

00345



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

*Efecto de la Asociación Hongos
Micorrízicos
Arbusculares - Leguminosas en las
Características de un Suelo Tepetatoso*

30006

T E S I S
Que para Obtener el Grado Académico de:
MAESTRO EN CIENCIAS
[BIOLOGIA VEGETAL]

PRESENTA:
Biól. Yolanda Nava Gutiérrez

DIRECTOR DE TESIS: DR. ARTURO ESTRADA TORRES

México, D. F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



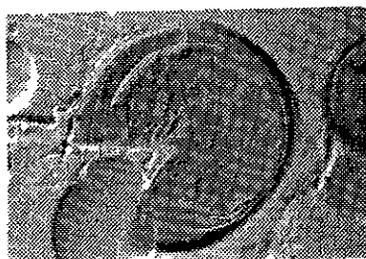
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**ESTE TRABAJO SE LLEVÓ A CABO EN EL LABORATORIO DE
MICOLOGÍA DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA,
BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. ARTURO ESTRADA TORRES Y
CON APOYO DE LA FUNDACIÓN PRODUCE TLAXCALA, A.C.**



CON CARINO PARA

**MIS PADRES: FELICIANO NAVA CARRETO Y ANA MARIA
GUTIERREZ HERNÁNDEZ**

**MIS HERMANOS: ELOÍSA, DELFINO, RIGOBERTO, MISAEL,
ALEJANDRO, TERESA Y DELFINA**

CADA UNO DE MIS SOBRINOS

ORALIA Y LILIA

AGRADECIMIENTOS:

Especialmente a mi director de Tesis, Dr. Arturo Estrada Torres cuya ayuda y orientación han sido tan valiosos.

A los miembros del comité tutorial: Dr. Francisco Javier Alvarez Sánchez y Dra. Margarita Villegas Ríos por tener siempre buena disposición, orientándome en la realización de este trabajo.

A los demás miembros del sínodo: Dr. David Flores Román, Dr. Joaquín Cifuentes Blanco, Dr. Alfredo Echegaray Alemán y Dr. Ronald Ferrera Cerrato, por sus valiosas observaciones y sugerencias.

A mis amigos, especialmente a Guadalupe Santiago, Laura Hernández, Gema Galindo y Adriana Montoya.

A mis compañeros del Laboratorio de Micología ya que en algún momento y de alguna manera todos me han ayudado.

A Brenda Xochipa, Adolfo Castilla, Hugo E. Hernández, Gustavo García y Andrea Vera por su apoyo en el desarrollo del trabajo.

Al Dr. Baruch Nolasco y Saldaña, director del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

ÍNDICE GENERAL

1. Resumen	1
2. Introducción	3
3. Antecedentes	7
3.1 Factores determinantes para el desarrollo de la asociación micorrízica arbuscular	8
3.2 Efecto de la asociación micorrízica sobre las propiedades del suelo	10
3.3 Beneficio de la asociación micorrízica sobre los cultivos	13
3.4 Importancia de las esporas de los hongos micorrizógenos arbusculares	14
3.5 El papel de las asociaciones micorrízicas arbusculares en las leguminosas	15
3.6 Importancia de los tepetates	16
3.7 Objetivos	17
4. Materiales y métodos	19
4.1 Material edáfico	19
4.2 Material biológico	21
4.2.1 Plantas	21
4.2.2 Hongos micorrizógenos arbusculares	21
4.3 Desarrollo del experimento	21
4.4 Variables evaluadas	25
4.5 Análisis estadístico	26

5. Resultados	27
5.1 Número de esporas	27
5.1.1 Efecto del inóculo	27
5.1.2 Efecto de las plantas hospederas	30
5.1.3 Efecto del tiempo de manejo del tepetate	31
5.1.4 Efecto de la asociación hongo-planta	32
5.1.5 Efecto de la relación inóculo-tiempo de cultivo	32
5.2 Contenido de fósforo en el tepetate	33
5.3 Contenido de nitrógeno en el tepetate	34
5.3.1 Efecto del inóculo	35
5.3.2 Efecto de la planta hospedera	35
5.4 Contenido de materia orgánica en el tepetate	36
5.4.1 Efecto del inóculo	36
5.4.2 Efecto de las leguminosas	37
5.4.3 Efecto del tiempo de manejo del tepetate	37
5.5 pH del tepetate	38
5.5.1 Efecto del inóculo	38
5.5.2 Efecto de las plantas hospederas	39
5.5.3 Efecto del tiempo de manejo del tepetate	40
5.6 Estabilidad hídrica de los agregados	40
5.6.1 Efecto del inóculo	41
5.6.2 Efecto de las plantas hospederas	44
5.6.3 Efecto del tiempo de manejo del tepetate	44
5.7 Producción de biomasa total de las plantas hospederas	48
5.7.1 Biomasa del frijol ayocote	49
5.7.1.1 Efecto del inóculo	49
5.7.1.2 Efecto del tiempo de manejo de tepetate	49
5.7.2 Biomasa del haba	50
5.7.2.1 Efecto del inóculo	50
5.7.2.2 Efecto del tiempo de manejo del tepetate	50

5.7.3 Biomasa del maíz	50
5.7.3.1 Efecto del inóculo	50
5.7.3.2 Efecto de las leguminosas	52
5.8 Porcentaje de colonización en raíces	53
5.8.1 Efecto del inóculo	54
5.8.2 Efecto de la planta hospedera	55
5.8.3 Efecto del tiempo de manejo del tepetate	55
5.9 Contenido de fósforo en maíz	56
6. Discusión	57
7. Conclusiones	67
8. Literatura citada	69
Apéndices	77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Algunas características físicas y químicas del tepetate antes del manejo agrícola	19
Tabla 2. Número total de esporas por inóculo/planta hospedera	29
Tabla 3. Número total de esporas por factor evaluado	30
Tabla 4. Número total de esporas de <i>Glomus intraradices</i> por 100 gss En el primer y tercer ciclos de cultivo	31
Tabla 5. Número total de esporas por tratamiento de inoculación/ciclo de cultivo	33
Tabla 6. Contenido de fósforo total en el tepetate después del tercer ciclo de cultivo (ppm)	34
Tabla 7. Contenido de nitrógeno en el tepetate después del tercer ciclo de cultivo	35
Tabla 8. Efecto de los diferentes factores sobre el contenido de materia orgánica (%)	37
Tabla 9. Agua percolada después de ocho minutos en los diferentes tratamientos	42
Tabla 10. Partículas de tepetate con 1 a 2 milímetros de diámetro en los diferentes tratamientos	43
Tabla 11. Producción de biomasa total del ayocote en los dos ciclos de cultivo	49
Tabla 12. Efecto de los diferentes factores sobre la producción de biomasa del haba en los dos ciclos de cultivo	51
Tabla 13. Efecto del manejo del tepetate sobre la producción de biomasa del maíz	52

Tabla 14. Colonización micorrízica en leguminosas por ciclo de cultivo/ tratamiento de inoculación	54
Tabla 15. Efecto del manejo del tepetate sobre la colonización micorrízica del maíz	55
Tabla 16. Contenido de fósforo en maíz comparando tratamientos anteriores en el tepetate	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación del sitio de adquisición del tepetate	20
Figura 2. Plantas hospederas y hongos micorrizógenos arbusculares utilizados	22
Figura 3. <i>Glomus intraradices</i>	28
Figura 4. Número de esporas por 100 gss por tratamiento/ciclo de cultivo	29
Figura 5. Variación del pH a través de los tres ciclos de cultivo	39
Figura 6. Velocidad del agua de percolación en tepetate sin manejo agrícola y arena durante 5 minutos	41
Figura 7. Mililitros promedio de agua percolada después de ocho minutos por tratamiento en los tres ciclos de cultivo	45
Figura 8. Velocidad del agua de percolación en el tepetate inoculado con <i>Glomus claroideum</i> durante los tres ciclos de cultivo	46
Figura 9. Velocidad del agua de percolación en el tepetate inoculado con <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp. durante los tres ciclos de cultivo	47
Figura 10. Velocidad del agua de percolación en el tepetate sin tratamiento de inoculación durante los tres ciclos de cultivo	48
Figura 11. Peso seco total de las plantas por tratamiento/ciclo de cultivo	51
Figura 12. Porcentaje de colonización por planta hospedera/tratamiento de inoculación en los tres ciclos de cultivo	53

1. RESUMEN

La importancia que la microbiota del suelo tiene sobre el éxito de las acciones encaminadas a su conservación o hacia la integración de áreas deforestadas a la actividad agrícola, debe ser considerada puesto que los microorganismos son de suma importancia en el mantenimiento y/o recuperación de estas áreas. Los hongos micorrizógenos arbusculares desempeñan un papel que puede ser fundamental para que los materiales carentes de estructura como los tepetates, la adquieran a través de la trama hifal que se desarrolla en el suelo; el entramado hifal tiene la capacidad de retener las micropartículas de suelo adyacentes de manera que poco a poco forman los macroagregados. Los agregados son estructuras muy importantes porque intervienen en la retención de humedad de los suelos ante la acción del agua y del aire y mantienen los nutrimentos minerales evitando su pérdida por lixiviación.

Con el propósito de conocer si el sistema leguminosas-hongos micorrizógenos arbusculares provoca cambios en algunas propiedades físicas y químicas del tepetate a corto plazo, se realizó un experimento en invernadero con leguminosas (haba y ayocote) y maíz inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares (*Glomus claroideum* y la mezcla *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp.) para evaluar el efecto de la asociación de estos organismos a lo largo de tres ciclos de cultivo (cinco, diez y quince meses) sobre el nivel del fósforo, nitrógeno, materia orgánica y pH del tepetate, formación y estabilidad de agregados y producción de biomasa de las plantas hospederas. De acuerdo con los resultados obtenidos, el nivel de fósforo en el tepetate disminuyó con respecto al contenido mostrado antes de su utilización en el experimento, resultando indetectable en algunos tratamientos al final del tercer cultivo. El contenido de nitrógeno fue muy bajo al final del tercer ciclo de cultivo lo cual se relaciona con la escasez de materia orgánica en este sustrato, la cual, bajo las condiciones de estudio, no se incrementó con ninguno de los tratamientos evaluados durante el ensayo y, por tanto, el tepetate continúa siendo

un sustrato muy pobre. El pH del suelo se incrementó transformándose de alcalino a fuertemente alcalino al final del experimento.

Bajo las condiciones de estudio, la introducción del sistema leguminosas - hongos micorrizógenos arbusculares afectó la estabilidad de los agregados del suelo. Sin embargo fue el mayor tiempo de manejo con las leguminosas el factor que presentó efecto positivo más importante en el proceso de formación de agregados. De acuerdo con los datos de la agregación y de la mayor cantidad de biomasa producida en las plantas de maíz cultivado en suelos sembrados previamente con leguminosas, se concluye que la introducción de dichas plantas asociadas con hongos micorrizógenos arbusculares, antes de intentar el cultivo de maíz en tepetate, es benéfico tanto para el suelo como para la planta, no obstante que en todos los casos de este experimento el contenido de fósforo detectado en las plantas de maíz fue menor a lo que generalmente se considera normal en tejidos vegetales.

La producción de biomasa de las leguminosas se incrementó del primero al segundo ciclo de manejo del tepetate independientemente de la especie de hongo micorrízico arbuscular inoculado. En cuanto al maíz, presentó mayor desarrollo en el tepetate cultivado con leguminosas durante los dos ciclos previos que en el tepetate recientemente roturado sin tratamiento.

Respecto al comportamiento de los hongos micorrizógenos arbusculares, se concluye que el manejo del tepetate durante 15 meses y la introducción de maíz en el tercer periodo de cultivo, son los factores que estimularon el aumento de la esporulación; además, en algunos casos, existió correspondencia de la mayor esporulación con porcentajes de colonización más altos.

2. INTRODUCCIÓN

Cuando las actividades productivas como la agricultura, la ganadería y el aprovechamiento forestal consideran exclusivamente variables como la fertilidad del suelo o la productividad de un ecosistema, suelen ocasionar impactos ambientales negativos muchas veces de tipo irreversible como la erosión de suelos. En un agrosistema, que puede estar sujeto a control experimental, las raíces y la microbiota del suelo interactúan formando un soporte para las plantas y una matriz edáfica estable; si los componentes bióticos están en balance, el agrosistema es sustentable. En un ecosistema perturbado, este balance depende de las metas del manejo del suelo: producción o conservación, objetivos que pueden combinarse si el manejo agrícola considera la complejidad biológica del suelo (Bethlenfalvay y Schüepp 1994) sin perder de vista que éste es el resultado de la interacción de factores geológicos, fisiográficos, climáticos y biológicos.

Las propiedades físicas y químicas del suelo, se modifican frecuentemente debido a los procesos biológicos dinámicos, especialmente en el suelo que circunda las raíces de las plantas, el cual está sujeto a la influencia de los exudados radicales y la intensa actividad microbiana que se da en la rizósfera. Las poblaciones microbianas del suelo intervienen activamente en la descomposición constante de la materia orgánica y en la liberación de iones para la nutrición de las plantas, al tiempo que favorecen la agregación y desagregación del suelo. La contribución de los microorganismos en el proceso de agregación se lleva a cabo a través de la secreción de diversos compuestos mucilaginosos o gomas (Fitzpatrick 1984); de entre estos microorganismos, los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) son uno de los grupos predominantes en la zona de la rizósfera (Sylvia y Williams 1992). Tradicionalmente, se consideró que la importancia de la asociación de los hongos micorrizógenos arbusculares con las plantas radicaba principalmente en que las últimas adquieren mayor capacidad para captar los iones de fósforo desde el suelo,

encontrándose que incluso en cultivos inundados como el arroz, la inoculación con hongos micorrizógenos arbusculares era benéfica al provocar una mayor concentración de nutrimentos en la plantas (Solaiman e Hirata 1996). El nivel de fósforo en el suelo influye definitivamente sobre la capacidad de colonización al afectar la concentración de carbohidratos en las raíces o la cantidad de exudados y por tal razón, la cantidad de fósforo en el suelo es un factor que debe ser justamente valorado, conjuntamente con otras características tanto físicas como químicas, en la evaluación de trabajos sobre micorriza arbuscular.

Entre otras variables, se ha propuesto que el intervalo de pH en el que los HMA pueden tener un mejor desarrollo está entre 6 y 7 lo que no significa que algunas especies no puedan desarrollarse en intervalos más amplios, de menos de cinco a más de ocho (Siqueira et al. 1976 *In*: Bagyaraj 1991). El pH de un suelo presenta variaciones y con ello las propiedades del suelo también cambian, por lo que algunas especies pueden presentar adaptaciones al medio y diferir en su capacidad de micorrización a diferente pH. La materia orgánica tiene gran influencia en la estructura, el pH, niveles nutrimentales y capacidad de retención de agua del suelo, variables que afectan la eficiencia y desarrollo de los HMA. Los sistemas radicales micorrizados de muchas plantas micótrofas anuales continuamente son incorporados al suelo y degradados por otros microorganismos, contribuyendo así al incremento de la materia orgánica e impactando sobre la ecología de los propios HMA (Bagyaraj 1991).

El reconocimiento o aceptación de que estos hongos desempeñan un papel importante en la formación de agregados estables en suelos agrícolas es relativamente reciente. Su contribución depende del tipo de cultivo y las prácticas culturales (Tisdall y Oades 1980), así como de las características físicas y químicas del suelo (Miller y Jastrow 1992). La importancia de los agregados en el suelo no radica solamente en que de este modo se controla el proceso erosivo, sino que además funcionan como estructuras de reserva de nutrimentos, lo cual tiene singular importancia en las áreas o superficies que presentan bajos niveles de fertilidad.

El manejo de los HMA en la agricultura es recomendable cuando de ello pueden derivarse beneficios ya sean económicos o ambientales; siendo tres los factores de mayor importancia al determinar la magnitud del beneficio derivado del manejo de los hongos: a) la dependencia micorrizica del hospedero, b) el nivel nutrimental del suelo y c) el potencial de inóculo de los hongos micorrizógenos presentes (Thompson 1994). En este contexto, los HMA pueden desempeñar un papel importante en la biorremediación de áreas erosionadas, ya que la erosión es, probablemente, uno de los principales promotores de la desertificación de la superficie nacional, considerándose como uno de los problemas ecológicos más severos al provocar que los horizontes inferiores del suelo queden en la superficie.

Con lo anteriormente expuesto se destaca que el establecimiento de la asociación micorrizica proporciona beneficios no solamente de manera directa a la planta, manifestándose en un mejor desarrollo o una mayor resistencia a condiciones adversas, sino también al suelo participando en el mantenimiento y/o mejoramiento de su estructura. Se ha planteado que la participación de los HMA en el proceso de agregación es a través de tres mecanismos que se encuentran estrechamente relacionados entre sí, dada la dinámica natural de la agregación de los suelos (Miller y Jastrow 1992) . Dichos procesos son:

1. Desarrollo de hifas externas dentro de la matriz edáfica, para crear el esqueleto que *retiene simultáneamente a las partículas del mismo suelo* a través de procesos físicos.
2. Creación de las condiciones necesarias para inducir la formación de microagregados, por medio de la secreción de compuestos de las raíces e hifas externas.
3. Captura o retención de los microagregados y pequeños macroagregados por las hifas externas y raíces para inducir la formación de macroagregados.

Por esto, Tisdall (1994) menciona que para cada suelo es importante determinar la combinación y manejo más adecuados de plantas y organismos que contribuyan en la estabilización de los agregados; siendo necesario reconocer especies fúngicas capaces de tolerar las perturbaciones de su entorno, identificando de este modo a aquellas especies con probabilidad de persistir en ambientes muy específicos (Abbott y Gazey 1994). En cuanto a las especies

vegetales susceptibles de desarrollar la asociación micorrízica arbuscular, es importante detectar su tolerancia a determinados ambientes, sobre todo cuando se busca introducirlas en zonas poco favorables para su desarrollo. En este sentido, las leguminosas han sido objeto de estudio en cuanto a sus relaciones con los HMA (Crush 1974; Powell 1982; Dissing y Jensen 1983) y han sido propuestas como plantas que pueden ser cultivadas con éxito en suelos que presentan baja disponibilidad de nutrimentos tales como los tepetates, debido a su capacidad de asociación tanto a bacterias fijadoras de nitrógeno como a HMA, desempeñando un papel importante como plantas pioneras bajo esas condiciones (Barea y Azcón-Aguilar 1983).

Con el objeto de generar información sobre el uso potencial de los hongos micorrizógenos arbusculares en el mejoramiento del tepetate para su utilización en la agricultura, se realizó este trabajo para determinar si alguna de las combinaciones leguminosa-hongos micorrizógenos arbusculares propuestas, modifican las condiciones de este sustrato.

3. ANTECEDENTES

La capacidad de adaptación que los hongos micorrizógenos arbusculares alóctonos muestren ante los distintos factores edáficos, puede afectar su papel en suelos donde no hay inóculo natural, o bien éste ha sido eliminado. Como lo han citado algunos autores (Gianinazzi-Pearson *et al.* 1985; Hetrick *et al.* 1986), los hongos nativos con frecuencia están más adaptados a las condiciones edáficas que las plantas que colonizan; por lo tanto la competitividad de los hongos micorrizógenos arbusculares puede diferir de acuerdo con las condiciones del suelo y con la asociación suelo-planta-endófito. Considerando lo anterior, la persistencia y éxito que pueda presentar cualquier especie micorrízica introducida, considerada eficiente en la absorción de nutrimentos, puede verse limitada por su falta de adecuación al medio; en este sentido, la capacidad de adaptación que las especies alóctonas muestren, resulta crucial para que puedan competir exitosamente contra las especies autóctonas presentes en el suelo (Lambert *et al.* 1980).

