



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

ZARAGOZA

Ensayos para la obtención de inóculos de Hongos
Micorrízicos Arbusculares (HMA) nativos del Valle del
Mezquital, Hidalgo, México.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA

EDUARDO CHIMAL SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS: M. en C. ROSALVA GARCÍA SÁNCHEZ

MÉXICO, D.F. 2010

Investigación apoyada por DGAPA proyecto PAPIME PE-206109





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



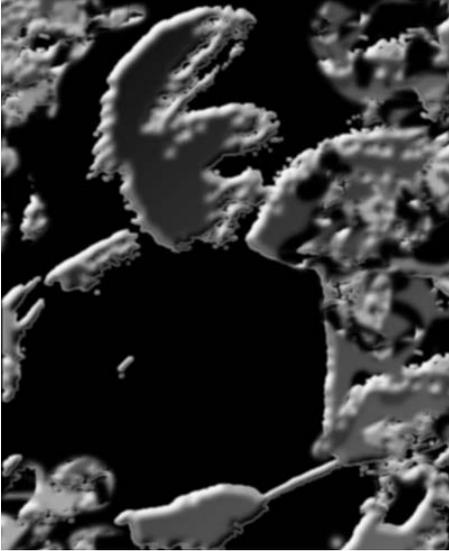
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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).

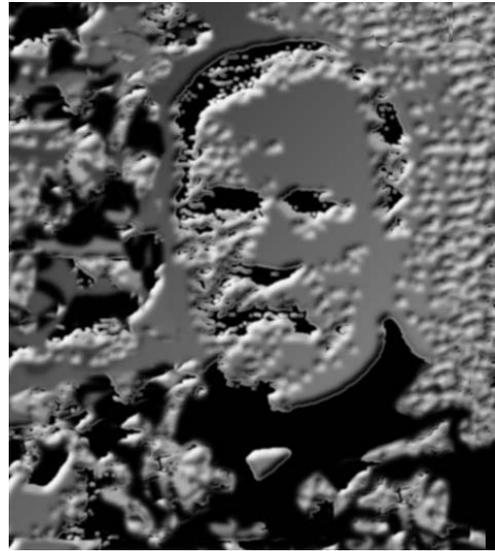
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

Una sociedad que lee y hace crítica, es libre de pensar y actuar. ..



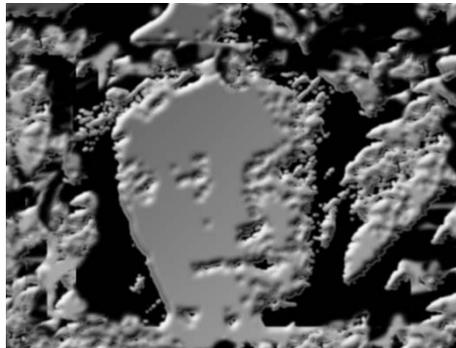
“Dejamos de temer aquello que se ha aprendido a entender”

Marie Curie



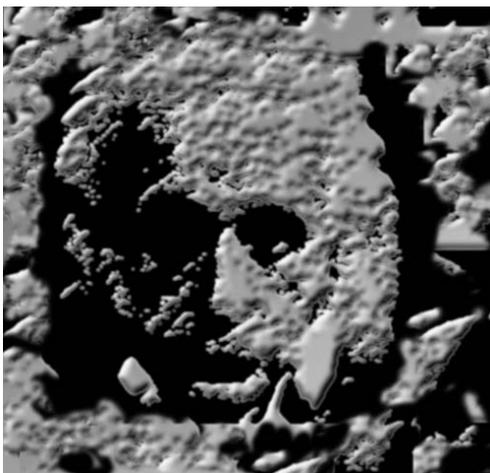
“Sorprendenos por algo es el primer paso de la mente hacia el descubrimiento”

Louis Pasteur



“Las masas humanas más peligrosas son aquellas en cuyas venas ha sido inyectado el veneno del miedo... del miedo al cambio”

Octavia Paz.



“ LA ÚNICA FUENTE DEL CONOCIMIENTO ES LA EXPERIENCIA ”

Albert Einstein



“El amor por todas las criaturas vivientes es el más noble atributo del hombre”

Charles Darwin

DEDICATORIA

A mis padres:

Felipa y Alberto

Gracias por el apoyo brindado. Ambos me han enseñado el valor de la honestidad.

A mi Abuelita María:

Quien siempre me hizo sonreír

A mis hermanas, hermanos y sobrinos:

Que participaron en mi formación con su ejemplo y ayuda.

A mis amigos con los cuales he compartido grandes momentos de alegría

A Rosalva García Sánchez:

Por su amistad, confianza, apoyo y dedicación en la asesoría
del presente trabajo de tesis.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México quien a través de la Facultad de Estudios Superiores – Zaragoza, me brindó el conocimiento que he adquirido gracias a la participación y enseñanza de excelentes profesores.

A la Maestra en Ciencias Rosalva García Sánchez por su profesionalismo en la asesoría de la presente tesis, quien con sus conocimientos, comentarios y sugerencias me guió en la culminación del trabajo.

Un agradecimiento muy especial a la Maestra en Ciencias Laura Hernández Cuevas del Laboratorio de Micorrizas del Centro de Investigaciones en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala por el apoyo y dedicación brindada en la determinación de los hongos micorrízicos arbusculares del Valle del Mezquital, Hidalgo. Información que enriqueció el presente trabajo de tesis. Muchas Gracias.

A mis sinodales M. en C. Balbina Vázquez Benítez, Dr. Arcadio Monroy Ata, Dra. Esther Matiana García Amador, Biólogo Marco Antonio Hernández Muñoz y M. en C. Rosalva García Sánchez quienes con sus comentarios y recomendaciones enriquecieron la redacción y estructura del presente trabajo de tesis.

A la Dra. María del Socorro Orozco Almanza por su amistad y por el apoyo brindado.

A la M. en C. María de Jesús Sánchez Colín quien me enseñó la importancia y potencialidad de uso de las micorrizas arbusculares.

A Christian Rafael Cervantes Salcedo y Jessica Miguel de la cruz alumnos de la carrera de Biología de la FES-Zaragoza, gracias por su amistad y apoyo en el procesamiento de muestras de laboratorio.

CONTENIDO	PÁGINA
ÍNDICE DE FIGURAS	4
ÍNDICE DE CUADROS	5
RESUMEN	6
1.- INTRODUCCIÓN	7
2.- MARCO TEÓRICO	10
2.1.- Tipos de micorrizas	10
2.2.- Simbiosis micorrízica arbuscular	12
2.3.- Morfología y fisiología de la simbiosis micorrízica arbuscular	12
2.4.-Clasificación taxonómica de los hongos micorrízicos arbusculares	16
2.5.-Importancia de los hongos micorrízicos arbusculares en los ecosistemas	17
2.6.-Métodos de propagación de los hongos micorrízicos arbusculares	19
3.- HIPÓTESIS	21
4.- OBJETIVOS	21
5.- MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1.-Determinación de los HMA asociados a la rizósfera de 16 especies vegetales y de dos muestras de suelo	22
5.2.- Ensayos para generar un inóculo micorrízico arbuscular	25
5.2.1.- Inóculo multiespecífico	26
5.2.2.- Inóculo monoespecífico	27
5.2.3.- Inóculo monospórico	29
5.3.- Evaluación de los inóculos de HMA en <i>Prosopis laevigata</i>	31



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.

6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
6.1.- Hongos micorrízicos arbusculares (HMA) asociados a la rizósfera de 16 especies vegetales silvestres colectadas en un matorral subinmerme.	33
6.2.- HMA presentes en dos muestras de suelos que se han propagado en el invernadero de la FES-Zaragoza con <i>Lolium multiflorum</i> .	42
6.3.- Ensayos para la obtención de un inóculo de HMA de la región semiárida del Valle del Mezquital, Hidalgo.	54
6.4.- Evaluación de la efectividad e infectividad de dos inóculos de HMA generados usando a <i>Prosopis laevigata</i> como planta sensora	61
7.- CONCLUSIONES	68
8.- LITERATURA CITADA	70
9.- ANEXO	78
9.1.-Determinación de las características morfológicas de las esporas de HMA	78
9.2.- Análisis estadístico.	80

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
FIGURA 1 Morfología de una ectomicorriza	10
FIGURA 2 Morfología de una micorriza arbuscular	11
FIGURA 3 Estructuras de hongos micorrízicos arbusculares	14
FIGURA 4 Esporas de hongos micorrízicos arbusculares	15
FIGURA 5 Diagrama de flujo: Determinación de géneros y especies de HMA	22
FIGURA 6 Sitio de colecta de las plantas silvestres	23
FIGURA 7 Diagrama de flujo: Ensayos para obtener inóculo micorrízico arbuscular	25
FIGURA 8 Ensayos para obtención de inóculo multiespecífico	27
FIGURA 9 Inoculación mono-específica	28
FIGURA 10 Ensayos para obtener inóculos de HMA a partir de una espora	30
FIGURA 11 Diagrama de flujo: Evaluación de dos inóculos de HMA en <i>Prosopis laevigata</i>	31
FIGURA 12 Densidad de esporas de HMA en la rizósfera de 16 plantas silvestres	34
FIGURA 13 Colonización micorrízica arbuscular en las plantas silvestres	35
FIGURA 14 HMA asociados a la rizósfera de 16 plantas silvestres	40
FIGURA 15 Presencia de las diferentes especies de hongos micorrízicos arbusculares en relación al total de plantas silvestres	42
FIGURA 16 <i>Ambispora appendicula</i> (Spain, Sieverd. et Schenck) Walker, Vetsberg et Schuessler.	45
FIGURA 17 <i>Entrophospora infrequens</i> (Hall) Ames et Schneider	45
FIGURA 18 <i>Gigaspora ramisporophora</i> (Spain, Sieverd. Et Schenck)	46
FIGURA 19 <i>Glomus caesaris</i> (Sieverd. Et Oehl)	46
FIGURA 20 <i>Glomus claroideum</i> (Schenck et Smith)	47
FIGURA 21 <i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann)	47
FIGURA 22 <i>Glomus globiferum</i> (Koske et Walker)	48
FIGURA 23 <i>Glomus microaggregatum</i> (Koske, Gemma & P.D. Olexia)	48
FIGURA 24 <i>Glomus sinuosum</i> (R.T. Almeida & N.C. Schenck)	49
FIGURA 25 <i>Scutellospora gregaria</i> (Schenck et Nicolson) Walker et Sanders.	49
FIGURA 26 <i>Scutellospora nodosa</i> (Blaszkowski)	50
FIGURA 27 <i>Scutellospora scutata</i> (Walker et Diererichs)	50
FIGURA 28 <i>Acaulospora</i> aff. <i>mellea</i> (Spain et Schenck)	51
FIGURA 29 <i>Scutellospora</i> aff. <i>pellucida</i> (Nicolson et Schenck) Walker et Sanders	51
FIGURA 30 <i>Glomus aggregatum</i> (Schenck et Smith).	52
FIGURA 31 <i>Glomus caledonium</i> (Nicol. et Gerd.)Trappe et Gerd	52
FIGURA 32 <i>Glomus tortuosum</i> (Schenck et Smith).	53

FIGURA 33	<i>Acaulospora</i> aff. <i>laevis</i> (Gerdemann et Trappe).	53
FIGURA 34	<i>Glomus etunicatum</i> (Becker et Gerdemann).	53
FIGURA 35	Colonización micorrízica arbuscular en albahaca	55
FIGURA 36	Colonización micorrízica arbuscular en maíz	57
FIGURA 37	Colonización micorrízica arbuscular en <i>Prosopis laevigata</i>	62
FIGURA 38	Efecto de dos inóculos de HMA sobre el crecimiento de <i>Prosopis laevigata</i>	65
FIGURA 39	Biomasa seca total de <i>Prosopis laevigata</i> bajo dos tratamientos de micorrizas arbusculares	66
FIGURA 40	Razón raíz/vástago en mezquite con dos tratamientos de micorriza arbuscular	67

ÍNDICE DE CUADROS

		PÁGINA
CUADRO 1	Clasificación taxonómica de los HMA	17
CUADRO 2	Plantas colectadas de un matorral subinerme en el Valle del Mezquital, Hidalgo	23
CUADRO 3	Ensayos para la generación de un inóculo monospórico	30
CUADRO 4	HMA asociados a 16 especies vegetales de un matorral subinerme	36
CUADRO 5	HMA asociados a muestras de suelo provenientes de dos localidades del Valle del Mezquital, Hidalgo	44
CUADRO 6	Ensayo para la generación de inóculo multiespecífico	55
CUADRO 7	Generación de inóculo mono-específico de HMA	56
CUADRO 8	Ensayos de generación de inóculo monospórico	57
CUADRO 9	Colonización micorrízica arbuscular en <i>Prosopis laevigata</i> a través del tiempo	62
CUADRO 10	Variables medidas en <i>Prosopis laevigata</i> bajo dos tratamientos de micorriza	64

RESUMEN

En la rizósfera existe una gran diversidad de microorganismos de vida libre o simbióticos, importantes para el sistema suelo-planta como los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) que forman simbiosis con las raíces de más del 80 % de las plantas sobre la Tierra. El interés por utilizarlos como herramienta biológica para la producción de plantas de una región determinada se ha limitado por la incapacidad de estos hongos de propagarse en ausencia de su hospedero y también al desconocimiento de las especies de HMA en comunidades naturales de México donde los trabajos al respecto son escasos. Por ello, el presente trabajo de investigación consistió de tres etapas, primero se evaluaron a los HMA asociados a la rizósfera de 16 plantas silvestres y de dos muestras de suelo donde se propagaron a los hongos con *Lolium multiflorum*. En la segunda etapa se realizaron ensayos de propagación en macetas y cajas Petri con sustrato esterilizado y plantas hospederas como maíz, albahaca, pasto y sorgo, que fueron inoculadas con esporas de HMA aisladas de la rizósfera de las especies vegetales y de las muestras de masificación; por último, se evaluaron dos inóculos de HMA obtenidos en la segunda etapa, determinando su efectividad e infectividad en *Prosopis laevigata*.

Los resultados indicaron que todas las plantas evaluadas tienen HMA asociados a su rizósfera y presentan variación en cuanto al número de esporas y porcentaje de colonización micorrízica arbuscular; se encontraron seis géneros de este grupo de hongos donde el género *Glomus* estuvo asociado a la rizósfera del 93.75% de las plantas. Se determinaron 19 especies de hongos micorrízicos arbusculares y se observó que *Glomus geosporum*, *Glomus caesaris*, *Gigaspora ramisporophora* y *Scutellospora scutata* fueron los más comunes en la rizósfera de las plantas evaluadas. De las 19 especies 8 resultaron ser nuevos registros para la región del Valle del Mezquital, como *Glomus caesaris* y *Glomus caledonium* que no han sido referidas para México, siendo el primer reporte para el país de estas especies de HMA. Se obtuvieron dos inóculos, uno constituido por una sola especie (*Scutellospora* aff. *pellucida*) y otro multiespecífico constituido por las especies: *Glomus caledonium*, *G.geosporum*, *G.etunicatum*, *G.globiferum*, *G.claroideum*, *Acaulospora* aff. *laevis*, *Scutellospora* aff. *pellucida* y *Gigaspora ramisporophora*. La albahaca fue la mejor planta propagadora en comparación al maíz. Al realizar las pruebas de efectividad e infectividad de estos dos inoculantes se observó que *Scutellospora* aff. *pellucida* no estableció la simbiosis con las plantas de *Prosopis laevigata*, mientras que el inóculo multiespecífico lo realizó entre la 3^a y 4^a semana de inoculación generando plantas con mayores alturas, número de hojas, área foliar, tasa de crecimiento y biomasa seca total. Se observó una diferencia estadísticamente significativa con respecto al testigo y al inóculo monoespecífico en las variables evaluadas; lo anterior indicó que los HMA propagados en forma de consorcios son más eficientes para proporcionar efectos benéficos en las plantas de interés que de manera individual.



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.

1.- INTRODUCCIÓN

El término micorriza, el cual literalmente significa "raíz-hongo" fue utilizado por primera vez en 1885 para describir las asociaciones mutualistas que ocurren entre las raíces de las plantas y hongos. Las asociaciones micorrízicas constituyen diferentes tipos dependiendo de los hongos involucrados, dentro de las cuales la micorriza arbuscular es la simbiosis más común en los ecosistemas, puesto que estos hongos han coevolucionado con las plantas desde al menos 400 millones de años asistiendo a las plantas en su transición para colonizar el medio terrestre (Harrison 1997; Bonfante y Genre 2008).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) forman una simbiosis mutualista obligada con las raíces de más del 80% de las plantas terrestres; la micorriza arbuscular es considerada una de las asociaciones simbióticas más importantes por desempeñar un papel crucial en la nutrición vegetal; estos hongos son componentes constantes en los suelos de la mayoría de los ecosistemas terrestres y son ecológicamente importantes porque la diversidad de estos hongos influye en la diversidad y productividad vegetal dentro del ecosistema (Gianinazzi-Pearson *et al.* 1995; Van Der Heijden *et al.* 1998; Varma 1999; Jansa *et al.* 2007).

Los HMA pertenecientes al phylum *Glomeromycota* (Schußler *et al.* 2001) colonizan las células corticales de la raíz extendiendo su micelio dentro de ésta y formando estructuras altamente especializadas denominadas arbusculos; su presencia indica el establecimiento exitoso y funcional de la simbiosis micorrízica arbuscular, además son considerados como el sitio principal de intercambio de nutrimentos entre la planta y el hongo; cuando la micorriza arbuscular es funcional, la planta cede al hongo heterótrofo productos carbonados derivados de la fotosíntesis mientras que el micobionte a través del micelio externo aporta a la planta nutrimentos minerales para su crecimiento, principalmente fósforo (P), aunque también se ha observado que intervienen en la absorción de nitrógeno (N), potasio (K), calcio (Ca), hierro (Fe), magnesio (Mg), cobre (Cu), zinc (Zn) y agua, como consecuencia de su mayor accesibilidad a recursos distantes del sistema radical; asimismo, la micorriza arbuscular favorece en el hospedero mayor resistencia y tolerancia a elementos fitotóxicos como el aluminio (Al) y manganeso (Mn) en suelos ácidos (Carlson, 1990; Marschner y Dell, 1994; Bago *et al.* 2000a; Borie *et al.* 2000; Ruffyukiri *et al.* 2000).



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Actualmente, el manejo inadecuado de los recursos naturales como tala desmedida, el sobrepastoreo y las prácticas agrícolas modernas tales como uso excesivo de agroquímicos y pesticidas que se emplean en México, generan perturbaciones en los ecosistemas, pérdida de la cubierta vegetal, suelo y de microorganismos importantes para el adecuado funcionamiento del ecosistema como los hongos micorrízicos arbusculares. Giovannetti y Gianinazzi (1994) mencionan que el papel de las micorrizas en el funcionamiento y biodiversidad de ecosistemas terrestres ha recibido poca atención a pesar de que las interacciones entre la flora terrestre y los hongos micorrízicos arbusculares son un componente importante en la biomasa microbiana del suelo y su participación directa en procesos esenciales de la interfase suelo-planta. Van Der Heijden *et al.* (1998), señalan que los HMA están directamente involucrados en el mantenimiento de la diversidad y productividad vegetal dentro de los ecosistemas naturales, así mismo enfatizan que la disminución de especies de estos hongos genera cambios en la composición vegetal. Giovannetti y Gianinazzi (1994) comentan que la composición vegetal dentro de una comunidad puede afectar a la población de hongos micorrízicos arbusculares, considerando que cualquier cambio en la vegetación provoca efectos negativos en su sobrevivencia y reproducción -por ejemplo las tasas de formación de esporas-, operando como una fuerza selectiva en la composición de la población edáfica, debido a que estos hongos son simbioses obligados por lo que dependen de la vegetación.

México es un país con alta biodiversidad, sin embargo en el caso de los HMA se han realizado pocos estudios; sólo se han registrado 44 de alrededor de 200 especies formalmente descritas que provienen de 11 entidades federativas principalmente de zonas agrícolas. Los reportes que existen para comunidades naturales son mínimos. De aquí la importancia en incrementar los estudios ecológicos y taxonómicos de este grupo de hongos (Varela y Trejo 2001; Guadarrama-Chávez *et al.* 2007).

El conocimiento de los factores que influyen en la dinámica poblacional de los hongos micorrízicos arbusculares es esencial si se desea utilizarlos como una herramienta biológica para la conservación de nuestro capital natural. Para tales fines es necesario contar con información sobre que géneros y especies de HMA se encuentran asociados a las plantas nativas de importancia ecológica para el ecosistema de interés, así como recabar información sobre la biodiversidad de las micorrizas arbusculares en zonas aledañas donde el deterioro vegetal se incrementa por las actividades humanas. Esta información servirá para elaborar medios de inoculación que contengan propágulos (esporas, micelio y raíces

micorrizadas) que sean efectivos e infectivos en las plantas que se desean reintroducir a las zonas perturbadas con fines de recuperación de la cubierta vegetal.

La elaboración de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares a gran escala se ha limitado por la simbiosis obligada del hongo y al desconocimiento de su comportamiento en determinados ecosistemas. Actualmente, se cuenta con varias técnicas de cultivo, dependiendo de las especies que se desee propagar. Sin embargo, el cultivo en recipientes con suelo esterilizado como sustrato proporciona un ambiente favorable para más del 95% de especies vegetales y hongos formadores de la micorriza. Conforme se avanza en el conocimiento de la simbiosis micorrízica arbuscular se logran establecer técnicas que permiten la producción masiva de inóculos de alta calidad; donde los estudios ecológicos son necesarios para la selección de cepas eficientes en regiones ambientales específicas y para las especies vegetales de interés (Manjarrez *et al.* 2000). El presente trabajo busca contribuir en el conocimiento de los hongos micorrízicos arbusculares asociados a la vegetación de un matorral subinermes de una región semidesértica del Valle del Mezquital, Hidalgo para realizar ensayos de propagación con el objetivo de obtener un inóculo de HMA bien caracterizado en cuanto a las especies fúngicas que lo componen.

2.- MARCO TEÓRICO

2.1.-Tipos de micorrizas. El término micorriza fue utilizado por primera vez en 1885 para describir la estructura modificada de las raíces en árboles forestales; refiriéndose a la simbiosis mutualista entre determinados hongos que el suelo contiene y las raíces de la mayoría de las plantas, donde normalmente ambos simbiosntes se benefician de la asociación. En este tipo de simbiosis el hongo favorece a muchas especies vegetales crecer en suelos deficientes de nutrimentos o con problemas para la asimilación de fósforo a cambio el hongo recibe de la planta carbohidratos sintetizados por ella a través de la fotosíntesis, un nicho ecológico que lo protege del antagonismo microbiano presente en la rizósfera y sobre todo para complementar su ciclo de vida con la formación de esporas que son importantes para su supervivencia y dispersión para la colonización de nuevos hospederos en el ecosistema (Carlson, 1990; Harrison, 1997; Finlay, 2008).

Se han identificado siete diferentes categorías de simbiosis micorrízica con base en sus características morfológicas y sobre todo de las especies de plantas y hongos involucrados; los tipos de micorrizas son: arbuscular, ectomicorriza, ericoide, orquideoide, monotrofoide, arbutoide y ectendomicorriza (Finlay, 2008). La asociación micorrízica se divide en dos grupos principales, basados en su morfología: **ectomicorriza y endomicorriza**.

La ectomicorriza consta de una cubierta fungosa que rodea a las raíces del hospedero denominada red de Harting, así como un desarrollo intercelular fúngico en las primeras capas de la corteza radicular (figura 1). El hongo crece intercelularmente en el córtex pero nunca intracelularmente, la anatomía y morfología de las raíces son modificadas y provoca que los pelos radicales de la planta no se desarrollen; por consiguiente, la planta depende en gran medida

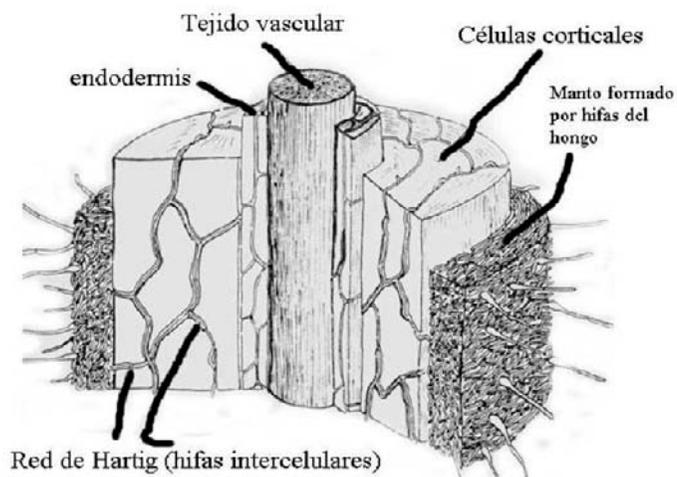


Figura 1. Morfología de una ectomicorriza. Característico en especies forestales como pino, abeto, abedul, baya, roble, entre otros. Tomado de Azcón y Barea, 1980.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

del hongo para obtener agua y nutrientes minerales del suelo; este tipo de micorriza se encuentra en los bosques templados (Carlson, 1990; Peterson, 1992; Finlay, 2008).

La endomicorriza provoca pocos cambios en la morfología de la raíz. No hay manto. Sin embargo, hay dos redes miceliales, una externa y otra interna. El micelio interno penetra en la raíz tanto intercelularmente como intracelularmente. Dentro de este grupo la más importante para el estudio del presente trabajo y por su amplia distribución geográfica es la micorriza arbuscular (figura 2), se presenta en una amplia variedad de plantas hospederas incluyendo angiospermas, gimnospermas, pteridofitas (helechos), musgos, licopodios y psilofitas (*Psilotum*) y un grupo comparativamente pequeño de hongos filamentosos aseptados del phylum *Glomeromycota*; mientras que sólo algunas familias de plantas son consideradas no micotróficas, como *Chenopodiaceae*, *Fumariaceae*, *Cyperaceae*, *Polygonaceae* y *Brassicaceae*. La característica no micotrófica de estas familias está relacionada con la presencia de componentes fungitóxicos en la corteza radical o en los exudados radicales, lo que podría reducir la susceptibilidad de las plantas a la infección micorrízica (Azcón y Barea, 1980; Tester *et al.* 1987; Bolan, 1991; Bago *et al.* 2000b; Schüßler *et al.* 2001; Finlay, 2008).

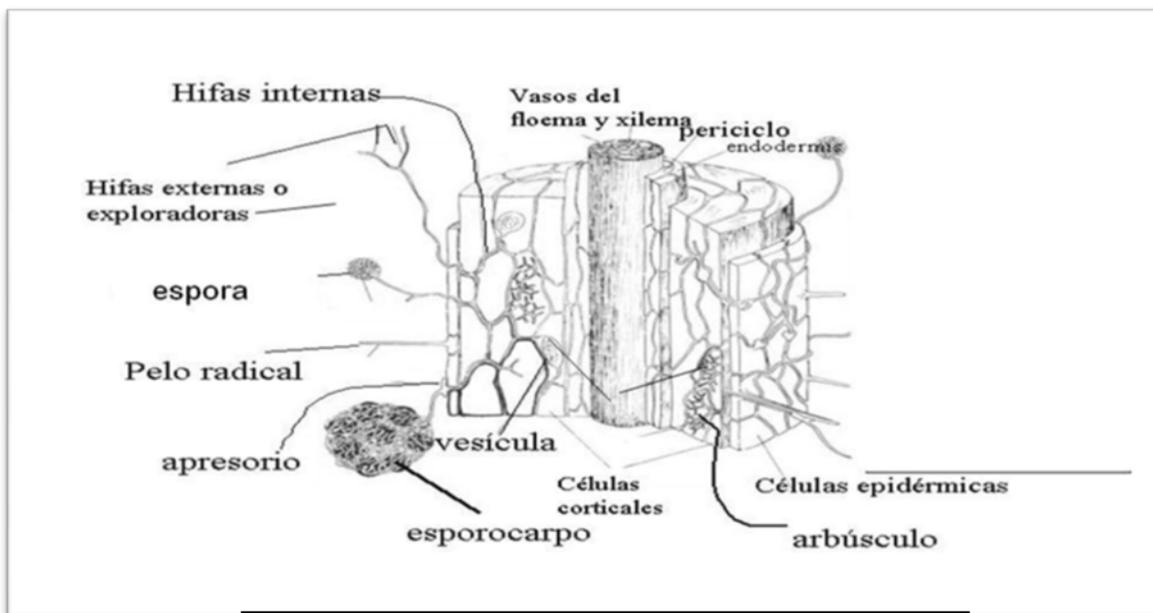


Figura 2. Morfología de una micorriza arbuscular.

Tomado de Azcón y Barea, 1980.

2.2.- Simbiosis micorrízica arbuscular

Entre las simbiosis de plantas con microorganismos, la de mayor importancia por su distribución en la mayoría de los ecosistemas así como su asociación con una amplia variedad de plantas es la micorriza arbuscular (MA), que es la asociación de hongos del phylum *Glomeromycota* con las raíces de las plantas. Las especies que pertenecen a los géneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Kuklospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Paraglomus*, *Archaeospora*, *Intraspora*, *Entrophospora*, *Diversispora*, *Otospora*, *Ambispora* y *Pacispora* son ampliamente conocidos como hongos micorrízicos arbusculares (HMA), por formar asociaciones simbióticas con las raíces de más del 80% de las plantas superiores. La amplitud de hospederos a los cuales pueden estar asociados los colocan como inespecíficos aunque existen diferencias en el grado de susceptibilidad del huésped y en la adaptabilidad del hongo a determinadas condiciones ecológicas, la falta de especificidad podría deberse a que las moléculas mensajeras necesarias en cada paso del proceso de colonización son producidas por todas las plantas micotróficas; también es factible que la variedad de moléculas mensajeras promuevan la transducción de una misma señal que resultará en el establecimiento de la simbiosis (Espinosa, 2000; Rosenblueth *et al.* 2001; Schußler *et al.* 2001; Gladstone *et al.* 2006; Rosendahl, 2008).

