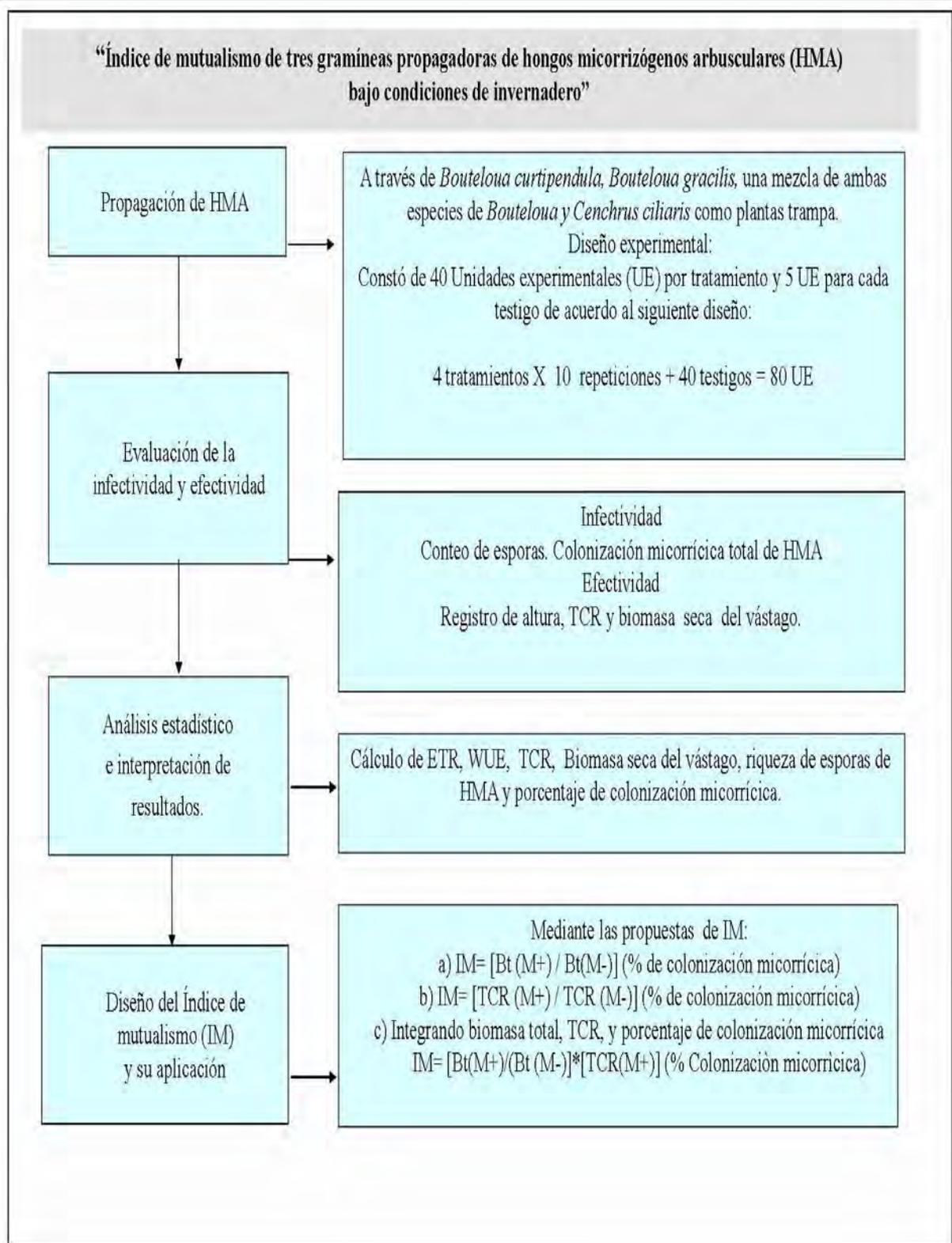


Figura 6. Diagrama de flujo del método.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Germinación

En relación los resultados obtenidos en las pruebas de germinación, se observó que *B. curtipendula* y *B. gracilis* ya sea de manera aislada o asociadas, obtuvieron el porcentaje mas alto de germinación en el 4° día, mientras que *C. ciliaris* requirió de dos días adicionales. La asociación de *Bouteloua* presentó el mayor porcentaje de germinación, siendo superior al 80%, seguido de *Cenchrus ciliaris* y *B.gracilis*. *B. curtipendula* obtuvieron un porcentaje superior al 60%, siendo este el más bajo (gráfico. Lo cual concuerda con lo expresado por Rodríguez (2011), quien reporta 90% en el quinto día. La diferencia entre los resultados pese a que las condiciones del experimento son similares, puede deberse en este caso, a que la germinación se vio influida por las temperaturas mínimas las cuales se encontraron por debajo de las óptimas reportadas por Flores (1994) y Rodríguez (1982) (gráfico 2), que sugieren temperaturas constantes entre los 16 y 37 °C para *B. gracilis* y 23 a 31 °C para *B. curtipendula* ambas especies adaptadas a climas cálidos. Esto posiblemente se encuentra relacionado con la estacionalidad, dado que el experimento se realizó en invierno.

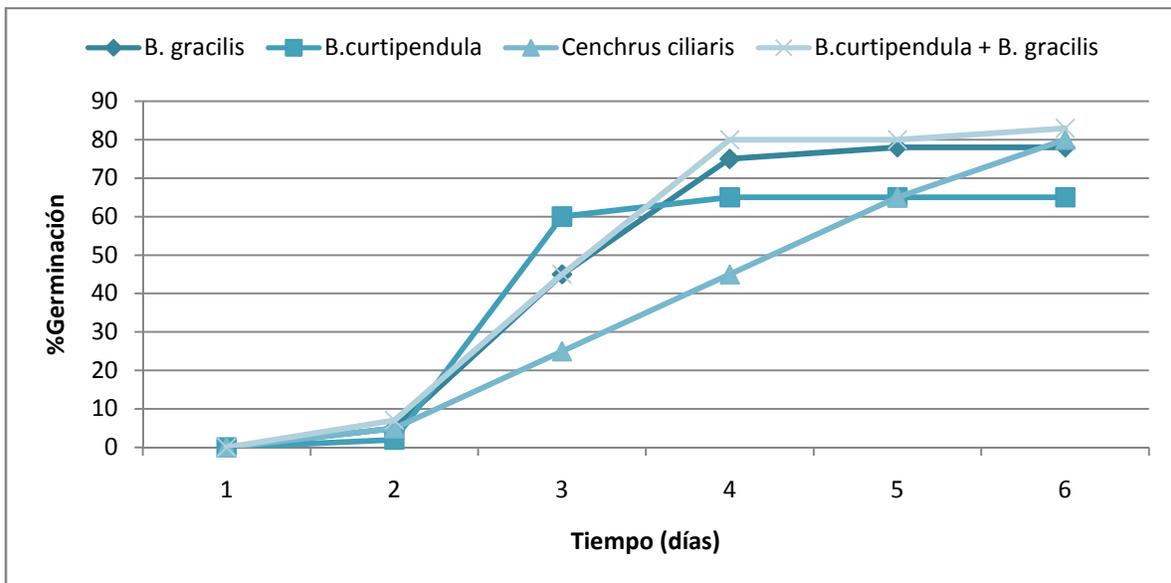


Gráfico 1. Porcentaje de germinación total de plantas "trampa"

Temperaturas de invernadero

Con respecto a las temperaturas registradas en el invernadero se observó que la más alta fue de 31.6 °C y la mínima de 23.08 °C con promedios de 26.3 °C, la temperatura máxima y 8.3 °C la mínima, durante las 14 semanas de octubre a enero en que se llevó a cabo el experimento. (gráfico 2).

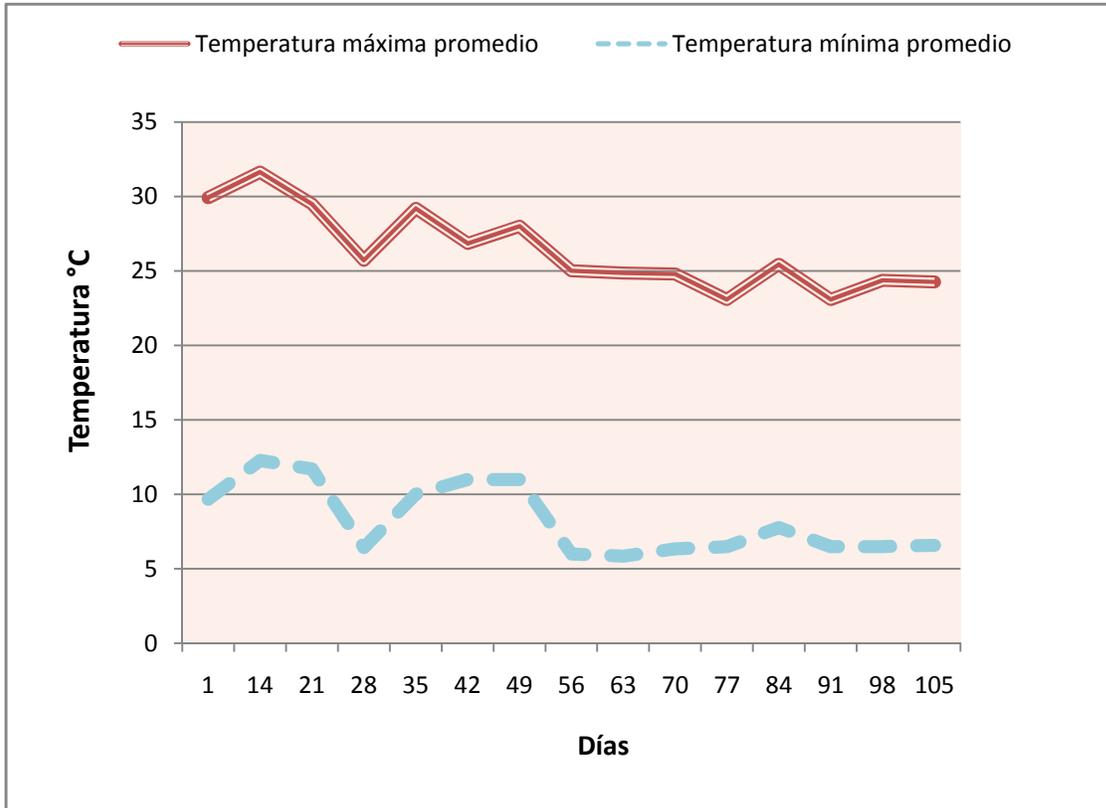


Gráfico 2. Temperaturas máximas y mínimas promedio registradas en el invernadero durante cuatro semanas

Evapotranspiración real acumulada (ETR)

En todos los tratamientos se observó que las unidades micorrizadas transpiraron menos que las no micorrizadas pero sin presentar diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$). En la evapotranspiración real no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre especies (gráfico 3), Lo cual indica que la micorrización no tuvo efecto en los procesos de aprovechamiento del agua (Augé, 2001).