Frey y Ellis (1997) mencionaron que el conocer el papel que juegan las propiedades del suelo sobre las relaciones hongo-planta hospedera, es esencial para entender el papel de los hongos micorrizógenos desde el punto de vista ecológico, así como el uso efectivo de la micorriza en los sistemas biológicos, ya sean como organismos nativos o introducidos, bajo determinadas condiciones. Estos autores encontraron que el efecto de las propiedades del suelo sobre la colonización micorrízica y sobre la producción de hifas extrarradicales es importante en la investigación de la interacción entre los organismos participantes en la asociación micorrízica arbuscular, determinando que cuando las condiciones de suelo son favorables para el desarrollo de las planta, adicionando o no mejoradores como el fósforo y nitrógeno, la relación entre la producción de hifas externas y la colonización micorrízica decrece.

3.1 FACTORES DETERMINANTES PARA EL DESARROLLO DE LA ASOCIACIÓN MICORRÍZICA ARBUSCULAR

Los hongos micorrizógenos arbusculares han sido ampliamente estudiados en cuanto al grado de respuesta que muestran a diferentes agentes naturales como el contenido de fósforo (Hayman y Mosse 1971; Sieverding y Gálvez 1988; Powel y Daniel 1978), nitrógeno (Mosse y Phillips 1971) y otros nutrimentos minerales como el zinc, azufre, cobre y cadmio (Hayman 1983), los regímenes de agua (Sieverding 1986; 1988b), la temperatura del suelo (Volkmar y Woodbury 1989), la temperatura ambiental (Schenck y Schroder 1974), la luz (Son *et al.* 1988) y otros factores adáfcos como densidad, porosidad, contenido de materia orgánica y estructura (Hamel *et al.* 1997). A pesar de que su desarrollo depende de la interacción de todos estos factores, se ha determinado que este tipo de asociación reviste mayor importancia en suelos con fertilidad baja o media (Jasper *et al.* 1979; Cuenca y Lovera 1992).

De los nutrimentos minerales del suelo que se han citado como de importancia para la asociación, la disponibilidad de fósforo es particularmente decisiva, ya que las altas concentraciones de este elemento reducen o incluso impiden, la colonización de las raíces por estos hongos (Mosse y Phillips 1971). Por otro lado, las zonas de deficiencia de fósforo pueden desarrollarse rápidamente alrededor de los órganos de absorción, pero para las raíces micorrizadas, contrario a lo que ocurre con las raíces sin colonización, el fósforo puede ser adquirido de un volumen de suelo más grande (Cooper 1984). A esta mayor capacidad de absorción de fósforo se ha atribuido el aumento del peso seco de las plantas que crecen en suelos deficientes en este elemento, cuando éste es agregado al sustrato, (Hayman y Mosse 1971). Por su parte, Powel y Daniel (1978) encontraron que el efecto benéfico de la asociación micorrízica arbuscular se reduce cuando se aplican dosis altas de fosfato de roca; mencionando que tal disminución dependerá de la especie vegetal cultivada, la especie fúngica y del tipo de fertilizante fosforado que se utilice. Hetrick *et al.* (1986) realizaron trabajos utilizando suelo arcillo-arenoso, reportando mayor peso seco y porcentaje de colonización en raíces de plantas inoculadas con *Glomus etunicatum* cuando no aplicaron fósforo, disminuyendo estos valores al adicionar dicho elemento en una concentración de 200 ppm.

El pH es otra de las características del suelo que va a determinar el desarrollo adecuado tanto de las especies vegetales como de los hongos micorrizógenos arbusculares. En el caso de las leguminosas utilizadas en este trabajo, se ha determinado que el haba se desarrolla mejor a pH de entre 5.0 y 7.0, en tanto que el frijol lo hace con valores entre 6.0 y 8.0 (Ojeda 1945 y Spurway 1941 In: Vázquez Alarcón y Bautista Aroche 1993). Se ha buscado detectar el efecto que la diferencia en el pH de un suelo puede ejercer sobre la reacción que las plantas hospederas muestran al ser inoculadas con la misma especie de hongo micorrizógeno arbuscular, como en el trabajo de Graw (1979) quien reportó que con un pH de 4.3, *Guizotia* no fue capaz de absorber fósforo y su crecimiento se vió severamente limitado, sin embargo a pH de 5.6 la misma planta con micorriza si captó dicho elemento, mostrando mayor desarrollo; lo contrario ocurrió con *Tagetes*, el cual mostró buen desarrollo con pH de 4.3 y se inhibió a 5.6.

La materia orgánica resulta de suma importancia en el mantenimiento de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo tales como la estructura, el pH, los niveles nutrimentales y la capacidad de retención de agua, mismos que pueden influir directa o indirectamente en el mantenimiento y/o desarrollo de las asociaciones micorrizicas arbusculares (Bagyaraj 1991). De este modo, las propiedades físicas del suelo pueden mantenerse usando técnicas de cultivo apropiadas, que permitan el aporte de grandes cantidades de materia orgánica residual (Tisdall y Oades 1982), lo que contribuye a la formación o conservación de agregados en el suelo. Se ha comprobado que una buena agregación del suelo es importante para la microbiota del mismo, ya que la actividad de los microorganismos depende en gran medida de la estabilidad estructural de la matriz en la que ellos se desarrollan, además, se ha sugerido que la condición del suelo afecta al número de microorganismos de manera indirecta, debido a que les procura un hábitat favorable y protegido al formarse espacios porosos en los suelos con agregación hidricamente estable (Andrade *et al.* 1998). Sin embargo, el manejo de la estructura en suelos con textura fina, con arcilla y silicatos es un problema más complicado que el de los suelos arenosos ya que en los últimos la plasticidad y cohesión nunca son grandes debido a los bajos contenidos de coloides inorgánicos. En suelos arcillosos y similares de regiones templadas, en cambio, los potenciales

de plasticidad y cohesión siempre son altos a causa de la presencia de grandes cantidades de coloides arcillosos. Los suelos altamente plásticos se tornan duros, formando terrones cuando se secan debido a las tendencias cohesivas de las partículas pequeñas; con tales características, dicho suelos deben ser manejados cuidadosamente, especialmente cuando se utilizan con fines agrícolas (Buckman y Brady 1969).

La temperatura es otro de los factores físicos que tienen un efecto considerable sobre la asociación micorrízica; los trabajos de Furlan y Fortin (1973) así como los de Schenck y Schroeder (1974), quienes trabajaron con cebolla y soya respectivamente, indicaron que la temperatura idónea para el desarrollo de la asociación fue entre 25°C y 30°C. Trabajando con casava, Sieverding (1988a) encontró que de cinco especies de hongos micorrizógenos arbusculares, *Glomus manihotis* es la especie fúngica que desarrolla mayor colonización radicular y mayor producción de biomasa tanto a 20°C como a 30°C.

3.2 EFECTO DE LA ASOCIACIÓN MICORRÍZICA SOBRE LAS PROPIEDADES DEL SUELO

Se ha comprobado que los factores físicos, químicos y biológicos del suelo determinan el desarrollo y efecto de la asociación micorrízica. Sin embargo, la información en sentido contrario aún es escasa, conociéndose poco acerca de las modificaciones que los hongos micorrizógenos arbusculares pueden provocar sobre el sustrato en que se desarrollan. En este sentido y con relación a los cambios químicos, Bethlenfalvay y Schüepp (1994) mencionaron que los hongos micorrizógenos arbusculares constituyen un canal para la transferencia de N de plantas leguminosas a no leguminosas, y aunque no se ha delimitado el impacto de estos hongos en el ciclo del N ni en su fijación, su función no debe ser reducida a la mera captación y transporte de este elemento a la planta, ya que seguramente participan en procesos dinámicos como la mineralización del nitrógeno durante las fases de descomposición de sus micelios. Además, Hayman (1983) indicó que la asociación micorrízica arbuscular, a través de su acción en la

captación de P, afecta de manera indirecta la fijación de N que realizan las bacterias asociadas con leguminosas.

Si bien se ha determinado que el pH es un factor de suma importancia para el establecimiento de las especies de hongos micorrizógenos arbusculares, hay muy poca información respecto al alcance que las micorrizas arbusculares y su microbiota asociada ejercen sobre el pH de su entorno a través de los exudados que producen (Schwab *et al.* 1991 *In: Bethlenfalvay y Schüepp* 1994). Al respecto, Bago *et al.* (1998) encontraron que el desarrollo de la micorriza de *Glomus intraradices* en cultivo *in vitro* provocó cambios en el pH del medio, disminuyendo en aquellas zonas donde se forma mayor cantidad de esporas, hecho que atribuyen a la actividad de las hifas extrarradicales del hongo.

Se han realizado estudios cuyo objetivo ha sido evaluar el efecto de la asociación micorrizica sobre las características físicas del suelo, principalmente la agregación, los cuales han permitido constatar la intervención de los hongos micorrizógenos arbusculares en este proceso (Andrade *et al.* 1998, Clough y Sutton 1978; Miller y Jastrow 1992; Tisdall 1994; Sutton y Sheppard 1976). En este sentido y de manera práctica, se deben considerar dos tipos de factores en cuanto al comportamiento de la agregación del suelo: (1) los responsables de la formación de los agregados y, (2) aquéllos que les dan estabilidad una vez formados. Ambos factores operan simultáneamente y muchas veces es difícil separar sus efectos sobre el desarrollo de los agregados estables (Buckman y Brady 1969). Al respecto, la masa microbiana en los suelos puede correlacionarse con el grado de agregación que éstos presentan y puede utilizarse como una medida indirecta de la reserva de compuestos orgánicos, algunos de los cuales pueden estabilizar el suelo al formar macro-agregados. La masa microbiana se correlaciona con la agregación de los suelos, probablemente no a causa de la biomasa en sí, sino porque refleja el reciclamiento del carbono orgánico y la producción de compuestos cementantes y estructuras de unión, tales como las hifas de los hongos (Degens 1997; Tisdall *et al.* 1997).

Los estudios sobre los mecanismos a través de los que las hifas de hongos micorrizógenos arbusculares y saprofitos intervienen en la formación de agregados, se basan principalmente en observaciones puntuales en el tiempo. Consecuentemente, no se conoce con claridad si la variación en la arquitectura de las hifas en el suelo puede influir en los procesos de agregación. En laboratorio, las investigaciones al respecto han sido mas o menos consistentes encontrando estabilización de los agregados a través de la unión física de partículas del suelo (Tisdall y Oades 1982; Burns y Davies 1986; Andrade *et al.* 1998); sin embargo, en suelos arenosos la longitud de las hifas puede ser insuficiente para formar una red efectiva alrededor de las partículas y contribuir a la formación de agregados (Degens *et al.* 1994; 1996. *In:* Degens, 1997), aunque desde hace varios años existen evidencias respecto de la acción benéfica de los hongos micorrizógenos arbusculares en estos suelos (Clough y Sutton 1978; Forster 1979; Forster y Nicolson 1981; Sutton y Sheppard 1976).

Se ha determinado que la agregación del suelo es un proceso dinámico en el cual las plantas y la microbiota juegan un papel muy importante. Andrade *et al.* (1998) encontraron que la estabilidad hídrica de los agregados es mayor en la micorrizósfera, que en la rizósfera y en la hifósfera, donde sólo se desarrolla micelio de hongos micorrizógenos arbusculares, pero en las dos últimas es mayor que en el suelo libre de raíces e hifas. En este mismo trabajo, los autores concluyeron que las hifas de los hongos micorrizógenos contribuyen al proceso de estabilización de agregados, independientemente de la contribución hecha por las raíces, pero que además, los efectos de ambos elementos son aditivos. Buckman y Brady (1969) por su parte, encontraron que una vez formados, la estabilidad que los agregados muestran es de suma importancia: algunos se desintegran rápidamente bajo la acción de la lluvia y bajo los efectos de la labranza, mientras que otros se resisten a la desintegración, manteniendo así una estructura mas apropiada del suelo.

Latif *et al.* (1992) han mostrado que las leguminosas tienen un efecto acumulativo sobre las propiedades físicas del suelo, particularmente sobre la agregación. En este trabajo relacionan la baja estabilidad y la disminución del diámetro y del peso promedio de los agregados cuando

se utiliza al maíz como monocultivo, en comparación con los agregados encontrados en el cultivo con leguminosas

3.3 BENEFICIO DE LA ASOCIACIÓN MICORRÍZICA ARBUSCULAR SOBRE LOS CULTIVOS

La magnitud del beneficio de la asociación micorrízica sobre el hospedero puede ser modificada por factores inherentes a la planta, al endófito en prueba, al suelo, a las condiciones ambientales, a la acción de otros organismos, al manejo y a las interacciones de todos estos factores. Las leguminosas, al igual que las especies de otras familias pueden tener diferente dependencia micorrízica para crecer y reproducirse. Es bien sabido que las plantas presentan diferente respuesta a la inoculación con hongos micorrizógenos arbusculares, y que aún dentro de una misma especie las variedades pueden presentar distinto comportamiento, ya que la respuesta va a depender de una serie de factores que inciden al mismo tiempo. La cantidad y calidad de las poblaciones microbianas en la rizósfera está relacionada directa o indirectamente con los exudados de la raíz y estos exudados a su vez variarán de acuerdo con los factores ambientales (Curl y Truelove 1986). Además, la competencia entre especies micorrízicas puede afectar la respuesta a la inoculación. La agresividad, la infectividad y la capacidad para dispersarse en el sistema radical pueden ser los principales componentes de la habilidad competitiva entre endófitos (Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato 1990).

Evaluando la acción de *Glomus aggregatum* en la eficiencia de captación de nutrientes inmóviles por parte de *Leucaena leucocephala*, Manjunath y Habte (1988) encontraron que la asociación micorrízica incrementó la captación de estos nutrientes, dando como resultado mayor peso seco de las plantas cuando las raíces mostraron porcentajes de colonización significativos. Por su parte, Azaizeh *et al.* (1995) compararon el efecto de la asociación micorrízica arbuscular sobre la adquisición de minerales y producción de exudados en plantas de maíz, encontrando que después de tres semanas, las plantas micorrizadas y los testigos presentaban poca diferencia en cuanto a las concentraciones de Zn, Cu y Mn en los renuevos y

en las raíces, pero después de 6 semanas de cultivo las concentraciones de estos minerales en las plantas micorrizadas fueron más altas que en las plantas sin micorriza, atribuyendo las diferencias entre unas y otras, a los altos porcentajes de colonización mostrados por las plantas micorrizadas.

Hamel *et al.* (1997) encontraron que cuando en un suelo el potencial micorrízico es bajo y se presenta una buena agregación con bajo nivel de fósforo hay una mejor respuesta del poro a la inoculación con *Glomus intraradices* o *Glomus versiforme*, que cuando el potencial micorrízico o el nivel del fósforo son altos. Sin embargo, también se debe considerar que los cultivos con periodo de crecimiento relativamente largo captan más fósforo que los de periodo de crecimiento más corto y que la capacidad de captación de este elemento está asociada con la tasa de captación propia del cultivo así como con la duración de su ciclo (Otani y Ae 1996).

3.4 IMPORTANCIA DE LAS ESPORAS DE LOS HONGOS MICORRIZÓGENOS ARBUSCULARES

Las esporas, en general, han recibido mucha más atención que cualquiera otra estructura de los hongos debido a que la información sobre ellas tiene gran relevancia ecofisiológica (Cooke y Whipps 1993). Tales estructuras son consideradas como unidades nucleadas, con bajas tasas metabólicas y bajo contenido de agua, especializadas en dispersión, reproducción y/o sobrevivencia (Gregory 1966 *In*: Cooke y Whipps 1993). Las esporas de los hongos micorrizógenos arbusculares son consideradas primordialmente como estructuras de resistencia que pueden tener vida relativamente larga; sin embargo, a través de diferentes estudios ecológicos, se ha visto que su número fluctúa a través del año (Saif 1977; Louis y Smith 1987; Land y Schonbeck 1991), con una velocidad que depende de los cambios climáticos y edáficos así como de las condiciones agronómicas.

El estudio sobre la producción de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares se concentra en pocas especies, mismas que han sido comparadas entre diferentes plantas hospederas. Strubble y Skipper (1988) encontraron mayor producción de esporas de *Gl.*

claroideum, *Gl. etunicatum* y *G. margarita* asociadas con maíz que con otras gramíneas como *Sorghum vulgare* var. *sudanense* Piper Hitch. y *Paspalum notatum* Flugge, o con soya, después de 12 semanas de cultivo; sin embargo, al incrementarse el tiempo la esporulación parece inhibirse en maíz y aumenta en *Paspalum notatum*, lo que indica que la esporulación no se presenta en las mismas tasas en las diferentes plantas hospederas ni a diferentes tiempos de permanencia de los cultivos. Las características del sustrato también juegan un papel determinante en la repropagación de los hongos micorrizógenos arbusculares, obteniéndose cantidades variables de esporas de una misma especie en diferentes sustratos (García-Jiménez 2000) Sin embargo, la abundancia de esporas no siempre es un indicador del tamaño o la salud de las poblaciones micorrizicas arbusculares en el suelo (Jasper *et al.* 1993).

3.5. EL PAPEL DE LAS ASOCIACIONES MICORRÍZICAS ARBUSCULARES EN LAS LEGUMINOSAS

La micorriza arbuscular tiene una importancia fundamental sobre la ecofisiología de la nodulación de las leguminosas, sobre la biota de su suelo circundante y sobre su asociación con otras plantas. El efecto que ejerce ha sido detectado mediante la valoración de la transferencia de nutrimentos llevada a cabo por las hifas de planta a planta, así como del suelo a la planta; también se ha visto que las leguminosas micorrizadas mejoran su capacidad competitiva por la captación de nutrimentos (Bethlenfalvay y Newton 1989). De este modo, en leguminosas noduladas por *Rhizobium* sp., la simbiosis endomicorrízica juega un papel importante debido a que el proceso de fijación biológica de nitrógeno genera una alta demanda de fósforo en forma de ATP. El costo metabólico del uso de nitrógeno atmosférico, con respecto al de la utilización de formas combinadas, es en general mayor, pero las plantas son capaces de incrementar su eficiencia fotosintética y suministrar los carbohidratos necesarios para ese proceso, además de sostener el desarrollo de su cosimbionte micorrízico (Paul y Kucey, 1981 *In*: Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato 1990).

Por las posibilidades de sustitución de la fertilización nitrogenada y la reducción de las necesidades de aplicación de fósforo, el uso de hongos micorrizógenos arbusculares y leguminosas, que sean eficientes y con capacidad competitiva, representa una alternativa de manejo idónea y con buenas perspectivas.

3.6. IMPORTANCIA DE LOS TEPETATES

En la mayoría de los países del arco volcánico centro y sudamericanos, los suelos volcánicos que presentan en sus perfiles horizontes endurecidos han sido designados con nombres vernáculos, siendo los más comunes: tepetate, talpetate y cangahua. La extensión y localización exactas de éstos, se conocen únicamente en los países en los que se ha realizado un inventario exhaustivo (México, Ecuador en forma parcial, Nicaragua y Chile). Estas formaciones se encuentran generalmente en regiones en las que el clima presenta una temporada seca bien marcada. En México, los tepetates cubren el 27% de la superficie del Eje Neovolcánico, donde se encuentra inmerso Tlaxcala, del cual constituyen el 54% de su superficie (Zebrowski 1992) con una superficie de tepetates potencialmente aflorables de aproximadamente 200,000 hectáreas (Etchevers y Brito 1997).