2.3.- Morfología y fisiología de la simbiosis micorrízica arbuscular

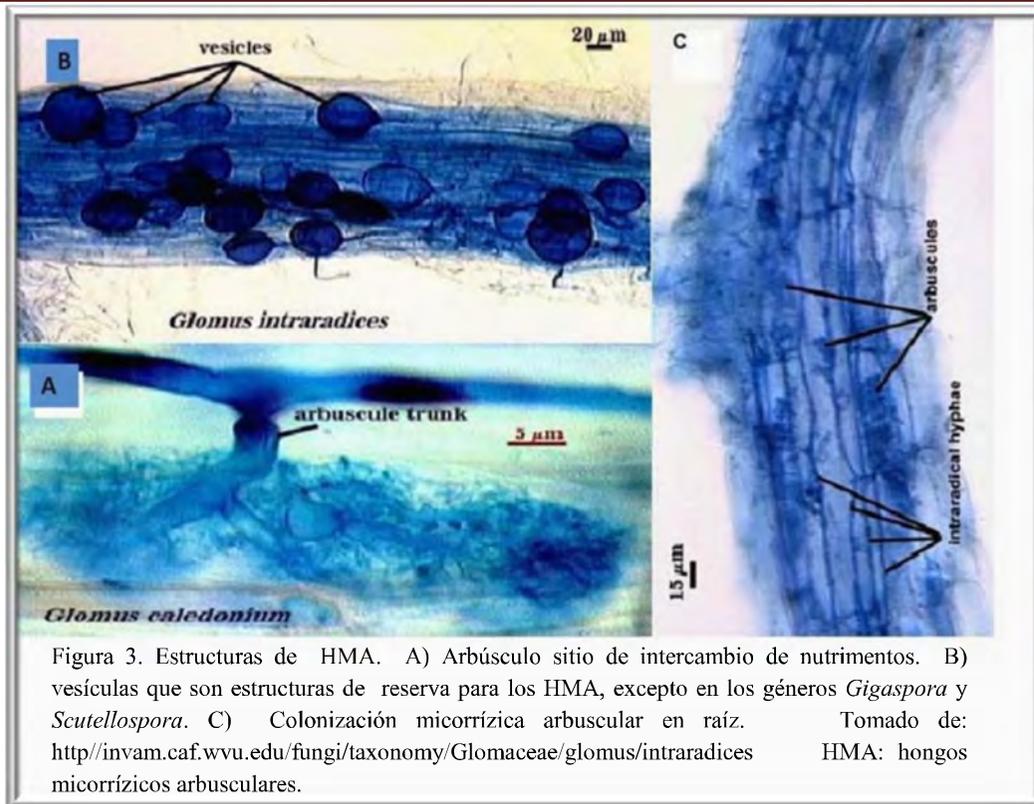
El desarrollo de la simbiosis micorrízica arbuscular presenta una morfología y fisiología características, la cual es completamente funcional cuando las hifas de los hongos micorrízicos arbusculares penetran las células de la raíz del hospedero y forman arbuscúlos (fig. 3A), estructura donde se lleva a cabo el intercambio bidireccional (hongo-planta) de nutrimentos como son fosfatos, nitrógeno y otros iones indispensables para el desarrollo de la planta -especialmente en suelos con baja o moderada fertilidad- y de carbohidratos necesarios para el desarrollo del hongo micorrízico arbuscular (Bago *et al.* 2000a; Espinosa 2000; Cruz *et al.* 2007).

La íntima relación biotrófica hongo-planta junto con la dependencia recíproca de los simbiosistas para crecer y sobrevivir bajo condiciones adversas, permite sugerir que la micorriza arbuscular forma y constituye parte integral de las plantas. El establecimiento y funcionalidad involucra múltiples procesos de reconocimiento que pueden ser determinados por una secuencia de señales recíprocas apropiadas para la estimulación y reconocimiento entre los simbiosistas; procesos que se inician antes del contacto físico y permiten su

integración morfológica, provocando que la raíz del hospedero acepte al hongo como un simbionte, es tal el reconocimiento que los HMA son capaces de distinguir a sus hospederos de todas las demás especies de plantas, tanto no micotróficas como de otro tipo de micorriza; por ejemplo de una micorriza arbutoide (Giovannetti *et al.* 1994; González-Chávez *et al.* 1998; Bago *et al.* 2000b; Espinosa, 2000).

Casi todas las interacciones biotróficas en el suelo involucran la atracción del microorganismo hacia el hospedero. El intercambio de señales entre los hongos y las plantas hospederas ocurren en tres zonas: en la **rizósfera** las plantas a través de las raíces producen y depositan una gran variedad de compuestos orgánicos solubles y volátiles que funcionan como atrayentes, reservorio de nutrimentos y fuente de señales genéticamente regulatorias para los HMA, señales que pueden afectar la germinación de las esporas, el grado de extensión y ramificación de los tubos germinativos, así como su orientación. En la **zona de adhesión** se da el contacto físico entre el tubo germinativo y las células de la raíz de la planta hospedera, donde los exudados radicales y otros compuestos podrían influenciar los procesos de adhesión, penetración y colonización; y el tercer sitio es **dentro de la raíz**, donde las sustancias que se intercambian para comunicarse podrían influenciar la formación de arbusculos, la tasa de transferencia de carbohidratos al mico-simbionte, la tasa de crecimiento del hongo dentro del tejido radical, la probabilidad de reinfección, así como la producción de vesículas y esporas (Espinosa, 2000; Rosenblueth *et al.* 2001). Por ello, se considera que la micorriza arbuscular es resultante de complejas interacciones secuenciales entre las hifas de los HMA y células hospederas, permitiendo así un estado mutualista funcional, donde factores de la planta estimulan el crecimiento hifal en la fase de precolonización y formación de la simbiosis (González-Chávez *et al.* 1998).

Después de toda la secuencia de fenómenos de reconocimiento, la simbiosis endomicorrízica se establece morfológicamente, donde las estructuras características para este grupo son los arbusculos (fig. 3A), estructuras internas que forma el hongo en la raíz y por las cual se denomina arbuscular. Los arbusculos son estructuras que siempre se localizan dentro de las células corticales de la raíz, se desarrollan a partir de las hifas que las colonizan diferenciándose morfológicamente mediante ramificaciones dicotómicas sucesivas para desarrollar una extensa cantidad de ramas con diámetro menor a 1 μ . Son de corta duración (4 a 14 días en promedio) y son los sitios de intercambio de nutrimentos entre el hongo MA y la planta. En algunos géneros se pueden presentar vesículas (fig. 3B) dentro o entre las células, contienen lípidos y sirven como órganos de reserva de energía para los hongos (Bago *et al.* 2000a).



Los nutrientes que absorbe el hongo del suelo como fósforo, nitrógeno, cobre, zinc, hierro, agua se transfieren hacia las finas ramificaciones del arbúsculo, donde la célula cortical que contiene a esta estructura está altamente invaginada para incrementar la superficie de contacto; por su parte la especie vegetal transfiere carbohidratos generados por la fotosíntesis hacia los arbúsculos donde se transfieren y son utilizados para el desarrollo fúngico, también se ha observado que el micelio intraradical (fig 3c) es capaz de captar carbohidratos. La transferencia de nutrientes es mediante un transporte activo donde están involucradas enzimas o transportadores específicos; los carbohidratos que intercambia la planta con el hongo micorrízico arbuscular son principalmente hexosas, el hongo las transforma inmediatamente a trehalosas y posteriormente pueden ser incorporados en la ruta metabólica de las pentosas o usado en la biosíntesis de glucógeno y lípidos; compuestos que pueden ser canalizados hacia la formación de vesículas o transferidos hacia el micelio externo (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1983; Brundrett *et al.* 1996; Bago *et al.* 2000b; Hause y Fester, 2005; Cruz *et al.* 2007; Schaarschmidt *et al.* 2007).

La estructura externa de un sistema MA está constituida de una red de hifas fúngicas, que se extienden desde la superficie de la raíz hasta la vecindad del suelo. Su principal función es la absorción de nutrientes. El micelio externo es extremadamente variable en densidad y su estructura depende del hongo involucrado, del hospedero y del suelo. Se ha

considerado que por cada centímetro de raíz micorrizada se pueden producir hasta 14 metros de hifas externas de HMA o hasta 50 metros de hifas por gramo de agregados estables en el suelo (Tisdall, 1994). El micelio externo se desarrolla a partir de las hifas exploradoras que se ramifican y forman estructuras con apariencia de árbol denominadas "estructuras ramificadas de absorción" ("BAS" por sus siglas en inglés); estas estructuras podrían estar implicadas en la captación de nutrientes minerales y se ha observado que sólo se forman cuando el contacto entre el hongo MA y la raíz ha sido fructífero. Los "BAS" pueden presentarse solos o asociados a esporas, son consideradas idóneas para la formación de éstas estructuras de propagación de los HMA. Las esporas se forman asexualmente sobre hifas germinales y se les considera como los propágulos infectivos más importantes. Pueden encontrarse en el suelo en forma simple o individual (fig. 4a, 4b), en agregados o en un esporocarpo (fig.-4c) e incluso dentro de las raíces (fig.-4d), (Carlson, 1990; Brundrett y Abbott, 1994; González-Chávez *et al.* 1998; Bago *et al.* 2000a; Hause y Fester, 2005).



2.4.- Clasificación taxonómica de los hongos micorrízicos arbusculares

Todos los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son morfológica y fisiológicamente diferentes, así que es importante conocer su identidad. Aunque éstos hongos tienen una amplia variedad de hospederos, son específicos en sus efectos sobre las especies vegetales, aun cuando existe poca evidencia de especificidad entre el hongo y la planta, se ha demostrado especificidad ecológica y compatibilidad funcional entre simbiontes. Ellos pueden variar en sus efectos dentro de cultivos de una sola especie de planta y diferir también su efecto en plantas que se encuentran en diferentes ecosistemas, tipo de suelo, e incluso en suelos con componentes biológicos, físicos y químicos similares. Por lo que, para relacionar los resultados de investigaciones realizadas en diferentes localidades, es de vital importancia que la identidad de los hongos micorrízicos arbusculares se conozca (Varela y Trejo, 2001; Van Der Heijden *et al.* 2004; Avio *et al.* 2006).

La clasificación e identificación taxonómica de estos hongos, hasta 1995 se había basado solamente en criterios morfológicos de las esporas y esporocarpos. Los caracteres de las esporas como tamaño, forma, tipo de hifa germinal, pared de la espora y sus diversos estados de expresión; especialmente determinando el número de capas, tamaño, color, flexibilidad, reactividad histológica, ornamentación (murograma) son la base para la taxonomía a nivel de especie. Otros criterios han sido propuestos para identificarlos; como la descripción de la morfología de estructuras intra-radicales tales como arbusculos, vesículas, presencia de células auxiliares, descripción detallada de la germinación y desarrollo ontogénico de las esporas. Actualmente se están utilizando técnicas bioquímicas y moleculares como herramientas adicionales para su identificación. A nivel mundial se conocen aproximadamente 200 especies de HMA y alrededor de 44 especies han sido citados para México de los cuales la mayoría proceden de zonas agrícolas donde se cultiva maíz, frijol, café, caña de azúcar, coco, haba, entre otros; y sólo pocos se reportan de zonas naturales que incluyen vegetación como pastos, selvas bajas caducifolias, matorral secundario, dunas costeras, selva húmeda tropical, bosque lluvioso, zonas semiáridas y áridas (Varela y Trejo, 2001; Guadarrama-Chávez *et al.* 2007; Blaszkowski, 2009).

De acuerdo a Blaszkowski (2009) en el cuadro 1 se muestra la clasificación taxonómica de los HMA en función del análisis de las características morfológicas y moleculares de éstos hongos; el autor menciona que la información está respaldada por la investigación de los siguientes autores: Schüßler *et al.* (2001) con modificaciones de Oehl y Sieverding (2004), Walker y Schüßler (2004), Sieverding y Oehl (2006), Spain *et al.* (2006), Walker *et al.* (2007) y Palenzuela *et al.* (2008).

**CUADRO 1. CLASIFICACION TAXONOMICA DE LOS HONGOS
MICORRIZICOS ARBUSCULARES.**

REINO FUNGI

Phylum Glomeromycota **

Clase Glomeromycetes

Orden	Familia	Género
<i>Archaeosporales</i>	<i>Ambisporaceae</i>	<i>Ambispora</i>
	<i>Archaeosporaceae</i>	<i>Archaeospora</i>
		<i>Intraspora</i>
<i>Diversisporales</i>	<i>Geosiphonaceae</i>	<i>Geosiphon*</i>
	<i>Gigasporaceae</i>	<i>Gigaspora</i>
		<i>Scutellospora</i>
	<i>Acaulosporaceae</i>	<i>Acaulospora</i>
		<i>Kuklospora</i>
	<i>Entrophosporaceae</i>	<i>Entrophospora</i>
	<i>Diversisporaceae</i>	<i>Diversispora</i>
<i>Otopora</i>		
<i>Glomerales</i>	<i>Pacisporaceae</i>	<i>Pacispora</i>
	<i>Glomeraceae</i>	<i>Glomus</i>
<i>Paraglomerales</i>	<i>Paraglomaceae</i>	<i>Paraglomus</i>

* *Geosiphon Pyriformis* de la familia *Geosiphonaceae* (*Archaeosporales*) no forma micorriza arbuscular. Este forma endocitosimbiosis con cianobacterias (*Noctos* sp.) y fue incluido dentro de los *Glomeromycota* basándose solo en su parentesco molecular.

** Las investigaciones moleculares hasta la fecha indican que el phylum *Glomeromycota* se relaciona más cercanamente con miembros del phylum *Ascomycota* y *Basidiomycota*, que con aquellos miembros del phylum *Zygomycota* como se creía en un principio.

2.5.- Importancia de los hongos micorrízicos arbusculares en los ecosistemas

México cuenta con una gran diversidad biológica, en nuestro país podemos encontrar selvas tropicales húmedas, bosque de coníferas, selvas bajas caducifolias, pastizales, matorrales espinosos y otras comunidades vegetales que se establecen en regiones con escasa precipitación pluvial; estas regiones áridas y semiáridas son muy importantes ya que constituyen alrededor del 60% del territorio nacional, presentan altos niveles de endemismos y gran diversidad florística; por desgracia están siendo transformadas para

actividades agropecuarias a tal punto que la flora y fauna mexicanas se hallan seriamente amenazada (Toledo,1988; Valiente-Banuet, 1996). Además si tomamos en cuenta que los HMA colonizan las raíces de la mayoría de las plantas en los ecosistemas, su simbiosis obligada los pone en riesgo ante estas perturbaciones. Cuenca y Lovera (1992) señalan que estos cambios en los ecosistemas usualmente se acompañan de una disminución en el número de propágulos micorrízicos.

Los HMA son importantes porque interactúan con microorganismos rizosféricos y con la microbiota fuera de la influencia de la raíz y forman una micorizósfera que estimula, inhibe y selecciona grupos microbianos específicos que participan en la mineralización de la materia orgánica del suelo. Se considera que estas interacciones microbianas pueden determinar la biodiversidad de las plantas y dirigir las funciones del ecosistema tales como productividad y variabilidad. Lo anterior conlleva a considerar a los HMA como componentes clave de la microbiota del suelo, puesto que desempeñan actividades cruciales para el establecimiento, nutrición, desarrollo y salud de las plantas (Van Der Heijden *et al.* 1998; Varela y Trejo, 2001; Barea *et al.* 2005).

La pérdida de la cubierta vegetal es una perturbación que impacta directamente la estabilidad del suelo, los procesos erosivos se incrementan aceleradamente en la mayoría de los ecosistemas; provocan la eliminación de la capa fértil y disminuyen la actividad biológica edáfica, como resultado se inhibe o retrasa el establecimiento de la vegetación en condiciones naturales. Ante esta perspectiva los hongos micorrízicos arbusculares pueden desempeñar un papel muy importante en su restablecimiento porque favorecen el crecimiento vegetal debido a una captación y transferencia más eficiente de nutrientes como fósforo, nitrógeno, agua, entre otros; incrementan la tolerancia a la baja fertilidad, la aridez u otros factores ambientales estresantes para las plantas. Por lo que la recuperación de sitios perturbados podría depender del buen manejo de los hongos micorrízicos arbusculares, lo cual implica la necesidad de conocer su diversidad y abundancia para comprender la interacción planta-HMA en un ecosistema específico. Esta información es indispensable para su utilización como herramienta biológica en programas de restablecimiento de la vegetación; además se ha enfatizado que la utilización de HMA de un ecosistema distinto como fuente de inóculo para la recuperación de un sitio degradado con diferentes condiciones edafoclimáticas, puede provocar efectos negativos en el establecimiento y recuperación de la cubierta vegetal (Roldán-Fajardo, 1994; Cuenca *et al.* 1998; González-Chávez *et al.* 1998; Camargo-Ricalde 2001; Moreira *et al.* 2007).

Otra característica importante de estos organismos es la producción de micelio extraradical que es ecológicamente importante porque da estabilidad y mejora las características físico-químicas y biológicas del suelo; favorecen la formación de agregados estables debido a la secreción de una proteína denominada glomalina que junto con las raíces impiden que los procesos erosivos arrastren la capa fértil indispensable para el mantenimiento de la actividad microbiana y de la vegetación en el ecosistema, se mejora la aireación e infiltración hídrica debido a una mayor cantidad de espacio poroso. Además el micelio desempeña un papel importante en el establecimiento de la micorriza arbuscular en otros hospederos (Jasper *et al.* 1989; Rillig y Mummey, 2006).

2.6.- Métodos de propagación de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Muchos intentos se han realizado para establecer a los HMA en cultivos axénicos en una variedad de medios, pero ninguno ha sido del todo exitoso debido a la ausencia de la raíz de una planta hospedera. Métodos sofisticados, como el cultivo *in vitro* con el uso de raíces transformadas han resultado exitosos, pero se requiere del equipo adecuado para mantener las condiciones de asepsia, además son costosos para realizarlos en cualquier laboratorio y no son prácticos para estudios ecológicos sobre las micorrizas (INVAM, 2009).

Un aspecto importante que resaltar, es el hecho que esta simbiosis obligada por parte del hongo impide su propagación de forma aislada de la planta, haciendo necesario el empleo de un sistema donde ambos organismos se desarrollen óptimamente. Aunque se cuenta con varias técnicas de cultivo, dependiendo de la gama de especies que se desee reproducir, el cultivo en macetas con suelo como sustrato proporciona un ambiente favorable para más del 95% de especies vegetales y hongos formadores de la simbiosis micorrízica arbuscular. Conforme se ha avanzado en el conocimiento de la simbiosis, se han logrado descubrir técnicas que permiten la producción masiva de inóculo de alta calidad. Sin embargo, los estudios ecológicos siguen siendo necesarios para la selección de cepas eficientes en regiones ambientales específicas, para las especies silvestres y cultivadas que allí se establecen (Manjarrez *et al.* 2000).

Ferrera-Cerrato y Alarcón (2007) comentan que el manejo de los HMA con fines de producción de inóculos, requiere un seguimiento detallado en el conocimiento de aspectos ecológicos relacionados con su biología así como de su capacidad infectiva y efectiva en diferentes hospederos. Consideran que los sistemas de propagación y producción de inóculo contemplan los siguientes pasos: (1) obtención de propágulos, (2) multiplicación

de cepas de HMA, (3) aislamiento, selección y caracterización de cepas, (4) propagación masiva e (5) inoculación en plantas de interés.

La técnica de propagación por medio de especies vegetales micotróficas permite multiplicar a los HMA de zonas de interés y obtener esporas de reciente generación; las esporas obtenidas se extraen, separan y seleccionan con dos objetivos principales. Realizar la determinación taxonómica de las especies de hongos presentes en el sitio de interés y para iniciar cultivos puros (cepas) que pueden iniciarse a partir de esporas de una sola especie (cultivo monoespecífico), de una multicepa cuya caracterización morfológica se encuentre bien establecida o también cultivos a partir de una espora denominados monospóricos (Amora y Varela, 2009). Cada una de las cepas propagadas con éxito se re-inoculan en diferentes plantas para realizar la selección de estas con base a la capacidad de promoción de crecimiento vegetal, vigor, protección contra patógenos, nutrición, engrosamiento de tallo, tolerancia a pesticidas, cantidad óptima de fertilizante, o bien con base en alguna característica importante para el investigador. Una vez que se han seleccionado los hongos micorrízicos arbusculares, se procede a realizar la propagación masiva para su aplicación, es importante realizarle pruebas de control de calidad al inóculo, las cuales contemplan la evaluación de la colonización en el sistema radical, -el cual se sugiere sea del 60% como mínimo para poder utilizarlo- y la cuantificación del número de esporas en el inóculo. La principal característica de ésta fase, es que el inóculo debe estar libre de patógenos y otros microorganismos que pudieran afectar su calidad. Por último se procede a la inoculación de las plantas de interés y se cultivan en vivero para posteriormente trasplantarlas al sitio de interés (Manjarrez *et al.* 2000).

Si el esquema planteado anteriormente y considerando que los HMA son habitantes cosmopolitas de las raíces de la mayoría de las plantas; al aplicarlo en los matorrales semiáridos del Valle del Mezquital Hidalgo, es de esperarse que los propágulos como esporas o raíces infectadas con micelio se encuentren en la rizósfera de la vegetación natural y que al coleccionar muestras de suelo en campo para establecer macetas de propagación se logrará la masificación de estos organismos al utilizar plantas como sorgo (*Sorghum vulgare*), trébol (*Trifolium subterraneum*), maíz (*Zea mays*), cebolla (*Allium cepa*), pasto sudán (*Sorghum bicolor* var. *sudanesa*), entre otras plantas que han mostrado ser buenas hospederas, debido a que son especies micotróficas con crecimiento rápido y con un sistema radical fuerte y abundante como lo comentan Manjarrez *et al.* (2000).

3.- HIPÓTESIS

Si los HMA forman simbiosis con las raíces de casi el 90 % de la vegetación y generan esporas en la rizósfera, entonces mediante el aislamiento, selección y propagación de ellas; será posible generar un inóculo micorrízico arbuscular con especies fúngicas nativas que sea efectivo en plantas silvestres.

4.- OBJETIVOS

- ❖ Determinar taxonómicamente a los HMA asociados a la rizósfera de 16 especies vegetales silvestres colectadas en un matorral subinerno del Valle del Mezquital, Hidalgo.
- ❖ Determinar taxonómicamente a los HMA propagados en el invernadero de la FES-Zaragoza, pertenecientes a dos localidades de Hidalgo.
- ❖ Ensayar tres técnicas para la obtención de un inóculo de HMA mediante la selección de sus esporas.
- ❖ Evaluar a nivel de invernadero la efectividad e infectividad de los inóculos generados utilizando a *Prosopis laevigata* como planta sensora.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

5.- MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de investigación consistió de tres etapas: Se determinaron los géneros y especies de HMA asociados a 16 especies vegetales silvestres y de dos muestras de suelo donde se cultivó pasto para masificación de los hongos. A continuación se realizaron ensayos de propagación en macetas con sustrato esterilizado y plantas hospederas como maíz, albahaca, pasto o sorgo; las cuales fueron inoculadas con esporas de HMA aisladas de la rizósfera de las especies vegetales o de las muestras de suelo que previamente fueron masificadas en invernadero. Por último, se evaluaron los inóculos de HMA obtenidos en la segunda etapa; para evaluar su efectividad e infectividad en *Prosopis laevigata*, planta de importancia ecológica en los matorrales semiáridos del Valle del Mezquital, Hidalgo.

5.1.- Determinación de los hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizósfera de 16 especies vegetales y de dos muestras de suelo.

La figura 5 muestra de manera esquemática cómo se abordó el estudio de los HMA en la rizósfera de las plantas colectadas, posteriormente se hace una descripción a detalle.

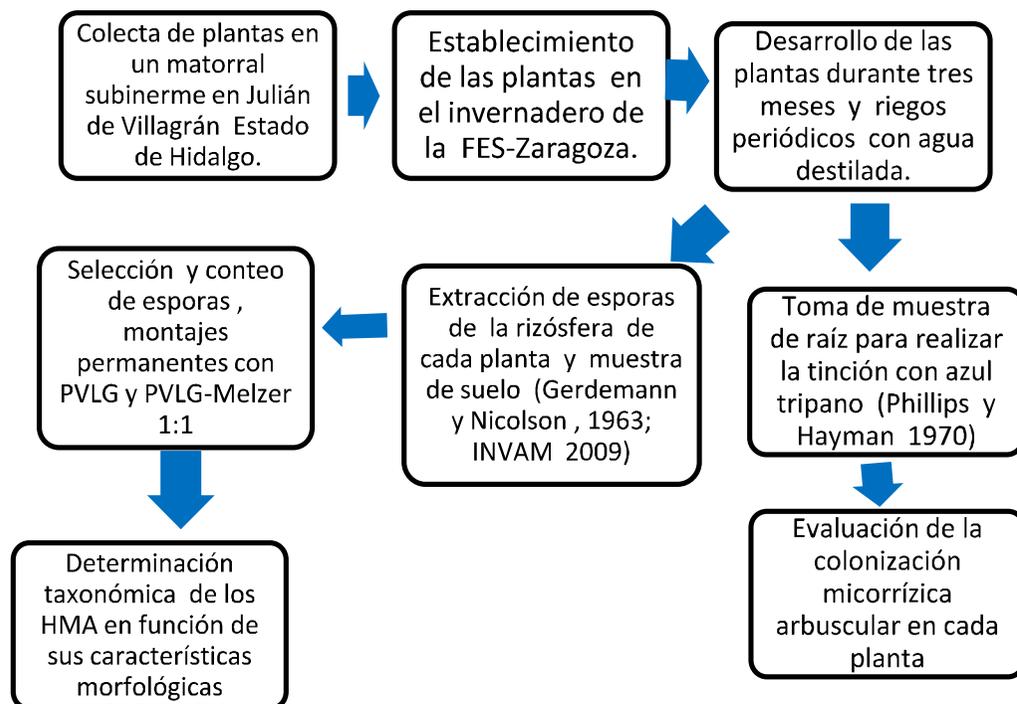


Figura 5. Diagrama de flujo: Determinación de géneros y especies de HMA.



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.

La colecta de los ejemplares vegetales (cuadro 2) se realizó en un matorral subinerme que se desarrolla sobre las laderas del cerro Cebadero localizado cerca de 3 kilómetros de Julián de Villagrán rumbo a Bangandho, en el Estado de Hidalgo (figura 6); no hay un dominante fisonómico único, presenta buen estado de conservación y diversidad florística (García-Sánchez *et al.* 2008).

CUADRO 2. Plantas colectadas de un matorral subinerme en el Valle del Mezquital, Hidalgo.

<i>Agave lechuguilla</i> Torr.	<i>Fouquieria splendens</i> Engelm
<i>Bouteloua curtipendula</i> (Michx.) Torr.	<i>Hechtia podantha</i> Mez.
<i>Chrysactinia mexicana</i> A. Gray	<i>Jatropha dioica</i> Cerv.
<i>Croton ehrenbergii</i> Schl.	<i>Karwinskia humboldtiana</i> (Roem. & Schult) Zucc.
<i>Echinocactus platyacanthus</i> Link & Otto	<i>Mammillaria elongata</i> De Candolle
<i>Echinocereus cinerascens</i> (D. C.) Rümpler	<i>Neolloydia conoidea</i> (D.C.) Britton & Rose
<i>Euphorbia antisiphylitica</i> Zucc.	<i>Prosopis laevigata</i> (Humb. & Bonpl. Ex Willd) M.C. Johnst
<i>Flourensia resinosa</i> (Brandege) S.F. Blake	<i>Turnera diffusa</i> Willd. Ex Schult



Figura 6. Sitio de colecta de las plantas silvestres. a) Mapa de localización de la localidad de Julián de Villagrán en el Estado de Hidalgo. b) Foto que muestra la entrada hacia el matorral subinerme que se desarrolla sobre las laderas del cerro Cebadero.

Las plantas colectadas se seleccionaron tomando en cuenta que se encontraran aisladas, que tuvieran estructuras reproductivas a fin de reconocer la especie, que no fueran muy grandes a fin de extraer completa la raíz y que fuera una especie común en el matorral. Se colectó un ejemplar de cada especie con ayuda de una pala para jardinería, se evitó el daño a la raíz y a las plantas vecinas. El ejemplar colectado se colocó en una bolsa de polietileno junto con el suelo adherido al sistema radical para su transporte al invernadero de la Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, UNAM; una vez allí se colocaron cada una en macetas

donde se les adicionó sustrato inerte, se dejaron restablecer durante tres meses con riego periódico para su desarrollo a fin de favorecer el crecimiento radical y que los hongos micorrízicos arbusculares asociados produjeran esporas.