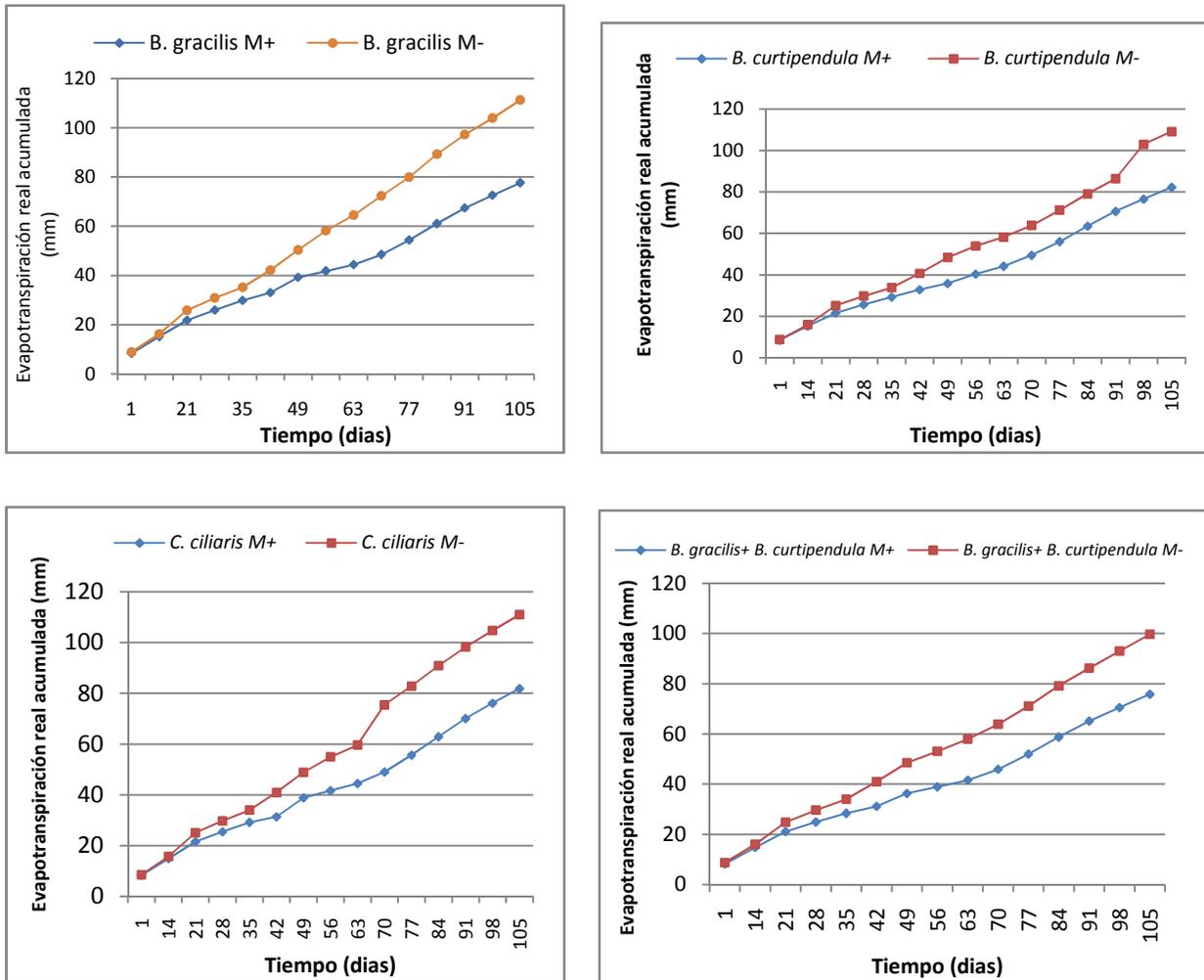


Gráfico 3. Evapotranspiración real acumulada para los dos tratamientos: no micorrizado (M-) y micorrizado (M+) y las cuatro especies durante 14 semanas. Letras iguales indican que no se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$).

Eficiencia del uso del agua (WUE)

En cuanto a la evaluación de la WUE, se obtuvo mejor resultado con la asociación de *Bouteloua*, seguido de *Cenchrus ciliaris*. Las contrastes dados en gramos de biomasa por kilogramos de agua son importantes, por ejemplo, entre la mezcla de *Bouteloua* y *Cenchrus ciliaris* existe una diferencia de hasta 0.0216 g entre *Bouteloua gracilis* y *Cenchrus ciliaris*, respectivamente (gráfico 4). No hubo diferencias significativas entre tratamientos como en condiciones de micorrización lo cual indica que la asociación no influyó en la Eficiencia del uso del agua.

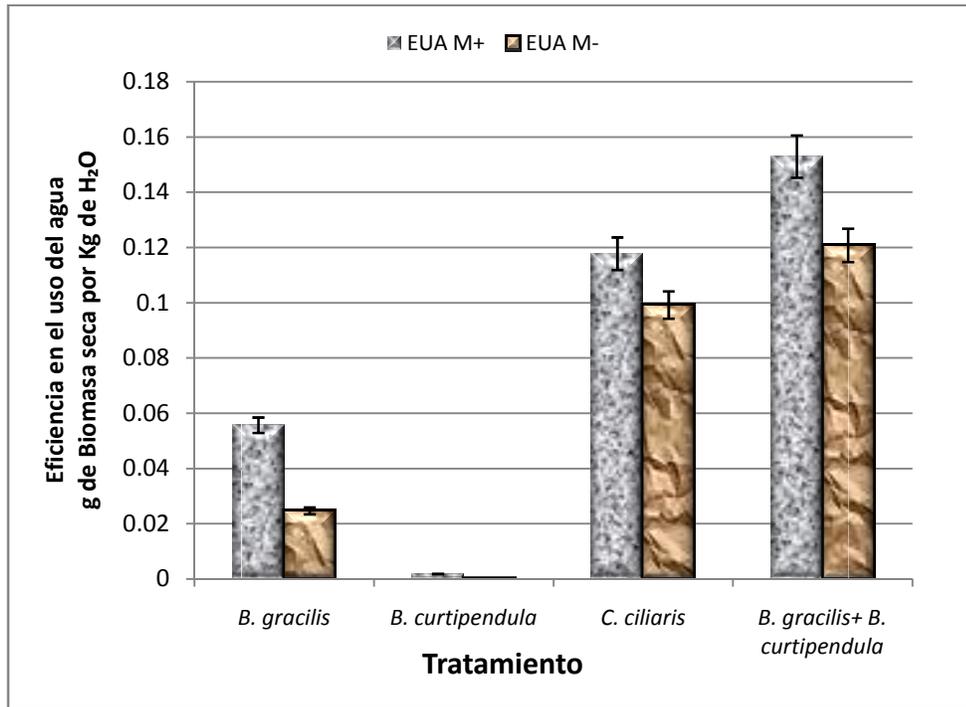


Gráfico 4. Eficiencia en el uso del agua promedio.

Evaluación de la efectividad

Supervivencia

Se observó significativamente mayor supervivencia en *Cenchrus ciliaris* ($p > 0.05$), *B. gracilis* + *B. curtipendula* y *B. gracilis*, en comparación con *B. curtipendula*, en la cual no se logró el establecimiento de plantas de dicha especie (Gráfico 5) posiblemente debido a la estacionalidad donde las bajas temperaturas influyeron en el establecimiento. Así mismo, *B. curtipendula* se encuentra fuertemente asociada a condiciones de micrositio (García-Sánchez, *et al.*, 2005) La supervivencia así como la germinación se hallan relacionados a la estacionalidad (Hartmann, 1999) así que se dicha condición puede deberse al periodo invernal en el que fue llevada a cabo la investigación.