Werner (1986) consideró a la erosión como muy severa en el 19.7% y muy grave en el 2.5% del territorio tlaxcalteca. En los sitios sujetos a un fuerte proceso erosivo, los tepetates se encuentran principalmente enterrados, la mayoría a menos de 50 cm, con muchas posibilidades de aflorar, de continuar el proceso erosivo con las tasas actuales (Etchevers y Brito 1997); en estos casos, el suelo se caracteriza por poseer capas extremadamente endurecidas, muy escasas en nutrimentos minerales, que al ser roturadas se fragmentan en grandes bloques o columnas, lo que las hace inadecuadas para el cultivo. No obstante, con el objeto de incorporar estas superficies a la producción agrícola, se han realizado algunos trabajos desde el punto de vista de su caracterización química, como el de Etchevers *et al.* (1991), donde fueron analizados tepetates de diferentes procedencias, observando que los valores de pH medido en agua, van

desde 7.5 hasta 8.5; el N total es muy bajo, atribuyendo esta característica a la ausencia casi absoluta de residuos orgánicos; el P extractable también es prácticamente inexistente en todos los tipos de tepetate estudiados, lo cual puede deberse a los bajos niveles de P total; en cuanto a los porcentajes de nitrógeno y materia orgánica observados en los tepetates expuestos, no cultivados, se consideran muy bajos (Etchevers y Brito 1997). Con estas características, es comprensible que los tepetates tengan una capacidad muy escasa, casi nula, para mantener cultivos agrícolas; sin embargo, en varias partes de Tlaxcala estas superficies son manejadas con el objeto de producir maíz. Bajo esta perspectiva, es necesario conocer el potencial que los hongos micorrizógenos arbusculares pueden tener en el mejoramiento de algunas de las propiedades físicas y químicas del tepetate, así como en el éxito de su incorporación al uso agrícola.

En Tlaxcala, al igual que en otras partes del país, el cultivo principal es el maíz del cual en el ciclo agrícola 1995-1996 se sembraron 142,030 hectáreas, lo que constituye el 58.4% del total de la superficie sembrada en el estado (INEGI 1997). Sin embargo, su introducción en superficies degradadas no se considera adecuada debido a que es una planta que extrae grandes cantidades de nutrientes. Una alternativa para disminuir su efecto nocivo sobre el suelo, es sembrarlo en policultivo junto con otras especies como calabaza (*Cucurbita pepo*), frijol (*Phaseolus spp.*) y/o haba (*Vicia faba*), (INEGI *op cit.*), tal y como se lleva a cabo tradicionalmente en algunas comunidades. Considerando las ventajas de cultivar leguminosas, por las características ya citadas, la rotación del cultivo de leguminosas con maíz probablemente es una combinación adecuada para estos terrenos nutrimental y estructuralmente deficientes.

3.7. OBJETIVOS

Por lo citado anteriormente y a fin de conocer el potencial que pueden tener los hongos micorrizógenos arbusculares como mejoradores del tepetate para su integración al uso agrícola, en este trabajo se señalaron los siguiente objetivos:

- 1) Evaluar el efecto que ejerce la introducción de HMA y leguminosas sobre la formación y estabilidad de agregados, el pH, contenido de fósforo y materia orgánica de los tepetates.
- 2) Estimar la efectividad de *Glomus claroideum* y la mezcla *Gigaspora gigantea* -*Acaulospora* sp. sobre *Phaseolus coccineus* (ayocote) y *Vicia faba* (haba), cultivadas en un tepetate sin manejo agrícola previo.
- 3) Valorar si después de dos ciclos consecutivos de cultivo con leguminosas, el tepetate utilizado ha mejorado sus características, convirtiéndose en un sustrato menos limitante para el cultivo de maíz.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL EDÁFICO

El material edáfico se extrajo de una barranca en Santiago Tlalpan, Municipio de Hueyotlipan, Tlaxcala (Figura 1), es considerado tepetate café, toba 3 (Bauman *et al.* 1992) y se encontraba expuesto sin cubierta vegetal. El tepetate se roturó y se trasladó al Centro de Investigación en Ciencias Biológicas en donde se tamizó por una malla de dos milímetros, utilizando todo el material que pasó por este tamiz; posteriormente se cubrió con plástico y se fumigó con bromuro de metilo aplicando una lata de 1 kg, después de 24 h se descubrió y se permitió su aireación durante una semana antes de su utilización. Algunas de las características del tepetate se presentan en la tabla 1.

TABLA 1. ALGUNAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL TEPETATE ANTES DEL MANEJO AGRÍCOLA

pH	FÓSFORO DISPONIBLE	C.I.C.	TEXTURA	MATERIA ORGÁNICA (%)
7.63	0.7 ppm	17.2 meq	Migajón arcillo arenoso	(0.2) Extremadamente pobre

C I.C. = capacidad de intercambio catiónico.

FIGURA 1. UBICACIÓN DEL SITIO DE ADQUISICIÓN DEL TEPETATE



A: localización de Santiago Tlalpan, Municipio de Hueyotlipan, Tlaxcala. B: barranca de donde se extrajo del tepetate.

4.2 MATERIAL BIOLÓGICO

4.2.1. Plantas

Se utilizaron dos especies de leguminosas (Figura 2), *Vicia faba* L. (haba) y *Phaseolus coccineus* L. (ayocote) y una gramínea, *Zea mays* (maíz, criollo blanco). Las semillas se desinfectaron sumergiéndolas en una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 5 minutos, posteriormente se hicieron germinar en arena estéril antes de su siembra definitiva.

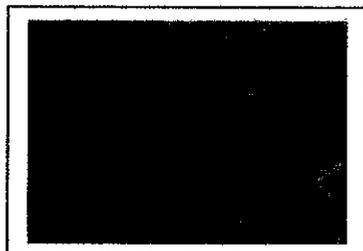
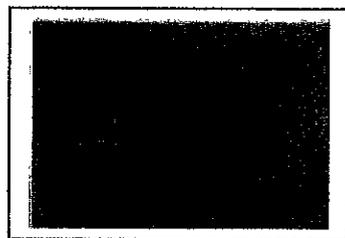
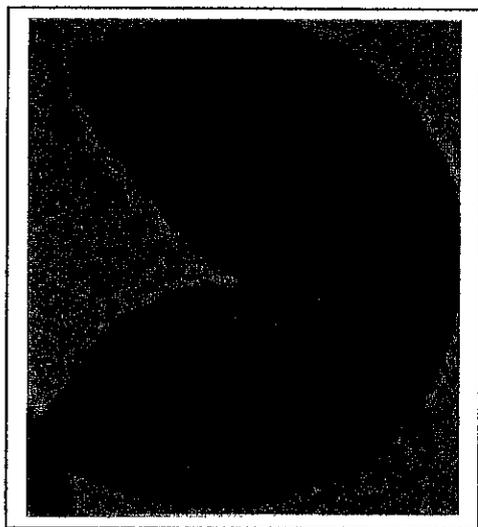
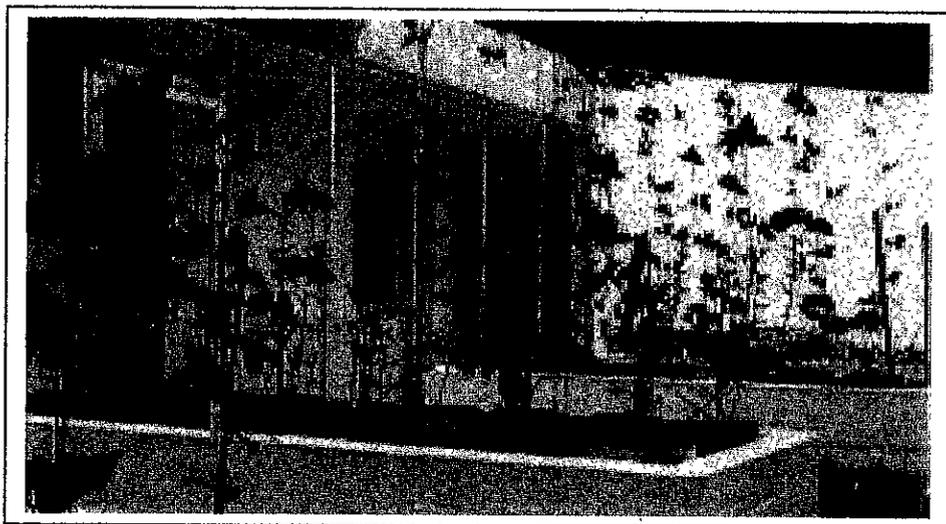
4.2.2. Hongos micorrizógenos arbusculares

Como inóculo micorrízico se utilizaron las cepas 0048TLX05 de *Glomus claroideum* Scheck y Smith y 0033TLX06 de la mezcla *Gigaspora gigantea* (Nicol. y Gerd.) Gerdemann y Trappe - *Acaulospora* sp., (Figura 2) aisladas de Santiago Tlalpan y El Valle del Tejocote, Tlaxcala, respectivamente. Ambas cepas se encuentran en el cepario de hongos micorrizógenos arbusculares del laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones en Ciencias Biológicas de la UAT.

4.3 DESARROLLO DEL EXPERIMENTO

En este trabajo se evaluaron un total de 19 tratamientos con diez repeticiones cada uno. El ensayo se montó en macetas manteniéndose en invernadero, sin control de temperatura ni de fotoperíodo, durante tres fases o ciclos de cultivo con duración de cinco meses cada uno; los dos primeros sembrando leguminosas y haciendo la rotación con la gramínea en el tercero. Simultáneamente se colocaron las macetas para 18 de los 19 tratamientos, adicionando el último tratamiento durante la tercera fase del experimento.

FIGURA 2. PLANTAS HOSPEDERAS Y HONGOS MICORRIZÓGENOS ARBUSCULARES UTILIZADOS



1: disposición del experimento en el invernadero con haba (H) y ayocote (A). 2: *Glomus claroideum* 40X. 3: *Gigaspora gigantea* 20X. 4: *Acaulospora* sp. dentro de raíz de alfalfa 10X.

Primera fase: se montó un experimento factorial 2X3, con dos diferentes plantas (haba y ayocote) y tres tratamientos de inoculación (*Glomus claroideum*, mezcla de *Gigaspora gigantea-Acaulospora* sp. y testigo sin inocular). Cada tratamiento consistió de 30 réplicas utilizando como unidad experimental macetas llenas con cuatro kg de tepetate. Las unidades experimentales se dispusieron completamente al azar. Para la siembra se eligieron las plántulas de leguminosas que al momento del trasplante tenían de siete a nueve cm de longitud y se colocó una en cada maceta procediendo a su inoculación, lo cual se realizó por única vez al momento de la siembra del primer cultivo colocando el inóculo sobre la raíz de la plántula. Para cada planta se colocaron 109 g de inóculo de *Glomus claroideum* o 30 g de inóculo de la mezcla *Gigaspora gigantea + Acaulospora* sp, consistente en suelo, con trozos de raíz e hifas, con una capacidad de colonización previamente calculada de 15.3%, a través de un ensayo con maíz inoculado con las especies fúngicas y sembrado en el mismo tepetate utilizados en este experimento. Transcurridos cinco meses se dejaron secar las plantas y se cosecharon. Para la evaluación correspondiente, se tomaron las plantas y el suelo de diez macetas de cada tratamiento, dejando el suelo de las otras 20 macetas intacto para la segunda fase del experimento.

Segunda fase: para esta fase, cada una de las 20 macetas que se mantuvieron con el suelo intacto fueron sembradas con las mismas leguminosas que habían contenido en la fase anterior. Nuevamente se desinfectaron y germinaron en arena estéril, semillas de haba y ayocote como se describió anteriormente, una vez que alcanzaron de siete a nueve cm de longitud se trasplantaron a las macetas correspondientes. Al término de cinco meses, se dejaron secar las plantas y se cosecharon. Para la evaluación de esta segunda fase se tomaron las plantas y el tepetate de otras diez macetas de cada tratamiento pero ahora se consideró que el tepetate tenía 10 meses de

Tercera fase: en este tercer ciclo de cultivo las leguminosas fueron sustituidas por maíz. Las semillas se desinfectaron del mismo modo que las de haba y ayocote; cuando alcanzaron la longitud deseada se trasplantaron a las diez macetas restantes de cada tratamiento y se adicionó el tratamiento número 19 que consistió en sembrar maíz en tepetate sin manejo agrícola previo, a fin de comparar su desarrollo con el de las plantas crecidas en el tepetate ya manejado. Al final

de cinco meses, se tomaron nuevamente las plantas y el tepetate, con 15 y cinco meses de manejo, y se procedió a las determinaciones. De esta forma, al final del experimento, los 19 tratamientos (con diez réplicas cada uno) quedaron de la siguiente forma:

- ▷ Tepetate inoculado con *Glomus claroideum* y sembrado durante un ciclo con haba.
- ▷ Tepetate inoculado con *Glomus claroideum* y sembrado durante dos ciclos con haba.
- ▷ Tepetate inoculado con *Glomus claroideum* y sembrado durante dos ciclos con haba y durante el tercer ciclo con maíz.
- ▷ Tepetate inoculado con *Glomus claroideum* y sembrado durante un ciclo con ayocote
- ▷ Tepetate inoculado con *Glomus claroideum* y sembrado durante dos ciclos con ayocote.
- ▷ Tepetate inoculado con *Glomus claroideum*, sembrado durante dos ciclos con ayocote y durante el tercer ciclo con maíz.
- ▷ Tepetate inoculado con la mezcla *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp. y sembrado durante un ciclo con haba.
- ▷ Tepetate inoculado con la mezcla *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp. y sembrado durante dos ciclos con haba.
- ▷ Tepetate inoculado con la mezcla *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp., sembrado durante dos ciclos con haba y durante el tercer ciclo con maíz.
- ▷ Tepetate inoculado con la mezcla *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp. y sembrado durante un ciclo con ayocote.
- ▷ Tepetate inoculado con la mezcla *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp. y sembrado durante dos ciclos con ayocote.
- ▷ Tepetate inoculado con la mezcla *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp., sembrado durante dos ciclos con ayocote y durante el tercer ciclo con maíz.
- ▷ Tepetate sin inocular y sembrado durante un ciclo con haba.
- ▷ Tepetate sin inocular y sembrado durante dos ciclos con haba.
- ▷ Tepetate sin inocular, sembrado durante dos ciclos con haba y durante el tercer ciclo con maíz.
- ▷ Tepetate sin inocular y sembrado durante un ciclo con ayocote .
- ▷ Tepetate sin inocular y sembrado durante dos ciclos con ayocote.

▷ Tepetate sin inocular, sembrado durante dos ciclos con ayocote y durante el tercer ciclo con maíz

Durante los tres ciclos de cultivo, el riego se hizo utilizando agua corriente, aplicando a saturación cuando la planta mostró marchitamiento muy ligero. Además, en cada ciclo de cultivo se añadieron 50 ml de solución nutritiva de Long Ashton sin fósforo (Apéndice 1) dos días después del transplante y 50 ml un mes después.

4.4. VARIABLES EVALUADAS

Las variables evaluadas en las plantas fueron: el porcentaje de micorrización, el peso seco total y el contenido de fósforo de la parte aérea. En el primer caso se trabajó de acuerdo con el método descrito por Sieverding (1983), que consiste en colocar sobre un portaobjetos, de forma paralela, 20 segmentos de raíces teñidas con azul de tripano de aproximadamente un centímetro de longitud, estas raíces se observan al microscopio óptico, recorriendo la lámina portaobjetos tres veces, en los extremos y a la mitad, de modo que en total se observan 60 campos por lámina. El peso seco total se determinó dejando secar las plantas a una temperatura de 70°C en una estufa hasta peso constante. El contenido de fósforo en los tejidos de maíz se determinó por reducción de fosfomolibdatos, usando el método colorimétrico de azul de molibdeno de Fiske y Subbarow (Chapman y Pratt 1976).

Para cada una de las 10 repeticiones de cada tratamiento se determinó la cantidad de esporas contenidas en 100 gramos de suelo seco (gss) a través de la técnica de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson 1963) y centrifugación en gradiente de sacarosa (Daniels y Skipper 1982). El contenido de fósforo disponible en el suelo se determinó usando el método de Olsen (Reeuwijk 1986); para la materia orgánica se utilizó el método de Walkley y Black (Alcántar-González *et al.* 1992); el pH se determinó con agua utilizando un potenciómetro, mientras que la estabilidad hídrica de los agregados se valoró utilizando el método de percolación (Becher y Kainz 1983). Además, del total de suelo que se tamizó de cada tratamiento para

evaluar la estabilidad de los agregados, se calculó el porcentaje en peso de partículas entre 1 y 2 milímetros de diámetro.

4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron sometidos a diferentes pruebas estadísticas. Para la estabilidad de los agregados (ml de agua/tiempo), el porcentaje de partículas de 1 a 2 milímetros de diámetro, el contenido de materia orgánica en el suelo y la producción total de biomasa vegetal, se aplicó análisis de varianza (SAS 1987); el número de esporas por 100 g.s.s. y el porcentaje de colonización de las raíces, se sometieron a análisis de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney (Infante y Zárate de Lara 1984). En cuanto al fósforo y al pH, no se les aplicó prueba estadística alguna debido que en el primero se detectaron únicamente trazas en la mayoría de los tratamientos, y en el pH se determinan valores logarítmicos.

5. RESULTADOS

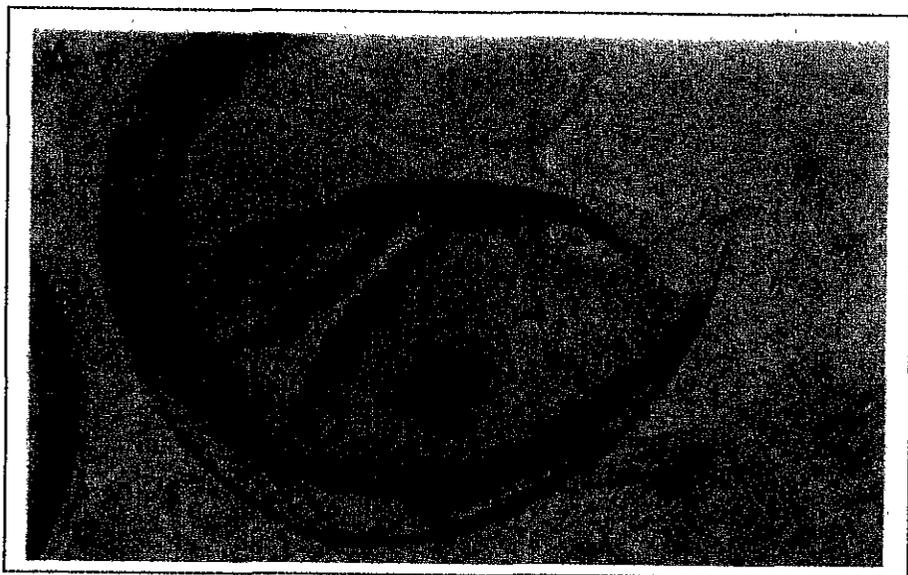
5.1. NÚMERO DE ESPORAS

A pesar de que la fumigación del tepetate se realizó con bromuro de metilo, como se ha recomendado en otros trabajos, desde el primer ciclo de cultivo se presentó *Glomus intraradices* (Figura 3) como contaminante, aún en las macetas testigo. Ésta puede ser una especie nativa cuyo desarrollo se favoreció en el experimento; o bien, el establecimiento de dicha especie también pudo deberse a que las instalaciones del invernadero en el cual se mantuvo el experimento no se encuentran en óptimas condiciones. Independientemente de su fuente, este hongo mostró una buena adaptación a las condiciones del ensayo reproduciéndose exitosamente, al grado de inhibir fuertemente a *Glomus claroideum* y de suprimir completamente a la mezcla *Gigaspora gigantea-Acaulospora* sp.