La extracción de las esporas del suelo rizosférico de cada planta y de las muestras de suelo se realizó utilizando la técnica de decantación y tamizado (Gerdemann y Nicolson, 1963), seguido de una centrifugación con sacarosa al 50%. Se pesaron 100g de suelo seco que se colocó en un vaso al cual se adicionó agua para realizar una agitación mecánica (agitador marca Oster) durante 5 minutos, posteriormente se decantó el sobrenadante sobre una serie de tamices (de mayor a menor 1000 μ y 44 μ) esta operación se realizó dos veces más para recuperar el máximo de esporas, la fracción obtenida en el tamiz de 44 μ fue colocada en tubos para centrifugarlos con agua a 2000 rpm durante 5 minutos; se eliminó el sobrenadante de cada tubo (esporas muertas y restos de materia orgánica); posteriormente a cada tubo se le adicionó una solución de sacarosa al 50% y se re-suspendió la muestra para ser nuevamente centrifugada a 1000 rpm durante 3 minutos, terminado este proceso se decantó la solución de cada tubo en un tamiz de 44 μ (aquí se encuentran las esporas de HMA viables), la muestra se lavó con abundante agua para eliminar el exceso de azúcar y se colocó en una caja Petri con agua destilada; y con la ayuda de un estereoscopio de disección se realizaron los recuentos y la selección de las esporas de HMA agrupándose de acuerdo a su morfología como forma, color, tamaño, presencia o ausencia de hifa.

De las esporas aisladas y seleccionadas se realizaron montajes permanentes en portaobjetos, para esto se tomó un grupo de ellas a las cuales se les adicionó una solución de alcohol polivinílico, ácido láctico y glicerol (PVLG) con el objetivo de fijar y observarlas sin cambios en sus características morfológicas y otra parte se les adicionó PVLG+Melzer proporción 1:1. El reactivo de Melzer fue utilizado para observar la reacción de la pared de las esporas y así determinar con ayuda de un microscopio óptico el número de capas que conformaron la pared, estructuras como escudos de germinación y otros elementos adicionales que permitieron su determinación taxonómica. Se contó con la ayuda de la M en C. Laura Hernández Cuevas especialista en taxonomía de los HMA de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. También se hizo una revisión de las descripciones de especies de HMA que actualmente se encuentran disponibles en los sitios web: <http://invam.caf.wvu.edu/> y <http://www.lrz-muenchen.de/~schuessler/amphylo/>. El color de las esporas se determinó con ayuda de la carta de colores utilizada en el sitio web <http://invam.caf.wvu.edu/>; el tamaño de las esporas, hifas y grosor de la pared se midió utilizando el software *AxioVision*® Versión 4.8.0.0. (Ver anexo A9.1).

Para evaluar la colonización micorrízica arbuscular se utilizó la técnica de tinción con azul tripano propuesta por Phillips y Hayman (1970); se tomó una muestra de raíz de cada una de las especies vegetales, se lavó con agua de la llave en un tamiz de 44 micras para evitar su pérdida y eliminar los restos de suelo adherido; se colocó la raíz de cada planta en un recipiente con hidróxido de potasio (KOH) al 10% durante 24h a temperatura ambiente, -en el caso de las cactáceas se recomienda al 5% para evitar la destrucción de la raíz-; luego se lavaron con agua destilada para eliminar el KOH, se les adicionó peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 10% para aclarar la raíz durante 3 minutos, se enjuagaron con agua destilada y se cubrieron con ácido clorhídrico al 10% durante 25 minutos; pasado este tiempo se eliminó el ácido y sin enjuagar se les adicionó azul de tripano al 0.05% hasta cubrir las raíces para su tinción durante 24 horas, al siguiente día se realizó el corte de las raíces en aproximadamente 1.5 cm de longitud de las cuales se tomaron 20 segmentos al azar, se montaron en un portaobjetos por triplicado para su observación al microscopio óptico y determinar la colonización micorrízica arbuscular total mediante la siguiente expresión: campos colonizados/campos observados * 100.

5.2.- Ensayos para generar un inóculo micorrízico arbuscular.

En la figura 7 se presenta un diagrama de flujo de la metodología empleada en los ensayos para obtener inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) a partir de sus esporas.

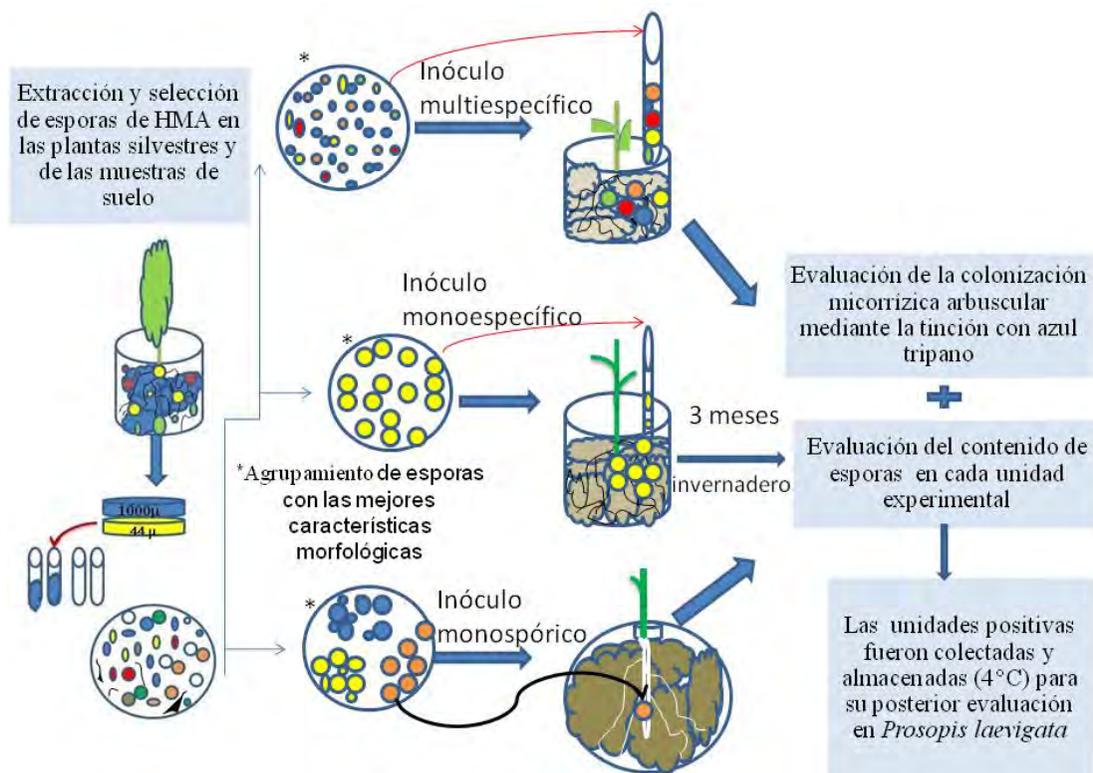


Figura 7. Diagrama de flujo: Ensayos para obtener inóculo micorrízico arbuscular

Para la generación de inóculo con HMA del Valle de Mezquital se requirió de esporas de reciente formación, éstas se lograron aislar del sustrato de las plantas colectadas que se mantuvieron durante tres meses en el invernadero de la FES-Zaragoza. También fue necesario hacer la extracción en otros suelos de la región donde previamente los HMA fueron masificados y almacenados durante seis meses en refrigeración a 4° C antes de ser utilizados. Las muestras evaluadas fueron denominadas como "ROS" y "Gzl-Gzl".

El origen de la muestra masificada "ROS" de 5ª generación parte de un cultivo inicial de suelo de un matorral de Santiago de Anaya en el Estado de Hidalgo colectado en el año 2000 y cultivos sucesivos con *Lolium multiflorum* (López, 2007); la otra muestra consistió de suelo de un matorral de la localidad González-González (Gzl-Gzl) con una primera masificación con *Lolium multiflorum*.

5.2.1.- Inóculo multiespecífico Para generar este inóculo, se establecieron macetas de 2 Kg con sustrato esterilizado y humedecido a capacidad de campo, así se constituyó una unidad experimental (UE) sembrando semillas de maíz (*Zea mays*) y otra con albahaca (*Ocimum basilicum*) previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5% durante 5 minutos.

Cuando las plantas presentaron alturas de 5 y 10 cm en albahaca y maíz respectivamente, se realizó el aislamiento de las esporas de HMA de las muestras ROS y Gzl-Gzl, 600 esporas fueron seleccionadas para cada unidad experimental. Estas esporas consistieron en un 85% con especies de *Glomus* y 15% de especies de *Gigaspora* y *Scutellospora* las cuales fueron inoculadas con la ayuda de una pipeta Pasteur lo más cercano al sistema radical en las plantas de maíz y albahaca a una profundidad de 10 cm, dando una concentración inicial de 30 esporas por cada 100 g de muestra en cada UE (figura 8). Las macetas se desarrollaron en el invernadero durante 3 meses, al término de este periodo se tomó una muestra de raíz para evaluar la colonización micorrízica arbuscular mediante el método de tinción con azul tripano (Phillips y Hayman 1970) si había hongos micorrízicos arbusculares en el sistema radical las plantas se sometieron a 15 días de sequía para estimular la esporulación de los hongos; al finalizar este periodo de marchitamiento se tomó una muestra de 100g de sustrato para realizar la extracción y recuento de esporas de HMA (Gerdemann y Nicolson, 1963). Se colectó el inóculo generado y se almacenó a 4°C en una bolsa de plástico para posteriormente evaluar su efectividad e infectividad en *Prosopis laevigata*.

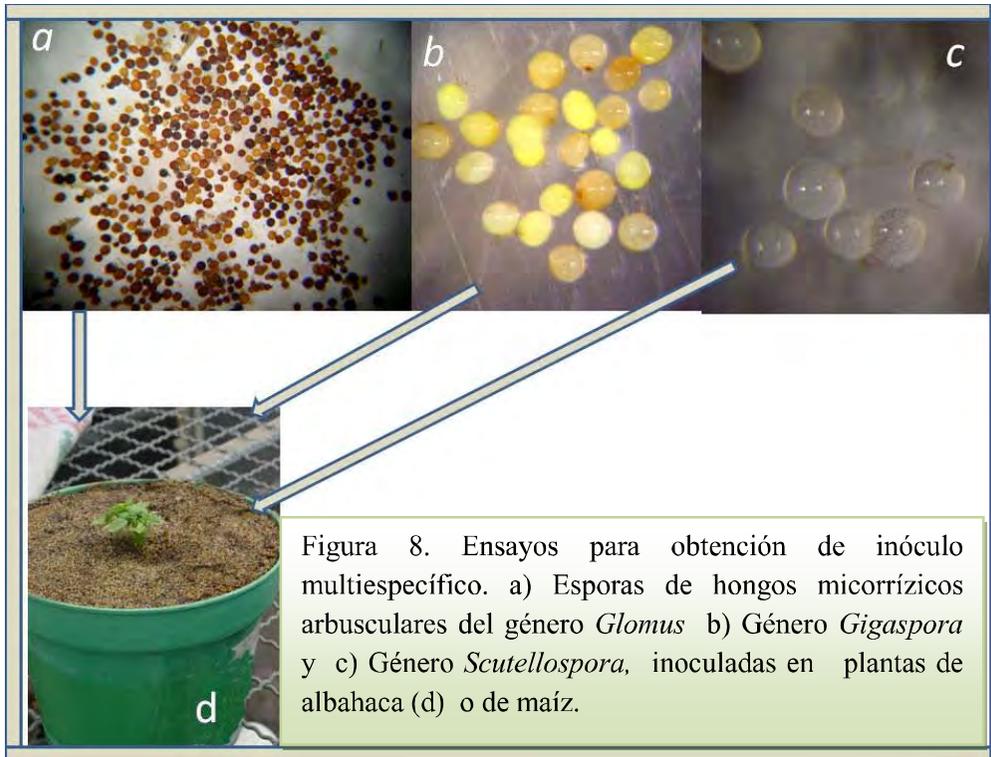


Figura 8. Ensayos para obtención de inóculo multiespecífico. a) Esporas de hongos micorrízicos arbusculares del género *Glomus* b) Género *Gigaspora* y c) Género *Scutellospora*, inoculadas en plantas de albahaca (d) o de maíz.

5.2.2.-Inóculo monoespecífico. Para generar este inóculo se establecieron unidades experimentales que dependieron del número de esporas de un solo morfotipo presente en los sustratos.

De manera general las esporas fueron extraídas mediante la técnica de Gerdemann y Nicolson (1963), seguida de una centrifugación con una solución de sacarosa al 50%; las esporas con un determinado morfotipo –color, forma, tamaño y tipo de hifa- se agruparon y separaron con ayuda de una pipeta Pasteur, se colocaron en una caja Petri pequeña (1 ½ pulgada de diámetro) con agua destilada, seguidamente se realizó una segunda selección eliminando aquellas que presentaron algún signo de deterioro, contenido de lípidos no uniforme o signos de parasitismo así como de cualquier resto extraño (micelio o restos de raíz). Se cambió el agua destilada para eliminar restos de micelio que pudieran estar suspendidos, después se almacenaron en la caja de Petri con agua destilada durante 24 h a 4°C, al día siguiente se realizó nuevamente una inspección y si era necesario se eliminó cualquier espora con cambios en su color, forma o contenido; así las esporas se encontraron listas para su inoculación en las unidades experimentales.

Se utilizaron dos especies vegetales propagadoras: pasto (*Lolium perenne*) y maíz (*Zea mays*) que fueron sembradas por separado en macetas de 2 kg que contenía sustrato esterilizado y humedecido a capacidad de campo; las plántulas se inocularon con las

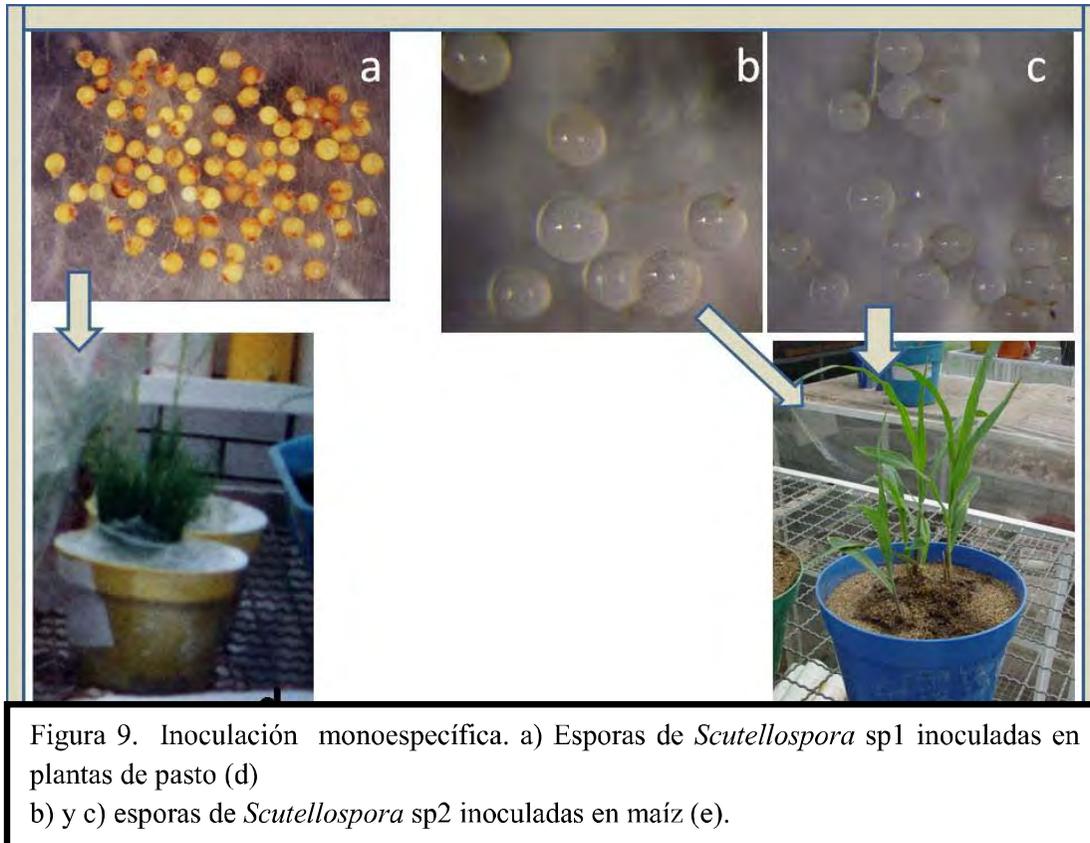
esporas de un solo morfotipo de hongo micorrízico arbuscular a los 15 días de desarrollo (figura 9), las unidades experimentales quedaron de la siguiente manera:

El primer ensayo consistió de tres unidades experimentales con plantas de pasto, cada maceta se inoculó con 40 esporas de *Scutellospora* sp1, a una profundidad de 10 cm y lo más cercano a la raíz.

El segundo ensayo consistió de 3 unidades experimentales con plantas de maíz, cada maceta se inoculó con 40 esporas de *Scutellospora* sp2, colocándolas cerca de la raíz a una profundidad de 10 cm.

El tercer ensayo consistió de una unidad experimental con plantas de pasto, se inoculó la maceta con 70 esporas de *Glomus* sp1 (esporas cubiertas de micelio –peridio-).

Los ensayos se establecieron durante tres meses en el invernadero de la FES-Zaragoza, se regaron cada tercer día con agua destilada, transcurrido este tiempo se tomó una muestra de raíz para evaluar la colonización micorrízica arbuscular, posteriormente se sometieron a 15 días de marchitamiento para favorecer la esporulación y entonces se evaluó el contenido de esporas en 100 g de inóculo. Las unidades experimentales positivas se almacenaron en bolsas de plástico y en refrigeración a 4° C para ser evaluados en *Prosopis laevigata*.



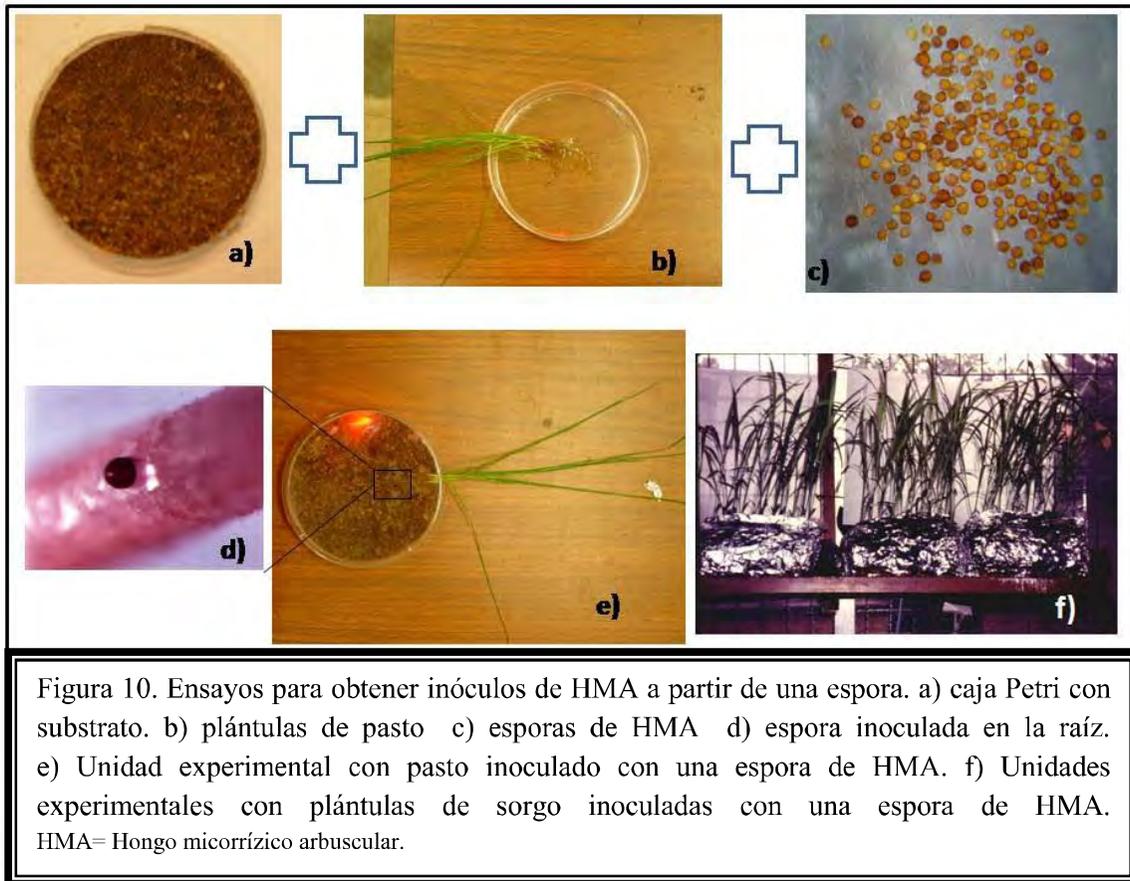
5.2.3.-Inóculo monospórico. En este ensayo se requirió de cajas Petri para establecer las unidades experimentales, a las cuales se les realizó una perforación en un costado para que la parte aérea de la planta quedara afuera. Enseguida cada una se llenó con sustrato esterilizado y se humedeció a capacidad de campo con agua destilada (figura 10a); este sistema es denominado microcosmos.

En lo que se realizaba la preparación del microcosmos, se colocaron cajas Petri con papel filtro Whatman como sustrato y 20 semillas de pasto (*Lolium perenne*) o sorgo (*Sorghum vulgare*) para germinarlas y obtener plántulas con un sistema radical de aproximadamente 5cm de longitud (figura 10b).

Cuando se obtuvieron las cajas Petri con su sustrato así como las plántulas de pasto y sorgo listas, se realizó el aislamiento de esporas de HMA, se seleccionaron cuidadosamente para obtenerlas libres de residuos de materia orgánica y con las mejores características morfológicas al observarlas en el estereoscopio de disección, es decir que su color y tamaño fuera uniforme y que no existieran signos de parasitismo o de deterioro en su contenido. Posteriormente se coloraron en cajas Petri con agua destilada y se almacenaron a 4°C durante 24 h para romper algún estado de latencia que pudiera existir (figura 10c).

Contando con estos tres elementos se realizó la técnica de inoculación monospórica de la siguiente manera: con la ayuda de un microscopio de disección se tomó una caja Petri a la cual se le colocó una plántula de pasto o de sorgo donde la raíz quedó en el sustrato y la parte aérea afuera de la caja, posteriormente se le adicionó una espora de hongo micorrízico arbuscular sobre el sistema radical con la ayuda de una pipeta Pasteur, con el objetivo de que la raíz y la espora del hongo estuvieran en estrecho contacto y favorecer el establecimiento de la colonización (figuras 10d-10f).

Cada unidad experimental se cubrió con papel aluminio para estimular el crecimiento radical y el establecimiento de la simbiosis micorrízica arbuscular. Cada unidad experimental fue pesada para considerarla al momento de aplicar el riego con agua destilada.



Todas las unidades experimentales elaboradas se establecieron durante un periodo de tres meses en el invernadero de la FES-Zaragoza. El diseño experimental quedó de la siguiente manera (Cuadro 3).

Cuadro 3. Ensayos para la generación de un inóculo monospórico.

UE	HMA inoculado	Planta trampa
50	<i>Glomus</i> sp2	<i>Sorghum vulgare</i>
50	<i>Glomus</i> sp3	<i>Lolium perenne</i>
50	<i>Glomus</i> sp4	<i>Lolium perenne</i>
50	<i>Scutellospora</i> sp1	<i>Lolium perenne</i>

UE= número de unidades experimentales.
HMA= Hongo micorrízico arbuscular.

5.3.- Evaluación de los inóculos de HMA en *Prosopis laevigata*

Un diagrama de flujo para evaluar los inóculos de hongos micorrízicos arbusculares en la planta de mezquite se presenta en la figura 11.

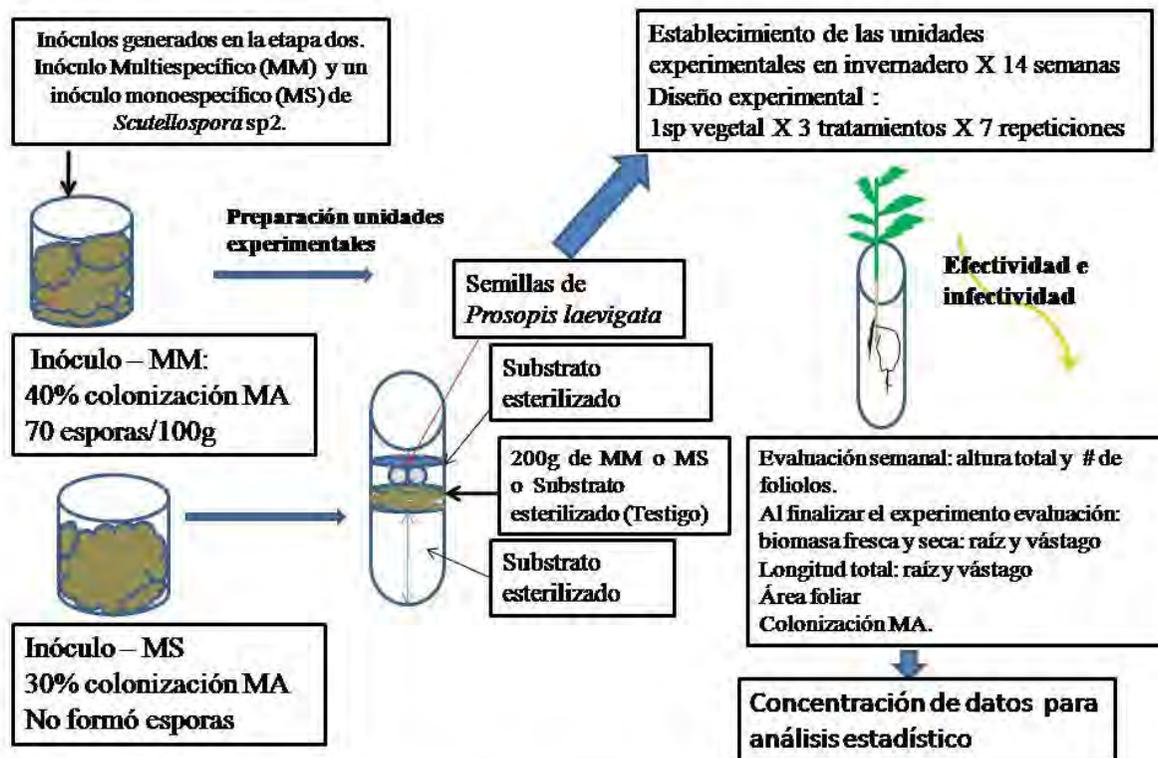


Figura 11. Diagrama de flujo: Evaluación de dos inóculos de hongos micorrízicos arbusculares en *Prosopis laevigata*

MM= inóculo multiespecífico MS= inóculo monoespecífico
MA= micorriza arbuscular HMA= hongos micorrízicos arbusculares

La prueba consistió en evaluar la efectividad e infectividad de dos inóculos obtenidos en la fase 2 utilizando *Prosopis laevigata* como planta sensora. El primer inóculo estuvo constituido por varias especies de hongos micorrízicos arbusculares; denominado aquí como inóculo multiespecífico (MM) y el segundo un inóculo monoespecífico constituido por *Scutellospora* sp2 (MS).

Se utilizaron como macetas tubos comerciales de cloruro de polivinilo (PVC) de 25 cm de longitud y 3 pulgadas de diámetro. Un extremo del tubo fue cubierto con cinta adhesiva con

el objetivo de retener el sustrato, posteriormente se colocó en el interior una bolsa de plástico. El tubo se llenó con sustrato esterilizado cubriendo una longitud de 10 cm, luego se agregaron 200 g de inóculo multiespecífico (MM) o de inóculo mono-específico (MS) o de suelo esterilizado (sin micorriza) a cada unidad experimental, se prepararon un total de siete unidades experimentales por tratamiento; enseguida se relleno el tubo con más sustrato esterilizado hasta alcanzar los 20 cm de longitud, se adicionaron 100 ml de agua destilada a cada unidad experimental necesaria para hidratar el suelo a capacidad de campo; se dejó reposar durante 1 hora y se sembraron dos semillas de mezquite en cada unidad a una profundidad de 3 cm.

El diseño experimental es un factorial de 1x3x7 (1 especie vegetal X 3 tratamientos X 7 repeticiones), dando un total de 21 unidades experimentales. Adicionalmente se prepararon dos unidades experimentales más por tratamiento con el fin de evaluar la colonización micorrizica arbuscular a los 15 y 30 días de haber inoculado a las planta, con el fin de conocer en qué momento el mezquite es susceptible de micorrizarse con estos dos inóculos.

Cuando se obtuvo el 100% de emergencia de las plántulas de *Prosopis laevigata* se realizó un clareo con el objetivo de contar con una sola planta por unidad experimental. Se dejaron crecer durante 14 semanas bajo condiciones de invernadero. Semanalmente se midió la altura total y el número de foliolos en cada planta por tratamiento. Al finalizar el periodo establecido, se levantó el experimento y en cada unidad experimental se determinó la biomasa fresca y seca tanto de la raíz como del vástago, el área foliar, la tasa de crecimiento, longitud de la raíz y del vástago, y el porcentaje de colonización micorrizica arbuscular total.

Los datos fueron concentrados en una tabla de Microsoft Excel ® y transferidos hacia el programa estadístico STATGRAPHICS ® CENTURION XV Versión 15.2.06 para ser evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey (DSH) para determinar si existían diferencias significativas entre los tratamientos de micorrización aplicados a *Prosopis laevigata* (Anexo 9.2).

6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1.- Hongos micorrízicos arbusculares (HMA) asociados a la rizósfera de 16 especies vegetales silvestres colectadas en un matorral subinerme.