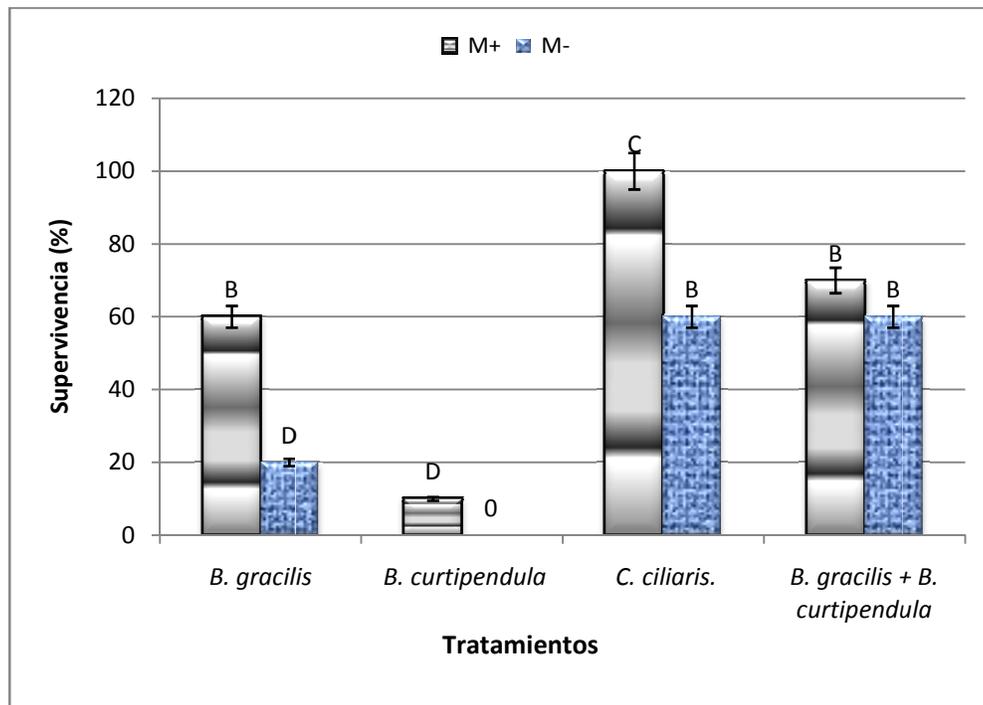


Gráfico 5. Supervivencia de las plantas hospederas en cuatro tratamientos para propagar y masificar hongos micorrizógenos arbusculares. Letras iguales indican que no se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$)

Talla máxima

Se registró el crecimiento final en altura a los 105 días de la investigación por tratamiento (gráfico 6), se observó que *C. ciliaris* presentó altura significativamente mayor que los demás tratamientos en su tratamiento micorrizado (M+). El segundo tratamiento que alcanzó una talla mayor fue el de la mezcla de *Bouteloua* ($p > 0.05$). Posteriormente, se procedió a un periodo de 15 días sin riego para favorecer la esporulación como se observa en la figura 7. Los resultados sugieren una mayor adaptabilidad a las condiciones del suelo y medio ambientales por parte *C. ciliaris*, de acuerdo como lo han documentado Ribotta, *et al.*, (2005), así como una rápida respuesta metabólica (Beltrán, 2006).

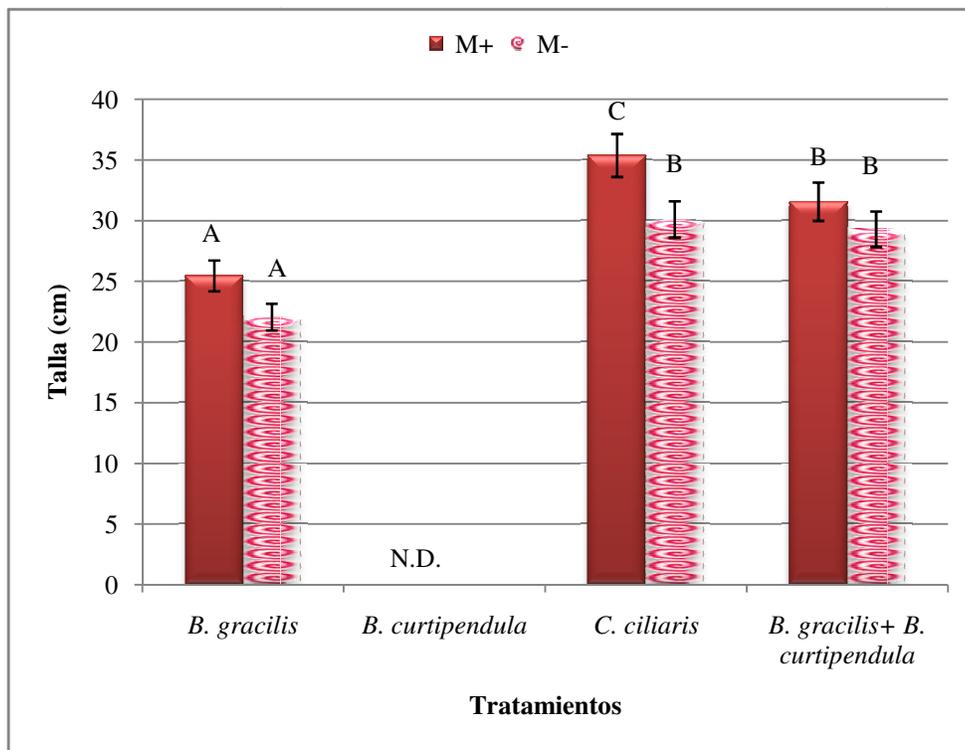


Gráfico 6. Talla máxima promedio. N.D.= No determinado Letras iguales indican que no se hallaron diferencia estadísticas significativas ($p < 0.05$)



Figura 7. Proceso de sequía para favorecer la esporulación

Tasa de crecimiento relativo (TCR)

Los resultados indican diferencias significativas en el tratamiento *B. gracilis* + *B. curtispindula* para la variable TCR ($p > 0.05$) inoculado con micorrizas y *C. ciliaris* con respecto a los demás tratamientos. Sin embargo, todos los tratamientos obtuvieron diferencias significativas entre sí, sin haberlas entre las condiciones de micorrización (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tasa de crecimiento relativo promedio por tratamiento. N.D.= No determinado Letras iguales indican que no se hallaron diferencia estadísticas significativas ($p < 0.05$)

Tratamiento	TCR M+ (d ⁻¹)	TCR M- (d ⁻¹)
<i>B. gracilis</i>	0.016 ^{AB}	0.0138 ^A
<i>B. curtispindula</i>	ND	ND
<i>C. ciliaris</i>	0.018 ^D	0.0160 ^{CD}
<i>B. gracilis</i> + <i>B. curtispindula</i>	0.017 ^{CD}	0.0155 ^{BC}

Biomasa

Dentro de los tratamientos cuya producción de biomasa es mayor se encuentra el de *B. gracilis* + *B. curtispindula* micorrizado el cual es estadísticamente mayor que su condición no micorrizada. En segundo término, *C. ciliaris* no obtuvo diferencias significativas entre sus condiciones de micorrización. Dicha condición ha sido causa de que todas las especies investigadas posean un alto grado forrajero, y que incluso sea una de las plantas con mejor desempeño, como lo menciona Griffa, *et al.*, (2005)

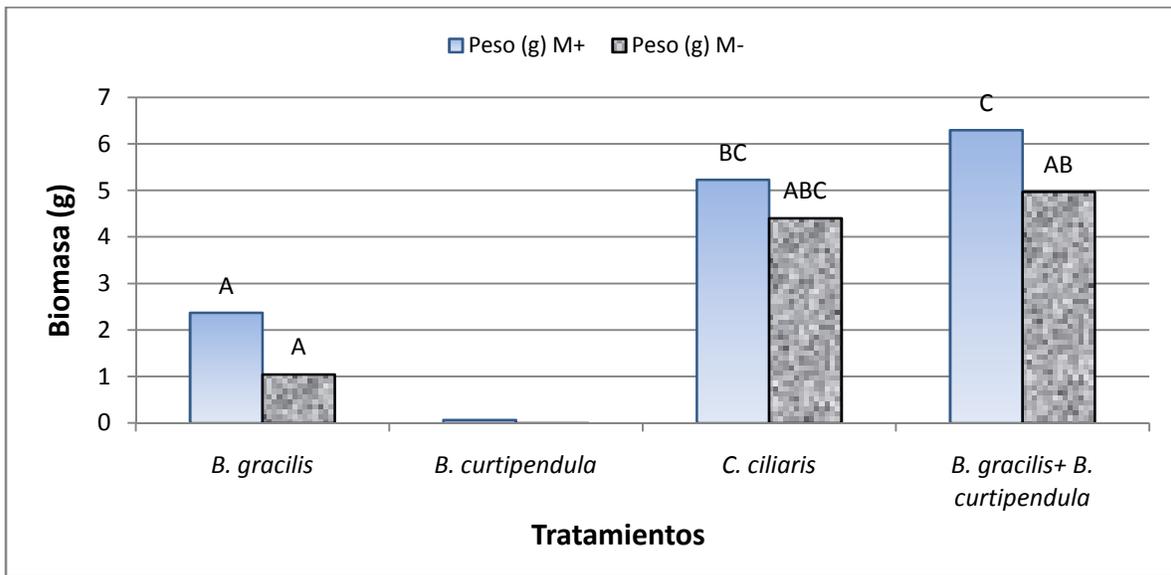


Gráfico 7. Biomasa seca del vástago. Letras iguales indican que no se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$)

Evaluación de la infectividad

Conteo de esporas y caracterización del inóculo

Los datos de la caracterización inicial como referencia son los estudiados por Rivas (2012), donde se menciona que el suelo colectado en la rizósfera de gramíneas fue tomado de un matorral xerófito del parque ecológico “Cubitos”, el cual presentó 283 esporas en promedio y una riqueza de 11 morfotipos de HMA de manera inicial, en condiciones naturales se observa una mayor riqueza de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares comparada con la final (cuadro 4).

Posterior al proceso de propagación del inóculo inicial en todos los tratamientos se presentó disminución en la densidad de esporas de HMA. La especie *F. mosseae* fue dominante en todos los tratamientos, lo cual coincide con lo descrito por Covacecich y Echeverría, (2010). No se detectaron otras especies presentes en el inóculo final.

