

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA Carrera de Biología

Establecimiento de plantas de zacate navajita, *Bouteloua gracilis* (Kunth) Lag. ex Griffiths, inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y sometidas a seguía en condiciones de invernadero

Informe de L. I. F. VII y VIII

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

RODRÍGUEZ CALDERÓN RAMÓN OSVALDO

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN ECOLOGÍA VEGETAL

DIRECTOR:

DR. ARCADIO MONROY ATA



Investigación realizada con financiamiento de la DGAPA, UNAM mediante el proyecto PAPIIT IN-216610

México, D. F.

mayo de 2011





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dedicatoria

A mis padres **Martha y Ramón**:

Que gracias a todo su apoyo, cariño y paciencia me formaron con valores y principios esenciales para forjarme metas y luchar por alcanzarlas.

A mi hermana **Rebeca**:

Que ha sido mi modelo magno a seguir, y que me ha enseñado con hechos que los sueños se pueden hacer realidad aunque con esfuerzo y dedicación.

A mi compañera de vida Itzel:

Por todo su amor y apoyo incondicional, tanto en momentos gratos como en momentos difíciles.

A mis amigos:

Que me brindaron su compañía y cariño en todo momento desde el inicio de nuestra sincera amistad.

Agradecimientos

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** como magna institución por conducto de la **Facultad de Estudios Superiores Zaragoza**, que a través de excelentes profesores, me han brindado la dicha única de ser su colegial.

A los profesores **M. en C. Jorge Alberto Gutiérrez, M. en C. Rosalva García Sánchez** y **Dr. Efraín Ángeles Cervantes** por sus sabios consejos y compartir conmigo su experiencia y conocimientos dándome el soporte necesario para la elaboración de este trabajo.

Al **Dr. Arcadio Monroy Ata** por haber confiado en mis capacidades dándome la oportunidad de unirme a su equipo de trabajo, y por todo el apoyo brindado durante la elaboración de este informe.

A mis sinodales: **Dr. Arcadio Monroy Ata; Dra. Esther Matiana García; Dra. María Socorro Orozco; M. en C. Jorge Alberto Gutiérrez y M. en C. Rosalva García Sánchez,**que gracias a sus revisiones y recomendaciones, ayudaron a

enriquecer el contenido de este trabajo.

En especial a **Itzel Morales Sánchez; Diana Jiménez Cruz; Eduardo Chimal Sánchez; Tania González Vargas y Mitzi Ayala Campos**, que conté con su amistad, ayuda y soporte durante el proceso de realización del presente trabajo, y que todos aportaron algo significativo.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Las micorrizas	3
2.2 Tipos de micorrizas	4
2.3 Estrés hídrico	7
2.4 Bouteloua gracilis	9
2.5 Definición de establecimiento	11
3. JUSTIFICACIÓN	12
4. HIPÓTESIS	14
5. OBJETIVOS	15
6. MATERIAL Y MÉTODOS	16
6.1 Diagrama de flujo de la metodología	16
6.2 Recolecta de semillas	17
6.3 Germinación	17
6.4 Preparación de sustrato	17
6.5 Trasplante	18
6.6 Diseño experimental	18
6.7 Densidad de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares	19
6.8 Capacidad de campo	19
6.9 Establecimiento	20
6.10 Cobertura	20
6.11 Porcentaje de supervivencia	21
6.12 Evapotranspiración, transpiración y evaporación del control	21
6.13 Tasa de crecimiento relativo (TCR)	22
6.14 Potencial hídrico foliar, cociente raíz/vástago, biomasa y ef	iciencia
en el uso del agua (EUA)	22
6.15 Porcentaje de colonización micorrízica arbuscular	23
6.16 Análisis estadístico	23

Rodríguez Calderón Ramón Osvaldo

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24									
7.1 Germinación	24									
7.2 Capacidad de campo										
7.3 Temperatura y humedad										
7.4 Evapotranspiración, transpiración y evaporación										
7.5 Porcentaje de supervivencia										
7.6 Desarrollo vegetal: Tasa de crecimiento relativo (TCR),	altura									
cobertura, hojas, tallos, nudos y espigas.	34									
7.7 Potencial hídrico foliar	40									
7.8 Cociente raíz/vástago	42									
7.9 Eficiencia en el uso del agua (EUA)										
7.10 Biomasa total										
7.11 Porcentaje de colonización micorrízica arbuscular										
8. CONCLUSIONES										
9. RECOMENDACIONES	52									
10. LITERATURA CITADA	53									
11. ANEXOS	60									

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 1. Número de repeticiones y simbología de los tratamientos
- **Cuadro 2.** Resumen estadístico de las variables evaluadas en *B. gracilis* y su respuesta en los diferentes tratamientos
- **Cuadro 3.** Promedios de altura inicial y final (mm) para individuos de *Bouteloua gracilis* y su tasa de crecimiento relativo (TCR) en los 4 tratamientos
- **Cuadro 4.** Promedio de peso húmedo y seco para raíz y vástago de organismos de *Bouteloua gracilis* de los 4 tratamientos; eficiencia en el uso del agua (EUA); cociente raíz/vástago; y total de agua irrigada durante el experimento
- **Cuadro 5.** Porcentaje de colonización micorrízica arbuscular en plantas de *Bouteloua gracilis* bajo 4 tratamientos
- Cuadro 6. Síntesis de las evaluaciones biológicas obtenida en los 4 tratamientos de Bouteloua gracilis

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1: Tipos de micorrizas
- Figura 2. Bouteloua gracilis
- Figura 3. Unidad experimental (maceta)
- Figura 4. Medición de la cobertura máxima y mínima de una plántula de Bouteloua gracilis
- **Figura 5.** Determinación del potencial hídrico foliar de plántulas de *B. gracilis* mediante la cámara Schöllander
- Figura 6. Curva de germinación de semillas de *Bouteloua gracilis*
- Figura 7. Germinación de las semillas de B. gracilis
- Figura 8. Temperaturas máximas y mínimas registradas
- Figura 9. Porcentajes de humedad registrados
- Figura 10. Evapotranspiración y transpiración acumulada de Bouteloua gracilis
- **Figura 11.** Curva de supervivencia de *Bouteloua gracilis* para los 4 tratamientos, durante 25 semanas en cultivo en un invernadero
- **Figura 12.** Tasa de crecimiento relativo (TCR) para los 4 tratamientos
- **Figura 13.** Organismos muertos de *Bouteloua gracilis* del tratamiento no micorrizado seco (M-S), a la semana 17 del experimento
- Figura 14. Diagramas de cajas para las variables de desarrollo vegetal de B. gracilis
- Figura 15. Espigas de Bouteloua gracilis a la semana 17 de tratamiento
- Figura 16. Unidades experimentales de Bouteloua gracilis a las 26 semanas de tratamiento
- **Figura 17.** Potencial hídrico foliar de *Bouteloua gracilis* para los 4 tratamientos, a 26 semanas de experimentación
- Figura 18. Relación del cociente raíz/vástago de Bouteloua gracilis (final del experimento)
- Figura 19. Raíces de organismos de Bouteloua gracilis
- Figura 20. UEA de Bouteloua gracilis para los 4 tratamientos al final del experimento
- Figura 21. Biomasa húmeda total de Bouteloua gracilis en los 4 tratamientos al final del experimento
- Figura 22. Biomasa seca total de Bouteloua gracilis en los 4 tratamientos al final del experimento
- Figura 23. Colonización micorrízica arbuscular de Bouteloua gracilis
- **Figura 24.** Porcentaje de colonización micorrízica arbuscular de *Bouteloua gracilis* al final del experimento

RESUMEN

Con el objetivo de conocer parte del reservorio de respuestas de la asociación entre hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y una gramínea perenne, se estudió la respuesta de la inoculación de plántulas con HMA, bajo dos regímenes de riego semanal: húmedo y seco (capacidad de campo del sustrato utilizado y la mitad de volumen de agua de ésta, respectivamente), sobre el desarrollo, supervivencia y tolerancia a la seguía de Bouteloua gracilis (Poaceae), en condiciones de invernadero. Las preguntas iniciales fueron: ¿Cómo influye la micorrización sobre el crecimiento de plantas de B. gracilis sometidas a estrés hídrico? ¿Las condiciones de humedad en el sustrato influyen en la micorrización de raíces de B. gracilis? Al final del experimento se determinó el potencial hídrico foliar, cociente raíz/vástago (R/S), eficiencia del uso del agua (EUA), biomasa seca y húmeda, porcentaje de colonización micorrícica y la tasa de crecimiento relativo (TCR). Los resultados mostraron que los dos tratamientos húmedos tuvieron una respuesta significativa en crecimiento, en producción de biomasa y en supervivencia, respecto a los testigos secos. Asimismo la micorriza favorece significativamente establecimiento y crecimiento de B. gracilis bajo condiciones de sequía. Se concluye que el tratamiento húmedo favorece significativamente micorrización de un 40 a un 63%, que la antesis es función de la humedad y no de la micorrización y que en condiciones de capacidad de campo del sustrato, la micorrización incrementa la EUA en un 70%. Finalmente se recomienda micorrizar las plantas de esta gramínea en programas de repoblamiento vegetal de matorrales xerófilos deteriorados...

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas ecológicos en el mundo es el cambio de uso del suelo por actividades agropecuarias, que provocan su degradación y reduce su fertilidad (Morláns, 2007). Estos factores constituyen un obstáculo para la regeneración natural de los ecosistemas.

La cubierta vegetal es de gran importancia para evitar la erosión, mantener la calidad de los suelos, conservar la estructura física y el contenido de materia orgánica. Estas características favorecen el mantenimiento de los ciclos biogeoquímicos, ayudan a la disponibilidad de nutrimentos y conservan poblaciones microbianas que establecen relaciones benéficas con las plantas (Pérez, 2008; Maestre, 2002).

Las zonas áridas y semiáridas de México ocupan entre 50 y 60% de la superficie total del país. En estas regiones la precipitación media anual generalmente es inferior a 550 mm (Anónimo, 2009; Monroy *et al.*, 2007); En estas zonas, uno de los factores limitantes es el agua, donde la precipitación no percola profundamente, provocando alta acumulación de sales en las capas superficiales del suelo, dificultando la asimilación de los minerales entre los cuales destaca el fósforo, que comúnmente se encuentra en formas insolubles de difícil asimilación para las plantas. Además existen cambios drásticos de temperatura que dificultan el establecimiento de la cubierta vegetal (Rzedowski, 1978). Sin embargo, existen especies que son funcionales y han evolucionado en estos ambientes secos (Walter, 1977; Torres, 2005).

Una de las estrategias ecológicas de supervivencia que han adoptado los vegetales de estos ecosistemas es el establecer relaciones simbióticas mutualistas con microorganismos del suelo, como los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) (González *et al.*, 2005). Estos microorganismos generalmente colonizan la rizósfera, ayudan a fijar nutrimentos y reducen la pérdida de capacidades productivas de los vegetales (Pérez, 2008; Maestre, 2002).

Estos hongos forman asociaciones simbióticas con la mayor parte de las plantas vasculares. Es por ello que en este trabajo se analizó el efecto de la inoculación de HMA, en el establecimiento y desarrollo de plantas de *Bouteloua gracilis* (Kunth) Lag. ex Griffiths, en condiciones de invernadero bajo diferentes regímenes de humedad, buscando estudiar la influencia del riego en la micorrización y en organismos de *B. gracilis*. Esta además de ser una especie dominante en la vegetación de los agostaderos en México se caracteriza por su resistencia a la sequía, particularidades que la convierten en una especie ideal para su experimentación con parámetros hídricos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Las micorrizas

El término micorriza fue utilizado por primera vez en 1885 por Frank para describir las estructuras modificadas de la raíz de arboles forestales y desde entonces ha sido utilizado para describir la asociación simbiótica mutualista que se presenta entre las raíces de las plantas y ciertos hongos del suelo. La asociación simbiótica puede estar constituida por especies de hongos pertenecientes a los phylum: Ascomycota, Basidiomycota o Glomeromycota (Chimal, 2010) y distintas plantas vasculares (Finlay, 2008; Monroy, 2009). Esta simbiosis se caracteriza porque ambos simbiontes reciben beneficios, la planta hospedera recibe nutrimentos minerales especialmente el fósforo captado por el hongo mientras que este a cambio obtiene carbohidratos derivados de la fotosíntesis (Sánchez, 2005). Asimismo, se ha comprobado que dicha asociación simbiótica llega a reducir los efectos negativos causados por la presencia de patógenos en las raíces; sin embargo, dicha eficiencia va a variar de acuerdo al tipo de hongo micorrizógeno, al patógeno y a las condiciones ambientales presentes en determinados ecosistemas (Barea, 1998; Hernández *et* al., 2003; Sánchez-Colín, 2005).

2.2 Tipos de micorrizas

De acuerdo a Finlay (2008) existen siete diferentes tipos de micorrizas (Fig.1) y que han sido distinguidas o agrupadas con base en sus características morfológicas y a las especies de hongos y plantas involucradas (Álvarez, 2008).

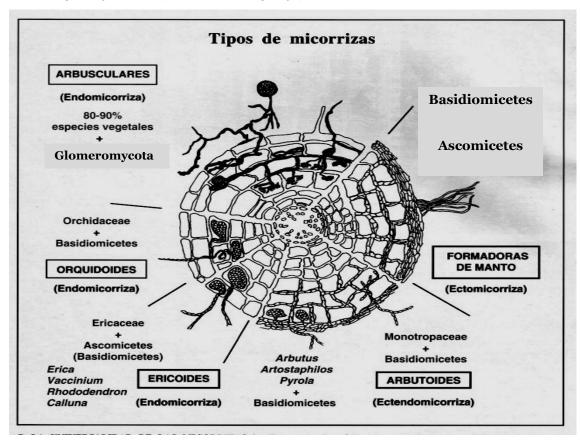


Figura 1: Tipos de micorrizas (modificado de Barea, 1998).

A continuación se describen brevemente los tipos de micorrizas resaltando la micorriza arbuscular la cual es materia de aplicación en el presente trabajo de investigación:

a) La micorriza arbuscular (MA), es una asociación simbiótica formada por hongos pertenecientes al phylum *Glomeromycota* y casi el 90% de las plantas, se caracteriza morfológicamente porque el hongo desarrolla estructuras altamente especializadas en el intercambio de nutrimentos denominadas arbúsculos y que se forman dentro de las células corticales de su hospedero también presentan hifas cenocíticas dentro y fuera de la raíz, estas últimas son conocidas como micelio extrarradical y su función es explorar y absorber el fósforo en el suelo de forma más eficiente; otras estructuras que se forman

dentro de las raíces son las vesículas las cuales son órganos de reserva para el hongo, sin embargo, no todos los géneros de HMA los forman (González *et al.*, 2005; Finlay, 2008).