Las 16 especies vegetales silvestres colectadas en el matorral subinerme del municipio de Julián de Villagrán; son componentes comunes en la región semidesértica del Valle del Mezquital, Hidalgo. Dentro de la colecta se presentaron plantas de importancia ecológica como las cactáceas que están sufriendo pérdida de su hábitat y algunas de ellas se encuentran amenazadas, gramíneas que forman suelo, leguminosas que enriquecen el suelo y muchas asteráceas (compuestas) con usos locales. La revisión del sistema radical y del suelo indicó la presencia de los hongos micorrízicos arbusculares en la rizósfera de cada especie vegetal como lo muestra el cuadro 4; en él se presenta un listado de las especies vegetales evaluadas donde se registró el porcentaje de colonización micorrízica arbuscular y la densidad de esporas de HMA presentes en cada 100 g de suelo seco. También se enlistan los géneros y especies de HMA asociados a la rizósfera de cada planta.

En primer lugar, se puede observar en el cuadro 4 la densidad de esporas encontradas en la rizósfera de las especies vegetales; variable que alcanzó valores entre 18 (*Mammillaria elongata*) y 95 esporas/100 g suelo seco en *Echinocactus platyacanthus*; la única especie vegetal en la que no se encontraron esporas viables en su rizósfera fue *Agave lechuguilla*, quizás debido al estado fenológico de la planta o a que los HMA que colonizan su raíz son especies que requieren un periodo prolongado (varios ciclos de propagación) para expresarse a través de la formación de esporas (Stutz y Morton 1996). La densidad de esporas fue baja para algunas especies vegetales si los comparamos con los reportes realizados por Montaña (2000) quien registró hasta 4411 esporas en 100 gramos de suelo para *Prosopis laevigata*. Sin embargo, en otros trabajos como el de García (2007) quien reportó valores más cercanos a los encontrados para el caso de *Bouteloua curtipendula* (36-150 esporas/100g de suelo seco); o el realizado por García-Sánchez *et al.* (2008) donde los datos muestran un comportamiento similar, ello sugiere que la densidad de esporas de éstos hongos en la rizósfera de las especies vegetales colectadas es una variable que se expresa en función de los HMA asociados. Bajo condiciones de campo Camargo-Ricalde y Esperón-Rodríguez (2009) comentan que en ambientes semiáridos la densidad de esporas está en función de la estacionalidad y heterogeneidad espacial, así como de las diferentes estrategias de supervivencia de las especies fúngicas al habitar bajo estas condiciones ambientales. También mencionan que los exudados radicales y otros microorganismos rizosféricos pueden influir en las densidades de esporas.



Universidad Nacional
Autónoma de México



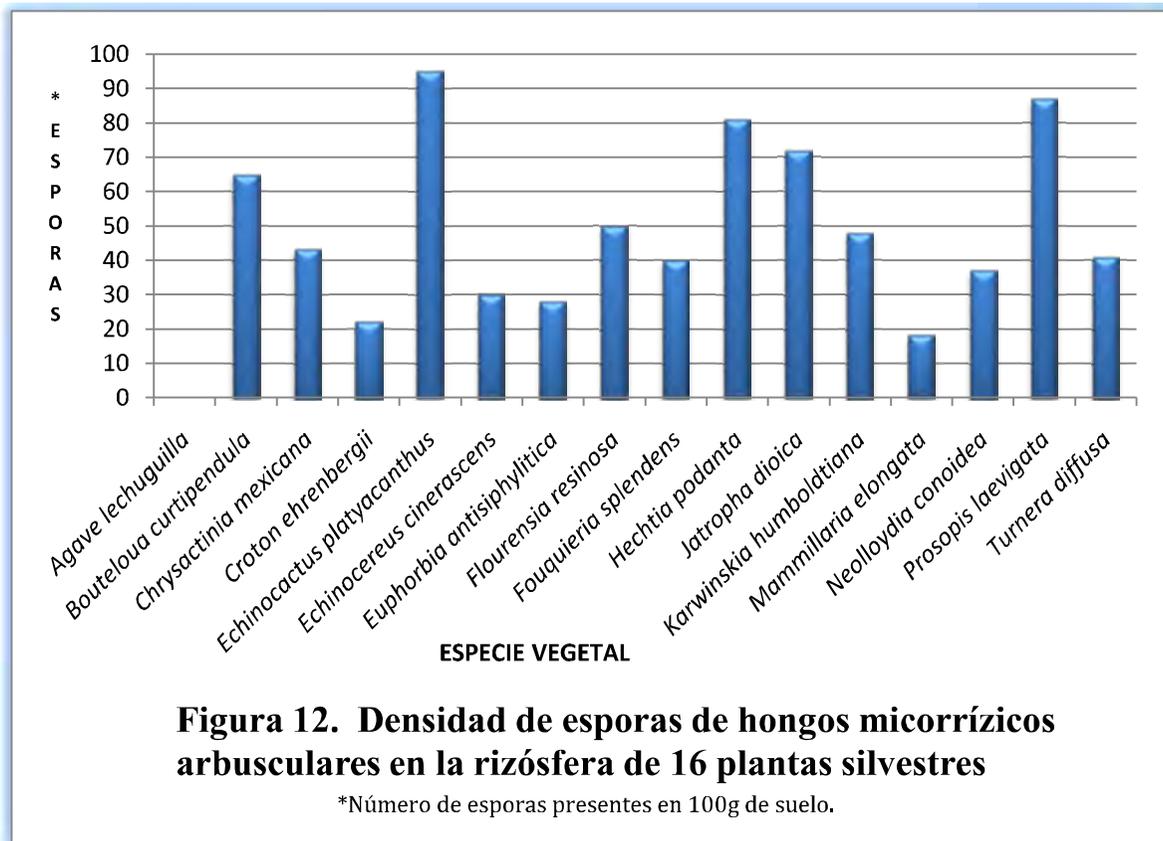
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

En la figura 12 se puede apreciar gráficamente el comportamiento de la densidad de esporas de los HMA en la rizósfera de cada planta colectada en el matorral subierme.

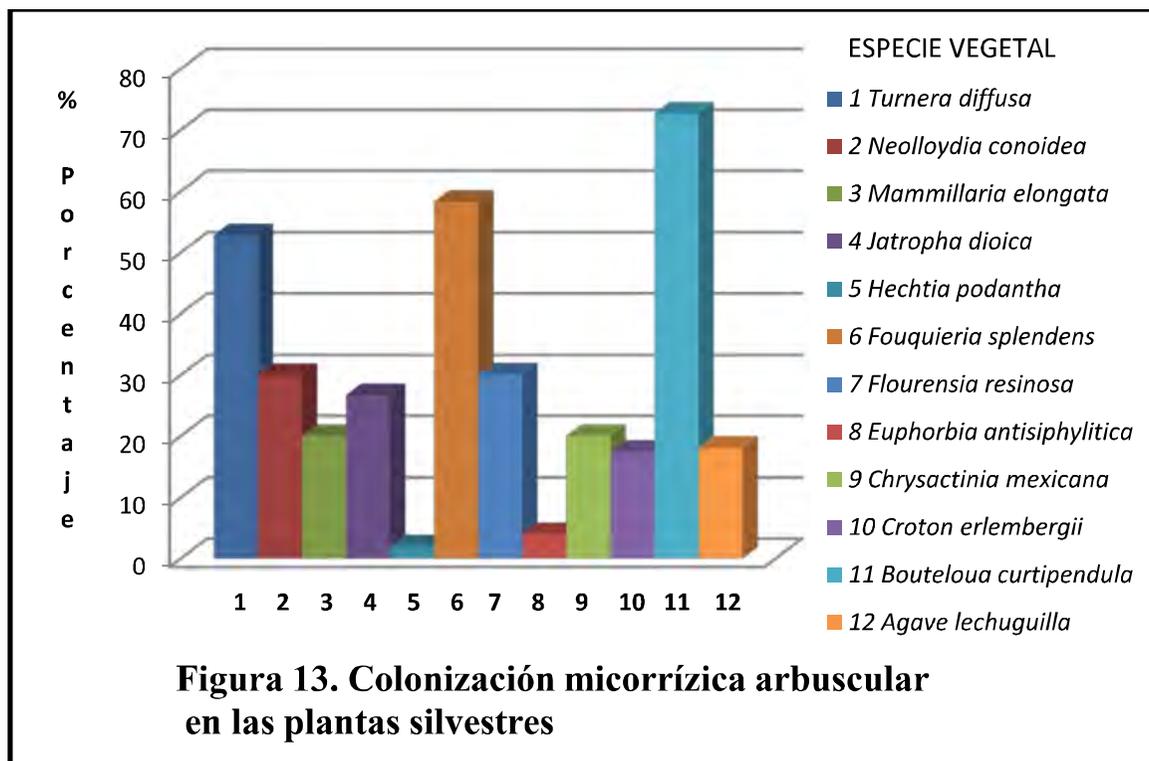


La importancia de los HMA en las comunidades vegetales no sólo incluye determinar la diversidad y abundancia de sus esporas en la rizósfera de las plantas bajo estudio, también requiere la cuantificación y detección del micelio interno mediante las estructuras de éstos hongos en el sistema radical como hifas, vesículas y arbusculos, mediante su tinción con azul de tripano. Aunque este método no indica cuál o cuántas especies de hongos están colonizando, es un método práctico de monitorear la dependencia micorrízica arbuscular de la planta (Hernández-Cuevas *et al.* 2008).

El cuadro 4 muestra los valores de los porcentajes de la colonización micorrízica arbuscular encontrados en las especies vegetales y gráficamente en la figura 13. Los datos fueron variables y dependieron de las características intrínsecas de cada planta. Los valores oscilaron entre el 2% (*Hechtia podantha*) y el 72% (*Bouteloua curtipendula*). Estos valores indican que algunas especies vegetales presentan quizás menor dependencia micorrízica. La extensión de los hongos micorrízicos arbusculares en el sistema radical de las plantas pudo estar influenciado por las condiciones de cultivo en el invernadero, sometidas a menor déficit hídrico y sin temperaturas extremas. Se tiene el conocimiento que en los ecosistemas

áridos y semiáridos las plantas comúnmente se asocian a estos hongos como una estrategia ecológica para tolerar las condiciones estresantes que imperan en estos sitios (Stutz y Morton, 1996; Stutz *et al.* 2000). Y el comportamiento variable en la colonización micorrízica arbuscular es característico en especies vegetales silvestres que se desarrollan en este tipo de ecosistemas como lo comentan González-Chávez *et al.* (2008), quienes consideran que las características fenológicas de la planta, la disponibilidad de fósforo y agua, así como los factores climáticos como estacionalidades muy marcadas (sequía y lluvia) pueden afectar la proporción de la colonización micorrízica arbuscular.

La baja colonización en algunas plantas como *Hechtia podantha* puede estar relacionada con la densidad de esporas encontradas en su rizósfera y no a una menor dependencia a la micorriza arbuscular. Probablemente los HMA presentes en su sistema radical esporularon como respuesta al cambio de condiciones naturales a invernadero; por consiguiente, quizás el ciclo de vida de los hongos culminó y por esto se observó una disminución del micelio interno en la raíz del hospedero.



La presencia de esporas y/o de colonización micorrízica arbuscular registrada en las especies vegetales indicó que los hongos micorrízicos arbusculares son un componente constante en la rizósfera de las plantas colectadas que componen este matorral subinerme de la zona semidesértica del Valle del Mezquital en el Estado de Hidalgo.

Cuadro 4. Hongos micorrízicos arbusculares asociados a 16 especies vegetales de un matorral subterme.

Especie vegetal	esporas ¹	Colonización MA ²	Género	Especie
<i>Agave lechuguilla</i> Torr.	0	18.1		
<i>Bouteloua curtipendula</i> (Michx.) Torr.	65	72.7	<i>Acaulospora</i> <i>Entrophospora</i> <i>Glomus</i>	<i>Acaulospora</i> aff. <i>mellea</i> (Spain et Schenck) <i>Entrophospora infrequens</i> (Hall) Ames et Schneider <i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann) <i>Glomus globiferum</i> (Koske et Walker) <i>Glomus</i> aff. <i>caesaris</i> (Sieverd. et Oehl)** <i>Glomus claroideum</i> (Schenck et Smith) <i>Scutellospora scutata</i> (Walker et Diederichs) <i>Scutellospora</i> aff. <i>pellucida</i> (Nicolson et Schenck) Walker et Sanders **
<i>Chrysactinia mexicana</i> A.Gray	43	20	<i>Glomus</i> <i>Gigaspora</i>	<i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann) <i>Glomus caesaris</i> (Sieverd. Et Oehl)
<i>Croton ehrenbergii</i> Schl.	22	17.4	<i>Glomus</i>	<i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann)
<i>Echinocactus platyacanthus</i> Link & Otto	95	s/d	<i>Glomus</i> <i>Scutellospora</i> <i>Gigaspora</i>	<i>Glomus caesaris</i> (Sieverd. et Oehl) <i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann) <i>Glomus microaggregatum</i> (Koske, Gemma & P.D. Olexia) <i>Scutellospora scutata</i> (Walker et Diederichs), <i>Scutellospora gregaria</i> (Schenck et Nicol.) Walker et Sanders

Cuadro 4. Continuación

Especie vegetal	Esporas ¹	Colonización MA ²	Género	Especie
<i>Echinocereus cinerascens</i> (De Candolle) Rümpler	30	s/d	<i>Glomus</i>	<i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann)
<i>Euphorbia antisiphylitica</i> Zucc.	28	4	<i>Glomus</i>	<i>Glomus caesaris</i> (Sieverd. Et Oehl) <i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann) <i>Scutellospora gregaria</i> (Schenck et Nicolson) Walker et Sanders
<i>Flourensia resinosa</i> (Brandege) S.F. Blake	50	30.1	<i>Glomus</i>	<i>Glomus caesaris</i> (Sieverd. Et Oehl) <i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann) <i>Scutellospora scutata</i> (Walker et Diederichs) <i>Gigaspora ramisporophora</i> (Spain, Sieverd. et Schenck)
<i>Fouquieria splendens</i> Engelm.	40	58.3	<i>Acaulospora*</i> <i>Gigaspora</i> <i>Glomus</i>	<i>Gigaspora ramisporophora</i> (Spain, Sieverd. et Schenck) <i>Glomus caesaris</i> (Sieverd. Et Oehl) <i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann) <i>Scutellospora gregaria</i> (Schenck et Nicolson) Walker et Sanders
<i>Hechtia podantha</i> Mez.	81	2	<i>Glomus</i>	<i>Glomus caesaris</i> (Sieverd. et Oehl) <i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann)
<i>Jatropha dioica</i> Cerv.	72	26.7	<i>Glomus</i>	<i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann)
<i>Karwinskia humboldtiana</i> (Roem. & Schult.) Zucc.	48	s/d	<i>Glomus</i> <i>Gigaspora</i>	<i>Glomus claroideum</i> (Schenck et Smith) <i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann) <i>Gigaspora ramisporophora</i> (Spain, Sieverd. Et Schenck)

Cuadro 4.- Continuación

Especie vegetal	Esporas ¹	Colonización MA ²	Género	Especie
<i>Mammillaria elongata</i> De Candolle	18	20	<i>Glomus</i>	<i>Glomus caesaris</i> (Sieverd. Et Oehl) <i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann)
<i>Neolloydia conoidea</i> (D.C.) Britton & Rose	37	30	<i>Glomus</i> <i>Acaulospora</i>	<i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann)
<i>Prosopis laevigata</i> (Humb. & Bonpl. Ex Willd) M.C. Johnst.	87	s/d	<i>Ambispora</i> <i>Glomus</i>	<i>Ambispora appendicula</i> (Spain, Sieverd. et Schenck) Walker, Vetsberg et Schuessler <i>Glomus caesaris</i> (Sieverd. Et Oehl) <i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann) <i>Glomus sinuosum</i> (R.T. Almeida & N.C. Schenck) <i>Scutellospora scutata</i> (Walker et Diererichs)
<i>Turnera diffusa</i> Willd. Ex Schult.	41	52.8	<i>Glomus</i> <i>Scutellospora</i>	<i>Glomus geosporum</i> (Nicolson et Gerdemann) <i>Scutellospora nodosa</i> (Blaszkowski) <i>Scutellospora scutata</i> (Walker et Diererichs)

1-Número de esporas encontradas en 100 gramos de suelo seco.

2. Porcentaje de colonización micorrizica arbuscular total en la raíz.

*Acaulospora sp1: Corresponde a una especie no descrita, esporas como éstas se han observado en suelos tepetatosos de Tlaxcala y en Suelos de Agave en Oaxaca (Hernández-Cuevas 2009 Comunicación personal).

**Las especies que se indican como aff es porque el material revisado no concuerda en uno o dos detalles con respecto a la descripción de la especie con la que se indica afin, (Hernández-Cuevas 2009 Comunicación personal).

S/d= sin determinar.

En el cuadro 4 y en la figura 14 se observa que el género de HMA que se presentó en todas las plantas evaluadas a excepción de *Agave lechuguilla* fue *Glomus*, indicando que es un género de fácil adaptación a diferentes condiciones rizosféricas, por lo que posiblemente es un componente constante asociado a la vegetación de este matorral subinermes; observaciones similares las reportan González-Chávez *et al.* (2008) quienes comentan que *Glomus* es el principal género que con mayor frecuencia se observa en zonas áridas y en dunas.

El género *Scutellospora* se presentó en el 43% de las especies vegetales entre las que se encuentran *Echinocactus platyacanthus*, *Bouteloua curtipendula* y *Prosopis laevigata*.

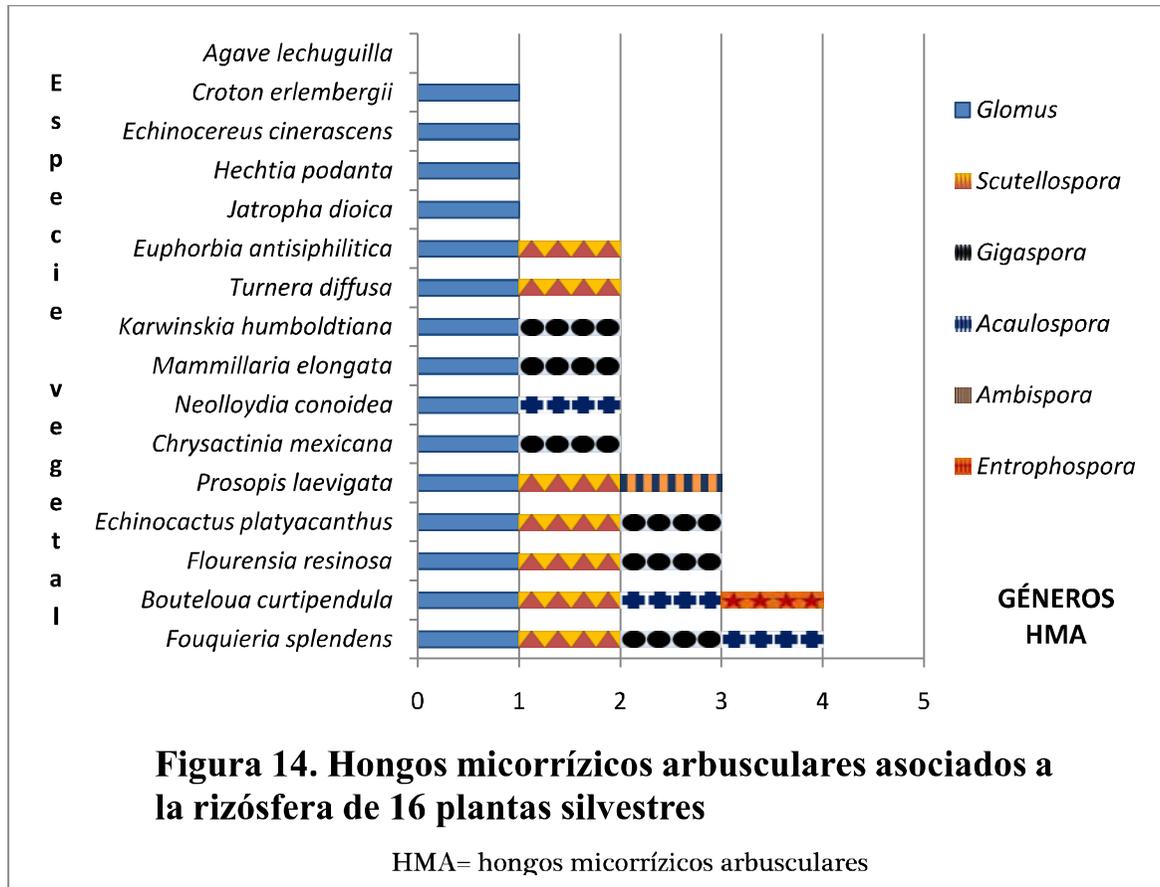
El género *Gigaspora* se presentó en *Chrysactinia mexicana*, *Echinocactus platyacanthus*, *Flourensia resinosa*, *Karwinskia humboldtiana*, *Fouquieria splendens* y *Mammillaria elongata* que corresponden al 37% de las especies vegetales evaluadas (figura 14).

En algunas de las comunidades vegetales del Valle del Mezquital, se ha observado que el género *Scutellospora* y *Gigaspora* se presentan con mayor frecuencia cuando los matorrales xerófilos presentan un buen estado de diversidad florística y conservación, disminuyendo su presencia y favoreciendo a otros géneros como *Glomus* cuando se han creado perturbaciones en el ecosistema (García-Sánchez *et al.* 2008).

El género *Acaulospora* estuvo asociado a *Bouteloua curtipendula*, *Fouquieria splendens* y *Neolloydia conoidea* que corresponde al 18.75% de las especies vegetales evaluadas; mientras que el género *Entrophospora* sólo se encontró asociado a *Bouteloua curtipendula*; en esta especie vegetal ambos géneros de HMA son reportados por García (2007) y por último se encontró el género *Ambispora* asociado sólo a *Prosopis laevigata*.

Ninguna de las plantas presentó en su rizósfera a los seis géneros de HMA determinados en este trabajo; sólo dos plantas (12.5%) presentaron un máximo de cuatro géneros asociados a su rizósfera (figura 14), donde *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora* son comunes para ambas especies vegetales; el 18.75% de las plantas presentó a tres géneros de HMA en donde *Glomus* y *Scutellospora* son géneros comunes; mientras que el 37.5% y el 25% de las especies vegetales presentaron dos y un género asociado a su rizósfera respectivamente, siendo *Glomus* el más constante. La presencia de uno o varios géneros de HMA en la rizósfera de cada una de las plantas podría estar relacionado con sus necesidades nutrimentales, el tipo de sistema radical o la distribución de las fuentes de nutrimentos en el

suelo, de modo que diferentes especies de HMA colonizando un mismo sistema radical pueden ser benéficos para la planta porque podrían ser funcionalmente complementarios y adquirir por ejemplo fósforo a diferentes distancias de la raíz (Koide 2000).



De acuerdo a Varela y Trejo (2001) y Guadarrama-Chávez *et al.* (2007) en México se tiene el registro de alrededor del 25% de las especies de HMA identificadas hasta la fecha y a nivel de género se han reportado siete de los trece establecidos que forman micorriza arbuscular y corresponden al 58%. Si tomamos como referencia estos datos, el matorral xerófilo de donde fueron colectadas las plantas presentó seis géneros que corresponde a un 46.15%. La diversidad de géneros registrada en este trabajo podemos considerarla en un "status" alto y está correlacionada con el estado de conservación y diversidad florística que presenta el matorral subinerme de la localidad de Julián de Villagrán en Hidalgo (García-Sánchez *et al.* 2008) puesto que en zonas aledañas donde se ha perdido la diversidad vegetal a consecuencia del cambio de uso de suelo para fines agrícola y sometidas a riego con aguas residuales, la diversidad a nivel de género de estos hongos se ha reducido a dos: *Glomus* y *Gigaspora*, con dominancia del primero (Ortega-Larrocea *et al.* 2007). Este

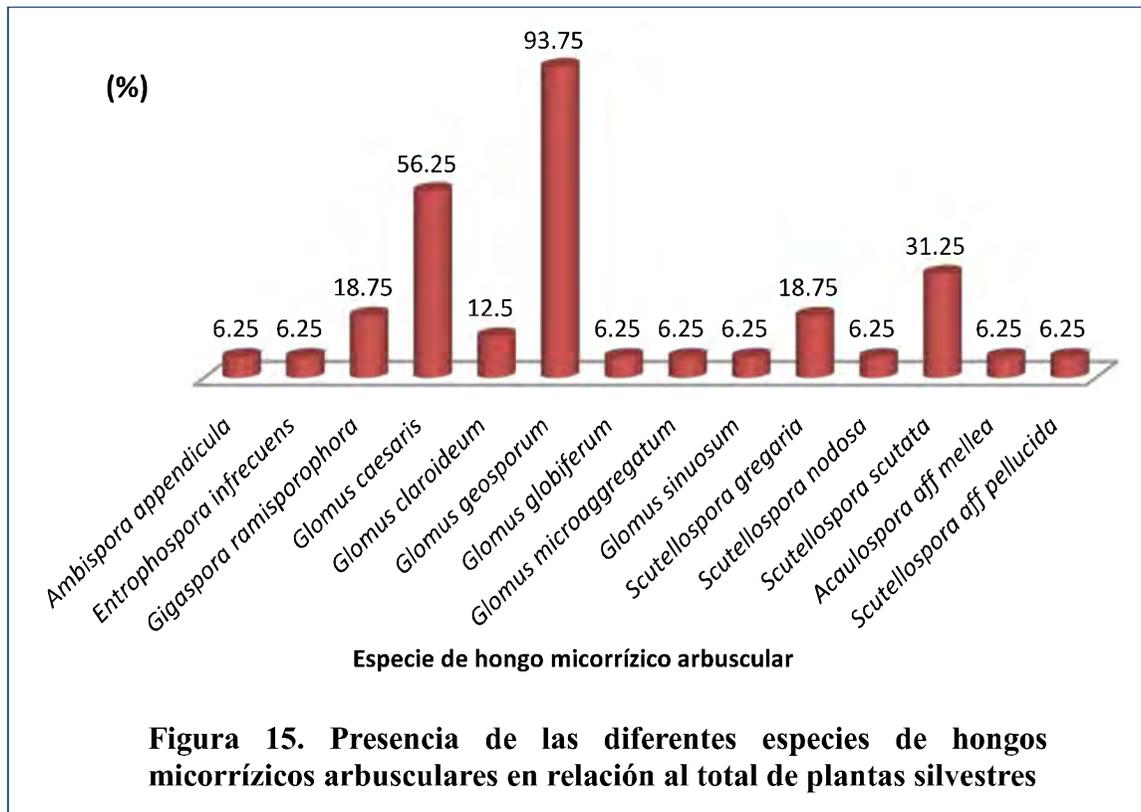
comportamiento de disminución de la diversidad genérica de HMA puede deberse a factores de perturbación (eliminación de la vegetación + aguas residuales) aunado con las características semidesérticas estén ejerciendo presión sobre las poblaciones fúngicas y sólo algunas especies del género *Glomus* sean las más tolerantes a nuevas condiciones edafoclimáticas. Un caso contrario lo reportan Guadarrama-Chávez *et al.* (2007) en el estado de Oaxaca donde evaluaron la diversidad de HMA en una selva baja caducifolia, matorral secundario y en terrenos de cultivo donde la vegetación ha sido eliminada por la práctica de "roza-tumba-quema" y observaron valores similares de diversidad tanto en comunidades naturales como en las tierras de cultivo, podemos inferir que cada ecosistema presenta características específicas que pueden influir en la diversidad genérica de los HMA para lo cual sería prioritario evaluar las variables que los afectan.

En cuanto a los géneros de HMA encontrados en este trabajo hay coincidencias con los datos reportados por Morales (2005) quien encuentra tres géneros: *Glomus*, *Gigaspora* y *Scutellospora* y García-Sánchez *et al.* (2008) quienes además encuentran al género *Acaulospora*. La investigación realizada en este trabajo aporta dos nuevos géneros *Ambispora* y *Entrophospora*. Asimismo Morales (2005) y García-Sánchez *et al.* (2008) reportan dos géneros de hongos micorrízicos arbusculares asociados a *Agave lechuguilla*: *Glomus* y *Scutellospora*, los cuales no fueron encontrados en este estudio. Esto indica que la presencia de los HMA en forma de esporas puede variar dependiendo del momento en que se realice la colecta, variando en función del estado fenológico de la planta a la cual están asociados y de los mismos hongos que colonizan su raíz; por lo que sería recomendable dar un seguimiento a las especies vegetales durante todo un año en condiciones de campo y/o a nivel de invernadero para ver el comportamiento de los HMA asociados a su rizósfera.

Se determinaron 14 especies de hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizósfera de las 16 plantas silvestres del matorral subinerme de Julián de Villagrán (ver figura 15). Seis pertenecen al género *Glomus*; cuatro son del género *Scutellospora*, mientras que para los géneros *Ambispora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* y *Acaulospora* se determinó una especie en cada uno de ellos. *Glomus geosporum* fue el HMA con mayor frecuencia encontrado en la rizósfera de 15 plantas (93.75%) y sólo en *Agave lechuguilla* no se localizó. La información publicada sobre su presencia en diferentes ecosistemas indica que es una especie con distribución mundial (Blaszkowski, 2009). *Glomus caesaris* fue el segundo HMA encontrado con mayor frecuencia en la rizósfera de 9 especies vegetales (56.25%), resultó ser el primer reporte para México (Hernández-cuevas, com. Personal) y

junto con *Glomus claroideum*, *G. globiferum*, *Gigaspora ramisporophora* y *Scutellospora nodosa* son nuevos reportes para la región del valle del Mezquital, Hidalgo.