Las especies iniciales y finales se concentraron en el orden Glomerales de acuerdo a González Chávez *et al.* (2008) quienes mencionan que el género *Glomus* es predominante en zonas áridas y semiáridas lo cual concuerda con los resultados de esta investigación. Además, la densidad de esporas es similar a lo reportado en otros ambientes semiáridos de México (Camargo-Ricalde y Dhillion, 2003).

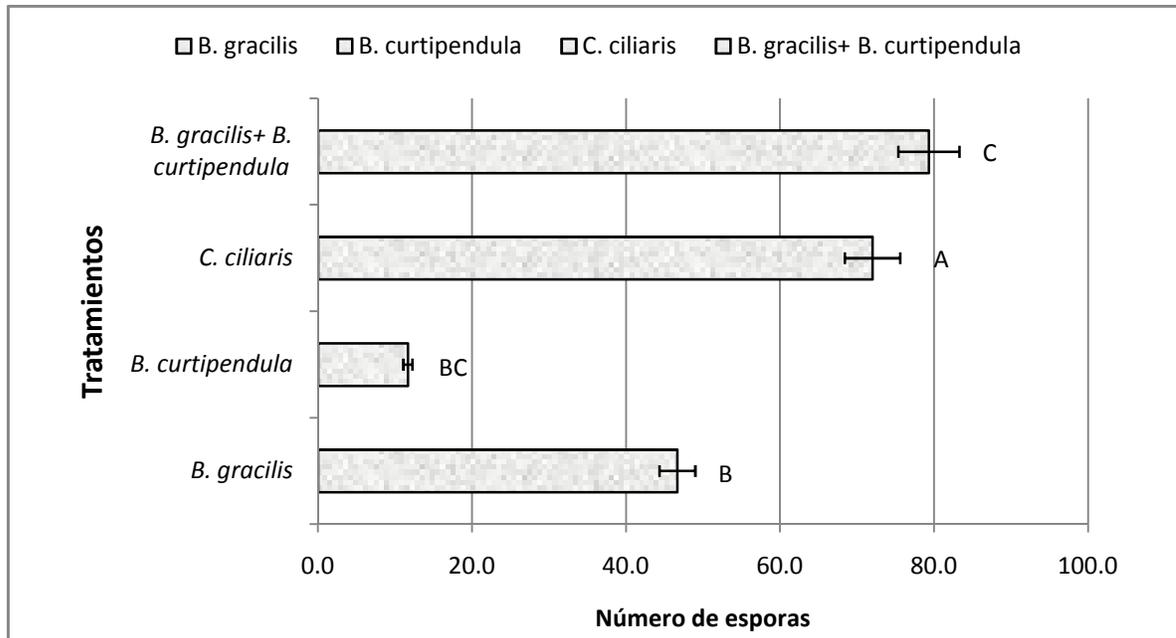


Gráfico 8. Densidad de esporas promedio de hongos micorrizógenos arbusculares al final del proceso de masificación en cuatro tratamientos. Abreviaciones: Letras iguales indican que no se hallaron diferencia estadísticas significativas ($p < 0.05$)

Cuadro 4. Esporas de HMA del inóculo inicial comparadas con la obtenida después de la propagación

Especies promedio del inóculo inicial (esporas/ 100g de suelo)	Densidad final (esporas/ 100g de suelo)	Especies promedio del inóculo inicial (esporas/ 100g de suelo)	Densidad final (esporas/ 100g de suelo)
<i>Funneliformis mosseae</i>	105	<i>Funneliformis mosseae</i>	
<i>Ambispora sp.</i>	23	Tratamientos:	
<i>Glomus aggregatum</i>	26		
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	38	<i>B. gracilis</i>	79
<i>Glomus sp.</i>	15		
<i>Pacispora sp.</i>	4		
<i>Glomus sp.1</i>	27	<i>B. curtispindula</i>	ND
<i>Funneliformis geosporum</i>	10		
<i>Glomus sp.3</i>	9		
<i>Gigaspora margarita</i>	11	<i>C. ciliaris</i>	47
<i>Acaulospora sp.3</i>			
		<i>B. gracilis</i> + <i>B. curtispindula</i>	72

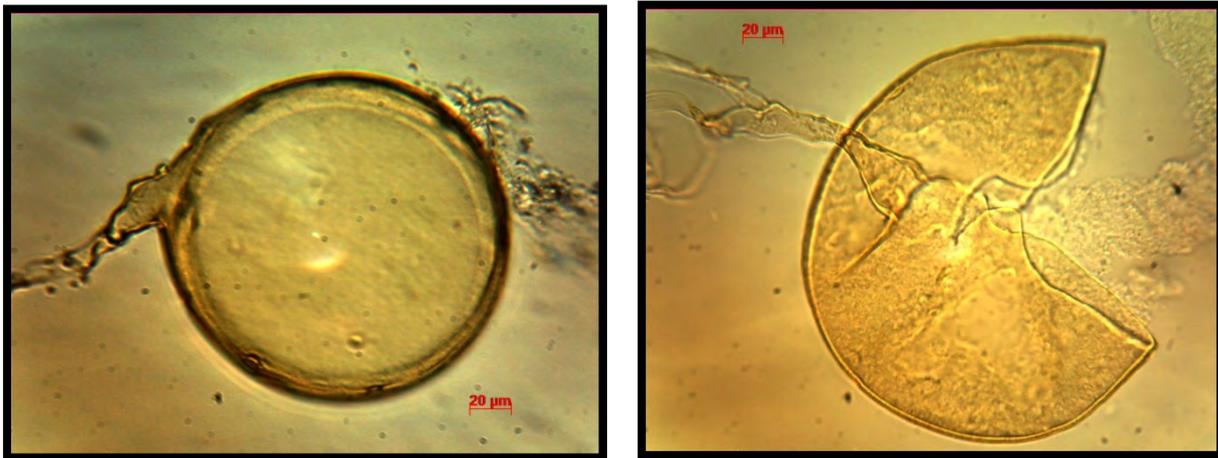


Figura 8. *Funneliformis mosseae*. Especie posterior a la propagación presente en todos los tratamientos.

Se determinó mayor número de esporas en los tratamientos donde se emplearon hospederos de *Bouteloua* asociados y *B. gracilis* por separado, seguido del tratamiento con *C. ciliaris*, mientras que en el tratamiento con *B. curtipendula* no fue considerado al no establecerse plantas “trampa” que dieran lugar a la asociación (gráfico 8).

Debido a la cantidad de esporas cuantificadas en los inóculos finales. *F. mosseae* fue la especie de HMA determinada que formó esporas en mayor abundancia (gráfico 9), lo cual es interesante resaltar, dado que en todos los tratamientos, no ocurrió una propagación en función de la cantidad de esporas, pero si de una selección por parte de las plantas hospederas, lo sucedido puede deberse por una parte a la especificidad ecológica y la compatibilidad funcional entre simbioses que ha sido demostrado que ocurre en suelos no maduros o en formación (Shüßler, 2001). En este caso, *F. mosseae* puede estarse expresando como una especie pionera en el sustrato final.

Por otra parte la densidad de esporas obtenidas son consecuencia de una serie de circunstancias ambientales particulares ya que la estacionalidad ambiental asociado a las lluvias o sequías así como a la temperatura son factores determinantes en la composición y la variación de la población de HMA en zonas áridas. En este aspecto, la respuesta de la colonización radical y, es un factor determinan la esporulación de los HMA es muy y por ello resulta variable (Branberger *et al.* 1994; Jasper, 1993).

Aún cuando en los tratamientos *C. ciliaris* y *B. gracilis* + *B. curtipendula* las plantas tuvieron mejor crecimiento, mayor supervivencia y colonización micorrícica arbuscular si se obtuvo mayor densidad de esporas comparadas con *C. ciliaris*.

De acuerdo a los resultados, el mejor tratamiento para propagar los HMA es E4, donde la asociación de *B. gracilis* y *B. curtipendula* favorece la asociación simbiótica en contraste cuando las plantas se encuentran de forma aislada.

Es interesante analizar el desempeño de *C. ciliaris* en esta investigación, debido al papel ecológico que esta especie representa. Stiling, (1992) describe dos tipos de especies según la capacidad ecológica de interactuar con su medio, unas son descritas como “invasoras” las cuales no necesariamente se asocian con la microbiota del suelo, en este caso *Cenchrus ciliaris* es una planta de este tipo, lo que puede explicar la menor capacidad de propagar esporas así como el menor porcentaje de colonización comparado con la asociación de *Bouteloua* y *Bouteloua gracilis* por separado, las cuales no sólo obtuvieron una alto porcentaje de colonización sino una mayor propagación de esporas. El autor describe dichas especies como “maduras” pues logran interactuar con la microbiota edáfica favoreciendo las condiciones de la rizósfera para beneficio de la sucesión ecológica. Al respecto, Busby *et al.* (2012), analizó la capacidad de los organismos nativos como (*B.*

gracilis y *B. curtispindula*) de ser seleccionados por los HMA sobre de las plantas exóticas o invasoras como *C. ciliaris*.