5.1.1. Efecto del inóculo

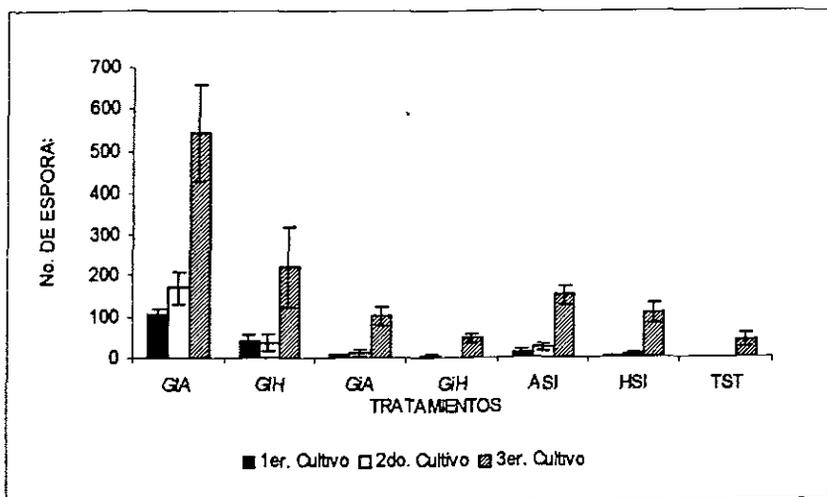
El número de esporas analizado con respecto al efecto de la especie fúngica inoculada muestra que, en general, los suelos con *Glomus claroideum* contienen la mayor cantidad de esporas en comparación al número encontrado en los suelos inoculados con *Gigaspora gigantea-Acaulospora* sp. y los cultivados sin inóculo (figura 4). La prueba de Kruskal-Wallis indicó que el efecto de *Glomus claroideum* con relación al de los otros tratamientos de inoculación es estadísticamente diferente. En la tabla 2 se observa que la cantidad de esporas encontrada en los suelos no inoculados es mayor que la hallada en aquéllos tratados con *Gigaspora gigantea-Acaulospora* sp.; sugiriendo que, de alguna manera, el inóculo de *Gigaspora gigantea-Acaulospora* sp. inhibe la esporulación de *Glomus intraradices*. Sin embargo, la prueba estadística señala que aunque existen más esporas en el suelo que no se inoculó que en el inoculado con *Gigaspora gigantea-Acaulospora* sp. la diferencia no es significativa, pero ambos

FIGURA 3. *Glomus intraradices*



A). Espora en donde se muestran las paredes (P) 40X. B. Esporas (E) teñidas con reactivo de melzer, desarrollándose dentro de la raíz de ayocote (R) 10X.

FIGURA 4. NÚMERO DE ESPORAS POR 100 GSS POR TRATAMIENTO/CICLO DE CULTIVO



GIA=*Glomus claroideum*-ayocote, GH=*Glomus claroideum*-haba, GiA= *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp.-ayocote, GiH = *Gigaspora gigantea*+ *Acaulospora* sp.-haba, ASI = ayocote sin inóculo, HSI = haba sin inóculo, TST = tepetate sin tratamiento previo. Para cada tratamiento se muestran los valores promedio \pm el error estandar.

TABLA 2. NÚMERO TOTAL DE ESPORAS POR INÓCULO/PLANTA HOSPEDERA

INÓCULO	PLANTA HOSPEDERA		
	AYOCOTE	HABA	MAÍZ
<i>Glomus claroideum</i>	1,941 a	549 b	5,363 c
<i>Gigaspora gigantea</i> - <i>Acaulospora</i> sp.	132 a	36 b	1,045 c
Sin inóculo	242 a	62 b	1,817 c

Valores con la misma letra en la misma línea no tienen diferencia estadísticamente significativa.

si presentaron diferencia estadísticamente significativa con respecto a lo encontrado en los suelos inoculados con *Glomus claroideum*, en donde las esporas fueron sustancialmente más abundantes.

5.1.2. Efecto de las plantas hospederas

En cuanto al efecto que tienen las plantas sobre el número de esporas en el tepetate, los resultados indican que de las tres plantas utilizadas, el cultivo de maíz estimula con mayor intensidad la esporulación de *Glomus intraradices*. La tabla 3 muestra los números totales de esporas por planta hospedera, observándose que en el suelo con maíz, la cantidad de esporas es mucho mayor que en las otras dos plantas; la prueba de Kruskal-Wallis señala que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los hospederos. Respecto al número de esporas determinado en los suelos cultivados con leguminosas, en la misma tabla se observa que en el caso de ayocote hay mayor cantidad de estos propágulos que en los suelos sembrados con haba. La aplicación de la prueba estadística señala que la utilización de frijol ayocote favorece la esporulación de este hongo.

TABLA 3. NÚMERO TOTAL DE ESPORAS POR FACTOR EVALUADO

FACTOR	TRATAMIENTO	No. DE ESPORAS
Inóculo	<i>Gigaspora gigantea-Acaulospora</i> sp.	1,213 a
	Testigo	2,121 a
	<i>Glomus claroideum</i>	7,853 b
Planta hospedera	Haba	647 a
	Ayocote	2,315 b
	Maíz	8,225 c
Ciclo de cultivo	Primer ciclo de cultivo	1,213 a
	Segundo ciclo de cultivo	1,749 a
	Tercer ciclo de cultivo	8,225 b

Valores con la misma letra en las columnas/factor no tienen diferencia significativa

5.1.3. Efecto del tiempo de manejo del tepetate

Los resultados mostrados tanto en la tabla 3 como en la figura 4, evidencian que la cantidad de esporas se incrementó conforme aumentó el lapso de manejo del tepetate. Como puede observarse, para el tercer ciclo de cultivo la cantidad de esporas se incrementó notablemente con relación a los dos primeros periodos, en tanto que la diferencia numérica entre el primero y el segundo ciclo fue muy pequeña. La prueba de Kruskal-Wallis señala que las diferencias entre los dos primeros ciclos de cultivo no son estadísticamente significativas, pero éstos en relación con el tercero si tienen diferencias significativas.

La esporulación también se analizó con respecto al efecto que sobre ella ejerce el manejo del tepetate. En el suelo sin manejo previo y sembrado con maíz como primera planta durante el tercer ciclo de cultivo, y a pesar de no haber recibido inoculación, también se encontraron esporas de *Glomus intraradices*; la figura 4 y la tabla 4 muestran que el número de esporas en el tepetate sin manejo supera al encontrado en el suelo de leguminosas durante el primer ciclo de cultivo, excepto en los suelos inoculados con *Glomus claroideum*. Comparando los tratamientos del tercer periodo, el número de esporas/100 g.s.s. encontrado en el tepetate sin manejo previo es menor que en cualquiera de los suelos que fueron sometidos a manejo agrícola en los dos ciclos anteriores. Estos resultados sugieren que el manejo del tepetate es conveniente para que las esporas puedan reproducirse con mayor eficiencia.

TABLA 4. NÚMERO DE ESPORAS DE *Glomus intraradices* POR 100 GSS EN EL PRIMER Y TERCER CICLOS DE CULTIVO

CC	GIA	GIH	GiA	GiH	ASI	HSI	TST*
Primero	106	42	6	5	12	2	-
Tercero**	545	221	101	47	139	103	31

CC = ciclo de cultivo, GIA = *Glomus claroideum*-ayocote, GIH = *Glomus claroideum*-haba, GiA = *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp.-Ayocote, GiH = *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp -haba, ASI = ayocote sin inóculo, HSI = haba sin inóculo, TST = tepetate sin tratamiento previo, * = tratamiento adicionado en el tercer ciclo de cultivo, ** = la planta se cambió de leguminosa a maíz.

5.1.4. Efecto de la relación hongo-planta

La cantidad de esporas en el tepetate es diferente en cada combinación hongo-planta y en la tabla 2 se observan los resultados de estos factores. *Glomus claroideum* asociado con el maíz es la combinación que favorece la esporulación, mientras que el mismo hongo con haba muestra la menor cantidad de esporas; en cuanto a *Gigaspora gigantea-Acaulospora* sp., su asociación con maíz es también la que provoca mayor esporulación, al igual que ocurre en donde no se introdujo inóculo, en el cultivo de maíz existe mayor cantidad de esporas. Como puede verse, la asociación *Glomus claroideum*-maíz es el tratamiento donde se obtienen mejores resultados, en tanto que la asociación *Gigaspora gigantea-Acaulospora*-haba inhibe fuertemente la esporulación. Los análisis estadísticos señalan que existen diferencias significativas entre los distintos tratamientos de inóculo-planta hospedera.

5.1.5. Efecto de la relación inóculo-tiempo de cultivo

La producción de esporas de acuerdo con la combinación inóculo-ciclo de cultivo fue diferente, como puede verse en la tabla 5. En los tres ciclos de cultivo la mayor cantidad de esporas puede observarse cuando se inoculó *Glomus claroideum*, con diferencias muy notables con relación a las otras combinaciones. Durante los tres ciclos de cultivo *Gigaspora gigantea+Acaulospora* sp. es la combinación que mostró menor inducción de formación de esporas. Como puede verse en la misma tabla, en el tercer ciclo se obtuvo la mayor abundancia de esporas sin importar que hubiera o no inoculación; estos resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas. Como puede advertirse al comparar las tablas 3 y 4, la mayor producción de esporas estuvo dada en el tercer período de manejo, que es cuando se realizó la rotación de cultivos de leguminosas a maíz.

Por otro lado, de las especies fúngicas utilizadas como inóculo, sólo *Glomus claroideum* se repropagó durante el tercer ciclo de cultivo: en cuatro de las siete repeticiones del suelo sembrado con haba, aunque siempre mezclada con *Glomus intraradices*; el número de esporas

encontrado en este tratamiento presentó un intervalo muy amplio, desde cinco hasta 548 esporas/100 gss, siendo únicamente en el suelo con mayor cantidad de esporas donde la población de *Glomus claroideum* superó a la de *Glomus intraradices*. En una de las repeticiones del tratamiento ayocote - *Glomus claroideum*, también se encontró repropagación de esta especie de hongo micorrizógeno pero también mezclado con *Glomus intraradices* en una proporción aproximada de 1:1.

TABLA 5 NÚMERO TOTAL DE ESPORAS POR TRATAMIENTO DE INOCULACIÓN/CICLO DE CULTIVO

INÓCULO	CICLO DE CULTIVO		
	PRIMERO	SEGUNDO	TERCERO
<i>Glomus claroideum</i>	1,037 a	1,453 a	5,363 a
<i>Gigaspora gigantea-Acaulospora</i> sp.	80 b	88 b	1,045 b
Sin inóculo	96 b	208 b	1,817 b

Valores con la misma letra en las hileras no son estadísticamente diferentes.

5.2. CONTENIDO DE FÓSFORO EN EL TEPETATE

La cantidad de fósforo disponible en el tepetate utilizado se evaluó únicamente al final del experimento, es decir, después del cultivo de maíz. La clasificación para el fósforo extractable determinado a través del método de Olsen, indica que un suelo tiene bajo contenido del elemento si se detectan menos de 5.5 ppm; es medio cuando contiene de 5.5 a 11 ppm y; alto cuando hay más de 11 ppm (Vázquez Alarcón y Bautista Aroche 1993). De acuerdo con los datos obtenidos, en el tepetate utilizado este elemento no se incrementó, encontrándose desde trazas hasta disponibilidad media; la clasificación del nivel de fósforo utilizada en este trabajo es cualitativa por lo que no se aplicó análisis estadístico alguno. No obstante, la tabla siete muestra el nivel de fósforo en el suelo de cada uno de los tratamientos y en ella puede apreciarse que en general el

fósforo es escaso; sin embargo, en el suelo cultivado con ayocote es donde pudo encontrarse el valor más alto (hasta 6.16 ppm), mientras que el tepetate cultivado con haba contiene solamente 5.06 ppm como máximo, en una de sus muestras. Como lo señala la misma tabla, la mayoría de los suelos contiene únicamente trazas del elemento, incluyendo al tepetate del tratamiento adicionado en el último ciclo de cultivo del experimento.

TABLA 6. CONTENIDO DE FÓSFORO TOTAL EN EL TEPETATE DESPUÉS DEL TERCER CICLO DE CULTIVO (ppm)

TRATAMIENTO	FÓSFORO
Ayocote - <i>Glomus claroideum</i>	Trazas
Ayocote- <i>G. gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	Bajo (2.5)
Ayocote sin inóculo	Bajo (4.2)
Haba - <i>Glomus claroideum</i>	Trazas a bajo (1.6)
Haba - <i>G. gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	Trazas a bajo (5.0)
Haba sin inóculo	Trazas
Tepetate sin manejo anterior	Trazas

5.3. CONTENIDO DE NITRÓGENO EN EL TEPETATE

En el tepetate cultivado con maíz durante el tercer periodo del experimento se midió la cantidad de nitrógeno en función del efecto que pudo estar ejerciendo el manejo al que fue sometido. En la tabla 7 se muestra el contenido de este elemento, observándose que después de tres ciclos de cultivo el nitrógeno está presente en cantidades muy pequeñas.

5.3.1. Efecto del inóculo

De acuerdo con los resultados obtenidos en función del inoculante, en la tabla 7 se advierte que las diferencias porcentuales de nitrógeno de uno a otro tratamiento de inoculación son pequeñas; la prueba de Tukey indica que no existen diferencias estadísticamente significativas

5.3.2. Efecto de la planta hospedera

El resultado del análisis de este factor tampoco mostró diferencias marcadas y aún cuando el promedio general del haba fue mayor que el de ayocote, la prueba estadística señala que estos valores no tienen diferencia significativa (Tabla 7). El análisis de varianza para los diferentes factores se muestra en el apéndice 2.

TABLA 7. CONTENIDO DE NITRÓGENO EN EL TEPETATE DESPUÉS DEL TERCER CICLO DE CULTIVO

TRATAMIENTO	NITRÓGENO (%)	δ
Ayocote - <i>Glomus claroideum</i>	0.013 a	0.00
Ayocote- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	0.020 a	0.00
Ayocote sin inoculación	0.020 a	0.01
Haba - <i>Glomus claroideum</i>	0.016 a	0.00
Haba - <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	0.016 a	0.01
Haba sin inoculación	0.020 a	0.00
Tepetate sin manejo anterior	0.013 a	0.00

Valores con la misma letra en la columna no tienen diferencia significativa. Prueba múltiple de Tukey (P=0.05) δ = desviación estándar.

5.4. CONTENIDO DE MATERIA ORGÁNICA EN EL TEPETATE

La materia orgánica inicial en el tepetate utilizado en este trabajo, se clasificó como extremadamente pobre. No obstante que en las macetas del segundo y tercer periodos de siembra se conservaron las raíces de los cultivos anteriores, la materia orgánica no se incrementó con la utilización del suelo para el cultivo de leguminosas durante dos ciclos y de maíz como tercer cultivo; el porcentaje de materia orgánica incluso se vió disminuido no siendo posible detectarlo en algunos casos. La tabla 8 muestra el contenido de materia orgánica por tratamiento en cada periodo de cultivo. En dicha tabla se observa que en el primer ciclo de cultivo el tepetate cultivado con haba inoculada con la mezcla *Gigaspora gigantea* + *Acaulospora* sp. presentó el contenido de materia orgánica más alto mientras que en el suelo cultivado con ayocote inoculado con *Glomus claroideum* no se detectó materia orgánica. Para el segundo ciclo de cultivo el valor más alto fue encontrado en el suelo cultivado con ayocote inoculado con *Glomus claroideum* en tanto que en el tepetate cultivado con haba inoculada con *Glomus claroideum* y en el ayocote inoculado con *Gigaspora gigantea* + *Acaulospora* sp. no se detectó materia orgánica. Después del tercer ciclo de cultivo el contenido de materia orgánica entre tratamientos se mostró más homogéneo, sin diferencias significativas. El análisis de varianza se muestra en el apéndice 2.

5.4.1. Efecto del inóculo

Con relación al inóculo utilizado, el mayor porcentaje de materia orgánica se encontró en el tepetate inoculado con la mezcla *Gigaspora gigantea* + *Acaulospora* sp. con 0.25%; los tratamientos con *Glomus claroideum* y sin inoculación tuvieron 0.19%. La diferencia en el contenido de materia orgánica entre tratamientos fue muy pequeña y no es estadísticamente significativa.

TABLA 8. EFECTO DE LOS DIFERENTES FACTORES SOBRE EL CONTENIDO DE MATERIA ORGÁNICA (%).

TIEMPO	HONGO	AYOCOTE		HABA	
		\bar{x}	\hat{e}	\bar{x}	\hat{e}
Primero	<i>Glomus claroideum</i>	0.00 b	0.84	0.45 ba	0.20
	<i>Gigaspora gigantea</i> +				
	<i>Acaulospora</i> sp.	0.31 ba	0.59	0.55 a	0.49
	Sin inóculo	0.20 ba	0.22	0.29 ba	0.38
Segundo	<i>Glomus claroideum</i>	0.13 a	0.00	0.00 b	0.00
	<i>Gigaspora gigantea</i> +				
	<i>Acaulospora</i> sp.	0.00 b	0.00	0.02 ba	0.23
	Sin inóculo	0.04 ba	0.10	0.04 ba	0.08
Tercero	<i>Glomus claroideum</i>	0.36 a	0.00	0.16 a	0.41
	<i>Gigaspora gigantea</i> +				
	<i>Acaulospora</i> sp.	0.20 a	0.18	0.40 a	0.23
	Sin inóculo	0.40 a	0.10	0.16 a	0.08

Valores con la misma letra en las columnas/tiempo de cultivo no tienen diferencia significativa. Prueba múltiple de Tukey ($P=0.05$) \hat{e} = error estándar.

5.4.2. Efecto de las leguminosas

En cuanto al efecto que tuvieron las leguminosas hospederas sobre la cantidad de materia orgánica del tepetate, en el corto plazo parece no ser importante ya que la mayor cantidad se encontró en el tepetate cultivado con frijol ayocote con 0.23% mientras que en el sembrado con haba hubo 0.18%. La diferencia mostrada entre ambas leguminosas fue muy pequeña y no es estadísticamente significativa

5.4.3. Efecto del tiempo de manejo del tepetate

Respecto a la influencia que ejerce el tiempo de cultivo sobre la cantidad de materia orgánica en el tepetate, a pesar de que no hubo incremento en el contenido de materia orgánica del tepetate en relación con el tiempo que duró su manejo, se encontró 0.30% después del primer periodo de siembra. Para el segundo ciclo de cultivo el porcentaje disminuyó a 0.04%, incrementándose nuevamente después del tercer periodo a 0.30%. El análisis estadístico aplicado indica que el segundo ciclo de cultivo, con la menor cantidad de materia orgánica, es estadísticamente diferente de los otros periodos.

5.5. pH DEL TEPETATE

El manejo dado al tepetate en los diferentes tratamientos provocó que el pH, inicialmente determinado como alcalino (7.6), se incrementara a través de los ciclos de cultivo y en todos los tratamientos, hasta llegar a ser fuertemente alcalino. El comportamiento de esta propiedad del tepetate se muestra en la figura 5.

5.5.1. Efecto del inóculo

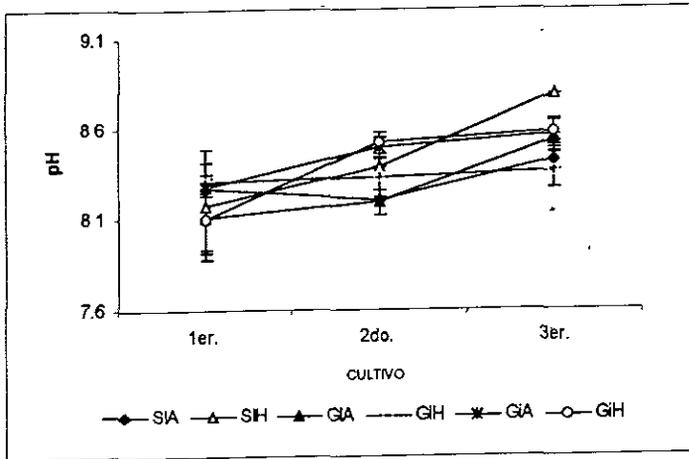
Los valores del pH del tepetate no mostraron variabilidad en función de los diferentes tratamientos de inoculación como se observa en la figura 5, ya que, por ejemplo, los tratamientos *Glomus claroideum*-haba y sin inocular-ayocote, mantuvieron la mayor estabilidad del pH durante el experimento variando solamente de 8.3 a 8.4. Sin embargo, el suelo con los mismos tratamientos de inoculación pero con ayocote el primero, varió de 8.1 a 8.5 y con haba el segundo, cambió de 8.2 a 8.8 siendo este último el valor más alto de todo el experimento.