- b) Las ectomicorrizas (ECM) son un segundo tipo de micorriza formada entre árboles y plantas perennes principalmente de climas templados o fríos y hongos de las clases Basidiomycetes y Ascomycetes. Morfológicamente la simbiosis se caracteriza porque el hongo no penetra en las células del hospedero, es común encontrar un manto fúngico alrededor de la raíz el cual se encarga de explorar y obtener nutrimentos del suelo, también hay una red intercelular de hifas penetrando entre las células epidérmicas y corticales denominada red de hartig y es la superficie de contacto con el hospedero para el intercambio de nutrimentos (Finlay, 2008).
- c) Las ectendomicorrizas presentan hifas septadas con colonización a nivel intracelular. Pueden desarrollarse con o sin manto, pero siempre tienen Red de Hartig (De Miguel, 1999).
- d) Arbutoides presentan un manto externo junto con hifas que penetran a las células para formar rulos (De Miguel, 1999).
- e) Monotropoides presentan hifas septadas con colonización intracelular, desarrollan manto y Red de Hartig (De Miguel, 1999).
- f) Las micorrizas de las orquídeas constan de hifas enrolladas (ovillos o rizos) dentro de las células radicales e incluso de tallos de plantas pertenecientes a la familia de las Orchidaceae. Las plántulas jóvenes de las mismas y algunas adultas a las que les falta la clorofila dependen totalmente del hongo micorrícico para sobrevivir (García, 2002).
- g) La micorriza ericoide es formada en tres familias de plantas: *Ericaceae*, *Empetraceae* y *Epacritaceae* todas pertenecientes al orden Ericales. Alrededor de 3400 especies de plantas forman este tipo de micorriza con varios hongos del phylum Ascomycota. Se presenta principalmente en bosques boreales aunque se puede encontrar en zonas climáticas del mediterráneo. En la simbiosis el hongo

penetra la pared celular de la raíz y forma estructuras enrolladas dentro de la célula sin penetrar el plasmalema de su hospedero (Finlay, 2008; García, 2002).

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) establecen una de las simbiosis más extendida en el planeta, se estima que casi el 90% de las plantas terrestres presentan este tipo de mutualismo (Barea, 1998). Esta asociación cosmopolita ha sido encontrada en la mayoría de los ecosistemas incluyendo los áridos y semiáridos. La diversidad de especies micorrícicas y el desarrollo y colonización de raíces de las plantas establecidas en estas áreas es muy variable. La diversidad de especies micorrícicas depende del tamaño del área estudiada, estación del año, características edáficas y latitud (Montaño *et al.*, 2008).

La abundancia de hábitats de estos y otros hongos les permite ser organismos muy versátiles en sus ciclos de vida, con una elevada capacidad de crecer, según la cantidad de carbono que la planta le proporcione (Tena 2002). La simbiosis micorrícico arbuscular se forma cuando la raíz del hospedero y el hongo son compatibles en condiciones favorables en la rizósfera, (García 2006). La simbiosis se inicia cuando germina una espora o por fragmentos de raíz con hifas y en muchos casos se tiene una red de hifas que preexistieron en el suelo como resultado de anteriores raíces micorrizadas (García 2006; Tena 2002). La hifa que surge al germinar la espora tiene una capacidad limitada de crecer y puede morir si no encuentra una raíz susceptible de micorrizar al cabo de una semana. Las hifas del suelo se conocen como hifas extrarradicales o externas y se ramifican dentro del suelo siendo responsables de la adquisición de los nutrientes, de la propagación de la asociación y la formación de esporas, entre otras (García, 2006; Guzmán y Farías, 2005).

La microbiota del suelo, como los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), juega un papel fundamental en la regulación de los ecosistemas terrestres influyendo en la estabilización y formación del suelo (Cuenca *et al.*, 2007), determinan la composición vegetal, la productividad, diversidad y sustentabilidad en diferentes ecosistemas (Martínez y Pugnaire, 2009), su participación puede ser mayor y quizás decisiva en ecosistemas áridos y semiáridos donde el estrés hídrico y las deficiencias de nutrimentos son los

factores principales que limitan la productividad primaria (Camargo-Ricalde y Dhillion, 2003). Los HMA aportan beneficios como el incremento en la eficiencia de las plantas para la absorción, traslocación y transferencia de nutrimentos del suelo especialmente aquellos que se difunden lentamente como P, N, K, Ca y S; también se ha observado que participan en el transporte activo de micronutrientes como Zn y Cu, debido al diámetro y longitud de sus hifas que les permite explorar un mayor volumen del ambiente edáfico. El efecto positivo de los hongos micorrizógenos arbusculares se pueden observar en la planta hospedera, al incrementarse su adecuación (reproducción y supervivencia) y producción de biomasa (Ramos y Guadarrama, 2004; Camargo-Ricalde y Dhillion, 2003).

2.3 Estrés hídrico

El estrés hídrico en plantas puede definirse como un déficit en la hidratación de los tejidos vegetales, presentando un potencial hídrico lo bastantemente negativo como para dañar a la planta y amenazar su supervivencia (Torres, 2005). Si no hay nuevos aportes de agua, el suelo se irá secando con el transcurso de los días, originando un estrés hídrico en la planta que puede ser perjudicial al poner en riesgo el crecimiento celular, de manera que la sequía reduce la expansión y el área foliar. Esto es ocasionado cuando el déficit hídrico es severo, lo que acelera la senescencia de hojas maduras; además, la fotosíntesis y la transpiración se abaten debido a la reducción de la turgencia, al cierre estomático y al bloqueo a la difusión de CO2 (Parra *et al.*, 1999).

Las especies perennes como *Saccharum officinarum* (caña de azúcar) y algunas especies del género *Soghum* (Sorgo negro) con un metabolismo tipo C₄, cuentan con una mayor resistencia estomática a la pérdida de agua (Allen *et al.* 1981), esto las hace más hábiles para sobrevivir en suelos secos. A medida que el suelo se seca y su potencial hídrico decrece, las plantas también deben disminuir su potencial hídrico para mantener un gradiente favorable en el flujo de agua hacia la raíz (Valle *et al.*, 2009).

El cierre de estomas se ha asociado con una rápida síntesis y distribución de ácido abscísico, ya que un mecanismo que contribuye a la resistencia a la sequía es el ajuste osmótico. Esto es una habilidad de las plantas para acumular solutos activamente ante un déficit hídrico. Este mecanismo permite mantener un potencial de turgencia alto, a pesar del descenso en el potencial hídrico, lo que trae como consecuencia que después del periodo de sequía, la apertura del estoma, la expansión foliar, la transpiración y la fotosíntesis se mantengan funcionando por más tiempo (Allen *et al.* 1981; Parra *et al.*, 1999). Otra respuesta metabólica de las plantas a la deshidratación es la acumulación de sustancias en vacuolas de las células vegetales, como la prolina, que es un aminoácido cuya concentración se incrementa notoriamente en condiciones de sequía, en alta o baja temperatura, o por deficiencias nutrimentales (Parra *et al.*, 1999).

La asociación de las plantas con HMA es una estrategia ecológica para resistir las condiciones adversas; la interacción permite a la planta aclimatarse y continuar con la asimilación de nutrientes en las etapas sucesivas del desarrollo, mejorando la asimilación relativa del agua, las tasas de transpiración y de intercambio de CO2 y la eficiencia en el uso de agua, porque propician el ajuste osmótico celular (Flores, 1994; Parra *et al.*, 1999).

El movimiento del agua se puede explicar por la existencia de gradientes de potencial hídrico a lo largo de su recorrido a través de la planta; dicho movimiento es: suelo-raíz, raíz-tallo, tallo-hoja (a través de los pecíolos) y hoja-atmósfera (Barajas *et al.*, 2006). Por ello el potencial hídrico puede definirse como la suma de dos medidas cuantitativas: presión hidrostática y presión osmótica, donde el agua siempre se mueve de una región de alto potencial hídrico a una región de menor potencial hídrico (Torres, 2005).

A su vez, un parámetro usado para mostrar el total del CO_2 (beneficio) captado por unidad de agua perdida (costo), es la eficiencia en el uso del agua (EUA), el cual puede definirse como las moléculas de dióxido de carbono capturadas por molécula de agua transpirada por el vegetal. En la práctica se

mide como el cociente entre los gramos de biomasa seca producida y los mm de agua irrigada.

2.4 Bouteloua gracilis

A) Clasificación taxonómica

Reino Plantae

Subreino Tracheobionta
Superdivisión Spermatophyta
División Magnoliophyta

Clase Liliopsida-Monocotiledónea

Subclase Commelinidae

Orden Poales
Familia Poaceae
Género Bouteloua

Especie Bouteloua gracilis USDA (2011).

El zacate navajita [Bouteloua gracilis (Kunth) Lag. ex Griffiths], es una de las gramíneas dominante o codominante en el estrato herbáceo más importantes en los agostaderos de las zonas semisecas de Norteamérica (Sur de los Estados Unidos y Norte de México) (Fig. 2). Es una especie perenne con metabolismo C₄, densamente amacollada; se encuentra adaptada a fuertes presiones ambientales como sequías frecuentes, pastoreo, fuegos naturales periódicos y por estas condiciones muestra alta funcionalidad (Arredondo et al., 2005). Asimismo, tiene la capacidad de producir nuevas raíces en el nivel de la superficie del suelo cuando se encuentra expuesta a la precipitación (Monroy et al., 2000; Rzedowski, 1978).



Figura 2. Bouteloua gracilis. Fotografía tomada en Parque Ecológico "Cubitos" en marzo del 2010.

Presenta tallos erectos de 20 a 50 cm de altura, a veces mayores, lígula en forma de una franja de pelos cortos; limbos planos o ligeramente enrollados, de 1 a 2 mm de ancho; por lo regular, primera gluma de 3 a 3.5 mm de largo, ramas de la inflorescencia 1 a 4, por lo común de 2 a 6 cm de largo; las espiguillas por lo general de 40 a 100, densamente dispuestas a manera de peine, divergentes, con raquis aplanado sin prolongación mas allá de las espiguillas, que tienen unos 5 mm de longitud, numerosas, hasta 80; lema fértil pilosa, con aristas delgadas, lóbulos intermedios agudos; rudimento densamente barbado en el ápice de la raquilla, hendido hasta la base, con lóbulos redondeados (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

El zacate navajita es una especie dominante del Valle del Mezquital, en cuanto a cobertura y control del flujo de energía, sin embargo su área de distribución actual en el Valle está muy restringida y se le encuentra únicamente en sitios protegidos por el pastoreo, como es el Parque Ecológico "Cubitos", en micrositios no accesibles al ganado y en el interior de matorrales espinosos (Monroy *et al.*, 2000).

2.5 Definición de establecimiento

El desarrollo de plántulas a partir de semilla implica una serie de eventos determinantes y aleatorios dentro de un ambiente heterogéneo, en el cual el grado de heterogeneidad ambiental está referido al tamaño del grano de la semilla; en esta heterogeneidad hay un gran número de propágulos presentes en el banco de semillas, aunque sólo una fracción de ellas germinan y emergen, lo que muestra que la presencia de plántulas depende no sólo de la existencia de semillas, sino de la frecuencia de micrositios favorables para el establecimiento de las especies, lo que se reflejará en los patrones de distribución de las plantas adultas de una cohorte particular (García-Sánchez y Monroy-Ata, 2005).

El desarrollo de una plántula ocurre en tres estados generales que incluyen: estado heterotrófico; estado de transición y estado autotrófico. Por lo que se considera una plántula como establecida cuando es completamente autotrófica (Flores, 1994).

Connor y Loomis (2002) mencionan que el establecimiento de plántulas requiere un desarrollo continuo de la germinación. Suponiendo que exista humedad suficiente para mantener la hidratación y el oxígeno necesario para la respiración, la tasa de establecimiento depende estrechamente de la temperatura. En estos momentos, el desarrollo continúa dependiendo de la movilización de reservas de la semilla para abastecer las necesidades del crecimiento de los sistemas aéreo y radical.

Con respecto a lo anterior y en función de los objetivos de la investigación, en este trabajo se consideró que la plántula, que depende de los cotiledones para obtener su alimento no está establecida. Al contrario, cuando la planta es capaz de obtener del suelo y del sol lo que necesita para sobrevivir, absorbiendo elementos del suelo y lleva a cabo la fotosíntesis activamente se le considera una planta independiente y establecida.

3. JUSTIFICACIÓN

Las zonas semisecas al igual que los demás ecosistemas terrestres se encuentran sometidos a una fuerte presión por las actividades humanas, donde la fertilidad del suelo se ve disminuida generando la pérdida de la cubierta vegetal y de la biota edáfica, dentro de la cual se encuentran los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), quienes se asocian simbióticamente con las plantas; estos hongos facilitan al hospedero la absorción de agua y nutrimentos, por lo que su presencia en el suelo, sobre todo en aquellos lugares donde el suelo se encuentra deteriorado y las condiciones climáticas son extremas, es esencial en la supervivencia de las plantas. Los vegetales han desarrollado diversas estrategias para sobrevivir, entre ellas se resalta la simbiosis mutualista con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA). Estos hongos colonizan las raíces de las plantas y ayudan a plantas nodrizas a formar islas de fertilidad y conformar gremios ecológicos (González et al., 2005; Monroy et al., 2007). Por ello es el interés de utilizar microorganismos como herramienta ecológica para la producción de plantas de áreas perturbadas y en recuperación, ya que estos ecosistemas se ven limitados por la incapacidad de los hongos de propagarse en ausencia de su hospedero.

A pesar de que existe mucha información acerca de los efectos y beneficios que proporcionan los hongos micorrizógenos arbusculares a su hospedero, también es importante conocer más la biología de la micorriza, especialmente en zonas áridas y semiáridas, ya que son potencialmente utilizadas para la producción agrícola (González *et al.*, 2005; Montaño *et al.*, 2008). Y estudiar los factores que permiten la micorrización de especies clave en zonas perturbadas y beneficien su establecimiento con la finalidad de recuperar fertilidad del suelo.

En ecosistemas áridos y semiáridos, las hifas de los HMA exploran grandes volúmenes de suelo a mayores profundidades y distancias que las raíces de las plantas. Esto permite suministrar agua y nutrientes a otros vegetales asociados (Montaño *et al.*, 2008). *B. gracilis* es una especie que se distribuye desde Canadá hasta Oaxaca en México, principalmente en las zonas áridas y

semiáridas; es dominante en pastizales extensos o codominante en asociación con otros elementos arbustivos o arbóreos (Escalante, 1999). Los pastizales en su mayoría están sujetos a sobrepastoreo, situación que inhibe el desarrollo de la comunidad vegetal. Estas perturbaciones impiden que el suelo desarrolle nueva cobertura vegetal y quede expuesto erosión eólica e hídrica (Jurado *et al.*, 2006; Monroy, 2000).

