



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia

EFFECTO DEL TIPO Y TÉCNICA DE INOCULACIÓN DE
HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (*Rhizophagus
irregularis*) EN PLANTAS DE MAÍZ Y CEBADA.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA

Donovan Napoleón Covarrubias Segura

TUTOR: DR. CARLOS GONZÁLEZ ESQUIVEL

MORELIA, MICHOACÁN

MARZO DEL 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia

EFECTO DEL TIPO Y TÉCNICA DE INOCULACIÓN DE
HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (*Rhizophagus
irregularis*) EN PLANTAS DE MAÍZ Y CEBADA.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA

Donovan Napoleón Covarrubias Segura

TUTOR: DR. CARLOS GONZÁLEZ ESQUIVEL

MORELIA, MICHOACÁN

MARZO DEL 2017



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD MORELIA
SECRETARÍA GENERAL
SERVICIOS ESCOLARES

LIC. IVONNE RAMÍREZ WENCES
DIRECTORA
DIRECCIÓN GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
PRESENTE

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la **sesión extraordinaria 05** del **H. Consejo Técnico** de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES) Unidad Morelia celebrada el día **16 de junio del 2016**, acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el Examen Profesional del alumno **Covarrubias Segura Donovan Napoleón** con número de cuenta **309125901**, con la tesis titulada: **"Efecto del tipo y técnica de inoculación de hongos micorrizicos arbusculares (*Rhizophagus irregularis*) en plantas de maíz y cebada"** bajo la dirección como **tutor** del Dr. Carlos Ernesto González Esquivel y como **co-tutor** el Dr. Raúl Omar Real Santillán.

El jurado queda integrado de la siguiente manera:

Presidente:	Dra. Ana Isabel Moreno Calles
Vocal:	Dr. John Larsen
Secretario:	Dr. Carlos Ernesto González Esquivel
Suplente:	Mtro. Raúl Omar Real Santillán
Suplente:	Dr. Pablo Fabián Jaramillo López

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Morelia, Michoacán a. 14 de marzo del 2017.



DR. FERNANDO ANTONIO ROSETE VERGÉS
SECRETARIO GENERAL

Reconocimiento

Agradezco a la licenciatura en Ciencias Ambientales de la UNAM el que me permitiera formarme como un profesional en la materia.

Agradezco los siguientes financiamientos que tuve a lo largo de mis estudios de licenciatura:

Beca Pronabes

Proyecto Pro Inova (COSUSTENTA- Conacyt)

Beca de titulación SEP

Proyecto “monitoreo de *Dendroctonus* en bosques amenazados de México” Conacyt-UAQ

Beca de titulación del Consejo Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación del Estado de Michoacán

Beca de titulación UNAM

Agradezco al Dr. Carlos Ernesto González Esquivel, al M. Omar Raúl Real Santillán, a la Dra. Ana Isabel Moreno Calles, al Dr. Pablo Jaramillo, al Dr. John Larsen por ser parte del jurado de examen estando al pendiente del escrito de tesis y apoyándome en la revisión para que se culminara exitosamente.

Agradecimientos

Agradezco a mi alma mater, la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por permitirme ser parte de su grandeza y orgullo nacional, por brindarme conocimientos de primer nivel y poder tener su respaldo y prestigio institucional en todo momento, le estoy muy agradecido por el financiamiento en la formación de mis estudios de la preparatoria hasta la culminación de la licenciatura en Ciencias Ambientales.

Agradezco al Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES-UNAM) y a la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia (ENES-UNAM) por permitir formarme en sus laboratorios, con su personal docente y académico.

A mis padres, María Segura y Víctor Covarrubias por apoyar en todo momento la culminación de mis estudios, por su amor brindado desde niño y en financiar mis sueños académicos y deportivos.

Al Dr. Carlos Ernesto González Esquivel que además de ser el director de tesis es una gran persona y un buen amigo del cual he tenido siempre su apoyo.

Al M. Omar Raúl Real Santillán por ser una parte esencial en la realización de esta tesis, ayudándome en la parte de campo, estadística y de escritura, le estoy muy agradecido.

Al Dr. John Larsen por ser parte del jurado de examen, además de que me ha brindado su apoyo en todo momento, estando al pendiente del proceso del estudio y del escrito de tesis, al Dr. Javier Villegas por el apoyo en la realización del proyecto y de estar al pendiente del desarrollo del estudio, al Ing. Cuauhtémoc Sánchez por brindarme el apoyo de financiamiento y de estar dispuesto a auxiliarme en trámites burocráticos en las instalaciones de su empresa , así como de también compartirme de sus valiosos conocimientos en el sector agrícola.