5.5.2. Efecto de las plantas hospederas

Los suelos que fueron cultivados con leguminosas durante dos ciclos de cultivo no fueron afectados directamente por la planta hospedera ya que no se observó que la variación en los valores de pH se relacionara con alguna de estas plantas. Gráficamente se observa que el pH se incrementó aún más en los suelos que fueron sembrados con maíz en el tercer periodo de cultivo (Figura 5).

En la misma figura se advierte que en la asociación haba-*Glomus claroideum* es donde se presentó menor variación a través de los cultivos; la de haba-sin inoculación mostró el cambio de pH más fuerte, incrementándose de 8.2 a 8.8 al final del ensayo.

FIGURA 5. VARIACIÓN DEL pH A TRAVÉS DE LOS TRES CICLOS DE CULTIVO *



* En el tercer cultivo las leguminosas fueron sustituidas por maíz. SIA = ayocote sin inóculo, SIH = haba sin inóculo, GIH = *Glomus claroideum*-ayocote, GIH = *Glomus claroideum*-haba, GIH = *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp. - ayocote, GIH = *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp. - haba. Cada punto representa el promedio de siete repeticiones \pm el error estándar.

5.5.3. Efecto del tiempo de manejo del tepetate

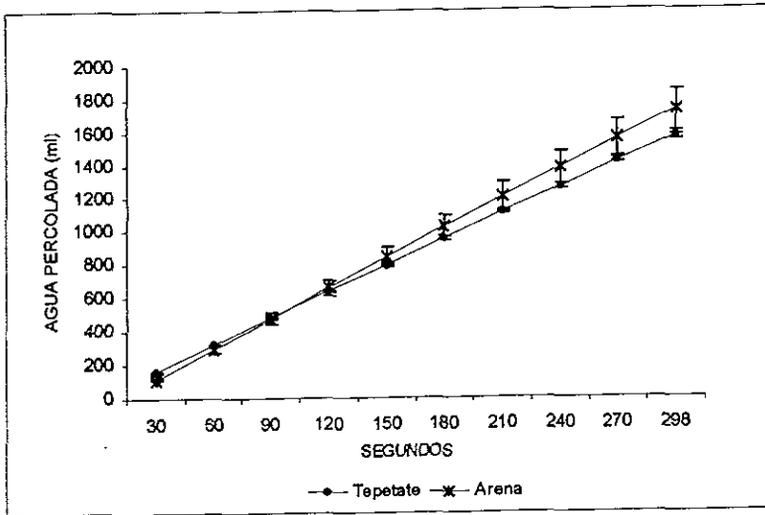
La duración del manejo agrícola del tepetate incrementó el pH ya que como se observa en la figura 5, al finalizar el primer ciclo de cultivo, el intervalo de valores fue de 8.1 a 8.3; para el segundo ciclo este intervalo se amplió de 8.2 a más de 8.5. Finalmente, después del tercer ciclo los valores fueron de 8.4 hasta 8.8. Como se observa en la misma figura todos los tratamientos incrementaron el valor del pH conforme transcurrió el tiempo, por lo que se considera que este es el factor de mayor importancia en la variación de este parámetro.

5.6. ESTABILIDAD HÍDRICA DE LOS AGREGADOS

La estabilidad de los agregados se valoró a través de la cantidad de agua que pasó por un tubo después de ocho minutos; en este método se supone que a mayor cantidad de agua que se utiliza, mayor es la estabilidad de los agregados. Como punto de referencia, se aplicó el mismo método de percolación a arena, la cual mantiene estabilidad total, así como al tepetate sin manejo agrícola para comparar su comportamiento con relación al mismo sustrato después de ser cultivado. La figura 6 muestra los datos obtenidos de estos dos sustratos sometidos al método de percolación durante cinco minutos. La tabla 9 muestra los valores obtenidos en cada uno de los tratamientos por ciclo de cultivo, observándose que las diferencias entre tratamientos son bajas y que no existen diferencias estadísticamente significativas en los ciclos de cultivo uno y dos, sin embargo el tepetate sin tratamiento anterior adicionado en el tercer periodo de siembra mostró valores inferiores, estadísticamente significativos, en la resistencia de los agregados al paso del agua. Además, para cada tratamiento, del total del tepetate tamizado para la valoración de la estabilidad hídrica, se calculó el porcentaje en peso, que tuvo un diámetro de 1 a 2 mm, tamaño requerido para aplicar el método de percolación. La Tabla 10 muestra que la diferencia de los porcentajes de suelo con este diámetro entre tratamientos por ciclo de cultivo es muy pequeña y no es estadísticamente significativa para el primero y el segundo periodos; en el tercer ciclo el

porcentaje de partículas con el diámetro requerido es menor en el tepetate sin cultivo anterior, siendo estadísticamente diferente de los otros tratamientos.

FIGURA 6. VELOCIDAD DEL AGUA DE PERCOLACIÓN EN TEPETATE SIN MANEJO AGRÍCOLA Y ARENA DURANTE CINCO MINUTOS



Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm el error estandar.

5.6.1. Efecto del inóculo

Los hongos micorrizógenos arbusculares inoculados no provocaron diferencias en cuanto a la resistencia hídrica de los agregados ya que el tepetate con *Glomus claroideum* permitió el paso de 2058 mililitros de agua, *Gigaspora gigantea* + *Acaulospora* sp. 1975 mililitros y el tepetate sin inóculo inicial 2083 mililitros, las diferencias fueron mínimas y no presentaron significancia estadística. El peso promedio de las partículas con 1 a 2 mm de diámetro tampoco presentó diferencias importantes con relación a los tratamientos de inoculación, ya que el tepetate con *Glomus claroideum* presentó 13.72%, con *Gigaspora gigantea* + *Acaulospora* sp. 13.31%

y el tepetate sin inoculación inicial tuvo 13.49% de partículas con el tamaño requerido. El análisis de varianza aplicado señaló que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de inoculación.

TABLA 9. AGUA PERCOLADA DESPUÉS DE OCHO MINUTOS EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS (PROMEDIO DE 10 REPETICIONES)

CICLO DE CULTIVO	TRATAMIENTO	AGUA PERCOLADA (ml)	ê
Primero	Haba- <i>Glomus claroideum</i>	1607.9 a	105.8
	Haba- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	1317.8 a	78.2
	Haba sin inocular	1457.1 a	64.0
	Ayocote - <i>Glomus claroideum</i>	1498.2 a	27.1
	Ayocote- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	1406.2 a	124.6
	Ayocote sin inocular	1676.1 a	82.1
Segundo	Haba- <i>Glomus claroideum</i>	2541.5 a	124.2
	Haba- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	2435.4 a	68.5
	Haba sin inocular	2450.4 a	78.6
	Ayocote - <i>Glomus claroideum</i>	2256.8 a	145.5
	Ayocote- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	1963.5 a	79.0
	Ayocote sin inocular	2446.1 a	54.4
Tercero*	Ayocote sin inocular	2350.6 a	91.5
	Haba- <i>Glomus claroideum</i>	2173.9 ab	50.8
	Haba- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	2321.3 ab	98.2
	Haba sin inocular	2118.1 ab	48.2
	Ayocote - <i>Glomus claroideum</i>	2269.9 ab	92.3
	Ayocote- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	1963.3 bc	109.9
	Tepetate sin tratamiento anterior	1616.0 c	106.1

* En el tercer ciclo se sustituyeron las leguminosas por maíz. Cada valor representa el promedio de siete repeticiones. Valores con letras iguales en las columnas/ciclo de cultivo no tienen diferencia significativa. Prueba múltiple de Tukey ($P=0.05$). ê = error estandar.

TABLA 10. PARTÍCULAS DE TEPETATE CON 1 A 2 MILÍMETROS DE DIÁMETRO EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

CICLO DE CULTIVO	TRATAMIENTO	1-2 mm (%)	ê
Primero	Haba- <i>Glomus claroideum</i>	14.35 a	0.18
	Haba- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	13.47 a	0.30
	Haba sin inocular	14.35 a	0.27
	Ayocote - <i>Glomus claroideum</i>	13.17 a	0.60
	Ayocote- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	14.01 a	0.38
	Ayocote sin inocular	13.60 a	0.53
Segundo	Haba- <i>Glomus claroideum</i>	13.55 a	0.56
	Haba- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	13.24 a	0.30
	Haba sin inocular	13.57 a	0.42
	Ayocote - <i>Glomus claroideum</i>	13.82 a	0.34
	Ayocote- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	13.14 a	0.20
	Ayocote sin inocular	13.07 a	0.43
Tercero	Haba- <i>Glomus claroideum</i>	13.42 a	0.20
	Haba- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	13.00 a	0.38
	Haba sin inocular	14.14 a	0.60
	Ayocote - <i>Glomus claroideum</i>	14.00 a	0.49
	Ayocote- <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	13.00 a	0.22
	Ayocote sin inocular	13.28 a	2.84
	Tepetate sin tratamiento anterior	10.42 b	0.43

⊙ En el tercer ciclo se sustituyeron las leguminosas por maíz. Cada valor representa el promedio de siete repeticiones. Valores con letras iguales en las columnas/ciclo de cultivo no tienen diferencia significativa. Prueba múltiple de Tukey (P=0.05). ê = error estandar.

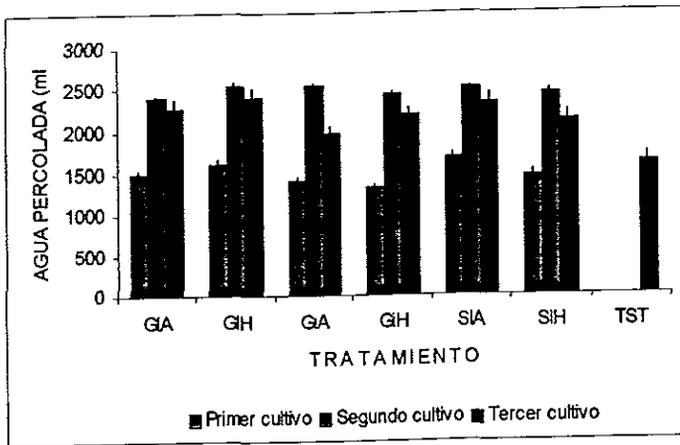
5.6.2. Efecto de las planta hospedera

Respecto al efecto de la planta hospedera sobre la estabilidad hídrica de los agregados, el suelo cultivado con frijol ayocote presenta mayor estabilidad que el de haba, aunque como lo muestra la figura 7, es poca la diferencia que puede apreciarse. El análisis estadístico aplicado señala que las diferencias observadas en el promedio de agua de percolación respecto a la leguminosa utilizada no es estadísticamente significativa (tabla 9). En cuanto a la influencia de las leguminosas, sobre las de partículas con diámetro de 1 a 2 mm, el suelo de frijol ayocote mostró un porcentaje de 3.56%, ligeramente mas alto que el suelo de haba que tuvo 13.45%; sin embargo al igual que ocurre en los datos de inoculación, las diferencias fueron mínimas y no son estadísticamente significativas. El análisis de varianza se muestra en el apéndice 2.

5.6.3. Efecto del tiempo de manejo del tepetate

El factor tiempo de cultivo es el que ejerce mayor efecto positivo sobre la estabilidad de los agregados. La figura 7 muestra que el agua de percolación aumentó con mayor tiempo de manejo. En el primer ciclo de cultivo se utilizaron 1494 mililitros, incrementándose después del segundo ciclo de cultivo a 2446 mililitros de agua percolada; sin embargo, en el tepetate del tercer cultivo disminuyó la estabilidad de los agregados ya que la cantidad promedio de agua utilizada fue de 2176, lo cual se atribuye al cambio de planta y no al tiempo de permanencia de los cultivos. En cuanto al porcentaje de partículas con 1 a 2 mm de diámetro, aparentemente disminuyó en el tepetate con mayor tiempo de cultivo ya que durante el primer ciclo de obtuvieron 13.65% de estas partículas, en el segundo 13.40% y en el tercer periodo 13.47%, sin embargo es poca la diferencia que se presentó entre los tres tiempo, de modo que el análisis de varianza indica que no es significativa. En el apéndice 2 se muestran los resultados del análisis de varianza por factor y sus interacciones respecto a la estabilidad hídrica de los agregados formados en el tepetate.

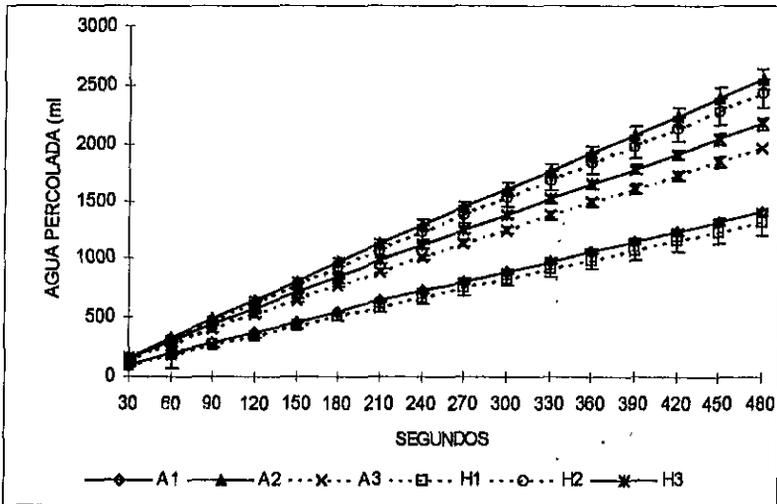
FIGURA 7. MILILITROS PROMEDIO DE AGUA PERCOLADA DESPUÉS DE OCHO MINUTOS POR TRATAMIENTO EN LOS TRES CICLOS DE CULTIVO*



*En el tercer ciclo se sustituyeron las leguminosas por maíz. GIA = *Glomus claroideum*-ayocote, GIH = *Glomus claroideum*-haba, SIA = sin inóculo-ayocote, SIH = sin inóculo-haba. Para cada tratamiento se muestra el valor promedio de siete repeticiones \pm el error estandar.

Comparando la velocidad del agua que pasó por los tubos con arena y con tepetate sin manejo agrícola (figura 6) contra la velocidad con que pasó por el tubo con tepetate inoculado con *Glomus claroideum* después del primer cultivo (figura 8), se observa que, la estabilidad hídrica de los agregados es menor en el suelo correspondiente al primer ciclo de cultivo, habiendo un incremento de la resistencia después del segundo periodo de cultivo; sin embargo se presentó una ligera disminución de la resistencia hídrica del segundo al tercer ciclo de cultivo debido, probablemente, a que fue cuando se sustituyeron las leguminosas por el maíz.

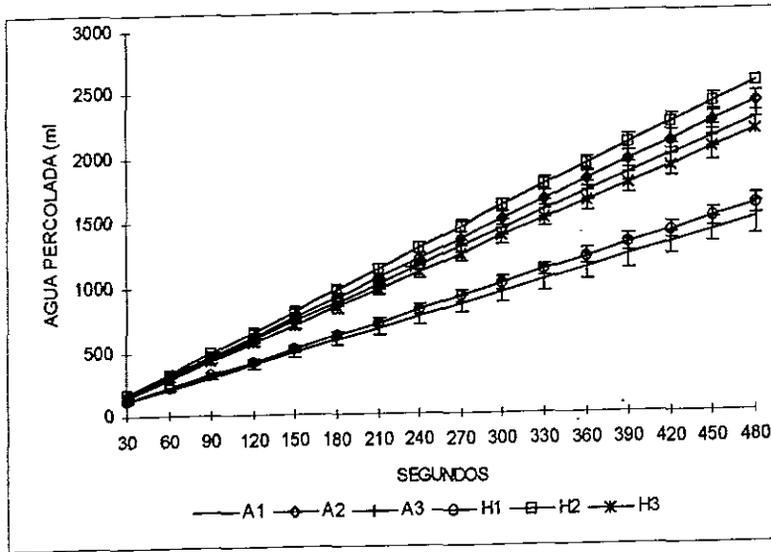
FIGURA 8. VELOCIDAD DEL AGUA DE PERCOLACIÓN EN EL TEPETATE INOCULADO CON *Glomus claroideum*, DURANTE LOS TRES CICLOS DE CULTIVO



Para cada tratamiento se muestra el valor promedio \pm el error estandar. A1= ayocote primer cultivo, A2 = ayocote segundo cultivo, A3 = ayocote tercer cultivo, H1 = haba primer cultivo, H2 = haba segundo cultivo, H3 = haba tercer cultivo.

El comportamiento mostrado por el tepetate inoculado con *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp., se ilustra en la figura 9 en la que puede observarse que los agregados del primer ciclo de cultivo tuvieron menor resistencia al paso del agua que la arena y el tepetate recientemente roturado y sin manejo alguno. Después del segundo ciclo de cultivo la resistencia hídrica se incrementó pero para el tercer ciclo nuevamente se observó un decremento en la estabilidad de los agregados. La figura 10 muestra los resultados del tepetate sin tratamiento de inoculación, observándose que el tepetate del primer ciclo de cultivo es menos resistente al agua que el tepetate de los dos periodos subsecuentes; sin embargo, también se presentó un decremento de la estabilidad de los agregados en el tepetate del tercer ciclo de cultivo. El análisis de varianza factorial se muestra en el apéndice 2.

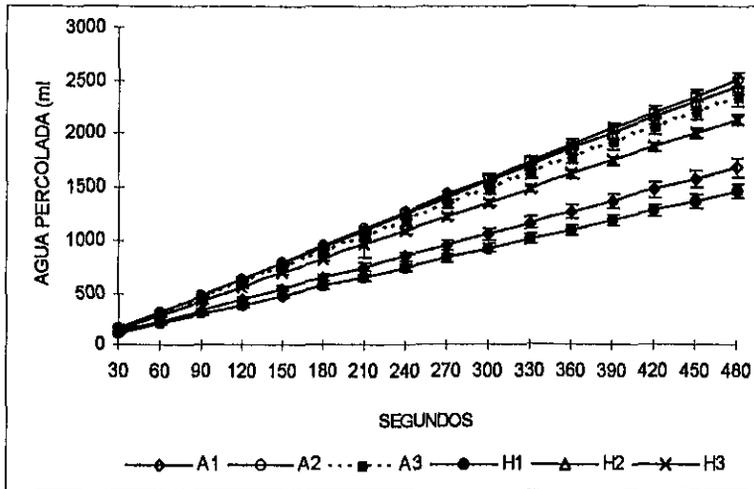
FIGURA 9. VELOCIDAD DEL AGUA DE PERCOLACIÓN EN EL TEPETATE INOCULADO CON *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp. DURANTE LOS TRES CICLOS DE CULTIVO



A1 = ayocote primer cultivo, A2 = ayocote segundo cultivo, A3= ayocote tercer cultivo, H1 = haba primer cultivo, H2 = haba segundo cultivo, H3 = haba tercer cultivo. Cada punto representa el promedio de siete repeticiones \pm el error estandar.

Como lo muestran las figuras 8, 9 y 10 en el segundo periodo de manejo del tepetate fue en el que se encontró mayor estabilidad hídrica de los agregados, siendo similar este comportamiento entre los tres tratamientos de inoculación.

FIGURA 10. VELOCIDAD DEL AGUA DE PERCOLACIÓN EN EL TEPETATE SIN TRATAMIENTO DE INOCULACIÓN DURANTE LOS TRES CICLOS DE CULTIVO



A1 = ayocote primer cultivo, A2 = ayocote segundo cultivo, A3 = ayocote tercer cultivo, H1 = haba primer cultivo, H2 = haba segundo cultivo, H3 = haba tercer cultivo. Cada punto representa el promedio de siete repeticiones \pm el error estandar.

5.7. PRODUCCIÓN DE BIOMASA TOTAL DE LAS PLANTAS HOSPEDERAS

La producción de biomasa no es comparable entre las diferentes especies hospederas puesto que cada una de ellas presenta desarrollos propios que no pueden confrontarse entre sí; por este motivo el peso seco total de las leguminosas se comparó por separado, para el primero y segundo ciclos de cultivo. Las plantas de maíz del tercer periodo de evaluación se analizaron entre tratamientos de manejo del tepetate.