Por otro lado, conservar especies como *B. gracilis* es de gran importancia desde el punto de vista biológico y biogeográfico, ya que México es considerado un centro de dispersión de esta especie (Escalante, 1999). En este trabajo se pretende buscar una alternativa que mitigue la problemática de ecosistemas deteriorados, permitiendo la recuperación de la cubierta vegetal, evitar el deterioro del suelo y conservar el germoplasma de *B. gracilis*. Evaluando el efecto de la micorrización en plantas de zacate navajita. Por ello se plantearon las siguientes preguntas: ¿Cómo influye la micorrización sobre el crecimiento de plantas de *B. gracilis* sometidas a estrés hídrico? ¿Las condiciones de humedad en el sustrato influyen en la micorrización de raíces de *B. gracilis*?

4. HIPÓTESIS

Las hifas de los HMA en plantas micorrizadas exploran mayor volumen de suelo que las raíces no inoculadas, esto favorece una mayor captación de agua para plantas de *Bouteloua gracilis*, la cual es determinante para el éxito del establecimiento y un mayor rendimiento en su uso eficiente del agua. Es de esperarse que las plantas inoculadas de *B. gracilis* presentarán mayores porcentajes de establecimiento y un uso eficiente del agua significativamente mayor que la de plantas no inoculadas, en diferentes condiciones de humedad.

5. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

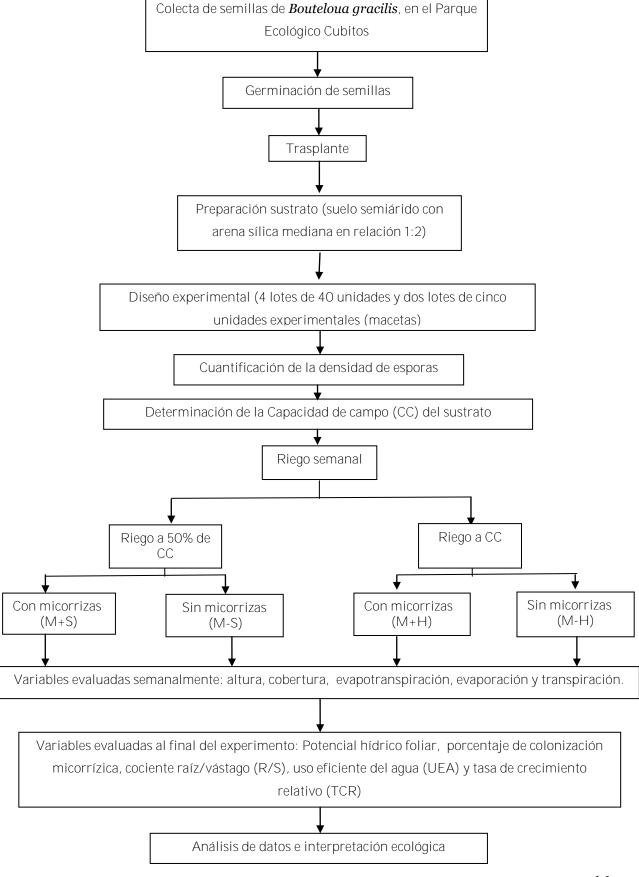
Evaluar en plantas de *Bouteloua gracilis* el establecimiento y micorrización con HMA bajo dos regímenes de riego.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el desarrollo de plantas de *B. gracilis*, micorrizadas y sometidas a dos condiciones de riego.
- Determinar la eficiencia en el uso del agua en plantas micorrizadas y no micorrizadas en dos condiciones de riego.
- Comparar el potencial hídrico en los diferentes tratamientos de inoculación y humedad.
- Evaluar durante seis meses el crecimiento de plantas de *B. gracilis*.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Diagrama de flujo de la metodología



El experimento se realizó en el invernadero de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza (UNAM), se instaló en bancales con orientación norte-sur, del 9 de julio del 2009 al 7 de enero del 2010, contemplando un lapso de 26 semanas de experimentación en fase de invernadero.

6.2 Recolecta de semillas

Se realizó una colecta de semillas de *Bouteloua gracilis*, en el Parque Ecológico Cubitos, Pachuca, Hidalgo. Con coordenadas 20° 6' y 20° 7' latitud norte 98°44' y 98° 45' longitud oeste en octubre de 2008.

6.3 Germinación

Las cariópsides de *Bouteloua gracilis*, fueron retiradas manualmente, con la ayuda de agujas de disección. Posteriormente se sometieron a remojo en agua corriente por aproximadamente 20 segundos. Veinte frutos se colocaron en cada caja Petri previamente acondicionadas con una cama de algodón humedecida y cubierta con papel filtro (Luna, 2005; Carrillo *et al.*, 2009). En total se montaron 25 cajas con 20 semillas cada una, para asegurar el número de plántulas y que cada unidad experimental contara con al menos un organismo después del trasplante. Las semillas germinaron dentro de un rango de temperatura de 22-37 °C.

Con la siguiente fórmula se estimó el porcentaje de germinación (García *et al.*, 2006):

6.4 Preparación de sustrato

Se preparó una mezcla homogénea de sustrato conformada por arena sílica de tamaño mediano y suelo de un agostadero, extraído de Valle de Actopan, Municipio de Santiago de Anaya, Hidalgo, con proporción 1:2 (v/v). La sílica se agregó para facilitar la infiltración del agua, airear el suelo, evitar su compactación y favorecer la micorrización mejorando su textura. Una vez

mezclado, el sustrato se esterilizó en autoclave, durante una hora a una temperatura de 120 °C y una presión de 15 libras.

6.5 Trasplante

Debido al bajo índice de establecimiento de plántulas de *Bouteloua gracilis*, fue necesario incrementar el número de plántulas por cada maceta (Fig. 3) en los cuatro tratamientos, con el fin de obtener plántulas necesarias para llevar a cabo el experimento, por ello se trasplantaron 3 plántulas por unidad experimental.



Figura 3. Envase de plástico utilizado como maceta (unidad experimental).

6.5 Diseño experimental

Se montaron cuatro lotes de 40 macetas cada uno y tres plántulas de *Bouteloua gracilis* por maceta. Las macetas se elaboraron con envases de plástico de un litro de capacidad, sin drenaje. Los lotes fueron preparados con 1600 gr de sustrato, particularmente a los micorrizados se les agregó 1560 gr de sustrato y 40 gr de inóculo (con 286 esporas/100 g de suelo aproximadamente), el cual fue extraído del suelo ubicado en los macollos de *B. gracilis* de la zona de colecta. Dicho suelo estuvo compuesto de esporas, restos de raíces de plantas colonizadas y micelio externo de los HMA, donde de acuerdo con Posada *et al.* (2007) se pueden encontrar esporas de HMA. En dos tratamientos las plántulas se sometieron a riego con un 50% de capacidad de campo (CC), uno micorrizado y otro sin micorrizas. Otros dos tratamientos se sometieron a riego semanal a capacidad de campo, uno con micorrizas y el otro sin las mismas. Finalmente se prepararon dos lotes de cinco macetas sin plántulas ni micorrizas para evaluar

la evaporación acumulada del sustrato y posteriormente compararla con la evapotranspiración acumulada de los organismos (cuadro 1). Las macetas no tenían perforaciones de drenaje, a fin de tener un control semanal de la humedad del suelo. Semanalmente se registraron la temperatura y humedad, máxima y mínima del invernadero utilizando un termohigrómetro.

Cuadro 1. Número de repeticiones y simbología de los tratamientos aplicados a *Bouteloua gracilis* bajo condiciones de invernadero.

Micorrización/	micorrizado	No	Macetas sin
Tipo de Riego	(M+)	micorrizado	plantas
		(M-)	(Testigo)
Húmedo (H)	40	40	5
	M+H	М-Н	TH
Seco (S)	40	40	5
	M+S	M-S	TS

6.7 Determinación de la densidad de esporas de HMA

El conteo de esporas se realizó mediante la técnica de tamizado y decantación propuesto por Gerdemann y Nicholson, (1963) seguido de una extracción con gradiente de sacarosa al 50%, propuesta por Daniels y Skipper, (1982) (Chimal, 2010).

6.8 Capacidad de campo

La capacidad de campo (CC) se determinó para conocer la capacidad máxima de retención de agua de acuerdo al sustrato utilizado por maceta en los dos diferentes tratamientos (Maderey, 2005), y con base en ellos calcular el agua requerida para el riego semanal. Esta técnica consiste en determinar la CC haciendo pasar 250 ml de agua en 50 gr de suelo seco por un papel filtro y con la ayuda de un embudo, dejando reposar hasta tener peso constante. Finalmente se realizó el cálculo con la siguiente fórmula:

CC= Psh-Pss/Pss x 100

Donde: Psh- Peso de suelo húmedo y Pss- Peso de suelo seco

6.9 Establecimiento

Para lograr el establecimiento de las plántulas al inicio del experimento se regó constantemente por dos semanas, para mantener una reserva hídrica considerable y facilitar la resistencia al trasplante de los organismos de *B. gracilis*. Posteriormente se regó con los regímenes de humedad establecidos y con la medición semanal de las siguientes variables: altura, cobertura, diámetro medio, evapotranspiración, evaporación de agua del sustrato y transpiración de las plantas. El potencial hídrico foliar, porcentaje de colonización, el cociente raíz/vástago (R/S), uso eficiente del agua (UEA) y la tasa de crecimiento relativo (TCR), se determinaron al final del experimento.

6.10 Cobertura

La cobertura total se determinó semanalmente utilizando un vernier digital (Figura 4), midiendo el diámetro mayor y el menor de las plantas. Para calcular el área cubierta por la planta se midió la longitud de las hojas más largas, formando un eje cartesiano. Los diámetros permitieron calcular el área del círculo medio, que fue considerado como la cobertura.



Figura 4. Medición de la cobertura máxima y mínima de una plántula de *Bouteloua gracilis* con un vernier electrónico en la semana 2 del experimento.

6.11 Porcentaje de supervivencia

Para calcular el porcentaje de supervivencia se dividió el número de organismos vivos en la semana 26 que fue el final del experimento, entre el número inicial de individuos en cada uno de los tratamientos, (Luna, 2005).

% Supervivencia = PS / PI

En donde:

PS = Número de plántulas al final del experimento

PI = Número de plántulas al inicio del experimento.

6.12 Evapotranspiración, transpiración y evaporación del control

La evapotranspiración es la cantidad de agua perdida semanalmente por evaporación del suelo de la maceta más la transpiración de la planta (Luna, 2005). Esta se obtuvo mediante los promedios de una diferencia de pesos obtenidos semanalmente:

ETR = PIS - PFS

En donde:

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

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

La evaporación del control EC se determinó mediante la diferencia en peso de los cinco testigos en los tratamientos húmedo y seco, durante cada semana.

EC = PCIS - PCFS

En donde:

PCIS = Peso del control al inicio de la semana (después de cada riego)

PCFS = Peso del control al final de la semana (antes del riego siguiente)

Finalmente se cuantificó la transpiración de los organismos restando la evaporación del control a la evapotranspiración acumulada:

TP = ETR - EC

En donde: TP=Transpiración de la planta; ETR=Evapotranspiración real; EC=Evaporación del control

6.13 Tasa de crecimiento relativo (TCR) se determinó en base a la altura de los organismos de acuerdo a la siguiente fórmula propuesta por Grime (1989) y Villar *et al.* (2004):

TCR= <u>In (altura final)</u> – <u>In (altura inicial)</u>

Número de días

6.14 Medición de Potencial hídrico foliar, cociente raíz/vástago y biomasa y eficiencia en el uso del agua (EUA).

La medición de Potencial hídrico foliar se determinó con la ayuda de una cámara de Schöllander (González y Cantú, 2001; Torres, 2005; Barajas *et al.*, 2006), obteniendo muestras foliares de siete individuos al azar por tratamiento (Figura 5).

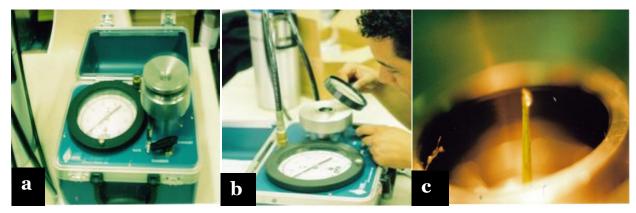


Figura 5. Determinación del potencial hídrico foliar de plántulas de *B. gracilis* mediante la cámara Schöllander. a) Cámara de Schöllander, b) Lectura del manómetro c) Formación de burbuja en la punta de la hoja.

La biomasa seca total de las plantas se determinó obteniendo siete individuos al azar por tratamiento, retirando el organismo del sustrato y mediante lavado a chorro de agua retirando las partículas grandes para posteriormente secar en estufa hasta obtener peso constante. El cociente raíz/vástago (R/V) se calculó después de cosechar las plantas obteniendo la cuantificación del peso seco de la de raíz y la parte aérea de la planta (vástago) (Luna, 2005). Finalmente para cuantificar la EUA se obtuvo el cociente de la siguiente fórmula:

EUA= <u>g. de biomasa seca total</u> Kg. de agua irrigada

6.15 Porcentaje de colonización micorrízica arbuscular

La cuantificación de la colonización micorrízica se obtuvo al observar directamente las raíces teñidas, obtenidas de siete individuos al azar por tratamiento, y contabilizar la frecuencia de aparición de las estructuras fúngicas (micelio externo, esporas y vesículas). Se contabilizó el número de campos observados en el microscopio compuesto donde había presencia de colonización, a través de la técnica modificada de Phillips y Hayman (Álvarez *et al.*, 2008). Utilizando la siguiente fórmula:

$$%C = D/T (100)$$

Donde: D= Presencia de colonización; T= Campos totales observados.

6.16 Análisis estadístico

Se construyeron dos matrices con el software Excel 2007 (Microsoft) de seis lotes con 40 repeticiones por tres (variables), con excepción de los testigos que constaron de cinco repeticiones cada uno. La segunda matriz consistió de cuatro lotes con 40 repeticiones, sin considerar los testigos y 16 variables. Las matrices se exportaron y se analizaron en el paquete estadístico Statgraphics plus. Se calculó la estadística descriptiva para variables no correlacionadas y para corroborar que tuviesen una distribución normal utilizando la prueba de Kruskall-Wallis. Los datos fueron agrupados por la diferencia entre medias de cada variable, usando un análisis de varianza (GLM), seguido de un análisis de comparación de medias de Tukey (p<0.05) y una prueba de rangos múltiples para identificar los tratamientos que presentan diferencias estadísticas significativas.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Germinación

El porcentaje de germinación de semillas de *B. gracilis* fue de 90% en un lapso de cinco días (Figura 6). Este alto porcentaje se atribuye a que las gramíneas como *B. gracilis* son eficientes en la propagación sexual, sus semillas generalmente no presentan latencia, tienen altas tasas de germinación y supervivencia (Carrillo *et al.*, 2009).