Scutellospora scutata estuvo presente en el 31.25% de las plantas evaluadas (cinco especies vegetales), el resto de las especies de HMA estuvieron asociadas en su mayoría a sólo una especie vegetal (figura 15).



6.2.- HMA presentes en dos muestras de suelos que se han propagado en el invernadero de la FES-Zaragoza con *Lolium multiflorum*

La revisión de dos muestras de suelo utilizadas para propagar a los hongos micorrízicos arbusculares en el invernadero de la FES-Zaragoza indicó la presencia de esporas de reciente formación. En la muestra "ROS" que fue colectada de un matorral en la localidad de Santiago de Anaya del Estado de Hidalgo se registraron los géneros *Acaulospora* y *Glomus* (cuadro 5) que representan un 15.38% de los 13 establecidos en la clasificación de los HMA de acuerdo a Blaszkowski (2009) referirse al cuadro 1 para más información. Montaña (2003) y López (2007) también reportan estos géneros y encuentran además *Gigaspora* para esta muestra de suelo. La muestra "Gzl-Gzl" fue más diversa a nivel genérico ya que se registraron cinco, los cuales corresponden al 38.5 % de los géneros.

Se determinaron seis especies de HMA en la muestra "ROS" todas ellas pertenecen al género *Glomus* mientras que en "Gzl-Gzl" se determinaron siete las cuales están distribuidas de forma equitativa entre los cinco géneros encontrados (cuadro 5). Se observó que la propagación de los HMA mediante *Lolium multiflorum* como planta trampa durante varios ciclos generó en la muestra "ROS" pérdida de diversidad genérica ocasionando que las especies del género *Glomus* se adapten rápidamente a las nuevas condiciones de cultivo (un solo hospedero) y persistan por más tiempo que aquellas del género *Gigaspora* o *Acaulospora* como fue observado por López (2007) a nivel de invernadero. Oehl *et al.* (2003) observaron en condiciones naturales un comportamiento similar. Ellos encuentran que entre mayor sea el tiempo en que un sitio esté bajo la presión de uso intensivo de monocultivo, tiende a disminuir el número de especies de HMA así como la dominancia de ciertas especies del género *Glomus*. Ante esta panorámica se puede deducir que si la muestra "Gzl-Gzl" se somete al mismo esquema de propagación durante varios ciclos con *Lolium multiflorum* tenderá a perder su diversidad a nivel de género, por lo que sería recomendable propagar la muestra utilizando varias especies vegetales para conservar la biodiversidad de ésta muestra e incluso incrementarla.

De las especies de HMA listadas en el cuadro-5, *Glomus aggregatum*, *G. etunicatum*, *G. caledonium*, *G. tortuosum* y *Acaulospora* aff. *laevis* no fueron encontradas en la rizósfera de las plantas silvestres colectadas en el matorral subinmerme de Julián de Villagrán y posiblemente son especies frecuentes en las localidades de Santiago de Anaya y González-González, donde su presencia este quizás determinada por el tipo de vegetación y algunas propiedades fisicoquímicas del suelo (García-Sánchez *et al.* 2008).

Las especies de HMA: *Acaulospora* aff. *laevis*, *Glomus aggregatum*, *Glomus etunicatum* y *Glomus tortuosum* son citadas para México en los trabajos de Varela y Trejo (2001), Hernández-Cuevas *et al.* (2003), Guadarrama-Chávez *et al.* (2007), Bárcenas *et al.* (2007), Aguilera-Gómez *et al.* (2008), García-Sánchez *et al.* (2008) y Gavito *et al.* (2008) mientras que *Glomus caledonium* resultó ser el primer reporte para México (Hernández-Cuevas Com. Personal).

En este trabajo se reportan como nuevos registros a *Acaulospora* aff. *laevis*, *Glomus caledonium* y *Glomus tortuosum* para las localidades de González-González y de Santiago de Anaya en el estado de Hidalgo, que pertenecen a la zona del Valle del Mezquital, Hidalgo.

Cuadro 5. HMA asociados a muestras de suelo provenientes de dos localidades del Valle del Mezquital, Hidalgo.

Localidad	Clave de Identificación.	Esporas/100g Suelo seco	Géneros	Especie
González González (1 ^a -masificación)	"Gzl-Gzl"	180	<i>Acaulospora</i>	<i>Acaulospora</i> aff. <i>laevis</i> (Gerdemann et Trappe)
			<i>Ambispora</i>	<i>Ambispora appendicula</i> (Spain,Sieverd. et Schenck) Walker, Vetsberg et Schuessler
			<i>Gigaspora</i>	<i>Gigaspora ramisporophora</i> (Spain,Sieverd. et Schenck)
			<i>Glomus</i> **	<i>Glomus claroideum</i> (Schenck et Smith)
				<i>Glomus etunicatum</i> (Becker et Gerdemann)
Santiago de Anaya 5a masificación	"ROS"	220	<i>Scutellospora</i>	<i>Scutellospora gregaria</i> (Schenck et Nicol.)Walker et Sanders
			<i>Acaulospora</i> *	
			<i>Glomus</i>	<i>Glomus aggregatum</i> (Schenck et Smith)
				<i>Glomus caledonium</i> (Nicol. et Gerd.)Trappe et Gerd.
				<i>Glomus claroideum</i> (Schenck et Smith)
			<i>Glomus globiferum</i> (Koske et Walker)	
			<i>Glomus microaggregatum</i> (Koske, Gemma & P.D. Olexia)	
			<i>Glomus tortuosum</i> (Schenck et Smith)	

*Se encontró un morfotipo de *Acaulospora* sp2, corresponde con una especie no descrita, de pared muy gruesa, refringente, esporas de forma irregular; también un ***Glomus* sp1 especie no descrita, pequeño 80 de tamaño, café mate, hifa recta, estratos -evanescente, laminado café, laminado muy grueso hialino, membranoso (Hernández-Cuevas 2009 Comunicación personal). HMA= hongos micorrizicos arbusculares.

A continuación se presenta una breve descripción de las 19 especies de HMA determinadas en el presente trabajo. 14 especies fueron registradas en el matorral subinerme de Julián de Villagrán (fig.16 a la fig. 29), 3 se registraron en la muestra de suelo de la localidad de Santiago de Anaya (fig. 30 a la fig.32) y dos en González-González (fig. 33 y fig. 34).

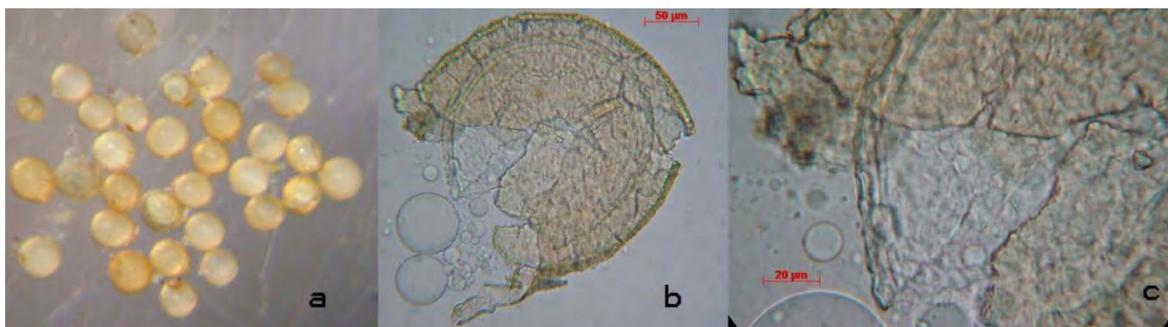


Figura 16. *Ambispora appendicula* (Spain, Sieverd. et Schenck) Walker, Vetsberg et Schuessler. Esta especie de HMA se encontró en la rizósfera de *Prosopis laevigata*, presentó un color crema pálido 0/0/20/0 a crema con tinte naranja 0/10/40/0 (fig.16a). El tamaño aproximado es de 172-189 micras. Su forma fue globosa. La pared de la espora está compuesta de 4 capas bien definidas (fig.16b), donde las dos capas intermedias presentan ornamentaciones (fig.16c). La especie ha sido citada en México por Varela y Trejo (2001), Hernández-Cuevas *et al.* (2003), Guadarrama-Chávez *et al.* (2007); López (2007)*, Álvarez-Sánchez y Sánchez-Gallén (2008).

*Citada para el Valle del Mezquital, Hidalgo como *Acaulospora appendicula*.

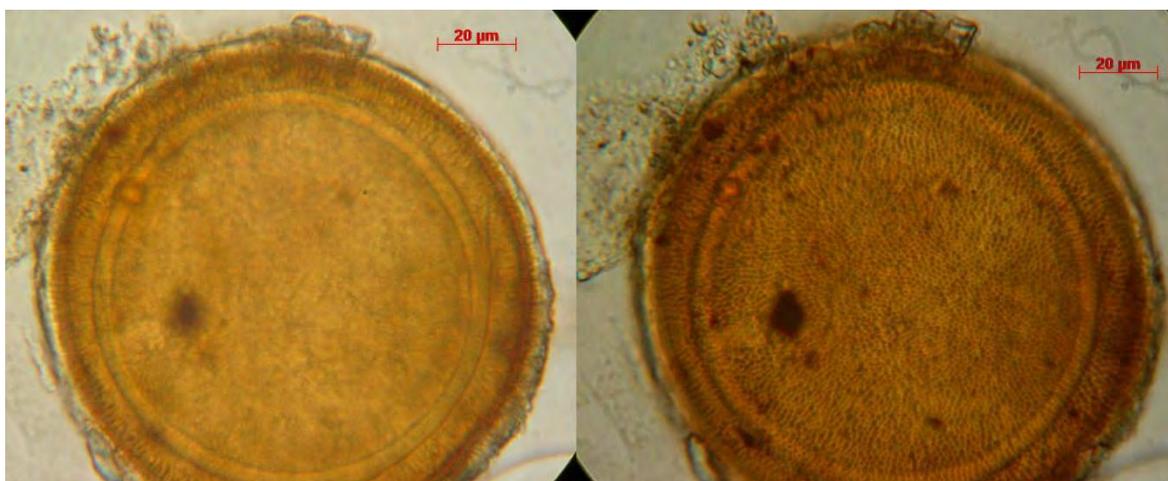


Figura 17. *Entrophospora infrequens* (Hall) Ames et Schneider. Esta especie de HMA se encontró asociada a la rizósfera de *Bouteloua curtipendula*, presentó un color café 20/40/100/0 (carta de colores del INVAM) y su tamaño fue entre 130-140 micras. La pared de la espora presenta ornamentación. Especie citada en México por Varela y Trejo (2001), García (2007)*, Álvarez-Sánchez y Sánchez-Gallén (2008).

*Citada para el Valle del Mezquital, Hidalgo.

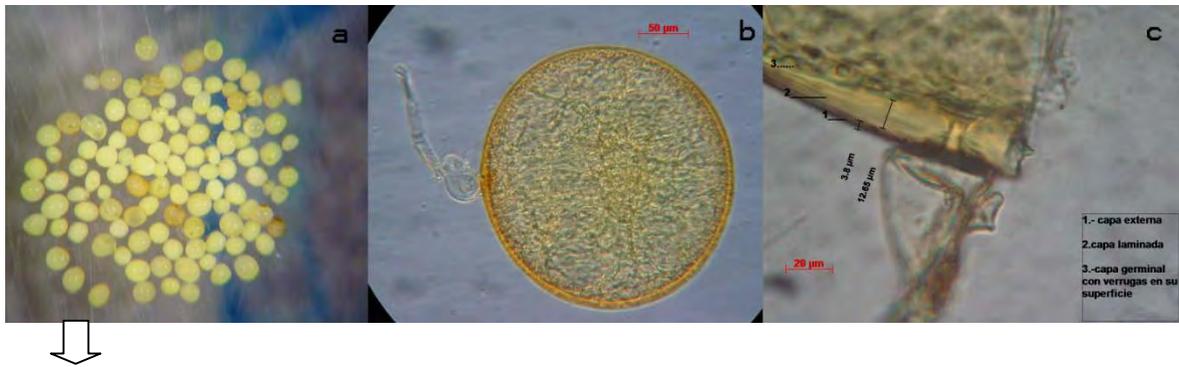


Figura 18. *Gigaspora ramisporophora* (Spain, Sieverd. et Schenck). Esta especie de HMA se encontró asociada a la rizósfera de *Flourensia resinosa*, *Fouquieria splendens* y *Karwinskia humboldtiana*. Presentó un color crema verdoso 10/0/80/0 a verde limón 20/0/80/0 de acuerdo a la carta de colores del INVAM (fig.18a), su forma fue globosa con un tamaño promedio de 260 micras (fig.18b). La pared de la espora está constituida por tres capas (fig.18c) sin ornamentaciones, sin embargo la más interna presentó verrugas. Su hifa germinal en forma de bulbo presentó un color café claro (0/10/30/10) la amplitud del bulbo fue de 43 micras en promedio.

En México se encontró citada por Álvarez-Sánchez y Sánchez-Gallén (2008) y Gavito *et al.* (2008).

En este trabajo se cita como nuevo registro para el Valle del Mezquital, Hidalgo.

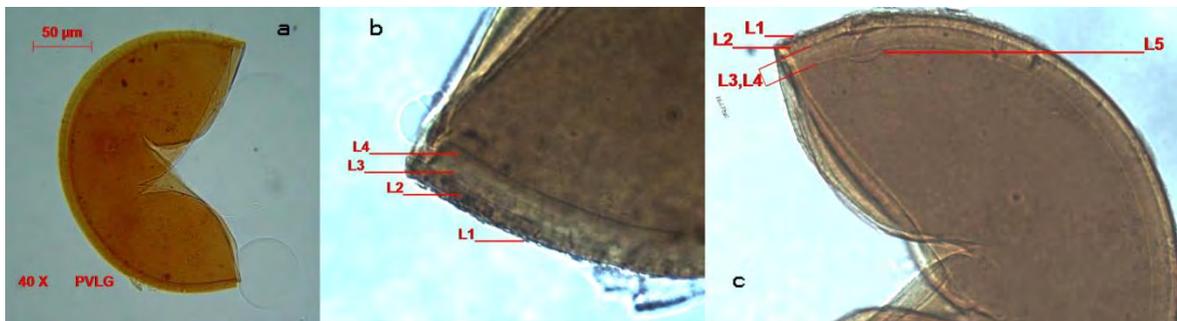


Figura 19. *Glomus caesaris* (Sieverd. Et Oehl). Esta especie de HMA se encontró asociada a la rizósfera de *Bouteloua curtipendula*, *Chrysactinia mexicana*, *Echinocactus platyacanthus*, *Euphorbia antisiphylitica*, *Flourensia resinosa*, *Fouquieria splendens*, *Hechtia podantha*, *Mammillaria elongata* y *Prosopis laevigata*. Presentó un color café rojizo 40/60/100/0 de acuerdo a la carta de colores del INVAM. Su forma fue globosa con un tamaño aproximado de 185 micras. La pared de la espora está constituida por cinco capas, no se observaron ornamentaciones. Las fotografías 19b y 19c fueron tomadas por la M. en C. Laura Hernández Cuevas, utilizando contraste interferencial Nomarski.

No se encontró reporte para México en los trabajos de Varela y Trejo (2001), Hernández-Cuevas *et al.* (2003), Montañó (2003), García (2007), Guadarrama-Chávez *et al.* (2007) y García-Sánchez *et al.* (2008).

En este trabajo se cita por primera vez para México (Hernández-Cuevas, comunicación personal) y para el Valle del Mezquital, Hidalgo.



Figura 20. *Glomus Claroideum* (Schenck et Smith). Este HMA se encontró asociado a la rizósfera de *Karwinskia humboldtiana* y *Bouteloua curtipendula*. El color de las esporas es naranja claro 0/30/80/0. Su forma es globosa de un tamaño promedio de 125 micras. La pared de la spora no presentó ornamentaciones y la hifa fue ligeramente curva (fig.20b). En México es citada por Varela y Trejo (2001), Hernández-Cuevas *et al.* (2003) y Guadarrama-Chávez *et al.* (2007).

En este trabajo se cita como nuevo registro para el Valle del Mezquital, Hidalgo.

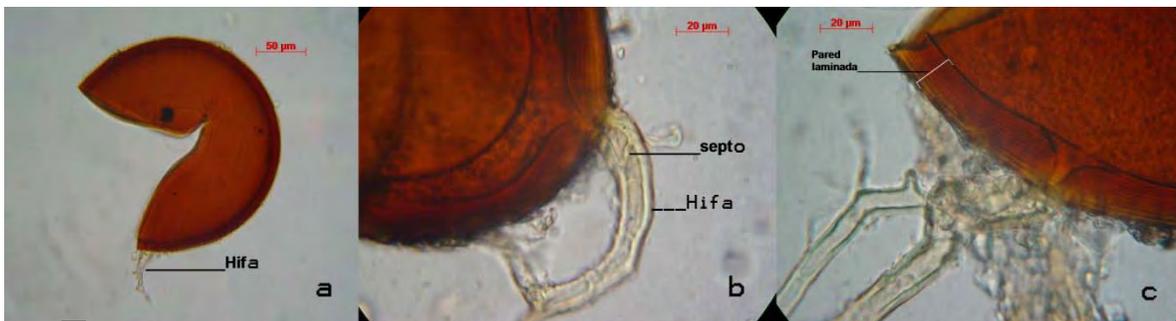


Figura 21. *Glomus geosporum* (Nicolson et Gerdemann). Esta especie de HMA se encontró asociada a todas las plantas bajo estudio en este trabajo a excepción de *Agave lechuguilla*. El color de las esporas es naranja rojizo 40/80/100/0. Su forma fue globosa con un tamaño promedio de 180 micras. La spora presentó una pared compuesta por una capa externa evanescente (fig.21b) seguida de una capa laminada (fig.21c) y una tercera capa interna. La hifa es recta o ligeramente curva con un septo. No presentó ornamentaciones en la pared.

Es citada para México por Ramírez-Gerardo *et al.* (1997), Varela y Trejo (2001), Montaña (2003)*, García (2007)*, Guadarrama-Chávez *et al.* (2007), García-Sánchez *et al.* (2008)* y Álvarez-Sánchez y Sánchez-Gallén (2008).

*Citada para el Valle del Mezquital, Hidalgo.



Figura 22. *Glomus globiferum* (Koske et Walker). Este hongo micorrízico arbuscular (HMA) se encontró asociado a la rizósfera de la especie vegetal *Bouteloua curtipendula*. El color de las esporas es naranja rojizo 40/80/100/0. Su forma fue globosa con un tamaño entre 120-130 micras. La característica de esta especie es que alrededor de la espora tiene vesículas adheridas (fig.22a) y (fig.22c). Hay presencia de hifa (fig.22b).

Especie citada en México por Varela y Trejo (2001).

En este trabajo se cita como nuevo registro para el Valle del Mezquital, Hidalgo.

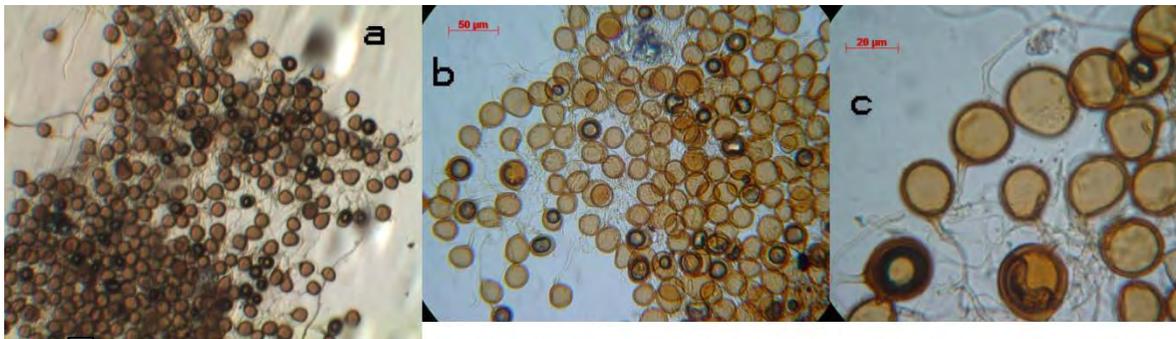


Figura 23. *Glomus microaggregatum* (Koske, Gemma & P.D. Olexia). Este HMA se encontró en la rizósfera de *Echinocactus platyacanthus*. Las esporas se presentaron en un esporocarpo laxo libre en el suelo, el color de las esporas fue naranja claro 0/20/60/0 de acuerdo a la carta de colores del INVAM. Su forma fue globosa a subglobosa de un tamaño que varió entre 20 a 38 micras. La figura 23a, es bajo iluminación Nomarski tomada por la M. en C. Laura Hernández Cuevas.

En México es citada por Varela y Trejo (2001), Hernández-Cuevas *et al.* (2003), Montañón (2003)*, Guadarrama-Chávez *et al.* (2007) y Aguilera-Gómez *et al.* (2008).

* Citada para el Valle del Mezquital, Hidalgo.



Figura 24. *Glomus sinuosum* (R.T. Almeida & N.C. Schenck).

En México es citada por Guadarrama y Álvarez-Sánchez (1999), Varela y Trejo (2001), Montaña (2003)*, Guadarrama-Chávez *et al.* (2007), Ortega-Larrocea *et al.* (2007)* y Aguilera-Gómez *et al.* (2008).

Se encontró asociado a la rizósfera de la especie vegetal *Prosopis laevigata*.

*Citada para el Valle del Mezquital, Hidalgo.

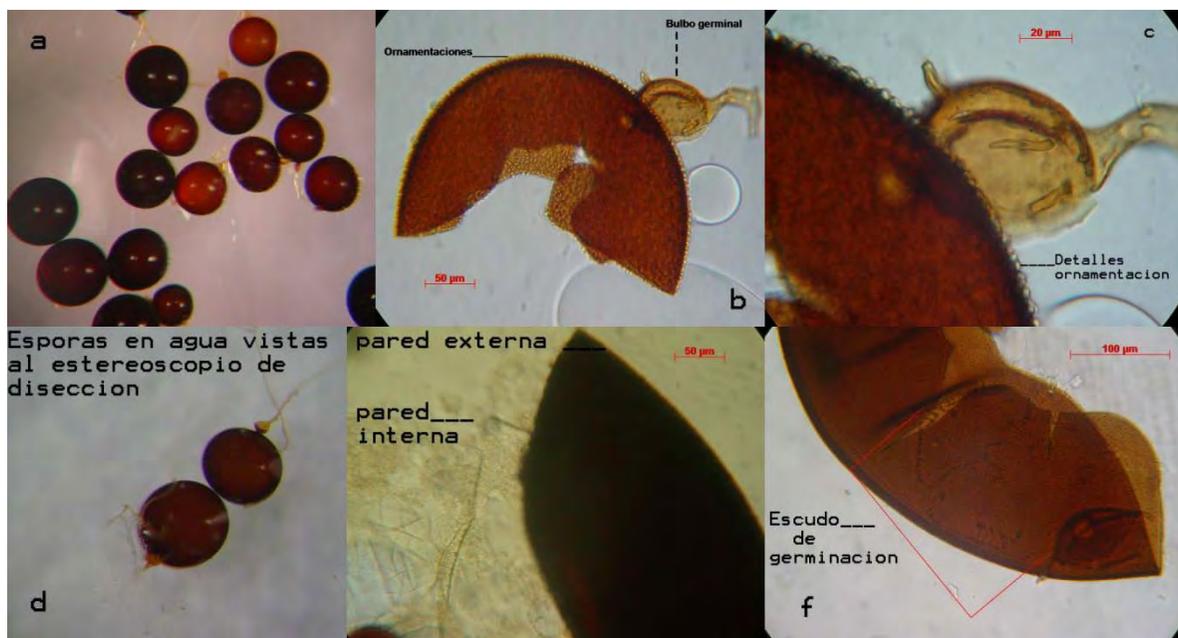


Figura 25. *Scutellospora gregaria* (Schenck et Nicolson) Walker et Sanders. Esta especie de HMA se encontró en la rizósfera de *Echinocactus platyacanthus*, *Euphorbia antisiphylitica* y *Fouquieria splendens*. Las esporas presentaron un color naranja 20/60/100/0 a café oscuro 60/80/100/10 (fig.25a) y (fig.25d) de acuerdo a la carta de colores manejada en INVAM. Son de forma globosa, con un tamaño que varió entre 295 a 501.5 micras con un promedio de 427.75 micras. La pared de la espora está compuesta por dos grupos, la más externa presenta ornamentaciones uniformes (fig.25b) y (fig.25c), la capa interna es hialina sin ornamentaciones (fig.25e). Presentó un bulbo germinal característico de la familia *Gigasporaceae* que midió en promedio 50 micras (fig.25b) y (fig.25c). El escudo de germinación (fig.25f) midió 247 x 184 micras.

Para México es citado por Montaña (2000)*, Bárcenas *et al.* (2007), Aguilera-Gómez *et al.* (2008) y García-Sánchez *et al.* (2008)*.

*Citada para el Valle del Mezquital, Hidalgo.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

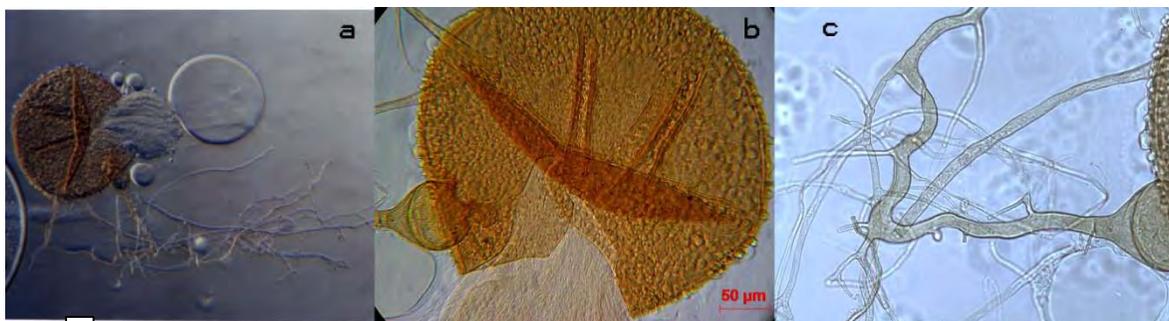


Figura 26. *Scutellospora nodosa* (Blaszkowski). HMA encontrado en la rizósfera de la especie vegetal *Turnera diffusa*. Presentó un color café claro 0/10/50/10 (carta de colores INVAM), de forma globosa y un tamaño de 350 micras. Una de las características de esta especie de hongo es que la pared de la espora se encuentra ornamentada con protuberancias irregulares pero constantes en toda su superficie (fig,26b) y (fig,26c). El bulbo de germinación midió 65 micras. El escudo de germinación no fue posible observarlo. La figura 26c, es bajo iluminación Nomarski tomada por la M. en C. Laura Hernández Cuevas donde se detalla el bulbo y el micelio cenocítico (sin septos).

En México es citada por Álvarez-Sánchez y Sánchez-Gallén (2008) para zonas tropicales del estado de Veracruz, en La Reserva de la Biosfera de Los Tuxtlas.

En este trabajo es citada como un nuevo reporte para el Valle del Mezquital, Hidalgo.

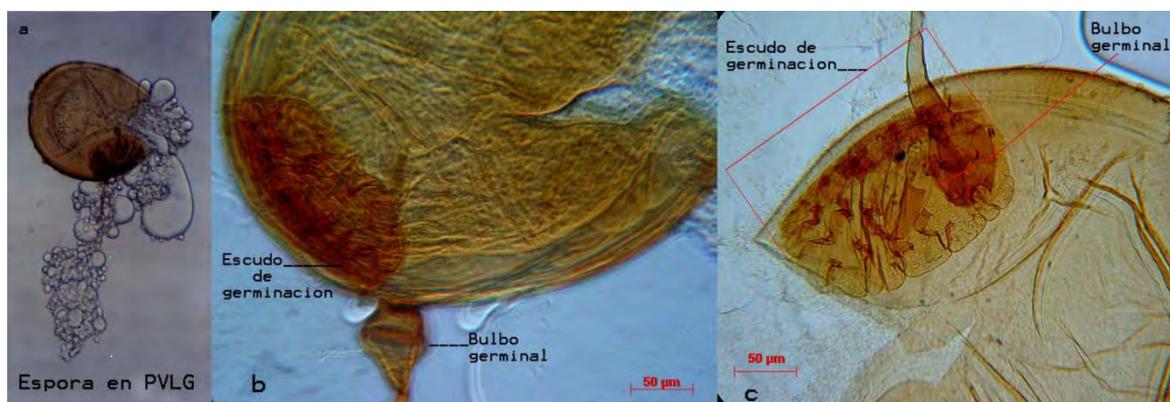


Figura 27. *Scutellospora scutata* (Walker et Diererichs). Especie de HMA asociado a la rizósfera de las especies vegetales *Bouteloua curtipendula*, *Echinocactus platyacanthus*, *Flourensia resinosa*, *Prosopis laevigata* y *Turnera diffusa*. Las esporas presentaron un color crema 0/10/20/0 a amarillas 0/10/60/0 (carta de colores del INVAM), su forma fue globosa a subglobosa con una tamaño promedio de 450 micras. La pared de la espora está compuesta de varias capas; no hay ornamentaciones. La característica de esta especie es su notable escudo de germinación (fig.27b) y (fig.27c) con muchos pliegues y un color café canela (20/40/100/0). Su hifa o bulbo germinal midió en promedio 65 micras y presentó un color café canela 20/40/100/0.

En México es citada por Bárcenas *et al.* (2007), García (2007)*, Álvarez-Sánchez y Sánchez-Gallén (2008).

*Citada para el Valle del Mezquital, Hidalgo.