A la Dra. Ana Isabel Moreno Calles, al Dr. Pablo Jaramillo por apoyarme en la revisión de la tesis y por aceptar ser parte de mi jurado de examen.

Índice

Reconocimiento	1
Agradecimientos	2
Resumen.....	6
Abstract	8
I. Introducción	10
II. Objetivo general.....	13
2.1 Objetivos específicos.....	13
III. Antecedentes	14
3.1 Crisis ecológica en la agricultura	14
3.2 Los HMA como parte del desarrollo sustentable y herramienta de la agroecología.....	16
3.3 Maíz (Zea mays).....	18
3.4 Cebada (Hordeum vulgare)	20
3.5 Inoculación con Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA).	21
IV. Pregunta de investigación.....	26
V. Hipótesis.....	26
VI. Metodología.....	27
6.1 Obtención y esterilización del suelo	27
6.2 Obtención y selección de semillas de Maíz.....	28
6.3 Obtención y selección de semillas de cebada.....	28
6.4 Primer factor de variación.....	28
6.5 Segundo factor de variación.....	28
6.6 Tercer factor de variación	28
Tabla 1. Diseño experimental en maíz.	29
Tabla 2. Diseño experimental en cebada.....	30
6.7 Ejecución de las técnicas de inoculación.....	31
6.8 Riego.....	31
6.9 Medición semanal de la altura aérea de las plantas en invernadero	31
6.10 Medición del peso fresco	32
6.11 Medición de peso seco de la raíz	32
6.12 Medición de peso seco de la parte aérea	32
6.13 Obtención de la colonización micorrízica.....	32

6.14 Análisis estadísticos.....	34
VII. Resultados y discusión	35
7.1 Maíz.....	35
7.1.1 Altura.....	35
Figura 1. Efecto del tipo, técnica y dosis de inoculo de HMA en altura de plantas de maíz.....	36
7.1.2 Peso seco de la parte aérea	38
Figura 2. Efecto del tipo, técnica y dosis de inoculo de HMA en el peso seco aéreo de maíz.....	38
7.1.3 Peso seco de la raíz	41
Figura 3. Efecto del tipo, técnica y dosis de inóculo de HMA en el peso seco de la raíz en el maíz.	42
7.1.4 Porcentaje de colonización micorrízica.....	44
Figura 4. Efecto del tipo, técnica y dosis de inoculo de HMA en el porcentaje de colonización micorrízica en el maíz.....	44
Figura 5. Interacciones de los gradientes de concentración en relación con los tipos de biofertilizantes en las plantas de maíz.....	45
7.2 Cebada.....	46
7.2.1 Altura de la parte aérea	46
Figura 6. Efecto del tipo y técnica de inoculación en altura de plantas de cebada.....	46
Figura 7. Plantas de cebada en el invernadero de la UNAM campus Morelia.....	47
7.2.2 Peso seco de la parte aérea	48
<i>Figura 8. Efecto del tipo de inoculo y técnica de inoculación en peso seco aéreo de plantas de cebada. Letras diferentes indican diferencias significativas estadísticamente entre tratamientos</i>	49
7.2.3 Peso seco de la raíz	50
Figura 9. Efecto del tipo y técnica de inoculación de HMA en el peso seco radicular en plantas de cebada.....	51
7.2.4 Porcentaje de colonización micorrízica.....	52
Figura 10. Promedio y error estándar del porcentaje de colonización micorrízica de HMA en cebada de acuerdo con las técnicas y aplicaciones de biofertilizantes.....	53
VIII. Conclusiones	54
IX. Referencias.....	56

Resumen

Los Hongos Micorrizicos Arbusculares establecen relaciones simbióticas benéficas con la mayoría de las plantas del planeta. Han servido como biofertilizantes debido a que son atrayentes potenciales de nutrientes como el fósforo, a su vez también mejoran la captación de recursos hídricos que están en la rizosfera y que son de difícil captura para las raíces de las plantas.

El objetivo de la investigación fue analizar el desarrollo de plantas de maíz y cebada con el uso de dos tipos de biofertilizantes de HMA contenidos en hidrogel.