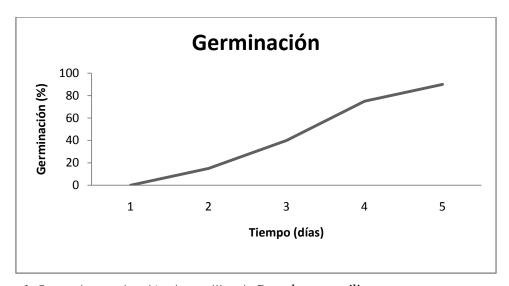


Figura 6. Curva de germinación de semillas de *Bouteloua gracilis*.

Hartmann (1971), menciona que la humedad es esencial para que las semillas germinen. La germinación se inicia con la imbibición, el reblandecimiento del pericarpo y el hinchamiento del cotiledón. Esta hidratación permite que los nutrimentos de reserva sean hidrolizados a compuestos sencillos.

Las características de las semillas de *Bouteloua gracilis* pueden estar adaptadas a temperaturas cálidas con un rango entre 25 y 40 °C, lo que corresponde a la franja de temperatura favorable para su germinación. La temperatura del invernadero, donde se colocaron las cámaras de germinación (Figura 7), registró temperaturas (20-43 °C) que están dentro del rango óptimo mencionado por Flores (1994).



Figura 7. Germinación de semillas de *B. gracilis* A: Semillas caja Petri; B: Lote de germinación; C: Plántulas de *B. gracilis*.

7.2 Capacidad de campo (CC).

La CC del sustrato utilizado fue de 13.68%. Con base en esta reserva hídrica se aplicó un riego semanal para cada tratamiento "húmedo" a capacidad a campo de 8.42 mm (202.08 mm totales en 6 meses), y un riego semanal a media capacidad de campo a tratamientos "secos", que fue de 4.20 mm (101.04 mm totales en 6 meses). Beltrán et al. (2010) indica que una nueva variedad de pasto Bouteloua gracilis prospera en un rango de entre 250 y 350 mm de precipitación anual en suelos franco y franco-arenoso. Al respecto anónimo (2009) y Monroy et al. (2007) mencionan que la precipitación media anual de las zonas áridas y semiáridas generalmente es inferior a 550 mm (275 en 6 meses), lo cual es indicativo que la CC en el sustrato utilizado se asemeja a precipitación de los ecosistemas naturales donde está presente Bouteloua gracilis.

7.3 Temperatura y Humedad

La temperatura y humedad relativa en la cual se desarrolló *B. gracilis* están dentro del rango de 20 y 40 °C en condiciones semicontroladas en el invernadero (Figuras 8 y 9).

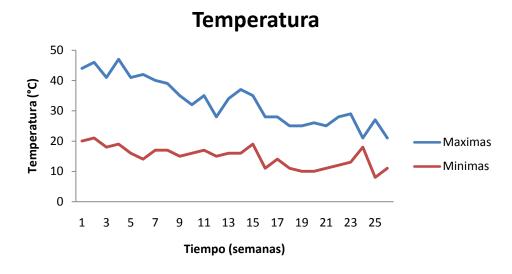


Figura 8. Temperaturas máximas y mínimas registradas durante 25 semanas en el invernadero donde se cultivó *Bouteloua gracilis*.

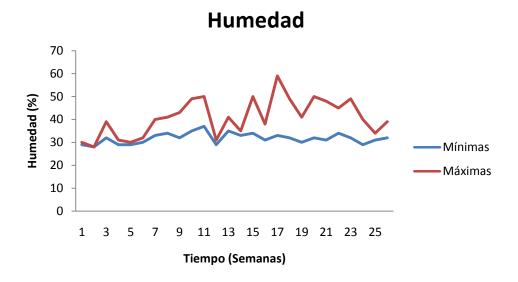


Figura 9. Porcentajes de humedad registrados en un periodo de 25 semanas en el invernadero.

Las plantas de *B. gracilis* de los tratamientos húmedos y en el tratamiento micorrizado seco mostraron mayores índices de supervivencia al trasplante (Cuadro 2). En el tratamiento no micorrizado a medio riego se obtuvieron valores menores, al contar con cinco organismos a la semana 17 de tratamiento y uno solo a la semana 26, confirmando la importancia del agua para la germinación. Además, la escasez de agua reduce potencialmente el desarrollo óptimo de organismos fúngicos y la colonización del hospedero (Chimal, 2010).

La supervivencia en el tratamiento no micorrizado seco fue menor con respecto a los tratamientos micorrizados húmedos y secos. Al respecto García-Sánchez y Monroy-Ata (2005), mencionan que los micrositios de establecimiento y desarrollo de plantas de *B. gracilis* son la resultante de un conjunto de factores donde es esencial la presencia de una reserva hídrica en el suelo que esté accesible a la plántula durante su establecimiento. Esto a su vez confirma lo dicho por Flores (1994), que los organismos de *B. gracilis* no toleran el estrés hídrico a 50% de CC, sin la presencia HMA. La importancia de los HMA radica en que favorecen la supervivencia de la plantas de *B. gracilis* en condiciones de sequia por encima de los tratamientos húmedos no micorrizados, pero con talla y biomasa menor (Cuadro 2).

Por otro lado, los organismos de los tratamientos húmedos, presentaron valores más altos en el desarrollo vegetal, manifestando la importancia del agua. La presencia de este recurso favorece el desarrollo vegetativo tal como lo indicó Flores (1994) en su experimento, donde 180 mm son el límite mínimo de aporte hídrico para que *B. gracilis* en condiciones de invernadero se establezca y tenga un buen desarrollo vegetativo. Con seguridad esta es la razón por la que los organismos que fueron sometidos a media CC, no tuvieron respuestas óptimas y presentaron diferencias significativas con los tratamientos con riego a CC sin importar la presencia de los HMA.

Cuadro 2. Resumen estadístico de las variables evaluadas en *B. gracilis* y su respuesta en los diferentes tratamientos. n: Tamaño de muestra; DS: Desviación estándar; M: Media; Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco).

Variable		M+	Н			M +	·S			M	-H			M-	S		F-	P
variable	n	\mathbf{M}		DS	n	M		DS	n	\mathbf{M}		DS	n	M		DS	radio	(<0.05)
Supervivencia (%)	26	41.5	±	20	26	50	±	21	26	23.8	±	22.67	26	9.96	±	23	25.45	0.0000
Altura (cm)	17	14.2	\pm	11	17	3.88	\pm	0.9	17	5.24	\pm	8.75	17	13.7	\pm	1.5	10.60	0.0000
Cobertura(cm²)	17	337	\pm	177	17	8.56	\pm	9.7	17	296	\pm	141.4	17	9.08	\pm	2.3	7.24	0.0003
Hojas	17	13	\pm	4.6	17	3	\pm	0.5	17	12	\pm	3.43	17	4	±	0.8	6.28	0.0008
Nudos	17	7.95	\pm	3.6	17	1.06	\pm	0.6	17	7.3	\pm	2.81	17	1.07	\pm	0.7	5.08	0.0032
Tallos	17	5.65	\pm	1.9	17	1	\pm	0.2	17	4.69	\pm	1.52	17	1.53	\pm	0.2	5.75	0.0015
Espigas	26	1.28	±	1.3	26	0	\pm	0	26	0.48	±	0.82	26	0	±	0	15.53	0.0000
Tasa relativa de crecimiento (mm.d-1)	17	0.02	±	0	17	0.01	±	0	17	0.02	±	0.02	17	0.01	±	0	0.94	0.4250
Biomasa vástago (g)	8	4.58	\pm	3	8	0.13	\pm	0.2	8	2.59	\pm	1.7	8	0.3	\pm	0.1	12.96	0.0000
Biomasa raíz (g)	8	7.78	\pm	5.3	8	0.07	\pm	0.1	8	4.03	\pm	3.39	8	0.03	\pm	0.1	11.15	0.0001
Biomasa húmeda total (g)	8	9.9	\pm	5.8	8	0.17	\pm	0.3	8	5.23	\pm	3.78	8	0.05	\pm	0.2	14.9	0.0000
Biomasa seca total (g)	8	2.46	\pm	1.5	8	0.03	\pm	0	8	1.39	\pm	0.89	8	0.01	\pm	0	15.33	0.0000
Transpiración (mm)	17	5.27	\pm	5.8	17	4.73	\pm	3.6	17	7.31	\pm	7.06	17	8.47	\pm	2.5	2.93	0.0373
Evapotranspiración (mm)	17	196	\pm	94	17	115	\pm	61	17	198	\pm	95.38	17	119	\pm	60	7.38	0.0002
Uso eficiente del agua (g biomasa/Kg de agua)	8	0.72	±	0.4	8	0.02	±	0	8	0.4	±	0.26	8	1.65	±	0	15.14	0.0000
Potencial hídrico (MPa)	7	1.84	±	0.4	7	2.07	\pm	0.9	7	2.14	\pm	0.53	7	0.8	\pm	1.7	3.02	0.0493
Colonización micorrícica (%)	5	63	±	5.8	5	40	\pm	7.9	5	1	±	4.47	5	2	±	2.2	153.61	0.000

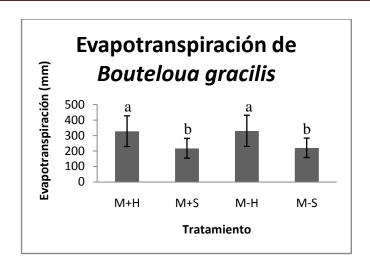
Los tratamientos con HMA no presentaron diferencias significativas en condiciones similares de riego en las variables de crecimiento vegetativo. Pero si en la producción de espigas. Este resultado demuestra la importancia de los hongos en favorecer la producción de espigas y frutos cuando existe una reserva hídrica óptima para su desarrollo. Esto se ve reflejado en el tratamiento micorrizado húmedo que tuvo tres semanas de ventaja en la antesis en comparación del tratamiento no micorrizado húmedo. Lo anterior se debe seguramente a que los HMA aumentan la capacidad de absorción de agua y nutrientes como N y P. Además, de existir una reserva hídrica homogénea que mejora la productividad y aumenta el tiempo de floración.

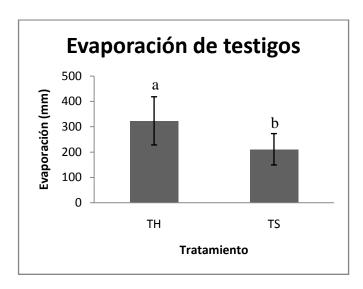
Los tratamientos húmedos presentaron mayor producción de biomasa aérea en comparación a los tratamientos secos, ya que al existir un aporte hídrico en el sustrato, se dan las condiciones óptimas para su desarrollo vegetal. En el tratamiento micorrizado seco, la producción de biomasa radical fue mayor a la de los tratamientos húmedos (Cuadro 2). Los organismos al sufrir un estrés hídrico considerable gastan más energía en la producción de raíz, lo cual retrasa la producción de biomasa aérea y por ende la etapa de floración, que fue nula en un lapso de 26 semanas de tratamiento. Dicha producción de biomasa también determina el uso eficiente del agua y la evapotranspiración de los organismos. Los tratamientos húmedos muestran diferencias significativas al compararlos con los tratamientos secos, quienes al contar con poca biomasa y poca reserva hídrica en el sustrato, absorben y retienen menos agua en sus tejidos, y en consecuencia existirá una menor evapotranspiración.

7.4 Evapotranspiración, transpiración y evaporación.

La evapotranspiración acumulada a 26 semanas de tratamiento no representa diferencias significativas (p<0.05) en un análisis de varianza (ANOVA) entre los lotes de riego a capacidad de campo, aunque la evapotranspiración acumulada del tratamiento micorrizado-húmedo (M+H) fue mayor en el tratamiento no micorrizado-húmedo (M-H) (Fig. 7). Para el tratamiento M+H la ETR acumulada fue de 327.53 mm., para el tratamiento M-H la ETR acumulada fue de 330.01 mm, la evaporación para el testigo húmedo (TH) fue de 323.06 mm, este último es menor debido a la ausencia de planta.

La evapotranspiración (ETR) acumulada entre los tratamientos de riego a media capacidad de campo, tampoco representaron diferencia significativa (p>0.05). Durante el experimento los valores de ETR se mantuvieron similares (Figura 10), al igual que la evaporación del testigo húmedo, la evaporación del testigo seco fue menor a la evapotranspiración de los tratamientos. Se distingue una diferencia en el ETR entre los lotes de los dos tipos de riego. En la Fig. 10 se observa que la cantidad de riego fue determinante en las variables evaluadas, encontrándose una diferencia estadísticamente significativa de p=0.0001 para evapotranspiración (ETR) y p=0.0725 para transpiración (TR) al comparar los tratamientos entre sí.





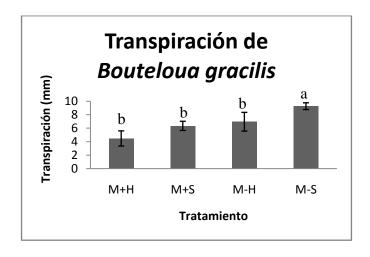


Figura 10. Evapotranspiración y transpiración acumulada para los tratamientos de *Bouteloua gracilis* y evaporación de los testigos a la semana 26 de tratamiento. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (p<0.05). Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco).

La mayor fracción de agua absorbida por la planta se pierde por la evaporación a la atmósfera, y el resto se queda retenida por la misma (Cronquist, 1986). Los tratamientos micorrizados presentaron mayores valores de transpiración (Fig. 11), aunque al realizar una comparación de rangos múltiples no se encontraron diferencias significativas. Torres (2005) menciona que los HMA mejoran las relaciones hídricas de plantas micorrizadas meses después de haberse producido la infección a diferencia de plántulas no micorrizadas, lo cual inducen a una reducción del índice de la transpiración. La presencia de HMA no influye significativamente en este parámetro, siempre y cuando el recurso hídrico exista, ya que al realizar una comparación de rangos múltiples entre tratamientos hídricos se encontraron diferencias estadísticamente significativas. López et al. (2003) mencionan que la humedad en suelos arenosos muestra una tendencia hacia estados secos por la intensidad con la que los procesos de pérdida, evaporación y percolación desaguan los horizontes superficiales. Cuando la reserva hídrica en un suelo arenoso es menor, el transporte de agua del suelo a la panta es se ve reducido, disminuyendo la transpiración de la misma.