Colonización radical

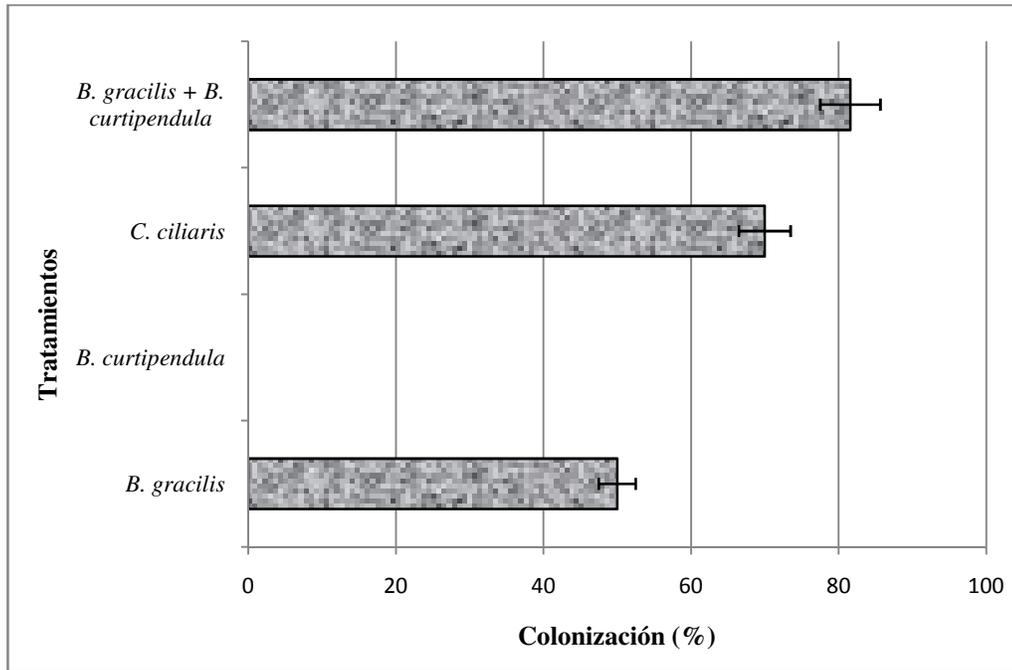


Gráfico 9. Colonización micorrizica arbuscular en cuatro tratamientos con diferentes hospederos.

Índice de mutualismo

En el cuadro 5 se observa que los valores obtenidos donde se emplean las variables biomasa seca aérea y TCR por separado, los cuales son muy heterogéneos (Cuadro 4).

El índice de mutualismo que considera ambos criterios permite un valor más estable, que al compararse con lo observado durante el experimento, refleja la interacción de las plantas “trampa” con el hongo. Así, *Bouteloua gracilis*, presentó un alto IM que corresponde con su capacidad de propagar esporas, colonizarse pero no necesariamente de generar biomasa. Así mismo, *Cenchrus ciliaris*, generó más biomasa seca del vástago, sin embargo no logró el mayor número de esporas estadísticamente.

Cuadro 4. Propuestas de diseño de un índice de mutualismo. Abreviatura: .N. D. = no determinado.

Tratamiento	IM 1 (Biomasa seca aérea)	IM 2 (TCR)	IM 3 (Bt/TCR)
<i>E1 (B. gracilis)</i>	113.0952	54.13750	90.0897
<i>E2 (B. curtipendula)</i>	N.D.	N.D.	N.D.
<i>E3 (C. ciliaris)</i>	83.11706	139.28435	48.43137
<i>E4 (Bg + Bc)</i>	103.31855	85.97325	84.57933

Cuadro 5. Índice de eficiencia micorrícica e Índice de dependencia micorrícica. N.D.= No determinado.

Tratamiento	IM (Biomasa seca aérea)	IM (TCR)	IM (Bt/TCR)	IEM
<i>E1 (B. gracilis)</i>	113.0952	54.13750	90.0897	55.7894
<i>E2 (B. curtipendula)</i>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>E3 (C. ciliaris)</i>	83.11706	139.28435	48.43137	15.7814
<i>E4 (Bg + Bc)</i>	103.31855	85.97325	84.57933	21.0209

C. ciliaris obtuvo el mayor IM mediante la tasa de crecimiento relativo que con biomasa total, caso contrario del tratamiento de mezcla de *Bouteloua (Bg+Bc)*. *C. ciliaris* y las especies de *Bouteloua* asociadas presentan un índice de 139.28 y 85.9, respectivamente, lo cual indica que existe una conectividad total en ambos casos (cuadro 5).

Resulta importante destacar que si se comparan los datos obtenidos mediante el IM con los de IEM e IDM, los valores son sumamente diferentes, pues ambos proporcionan poca información la interacción entre la infectividad y la efectividad en la simbiosis, el valor considera parcialmente la infectividad o sea, la capacidad del hongo de colonizar la planta (cuadro 5).

Planchette propuso un Índice de Dependencia Micorrícica que ha sido utilizado desde 1983, éste índice está diseñado a partir de un cociente de las biomásas secas entre tratamientos micorrizados y no micorrizados y a partir de ello, calcular un porcentaje. Dicho índice deja de lado la capacidad de los simbiontes para determinar los beneficios necesarios para la planta en un momento específico, el cual no necesariamente indica una baja interacción o dependencia del hongo por la planta. Ambos índices se detallaron en función de la concentración de fósforo que es el principal nutrimento obtenido por la planta resultado de la asociación. Sin embargo, varios autores concuerdan en que el fósforo no es el único nutrimento ni beneficio que obtiene el fitobionte del micobionte pues nuevas aportaciones indican que el hongo puede optimizar la tolerancia a la herbivoría, a organismos patógenos, entre otros (Busby *et al.*, 2012)

Phavaphutanon (1996 y Carvalho, 2004 plantean Índices similares basados en la biomasa y concentración de fósforo, en ambos casos ocurre lo mismo que con el propuesto por Planchette (1983), es decir, que sus consideran parcialmente la interacción micorrícica cuya interpretación puede verse limitada al no contemplar la infectividad y la efectividad de manera integrativa dado que en las fechas en las que se propusieron estos índices aún no se conocían algunas propiedades de la micorrización.

El Índice de Mutualismo propuesto contempla los aspectos relevantes de la interacción en un solo parámetro, la cual permite a su vez, interpretar cómo está ocurriendo dicha interacción simbiótica: ya sea que el hongo le esté facilitando los nutrimentos a la planta y que estos puedan ser evaluados mediante parámetros como Tasa de Crecimiento Relativo o Biomasa Total (efectividad) o que la interacción le otorgue otros beneficios no necesariamente reflejados en éstos datos, sino a partir de parámetros como la colonización radical o el conteo de esporas (infectividad).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El mejor tratamiento para la propagación de HMA en esta investigación es la mezcla de ambas especies de *Boutelouoa*, las cuales obtuvieron un mayor número de esporas, mayor porcentaje de colonización por una parte, por otra, mayor talla y biomasa aérea, lo que muestra que en conjunto, tienen un mejor desempeño que de manera aislada.

El uso de las especies nativas son adecuadas como plantas hospederas para propagar los HMA dada su adaptación y pertenencia al sitio, comparativamente con especies exóticas que pueden incluso deteriorar los recursos del suelo. Sin embargo, se requieren investigaciones posteriores para corroborar si los inóculos generados en esta investigación son idóneos para inocular plantas con fines agrícolas o en la restauración ambiental.

El índice de mutualismo propuesto expone una herramienta útil y factible que evidencia la fuerza de interacción de la simbiosis micorrícica, debido a que integra las variables más propias y representativas de la asociación.

Las asociaciones micorrícicas estudiadas con plantas nativas muestran una fuerte dependencia por parte de ambos simbioses.

Para una adecuada propagación de los HMA se recomienda considerar la estacionalidad, dado que las especies investigadas responden mejor a las altas temperaturas y a una alta radiación solar.

Se sugiere para próximas investigaciones contemplar un periodo de propagación mayor, dado que, como se mencionó antes, las especies responden a ciclos anuales derivados de sucesiones ecológicas.

LITERATURA CITADA

- Allen, M.F. 1991. The Ecology of Mycorrhizae. Cambridge Studies in Ecology. Cambridge University Press. Cambridge, Gran Bretaña. 184 pp.
- Allen, M. F., Clouse S. D, Weinbaum, B.S., Jeakins, S. Friese, C.F. y Allen, E. B. 1992. Mycorrhizae and integration of scales: From molecules to ecosystems en: M.F. Allen, (Ed.) Mycorrhizal Functioning. An integrative plant-fungal process. Chapman and Hall, Nueva York, pp. 488-516.
- Álvarez-Sánchez S. y Monroy-Ata. A. (Comp.). 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrícicas y sus implicaciones en la restauración. Las prensas de las ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 232 pp.
- Augé, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular- arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11:3-42.
- Azcón-Aguilar C. y Barea, J. M. 1992. Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms. Pp. 163-198. En: Allen, M.F. (ed.) Mycorrhizal Functioning, Chapman Hall, Nueva York. Barrera- Verdugo, S. 2009. "El uso de hongos micorrizógenos arbusculares como una alternativa para la agricultura. Revista biotecnológica en el sector agropecuario y agroindustria". Universidad del Cauca. 7 fasc.1 p.123 – 133.
- Barea, J. M., 1998. Biología de la rizósfera. Investigación y ciencia. 56: 74-81 pp.
- Bonfante-Fasolo, P. 1984. Anatomy and morphology of VA micorrhizae. Pp. 5-33. En: VA Mycorrhiza. Powell, C. E. & D. J. Bagyaraj (eds.). CRC Press, Boca Ratón.
- Branberger, P. G., Abbott, L. K. y Robson, A. D. 1994 The effect of rain I nthe dry season of the formation of vesicular-arbuscular mycohizas in the growing season of annual clover-based pastures. New phytologist 127:107-114.
- Brundett M., Bougher, N. Dell, B., Grove T. y Malajczuk, N. 1996. Working with mycorrhizal in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research, Monograph, Canberra, Australia. 347 p.
- Brundrett, M.C., 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 154:275-304.
- Busby, Stromberger, R., Rodríguez, M., Gebhart, G, y Pashcke, M., 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal differs between a coexisting native shrub and introduced annual grass. *Micorrhiza* (2013), 23:129-141).