5.7.1. Biomasa del frijol ayocote

5.7.1.1. Efecto del inóculo

En la figura 11 se observa que el peso del ayocote con relación al tratamiento de inoculación fue ligeramente mayor cuando se inoculó con *Glomus claroideum*; sin embargo el análisis de varianza señala que las diferencias no son estadísticamente significativas (Tabla 11).

TABLA 11. PRODUCCIÓN DE BIOMASA TOTAL DEL AYOCOTE EN LOS DOS CICLOS DE CULTIVO

CICLO DE CULTIVO	TRATAMIENTO DE INOCULACIÓN	PESO SECO TOTAL (gr)	ê
Primero	<i>Glomus claroideum</i>	4.73 a	0.80
	<i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	3.67 a	0.84
	Sin inoculación	3.50 a	1.14
Segundo	<i>Glomus claroideum</i>	6.39 a	1.03
	<i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	6.54 a	0.66
	Sin inoculación	5.60 a	0.76

Valores con la misma letra en las columnas/ciclo de cultivo no tienen diferencia significativa Prueba múltiple de Tukey ($P = 0.05$). ê = error estandar.

5.7.1.2. Efecto del tiempo de manejo del tepetate

Para el segundo ciclo de cultivo del frijol ayocote, la figura 12 muestra que la biomasa se incrementó con relación a la obtenida durante el primer cultivo en todos los tratamientos. Aunque gráficamente este aumento en el peso de las plantas fue mínimo, el análisis estadístico señala que el tiempo de manejo del tepetate es un factor determinante para la producción de biomasa de esta planta (Tabla 11). El análisis de varianza factorial para el peso seco total se muestra en el apéndice 2.

5.7.2. Biomasa del haba

5.7.2.1. Efecto del inóculo

Con relación a la biomasa producida por el haba, el tratamiento de inoculación con *Gigaspora gigantea* generó un menor peso total en la planta, mientras que al ser inoculada con *Glomus claroideum* el peso seco se incrementó (figura 11). El análisis de varianza aplicado indicó que el peso del haba inoculada con *Glomus claroideum* y el del haba no inoculada no fueron estadísticamente diferentes; sin embargo, ambas presentaron diferencias significativas con relación al peso de las plantas inoculadas con la mezcla *Gigaspora gigantea-Acaulospora* sp. (tabla 12).

5.7.2.2. Efecto del tiempo de manejo del tepetate

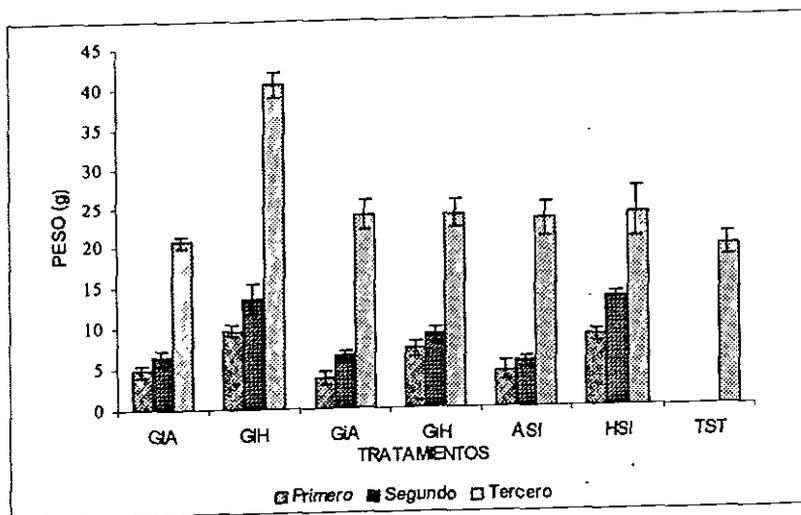
En cuanto al efecto que ejerce el tiempo de manejo del tepetate sobre el desarrollo del haba, la figura 12 muestra el incremento en el peso seco total del primero al segundo ciclo de cultivo, el análisis de varianza señala que la diferencia entre el peso de las plantas de uno a otro ciclo de cultivo fue estadísticamente significativo (tabla 12). El análisis de varianza factorial para el peso seco total se muestra en apéndice 2.

5.7.3. Biomasa del maíz

5.7.3.1. Efecto del inóculo

El maíz es el cultivo que se sembró durante el tercer período del experimento. Se observa en la figura 12 que aunque los valores mostrados al inocular con *Glomus claroideum* son mayores que en los otros tratamientos, la prueba estadística indica que estas diferencias en peso seco total no son estadísticamente significativas. El análisis de varianza respectivo se muestra el apéndice 2.

FIGURA 11. PESO SECO TOTAL DE LAS PLANTAS POR TRATAMIENTO/CICLO DE CULTIVO *



* En el tercer ciclo de cultivo se sustituyeron las leguminosas por maíz. GIA = *Glomus claroideum*-ayocote, GiH = *Glomus claroideum*-haba, GiA = *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora*-ayocote, GiH = *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora*-haba, ASI = ayocote sin inóculo, HSI = haba sin inóculo, TST = tepetate sin tratamiento previo. Cada barra representa el promedio de siete repeticiones \pm el error estandar.

TABLA 12. EFECTO DE LOS DIFERENTES FACTORES SOBRE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DEL HABA EN LOS DOS CICLOS DE CULTIVO

CICLO DE CULTIVO	TRATAMIENTO DE INOCULACIÓN	PESÓ SECO TOTAL (g)	$\hat{\epsilon}$
Primero	<i>Glomus claroideum</i>	9.70 a	0.75
	<i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	7.30 a	0.95
	Sin inóculo	8.74 a	0.71
Segundo	<i>Glomus claroideum</i>	13.52 a	1.90
	<i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	8.93 a	0.97
	Sin inóculo	13.37 a	0.66

Valores con la misma letra en las columnas no tienen diferencia significativa. Prueba múltiple de Tukey ($P = 0.05$). $\hat{\epsilon}$ = error estandar.

5.7.3.2. Efecto de la leguminosa

Se analizó también el efecto que ejerció el cultivo anterior al maíz; en la figura 11 se ilustra que en el suelo de uno de los tratamientos con haba la producción de biomasa del maíz es notablemente mayor, mientras que en los suelos sembrados con ayocote los valores son más homogéneos. El análisis de varianza aplicado a estos resultados indica que la diferencia en peso, con relación al cultivo anterior, si es significativamente diferente (tabla 13). En cuanto a la biomasa obtenida en el tepetate sin manejo agrícola anterior, en la misma tabla 13 se observa que el peso promedio es menor que en todos los demás tratamientos, aunque la diferencia que se advierte, comparándolo con lo producido en el suelo manejado con ayocote-*Glomus claroideum*, fue mínima. El análisis estadístico señala que la diferencia en peso del maíz producido en tepetate sin manejo anterior solo es estadísticamente igual a lo encontrado en los suelos manejados con ayocote-*Glomus claroideum*, pero difiere del resto de los tratamientos.

TABLA 13. EFECTO DEL MANEJO DEL TEPETATE SOBRE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DEL MAÍZ

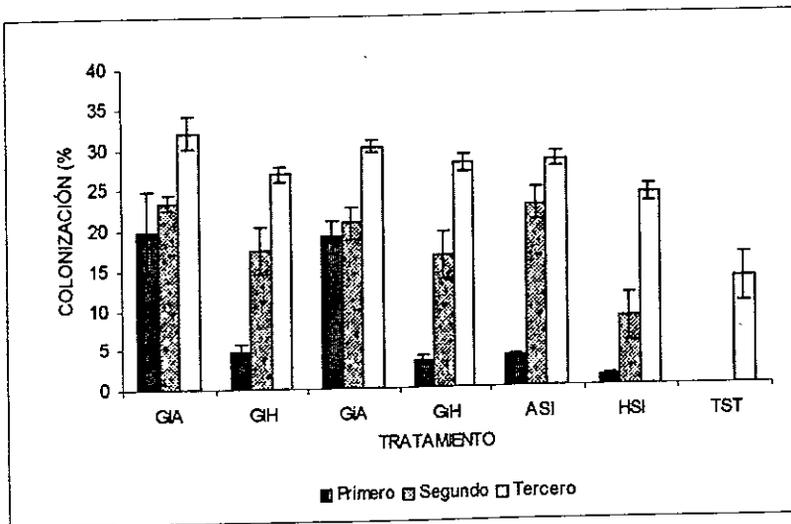
TRATAMIENTO ANTERIOR	PESO SECO TOTAL	ê
Ayocote <i>Glomus claroideum</i>	20.67 c	0.74
Ayocote <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	23.57 cb	1.82
Sin inóculo	23.20 cb	2.20
Haba <i>Glomus claroideum</i>	40.54 a	1.55
Haba <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	23.94 cb	1.76
Sin inóculo	29.34 b	3.23
Tepetate sin manejo*	19.73 c	1.43

* Tratamiento adicionado en el tercer periodo de cultivo. Valores con la misma letra en las columnas no tienen diferencia significativa. Prueba múltiple de Tukey (P=0.05). ê = error estandar.

5.8. PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN EN RAÍCES

En la figura 12 se muestra los porcentajes de colonización micorrizica calculados para las tres especies de plantas hospederas, sometidas a diferentes tratamientos de inoculación en los tres periodos de cultivo. La tabla 14 muestra que los porcentajes de micorrización en las leguminosas hospederas fue diferente tanto entre ellas, como entre los dos ciclos de manejo del tepetate. En cuanto a la colonización mostrada por las plantas de maíz en el tercer ciclo de cultivo (tabla 15), los porcentajes presentaron cierta variación con relación al manejo dado al tepetate en los dos ciclos anteriores a la siembra de estas plantas.

FIGURA 12. PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN POR PLANTA HOSPEDERA/TRATAMIENTO DE INOCULACIÓN EN LOS TRES CICLOS DE CULTIVO ☉



☉ En el tercer ciclo de cultivo las leguminosas se sustituyeron por maíz. GIA = *Glomus claroideum*-ayocote, GIH = *Glomus claroideum*-haba, GiA = *Gigaspora gigantea* + *Acaulospora* sp.- ayocote, GIH = *Gigaspora gigantea*+*Acaulospora* sp.- haba, ASI = ayocote sin inoculación, HSI = Haba sin inoculación, TST = tepetate sin tratamiento anterior. Cada barra representan el promedio de siete repeticiones \pm el error estandar.

5.8.1. Efecto del inóculo

Las leguminosas inoculadas con *Glomus claroideum* fueron las que presentaron los porcentajes de colonización más altos (tabla 14). Los porcentajes más pequeños los mostraron las plantas sin inoculación inicial cuyos valores, excepto del ayocote en el segundo periodo de cultivo, fueron estadísticamente diferentes de los otros dos tratamientos de inoculación. Respecto al maíz, la colonización fue independiente del tratamiento de inoculación anterior ya que los porcentajes fueron similares entre los tratamientos, determinándose solamente diferencia estadística en las plantas crecidas en tepetate sin manejo previo. De manera global, los porcentajes de colonización relacionados con la especie fúngica indicaron que *Glomus claroideum* presentó la mayor influencia, al colonizar en 25.6%, mientras que la mezcla *Gigaspora gigantea* + *Acaulospora* solo aportó 19.6% de colonización micorrízica arbuscular.

TABLA 14. COLONIZACIÓN MICORRÍZICA EN LEGUMINOSAS POR CICLO DE CULTIVO/TRATAMIENTO DE INOCULACIÓN

CICLO DE CULTIVO	TRATAMIENTO DE INOCULACIÓN	PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN	
		HABA	AYOCOTE
Primero	<i>Glomus claroideum</i>	4.7 a	19.1 a
	<i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	3.5 a	19.1 a
	Sin inóculo	1.2 b	3.7 b
Segundo	<i>Glomus claroideum</i>	17.5 a	23.4 a
	<i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	6.6 b	20.8 a
	Sin inóculo	8.5 b	22.8 a

Valores con letras iguales en las columnas/ciclo de cultivo/planta no tienen diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis.

5.8.2. Efecto de la planta hospedera

De las leguminosas utilizadas en este trabajo, el ayocote fue la planta que presentó mayor colonización micorrízica independientemente del hongo inoculado y del tiempo de manejo del tepetate (tabla 14). El maíz por su parte, mostró porcentajes de colonización mayores que los de cualquiera de las dos leguminosas (tabla 15). La comparación de los porcentajes de colonización de las tres plantas hospederas mostraron que el maíz desarrolló la asociación en 27.5%, el ayocote en 18.5% y el haba, con el valor más pequeño, en 7.0%. De acuerdo con la prueba estadística de Mann-Whitney la diferencia entre los porcentajes de las dos leguminosas fue significativa. La diferencia del maíz respecto de las leguminosas también tuvo significancia estadística

TABLA 15. EFECTO DEL MANEJO DEL TEPETATE SOBRE LA COLONIZACIÓN MICORRÍZICA DEL MAÍZ

TRATAMIENTO ANTERIOR	PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN
Haba <i>Glomus claroideum</i>	26.8 a
Haba <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	27.9 a
Haba sin inóculo	20.1 a
Ayocote <i>Glomus claroideum</i>	32.0 a
Ayocote <i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	30.2 a
Ayocote sin inóculo	28.3 a
Tepetate sin tratamiento anterior	13.0 b

Valores con letras iguales en la columna no tienen diferencia significativa. Prueba de Kruskal - Wallis.

5.8.3. Efecto del tiempo de manejo del tepetate

La figura 13 muestra que el porcentaje de colonización micorrízica se incrementó con el transcurso del tiempo de manejo de los cultivos, correspondiendo la colonización más intensa al

tercer ciclo de cultivo, donde se determinó el 32% como el valor más alto en uno de los tratamientos. La comparación global de porcentajes de colonización entre los tres ciclos de cultivo determinó que después del primer ciclo de cultivo se tuvo una colonización de 8.57%, en el segundo ciclo 18.25% y en el tercer ciclo 22.74%. El análisis estadístico indicó que el valor del primer ciclo fue significativamente diferente de los otros dos.

5.9. CONTENIDO DE FÓSFORO EN MAÍZ

El contenido total de fósforo en los tejidos vegetales es comúnmente de 0.03% a 0.3% (Chapman y Pratt 1976). De acuerdo con estos datos, en la tabla 16 se observa que el contenido de este elemento en el maíz cultivado en tepetate durante el tercer ciclo, en los diferentes tratamientos, fue menor del valor establecido como normal. La prueba de Tukey indica que la diferencia es estadísticamente significativa solamente entre las plantas del tepetate sin manejo agrícola anterior y el maíz cultivado en tepetate manejado con ayocote-*Glomus claroideum*, siendo el primero de estos tratamientos en el que se detectó mayor contenido de fósforo de la parte aérea de la planta.

TABLA 16. CONTENIDO DE FÓSFORO EN MAÍZ COMPARANDO LOS TRATAMIENTOS ANTERIORES DEL TEPETATE

SUELO CULTIVADO CON	TRATAMIENTO DE INOCULACIÓN	FÓSFORO (%)
Ayocote	<i>Glomus claroideum</i>	0.012 b
	<i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	0.015 ab
	Sin inoculación	0.018 ab
Haba	<i>Glomus claroideum</i>	0.015 a
	<i>Gigaspora gigantea</i> + <i>Acaulospora</i> sp.	0.015 a
	Sin inoculación	0.014 a
	Tepetate sin manejo anterior	0.019 a

Valores con la misma letra en la columna no son significativamente diferentes. Prueba múltiple de tukey ($P = 0.05$).

6. DISCUSIÓN

La intervención de los hongos micorrizógenos arbusculares en la formación y estabilización de macro y microagregados, ha recibido cierta atención y los diferentes trabajos al respecto (Clugh y Sutton 1978; Andrade *et al.* 1998), muestran resultados que pueden coincidir o bien, resultar contradictorios. Entre las causas que se citan para la destrucción de los agregados están la fauna, las labores de cultivo, así como los ácidos orgánicos producidos por la especie cultivada (Tisdall 1994).

Entre las características del tepetate evaluadas durante este trabajo se encuentra la estabilidad hídrica de los agregados formados durante el ensayo. Como se mencionó anteriormente, en el inicio del experimento el tepetate presentó mayor estabilidad de sus partículas, pero paulatinamente este comportamiento fue cambiando hasta que a los cinco minutos se observó que las partículas de tepetate presentaron una menor resistencia al agua en comparación con los granos de arena. Es importante no perder de vista que el tepetate es un material volcánico endurecido; tal endurecimiento puede ser de origen geológico o por contener sustancias cementantes como carbonato de calcio o sílice (Zebrowski 1992). Además, son superficies que no poseen una estructura definida, sino que se fragmentan en grandes bloques (Werner 1986). Tales características, aunque les proporcionan resistencia no les permiten una estructura adecuada para el desarrollo de los cultivos.

La resistencia de los agregados evaluados después del primer ciclo de cultivo en todos los tratamientos (Figura 8), es menor que la mostrada por la arena a los cinco minutos (Figura 7). Aunque aparentemente después del primer ciclo de cultivo la estabilidad disminuye, se debe considerar que ya no se trata únicamente de partículas de material endurecido, sino que en las macetas se tuvieron desde el inicio partículas menores de 2 mm, las que probablemente se han unido debido a la acción de las raíces y los hongos, iniciándose la formación de agregados propiamente dichos, los cuales aún no adquieren la estabilidad necesaria para resistir de manera eficiente la acción del agua.

Tomando como referencia los resultados obtenidos con el método de percolación en arena y tepetate, aparentemente la estabilidad del tepetate disminuye; sin embargo, a pesar de no haberse encontrado diferencias estadísticamente significativas, los cultivos de leguminosas parecen favorecer la formación de agregados, así como su resistencia a la acción del agua, puesto que la estabilidad disminuye al cultivarse el mismo suelo con maíz. En este sentido, Latif *et al.* (1992) reportaron que la estabilidad de los agregados y el diámetro medio de los mismos se incrementan de manera significativa cuando se manejan policultivos de maíz con leguminosas, atribuyendo dicha estabilidad a la actividad de las raíces de las leguminosas, ya que al tener maíz como monocultivo, los agregados tienden a disminuir su estabilidad con la consecuente degradación del suelo. Hamel *et al.* (1997) encontraron que en suelos con bajo nivel de fósforo, los agregados de 0.5-1 mm y 1-2 mm tienen mayor peso que los formados en suelo con alto nivel del mismo nutrimento. Con relación a la menor estabilidad de los agregados mostrada del segundo al tercero de los ciclos de cultivo, puede ser atribuida al cambio de planta hospedera, puesto que, como ya hemos apuntado, se hizo una rotación de leguminosas a maíz; de haberse continuado con el cultivo de leguminosas posiblemente la estabilidad hídrica de los agregados habría aumentado, ya que del primero al segundo ciclos se incrementó la resistencia de los agregados de manera significativa.

En lo que se refiere a la evaluación de la resistencia hídrica de los agregados del tercer ciclo de cultivo, los agregados procedentes del tepetate que no recibió manejo previo, presentaron menor resistencia al agua que los procedentes de cualquiera de los suelos que fueron cultivados con leguminosas en los dos ciclos anteriores. En este sentido, y aunque ni las leguminosas ni los hongos parecen ser decisivos en la formación y estabilidad de los agregados, el tepetate se favoreció al ser manejado con este sistema antes de introducir maíz.

Como se ha anotado, no fue posible evaluar el efecto de las plantas sin el hongo, debido a la contaminación de los suelos con *Glomus intraradices*. Por otro lado, el lapso durante el que se mantuvo el experimento fue muy corto ya que mientras en otros estudios se han mantenido durante al menos tres años (Latif *et al.* 1992) o durante dos años pero en terrenos con un historial de cultivo prolongado (Hamel *et al.* 1997), en este estudio el experimento solo pudo mantenerse por 15 meses.