7.5 Porcentaje de supervivencia

Los tratamientos micorrizados mostraron mayor número de organismos al final del experimento con respecto a los tratamientos no micorrizados mostrando diferencias estadísticas significativas. El tratamiento micorrizado-húmedo (M+H) representó el mayor porcentaje de supervivencia, el cual fue de 26.6%, seguido del tratamiento micorrizado-seco (M+S) que fue de 18.33%, aunque el tratamiento M+S tuvo mayor número de organismos que el tratamiento sin micorriza-húmedo (M-H), el cual tuvo 10%, los organismos presentaron menor altura y cobertura a lo largo de 26 semanas de tratamiento. Lo que comprueba que los HMA influyen determinantemente en la supervivencia de organismos de *B. gracilis*. Finalmente el tratamiento sin micorriza-seco (M-S) tuvo un porcentaje de 0.83%, con solamente un organismo vivo a partir de la semana 24.

Las curvas de supervivencia, por su forma decreciente (Fig. 11), muestran un pronunciado descenso inicial. Una vez establecidas en la semana cinco, las

plantas muestran una fase más estable, lo cual indica que *Bouteloua gracilis* presenta una elevada mortalidad en las etapas juveniles a nivel invernadero, teniendo luego una mayor probabilidad de supervivencia, o bien, las semillas de *Bouteloua gracilis* tienen poca reserva nutrimental debido a que sus semillas son pequeñas (3 mm de largo), es por ello que, durante las primeras etapas de desarrollo es en extremo vulnerable a la sequía atmosférica, debido a que su establecimiento requiere de una reserva hídrica, conservada durante un periodo de 2 a 8 semanas, en el suelo para poder desarrollar raíces adventicias (Flores, 1994). Al respecto Orozco (1993) menciona que la alta tasa de mortandad durante el establecimiento de plántulas de *B. gracilis* (Figura 11) se debe a que esta especie presenta crecimiento de tipo panicoide, en el cual el entrenudo que se encuentra por debajo del coleóptilo al elongarse, coloca a las raíces adventicias cerca de la superficie del suelo donde las tasas de desecación son altas.

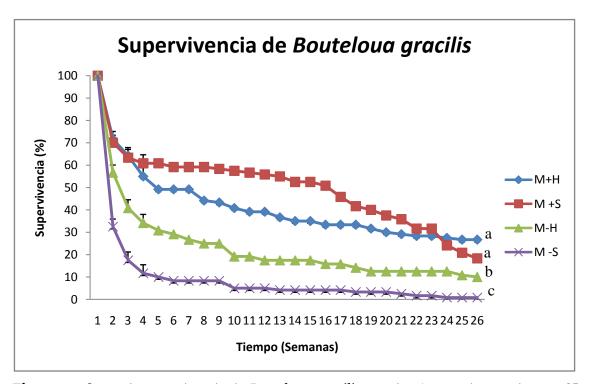


Figura 11. Curva de supervivencia de *Bouteloua gracilis* para los 4 tratamientos, durante 25 semanas en cultivo en un invernadero. Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco).

Se encontraron diferencias significativas (p<0.05) comparando la supervivencia de los organismos en los tratamientos, a excepción de la

comparación entre los tratamientos micorrizados. La diferencia entre tratamientos de riego probablemente se puede atribuir al efecto de la micorrización, además de que los HMA protegen al hospedero vegetal de patógenos. Los HMA también reaccionan al estrés hídrico al cual el hospedero es sometido, explorando mayor volumen de suelo, en busca de agua y nutrientes, es por ello que la micorrización de las raíces es importante para la supervivencia vegetal en suelos con escasez hídrica, como mencionan Flores (1994) y Luna (2005).

7.6 Desarrollo vegetal: Tasa relativa de crecimiento (TCR); altura; cobertura; número de hojas, tallos, nudos y espigas.

Tasa de crecimiento relativo (TCR)

Con respecto a los resultados de la tasa relativa de crecimiento aunque no hubo diferencias significativas entre tratamientos de riego y micorriza, sí se observó una tendencia en el crecimiento de las plantas inoculadas (Cuadro 3), la cual es atribuida al efecto de los HMA, los cuales proveen a la planta hospedera un aumento en la obtención de nutrientes minerales y agua, optimizando de esta manera los recursos disponibles en el sustrato, lo que promueve el desarrollo de la planta. Orozco (1993) menciona que la tasa de crecimiento es una característica más directa del vigor vegetal. Tanto el crecimiento rápido del vástago como del sistema radical, pueden ser una ventaja distintiva para el establecimiento de las plántulas. Esto es indicativo de que al contar con la presencia de la micorriza y humedad, los organismos de *Bouteloua gracilis* presentan mayor tasa de crecimiento relativo.

Cuadro 3. Promedios de altura inicial y final (mm) para individuos de *Bouteloua gracilis* y su tasa de crecimiento relativo (TCR) en los 4 tratamientos. Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco). Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas.

Tratamiento	Altura inicial (mm)	Altura Final (mm)	Días	Tasa relativa de crecimiento (TCR) (mm.d ⁻¹)
M+H	17.30	382	176	0.02 (a)
M+S	13.65	62	176	0.01 (a)
М-Н	23.02	360	176	0.02 (a)
M-S	12.90	150	176	0.01 (a)

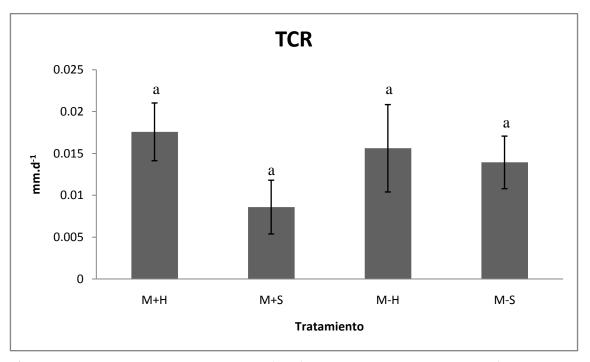


Figura 12. Tasa relativa de crecimiento (TCR) para los tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco).

El tratamiento sin micorriza seco a la semana 26 de experimento solo registró un organismo, esto se debe a que el régimen de medio riego (50% de CC) no fue suficiente aporte hídrico para la supervivencia de los individuos. Parra (1999) menciona que cuando existe un estrés hídrico en la planta puede ser perjudicial al poner en riesgo el crecimiento celular, de manera que la sequía reduce el área foliar. Los efectos más visibles del estrés hídrico son la reducción en el crecimiento de los individuos y en ocasiones la muerte de las plantas,

cuando la falta de aporte hídrico se prolonga por un periodo largo de tiempo (Fig. 13).

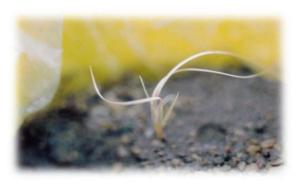




Figura 13. Organismos muertos de *Bouteloua gracilis* del tratamiento no micorrizado seco (M-S), a la semana 17 del experimento.

Bouteloua gracilis tiende a desarrollar tallos pequeños con crecimiento lento cuando el factor limitante es la humedad (Flores, 1994), por ello las plantas de los tratamientos secos presentaron menor biomasa aérea que las plantas de los tratamientos húmedos.

En pastos como *Bouteloua gracilis*, la asociación con HMA incrementa la tasa de respiración del sistema raíz-suelo, al inducir un flujo diario de carbono obtenido por fotosíntesis. A pesar del incremento en las tasas fotosintéticas, tal aumento no se compensa por la presencia de HMA, por lo que al inicio disminuye la tasa de crecimiento relativo de la planta micorrizada (Harris *et al.*, 2009).

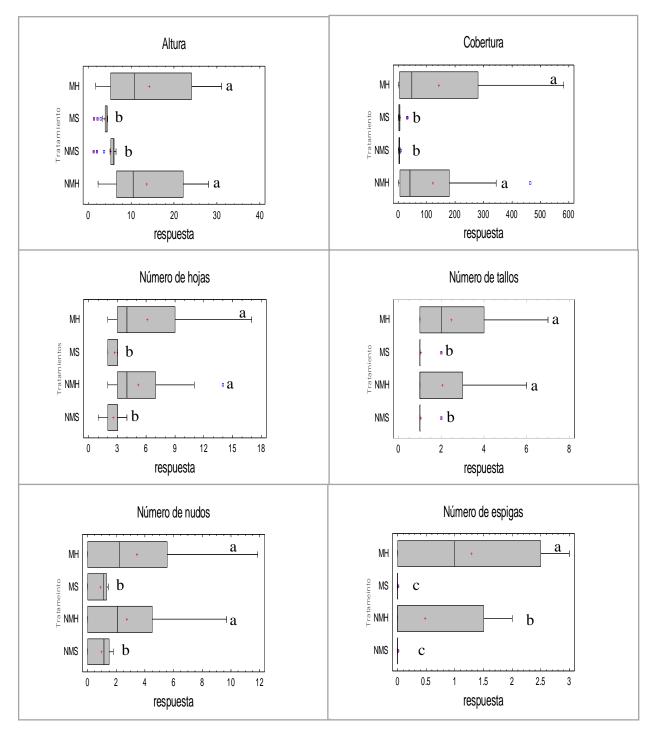


Figura 14. Diagramas de caja para las variables de desarrollo vegetal de *B. gracilis* durante 26 semanas de experimentación. Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (p<0.05).

Con base en los resultados de altura, cobertura, numero de hojas, tallos (Fig. 15) y nudos, se encontraron diferencias estadísticas significativas (p<0.05) en la comparación entre los tratamientos húmedos y los tratamientos secos. Lo cual muestra que el proceso de crecimiento vegetal está limitado por la presencia o ausencia de humedad. Referente a esto, Flores (1994) menciona que herbáceas en zonas áridas y semiáridas reducen la producción de materia vegetativa por el estrés hídrico. *Bouteloua gracilis* requiere mayores niveles de agua para mantener la presencia de humedad en la superficie del suelo. Este factor es crítico para su establecimiento y desarrollo vegetal. Ya que desarrollan las raíces a 2 cm de profundidad (Esqueda *et al.*, 2005). Un sustrato con textura arenosa favorece a la retención de humedad, aunque la superficie de las unidades experimentales evaporó rápidamente, por lo que organismos sometidos a estrés hídrico (tratamientos secos) que no desarrollaron una prolongada raíz, presentaron valores por debajo de los tratamientos húmedos.

Aunque no se encontraron diferencias estadísticas significativas (p<0.05) al comparar entre tratamientos con y sin micorrizas en las variables de altura, cobertura, número de hojas, nudos y tallos, se observó una tendencia de crecimiento en las plantas de los tratamientos con HMA. Al respecto González *et al.* (2005) mencionan que los HMA desempeñan un papel determinante en las relaciones hídricas y el crecimiento vegetal de especies en condiciones de sequía, lo cual desencadena una mayor probabilidad de supervivencia en temporadas donde el recurso hídrico es escaso. Esto indica que organismos de *Bouteloua gracilis* con aporte hídrico constante y con presencia de micorriza, tiene ventaja sobre el tiempo en el desarrollo vegetal que uno no micorrizado y con estrés hídrico.

El número de espigas se contabilizó directamente en los organismos reproductivos y se registró el día en el que se detectó la antesis (Figura 15).

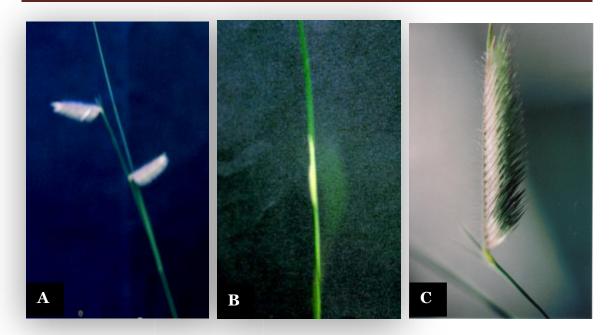


Figura 15. A: Espigas de *Bouteloua gracilis* a la semana 17 de tratamiento, B: Antesis, C: Espiga de *Bouteloua gracilis*.

Solo los tratamientos húmedos presentaron espigas en algunos individuos con diferencia significativa (Fig. 16): el tratamiento micorrizado-húmedo (M+H) a partir de la semana 14 presentó antesis, y a 26 semanas de tratamiento alcanzó un total de diez espigas; el tratamiento no micorrizado-húmedo (M-H) hasta la semana veinte presentó antesis, y al final del experimento desarrolló cuatro espigas. A diferencia de los tratamientos secos, que no tuvieron presencia de espigas. Flores (1994) menciona que la aparición de las estructuras reproductivas (espigas) se acelera al existir un nivel alto de humedad, lo cual abre la posibilidad de que los organismos de los tratamientos sometidos a sequía, que desarrollaron estructuras como tallos, nudos y mayor número de hojas, en un periodo más largo pudieran desarrollar espigas. La floración requiere de humedad en el sustrato pues las flores no tienen estructuras de protección contra la desecación.

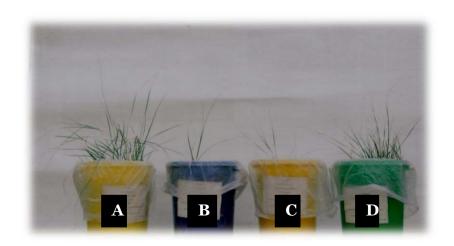


Figura 16. Unidades experimentales de *Bouteloua gracilis* a las 26 semanas de experimentación, Tratamientos; A: Micorrizado húmedo (M+H), B: Micorrizado seco (M+S), C: No micorrizado seco (M-S), D: No micorrizado húmedo (M-H).

Estado de los organismos de los cuatro tratamientos, donde los tratamientos húmedos tuvieron mayor respuesta al crecimiento en comparación con los tratamientos sometidos a estrés hídrico. A su vez, los tratamientos micorrizados tuvieron mayor biomasa aérea que los tratamientos no micorrizados, aunque con diferencias difícilmente visibles (Fig. 17).

7.7 Potencial hídrico foliar

El potencial hídrico foliar se determinó utilizando la cámara de Schöllander, la cual muestra una positiva correlación con el estado hídrico de la planta, lo que se puede asociar a la capacidad de entrega de agua desde el suelo. Todos estos comportamientos están regulados por factores climáticos, ya que mientras más agua salga del sistema, menos agua habrá disponible desde el suelo hacia las plantas. Este elemento puede resultar de utilidad para definir si las plantas se encuentran bajo estrés hídrico, y su incidencia sobre la producción.

Al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el potencial hídrico foliar entre los tratamientos no micorrizado-húmedo (M-H), micorrizado-seco (M+S) y micorrizado húmedo (M+H), con valores promedio de -2.1 MegaPascales, -4.4 MegaPascales y -1.8 MegaPascales respectivamente (Fig. 18). Aunque se pudo observar que organismos del tratamiento micorrizado seco mejoraron su estado

hídrico. Probablemente las plántulas de *B. gracilis* pueden obtener más eficientemente los recursos, principalmente fósforo y agua, cuando se encuentran asociadas con hongos micorrizógenos arbusculares a pesar del estrés hídrico al que fueron sometidas. El tratamiento no micorrizado seco (M-S) tuvo un valor promedio de -2.0 MegaPascales (Fig. 17). El valor registrado por el potencial hídrico es negativo, debido a que el potencial de soluto ejerce una tensión de afinidad al agua, por lo tanto se convierte en un valor negativo, y mientras mayor sea el valor obtenido, más agua tienen disponible las plántulas para el proceso de fotosíntesis y la formación de carbohidratos (Luna, 2005).