- Calvet, C., Estaun, V., Camprubi, A. 1992. Germination, early mycelial growth and infectivity of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in organic substrates. *Symbioses*. 14:405-411
- Camargo-Ricalde S. L. y Dhillon, S.S 2003. Endemic Mimosa species can serve as mycorrhizal “resource islands” within semi-arid communities of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. *Mycorrhiza* 13:129-136
- Caravaca, F., Barea, J. M., Palenzuela, J. Figueroa, D., Alguacil M. M. y Roldán A., 2003. Establishment of shrub species in a degraded semi-arid site after inoculation with native alloctonous arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Soil Ecology* 22: 103-11.
- Carvalho, L.M., Correia, P.M., Martis-Louçao. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungal propagules in a salt marsh. *Mycorrhiza* 14 (2):165-170
- Carrillo-Saucedo M., Arredondo-Moreno T., Huber-Sannwald E., y Flores, Rivas, J. 2004. Comparación en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas entre gramíneas nativas y exóticas del pastizal semiárido. *Germinación de semillas entre gramíneas nativas*. 47(3):299-312
- Challenger, A. 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. CONABIO. México, D.F. 847 p.
- Charles, E. D., Doley, D., Rimmington, F. 1986. *Modelling plant growth and development*.
- Chimal, S. E., López M. L. y García, S. R., 2009. Obtención de inóculos de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) nativos del Valle de Mezquital, Hidalgo. En: Monroy-Ata, A. y García Sánchez, R. 2009. *Plantas y hongos. Micorrizas arbusculares: un mutualismo esencial en zonas semiáridas*. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. México. 61- 64 pp.
- Clapp, J. P., Alastair, H.F., Merryweather, J W. 1996. Arbuscular Mycorrhizas In: *Methods for the Examination of Organismal Diversity in Soils and Sediments*. Ed. GS Hall, WUE. 145-162 pp.
- Covacevich, F. y Echeverría, H. E. 2010. Indicadores para seleccionar inóculos de hongos micorrízicos arbusculares eficientes en suelos moderadamente ácidos. *Suelo* (28 (1):9-22.
- Cruz-Medina J. y Orozco-Almanza M. 2011. Germinación de ocho especies de la familia *Fabaceae*, bajo diferentes regímenes de temperatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza (FES Zaragoza), Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad de Investigación en Ecología Vegetal. *Memorias de VII Simposio Internacional sobre la flora silvestre en zonas áridas*. México.

- Cuenca, G. y Lovera, M., 1994. Vesicular- arbuscular mycorrhizae in disturbed and revegetated sites from la Gran Sabana, Venezuela. *Canadian Journal of Botany* 70:73-79.
- Daniels, B. A. y Skipper, H. D. 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. En: N.C. Schenck (ed.). *Methods and principles of mycorrhizal research*. American Phytological Society. St. Paul, pp. 29-35.
- Díaz-Hernández, I. 2012. Mosaicos de plantas inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) para la naturación de azoteas bajos un sistema de riego por goteo. Tesis Profesional. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Escalante, G.L. 1995. Caracterización y evaluación de las condiciones microambientales asociadas a micrositios que favorecen la germinación y establecimiento de *Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag. Ex. Steud. en un agostadero de Santiago de Anaya, del Valle de Actopan, Estado de Hidalgo. Tesis de licenciatura en Biología. F.E.S. Zaragoza, U.N.A.M. 81 pp.
- Escalante, G.L., 1995. Caracterización y evaluación de las condiciones microambientales asociadas a *Bouteolua gracilis* (H. B. K.) Lag. Ex. Steud en un agostadero de Santiago de Anaya, del Valle de Actopan en el Estado de Hidalgo. Tesis profesional, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Estrada, T., A., Varela, L. Hernández. C. L. y Gavito P. M. 1992. Algunos hongos micorrizógenos arbusculares del estado de Tlaxcala, México. *Rev. Mex. Mic.* 8:85-110.
- Ferguson, J. J. y Woodhed, S. H. 1992. Production of endomycorrhizal inoculum. An increase and maintenance of vesicular-arbuscular micorrhizal fungi. En: Saherck, N. (ed.). *Methods and principles of micorrhizal research*. Pp. 12-22. American Phytological Society press, USA.
- Ferrera-Cerrato, R., G. A. Flores & González Chávez, M. C. 1996. Producción de melón en campo bajo alternativas biológicas. Pp. 350-352. In: Pérez-Moreno, J. & R. Ferrera-Cerrato (eds.) *Nuevos horizontes en agricultura, agroecología y desarrollo sostenible*. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México.
- Ferrera-Cerrato, R. y Alarcón-A., 2008. Biotecnología de los hongos micorrizógenos arbusculares. In: A. Díaz, N. Mayek (eds.) *Biofertilización como tecnología sostenible*. Plaza y Valdéz CONACYT. Pp. 25-38.
- Flores, B.E. 1994. Rangos de aporte hídrico al suelo que sustentan la instalación y desarrollo del pasto perenne *Bouteloua gracilis* Lag. Ex. Steud., bajo condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Facultad De Estudios Superiores Zaragoza. U.N.A.M. México D.F.

- García, E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. UNAM-Instituto de Geografía. Serie Libros, Núm. 6. México, D.F. 90 p.
- García- S., R. Monroy A. A. y Estévez, T. J., 2005. Micrositios del pasto navajita (*Bouteloua gracilis*), en comunidades de pastizal y de matorral en el altiplano mexicano. Revista Especializada de ciencias químico biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 8: 61-70 pp.
- García, D. 2007. Estudio taxonómico de los hongos micorrizicos arbusculares asociados a *Bouteloua curtipendula* en cuatro poblaciones del Valle del Mezquital, Hgo. Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. Tesis de Licenciatura. México D. F.
- Gerdemann, J. W. y Nicholson, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46:235-244
- Giovannetti, S. y V: Gianinazzi-Pearson. 1994. Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. Mycological Research. 98:705-715.
- González-Chávez, MC., A. Alarcón y R. Ferrera- Cerrato. 2008. Biodiversidad funcional de los hongos micorrícicos arbusculares en zonas áridas y semiáridas. En: Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. Montaña, N. M., S. L. Camargo- Ricalde, R. García-Sánchez y A. Monroy- Ata. (eds.) Mundi-Prensa S.A. de C. V., Instituto Nacional de Ecología- SEMARNAT, Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa. Facultad de Estudios superiores Zaragoza, UNAM. México. P. 11-24
- González- Monterrubio. C., Monroy- Ata. A; García- Amador. E. Orozco- Almanza. M. 2005. Influencia De Hongos Micorrizógenos Arbusculares (HMA) En El Desarrollo De Plántulas De (*Opuntia Streptacantha*) Lem. Sometidas A Sequía, En Condiciones De Invernadero. 2005. Tip Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas, 8(1):5-10.
- Grime, J. P. 1979. Plant strategies and vegetation processes. Wiley, Chicchester, Reino Unido.
- Guadarrama-Chávez, P. Sánchez-Gallén, I. Ramos Zapata, J. y Hernández-Cuevas L. Infectividad, Efectividad y dependencia micorríca. 2008. En: Álvarez, S. y Monroy, A. A. (Comp.). 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrícicas y sus implicaciones en la restauración. Las prensas de las ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 232 pp.
- Guadarrama- Chávez. P, Camargo R. S. L., Hernández C. L. y Castillo A. S. 2007. Los hongos micorrizógenos arbusculares de la región de Nizanda, Oaxaca, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México [en línea] 2007, (Sin mes) : [Fecha de consulta: 28 de

septiembre de 2011] Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57708108>>
ISSN 0366-2128

- Habte, M. y Osorio, N.W. 2001. Arbuscular mycorrhizas: producing and applying arbuscular mycorrhizal inoculum. CTAHR, College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, Hawaii. p. 2-47.
- Hartnett, D. C. y Wilson, G. W. T. 1999. Mycorrhizae influence plant community structure and diversity in tall grass prairie. *Ecology* 80(4):1187:1195.
- Harley, J. L. y Smith, S. E. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London. United Kingdom. 483 pp.
- Hartmann, T. H., y Kester E. D. 1999. Propagación de plantas. Principios y prácticas. Prentice-Hall. 543 pp.
- Hernández- Cuevas. L. Guadarrama-Chávez. P., Sánchez, G.I. y Ramos, Z. 2008. Micorriza arbuscular, colonización intraradical y Extracción de esporas del suelo En: Álvarez, S. J. y Monroy, A. A. (compiladores). Técnicas de estudio de las asociaciones micorrícicas y sus implicaciones en la restauración. UNAM. Facultad de ciencias. Pp. 232
- Hernández-Cuevas, L. y García-Sánchez R. 2008. Propagación por esporas: el caso de las micorrizas arbusculares. En: Álvarez Álvarez-Sánchez S. y Monroy-Ata. A. (Comp.). 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrícicas y sus implicaciones en la restauración. Las prensas de las ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 232 pp.
- Hernández-Ladrón, G. 2011. Crecimiento en invernadero de *Mimosa biuncífera* Benth., inoculada con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) provenientes de matorrales xerófitos del Valle del Mezquital, Hgo. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. Tesis de Licenciatura. México D. F.
- Hunt, R., D. R. Causton, B. Shipley, y A. P. Askew. 2002. A modern tool for classical growth analysis. *Annals of Botany* 90: 485-488.
- Huenneke L. y Noble, I. 1996. Ecosystem Function of diversity in Arid Ecosystem. En: Functional roles of Biodiversity: a Global Perspective, Mooney, H., Cushman, J., Medina, Salas, O. y Shulze, E. E. (eds.). SCOPE, Inglaterra, pp. 99-127.
- Janerete, C. A. 1991. An introduction to mycorrhizal. *The American Biology Teacher* 53:13-19
- Jasper, D. A., Abbott, L. K. y Robson S. D. 1993. The survival or infective hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in dry soil: an interaction with sporulation. *New phytologist* 124:473-479