Los resultados obtenidos no indican una relación directa del mayor número de esporas en el suelo con la mayor estabilidad hídrica de los agregados, ni con el porcentaje de agregados o partículas con diámetro de 1 a 2 mm.

Existen trabajos en los que se ha detectado que el micelio de los hongos micorrizógenos arbusculares representa una porción significativa de la biomasa microbiana del suelo (Hayman 1978) y que la pared celular de estas hifas está compuesta principalmente de quitina (Weijman 1978), las hifas de la micorriza arbuscular de leguminosas podría ser uno de los vehículos más importantes para la entrada de C y N al suelo. Con ello esperaríamos, por tanto, el incremento en la materia orgánica y, en consecuencia, la estabilidad de los agregados como un parámetro que permita valorar la importancia de los hongos micorrizógenos arbusculares sobre el tepetate, además del beneficio que aporta a las plantas. Sin embargo, el resultado de este trabajo indicó que la condición *nutrimental* del tepetate no se mejoró con ninguno de los tratamientos de inoculación ni con la permanencia de los residuos de los cultivos. Esto puede estar en parte relacionado con el lapso durante el que se mantuvo el experimento, que fue muy corto, y probablemente la materia orgánica residual requiere de períodos más largos para integrarse al suelo, a pesar de que la baja relación carbono:nitrógeno de los tejidos de las leguminosas determina su fácil descomposición por los microorganismos mineralizadores, lo cual es muy importante en el ciclaje de nutrientes y en la dinámica de sucesión ecológica en áreas infértiles o degradadas (Guzmán Plazola y Ferrera-Cerrato 1990). El escaso contenido de materia orgánica detectado, como lo plantean Etchevers y Brito (1997), debe considerarse como la limitante máxima en los planes de incorporación de estos tepetates a la producción agrícola puesto que la materia orgánica es la responsable de proveer la fuente de carbono para la biomasa microbiana del suelo, componente esencial en los procesos de la vida del mismo, además de ser una fuente de nutrientes para las plantas y de moléculas orgánicas residuales que desempeñan un papel importante en la estructuración de los componentes del suelo.

Como pudo observarse, el nivel de fósforo disponible disminuyó en el tepetate sometido a los diferentes tratamientos, lo cual está indicando que la escasa cantidad de este elemento que se disponía, fue utilizada por las plantas. Esto también sugiere que es necesaria la adición de fertilizantes

fosfatados de alta solubilidad pero siempre en cantidades menores a las recomendadas, de acuerdo con el cultivo de que se trate, de manera que no se inhiba la acción benéfica de los hongos micorrizógenos arbusculares sobre la planta ni sobre el suelo, puesto que se ha visto que la adición de dosis altas de fósforo puede disminuir la colonización por estos hongos (Mosse y Phillips, 1971; Hays *et al.* 1982). De cualquier modo, el bajo contenido de fósforo en el tepetate utilizado corresponde con lo encontrado para estos sustratos en otros trabajos (Etchevers *et al.* 1991).

El contenido de nitrógeno determinado en el tepetate después del tercer periodo de cultivo es extremadamente bajo, similar a lo reportado para este sustrato por Etchevers y Brito (1997) y aparentemente las leguminosas no están fijando el elemento o bien que, como lo cita Janos (1987), el sistema planta/suelo haya perdido el nitrógeno debido a procesos de lixiviación. No obstante, también puede suceder que el maíz, un cultivo altamente demandante de nutrimentos, esté consumiendo el nitrógeno que pudo haber sido fijado por las leguminosas durante los dos ciclos de cultivo anteriores. De forma análoga a lo recomendado para el fósforo, es conveniente adicionar nitrógeno en forma de estiércoles, abonos verdes o fertilizantes nitrogenados.

Respecto a la producción de biomasa, las especies hospederas presentaron un desarrollo menor a lo normal; concretamente para las leguminosas; sin embargo, se advierte un incremento importante en la biomasa resultante del segundo cultivo respecto a la obtenida en el primero. En cuanto a lo observado para el maíz, la producción de biomasa es menor en el tepetate que no fue manejado con anterioridad, especialmente si se compara con la biomasa generada por el maíz cultivado en el suelo manejado previamente con haba (inoculada con *Glomus claroideum*) los dos ciclos anteriores, sugiriendo que la combinación de esos dos simbiontes, de algún modo favorece las condiciones para el cultivo de maíz. Como lo citan Li *et al.* (1997), se conoce poco sobre el impacto de la colonización micorrízica sobre la respuesta de las plantas o comunidades vegetales que se desarrollan en sustratos compactos. Sin embargo, Salinas *et al.* (1985) reportaron que la aportación de carbohidratos que realiza la planta hacia el hongo podría tener consecuencias negativas en la producción de biomasa del hospedero, especialmente bajo condiciones desfavorables tales como bajo contenido de nutrimentos en suelos del trópico. Por su parte, Hamel *et al.* (1997) también reportaron

efectos similares en el cultivo de poro, que al ser inoculado en invernadero con *Glomus intraradices* o *Glomus versiforme*, al momento de la cosecha presentó menor diámetro que las plantas no inoculadas; consideraron que una colonización intensa no necesariamente reporta mayores beneficios al cultivo. Este reporte es similar a lo que se encontró en este trabajo, donde ni la mayor cantidad de esporas en el suelo ni los porcentajes de colonización micorrizica más altos propiciaron un incremento sustancial de la biomasa de los hospederos. Aunado a la escasez tanto de nitrógeno como de fósforo del tepetate, se debe considerar el pH alcalino mostrado en este sustrato bajo las condiciones de este estudio, ya que Etchevers y Brito (1997) proponen que la alcalinidad es la responsable de la elevada frecuencia de valores bajos de todos los micronutrientes en el tepetate, lo cual puede verse reflejado en el escaso desarrollo de las plantas. No obstante, debe considerarse también que las plantas de haba fueron severamente atacadas por pulgones durante el primer ciclo de cultivo, lo que contribuyó a su menor desarrollo y, en algunos casos, a su mortalidad. Por consiguiente, la biomasa del haba estimada para este primer cultivo estuvo disminuida por este factor, sobre todo en el tratamiento que no llevó inóculo, mostrando las plantas menor resistencia tanto al ataque de la plaga, como al resto de las condiciones adversas de cultivo. Para el segundo periodo de cultivo, se controló el ataque de plagas de modo que todas las plantas pudieron mantenerse hasta el final del tiempo propuesto.

Otro aspecto que se debe considerar, es el mínimo aporte de nutrientes que se dió al tepetate, ya que en el trabajo desarrollado por Dissing y Jensen (1983) se encontró que la alfalfa, en suelos con bajo nivel de fósforo, desarrolló mayor cantidad de biomasa si se combina la fertilización química con la acción de los hongos micorrizógenos arbusculares. La adición de fósforo probablemente sea un práctica cultural que deba realizarse en cantidades moderadas en las etapas iniciales de la integración de los tepetates al uso agrícola, para alcanzar niveles compatibles con los requerimientos de los cultivos, haciéndolos productivos a corto plazo. Con esta acción, las plantas seguramente dispondrán de los nutrientes necesarios para su desarrollo siendo, en consecuencia, capaces de producir los fotosintatos suficientes para mantener la simbiosis.

Existen reportes que refieren efectos positivos de la asociación micorrizica sobre la producción de su biomasa como el de Azaizeh *et al.* (1995). Además, el beneficio que la asociación aporta a la planta no es solamente en cuanto a un mejor desarrollo y/o producción, sino en que los tejidos vegetales presenten mayor concentración de elementos como el fósforo, tal como lo citan Solaiman e Hirata (1996) quienes reportaron que la micorriza arbuscular incrementa el contenido de P en las plantas. Por su parte, Crisóstomo *et al.* (1991) encontraron que el contenido de fósforo en *Eysenhardtia polystachya* micorrizada y cultivada en tepetate, es mayor que el de las plantas sin inocular. No obstante, en contraposición a estas aseveraciones, también se ha reportado que en maíz con diferentes grados de colonización, la asociación micorrizica no tiene efecto positivo sobre la absorción de nutrimentos minerales, principalmente el fósforo (Quintero Ramos *et al.* 1991). En este caso, el contenido de fósforo en las plantas de maíz, a pesar de mostrar porcentajes de colonización altos, fue muy bajo, lo que puede ser atribuido a la poca disponibilidad del elemento en el tepetate y a que el pH no es adecuado para la asimilación de este elemento, pues se ha propuesto que el pH que en general favorece este proceso se sitúa entre 6 y 7.5; específicamente, para que el maíz se desarrolle adecuadamente se ha propuesto un intervalo de 5.5 a 8 (Vázquez-Alarcón y Bautista - Aroche 1993), mientras que en el tepetate de estudio este parámetro tuvo valores de 8.3 hasta 8.8.

En cuanto al incremento que se presentó en las poblaciones de hongos micorrizógenos arbusculares en los diferentes tratamientos, el tiempo durante el cual se cultivó el tepetate fue determinante para el aumento del número de esporas. Este comportamiento se observó en un trabajo anterior realizado en la zona de obtención del tepetate, en el cual se encontró que el tepetate sin roturar contuvo menor cantidad de esporas que el tepetate con cuatro años de manejo agrícola (Nava-Gutiérrez 1994).

De las plantas utilizadas en este trabajo, el haba asociada con *Glomus intraradices* y bajo las condiciones de estudio, produjo menor cantidad de esporas con relación a las producidas por el ayocote y el maíz, siendo la gramínea la planta que favorece la esporulación en el tercer ciclo de cultivo. Este resultado coincide con lo reportado por Strubble y Skipper (1988), quienes evaluaron cuatro especies de *Glomus* y una de *Gigaspora* asociadas con tres gramíneas y una leguminosa; las

diferentes especies ejercen un efecto sobre la producción de esporas de los diferentes hongos utilizados, siendo la soya la planta menos adecuada para inducir esporulación en todas las especies fúngicas comparadas.

Como se ha mencionado, las especies fúngicas utilizadas no fueron capaces de repropagarse óptimamente bajo las condiciones experimentales, lo cual también pudo estar determinado por el pH básico observado en el sustrato, el cual se incrementó con el avance en los ciclos de cultivo, mientras que las especies inoculadas proceden de suelos con pH ácido. El pH óptimo para el desarrollo de los hongos micorrizógenos arbusculares se sitúa entre 6 y 7 (Siqueira *et al.* 1976 In: Bagyaraj 1991) por lo que la condición prevalente en el tepetate no estaría permitiendo el desarrollo de las especies fúngicas utilizadas, a pesar de que *Glomus claroideum* es una especie que fue aislada de tepetate, con pH de 6 a 6.4, de la zona de donde se extrajo el utilizado en este experimento. Siqueira *et al.* (Item) mencionan que algunos de estos hongos tienen la capacidad de desarrollarse en intervalos de pH más amplio situando al pH 8 como valor extremo. *Glomus intraradices* presentó tolerancia a pH^s extremos puesto que mostró buena capacidad de esporulación, reflejándose esto con mayor énfasis en el tercer ciclo de cultivo (Figura 5), siendo durante este ciclo donde se observó el máximo valor de pH alcanzado. Otro factor que favorece la esporulación es el bajo nivel de fósforo ya que como lo denotan Jeffries *et al.* (1988 In: Hamel *et al.* 1997) el desarrollo de las plantas se limita pero se favorece la colonización micorrizica

Por otro lado, el alto grado de adaptación mostrada por *G. intraradices* al tepetate bajo las condiciones de estudio, le permitió ser más agresivo y desplazar a las especies inoculadas aún cuando la cepa de *G. claroideum* fue aislada de la misma zona de donde se extrajo el tepetate utilizado en este trabajo Sin embargo, algunas características del tepetate son diferentes, como el pH que es ligeramente ácido (Nava-Gutiérrez 1994), mientras que para el tepetate de estudio se determinó como alcalino a fuertemente alcalino. Como lo han citado algunos autores (Gianinazzi-Pearson *et al.* 1985; Hetrick *et al.* 1986), los hongos nativos con frecuencia están más adaptados a las condiciones edáficas que las plantas que colonizan; por lo tanto la competitividad de los hongos micorrizógenos

arbusculares puede diferir de acuerdo con las condiciones del suelo y con la asociación suelo-planta-endófito.

La colonización micorrízica arbuscular se incrementó, del primero al tercer ciclo de cultivo, con maíz como planta hospedera; también se presentó mayor porcentaje de colonización en plantas de ayocote que en haba, excepto en el ayocote inoculado con la mezcla *Gigaspora gigantea-Acaulospora* sp. Esto podría estar indicando que la intensidad de colonización estuvo en función de la mayor o menor afinidad de estos hongos hacia las plantas hospederas, bajo las condiciones de estudio. Keitaro *et al.* (1998) evaluaron *Gigaspora margarita* bajo condiciones de disponibilidad y deficiencia de fósforo y propusieron que los compuestos hidrofóbicos encontrados en los exudados radicales bajo condiciones de deficiencia en fósforo, incrementan la formación de apresorios y, por tanto, estimulan el desarrollo de la asociación micorrízica. Vierheilig *et al.* (1998) evaluaron la atracción de los exudados de la raíz de tomate y frijol sobre el crecimiento de las hifas de *Glomus mosseae*, encontrando que los exudados de ambas plantas estimulan fuertemente el crecimiento de las hifas en el sistema que utilizaron. Más aún, los exudados solubles en agua del frijol ejercen un claro efecto de atracción sobre las hifas en desarrollo. En este caso, la casi nula disponibilidad no sólo de P, sino de todos los demás nutrimentos, pudieron estar promoviendo la formación de apresorios y por tanto una colonización muy activa, siendo además mayor en el caso del frijol ayocote cuya raíz podría producir exudados solubles atrayentes de las hifas de los hongos, cualidades que podrían estar determinando la mayor colonización micorrízica que presenta esta planta.

Como se anotó anteriormente, las condiciones del invernadero no fueron controladas, habiéndose registrado temperaturas ambientales extremas, desde 4°C hasta 45°C, aunque en el suelo las temperaturas mostraron variaciones menores. Es evidente que éste es otro de los factores importantes que puede afectar el desarrollo tanto de las plantas como de la asociación micorrízica arbuscular, haciendo que una especie responda de manera diferencial a la colonización con las diferentes especies fúngicas involucradas. Sieverding (1988a) encontró diferente porcentaje de colonización a 20°C y 30°C en casava, siendo *Glomus manihotis* el hongo micorrízico con mayor éxito a estas temperaturas sobre especies de *Acaulospora*, *Entrophospora* y *Scutellospora*. Aunque

con mayor intensidad al final del ensayo, la colonización micorrízica se presentó tanto en haba como en ayocote desde el primer ciclo de cultivo. Esto indica que las temperaturas alcanzadas durante el ensayo no afectaron negativamente el establecimiento de la asociación; aunque en menor porcentaje, la capacidad infectiva del *Glomus intraradices* mostrada en este ensayo, le permitió colonizar las raíces de las plantas de maíz desarrolladas en el tepetate que no fue inoculado durante el tercer periodo de cultivo.

El número de esporas hallado por cada 100 gss fue muy variable de una planta a otra, sin embargo, como se ha visto en otros trabajos, la mayor o menor cantidad de esporas en una población no siempre está relacionada con el porcentaje de colonización observado en las plantas hospederas correspondientes. Por ejemplo Douds y Schenck (1991) encontraron una relación directa entre la colonización y el número de esporas producidas por *Acaulospora longula* y *Gigaspora margarita*, pero no en el caso de *Glomus intraradices* al asociarse con trébol; encontraron además que la esporulación comienza a incrementarse de manera exponencial cuando declina la colonización.

En cuanto al efecto que pudieran ejercer sobre la colonización micorrízica las características del tepetate tales como el pH y la compactación, parecen no ser negativos ya que el porcentaje de colonización se incrementó progresivamente a través del tiempo, no obstante el valor extremo de pH. Como se ha comentado, la tolerancia de las especies fúngicas al pH es diferente dependiendo de las condiciones del sustrato y de la planta hospedera por lo que no es extraño que *Glomus intraradices* esté adaptado al sustrato sin que el aumento en los valores de esta variable lo afecte negativamente, mostrando además afinidad por las plantas hospederas colonizándolas abundantemente. Con relación a esto, Habte y Soedarjo (1995) encontraron que en un suelo rico en manganeso, con pH de 4.3 a 6.0 y manejando concentraciones adecuadas de fósforo, la colonización micorrízica en *Acacia mangium* fue favorecida por el aumento del pH de 4.3 a 5.0. En cuanto a la compactación del tepetate sobre la colonización micorrízica, en algunos trabajos como el de Li *et al.* (1997) se determinó que una mayor compactación del suelo disminuye el porcentaje de colonización de las raíces de *Trifolium pratense* asociado con *Glomus mosseae*. En este trabajo pareció no tener efecto negativo pues, como se ha apuntado, *Glomus intraradices* presentó tasas de colonización altas. A pesar de que los niveles

inadecuados de pH o de fósforo son factores que en general limitan el desarrollo de las plantas, se han observado porcentajes de colonización altos en poro inoculado con *Glomus versiforme* (Hamel *et al.* 1997).

7. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de estudio, el tiempo de manejo del tepetate es el factor de mayor importancia para la formación de agregados hídricamente estables; esto, sin embargo, está en función de la planta introducida como cultivo ya que la siembra de maíz en el tercer período de cultivo disminuyó la estabilidad hídrica de los agregados. Al no detectarse diferencias entre tratamientos de inoculación, los hongos micorrizógenos arbusculares parecen no ser determinantes en el mejoramiento de la estructura del tepetate.

La materia orgánica no se incrementó por lo que el tepetate continuó siendo un sustrato extremadamente pobre; probablemente se requieran lapsos mayores para que la materia orgánica residual de los cultivos anteriores se integre, contribuyendo así a la formación de suelo.

Las características químicas evaluadas en el tepetate utilizado, cambiaron con el manejo al que fue sometido: el pH de este sustrato se incrementó, pasando de alcalino a fuertemente alcalino; el fósforo disponible se redujo aún más con relación al valor inicial y al final del experimento pasó de 0.7 ppm a ser indetectable en el suelo de algunos tratamientos.

Debe adicionarse fósforo en dosis menores a las que se recomiendan para cada tipo de cultivo, a fin de que el hongo pueda cumplir con su función de enlace entre el suelo y la planta.

Debido a que *Glomus claroideum* y la mezcla *Gigaspora gigantea* + *Acaulospora* sp. fueron desplazadas casi totalmente por *Glomus intraradices*, no fue posible evaluar realmente la efectividad del inóculo propuesto sobre las plantas hospederas.

Los tratamientos aplicados al tepetate durante dos ciclos previos a la siembra de maíz incrementaron la producción de biomasa total de maíz, con relación a la producida en el tepetate sin tratamiento anterior.

La interacción entre tepetate-haba-*Glomus intraradices* fue la combinación más efectiva, mejorando de algún modo las condiciones del sustrato para el cultivo del maíz.

Las especies de hongos micorrizógenos arbusculares propuestas en este trabajo, mostraron escasa capacidad de establecimiento bajo las condiciones de estudio, siendo desplazadas por otra especie más tolerante y agresiva.

Por la tolerancia de *Glomus intraradices* a las características estresantes del tepetate, se le propone como una especie adecuada para utilizarse en este tipo de sustrato tan específico, siendo recomendable realizar más trabajos que permitan confrontar su comportamiento contra el de especies alóctonas en el mismo sustrato.

El incremento de las poblaciones de *Glomus intraradices* se favoreció en el tepetate cultivado con frijol ayocote, mientras que el haba no parece ser una buena opción para utilizarse como primer cultivo a fin de aumentar el número de esporas, ya que en todos los casos las poblaciones fueron pequeñas.

La colonización micorrízica arbuscular se incrementó con el transcurso del tiempo; en algunos tratamientos los porcentajes altos de colonización correspondieron con el mayor número de esporas en el sustrato.