La micorrización favorece al hospedero, produciendo una expansión de micelio, el cual, forma una densa red de hifas en el sustrato, originando una mayor superficie de traspaso de sustancias, al aumentar la superficie de absorción del sistema radical (Barra, 2004). La humedad y nutrientes que requiere la planta son transportados por el micelio externo (ME) de los HMA, que funge como puente y red que facilita el trasporte de nutrimentos y agua entre el suelo y la raíz; otra de las funciones es la conjunción de raíces de las plantas y el ME, lo que también contribuye a la estabilidad de la estructura del suelo, al participar en la formación de agregados, los cuales ayudan a mejorar la retención de agua en el suelo (Prager *et al.*, 2009).

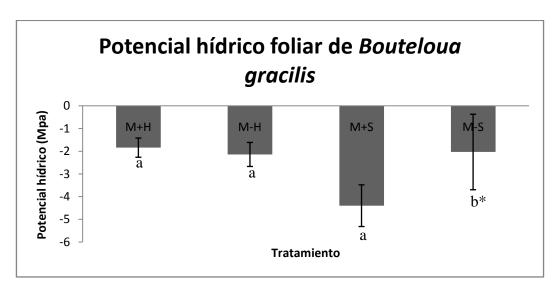


Figura 17. Potencial hídrico foliar de *Bouteloua gracilis* para los 4 tratamientos, a 26 semanas de experimentación. Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco). *Letra diferente pero no es tomado en cuenta el tratamiento para el análisis estadístico debido a que es solo un organismo.

El tratamiento no micorrizado seco (M-S), a 26 semanas de experimentación, solo tuvo un organismo, lo cual puede ser indicativo de que la cantidad de riego (estrés hídrico) y que junto con la ausencia de las micorrizas, evite que se desarrollara el sistema radical en el suelo. Esto probablemente sea atribuido a que el riego a media capacidad de campo, es el riego mínimo que necesita *Bouteloua gracilis* para su supervivencia, en ausencia de micorriza.

7.8 Cociente raíz/vástago (R/V)

Respecto al cociente raíz/vástago y descartando al tratamiento no micorrizado seco (M-S) para el análisis estadístico, se realizó un análisis entre los tratamientos que sí contaban con suficientes organismos para la comparación, en el cual no se observaron diferencias significativas (figura 18). Al respecto González et al. (2005) menciona que la simbiosis micorrícica disminuye la cantidad de biomasa seca en las raíces de las plantas hospederas, ya que la planta no necesita invertir energía en el aumento de la biomasa de las raíces, para aumentar el área de captura de iones y agua, debido a que el micelio externo cumple esta función, y sólo aumenta el área de colonización por medio de la producción de una mayor cantidad de raíces laterales finas. A su vez se observó un aumento del crecimiento y desarrollo del vegetal ocasionado principalmente por el riego (tratamientos húmedos), en el caso del tratamiento micorrizado seco (M+S), donde se presentó un desarrollo del volumen radical, como una respuesta al estrés para la captación de agua, contrarrestando así la seguía al acumular reservas hídricas en sus tejidos. Y en el caso del tratamiento micorrizado húmedo (M+H), tuvo menor peso (Cuadro 4) con respecto al tratamiento no micorrizado húmedo (M-H), lo cual posiblemente se deba a que al existir una reserva hídrica en el suelo, la planta no tiene la necesidad de extender su sistema radical, debido a que el recurso hídrico es más eficiente para su captación. El desarrollo rápido de un sistema radical suficiente para tomar agua y nutrimentos para la planta es una prioridad, más que el desarrollo del vástago, para que las plantas alcance el establecimiento (Orozco, 1993).

Cuadro 4. Promedio de peso húmedo y seco para raíz y vástago de organismos de *Bouteloua gracilis* de los cuatro tratamientos; eficiencia en el uso del agua (EUA); cociente raíz/vástago; y total de agua irrigada durante el experimento. g (gramos de biomasa seca); kg (agua irrigada). Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticas significativas. Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco).

Tratamiento	Peso hún	nedo (g)	Peso se	co (g)	Cociente Raíz/Vástago (R/V)	Agua irrigada (L)	EUA
	Vástago (V)	Raíz (R)	Vástago (V)	Raíz (R)	(-4.)		
			g			kg	g/kg
M+H	3.22	6.68	1.35	1.10	0.81(a)	3.41	0.72 (a)
M+S	0.14	0.09	0.03	0.01	0.34(b)	2.27	0.02 (c)
M-H	1.88	3.35	0.70	0.68	0.97(a)	3.41	0.40 (b)
M-S	0.17	0.23	0.07	0.03	O.51(a)	2.27	0.05 (c)

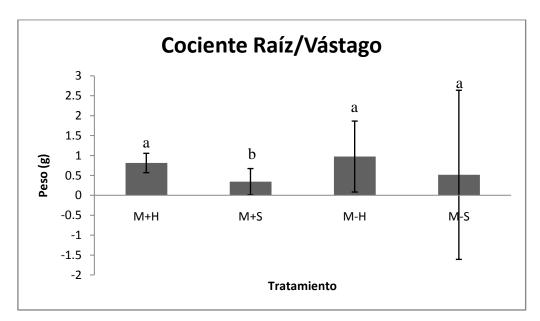


Figura 18. Relación del cociente raíz/vástago de *Bouteloua gracilis* (final del experimento). Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco). Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas (p<0.05).

La raíz en los organismos de los tratamientos húmedos fue más grande con respecto a los tratamientos secos, y los tratamientos no micorrizados tuvieron mayor cantidad de biomasa radical con respecto a los tratamientos micorrizados. En respuesta a la presencia de los HMA, la planta no gasta energía en el desarrollo radical, tarea que es sustituida por el micelio del hongo, así dicha energía es implementada en el desarrollando biomasa aérea y estructuras reproductivas (Figura 19).





Figura 19. Raíces de organismos de *Bouteloua gracilis:* A (tratamiento micorrizado-húmedo) y B (tratamiento no micorrizado-seco).

7.9 Uso Eficiente de Agua (EUA)

En los tratamientos húmedos se observa una diferencia estadística significativa (p<0.05) con respecto a los tratamientos secos (Fig. 20). La disponibilidad de agua se incrementa a consecuencia del desarrollo de la planta, donde la planta utiliza el recurso hídrico para generación de biomasa aérea, en busca de mayor captación de luz y bióxido de carbono. Las plantas con metabolismo C₄ como *Bouteloua gracilis*, por su actividad estomática, tienden al aprovechamiento del agua con el cierre estomático parcial o total, lo cual se traduce en una reducción en la foto-respiración, haciéndola más eficiente a temperaturas altas, y así evitar la pérdida excesiva de agua por transpiración (Flores, 1994).

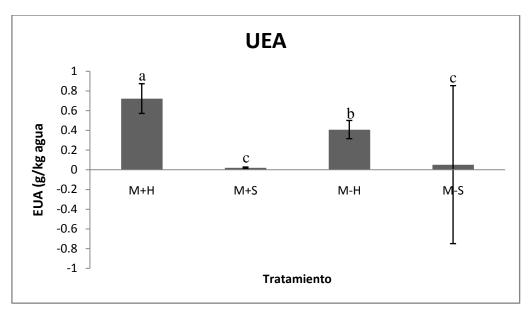


Figura 20. Uso eficiente de agua de *Bouteloua gracilis* para los cuatro tratamientos al final del experimento. Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco).

La diferencia que se muestra en la Fig. 20, entre los tratamientos húmedos, se debe a la presencia de HMA. Estos tienen un efecto en las relaciones hídricas de la planta y del suelo en condiciones de estrés, que modifican la conductividad estomática, la tasa fotosintética y la transpiración en las plantas, mientras que los exudados fúngicos promueven la cohesión de las partículas del suelo e incrementan la retención de agua en el sustrato (Harris *et al.*, 2009). Esto demuestra que la micorrización hace más competitivas a las plantas en zonas donde hay escasez de nutrientes y agua.

7.10 Biomasa total

La producción de biomasa húmeda total en los tratamientos húmedos fue mayor que la biomasa húmeda total en los tratamientos secos (Fig. 21 y 22); al comparar todos los tratamientos entre sí, hubo diferencias estadísticas significativas (p<0.05); posiblemente esto se deba a que los hongos micorrícicos arbusculares incrementan el potencial hídrico de la planta y con ello ayudan al crecimiento vegetal debido a un desarrollo de las raíces y a una mayor capacidad de absorción de nutrientes, provocado por la presencia de hifas externas del hongo en las raíces colonizadas, lo cual es una estrategia eficiente para la

captación de agua, ya que evade la sequía al acumular reservas hídricas en sus tejidos. Asimismo este proceso simbiótico incrementa sus posibilidades de establecimiento y supervivencia. Al parecer, el estrés al que fueron sometidos los tratamientos secos, no permitió un aumento de biomasa, lo cual puede ser indicativo de que *Bouteloua gracilis* requiere de una reserva hídrica mayor al 50% (media capacidad de campo) para su desarrollo vegetal, a nivel invernadero.

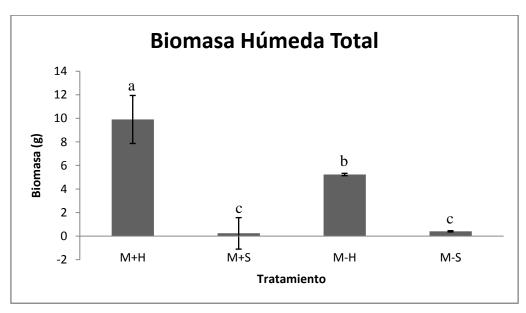


Figura 21. Biomasa húmeda total de *Bouteloua gracilis* en los 4 tratamientos al final del experimento. Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco). **Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas (p<0.05).**

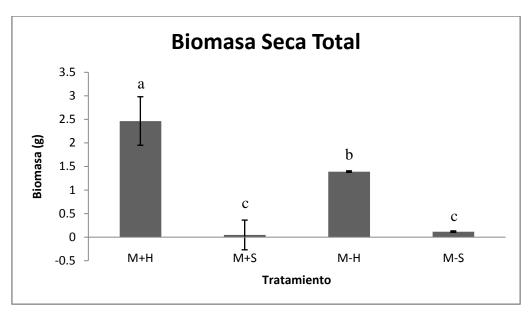


Figura 22. Biomasa seca total de *Bouteloua gracilis* en los 4 tratamientos al final del experimento. Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco). **Letras minúsculas distintas indican** diferencias estadísticamente significativas (p<0.05).

7.11 Porcentaje de colonización micorrícica arbuscular

Para los tratamientos no micorrizados el porcentaje promedio fue bajo para el tratamiento M-S fue de 2%, y para el tratamiento M-H fue de 1%; en los tratamientos micorrizados se registró un porcentaje mayor al final del experimento: para el tratamiento micorrizado-húmedo (M+H) frente al tratamiento micorrizado-seco (M+S) (Figura 23). Seguramente el tipo de riego mejoró las condiciones para que las raíces fueran colonizadas por los HMA, y posiblemente en el tratamiento seco influyó el estrés hídrico, evitando a su vez un incremento en la biomasa y en la supervivencia de las plantas.

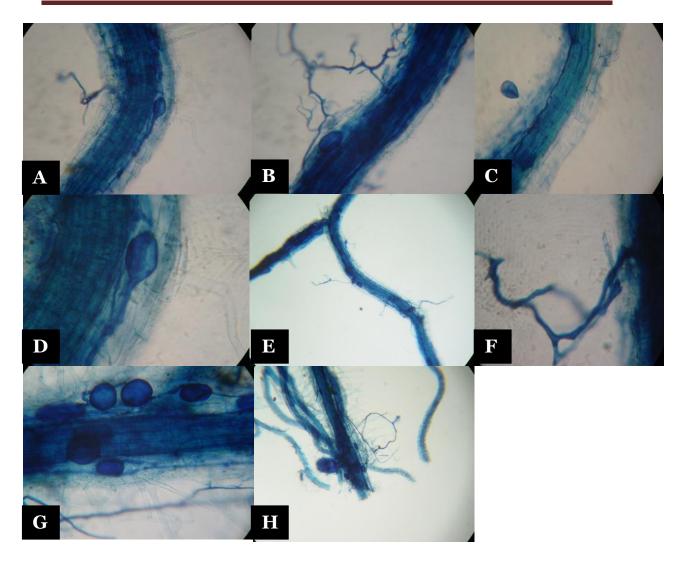


Figura 23. Muestras de raíces de *Bouteloua gracilis* en los tratamientos micorrizados vistas a microscopio (10X); **A y B:** Vesícula, micelio extrarradical; **B:** Vesícula, micelio extrarradical; **C:** Vesícula, micelio intracelular; **D y G:** Vesícula; **E y F:** Micelio extrarradical; **H:** Raíz colonizada.

El porcentaje de colonización micorrícica en los tratamientos no micorrizados fue de 1 (M-H) y 2% (M-S) (Cuadro 5), al no encontrarse estructuras que indicaran la presencia de colonización en las raíces de los organismos, significa que el sustrato de las unidades experimentales estuvo libre de patógenos o contaminación por otras esporas.

Cuadro 5. Porcentaje de colonización micorrízica de los 4 tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco).

	Colonización
Tratamiento	%
M-S	2
M-H	1
M+S	40
M+H	63

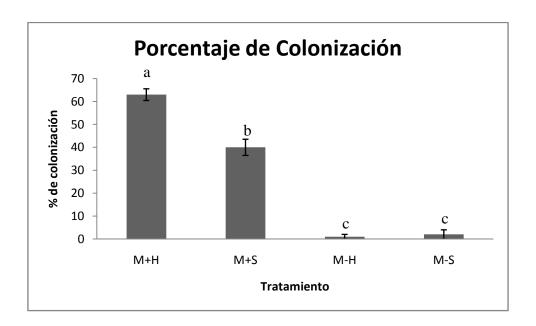


Figura 24. Porcentaje de colonización micorrícico de *Bouteloua gracilis* al final del experimento. Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco).

Entre los tratamientos micorrizados, el tratamiento húmedo tuvo mayor porcentaje de colonización que el tratamiento seco, posiblemente la colonización esté afectada en ausencia de recursos hídricos al verse reducida el área de colonización de las hifas fúngicas. Chimal (2010) y González-Chávez *et al.* (2008) mencionan que en suelos de ecosistemas áridos y semiáridos el comportamiento de la colonización micorrízica se ve afectado por factores climáticos y estacionales, lo cual desencadena una reducción en la proporción de la colonización micorrízica arbuscular, por ello posiblemente el tratamiento con riego a media CC obtuvo menor porcentaje con respecto al húmedo (Figura 24).