- Kramer, P. J. 1989. Relaciones Hídricas de suelos y plantas, una síntesis moderna. Harla-México, México. 538 pp.
- Larcher, W. 2003. Physiological plant ecology. 4ta. Edición. Springer-Verlag. Berlín. Alemania. 513 Pp.
- Maderey, L., 2005. Principios de Hidrogeografía. Estudio del Ciclo Hidrológico. Instituto de Geografía (en línea). México. 139 p. Consultado el 27 de Mayo de 2009. Disponible en: www.igeograf.unam.mx/instituto/publicaciones/libros/hidrogeografia
- Manjarez, M. J.; Alarcón A. y Ferrera- Cerrato. R., 2000. Biotecnología de la producción de inóculo micorrícico arbuscular y su control de calidad. En: Alarcón, A. y R. Ferrera C. (eds.). Ecología, Fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. IRENAT- Colegio de Posgraduados. Montecillo. Mundi Prensa, México. 239-250 pp
- Martínez, O. L. y Martínez-Patricio M. 2009a. Establecimiento de plantas de *Mimosa depauperata* inoculadas con Hongos Micorrizógenos arbusculares (HMA) en condiciones de invernadero. Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Tesis de Licenciatura. 50 pp.
- Martínez L.B. Pugnaire, 2009 F.I Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. Ecosistemas, Vol. 18, Núm. 2, mayo-agosto, 2009, pp. 44-54. Asociación Española de Ecología Terrestre.España.
- Miller, S. y E. B. Allen . 1992. Mycorrhizae, nutrient translocation and interactions between plants. En: M.F. Allen (Ed.). Mycorrhizal functioning. Chapman an Hall. Londres, Gran Bretaña.
- Molina, R., Massicote, H. y Trappe, J. M. 1992. Specificity phenomenal in mycorrhizal symbiosis: community-ecological consequences and practical implications. In: Allen, M. F. (ed.). Mycorrhizal Functioning. Chapman and Hall, London. 357-423 pp
- Montaño NM, Camargo-Ricalde SL, García-Sánchez R, Monroy A. (eds.) 2007. Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos (Arbuscular mycorrhizae in arid and semiarid ecosystems). Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV, UAM Iztapalapa, FES Zaragoza, UNAM. Distrito Federal, México. 460 pp.
- Montaño-Arias N. y Monroy-Ata. 2000. Alternativas para la conservación ecológica de suelos en zonas áridas y semiáridas de México. Ciencia y desarrollo. 26(154):26-37
- Monroy- Ata. A. y García -Sánchez, R. 2009. Plantas y hongos. Micorrizas arbusculares: un mutualismo esencial en zonas semiáridas. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. México. 73 pp.

- Monroy, Ata. A., Estévez T. J., García, S.R., y Ríos G. R., 2007. Establecimiento de plantas mediante micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado. Boletín de la sociedad Botánica de México. México. 8:49-57 pp.
- Monroy-Ata. A. 2009. Micorrizas: Una historia de las alianzas de la naturaleza. Conversus. Instituto Politécnico Nacional. México. 6:22-25 pp
- Montaño, N. M. y Monroy-Ata, A. 2000. Alternativas para la conservación ecológica de suelos en zonas áridas y semiáridas de México. Ciencia y desarrollo. 26:26- 37
- Morton, J. B. y Benny, G. L. 1990. Revised Classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, Two new suborders, *Glominae* and *gigasporineae* and two new families, *Acaulosporae* and *Gigasporaceae*, withan emedation of Glomaceae. Mycotaxon 37:471-491.
- Morton, J. 1988. Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature, and identification. Mycotaxon 32:267-324
- Morton, J. B. y Bentivenga, S. P. 1994. Levels of diversity in endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes) and their role in defining taxonomic and non taxonomic groups. Plant and Soil 159:47-59.
- Morton, J. B. y Redecker, D. 2001. Two new families of Glomales, *Archaeosporaceae* and *Paraglomaceae*, with two genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. Mycologia 93:181-195.
- Nieves, J., García, L. y Cardoza, R. 2001. La degradación de los suelos en México, en Palacio P. J. L.; González, L. L.; Vázquez, S. L.; Bocco, G. McClung, E.; Alcántara, M. Inbar y Sala, M. (Organizing Commite) *Proccedings of the International Simposium on Land Degradation and Desertificayion*. May 7-14. IGV. Commissison on land Degradation and Desert of Geography (COMLAND. Institute Of Antropology and Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Oehl, F.; Sierverding, K., Ineichen, E. Mäder, P., Boller, T. y Wiemken, A. 2003. Impact of use intensity on the species diversity of arbuscular micorrhizal fungi in agroecosystems of central Europe. Applied and Environmental Microbiology 69 (5):2816-2824.
- Osorio, U. C; Castañeda, S., y Franco., D. 2008. Multiplicación De Hongos Micorriza Arbuscular (H.M.A) Y efecto de la micorrización en plantas micropropagadas De Banano (Musa AAA cv. Gran Enano) (*Musaceae*) Revista Facultad Nacional de Agronomía. Medellín, vol. 61, núm. 1, junio, 2008, pp.

- Palenzuela, J., Azcón-Aguilar, D. Figueroa, F. Caravaca, A. Roldán y J.M. Barea, 2002. Effects of mycorrhizal inoculation of shrubs from a Mediterranean ecosystems and composted residue application on transplant performance and mucorhizal developments in a desertified soil. *Bio Fertil Soils* 36 (2): 170-175.
- Parrazalez, B. S. y Suárez, P. A. 2005. Establecimiento de zacate navajita azul (*Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag. Ex. Esteud.) Bajo nodrizas artificiales, en una zona semiárida del valle de Actopan, Hidalgo. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
- Parniske, M. 2008. Arbuscular mycorrhizal: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*. University of Munich. Munich. 6(10):763-775.
- Phavaphutanon, L; F. T. Davis Jr y SU. Duray 1996 Growth, root alteration, an nutrient uptake of neerm tree (*Azadirachta indica* A. Juss) seedlings in repose to vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus nutrition In. *Tree Crops* J.9:59-67
- Phillips, J.M., and Haymann, D.B. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizae fungi for rapid assessment of infection. *55* (1): 158-161.
- Peláez, G. L. A.; Varela, F. L y Adriano, M. L. A. 2000. Producción de inóculos de hongos micorrizógenos arbusculares aislados del cultivo de banana clon "gran enano". Resúmenes de la I reunión Iberoamericana y III Simposium Nacional sobre Simbiosis Micorrícica. Septiembre de 2000. Guanajuato, Gto. México.
- Pérez C. J. y Rodríguez G. R. 2010. Caracterización del hábitat y de a tributos ecológicos de especies herbáceas y leñosas nativas de matorral xerófilo. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
- Planchette, 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.
- Requena, N. Pérez Solís, E., Azcón-Aguilar, C., Jeffries, Barea, P J. M. 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied and Enviromental Microbiology*. 67:495-498.
- Ribotta, A.N., Griffa, S., López Colomba, E., Grunberg, K., Biderbost E. 2005. Determinación del contenido proteínico en materiales seleccionados de *Cenchrus ciliaris* L., *Chloris gayana* K. y *Panicum coloratum* L. *Pastos y Forrajes*, vol. 28, núm. 3. pp. 241-246. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Cuba.

- Rodríguez-Ochoa, M. 1982. Estudio de la germinación de cinco especies del género *Bouteloua*, en condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Rodríguez-Calderón, R. 2011. Establecimiento de plantas de zacate navajita *Bouteloua gracilis* (Kunth) Lag. Ex Griffiths inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) sometidas a sequía en condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Rzedowski, J. 1994. La vegetación de México. Ed. Limusa. 6ta reimpresión. México. 433 p.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México. 219-226 pp.
- Rzedowski, G. C. y Rzedowski J., 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Rillig, C. M. y D. L. Mummey. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New phytologist* 171:41-53.
- Rivas-Saavedra, M. 2012. Translocación de Fósforo y Nitrógeno en dos leguminosas inoculadas con Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), bajo condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Salisbury. F. B. y Ross, C. W. 1994. Fisiología Vegetal. Editorial Iberoamérica, México.
- Schenk, N.C. y Pérez, Y. 1990. Manual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi. Synergistic Publications. Gainesville, FL, USA.
- Shüßler, A. Suhrzott, D. y Walker, C., 2001. A new phylum, the Glomeromycota : phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105 (12) : 1413-1421.
- Simon, L., Bousquet, J., Levesque, R. C. y Lalonde, M. 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature* 363:67-69.
- Sieverding, E. 1983., Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Cali. Colombia. 96 p.
- Smith, E. S., E. Facelli, S. Pope y F. A. Smith. 2010. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. *Plant Soil* 326: 3-20.
- Smith, S.E. y Read, D.J. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. 2nd Edition. Academic Press, San Diego. CA. pp.605