8. LITERATURA CITADA

- Abbott, L.K. y C. Gazey, 1994. An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. In: A.D. Robson, L.K. Abbot y N. Malajczuk (eds). *Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry*, 69-78. 1994 Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- Alcántar González, G., J.D. Etchevers Barra y A. Aguilar Santelises, 1992. *Los análisis físicos y químicos. Su aplicación en Agronomía*. Colegio de Postgraduados. Montecillos.
- Andrade, G., K.L. Mihara, R.G. Linderman y G.J. Bethlenfalvay, 1998. Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. *Plant Soil* 202: 89-96.
- Azaizeh, H.A., H. Marschner, V. Römheld y L. Wittenmayer, 1995. Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and other soil microorganisms on growth, mineral nutrient and acquisition and root exudation of soil-grown maize plants. *Mycorrhiza* 5: 321-327.
- Bago, B. C. Azcón-Aguilar y Y. Piché, 1998. Architecture and developmental dynamics of the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown under monoxenic conditions. *Mycologia* 98 (1): 52-62
- Bagyaraj, B.D., 1991. Ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: Arora, D.K., B. Rai K.G., Mukerji y G.R. Knudsen (eds.). *Handbook of Applied Mycology 1: Soil and Plants*. 3-34. Marcel Dekker, New York
- Barea, J.M. y C. Azcón-Aguilar, 1983. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *Adv. Agron.* 30: 1-54
- Bauman, J., H. Muñoz y A. Vera, 1992. *Estudio de suelos volcánicos endurecidos (tepetates) en las cuencas de México y Tlaxcala (México)* Informe del proyecto CEE/ORSTOM-J.L.-Universität Giessen Nt. TS2-00212-C-(EDB).
- Becher, H.H. y M. Kainz, 1983. Auswirkungen einer langjährigen Stallmistdüngung auf das Bodengefüge im Lößgebiet bei Straubing. *Z. Acker v. Pflanzenbau*. 152-158

- Bethlenfalvay, G.J. y W.E. Newton, 1989. Agro-ecological aspects of the mycorrhizal, nitrogen-fixing legume symbiosis. Beltsville Symposium XIV. *The Rhizosphere and Plant Growth*. D. Keister Ed. 1989. Maryland.
- Bethlenfalvay, G.J. y H. Schuëpp, 1994. Arbuscular mycorrhizas and agrosystem stability. In: Gianinazzi, S. y H. Schuëpp (eds.). *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. Birkhäuser Verlag, Basel. 117-131.
- Buckman, H.O. y N.C. Brady, 1969. *The nature and properties of soils*. MacMillan Company, USA.
- Burns, R.G., y J.A. Davies, 1986. The microbiology of soil structure. *Biological Agriculture and Horticulture* 3: 95-113.
- Chapman, H.D. y P.F. Pratt, 1976. *Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas*. Trillas. México, D.F.
- Clough, K.S. y J.C. Sutton, 1978. Direct observation of fungal aggregates in sand dune soil. *Can. J. Microbiol.* 24: 333-335.
- Cooke, R.C. y J.M. Whipps, 1993. *Ecophysiology of fungi*. Blackwell Scientific Pub. Oxford.
- Cooper, K.M., 1984. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: VA Mycorrhiza, Powell, C. L.I. Y D.J. Bagyaraj (Eds.) CRC Press, Boca Raton. Florida.
- Crisóstomo, M. S., G. Gómez Cruz, R. Ferrera Cerrato, R. Quintero Lizaola y J.A. Santizo Rincón, 1991. La influencia de los hongos endomicorrízicos V-A en la disponibilidad de fósforo en *Eysenhardtia polystachya*. In: Tovar S., J.L. y R. Quintero L. (eds.) P. 81. *La Investigación Edafológica en México*. Memorias XXIV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Pachuca.
- Crush, J.R., 1974. Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza. VII Growth and nodulation of some herbage legume. *New Phytol.* 73: 743-747.
- Cuenca, G., y M. Lovera, 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae in disturbed and revegetated site from La Gran Sabana, Venezuela. *Can. J. Bot.* 70: 73-79.
- Curl, E.A. and B. Truelove, 1986. *The Rhizosphere*. Springer-Verlag. Berlin.
- Daniels, B.A. y H.C. Skipper, 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In: Schenck, N.C. (ed.) *Methods and principles of mycorrhizal research*. Am. Phytopathol. Soc., St. Paul.

- Degens, B P., 1997. Macro-aggregation of soils by biological bonding and binding mechanisms and the factors affecting these: a review. *Aust. J. Soil Res.* **35**: 431-459.
- Dissing, N J. y A. Jensen, 1983. Influence of vesicular-arbuscular arbuscular mycorrhiza fungi on growth and uptake of various nutrients as well as uptake ratio of fertilizer P for lucerne (*Medicago sativa*). *Plant Soil* **70**: 165-172.
- Douds, D D. y N.C. Schenck, 1991. Relationship of colonization and sporulation by VA mycorrhizal fungi to plant nutrient and carbohydrate contents. *New Phytol.* **116**: 621-627.
- Etchevers, B.J.D. y H. Brito, 1997. Levantamiento de los tepetates de México y Tlaxcala. *Suelos Volcánicos Endurecidos. III Simposio Internacional* (Quito, diciembre de 1996). Pp. 102-112. Ecuador.
- Etchevers, B.J.D., C. Zebrowski, R. López y D. Peña, 1991. Incorporación de los tepetates a la producción agrícola. V. Caracterización química. Resúmenes ampliados. *Primer Simposio Internacional de Suelos Volcánicos Endurecidos (uso y manejo de tepetates)* pp. 50-53. Colegio de postgraduados, Montecillos.
- Frey, J.E. y J.R. Ellis, 1997. Relationship of soil properties and soil amendments to response of *Glomus intraradices* and soybeans. *Can. J. Bot.* **75**: 483-491.
- Fitzpatrick, E.A., 1984. *Suelos. Su formación, clasificación y distribución*. CECSA, México, D.F.
- Forster, S.M., 1979. Microbial aggregation of sand in an embryo dune system. *Soil Biol. Biochem* **11**: 537-543.
- Forster, S.M. y T.H. Nicolson, 1981. Aggregation of sand from a maritime embryo sand dune by microorganisms and higher plants. *Soil Biol. Biochem.* **13**: 199-203.
- Furlan, V. y J.A. Fortin, 1973. Formation of endomycorrhizae by *Endogone calospora* on *Allium cepa* under three temperature regimes. *Nat. Can.* **100**. 467-477.
- García Jiménez, O., 2000. *Valoración de la combinación sustrato-hospedero en la propagación de dos especies de hongos micorrizógenos arbusculares*. Tesis de Licenciatura, Instituto Tecnológico Agropecuario No. 29. Tlaxcala.
- Gerdemann, J.W. y T.H. Nicolson, 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **46**: 234-242.
- Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S. Y A Trouvelot, 1985. Evaluation of the infectivity and

- effectiveness of indigenous vesicular-arbuscular fungal populations in some agricultural soils in Burgundy. *Can. J. Bot.* 63: 1521-1524.
- Graw, D., 1979. The influence of soil pH on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.* 82: 687-695.
- Guzmán-Plazola R.A. y R. Ferrera-Cerrato, 1990. *La endomicorriza vesículo-arbuscular en las leguminosas*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Habte, M. Y M. Soedarjo, 1995. Response of *Acacia mangium* to vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation, soil pH and soil P concentration in an oxisol. *Can. J. Bot.* 74: 155-161.
- Hamel, C., Y. Dalpé, V. Furlan y S. Parent, 1997. Indigenous populations of arbuscular mycorrhizal fungi and soil aggregate stability are major determinants of leek (*Allium porrum* L.) response to inoculation with *Glomus intraradices* Schenck & Smith o *Glomus versiforme* (Karsten) Berch. *Mycorrhiza* 7: 187-196.
- Hayman, D.S., 1978. Endomycorrhizae. In: Interaction between non-pathogenic soil microorganisms and plants. Eds. Y.R. Dommergues and S.V. Krupta, pp. 401-442. Elsevier Scientifica Publishing Co. Amsterdam. (Ver si tenemos original)
- Hayman, D.S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Can. J. Bot.* 61: 944-963.
- Hayman, D.S. y B. Mosse, 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.* 70: 19-127.
- Hays, R., C.P.P. Reid, T.V. St. John y D.C. Coleman, 1982. Effects of nitrogen and phosphorus on blue grama growth and mycorrhizal infection. *Oecologia* 54: 260-265.
- Hetrick, B.A.D., D. Gershefskf Kitt y G. Thompson Wilson, 1986. The influence of phosphorus fertilization, drought, fungal species, and nonsterile soil on mycorrhizal growth response in tall grass prairie plants. *Can. J. Bot.* 64: 1199-1203.
- INEGI, 1997. *Anuario estadístico del estado de Tlaxcala*, INEGI-Gobierno del Estado de Tlaxcala. Aguascalientes.
- Infante, G.S. y Zárata de Lara P.G., 1984. *Métodos estadísticos*. 2da. Edición. Trillas. México, D.F. 642 p.

- Janos, D.P., 1987. VA mycorrhizas in humid tropical ecosystems. P. 107-134. *In*: G.R. Safir (ed). *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants*, CRC Press, Boca Raton.
- Jasper, D.A., L.K. Abbott y A.D. Robson, 1993. The survival of infective hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in dry soil and interaction with sporulation. *New Phytol.* 124: 473-479.
- Jasper, D.A., A.D. Robson y L.K. Abbott, 1979. Phosphorous and the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Soil Biol. Biochem.* 11: 501-505.
- Keitaro, T., K. Hashimoto y T. Wagatsuma, 1998. Effect of root exudate fractions from P-deficient and P-sufficient onion plants on root colonization by the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *Mycorrhiza* 8: 67-70.
- Lambert, D.H., H. Cole Jr. y D.E. Baker, 1980. Adaptation of vesicular-arbuscular mycorrhizae to edaphic factors. *New Phytol.* 85: 513-520.
- Land, S. y F. Schonbeck, 1991. Influence of different soil types on abundance and seasonal dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils of North, Germany. *Mycorrhiza* 1: 39-44.
- Latif, M.A., G.R. Mehuys, A.F. Mackenzie, I. Alli y M.A. Faris, 1992. Effects of legumes on soil physical quality in maize crop. *Plant Soil* 140: 15-23.
- Li, X.L., G. Eckhard, H. Marschner y J.L. Zhang, 1997. Phosphorus acquisition from compacted soil by hyphae of a mycorrhizal fungus associated with red clover (*Trifolium pratense*). *Can. J. Bot.* 75: 723-729
- Louis, I. y S.E. Smith, 1987. Spore density and root colonization of vesicular-arbuscular mycorrhizas in tropical soil. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 88: 207-212.
- Manjunath A. y M. Habte, 1988. Development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and the uptake of immobile nutrients in *Leucaena leucocephala*. *Plant Soil* 106: 97-103.
- Miller, R.M. y J.D. Jastrow, 1992. The role of mycorrhizae fungi in soil conservation. *In*: Bethlenfay, G.J. y Linderman, R.G. (Ed.) *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. American Society of Agronomy. Madison.
- Mosse, B. y J.M. Phillips, 1971. The influence of phosphate and other nutrients in the development of vesicular arbuscular mycorrhiza in culture. *J. Gen. Mic.* 69: 157-166.

- Nava-Gutiérrez, Y., 1994. *Población de hongos micorrízicos arbusculares en tepetates recuperados para uso agrícola*. Tesis de Licenciatura. Departamento de Agrobiología-UAT. Tlaxcala.
- Otani, T. Y n. Ae, 1996. Phosphorus (P) uptake mechanisms of crops grown in soil with low P status. *Soil Sci. Plant Nutr. 1*: 155-163.
- Powell, C. Ll., 1982. Effect of kale and mustard crops on response of white clover to VA mycorrhizal inoculation in pot trials. *New Zealand J. Agric. Res.* 25: 461-464.
- Powell, C. Ll. y J. Daniel, 1978. Mycorrhizal fungi stimulate uptake of soluble and insoluble phosphate fertilizer from a phosphate-deficiente soil. *New Phytol.* 80: 351-358.
- Quintero-Ramos, M., D. Espinosa Victoria, R. Quintero Lizaola y R. Ferrera-Cerrato, 1991. Evaluación del Efecto de la endomicorriza (V-A) en la nutrición de maíz mediante el método DRIS. In: Tovar S., J.L. y R. Quintero L. (eds.) P. 81. *La Investigación Edafológica en México*. Memorias XXIV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Pachuca.
- Reeuwijk, L.P.V., 1986. *Procedure for soil analysis*. International Soil Reference and Information Centre. Wageningen.
- SAS Institute Incorporation, 1987. *SAS V. 6.03*. Cary, North Caroline.
- Saif, S.R., 1977. The influence of stage of root development on vesicular-arbuscular mycorrhizae and Endogonaceous spore population in field-grown vegetable crops. I. Summer grown crops. *New Phytol.* 79: 341-348.
- Salinas, J.G., J.I. Sanz y E. Sieverding, 1985. Importance of VA mycorrhizae for phosphorus supply to pasture plants in tropical oxisols. *Plant Soil* 84: 347-360.
- Schenck, N.C. y V.N. Schroeder, 1974. Temperature response of *Endogone* mycorrhiza on soybean roots. *Mycologia* 66: 600-605.
- Sieverding, E., 1983. *Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio*. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali.
- Sieverding, E., 1986. Influence of soil water regimenes in VA mycorrhiza IV. Effect on root growth and water relations of *Sorghum bicolor*. *J. Agron. Crop Science* 157: 36-42.
- Sieverding, E., 1988a. Effect of soil temperature on performance of different VA mycorrhizal isolates with cassava. *Angew. Bot.* 62: 295-300.

- Sieverding, E., 1988b. Influence of soil water regimes in VA mycorrhiza V. Performance of different VAM-fungal species with cassava. *J. Agron. Crop Science* 161: 322-332.
- Sieverding, E. y L. Gálvez, 1988. Soils and phosphate sources affect performance of mycorrhizal fungi with cassava. *Agew. Bot.* 62: 283-293.
- Solaiman, M.Z. y H. Hirata, 1996. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal colonization at nursery-stage on growth and nutrition in wetland rice (*Oryza sativa* L.) after transplanting under different soil fertility and water regimes. *Soil Sci. Plant Nutr.* 42 (3): 561-571.
- Son, C.L., F.A. Smith y S.E. Smith, 1988. Effect of light intensity on root growth, mycorrhizal infection and phosphate uptake in onion (*Allium cepa* L.) *Plant Soil* 111: 183-186.
- Struble, J.E. y H.D. Skipper, 1988. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spore production as influenced by plant species. *Plant Soil* 109: 277-280.
- Sutton, J.C. y B.R. Sheppard, 1976. Aggregation of sand-dune soil by endomycorrhizal fungi. *Can. J. Bot.* 54: 326-333.
- Sylvia, D. y S.E. Williams, 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and environmental stress. In: Bethelenfalvay, G.J. y Linderman, R.G. (Ed). *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. American Society of Agronomy. Madison.
- Thompson, J.P., 1994. What is the potential for management of mycorrhizas in agriculture? In: A.D. Robson, L.K. Abbott y N. Malajczuk (eds.) 1994. *Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry* pp. 191-200. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- Tisdall, J.M., 1994. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. In: A.D. Robson, L.K. Abbott y N. Malajczuk (eds.) 1994. *Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry* pp. 115-121. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- Tisdall, J.M. y J.M. Oades, 1980. The effect of crop rotation on aggregation in a red-brown earth. *Aust. J. Soil Res.* 18: 423-433.
- Tisdall, J.M. y J.M. Oades, 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil Sci.* 33: 141-163.
- Tisdall, J.M., S.E. Smith y P. Rengasamy, 1997. Aggregation of soil by fungal hyphae. *Aust. J. Soil Res.* 35: 55-60.

- Vázquez-Alarcón, A. y N. Bautista-Aroche, 1993. *Guía para interpretar el análisis químico de suelo y agua*. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo.
- Vierheilig, H., M. Alt-Hug, R. Engel-Streitwolf, P. Mäder y A. Wiemken, 1998. Studies on the attractational effect of root exudates on hyphal growth of an arbuscular mycorrhizal fungus in a soil compartment-membrane system. *Plant Soil* 203: 137-144.
- Volkmar, K.M. y W. Woodbury, 1989. Effects of soil temperature and depth on colonization and root and shoot growth of barley inoculated with vesicular-arbuscular mycorrhizae indigenous to canadian prairie soil. *Can. J. Bot.* 67: 1702-1707.
- Weijman, A.C. y H.L. Meuzelaar, 1978. Biochemical contributions to the taxonomic status of the Endogonaceae. *Can. J. Bot.* 57: 284-291.
- Werner, G., 1986. *Los suelos en el estado de Tlaxcala, Altiplano Central Mexicano*. Gobierno del estado de Tlaxcala-Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala.
- Zebrowski, C., 1992. Los suelos volcánicos endurecidos en América Latina. *Terra* 10: 15-23.

**APÉNDICE 1. Solución nutritiva de Long - Ashton (Hewitt 1966)
modificada (sin fósforo)**

Solución A / 1 lt

KNO_3	4.04 g
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	9.44 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.68 g

Solución B / 1 lt

$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1.69 mg
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.25 mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.29 mg
H_3BO_3	3.10 mg
NaCl	5.90 mg

Solución C / 1 lt

$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.8 g
---	-------

Solución D* / 250 ml

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.169 g
Na_2EDTA	0.932 g

* Disolver por separado

APÉNDICE 2. Análisis factorial de varianza para las variables: N = contenido de nitrógeno en el suelo, M.O. = porcentaje de materia orgánica en el tepetate, E.H. = estabilidad hídrica de los agregados del suelo, P = porcentaje de partículas de suelo con 1-2 mm de diámetro, B.A. = peso seco total del ayocote (g), B.H. = peso seco total del haba (g), B.M. = peso seco total del maíz (g). En la que 1 = efecto del hongo, 2 = efecto de la planta, 3 = efecto del tiempo, 4 = efecto del tratamiento anterior. $\alpha = 0.05$.

Variable	Factor	Grados Libertad	SS Anova	C.M.	Valor de F	Pr) F
N	1	1	0.00002	0.00002	0.42	0.5284
	2	2	0.00003	0.00001	0.31	0.7359
M.O.	1	2	0.04259	0.02129	0.53	0.5956
	2	1	0.03365	0.03365	0.83	0.3681
	3	2	0.76932	0.38466	9.50	0.0005
	1X2	2	0.09408	0.04704	1.16	0.3245
	2X3	4	0.12806	0.03201	0.79	0.5391
	1X3	2	0.31528	0.15764	3.89	0.0295
	2X1X3	4	0.20530	0.05113	1.27	0.3008
E.H.	1	1	0.09933	0.09933	3.42	0.0725
	2	2	0.11558	0.05779	1.00	0.1511
	3	2	0.70413	0.35206	12.44	0.0001
	1X2	2	0.03886	0.01943	0.67	0.5180
	2X3	2	0.22637	0.11318	3.90	0.0292
	1X3	4	0.13702	0.03425	1.18	0.3356
	1X2X3	4	0.13146	0.03286	1.13	0.3564
P	1	2	0.04258	0.42580	0.53	0.5956
	2	1	0.03365	0.03365	0.83	0.3681
	3	2	0.76932	0.76932	9.50	0.0005
	1X2	2	0.09408	0.09408	1.16	0.3245
	2X3	4	0.12806	0.12806	0.79	0.5391
	1X3	2	0.31528	0.31528	3.89	0.0295
	1X2X3	4	0.20530	0.20530	1.27	0.0308
B.A.	1	2	7.17921	3.58960	0.87	0.4286
	2	1	51.39360	51.39360	12.42	0.0012
	1X3	2	2.61270	1.30635	0.32	0.7313
B.H.	1	2	98.81940	49.40720	6.07	0.0053
	3	1	118.9106	118.91068	14.62	0.0005
	1X3	2	16.82407	8.41203	1.03	0.3658
B.M.	4	6	2157.87	359.6457	13.40	0.0001