Rodríguez Calderón Ramón Osvaldo

Cuadro 6. Síntesis de las evaluaciones biológicas obtenida en los 4 tratamientos de *Bouteloua gracilis*. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas. Tratamientos: M+H (micorrizado-húmedo), M+S (micorrizado-seco), M-H (no micorrizado-húmedo) y M-S (no micorrizado-seco).

Tratamiento Variable	M+H	M-H	M+S	M-S	Observaciones
Número de hojas	13 (a)	12 (a)	3 (b)	4 (b)	
Número de tallos	6 (a)	5 (a)	1 (b)	2 (b)	
Número de nudos	8 (a)	7 (a)	1 (b)	2 (b)	Los tratamientos húmedos
Altura (cm)	14.21 (a)	13.65 (a)	3.88 (b)	5.24 (b)	registraron valores más altos respecto a
Cobertura (cm²)	336.51 (a)	295.99 (a)	8.56 (b)	9.08 (b)	los tratamientos secos. Tratamiento M+H representó
TCR (d ⁻¹) X10 ⁻⁶	0.02 (a)	0.02 (a)	0.01 (a)	0.01 (a)	mayor crecimiento vegetal y mayor
Evapotranspiración acumulada (mm)	327.53 (a)	330.01 (a)	217.34 (b)	220.26 (b)	valor de evapotranspiración con respecto al
Transpiración acumulada (mm)	4.46 (b)	6.94 (b)	6.33 (b)	9.25(a)	M-H.
Evaporación acumulada (mm)	TH=32	23.03(a)	TS=2	11.00 (b)	
Número de espigas	10 (a)	4 (b)	O (c)	O (c)	Semanas para la antesis de M+H: a partir de la semana 14; M-H: a partir de la semana 20.
EUA (g biomasa seca/kg de agua)	0.722 (a)	0.407 (b)	0.02 (c)	0.051 (c)	Valores altos para tratamientos húmedos. El valor más bajo para M+S
Potencial hídrico foliar (MPa)	-1.843 (b)	-2.143 (b)	-4.400 (b)	-2.033 (a)	No hubo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, el tratamiento M-S fue descartado para el análisis estadístico
Biomasa húmeda total(g)	9.907 (a)	5.237 (b)	0.24 (c)	0.412(c)	Valores bajos para
Biomasa seca total (g)	2.464 (a)	1.39 (b)	0.046 (c)	O.117 (c)	tratamiento M+S y los más altos para
Cociente R/V	0.812 (b)	0.974 (b)	0.344(a)	0.515 (b)	tratamientos húmedos.
Colonización (%)	63 (a)	1 (c)	40 (b)	2 (c)	Tratamientos micorrizados registraron los valores más altos
Supervivencia (%)	26.6 (a)	18.33 (b)	10 (a)	0.83 (c)	Valores bajos en general, y los tratamientos húmedos registraron valores altos.

8. CONCLUSIONES

El establecimiento de plantas de *Bouteloua gracilis* está determinado por la presencia del agua. Este recurso favorece la micorrización en condiciones de humedad mayores al 50% de capacidad de campo, en condiciones de invernadero.

Las micorrizas no influyen de manera significativa en el desarrollo vegetativo de **B. gracilis**. Pero si en el desarrollo de espigas bajo condiciones de alta humedad.

En condiciones de capacidad de campo del sustrato, la micorrización incrementa la eficiencia del uso del agua (UEA) en un 70% y la biomasa húmeda y seca. En condiciones de capacidad de campo mayores al 50% la micorrización favorece la tasa de crecimiento relativo (TCR) y la supervivencia.

El límite de supervivencia de las plantas es del 50% sin micorrizas en el sustrato utilizado bajo condiciones de invernadero.

9. RECOMENDACIONES

Con el fin de evaluar el aporte nutrimental de los HMA tanto en la planta como en el sustrato, y verificar el papel que juegan los HMA cuando existe son sometidas a estrés hídrico en invernadero, se debe hacer una evaluación de fósforo al inicio y al final del experimento.

Evaluar la eficiencia de los HMA en condiciones de vivero, en condiciones semicontroladas, para observar el comportamiento del sistema radical, cuando existe una mayor cantidad de sustrato disponible para su expansión.

Evaluar el establecimiento de *Bouteloua gracilis* en regímenes de riego arriba del 50% de CC (60, 70, 80, 90 y 100%), inoculados con HMA, para determinar el tratamiento preciso que le beneficie de mejor forma a la planta.

10. LITERATURA CITADA

- Allen, M.; Smith, W.; Moore, T.; Christensen, M. 1981. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis* H.B.K. Lag ex Steud. The New Phytologist 88: 683-693.
- Álvarez, S. J. y Monroy A. A. 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrícicas y sus implicaciones en la restauración. Ed. Las Prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM., México, D.F. 5-11 pp.
- Anónimo, SEMARNAT. 2009. www.semarnat.gob.mx (consultada el 15 de Abril del 2009).
- Arredondo M. T.; Huber S. E.; García M. E.; García H. M.; Aguado S. G. 2005. Selección de germoplasma de zacate navajita con diferente historial de uso en Jalisco, México. Técnica Pecuaria en México. 43: 371-385.
- Barajas, E.; Rubio, J. A.; Arranz, C.; Yuste, J. 2006. Respuesta del potencial hídrico foliar a la variación de la distancia entre cepas. Vida rural. Departamento de Viticultura. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. S/n: 12-15.
- Barea, J. M. 1998. Biología de la rizósfera. Investigación y ciencia. S/n: 74-81.
- Barra, A. M. S. 2004. Ensayos de inoculación micorrízica en *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst., en condiciones de invernadero. Trabajo de titulación. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales.
- Beltrán, L. S.; García, D. C.; Hernández, A. J.; Loredo, O. C.; Urrutia, M.J.; Gonzáles, E. L. Gámez, V. G. 2010. "Navajita Cecilia" *Bouteloua gracilis* H.B.K (Lag.) Nueva variedad de pasto para zonas áridas y semiáridas. México Ciencia Pecuaria. 1: 127-130.
- Camargo-Ricalde. S. L. y Dhillion S. S. 2003. Endemic *Mimosa* species can serve as mycorrhizal resource islands within semiarid communities of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. Mycorrhiza. 13: 129-13.

- Carrillo S. S. M.; Arredondo M. T.; Huber S. E.; Flores R. J. 2009. Comparación en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas entre gramíneas nativas y exóticas del pastizal semiárido. Técnica Pecuaria en México 47: 299-312.
- Chimal S. E. 2010. Ensayos para la obtención de inóculos de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) nativos del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. Tesis de Licenciatura. UNAM.
- Connor, D. J. y Loomis, R. S. 2002. Ecología de cultivos: productividad y manejo de sistemas agrarios. Mundi-Prensa. pp. 135
- Cuenca, C.; Cáceres, A.; Oirdobro, G.; Hasmy, Z.; Undaneta, C. 2007. Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. Interciencia. 32: 23-29.
- De Miguel M. S. 1999. Crecimiento y supervivencia de repoblaciones forestales sobre terrenos agrícolas con *Pinus halepensis* Mill. y *Pinus pinea* L. productos en vivero sobre diferentes sustratos e inoculados con *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. M. Fr. Trabajo Práctico Tutorado. Universidad de Lleida, España.
- Escalante G. L. 1999. Respuestas genotípicas y fenotípicas de *Bouteloua gracilis* (H.B.K) Lag. ex Steud., en función de la variación ambiental de sequía y corte. Tesis de maestría en ciencias. Facultad de ciencias. UNAM. México D. F.
- Esqueda C. M.; Melgoza C. A.; Sosa C. M.; Carrillo R. R. y Jiménez C. J. 2005. Emergencia y sobrevivencia de gramíneas con diferentes secuencias de humedad/sequía en tres tipos de suelo. Técnica Pecuaria en México 001: 101-115.
- Finlay R. D. 2008. Ecological aspects of mycorrhizal simbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradicl mycelium. Journal of Experimental Botany. 59: 1115-1126.
- Flores B. E. 1994. Rangos de aporte hídrico al suelo que sustentan la instalación y desarrollo del pasto perenne *Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag. Ex Steud. Bajo condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. México D.F.

- García B. F. 2002. La evolución de la simbiosis micorrícico. Boletín de la Sociedad Micológica. Valenciana 7: 49-54.
- García M. X.; Villamizar L. F.; Torres L. A.; Cortes A. M. 2006. Efecto de subcultivos sucesivos de *Beauveria bassiana* sobre sus características y actividad contra *Premnotrypes vorax*. Manejo Integrado de Plantas y Agroecología. 77: 50-56 pp.
- García R. S. 2006. Efecto de las micorrizas arbusculares sobre la regulación de genes implicados en el metabolismo carbonado en plantas de tomate (*Solanum esculentum*). Tesis Doctoral. Universidad de Granada. España.
- García-Sánchez R. y Monroy-Ata A. 2005. Micrositios del pasto navajita (*Bouteloua gracilis*) en comunidades de pastizal y de matorral del Altiplano Mexicano. Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 8: 61-70.
- González-Chávez M. 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 M. F.; Monroy A. A.; García A. E.; Orozco A. M. 2005. Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en el desarrollo de plántulas de *Opuntia streptacantha* Lem. Sometidas a sequía, en condiciones de invernadero. Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 8:5-10.
- González R. H. y Cantú S. I. 2001. Adaptación a la sequía de plantas arbustivas de matorral espinoso tamaulipeco. Ciencia Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, México. S/n. 4: 454-461.
- Grime, J. P. 1989. Estrategias de adaptación de las plantas y procesos que controlan la vegetación. Limusa. 25 p.
- Guzmán G. S. y Farías L. J. 2005. Biología y regulación molecular de la micorriza arbuscular. Avances en Investigación Agropecuaria. Universidad de Colima. 9: 17-31.
- Hartmann, H. T. 1971. Propagación de plantas. C. E. C. S. A. México.

- Hernández, C. L.; S. Castillo, A. P.; Guadarrama, C. 2003. Hongos Micorrizógenos Arbusculares del Pedregal de San Ángel. Ed. Las prensas de ciencias. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México, D. F.
- Jurado G. P.; Luna L. M.; Barretero H. R.; Royo M. M.; Melgoza C. A. 2006. Producción y calidad de forraje y semilla del Zacate navajita con la aplicación de biosólidos en un pastizal semiárido de Jalisco. Técnica Pecuaria en México. S/n. 289-300.
- López, M.; Llanos, I. y Giráldez, J. V. 2003. Evolución de la humedad en un suelo arenoso bajo condiciones controladas. Estudios de la Zona No Saturada del Suelo. 6: 83-86.
- Luna C. L. A. 2005. Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) sobre el desarrollo de *Agave salmiana* (Agavaceae) y O*puntia streptacantha* (Cactaceae) en condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México, D.F.
- Maderey R. L. E. 2005. Principios de Hidrografía, Estudio del Ciclo Hidrológico. Instituto de Geografía UNAM. Serie de textos universitarios. 1: 57-64.
- Maestre G. F. T. 2002. La restauración de la cubierta vegetal en zonas semiáridas en función del patrón espacial de factores bióticos y abióticos. Tesis de doctorado. Universidad de Alicante. Facultad de Ciencias. Alicante, España.
- Martínez L.B. y Pugnaire F.I. 2009. Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. Ecosistemas 18: 44-54.
- Monroy A. A. 2009. Micorrizas: Una historia de las alianzas de la naturaleza, en Cambio global. Conversus 82: 22-25.
- Monroy A. A.; García-Sánchez, R.; Escalante-García, L.; Orozco-Almanza, M. S. 2000. Establecimiento del zacate navajita (*Bouteloua gracilis*) en una zona semiárida del Valle del Mezquital, Estado de Hidalgo. UNAM. México, D.F. II Simposium internacional sobre la utilización y aprovechamiento de la flora silvestre de Zonas Áridas.

- Monroy A. A.; Estévez T. J.; García S. R.; Ríos G. R. 2007. Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral Xerófilo deteriorado". Boletín de la Sociedad Botánica de México; 80: 49-57.
- Montaño A. N. M. 2000. Potencialidad de los hongos micorrizógenos arbusculares de las islas de fertilidad de Mezquite (*Prosopis laegivata*) de dos agostaderos semiáridos del valle de Actopan, México central un enfoque ecológico para recuperar la vegetación. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México, D. F.
- Montaño A. N.; Camargo R. S.; García S. R.; Monroy A. A. 2008. Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. 1ª ed. Editorial Mundi Prensa, México, D.F. 4: 14-16.
- Morláns M. C. 2007. Factores de impacto II, Área Ecología-Científica Universitaria. Universidad Nacional de Catamarca, Argentina.
- Orozco A. M. S. 1993. Efecto de la profundidad de siembra y a la fertilización en el establecimiento de tres zacates forrajeros. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados.
- Parra Q. R.; Rodríguez O. J.; González H. V. 1999. Transpiración, potencial hídrico y prolina en zarzamora bajo déficit hídrico. Terra 17: 125-130.
- Pérez, B. S. C. 2008. Contribución del micelio externo de micorrizas arbusculares en la agregación de suelo con problemas de erosión en Chamela, Jalisco. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Posada A. R.; Franco C. L.; Cuellar C. A.; Sánchez C. W.; Sánchez F. A. 2007. Inoculum of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on *Brachiara decumbens* (Poaceae) Pastures in Valley and Hilly Terrain. Acta biologica Colombiana, 12: 113-120.

- Prager, S. M.; Torres, R.; Trinidad, J.; Barrios, E.; Velásquez, D.; Paz, I.; Zarate, L.; Gómez, E.; Navia, J.; Molina, O.; Vargas, N. 2009. El micelio externo de los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) como red nutricional y estructural en los agroecosistemas. Revista Brasileña de Agroecología (4) 2: 4034-4037.
- Ramos Z. J. y Guadarrama, P. 2004. Los hongos micorrizógenos arbusculares en la restauración de comunidades tropicales. Universidad y Ciencia. UNAM. Número especial I: 59-65.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México. 219-226 pp.
- Rzedowski, G. C. y Rzedowski, J. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, Michoacán México.
- Sánchez-Colín. M. J. 2005. Micorrizas. Aspectos generales, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. México D. F. 89 pp.
- Tena S. A. 2002. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima. Tesis de Maestría. Universidad de Colima. México. Colima.
- Torres Á. A. E. 2005. Establecimiento de plántulas de mezquite (*Prosopis laevigata*) inoculadas con Hongos Micorrizógenos Arbusculares (HMA), bajo condiciones de sequía en un invernadero. Tesis de Licenciatura. FES Zaragoza. UNAM. México D. F.
- USDA- United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service: consultada el 30-marzo-2011: en http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=BO GR2
- Valle H.; Esqueda C.; Valenzuela-Soto M.; Elisa M.; Castellanos, A. 2009. Tolerancia al estrés hídrico en la interacción planta-hongo micorrízico arbuscular: metabolismo energético y fisiología. Revista Fitotecnia Mexicana. 32: 265-271.