Figura 28. *Acaulospora aff. mellea* (Spain et Schenck). Especie de HMA asociado a la rizósfera de *Bouteloua curtipendula*.

En México es citada por Varela y Trejo (2001), Hernández-Cuevas *et al.* (2003), García (2007)*, Guadarrama-Chávez *et al.* (2007), Álvarez-Sánchez y Sánchez-Gallén (2008).

*Citada para el Valle del Mezquital, Hidalgo.

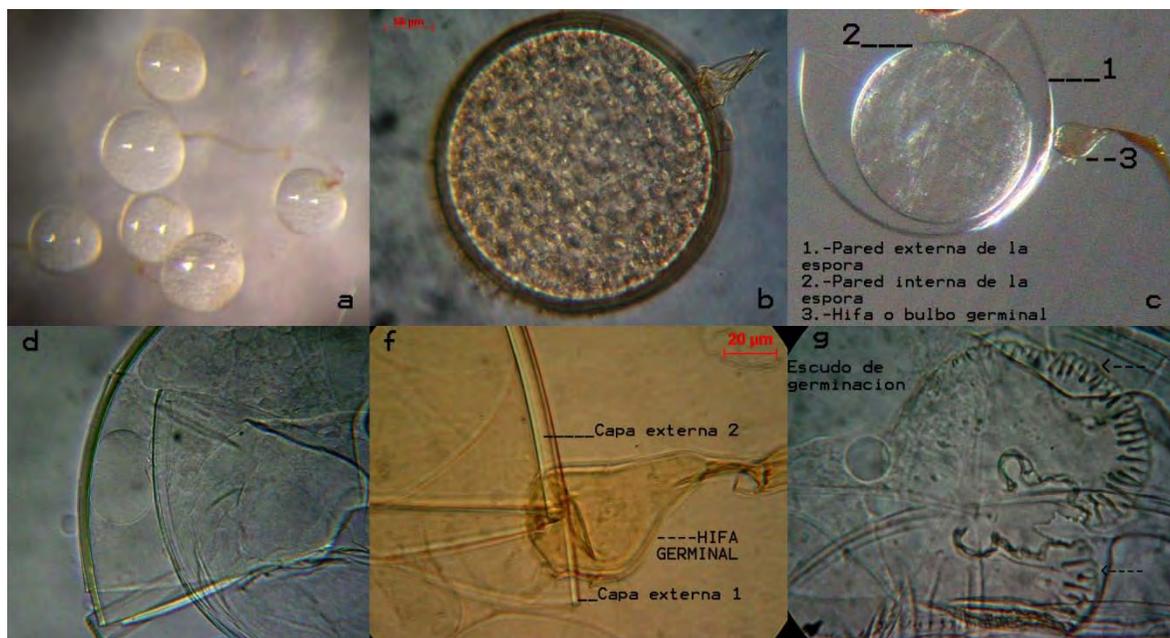


Figura 29. *Scutellospora aff. pellucida* (Nicolson et Schenck) Walker et Sanders. Especie de HMA encontrado en la rizósfera de la gramínea *Bouteloua curtipendula*. Las esporas presentaron un color blanco 0/0/5/0 (fig.29a). Algunas de ellas son globosas con un tamaño promedio 283.8µ; mientras que otras son subglobosas con un tamaño promedio de 214.8 X 197.6µ. La pared de la espora está constituida por dos grupos bien definidos (fig.29c); la externa está formada por dos capas visibles (fig.29d) y (fig.29f) mientras que la capa interna está constituida por más de dos capas. Ninguna de las capas que constituyen la pared de la espora presentó ornamentaciones. La hifa germinal presentó un tamaño promedio de 54 micras de ancho con un color café canela 20/20/40/0 (fig.29c) y (fig.29f). Solo en algunas esporas se logró ver el escudo de germinación (fig.29g).

En México es citada por Varela y Trejo (2001), Hernández-Cuevas *et al.* (2003), Guadarrama-Chávez *et al.* (2007), Álvarez-Sánchez y Sánchez-Gallén (2008), García-Sánchez *et al.* (2008)*.

*Citada para el Valle del Mezquital, Hidalgo.



Figura 30. *Glomus aggregatum* (Schenck et Smith). Especie de HMA encontrada en la muestra de propagación perteneciente a la localidad de Santiago de Anaya. Las esporas fueron encontradas en grupo dentro de las raíces de pasto (*Lolium multiflorum*). El color de las esporas fue naranja pálido 0/10/20/0. Su tamaño osciló entre 60 a 100 micras. Son de forma globosa. La pared de la espora no presentó ornamentaciones.

Citada en México por Hernández-Cuevas (2003), Guadarrama-Chávez *et al.* (2007), Aguilera-Gómez *et al.* (2008). Para el Valle del Mezquital es reportada por Montaña (2003) y García-Sánchez *et al.* (2008).

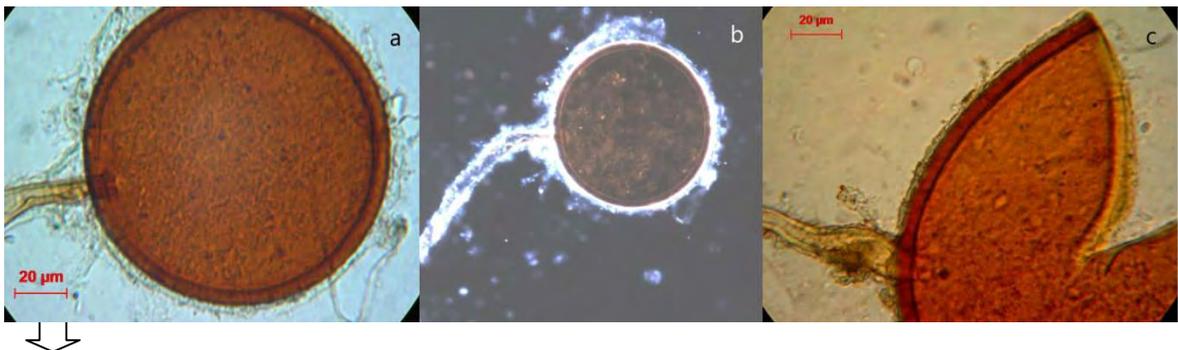


Figura 31. *Glomus caledonium* (Nicol. et Gerd.)Trappe et Gerd. Especie de HMA encontrada en la muestra de propagación de la localidad de Santiago de Anaya. Las esporas fueron encontradas de forma solitaria en el suelo y se propagaron en invernadero con *Lolium multiflorum*. Presentaron un color naranja-rojizo (20/60/100/0). Su forma fue globosa con un tamaño entre 125 a 165 micras. La pared de la espora estuvo constituida de 4 capas, la más externa fue mucilaginoso (parte blanquecina que rodea a la espora en la fig.31b) seguida de una capa rígida, luego una capa poco distinguible de consistencia granular seguida de una capa interna gruesa laminada. La figura 31b es bajo iluminación Nomarski foto tomada por la M. en C. Laura Hernández Cuevas.

En este trabajo se cita como el primer registro para México (Hernández-Cuevas Com. Personal) y para la región del Valle del Mezquital, Hidalgo.

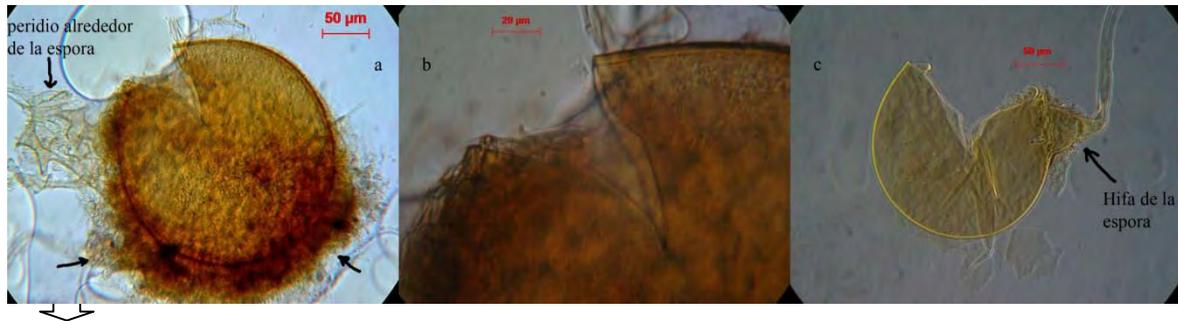


Figura 32. *Glomus tortuosum* (Schenck et Smith). Especie de HMA encontrada en la muestra de propagación de la localidad de Santiago de Anaya. Las esporas fueron encontradas en el suelo de forma solitaria. Una de las características notables es su peridio, que es una red de hifas que rodean a la espora (fig.32a). El color que presentaron fue amarillo claro 0/0/20/0 a café amarillento 0/30/100/0. El tamaño de las esporas fue entre 292.4 a 344 micras. Presentó una sola pared que rodea a todo el contenido lipídico (fig.32b). Presentó una hifa en forma de embudo (fig.32c) con una amplitud de 50 micras en la base de la espora. No hay presencia de ornamentaciones. La espora de la figura 32c se le quitó todo el peridio para observar el tipo de hifa y la estructura de la pared. En México es reportado por Bárcenas *et al.* (2007) Gavito *et al.* (2008). En este trabajo se presenta como nuevo registro para el Valle del Mezquital, Hidalgo.

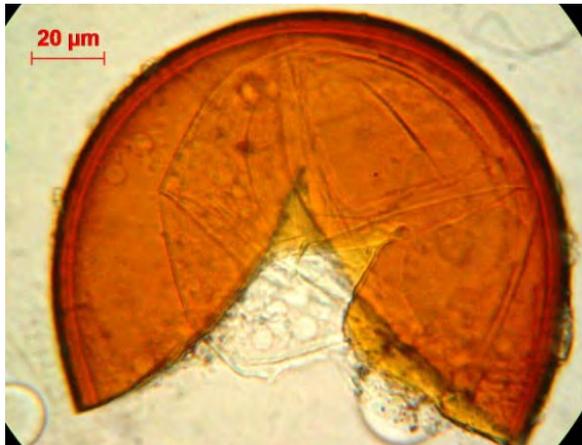


Figura 33. *Acaulospora aff. laevis* (Gerdemann et Trappe). Especie de HMA encontrada en la muestra de propagación de la localidad de González-González. Citada en México por Varela y Trejo (2001), Guadarrama-Chávez *et al.* (2007).

Es un nuevo reporte para el Valle del Mezquital, Hidalgo.



Figura 34. *Glomus etunicatum* (Becker et Gerdemann). Especie de HMA encontrada en la muestra de propagación de la localidad de González-González. Citada en México por Varela y Trejo (2001). Y en el Valle del Mezquital, Hidalgo por Montañaño (2003) y García-Sánchez *et al.* (2008).

6.3.- Ensayos para la obtención de un inóculo de HMA de la región semiárida del Valle del Mezquital, Hidalgo

Los hongos micorrízicos arbusculares se encuentran en diferentes tipos de ecosistemas, climas y suelos, incrementan la biomasa de su hospedero en sitios de baja fertilidad donde el fósforo no está disponible para las plantas y de aquí el interés por utilizarlos como biofertilizantes para los agro-cultivos. Asimismo, su estudio ha permitido comprender que participan directamente en procesos ecológicos como la formación de agregados estables en el suelo, incrementan la diversidad vegetal y la productividad en el ecosistema, siendo una herramienta biológica para la recuperación de la vegetación en zonas perturbadas o en sitios contaminados con metales pesados; para tal fin se requiere contar con un inóculo de estos hongos (Van der Heijden *et al.* 1998; García-Sánchez 2005; Rillig y Mummey 2006; Ferrera-Cerrato y Alarcón 2007; Khade y Adholeya 2007; Mummey *et al.* 2009).

Trabajos previos como los de Medrano (2002), Barragán (2003), Montaña (2003) y López (2007) han mostrado que los HMA provenientes del Valle del Mezquital son susceptibles de propagarse bajo condiciones de invernadero en macetas con substrato esterilizado y con una muestra de suelo que contiene a toda la micro-biota edáfica; sin embargo, pocos ensayos han realizado la propagación a partir del aislamiento y selección de esporas del suelo o de propagaciones previas con el fin de obtener un inóculo libre de otros microorganismos como los de Morales (2005). Los resultados obtenidos indicaron respuestas variables; así por ejemplo, en el ensayo multiespecífico se obtuvo un 50% de éxito como se muestra en el cuadro 6. Se observó que la albahaca es más susceptible de establecer la simbiosis alcanzando un 40% de raíz colonizada (figura 35) por distintos hongos micorrízicos arbusculares, lo que favoreció un incremento en la densidad de esporas. En el caso del maíz como planta propagadora no resultó un hospedero adecuado para estos hongos debido a que fue sensible a una plaga de arañas que provocó que las hojas se enrollaran, la planta no creciera y posteriormente muriera, tal situación afectó la simbiosis a consecuencia de que la planta no tuvo las hojas lo suficientemente abiertas para efectuar una fotosíntesis activa y por consiguiente no generó los carbohidratos necesarios para destinarlos al mantenimiento y establecimiento del hongo micorrízico arbuscular en la raíz. Al respecto se observó que la albahaca no se plagó con el arácnido y se desarrolló adecuadamente. Las sustancias aromáticas que genera esta planta pueden ser un repelente natural para este artrópodo y por consiguiente una excelente planta para propagar a los HMA ante plagas similares.

Cuadro 6. Ensayo para la generación de inóculo multiespecífico.

UE	Planta trampa	Esporas/100g inicial	HMA Inoculados	% colonización	Esporas/100g Final
<i>Glomus</i>					
1	maíz	30	<i>Scutellospora</i>	0	0
<i>Gigaspora</i>					
<i>Glomus</i>					
2	albahaca	30	<i>Scutellospora</i>	40	70
<i>Gigaspora</i>					

UE=Unidad experimental. HMA=hongos micorrízicos arbusculares.

La determinación de los HMA indicó que el inóculo multiespecífico obtenido en este ensayo está constituido por los siguientes hongos: *Glomus caledonium*, *Glomus geosporum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus globiferum*, *Glomus claroideum*, *Acaulospora* aff. *laevis*, y posiblemente por *Scutellospora* aff. *pellucida* y *Gigaspora ramisporophora* que no se expresaron con la formación de esporas pero fueron inoculadas.

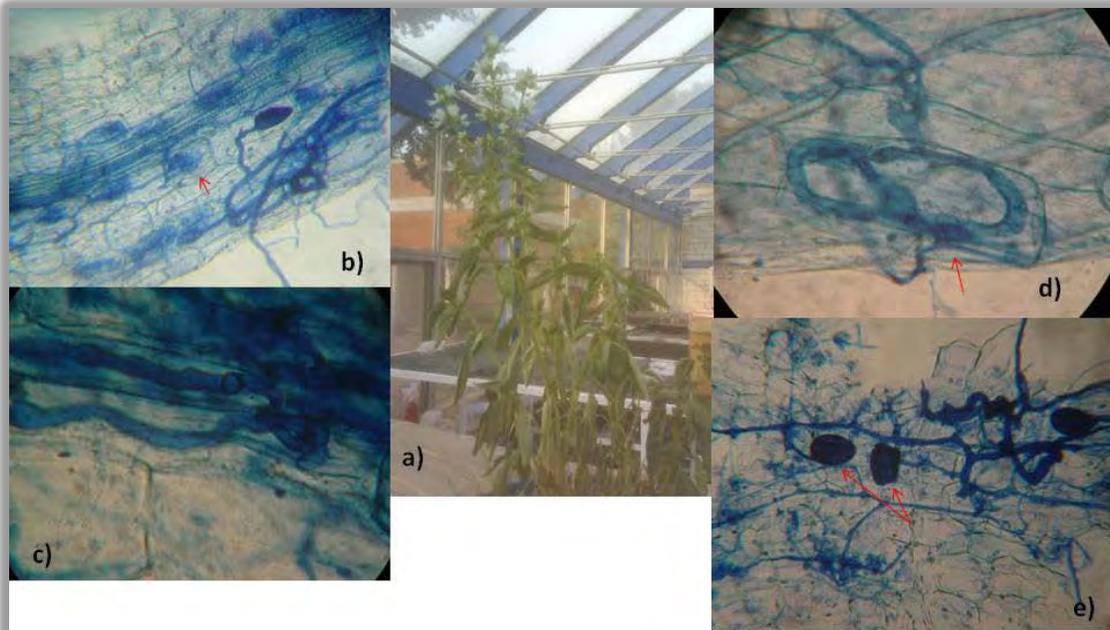


Figura 35. Colonización micorrízica arbuscular en albahaca (*Ocimum basilicum*). a) planta en floración. b) Raíz colonizada con presencia de arbusculos –flecha-. c) Micelio interno. d) Punto de entrada del hongo a la raíz (apresorio) -flecha-, e) Micelio interno con presencia de vesículas.

En los ensayos para la obtención de inóculos de HMA de forma monoespecífica, las probabilidades de éxito disminuyeron en comparación al multiespecífico. De las siete unidades experimentales ensayadas sólo el 15% resultó colonizada cuando se colocó a *Scutellospora* aff. *pellucida* con maíz (*Zea mays*) como planta propagadora y se obtuvo un 30% de raíz colonizada (figura-36); sin embargo, después del periodo de tres meses de desarrollo y de 15 días de marchitamiento para inducir la esporulación, la especie fúngica no respondió favorablemente y no produjo esporas, tal resultado indicó la posibilidad de que este hongo requiera más de tres meses de desarrollo de la simbiosis para que la planta culmine su ciclo de vida y con esto se favorezca la formación natural de las esporas como lo observó Morales (2005) en sus ensayos de propagación con esporas de HMA de la región del Valle del Mezquital. Ella requirió más de 6 meses para obtener un máximo de 62 esporas de *Gigaspora* sp. en una unidad experimental después de varios intentos realizados.

En el caso de *Scutellospora scutata* y *Glomus tortuosum*, que fueron las otras dos especies de HMA utilizadas para generar un inóculo monoespecífico utilizando a *Lolium perenne* como planta propagadora, no se estableció la colonización micorrízica arbuscular después de un periodo de tres meses. Se obtuvo 0% de unidades positivas como se muestra en el cuadro 7. Quizás requieren de un periodo prolongado para su establecimiento y adaptación. Blaszkowski (2009) ha observado que *Glomus tortuosum* es una especie de HMA como otras que presentan dificultad al ser propagadas de forma monoespecífica y por consiguiente no ha logrado un inóculo puro de esta especie. Lo cual hace suponer que no se adapta fácilmente a las condiciones controladas de propagación; así mismo, esto podría estar ocurriendo con las otras dos especies de HMA ensayadas en esta fase experimental.

Cuadro 7. Generación de inóculo monoespecífico de HMA.

Especie HMA inoculado	Planta propagadora	Origen rizosférico del HMA	# esporas inoculadas por ensayo	% colonización	Esporas/ 100g
<i>Scutellospora</i>	<i>Lolium</i>	<i>Flourensia</i>	40	0	0
<i>scutata</i>	<i>perenne</i>	<i>resinosa</i>	40	0	0
			40	0	0
<i>Scutellospora</i>	<i>Zea</i>	<i>Bouteloua</i>	40	0	0
aff. <i>pellucida</i>	<i>mays</i>	<i>curtipendula</i>	40	0	0
			40	30	0
<i>Glomus</i>	<i>Lolium</i>	ROS	70	0	0
<i>tortuosum</i>	<i>perenne</i>				

HMA=hongos micorrízicos arbusculares. Aff=afín, semejante. ROS=Muestra de suelo proveniente de la localidad de Santiago de Anaya, Hidalgo; utilizada para la propagación de los HMA en el invernadero de la Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza.

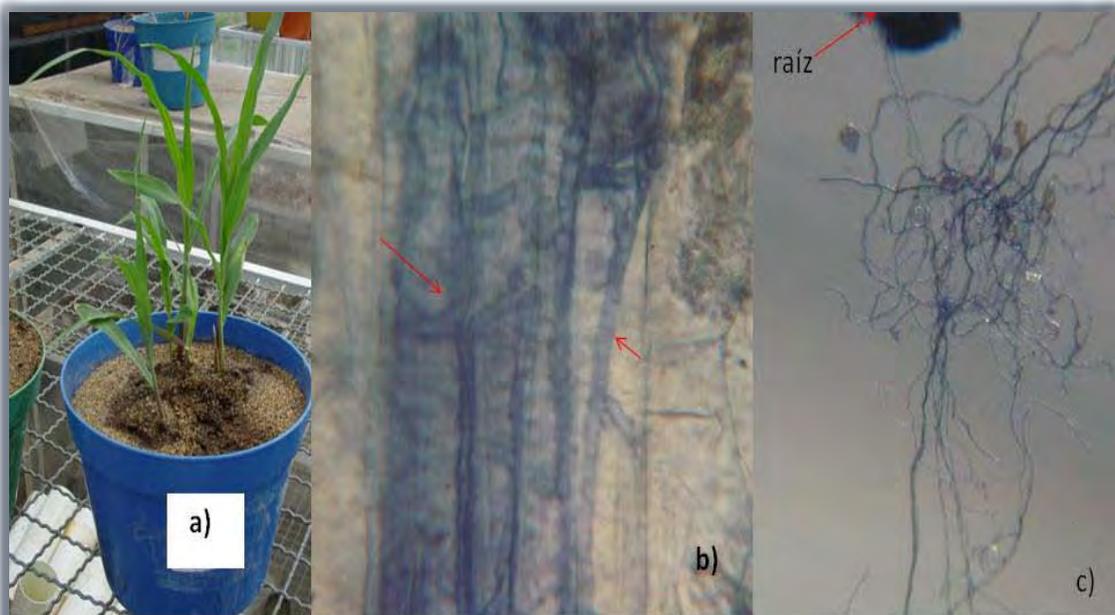


Figura 36. Colonización micorrízica arbuscular en maíz. a) Tipo de unidades experimentales utilizadas en los ensayos monoespecíficos. b) células corticales de la raíz de maíz colonizadas por *Scutellospora* aff. *pellucida*. c) micelio externo del hongo micorrízico arbuscular *Scutellospora* aff. *pellucida*.

En los ensayos monospóricos donde solo se colocó una espora de HMA en cada unidad experimental no se observó establecimiento de la simbiosis; la determinación de la colonización micorrízica arbuscular en la raíz de *Sorghum vulgare* y de *Lolium perenne* no reveló puntos de entrada ni micelio intraradical, indicando quizás que la espора no era viable, no germinó o que los hospederos utilizados no son los más adecuados. En el cuadro 8 se concentran los resultados de este ensayo.

Cuadro 8. Ensayos de generación de inóculo monospórico.

No UE	HMA inoculado	Planta trampa	% de colonización MA final
50	<i>Glomus</i> sp2	<i>Sorghum vulgare</i>	0
50	<i>Glomus</i> sp3	<i>Lolium perenne</i>	0
50	<i>Glomus</i> sp4	<i>Lolium perenne</i>	0
50	<i>Scutellospora scutata</i>	<i>Lolium perenne</i>	0

No UE= número de unidades experimentales ensayadas. HMA= hongo micorrízico arbuscular.

MA=micorrízica arbuscular.

Los bajos porcentajes de éxito en estos primeros ensayos para la generación de inóculos mono-específicos y monospóricos, puede ser un aspecto normal de comportamiento de los HMA de esta región, pues quizás requieran periodos más prolongados de adaptación a nuevas condiciones ambientales (invernadero) y de hospederos para propagarse. Si hacemos una comparación con los cultivos monoxénicos donde se utilizan raíces transformadas, los primeros intentos por cultivar a estos hongos en condiciones de asepsia y medio artificial han requerido de periodos largos de adaptación al medio, e incluso varios ciclos para establecerlos y en ocasiones desarrollando pocas o nada de esporas (Cano *et al.* 2008); quizás algo similar sucedió en el inóculo mono-específico de *Scutellospora* aff. *pellucida* donde a pesar de tener 30% de colonización micorrízica arbuscular y micelio externo no generó esporas.

Los resultados de los ensayos multiespecíficos y mono-específicos indicaron que las esporas de HMA de reciente formación que se aislaron de las plantas o suelos previamente masificados en invernadero tienen la capacidad de germinar y establecer la simbiosis micorrízica sin que hayan pasado por un proceso de desinfección superficial; sin embargo, no desinfectar las esporas provocó que las probabilidades de éxito disminuyeran en los ensayos monospóricos y mono-específicos. Cano *et al.* (2008) comentan que la desinfección superficial de las esporas con cloramina T y una mezcla de antibióticos (gentamicina, estreptomycin) permite incrementar la germinación y por consiguiente el éxito de colonización micorrízica arbuscular en la raíz de un hospedero apropiado; sin embargo, Morales (2005) aplicó la desinfección superficial de las esporas con los químicos antes señalados en las especies de HMA del Valle del Mezquital para establecer inóculos monospóricos y en sus resultados se observó que no es un factor decisivo para que las esporas germinen, ya que cuando realizó la inoculación en diferentes plantas hospederas utilizando macetas (250 g) para su cultivo obtuvo 0% de colonización; sus probabilidades de éxito se incrementaron cuando cambió las macetas por cajas Petri, indicando la existencia de otros parámetros que pueden estar involucrados en la germinación de las esporas y posterior establecimiento de la simbiosis.

Las características intrínsecas de cada especie de HMA deben tomarse en consideración al querer propagarlos, porque se ha observado alta variabilidad en su habilidad para germinar y producir micelio. Giovannetti y Gianinazzi (1994) observaron que especies del género *Gigaspora* germinan muy rápido y producen bastante micelio en agar, en comparación a las del género *Acaulospora* que la realizan de manera lenta y *Glomus* que es variable en su proporción y nivel de germinación. Así mismo, Cano *et al.* (2008) percataron que esporas

con excelentes características morfológicas, no germinaron aún después de un periodo de enfriamiento como tratamiento para romper algún estado de latencia que pudiera existir. Consideraron que la estacionalidad es un factor importante que afecta más a géneros como *Gigaspora* donde se ha observado que sus esporas no germinan en el mes de septiembre a pesar de estar bajo condiciones *in vitro* con temperatura y luz controladas y realizaron su germinación alrededor del mes de febrero. Algo similar pudo suceder con el género *Scutellospora* que se encuentra en la misma familia, quizás estos hayan sido los factores que contribuyeron a que en los ensayos monospóricos y monoespecíficos donde se inoculó a *Scutellospora scutata* no se presentara germinación a pesar que las esporas fueron sometidas a un enfriamiento durante 24 h a 4° C y realizado el experimento en el mes de mayo; lo cual sería recomendable realizar algunas pruebas de germinación en distintos periodos del año para evaluar su comportamiento y así establecer su propagación en los meses más adecuados.

Existen otras variables que pudieron afectar o inhibir la germinación de las esporas de HMA y por consiguiente obtener bajos porcentajes de éxito en la generación de un inóculo de estos hongos; tales como el tipo de sustrato utilizado ya sea pasteurizado en autoclave o irradiado, contenido de fósforo en el suelo, la temperatura del suelo y ambiental, el nivel de pH, humedad, aireación, condiciones de luz, actividad microbiana y exudados radicales. Es recomendable mantener y propagar a los HMA bajo las condiciones edafoclimáticas de donde provienen como lo recomiendan Giovannetti y Gianinazzi (1994), Maia y Yano-Melo (2001) y Manjarrez *et al.* (2000). En este estudio se utilizó suelo de la zona como sustrato para propagar los HMA, aunque sería recomendable hacerle un análisis después de esterilizarlo en autoclave para valorar si se modifican algunas de las propiedades. Por ejemplo, el pH de donde fueron aisladas las esporas de HMA fue entre 6.88 a 8.09 mientras que el sustrato después de esterilizado presentó pH entre 8 y 8.9. Probablemente para los ensayos monospóricos donde se observó el valor más alto en pH influyó en la germinación de las esporas y el resultado de cero unidades colonizadas.

La planta hospedera es también un elemento clave debido a que las raíces son el nicho ecológico de los HMA. En la naturaleza existen factores de reconocimiento involucrados para que se establezca o no la simbiosis. Así, se sabe que el crecimiento hifal de una espora que ha germinado requiere de la presencia de la raíz y de los exudados radicales que favorecen una comunicación presimbiótica que conduce a la formación del apresorio que a su vez permitirá al hongo penetrar y esparcirse en las células corticales de su hospedero (Hause y Fester, 2005). La albahaca como planta hospedera resultó ser un medio adecuado

de propagación de los HMA a nivel multiespecífico y el maíz a nivel monoespecífico lo cual, de manera indirecta nos hace suponer que existieron exudados radicales que sirvieron para establecer una buena comunicación química entre ambos simbioses; mientras que el sorgo y el pasto no fueron los hospederos más apropiados para generar la simbiosis en los ensayos monospóricos. Los ensayos permitieron evaluar varias plantas hospederas con diferentes HMA del Valle del Mezquital para la selección del mejor o mejores hospederos y como comenta González-Chávez *et al.* (1998) esto se logra mediante la investigación continua.

Otro aspecto importante que habría que considerar sobre el comportamiento de los HMA es que para el caso de *Scutellospora scutata*, *Scutellospora* aff. *pellucida* y algunas especies de *Glomus* utilizados en los ensayos monoespecíficos y monospóricos fueron aislados directamente de la rizósfera de la especie vegetal silvestre. Aunque se sabe que estos hongos pueden establecer la simbiosis con cualquier planta susceptible de micorrizarse (inespecíficos) no se descarta la posibilidad de que las esporas para que germinen, la hifa crezca y se ramifique para incrementar las posibilidades de establecer contacto con la raíz, se requiera de ciertos compuestos químicos secretados por las raíces de las plantas silvestres a las cuales comúnmente están asociados, por lo cual también sería recomendable realizar ensayos de propagación contemplando plantas silvestres como mezquite mezcladas con maíz y albahaca para observar cómo responden los HMA ante esta combinación de hospederos.