- Smith, E. S., E. Facelli, S. Pope y F. A. Smith. 2010. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. *Plant Soil* 326: 3-20.
- Solares, R. J. 2007. Evaluación de cinco dosis del hongo micorrizogénico (*Glomus fasciculatum*) sobre el rendimiento del cultivo de sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsum) en Finca Flor de las palmas, Guazacapán, Santa Rosa. Tesos de Licenciatura. Universidad de San Carlos. Guatemala. 56 pp.
- Tapia- Goné, J. Ferrera- Cerrato, R. Varela, F. L. Rodríguez, O. J. Soria, C. J. Tiscareño, I. Loredó, O. C. Alcalá, J. J. Villar, M. C. 2010. Infektividad y Efectividad de hongos micorrizógenos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) *Revista Mexicana de Micología* 31:69-74
- Trappe, J. M. 1987. Phylogenetic and ecological aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. Pp. 5-25. In: Safir, G. R. (ed.), *Ecophysiology of VA Mycorrhizal plants*. CRC, Boca Raton, Florida.
- Trejo-Aguilar, D., Zulueta-Rodríguez, R. y Lara C. L. 2008. Manual de prácticas para el estudio de simbiosis micorrizogena arbuscular. Textos universitarios. Universidad Veracruzana. Xalapa, México. 137 pp.
- Trejo-Aguilar, D., Ferrera-Cerrato R., García R., Varela L., Lara L. y Alarcón A. 2011. Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Rev. chil. hist. nat.* [revista en la Internet]. Mar [citado 2012 Ago22];84(1):23-31. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-078X2011000100002&lng=es. doi: 10.4067/S0716-078X2011000100002.
- Usuga O, C.; Castañeda S. D. y Franco M., A., 2008. Multiplicación de hongos micorriza arbuscular (HMA) y efecto de la micorrización en plantas micropropagadas de banano (*Musa AAA cv. Gran Enano*) (*Musaceae*) *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. M0065dellín, 61: 4279-4290 pp.
- Varela L. y Trejo D., 2001. Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo de México. *Acta Zoológica Mexicana*. Nueva Serie No. Especial 1: 39-51.
- Van Der Heijden, A. M. G., J. N. Klironomos, M. Ursic, P. Moutoglis, R. Streitwolf-Engel, T. Boller, A. Wiemken y I.R. Sanders. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396:69-72.

- Van Der Heijden, A. M. G., R. Streitwolf-Engel, R. Riedl, S. Siegrist, A. Neudecker, K. Ineichen, T. Boller, A. Wiemken y I. R. Sanders. 2006. The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. *New Phytologist* 172:739-752.
- Varma, A. 1999. Functions and applications of arbuscular mycorrhizal fungi and semi- arid soils. p.p. 521-555. En: Varma, A. y B. Hock (eds). *Micorriza*. 2^a, Ed, Springer- Verlag Berlin Heidelberg.
- Vierheilig, H. Schweigerb, P. y Brundrett, 2005. An overview of methods for the detection and observation of arbuscular mycorrhizal fungi in roots. *Physiologia Plantarum* 122:393-404
- Villarreal, Q, J. 1983. *Malezas de Buenavista, Coahuila, México*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 269 p.
- Villar, R., Veneklaas E. J., P. Jordano, H. Lambers. 1998. Relative growth rate and biomass allocation in 20 *Aegilops (Poaceae)* species. *New Phytologist* 140: 425-437.
- Villar, R., R. Ruiz-Robledo, J., Quero J., Poorter, H. Valladares, F. y Marañón T. Tasas de crecimiento en especies leñosas: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. 2004 En: Valladares, F. 2004. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Páginas 191-227. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid. ISBN: 84-8014-552-8.
- Villaseñor R., J. L. y Espinosa G. F. 1998. *Catálogo de malezas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
- Wehner, J., P. M. Antunes, J. R. Powell, J. Mazukatow y M. C. Rillig. 2010. Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: A role for fungal diversity? *Pedobiología* 53:197-201.
- Comisión Nacional para el Conocimiento de la Biodiversidad, <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/poaceae/pennisetum-ciliare/fichas/ficha.htm>
Fecha de consulta: 26 de Octubre de 2010.
- Comisión Nacional para el Conocimiento de la Biodiversidad, <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/poaceae/pennisetum-ciliare/fichas/ficha.htm>
Fecha de consulta: 26 de Octubre de 2010.
- Enciclopedia of Life, 2010 <http://www.eol.org/pages/1115489>. Fecha de consulta: 25 de Septiembre de 2010.
- Infoagro 2010. El cultivo del rábano. <http://www.infoagro.com/hortalizas/rabano.htm> Fecha de consulta: 20 de diciembre de 2010.

INVAM. 2010. Home International Culture collection (vesicular) Arbuscular Micorrhizal Fungi.
En línea: <http://invam.caf.edu/index.html>. Fecha de consulta: 20 de Septiembre de 2010.

ANEXO

Análisis estadístico para la variable ALTURA

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Talla máxima	31	0.87	0.84	5.71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo.	518.22	5	103.64	33.60	<0.0001	
Tratamiento	79.59	1	79.59	25.81	<0.0001	
Especie	324.16	2	162.08	52.55	<0.0001	
Tratamiento*Especie		11.92	2	5.96	1.93	0.1660
Error	77.11	25	3.08			
Total	595.33	30				

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.34375

Error: 3.0845 gl: 25

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
M-	27.15	10	0.60	A
M+	30.79	21	0.40	B

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

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.97489

Error: 3.0845 gl: 25

Especie	Medias	n	E.E.	
1	23.75	7	0.73	A
4	30.43	9	0.62	B
3	32.74	15	0.48	C

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

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=3.58415

Error: 3.0845 gl: 25

Tratamiento	Especie	Medias	n	E.E.	
M-	1	22.05	2	1.24	A
M+	1	25.44	5	0.79	A
M-	4	29.30	3	1.01	B
M-	3	30.10	5	0.79	B
M+	4	31.57	6	0.72	B
M+	3	35.37	10	0.56	C

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

Análisis estadístico para la variable tasa de crecimiento relativo (TCR)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TCR	32	0.7979	0.7590	4.6045

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo.	0.0001	5	1.1E-05	20.5252	<0.0001	
ESPECIE	3.8E-05	2	1.9E-05	33.9141	<0.0001	
TRATAMIENTO		9.2E-06	1	9.2E-06	16.6709	0.0004

“Índice de mutualismo de tres gramíneas propagadoras de hongos micorrizógenos arbusculares (H.M.A) bajo condiciones de invernadero”

ESPECIE*TRATAMIENTO	6.7E-07	2	3.4E-07	0.6048	0.5537
Error	1.4E-05	26	5.5E-07		
Total	0.0001	31			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00082

Error: 0.0000 gl: 26

ESPECIE	Medias	n	E.E.	
1	0.0141	8	0.0003	A
4	0.0161	9	0.0003	B
3	0.0169	15	0.0002	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p <= 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00056

Error: 0.0000 gl: 26

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
M-	0.0151	11	0.0002	A
M+	0.0163	21	0.0002	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p <= 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00146

Error: 0.0000 gl: 26

ESPECIE	TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.				
1	M-	0.0138	3	0.0004	A			
1	M+	0.0145	5	0.0003	A	B		
4	M-	0.0154	3	0.0004		B	C	
3	M-	0.0162	5	0.0003			C	D
4	M+	0.0168	6	0.0003			C	D
3	M+	0.0176	10	0.0002				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p <= 0.05$)

Análisis estadístico para la variable BIOMASA. Prueba de Kruskal Wallis

Variable	ESPECIE	TRATAMIENTO	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
BIOMASA AÉREA	E1	M-	2	1.050	0.255	1.050	15.248	0.0093
BIOMASA AÉREA	E1	M+	6	2.375	0.765	2.285		
BIOMASA AÉREA	E3	M-	5	4.408	0.758	4.350		
BIOMASA AÉREA	E3	M+	10	5.234	0.623	5.380		
BIOMASA AÉREA	E4	M-	5	2.986	2.761	4.480		
BIOMASA AÉREA	E4	M+	10	5.041	2.724	6.090		

Trat.	Ranks			
E1:M-	5.500	A		
E1:M+	9.750	A		
E4:M-	14.400	A	B	
E3:M-	17.500	A	B	C
E3:M+	24.450		B	C
E4:M+	26.750			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p <= 0.05$)

Análisis estadístico para NÚMERO DE ESPORAS

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
No. ESPORAS	12	0.90	0.87	20.30

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8404.92	3	2801.64	24.74	0.0002
TRATAMIENTO	8404.92	3	2801.64	24.74	0.0002
Error	906.00	8	113.25		
Total	9310.92	11			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=27.82547

Error: 113.2500 gl: 8

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
E2 B. c. M+	11.67	3	6.14	A
E3 C. c.M+	46.67	3	6.14	B
E4 Bg + Bc M+	72.00	3	6.14	B C
E1 B. g. M+	79.33	3	6.14	C

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

Análisis estadístico para la variable ETR semanal

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ETR	84	0.095	0.061	28.229

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16.177	3	5.392	2.807	0.0448
ESPECIE	5.294	2	2.647	1.378	0.2580
TRATAMIENTO	10.883	1	10.883	5.666	0.0197
Error	153.665	80	1.921		
Total	169.843	83			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.88457

Error: 1.9208 gl: 80

ESPECIE	Medias	n	E.E.	
E3	4.694	28	0.262	A
E4	4.773	28	0.262	A
E1	5.262	28	0.262	A

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

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.60187

Error: 1.9208 gl: 80

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
M+	4.550	42	0.214	A
M-	5.270	42	0.214	B

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

“Índice de mutualismo de tres gramíneas propagadoras de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) bajo condiciones de invernadero”

Análisis estadístico para la variable ETR acumulada

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ETRacumulada	84	0.027	0.000	51.320

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	783.593	3	261.198	0.728	0.5383
TRATAMIENTO	382.049	1	382.049	1.065	0.3052
ESPECIE	401.544	2	200.772	0.560	0.5737
Error	28705.685	80	358.821		
Total	29489.278	83			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=8.22614

Error: 358.8211 gl: 80

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
M+	34.778	42	2.923 A
M-	39.043	42	2.923 A

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

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=12.09005

Error: 358.8211 gl: 80

ESPECIE	Medias	n	E.E.
E3	34.801	28	3.580 A
E4	36.008	28	3.580 A
E1	39.923	28	3.580 A

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