Rodríguez Calderón Ramón Osvaldo

Villar R.; Ruiz-Robleto J.; Luis-Quero J.; Herndrik P.; Valladares F.; Marañón T. 2004. Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Ministerio del Medio Ambiente. 191-227.

Walter H. 1977. Zonas de vegetación y clima. Omega. Barcelona. 81 pp.

11. Anexo

11.1 Análisis estadístico de la variable de altura de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	1510.46 3041.28	3 64	503.486 47.5199	10.60	0.0000
Total (Corr.)	4551.73	 67			

Multiple Range Tests

.....

Method: 95.0 percent LSD					
	Count	Mean	Homogen	eous Groups	
MS	17	3.88903	Χ		
NMS	17	5.24136	Χ		
NMH	17	13.6592	X		
MH	17	14.2099	Χ		
Contrast			Difference	+/- Limits	

Contrast	Difference	+/- LIMITS	
MH - MS	*10.3209	4.72352	
MH - NMS	*8.96853	4.72352	
MH - NMH	0.550725	4.72352	
MS - NMS	-1.35233	4.72352	
MS - NMH	*-9.77014	4.72352	
NMS - NMH	*-8.41781	4.72352	

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.2 Análisis estadístico de la variable de cobertura de Bouteloua gracilis.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	278781.0 821238.0	3	92927.1 12831.8	7.24	0.0003
Total (Corr.)	1.10002E6	67			

Multiple Range Tests

Method: 95.0 percent LSD Count Mean Homogeneous Groups 3.97168 NMS 17 X MS 17 6.29601 Χ NMH 17 121.567 Χ МН 17 142.996 Χ +/- Limits Contrast Difference -----MH - MS *136.7 77.6198 MH - NMS *139.025 77.6198 MH - NMH 21.4293 77.6198 MS - NMS 2.32433 77.6198 MS - NMH *-115.271 77.6198 NMS - NMH *-117.595 77.6198

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.3 Análisis estadístico del número de hojas de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	160.647 545.882	3 64	53.549 8.52941	6.28	0.0008
Total (Corr.)	706.529	67			

Multiple Range Tests

Method: 95.0 percent LSD Count Mean Homogeneous Groups NMS 17 2.58824 Χ MS Χ 17 2.70588 NMH 17 5.17647 Χ MH 17 6.11765 Χ Contrast Difference +/- Limits *3.41176 MH - MS 2.00119 MH - NMH 0.941176 2.00119 MH - NMS *3.52941 2.00119 *-2.47059 MS - NMH 2.00119 MS - NMS 0.117647 2.00119 NMH - NMS *2.58824 2.00119

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.4 Análisis estadístico del número de tallos de Bouteloua gracilis.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	26.1618	3	8.72059	5.75	0.0015
Within groups	97.0588	64	1.51654		
Total (Corr.)	123.221	67			

Multiple Range Tests

Method: 95.0 percent LSD Count Mean Homogeneous Groups MS 17 1.05882 Χ Χ NMS 17 1.05882 NMH 17 2.05882 Χ MH 17 2.47059 Χ Contrast Difference +/- Limits MH - MS *1.41176 0.843831 MH - NMH 0.411765 0.843831 MH - NMS *1.41176 0.843831 MS - NMH *-1.0 0.843831 MS - NMS 0.843831 0.0 NMH - NMS *1.0 0.843831

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.5 Análisis estadístico del número de nudos de Bouteloua gracilis.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	83.5505 350.711	3 64	27.8502 5.47987	5.08	0.0032
Total (Corr.)	434.262	67			

Multiple Range Tests

Method: 95.0 percent LSD Count Mean Homogeneous Groups MS 17 0.893793 X Χ NMS 17 0.967227 NMH 17 2.75061 Χ MH 17 3.43581 X Difference +/- Limits MH - MS *2.54202 1.60403 MH - NMH 0.6852 1.60403 MH - NMS *2.46859 1.60403 MS - NMH *-1.85682 1.60403 MS - NMS -0.0734338 1.60403 NMH - NMS *1.78339 1.60403

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.6 Análisis estadístico del número de espigas de Bouteloua gracilis.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	28.8092 61.8271	3 100	9.60308 0.618271	15.53	0.0000
Total (Corr.)	90.6364	103			

Multiple Range Tests

Method: 95.0 percent LSD Count Mean Homogeneous Groups MS 26 0.000384615 X NMS 26 0.000384615 X NMH 26 0.480769 X MH 26 1.28846 Difference +/- Limits Contrast _____ MH - MS *1.28808 0.432667 MH - NMH 0.432667 *0.807692 MH - NMS *1.28808 0.432667 0.432667 MS - NMH *-0.480385 MS - NMS 0.0 0.432667 NMH - NMS *0.480385 0.432667

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.7 Análisis estadístico de la variable Tasa de crecimiento relativo (TCR) de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	0.0010856 0.0385535	3 100	0.000361867 0.000385535	0.94	0.4250
Total (Corr.)	0.0396391 103				

Method: 95.0 percent LSD								
	Count	Mean	Homogene	eous Groups				
MS	26	0.00831359	Х					
NMS	26	0.0134785	X					
NMH	26	0.0151075	X					
MH	26	0.0170033	X					
Contras				+/- Limits				
MH - M	IS	0.00	868967	0.0108043				
MH - N	MS	0.00	352477	0.0108043				
MH - N	MH	0.00	189574	0.0108043				
MS - NMS		-0.00	051649	0.0108043				
MS - NN	ИΗ	-0.00	0679394	0.0108043				
NMS - NMH -0.001		0162904	0.0108043					

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.8 Análisis estadístico de la variable Supervivencia de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	36125.6 47323.8	3 100	12041.9 473.238	25.45	0.0000
Total (Corr.)	83449.4	103			

Method: 95.0 percent LSD								
	Count	Mean	Homoge	eneous Groups				
NMS	26	11.9615	X					
NMH	26	28.5385		X				
MH	26	49.8462		X				
MS	26	59.9615		X				
Contras	t		Difference	+/- Limits				
MH - M	S		-10.1154	11.9703				
MH - NI	MH		*21.3077	11.9703				
MH - NI	MS		*37.8846	11.9703				
MS - NN	ЛΗ		*31.4231	11.9703				
MS - NN	ЛS		*48.0	11.9703				
NMH - I	NMS		*16.5769	11.9703				

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.9 Análisis estadístico de la variable de Biomasa vástago de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	114.088 82.1369	3 28	38.0293 2.93346	12.96	0.0000
Total (Corr.)	196.225	31			

Multiple Range Tests

 Method: 95.0 percent LSD

 Count
 Mean
 Homogeneous Groups

 NMS
 8
 0.031675
 X

 MS
 8
 0.137088
 X

 NMH
 8
 2.59093
 X

Contrast Difference +/- Limits

X

Contrast	Difference	+/- Limits
MH - MS	*4.44649	1.75419
MH - NMS	*4.5519	1.75419
MH - NMH	*1.99265	1.75419
MS - NMS	0.105413	1.75419
MS - NMH	*-2.45384	1.75419
NMS - NMH	*-2.55925	1.75419

^{*} denotes a statistically significant difference.

8 4.58357

MH

11.10 Análisis estadístico de la variable de Biomasa radical de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	330.62 276.722	3 28	110.207 9.88293	11.15	0.0001
Total (Corr.)	607.342	31			

Multiple Range Tests

Method: 95.0 percent LSD Homogeneous Groups Count Mean NMS 8 0.0344375 Χ MS 0.0767987 Χ 8 NMH 8 4.03605 Χ 7.78701 Χ MH 8 Difference +/- Limits MH - MS *7.71021 3.21981 MH - NMS *7.75258 3.21981 MH - NMH *3.75096 3.21981 MS - NMS 0.0423612 3.21981 MS - NMH *-3.95925 3.21981 NMS - NMH *-4.00161 3.21981

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.11 Análisis estadístico para la variable de Biomasa húmeda total de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	532.058 333.258	3 28	177.353 11.902	14.90	0.0000
Total (Corr.)	865.316	31			

Method: 95.0 percent LSD							
	Count	Mean	Homo	geneous Groups			
NMS	8	0.051512	5	Χ			
MS	8	0.179687		X			
NMH	8	5.23659		X			
MH	8	9.90683		X			
Contras	st		Difference	+/- Limits			
MH - N	1S		*9.72714	3.53345			
MH - N	MS		*9.85531	3.53345			
MH - N	MH		*4.67024	3.53345			
MS - NI	MS		0.128175	3.53345			
MS - NI	МН		*-5.0569	3.53345			
NMS - I	NMH		*-5.18507	3.53345			

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.12 Análisis estadístico para la variable de Biomasa seca total de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	33.5715 20.4423	3 28	11.1905 0.7300	15.33	0.0000
Total (Corr.)	54.0138	31			

Multiple Range Tests

Method: 95.0 percent LSD Count Mean Homogeneous Groups NMS 8 0.0146 Χ MS 0.0341 Χ 8 Χ NMH 8 1.39039 2.46376 Χ MH 8 Difference +/- Limits MH - MS *2.42956 0.875131 MH - NMS *2.44916 0.875131 MH - NMH *1.07337 0.875131 MS - NMS 0.0195987 0.875131 MS - NMH *-1.35619 0.875131 NMS - NMH *-1.37579 0.875131

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.13 Análisis estadístico para la variable de cociente raíz/vástago (R/V) de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	124.42	3	41.4734	3.79	0.0212
Within groups	306.151	28	10.934		
Total (Corr.)	430.571	31			

Multiple Range Tests

Method: 95.0 percent LSD Count Mean Homogeneous Groups NMS 8 0.242758 Χ MH 8 1.61583 Χ NMH 8 2.37435 XX 8 5.60903 MS X Contrast Difference +/- Limits _____ -1.37307 NMS - MH 3.38669 NMS - NMH -2.1316 3.38669 NMS - MS *-5.36627 3.38669 MH - NMH -0.758528 3.38669 MH - MS *-3.9932 3.38669 -3.23467 NMH - MS 3.38669

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.14 Análisis estadístico para la porcentaje de colonización micorrízica en *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	13825.0 480.0	3 16	4608.33 30.0	153.61	0.0000
Total (Corr.)	14305.0	19			

Multiple Range Tests

Method: 95.0 percent LSD Count Mean Homogeneous Groups Χ NMS 5 1.0 NMH 5 2.0 Χ 5 Χ MS 40.0 63.0 Χ MH Difference +/- Limits MH - MS *23.0 7.34358 MH - NMS *62.0 7.34358 MH - NMH *61.0 7.34358 MS - NMS *39.0 7.34358 MS - NMH *38.0 7.34358 NMS - NMH -1.0 7.34358

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.15 Análisis estadístico para el uso eficiente del agua (UEA) en *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	2.84961	3	0.949869	15.14	0.0000
Within groups	1.75722	28	0.0627577		
Total (Corr.)	4.60682	31			

Method	Method: 95.0 percent LSD							
	Count	Mean	Homogene	ous Groups				
NMS	8	0.00642493	X					
MS	8	0.0150496	X					
NMH	8	0.407332	X					
МН	8	0.721791	×	<				
Contra	st		Difference	+/- Limits				
MH - N	/IS	*	0.706742	0.256579				
MH - N	IMS	3	*0.715366	0.256579				
MH - N	IMH	3	*0.314459	0.256579				
MS - N	MS		0.00862469	0.256579				
MS - N	МН	3	*-0.392283	0.256579				
NMS -	NMH	;	*-0.400907	0.256579				

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.16 Análisis estadístico para el potencial hídrico foliar en *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	9.22107 24.4057	3 24	3.07369 1.0169	3.02	0.0493
Total (Corr.)	33.6268	27			

Method	: 95.0 pei	rcent LSD	
	Count	Mean	Homogeneous Groups
NMH	7	-2.14286	X
MH	7	-1.84286	X
MS	7	-1.74286	X
NMS	7	-0.628571	X

Contrast	Difference	+/- Limits
MH - NMH	0.3	1.11249
MH - MS	-O.1	1.11249
MH - NMS	*-1.21429	1.11249
NMH - MS	-O.4	1.11249
NMH - NMS	*-1.51429	1.11249
MS - NMS	*-1.11429	1.11249

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.17 Análisis estadístico para la variable de evapotranspiración (ETR) de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	154777.0	3	51592.3	7.38	0.0002
Within groups	698714.0	100	6987.14		
Total (Corr.)	853491.0	103			

Method: 95.0 percent LSD						
	Count	Mean	Homogeneous Groups			
MS	26	111.029	X			
NMS	26	114.648	X			
MH	26	188.98	X			
NMH	26	190.9	Χ			
Contrast		1	Difference +/- Limits			

Contrast	Difference	+/- Limits
MH - MS	*77.9508	45.9954
MH - NMH	-1.91967	45.9954
MH - NMS	*74.3316	45.9954
MS - NMH	*-79.8705	45.9954
MS - NMS	-3.6192	45.9954
NMH - NMS	*76.2513	45.9954

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.18 Análisis estadístico para la variable de transpiración (TR) de *Bouteloua gracilis*.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	223.491	3	74.4971	2.93	0.0373
Within groups	2541.89	100	25.4189		
T + 1/0	07/5 00	100			
Total (Corr.)	2765.39	103			

Method	: 95.0 per	cent LSD	
	Count	Mean	Homogeneous Groups
MS	26	4.70868	X
MH	26	5.10683	X
NMH	26	7.0265	XX
NMS	26	8.32788	X
		5.1	

Contrast	Difference	+/- Limits
MH - MS	0.398153	2.77424
MH - NMH	-1.91967	2.77424
MH - NMS	*-3.22105	2.77424
MS - NMH	-2.31782	2.77424
MS - NMS	*-3.6192	2.77424
NMH - NMS	-1.30138	2.77424

^{*} denotes a statistically significant difference.

11.19 Análisis estadístico para la variable de evaporación (EV) de los controles.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups Within groups	78187.4 321797.0	1 50	78187.4 6435.95	12.15	0.0010
Total (Corr.)	399985.0	51			

Multiple Range Tests

Method: 95.0 percent LSD					
	Count	Mean	Homoger	neous Groups	
TS	26	106.321	X		
TH	26	183.873	Χ		
Contras	t		Difference	+/- Limits	
TH - TS			*77.5526	44.691	

^{*} denotes a statistically significant difference.