Es claro que los ensayos realizados en este trabajo permitieron comprender que los HMA del Valle del Mezquital, son susceptibles de propagarse a partir de esporas y generar inóculos multiespecíficos y monoespecíficos utilizando albahaca y maíz como plantas propagadoras, mientras que en el esquema de monospóricos se requiere continuar ensayando hasta ajustar la técnica, se puede iniciar con la aplicación de la desinfección superficial de las esporas, intentar con otros hospederos, controlar el pH, realizar pruebas de germinación a las esporas antes de inocularlas, entre otros que permitan incrementar las posibilidades de establecer exitosamente la simbiosis y así obtener inóculos libres de otros microorganismos y además contar con la identidad y proporción de HMA que lo componen, de manera que se puedan generar cepas de HMA provenientes de suelos del Estado de Hidalgo.

6.4.- Evaluación de la efectividad e infectividad de dos inóculos de HMA generados usando a *Prosopis laevigata* como planta sensora

El estudio de la asociación de las plantas con los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) puede ser abordado desde diferentes puntos de vista dependiendo de los objetivos planteados. Muchas de las investigaciones realizadas en invernadero se han enfocado al estudio de los beneficios que la planta recibe del hongo, los cuales se pueden medir a través de la supervivencia, variables de crecimiento (biomasa seca total, tasa relativa de crecimiento, área foliar, entre otros), número de semillas, número de hojas, resistencia a herbívoros, porcentaje de raíz colonizada, número de esporas en la rizósfera, micelio extraradical, etc. (Guadarrama-Chávez *et al.* 2008); algunas de estas variables se utilizaron para evaluar los inóculos generados sobre la planta sensora *Prosopis laevigata*.

Los métodos empleados para estudiar la respuesta de la planta a la presencia de los HMA en condiciones de invernadero son la infectividad y la efectividad. La primera es una medida de la capacidad que tiene una especie fúngica en particular para colonizar las raíces de una planta hospedera, mientras que la efectividad o eficiencia es la capacidad que tienen los HMA para influir favorablemente en la adecuación de una especie vegetal con la que están asociados, en comparación con otra que crece en ausencia de ellos (Guadarrama-Chávez *et al.* 2008). López (2007) mostró que *Prosopis laevigata* refleja cambios en la morfología de la raíz y del vástago a consecuencia de la micorrízica arbuscular, en particular en variables asociadas al crecimiento, por lo que se decidió usar esta especie vegetal a fin de evaluar el efecto de los hongos micorrízicos arbusculares propagados en este trabajo.

La susceptibilidad de *Prosopis laevigata* (mezquite) para establecer la simbiosis con los HMA tanto del inóculo monoespecífico como del multiespecífico se muestran en el cuadro 9. Se observó que el inóculo monoespecífico no desarrolló colonización micorrízica arbuscular mientras que el multiespecífico colonizó al mezquite entre la 2^a y 4^a semana posterior al establecimiento del ensayo. Se presentaron en la raíz estructuras como vesículas y arbusculos (fig.37b y fig.37c respectivamente) y se incrementó la colonización hasta el 73.33% al final del experimento. Hart y Reader (2002) realizaron un experimento con 21 especies de HMA donde observaron que la colonización se inició desde la primera hasta la octava semana dependiendo de la especie de hongo involucrada, además determinaron que en promedio las especies del género *Glomus* y *Acaulospora* colonizan más rápido mientras que *Gigaspora* y *Scutellospora* lo realizan entre la 4^a y 8^a semana, con esto se demostró que los HMA presentan diferentes estrategias de colonización.

Cuadro 9. Colonización micorrízica arbuscular en *Prosopis laevigata* a través del tiempo.

Tratamiento	Testigo	Inóculo monoespecífico (<i>Scutellospora</i> aff. <i>pellucida</i>)	Inóculo multiespecífico
Tiempo (semanas)			
2	0	0	0
4	0	0	40 % *
14	0	0	73.33 % **

*Ver Figura 37b y 37c. **Ver Figura 37e y 37f.

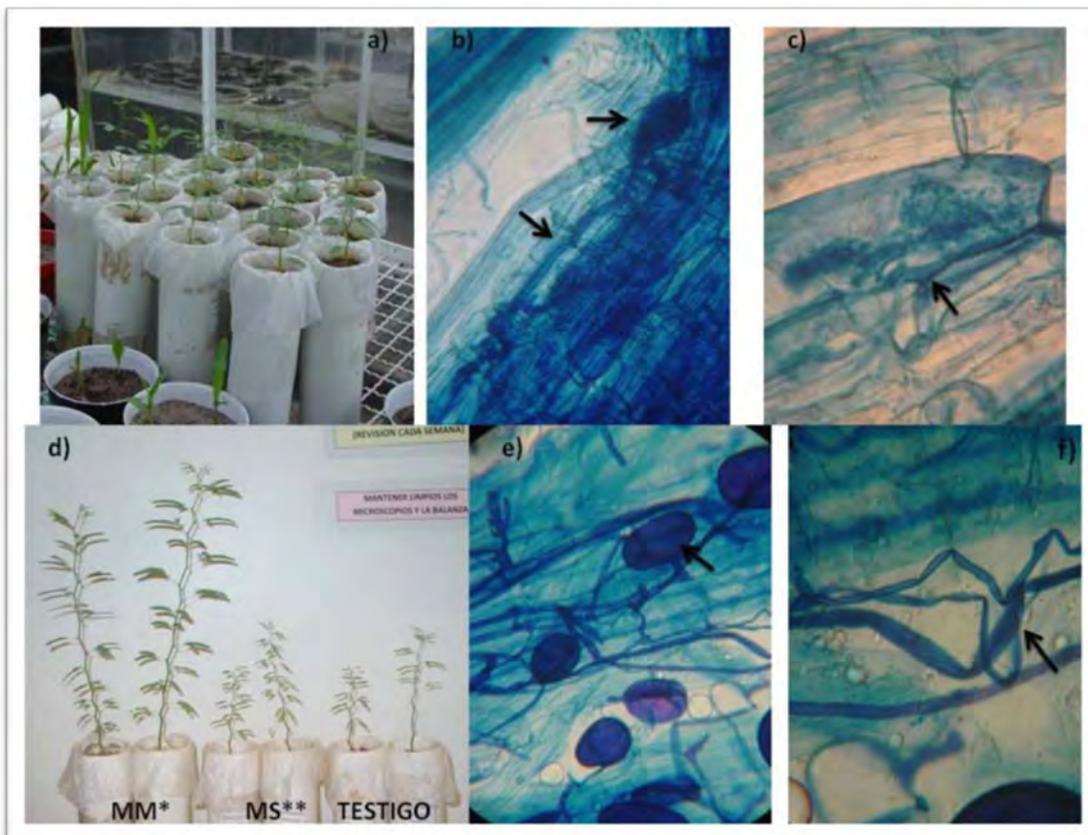


Figura 37. Colonización micorrízica arbuscular en *Prosopis laevigata*†. a) y d) unidades experimentales al 1° y 3 ½ mes de desarrollo respectivamente. b) micelio interno, vesículas y c) arbusculo en la raíz a la 4ª semana de desarrollo. e) y f) micelio interno con presencia de vesículas a la 14ª semana. †micorrizadas con el inóculo multiespecífico. *Inóculo multiespecífico ** Inóculo monoespecífico.

Manjarrez *et al.* (2000) proponen que cuando se genera un inoculante micorrízico arbuscular, es recomendable que el hospedero utilizado para propagar a estos hongos presente un 60% de colonización en su sistema radical para poder ser utilizado en la

inoculación de las especies vegetales de interés. La albahaca utilizada en este trabajo para propagar a los HMA y así obtener el inóculo multiespecífico que presentó un 40%; porcentaje que no afectó la colonización micorrízica arbuscular de *Prosopis laevigata*, alcanzó un valor máximo de 73.33% a los tres meses y medio, y resultó mayor al promedio reportado por Medrano (2002) que fue de 61.6 a 67.5%, o de 58% Barragán (2003) y 31% Ordinola (2005), quienes inocularon esta especie a nivel de invernadero con HMA a partir de suelo del Valle del Mezquital. López (2007) obtuvo del 23.33 al 65.83 % de colonización en la planta de mezquite cuando las inoculó con HMA propagados bajo condiciones de invernadero. Los resultados oscilantes en cuanto a esta variable indican que la respuesta de la especie vegetal depende seguramente de la combinación de los HMA presentes en el inoculante, por lo que para controlar esta variable es necesario contar con inóculos bien caracterizados en cuanto a la diversidad de especies fúngicas y a la capacidad de permanencia a través del tiempo (persistencia en el inóculo).

En el cuadro 10 se presentan los resultados de las variables medidas en *Prosopis laevigata* para evaluar la efectividad de los inóculos de HMA autóctonos del Valle del Mezquital. Como puede observarse el inóculo monoespecífico de *Scutellospora* aff. *pellucida* no desarrolló la simbiosis en el mezquite, quizás debido a que estaba constituido sólo por raíz colonizada (30%) y micelio externo como propágulos infectivos debido a que no formó esporas en el sustrato. El resultado concuerda con lo reportado por Amora y Varela (2009) quienes mencionan que las hifas dentro de la raíz y los arbuscúlos pertenecientes a los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* no tienen la capacidad de colonización y propagación. Por lo tanto, es recomendable para miembros de la familia *Gigasporaceae* que en el inóculo estén presentes las esporas a fin de inducir la simbiosis micorrízica arbuscular.

La inoculación multiespecífica en la raíz de mezquite incrementó la tasa relativa de crecimiento (TRC), en un promedio 2.5 veces mayor que en los tratamientos de inoculación con *Scutellospora* aff. *pellucida* y las plantas testigo (sin micorriza). Las diferencias fueron estadísticamente significativa (Anexo-9.2.3).

La tasa relativa de crecimiento de 0.4137 cm/día, alcanzada en este estudio al aplicar inóculo multiespecífico, resultó mayor al reportado por Barragán (2003) que fue de 0.38cm/d y el de López (2007) de 0.16 cm/día.

Este incremento en la tasa relativa de crecimiento en las plantas inoculadas con varias especies de HMA, se reflejó al final del experimento con organismos de mayor altura, números de foliolos y área foliar, como se muestra en el cuadro 10. Los análisis de varianza indicaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con respecto al testigo y al tratamiento monoespecífico.

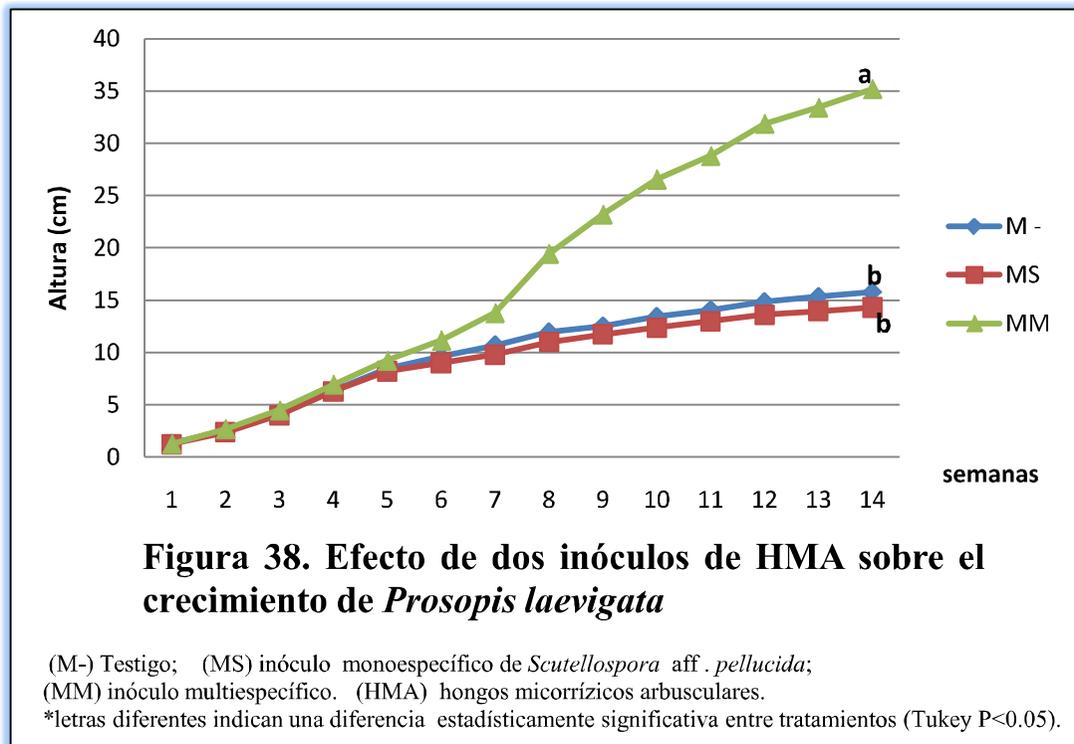
Cuadro 10. Variables medidas en *Prosopis laevigata* bajo dos tratamientos de micorriza.

Tratamiento:	TESTIGO	INÓCULO MONOESPECIFICO	INÓCULO MULTIESPECÍFICO
Variable:	<i>Scutellospora aff. pellucida</i>		
Colonización MA (%)	0	0	73.33
Altura (cm)	15.77 b	14.3 b	35.2 a
Tasa de crecimiento (cm/día)	0.1763 b	0.1592 b	0.4137 a
Numero de Foliolos	357 b	395 b	1067 a
Área foliar (cm ²)	16.78 b	20.67 b	91.94 a
Longitud raíz (cm)	35.42 b	38.35 b	25.57 a
Biomasa fresca vástago (g)	0.659 b	0.718 b	3.016 a
Biomasa fresca raíz (g)	1.58 b	2.08 b	2.66 a
Biomasa seca vástago (g)	0.206 b	0.228 b	1.258 a
Biomasa seca raíz (g)	0.694 b	0.997 b	1.596 a
Biomasa seca total (g)	0.90 b	1.225 b	2.854 a
Razón raíz/vástago	3.72 b	4.62 b	1.29 a

Letras distintas en la misma fila indican una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (Tukey $P < 0.05$). MA=micorrízica arbuscular. aff=afín, semejante.

En la figura 38 se presenta gráficamente el comportamiento de la variable altura de *Prosopis laevigata* bajo el efecto de la micorriza arbuscular en condiciones de invernadero durante catorce semanas. Se observó que las plantas con el tratamiento multiespecífico son

2.2 veces más altas que el testigo y en 2.4 veces con respecto al tratamiento mono-específico.

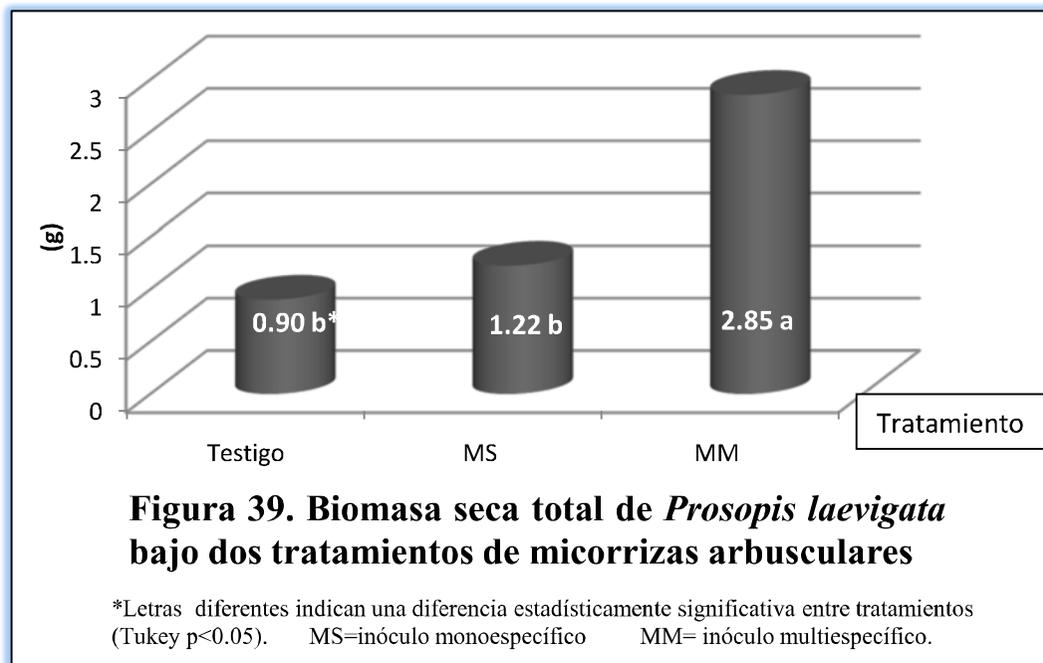


En el cuadro 10 se observa que el tratamiento multiespecífico produjo menor longitud en la raíz de las plantas. La diferencia fue estadísticamente significativa con respecto al tratamiento mono-específico y el testigo, debido a que en las plantas inoculadas con varios HMA, forman un micelio externo que funciona como extensiones de la raíz, que incrementan la captación de nutrimentos y favorecen el crecimiento del vástago. En cambio los tratamientos testigo y mono-específico tuvieron que generar raíces más largas para explorar el sustrato en búsqueda de nutrimentos y así compensar la ausencia de los HMA como lo mencionan González-Chávez *et al.* (2008).

El beneficio nutrimental que proporcionan los HMA se reflejó en el tratamiento multiespecífico donde las plantas presentaron mayor biomasa seca y fresca tanto en raíz como en el vástago. Se observan diferencia estadísticamente significativa con respecto al tratamiento mono-específico y el testigo.

Las plantas del tratamiento multiespecífico acumularon 3.17 veces más biomasa seca total que el testigo y 2.33 veces más que las plantas del tratamiento mono-específico. Esta diferencia fue estadísticamente significativa (figura 39). El incremento de la biomasa en el

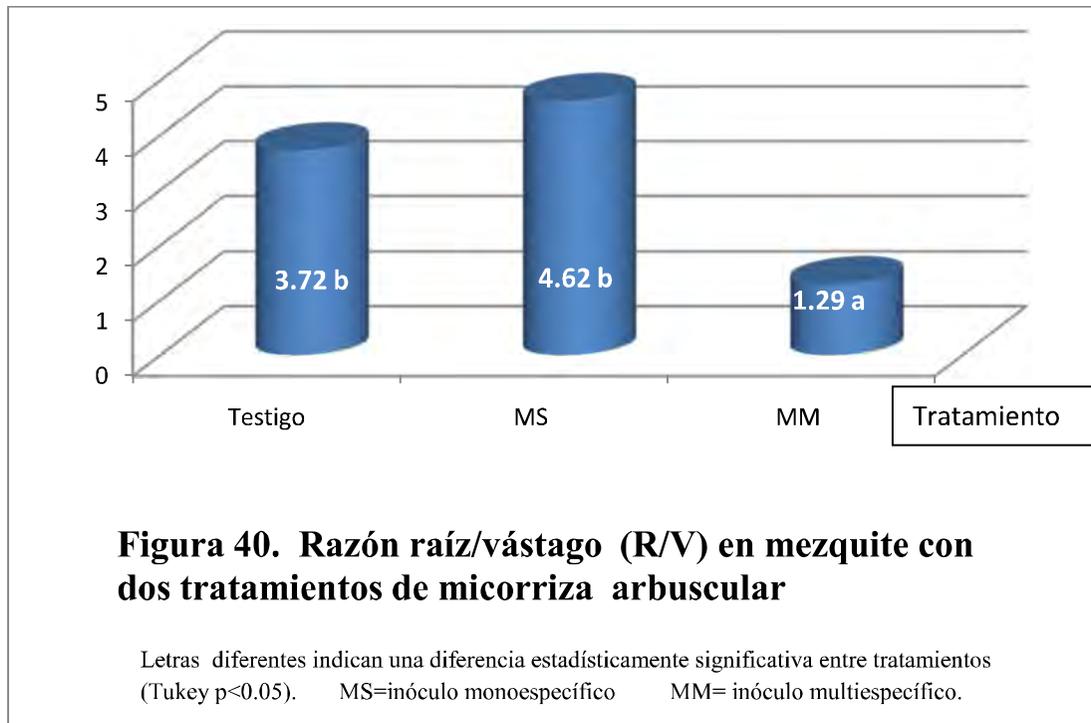
mezquite con el tratamiento multiespecífico es el resultado de un mayor aporte de nutrimentos por parte de los HMA quienes los captan de manera más eficiente al explorar un mayor volumen de suelo que la propia raíz; a cambio la planta le transfirió carbohidratos generados por la fotosíntesis a los hongos (Bago *et al.*2000); estos carbohidratos extra para el mantenimiento de la simbiosis quizás fueron el resultado de tener una mayor cantidad de folíolos y área foliar para la captación más eficiente de energía solar y de CO₂, a diferencia del tratamiento testigo y mono-específico que presentaron folíolos pequeños y en menor cantidad.



López (2007) realizó un trabajo a nivel de invernadero utilizando *Prosopis laevigata* para probar la efectividad de cinco inóculos multiespecíficos con especies de HMA de los matorrales del Valle del Mezquital; sus resultados de biomasa seca total mostraron que el valor máximo alcanzado en las plantas de mezquite fue de BST=1.38g. Si comparamos este valor con el obtenido en el tratamiento multiespecífico (figura 39) en el presente trabajo se observa que es mayor (el doble).

Las variables de biomasa seca total del vástago y de la raíz evaluadas en las plantas de mezquite en este trabajo, permitió calcular la proporción raíz/vástago (R/V) en cada tratamiento, como se observa en la figura 40, el tratamiento multiespecífico presentó el valor más bajo (R/V=1.29). Se observó una diferencia estadísticamente significativa con respecto al tratamiento mono-específico (R/V=4.62) y el testigo (R/V=3.72); este valor entre más bajo sea, indica que la planta micorrizada destinó menor cantidad de recursos hacia la

formación de raíz, debido a que los HMA la complementan. Así la planta destina más nutrimentos hacia la formación de la parte aérea. Contrariamente las plantas testigo y las del tratamiento monoespecífico presentaron una razón raíz/vástago mayor y formaron más raíz que parte aérea por la necesidad de explorar un mayor volumen de suelo en búsqueda de nutrimentos. El mismo comportamiento de esta variable la observó López (2007) al inocular al mezquite con HMA a nivel de invernadero.



El inóculo multiespecífico fue quien generó plantas de *Prosopis laevigata* con las mejores características morfológicas en comparación al monoespecífico y al testigo; la presencia de varias especies de HMA en el inóculo incrementaron las probabilidades de éxito en el establecimiento de la simbiosis, ya que se logró establecer una o varias especies fúngicas en el sistema radical del mezquite que son funcionalmente complementarias. Es decir, que la raíz del mezquite a través de los exudados radicales seleccionó a aquellos hongos micorrízicos arbusculares que poseen funciones que la complementan; de manera que, al existir micelio interno y externo de diversos hongos se vuelve más eficiente la exploración-captación-transferencia de nutrimentos minerales del sustrato hacia la planta como lo mencionan Van der Heijden *et al.* (1998) y Koide (2000).

CONCLUSIONES

- ✚ La densidad de esporas viables en la rizósfera de las 16 plantas evaluadas fue variable y depende tanto del hospedero como de los HMA que colonizan su raíz.
- ✚ *Hechtia podantha* y *Euphorbia antisiphylitica* presentaron valores bajos de colonización micorrízica arbuscular (2%) y (4%) respectivamente, mientras que *Bouteloua curtipendula* (72.7%) y *Fouquieria splendens* (58.3%), presentaron los valores más altos de colonización, quizás en función de la dependencia micorrízica, la fenología de las especies vegetales y/o la diversidad de los HMA asociados a su rizósfera.
- ✚ El género de HMA que estuvo presente en el 93.75% de las plantas evaluadas fue *Glomus*, indicando que se adapta a diferentes condiciones rizosféricas.
- ✚ El género *Scutellospora* se presentó en el 43% de las especies vegetales, *Gigaspora* en el 37.5%, *Acaulospora* en el 18.75 %, mientras que *Entrophospora* y *Ambispora* se encontraron asociados a una sola especie vegetal (6.25%).
- ✚ Ninguna de las especies vegetales revisadas presentó en su rizósfera a los seis géneros de HMA; *Bouteloua curtipendula* y *Fouquieria splendens* presentaron un máximo de cuatro géneros.
- ✚ Se encontraron 19 especies de HMA, 14 están asociadas a las plantas silvestres del matorral subinmerme de Julián de Villagrán. Tres asociadas a la muestra masificada que pertenecen a la localidad de Santiago de Anaya y dos a González-González, sugiriendo diferencias entre los matorrales del Valle del Mezquital.
- ✚ Las especies de HMA más frecuentes fueron *Glomus geosporum* presente en el 93.75% de las plantas, *Glomus caesaris* en un 56.25%, *Scutellospora scutata* en el 31.25% y *Gigaspora ramisporophora* en el 18.75% de las especies vegetales.
- ✚ Las especies: *Acaulospora* aff. *laevis*, *Gigaspora ramisporophora*, *Glomus caesaris*, *Glomus caledonium*, *Glomus claroideum*, *Glomus globiferum*, *Glomus tortuosum* y *Scutellospora nodosa* son el primer reporte para el Valle del Mezquital.
- ✚ *Glomus caesaris* y *Glomus caledonium* son el primer reporte para México de estas especies de hongos micorrízicos arbusculares.



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.

- ✚ De acuerdo a las especies de HMA determinadas y no determinadas, se muestra que las plantas colectadas en el matorral subinermado de Julián de Villagrán albergan en su rizósfera una riqueza de estos hongos aún por conocer.
- ✚ Se logró obtener un inóculo multiespecífico constituido por el consorcio de las especies de HMA: *Glomus caledonium*, *Glomus geosporum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus globiferum*, *Glomus claroideum*, *Glomus* sp1., *Acaulospora* aff. *laevis*, *Scutellospora* aff. *pellucida* y *Gigaspora ramisporophora*, donde la albahaca fue mejor planta trampa que maíz, duplicando la densidad de esporas.
- ✚ Al utilizar a maíz como planta trampa se logró un 30% de colonización a partir de esporas de *Scutellospora* aff. *pellucida*, sin embargo, no se logró la masificación en un lapso de 3 meses, probablemente requiera un período mayor para su propagación.
- ✚ Los ensayos monospóricos realizados bajo condiciones de invernadero ninguno estableció la colonización micorrízica arbuscular.
- ✚ Los HMA del Valle del Mezquital fueron más susceptibles de propagarse a nivel de esporas de forma multiespecífica.
- ✚ El inóculo multiespecífico estableció la simbiosis con *Prosopis laevigata* entre la 3ª y 4ª semana de inoculación, a la 14ª semana colonizó el 73% de la raíz.
- ✚ El inóculo multiespecífico generó plantas de *Prosopis laevigata* con mayor altura número de hojas, área foliar y biomasa seca total, con diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas inoculadas con *Scutellospora* aff. *pellucida* y al tratamiento testigo.

LITERATURA CITADA

- Aguilera-Gómez L.I, Rivas-Manzano I.V, Ocampo-Jiménez O. y Olalde-Portugal V. (2008). Los glomales de las planicies del desierto de Sonora. En: Montaña NM, Camargo-Ricalde SL, García-Sánchez R, Monroy A. (eds.) Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos (Arbuscular mycorrhizae in arid and semiarid ecosystems). Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV, UAM-Iztapalapa, FES-Zaragoza, UNAM. Distrito Federal, México. 460 pp.
- Álvarez-Sánchez J. y Sánchez-Gallén I. (2008) CD-ROM: Catálogo Ilustrado de hongos micorrizógenos arbusculares de la Reserva de la Biosfera de los Tuxtlas. UNAM. Facultad de Ciencias. INE. México.
- Amora L.E. y Varela L. (2009) Cultivo de hongos micorrizógenos arbusculares: hacia la producción de inoculantes. En: Álvarez S.F.J. (ed.). Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas. UNAM. Facultad de Ciencias. Las prensas de ciencias. México. pp. 361.
- Avio L, Pellegrino E, Bonari E. y Giovannetti M. (2006) Functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungal isolates in relation to extraradical micelial networks. *New Phytologist*. 172:347-357.
- Azcón G.A y Barea J.M (1980) Micorrizas. *Investigación y Ciencia* 47:8-16.
- Bago, B, Azcón-Aguilar C, Shachar-Hill y P.E. Pfeffer (2000a) El micelio externo de la micorriza arbuscular como puente simbiótico entre la raíz y su entorno. Pp.78-92. En: Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular. Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. (eds.). IRENAT-Colegio de Postgraduados. Montecillo. Mundi Prensa, México.
- Bago B, Pfeffer P y Shachar-Hill Y. (2000b) Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiology*. Vol.124: 949-957.
- Bárceñas A, Almaraz C, Reyes L, Varela L, Lara B, Guillén A, Carreón Y, Aguirre S. y Chávez A. (2007) Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi on avocado orchards from Michoacan. *Proceedings VI World Avocado Congress*. Viña del Mar, Chile. 12-16 Nov. ISBN No 978-956-17-0413-8.
- Barea M.J, Pozo J.M, Azcón R. y Azcón-Aguilar C. (2005) Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 56 (417): 1761-1778.
- Barragán, V. E. A. (2003) Inoculación micorrízica de *Prosopis laevigata* L. (Mezquite) en condiciones de invernadero y su efecto al trasplante a condiciones de campo. Tesis de licenciatura. FES- Zaragoza. UNAM. México.
- Blaszkowski J. (2009) Pagina web oficial <http://www.lrz-muenchen.de/~schuessler/amphylo/>



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

- Bolan N.S. (1991) A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and soil*. 134: 189-207.
- Bonfante P. y Genre A. (2008) Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective. *Trends in plants science* 9: 492-498.
- Borie F.R, Rubio R, Morales A y Castillo C. (2000) Relación entre densidad de hifas de hongos micorrizógenos Arbusculares y producción de glomalina con las características físicas y químicas de suelos bajo cero labranza. *Revista chilena de historia natural*. 73 (4):749-756
- Brundrett, C.M y Abbott, K.L. (1994) Mycorrhizal fungus propagules in the jarrah forest: I. Seasonal study of inoculum levels. *New Phytologist*. 127: 539-546.
- Brundrett M, Bougher N, Dell B, Grove T. y Malajczuk N. (1996) Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research Monograph 32, Canberra. Información disponible en: <http://mycorrhiza.ag.utk.edu/>
- Camargo-Ricalde S.L. (2001) Some biological aspects of the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 68:15-32.
- Camargo-Ricalde S.L y Esperón-Rodríguez M (2009) Efecto de las islas de recursos sobre la abundancia de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. En: Álvarez S.F.J. (ed.). *Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas*. UNAM. Facultad de Ciencias. Las prensas de ciencias. México. pp. 361.
- Cano C, Dickson S, González-Guerrero M. y Bago A. (2008) In vitro Cultures open new prospects for basic research in Arbuscular Mycorrhizas. En: Varma A. (ed.). 2008. *Mycorrhiza*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp. 627-654.
- Carlson, R.P (1990) *Biología de la producción de cultivos*. Editor AGT. S.A. México. Cap.6 Pp.201-217
- Cruz C, Egsgaard H, Trujillo C, Ambus P, Requena N, Martins L.M.A. y Jacobsen I. (2007) Enzymatic Evidence for the Key Role of Arginine in Nitrogen Translocation by Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Plant Physiology*. 144: 782-792.
- Cuenca G. y Lovera M. (1992) Vesicular-arbuscular mycorrhizae in disturbed and revegetated sites from La Gran Savana, Venezuela. *Can. J. Bot.* 70: 73-79.
- Cuenca G, De Andrade Z. y Escalante G. (1998) Arbuscular mycorrhizae in the rehabilitation of fragile degraded tropical lands. *Biol. Fertl. Soils*. 26: 107-111.

- Espinosa V. D (2000) Diálogo Molecular: Hongo micorrízico arbuscular-raíz en: Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular. Alarcón, A. Y Ferrera-Cerrato, R. (eds.). IRENAT-Colegio de Postgraduados. Montecillo. Mundi Prensa, México. Pp.93-116.
- Ferrera-Cerrato R. y Alarcón A. (2007) Microbiología agrícola. Editorial Trillas. Capítulo 5. pp. 90-119. México.
- Finlay D. R. (2008) Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. Journal of Experimental Botany. Vol. 5. 5: 1115-1126.
- García D.M. (2007). Estudio taxonómico de los hongos micorrízicos arbusculares asociados a *Bouteloua curtipendula* en cuatro poblaciones del Valle del Mezquital, Hgo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza. UNAM. México. Pp-61.
- García-Sánchez R, Monroy A.A y Chimal S.E. (2008) Hongos micorrizógenos arbusculares asociados a diferentes plantas y matorrales del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. En: Montañó NM, Camargo-Ricalde SL, García-Sánchez R, Monroy A. (eds.) Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos (Arbuscular mycorrhizae in arid and semiarid ecosystems). Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV, UAM-Iztapalapa, FES-Zaragoza, UNAM. Distrito Federal, México. 460 pp.
- García-Sánchez, R. (2005) Restauración de la cubierta vegetal de los matorrales semiáridos del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. [En línea]. Cuba. ISBN 959-250-156-4. Disponible en: www.dama.gob.co
- Gavito E.M, Pérez-Castillo D, González-Monterrubio C.F, Vieyra-Hernández T. y Martínez-Trujillo M. (2008) High compatibility between arbuscular mycorrhizal fungal communities and seedlings of different land use types in a tropical dry ecosystem. Mycorrhiza. DOI 10.1007/s00572-008-0203-4.
- Gerdemann J.W y Nicolson T.H (1963) Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans Br Mycol Soc. 46:235-244.
- Gianinazzi-Pearson V, Gollotte A, Lherminier J, Tisserant B, Franken P, Dumas-Gaudot E, Lemoine M.C, Tuinen D y Gianinazzi S (1995) Cellular and molecular approaches in the characterization of symbiotic events in functional arbuscular mycorrhizal associations. Can. J. Bot. 73(suppl.1): S526-S532.
- Gianinazzi-Pearson, V y Gianinazzi S (1983) The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots. Plant and soil. 71: 197-209.
- Giovannetti M. y Gianinazzi P.V (1994) Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. Mycol. Res. 98:705-715.

- Giovannetti M, Sbrana C. y Logi C. (1994) Early processes involved in host recognition by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 127: 703-709.
- Gladstone A. S, Lumini E, Costa M.L, Bonfante P. y Bianciotto V. (2006) Phylogenetic analysis of Glomeromycota by partial LSU rDNA sequences. *Mycorrhiza*. 16: 183-189.
- González-Chávez C, Ferrera-Cerrato R. y Pérez M.J. (1998) Biotecnología de la micorriza arbuscular en fruticultura. Universidad Autónoma Veracruzana y Colegio de Postgraduados. México. Pp.131.
- González-Chávez M.C, Alarcón A y Ferrera-Cerrato R (2008) Biodiversidad funcional de los hongos micorrícicos arbusculares en zonas áridas y semiáridas. En: Montaña NM, Camargo-Ricalde SL, García-Sánchez R, Monroy A. (eds.) *Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos (Arbuscular mycorrhizae in arid and semiarid ecosystems)*. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV, UAM-Iztapalapa, FES-Zaragoza, UNAM. Distrito Federal, México. 460 pp.
- Guadarrama P., Álvarez-Sánchez F.J. (1999) Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, México. *Mycorrhiza*. 8:267-270.
- Guadarrama-Chávez P, Camargo R.S.L, Hernández C.L, y Castillo A.S (2007) Los hongos micorrizógenos arbusculares de la región de Nizanda, Oaxaca, México. *Bol.Soc.Bot.Méx.* 81:131-137.
- Guadarrama-Chávez P, Sánchez-Gallén I, Ramos-Zapata J. y Hernández-Cuevas L. (2008). Infectividad, efectividad y dependencia micorrizica. En: Álvarez-Sánchez J. y Monroy Ata A. (compiladores). *Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración*. UNAM. Facultad de Ciencias. Pp.232.
- Harrison J.M (1997) The arbuscular mycorrhizal symbiosis: an underground association. *Trends in plant science* 2: 54-60.
- Hart M.M. y Reader J. R. (2002). Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 153: 335-344.
- Hause B. y Fester T. (2005) Molecular and biology of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Planta* 221: 184-196.
- Hernández-Cuevas L, Castillo A.S, Guadarrama-Chávez P, Martínez O.Y, Romero R.M.A, Sánchez G. I. (2003) Hongos micorrizógenos arbusculares del Pedregal de San Ángel. UNAM. Facultad de Ciencias. México. Pp.85.

Hernández-Cuevas L, Guadarrama-Chávez P, Sánchez-Gallén I. y Ramos-Zapata J (2008) Micorriza Arbuscular, Colonización intraradical y Extracción de esporas del suelo. En: Álvarez-Sánchez J. y Monroy Ata A. (compiladores). Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración. UNAM. Facultad de Ciencias. Pp.232

<http://invam.caf.wvu.edu/> CONSULTA 2009.

<http://www.lrz-muenchen.de/~schuessler/amphylo/> CONSULTA 2009.

Jansa J, Smith A. F y Smith E. S (2007) Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi? *New Phytologist*. 177: 779-789.

Jasper D.A, Abbott L.K y Robson A.D (1989) Hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus maintain infectivity in dry soil, except when the soil is disturbed. *New Phytologist*. 112:102-107.

Khade W.S. y Aldholeya A (2007). Feasible bioremediation through Arbuscular Mycorrhizal Fungi imparting heavy metal tolerance: A Retrospective. *Bioremediation Journal*. 11:33-43.

Koide T.R. (2000) Functional complementarity in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New phytologist*. 147: 233-235.

López M.L (2007) Evaluación de 5 inóculos multiespecíficos de hongos micorrízicos producidos en el invernadero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores- Zaragoza. UNAM. Pp-105. México, D.F.

Maia C.L. y Yano-Melo A.M. (2001). Germination and germ tube growth of the arbuscular mycorrhizal fungi *Gigaspora albida* in different substrates. *Brazilian Journal of Microbiology*. 32:281-285.

Manjarrez M.J, Alarcón A. y Ferrera-Cerrato R. (2000) Biotecnología de la producción de inóculo micorrízico arbuscular y su control de calidad. En: Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular. Alarcón A. y Ferrera-Cerrato R. (eds.). IRENAT-Colegio de Postgraduados. Montecillo. Mundi-Prensa. México. Pp.239-250.

Marschner H y B. Dell. (1994) Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*. 159:89-102.

Medrano C.H.I. (2002). Obtención de un inóculo endomicorrizico nativo para un agostadero semiárido degradado en Santiago de Anaya, Hidalgo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores- Zaragoza. UNAM. Pp-98. México. D.F.

- Montaño, A.N.M. (2000) Potencialidad de los hongos micorrizógenos arbusculares de las islas de fertilidad de Mezquite (*Prosopis laevigata*) de dos agostaderos semiáridos del Valle de Actopan, México central: un enfoque ecológico para recuperar la vegetación. Tesis de Licenciatura: Biología. FES-Zaragoza. UNAM. México. Pp.150.
- Montaño A.G. (2003) Masificación de inóculos de hongos micorrizógenos arbusculares en invernadero y elaboración de un catálogo de esporas en ambiente multimedia. Reporte de servicio social de la carrera de Biología. Facultad de Estudios Superiores – Zaragoza. UNAM. México, D.F.
- Morales V.J.A. (2005). Establecimiento de cultivos monospóricos de hongos micorrízicos arbusculares de matorrales semi-áridos del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México. Pp-82.
- Moreira M, Baretta D, Sui Mui Tsai, Gomes-da-Costa S.M y Cardoso N.B.J.E. (2007) Biodiversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in *Araucaria angustifolia* forest. *Sci.Agric.* 4:393-399.
- Mummey L.D, Antunes M.P, y Rillig C.M. (2009) Arbuscular mycorrhizal fungi pre-inoculand identity determines community composition in roots. *Soil Biology and Biochemistry.* 41:1173-1179.
- Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Mäder P., Boller T. y Wiemken A. (2003). Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of central Europe. *Applied and Environmental Microbiology.* 69:2816-2824.
- Oehl F. y Sieverding E. (2004). *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *J. Appl. Bot.* 78, 72-82.
- Ordinola A.M.I.S. (2005) Germinación y establecimiento de cuatro especies de leguminosas, bajo el efecto de micorrizas arbusculares, en condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores- Zaragoza. UNAM. México. D.F. pp. 58
- Ortega-Larrocea M.P., Siebe C., Estrada A. y Webster R. (2007). Mycorrhizal inoculum potential of arbuscular mycorrhizal fungi in soils irrigated with wastewater for various lengths of time, as affected by heavy metals and available P. *Applied Soil Ecology.* 37:129-138.
- Palenzuela J, Ferrol N, Boller T, Azcón-Aguilar C. y Oehl F (2008) *Otospora bareai*, a new fungal species in the Glomeromycetes from a dolomitic scrubland in the Natural Park of Sierra de Baza (Granada Spain). *Mycologia.* 100(2).296-305.
- Peterson, R.L. (1992) Adaptations of root structure in relation to biotic and abiotic factors. *Can. J. Bot.* 70: 661-675.

- Phillips J.B y Hayman D.S (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society. 55: 158-160.
- Ramírez-Gerardo M, Álvarez-Sánchez J, Guadarrama-Chávez P y Sánchez-Gallén I. (1997). Estudio de hongos micorrizógenos arbusculares bajo árboles remanentes en un pastizal tropical. Bol. Soc. Bot. México. 61:15-20.
- Rillig C. M. y Mummey L. D. (2006) Mycorrhizas and soil structure. New Phytologist. 171:41-53.
- Roldan-Fajardo, B.E. (1994) Effect of indigenous arbuscular mycorrhizal endophytes on the development of six wild plants colonizing a semi-arid area in south-east Spain. New Phytologist. 127:115-121.
- Rosendahl S. (2008) Communities, populations and individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist. 178:253-266.
- Rosenblueth M, Martínez R.J. y Martínez R.E. (2001) Ecología química en la rizósfera y en las simbiosis de plantas. En: Anaya, A.L., Espinosa, G.F. y Cruz, O.R. (ed.). Relaciones químicas entre organismos: Aspectos básicos y perspectivas de su aplicación. Instituto de Ecología. P y V Editores. México. Pp.99-133.
- Rufyukiri G, Declerck S, Dufey J.E y Delvaux B (2000) Arbuscular Mycorrhizal Fungi might alleviate aluminium toxicity in banana plants. New Phytologist. 148:343-352.
- Schubler A, Schwarzott D y Walker C (2001) A new phylum, the *Glomeromycota* : phylogeny and evolution. Mycol. Res. 105 (12): 1413-1421.
- Schaarschmidt S, González C M, Roitsch T, Strack D, Sonnewald U y Hause B (2007) Regulation of arbuscular mycorrhization by carbon. The symbiotic interaction cannot be improved by increased carbon availability accomplished by root-specifically enhanced invertase activity. Plant Physiology. 143: 1827-1840.
- Sieverding E. y Oehl F. (2006) Revision of *Entrophospora* and description of *Kuklospora* and *Intraspora*, two new genera in the arbuscular mycorrhizal Glomeromycetes. J. Appl. Bot. Food Qual. 80, 69-81.
- Spain J.L, Sieverding E. y Oehl F. (2006) *Appendicispora* : a new genus in the arbuscular mycorrhiza-forming Glomeromycetes, with a discussion of the genus *Archaeospora*. Mycotaxon. 97, 163-182.
- Stutz C.J y Morton B.J. (1996) Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. Can. J. Bot. 74: 1883-1889.

- Stutz C.J, Copeman R, Martin A.C, y Morton B.J. (2000) Patterns of species composition and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in arid regions of southwestern North America and Namibia, Africa. *Can. J. Bot.* 78: 237-245.
- Tester M, Smith S.E, y Smith F.A. (1987) The phenomenon of nonmycorrhizal plants. *Can. J. Bot.* 65: 419-431.
- Tisdall J.M. (1994) Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and soil.* 159: 115-121.
- Toledo M.V (1988) La diversidad biológica de México. *Ciencia y Desarrollo.* 81: 17-30.
- Valiente-Banuet A. (1996) La conservación de los desiertos: Un desafío. *Ocelot Revista mexicana de la conservación. PRONATURA.* 4: 34-37.
- Van der Heijden A.G.M., Scheublin R.T. y Brader A. (2004) Taxonomic and functional diversity in arbuscular mycorrhizal fungi – is there any relationship? *New Phytologist.* 164:201-204.
- Van der Heijden A.G.M, Klironomos N.J, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A y Sanders R.I (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature.* 396: 69-72.
- Varela L, y Trejo D. (2001) Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. *Acta Zoológica Mexicana. Nueva Serie No especial 1:* 39-51.
- Varma A (1999) Functions and application of arbuscular mycorrhizal fungi in arid and semi-arid soils. pp 521-555. En: A.Varma y B. Hock (eds.). *Micorriza.* 2ª Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Walker C y Schüßler A. (2004). Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota. *Mycol. Res.* 108, 979-982.
- Walker C, Vestberg M, Demircik F, Stockinger H, Saito M, Sawaki H, Nishmura I. y Schüßler A. (2007) Molecular phylogeny and new taxa in the Archaeosporales (Glomeromycota): *Ambispora fennica* gen. sp. nov., *Ambisporaceae* fam. nov., and emendation of *Archaeospora* and *Archaeosporaceae*. *Mycol. Res.* 111, 137-153.

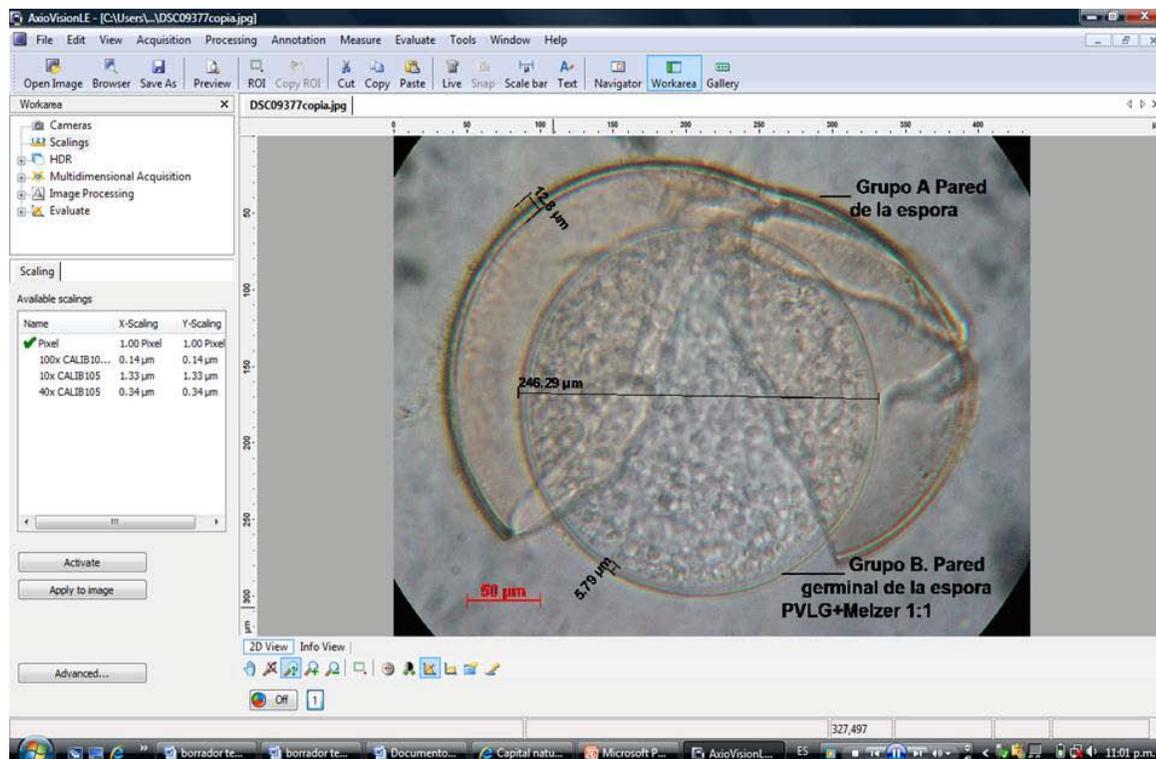
9.- ANEXO

Para describir las especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares en este trabajo, se utilizaron las características morfológicas de las esporas, como el color donde se empleo la carta de colores disponible en el sitio WEB del INVAM. Para evaluar el tamaño de la espora, de la célula germinal (antes se usaba hifa de sostén), escudos de germinación, el tamaño de la pared y de las capas que la componen, se utilizó el software AxionVision ®versión 4.8.0.0. de Zeiss.

A9.1.- Carta de colores utilizada para determinar el color de las esporas.



A9.2. Ventana de trabajo para determinar el tamaño de la espora y capas que componen la pared, en el ejemplo se presenta a *Scutellospora* aff. *pellucida*.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



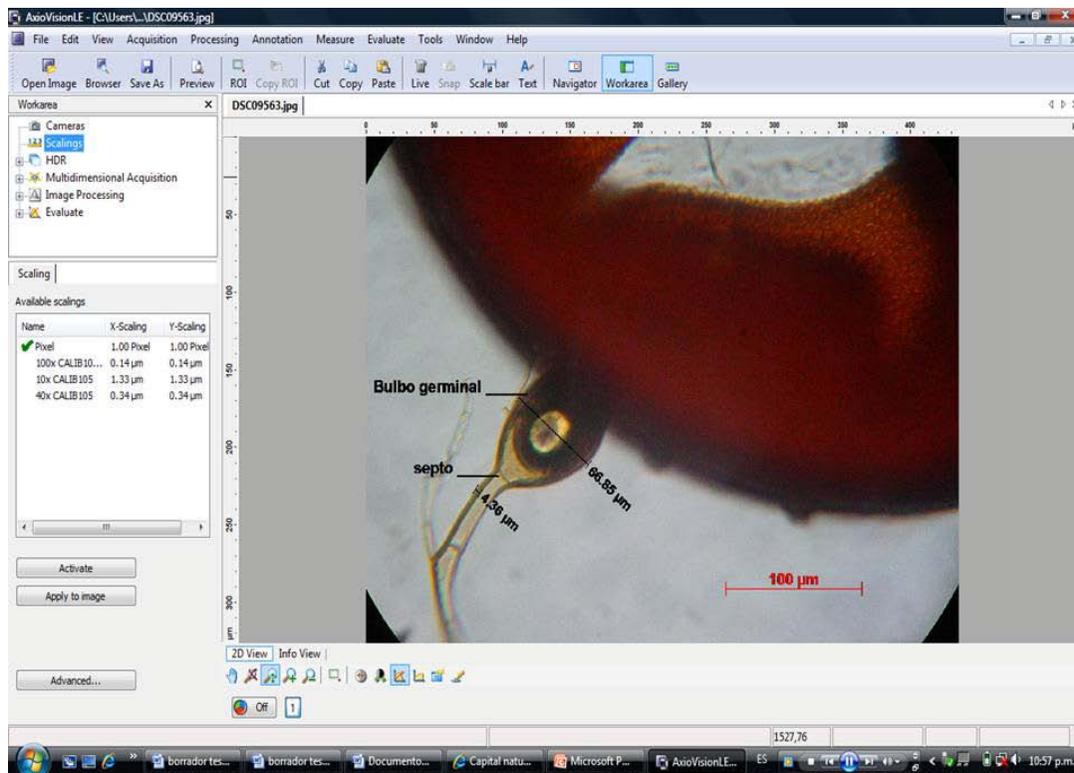
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

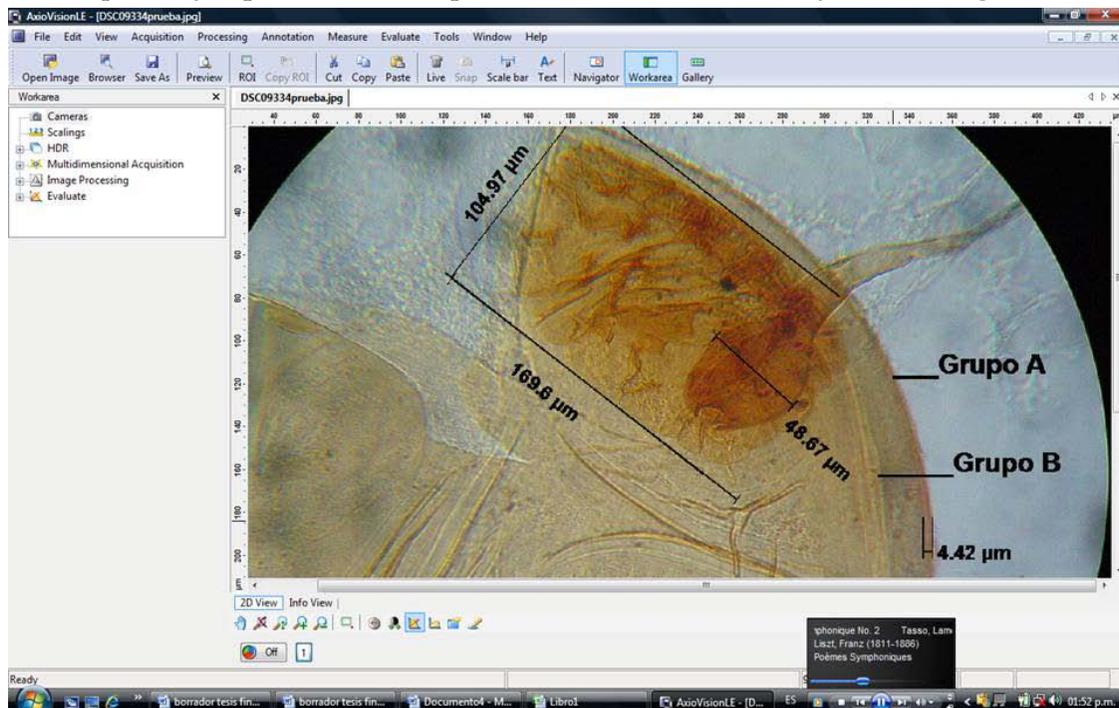
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

A9.3. Ventana del programa AxionVision donde se realizó la medición de las esporas; aquí se observa un ejemplar de *Scutellospora gregaria*, se midió el bulbo germinal así como el grosor de la pared que compone a la hifa.



A9.4.- Aquí un ejemplar de *Scutellospora scutata* midiendo hifa y escudo de germinación.



9.2.- ANEXO

Análisis estadístico.

A9.2.1.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable altura en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata* con los datos de la semana 14 (final del experimento).

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1905.04	2	952.519	51.88	0.000
Intra grupos	330.454	18	18.3586		
Total (Corr.)	2235.49	20			

Prueba de rango múltiple**Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD**

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
altura MS	7	14.3	b
altura testigo	7	15.8	b
altura MM	7	35.2	a

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

MS: tratamiento inóculo monoespecífico MM:tratamiento inóculo multiespecífico.

A9.2.2.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable # de folíolos en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata* con los datos de la semana 14.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2.24E+06	2	1.12E+06	190.98	0.000
Intra grupos	105342	18	5852.32		
Total (Corr.)	2.34E+06	20			

Pruebas de Múltiple Rangos**Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD**

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
# folíolos testigo	7	357.143	b
# folíolos MS	7	395.714	b
# folíolos MM	7	1067.71	a

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

A9.2.3.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable tasa relativa de crecimiento en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata*.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.283412	2	0.141706	52.46	0.000
Intra grupos	0.0486241	18	0.00270134		
Total (Corr.)	0.332036	20			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
Tasa crecimiento MS	7	0.159233	b
Tasa crecimiento TESTIGO	7	0.176307	b
Tasa crecimiento MM	7	0.413763	a

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

A9.2.4.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable área foliar en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata* con los datos de la semana 14.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	25065	2	12532.5	63.63	0.0000
Intra grupos	3545.4	18	196.967		
Total (Corr.)	28610.4	20			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
Área foliar testigo	7	16.7843	b
Área foliar MS	7	20.6786	b
Área foliar MM	7	91.9414	a

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

A9.2.5.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable longitud de raíz en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata* con los datos de la semana 14.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	435.5	2	217.75	7.99	0.0033
Intra grupos	490.786	18	27.2659		
Total (Corr.)	926.286	20			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
Raíz longitud MM	7	27.5714	a
raíz longitud testigo	7	35.4286	b
raíz longitud MS	7	38.3571	b

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

A9.2.6.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable biomasa fresca vástago en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata* con los datos de la semana 14.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	25.2911	2	12.6455	115.7	0.000
Intra grupos	1.9674	18	0.1093		
Total (Corr.)	27.2585	20			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
peso fresco vástago testigo	7	0.658943	b
peso fresco vástago MS	7	0.717743	b
peso fresco vástago MM	7	3.01577	a

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

A9.2.7.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable biomasa fresca raíz en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata* con los datos de la semana 14.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4.07449	2	2.03724	12.68	0.0004
Intra grupos	2.89237	18	0.160687		
Total (Corr.)	6.96686	20			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
peso fresco raíz testigo	7	1.58287	b
peso fresco raíz MS	7	2.08353	b
peso fresco raíz MM	7	2.66091	a

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

A9.2.8.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable biomasa seca vástago en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata* con los datos de la semana 14.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5.05542	2	2.52771	64.11	0.000
Intra grupos	0.709724	18	0.0394291		
Total (Corr.)	5.76515	20			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
peso seco vástago testigo	7	0.205886	b
peso seco vástago MS	7	0.228029	b
peso seco vástago MM	7	1.2576	a

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

A9.2.9.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable biomasa seca raíz en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata* con los datos de la semana 14.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2.9478	2	1.4739	19.21	0.000
Intra grupos	1.3814	18	0.0767442		
Total (Corr.)	4.3292	20			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
peso seco raíz testigo	7	0.694547	b
peso seco raíz MS	7	0.997191	b
peso seco raíz MM	7	1.59619	a

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

A9.2.10.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable biomasa seca total en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata* con los datos de la semana 14.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	15.3377	2	7.66886	43.95	0.000
Intra grupos	3.14112	18	0.174506		
Total (Corr.)	18.4788	20			

Pruebas de Múltiple Rangos**Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD**

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
biomasa seca total testigo	7	0.900433	b
biomasa seca total MS	7	1.22522	b
biomasa seca total MM	7	2.85379	a

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

A9.2.11.- Análisis de varianza (ANOVA) de la variable proporción Raíz/Vástago en los diferentes tratamientos de micorrizas aplicados a *Prosopis laevigata* con los datos de la semana 14.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	41.5217	2	20.7609	15.52	0.0001
Intra grupos	24.0853	18	1.33807		
Total (Corr.)	65.607	20			

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 15.5155, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos**Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD**

	Casos	Media	Grupos Homogéneos*
raíz vástago MM peso seco	7	1.29707	a
Raíz vástago testigo peso seco	7	3.7276	b
raíz vástago MS peso seco	7	4.62584	b

*Letras iguales indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.