Específicamente, se evaluó el efecto del tipo de inóculo (espora o inóculo molido) y de la técnica de inoculación (en el sustrato o sobre la semilla) del Hongo Micorrízico Arbuscular (*Rhizophagus irregularis*) en el desarrollo de Maíz (*Zea mays*) y Cebada (*Hordeum vulgare*).

Los biofertilizantes fueron empleados para establecer y potencializar el desarrollo de hongos micorrízicos arbusculares en las raíces de las plantas. Se emplearon dos distintas técnicas (directamente en la semilla y esparcida en el suelo) y diferentes gradientes de concentración de los biofertilizantes.

Los hidrogeles, promotores del crecimiento vegetal, fueron desarrollados mediante la colaboración de la empresa COSUSTENTA®, la UMSNH y la UNAM, el primer biofertilizante contenía solo esporas y el segundo una mezcla de hifas, vesículas y esporas en menor cantidad. El estudio se llevó a cabo con 90 unidades experimentales, 65 de maíz y 25 de cebada, en el que se establecieron 5 unidades testigos por especie de planta.

Se aplicaron de acuerdo al diseño experimental los tratamientos de los dos tipos de biofertilizantes, las dos técnicas de inoculación y los gradientes de concentración, el estudio se desarrolló durante ocho semanas en un invernadero de la UNAM campus Morelia.

Cada semana se tomaron datos del crecimiento de la planta durante las ocho semanas. Al cosechar las plantas se tomaron datos de peso seco de la raíz, peso seco de la parte aérea, y posteriormente en laboratorio la colonización micorrízica en las raíces.

El biofertilizante que sólo contenía esporas tuvo mejor rendimiento que el que contenía una mezcla de hifas, arbusculos, vesículas y esporas en menor cantidad.

Las plantas se desarrollaron mejor con la técnica de inoculación cuando el biofertilizante se dispersa homogéneamente en el suelo.

El maíz presentó mejor colonización micorrízica cuando se dispersó el hidrogel homogéneamente en el suelo. A medida que se aumentó la concentración por gramo de suelo del biofertilizante, este también aumentó el desarrollo de la colonización micorrízica.

La cebada presentó mejor desarrollo de la biomasa aérea cuando se inoculó el biofertilizante directamente sobre la semilla.

Seguir investigaciones en cuanto a la especificidad de ciertos tipos de hongos micorrizicos con distintas variedades de plantas es de vital importancia. De igual manera es fundamental que el sector de la academia difunda los conocimientos científicos hacia el sector campesino para que sean aplicados y así fortalecer acciones para un desarrollo sustentable exitoso.

Con la presente investigación se establecen estrategias y herramientas que sirven de utilidad para potenciar los cultivos de maíz y cebada de manera orgánica con el objetivo de fortalecer el desarrollo sustentable.

Abstract

The mycorrhizal arbuscular fungi establish benefic symbiotic relations with the majority of the plants of the world. They have a utility like biofertilizer because of their capacity for the potential attraction of nutrients like the phosphorus, besides they also improve the uptake of rhizosphere hydric resources that are of difficult uptake for the roots.

The aim of this research was to study the development of the maize and barley plants with the use of two types of biofertilizers of MHA in the hydrogel.

Specifically, be evaluate the effect of the type of the inoculum (spore or mixed inoculum) and the technique of inoculation (in the substrate or in the seed) of the Arbuscular Mycorrhizal Fungi (*Rhizophagus irregularis*) in the development of maize (*Zea mays*) and barley (*Hordeum vulgare*).

The biofertilizer was employed for establish and potent the development of arbuscular mycorrhizal fungi in the roots of the plants. Be employed two different techniques (directly in the seed and sparse in the soil) and different gradients of concentration of the biofertilizer.

The hydrogel, promoters of the vegetal growth, was development with the collaboration of the company COSUSTENTA®, the UMSNH and the UNAM, the first biofertilizer contains only spores and the second one mixed of hifes, vesicules and spores in minor quantity. The study carries with 90 experimental units, 65 of maize and 25 of barley, in that establish 5 witness units for each plant species.

Be applicate accord to the experimental design of the treatments of the two types of biofertilizers, the two techniques of inoculation and the gradients of concentration, the development of the study during eight weeks in the greenhouse of the UNAM campus Morelia.

Each week are take dates of the growth of the plant during the eight weeks. In the crop of the plants are take dates of dry weight of the root, dry weight of the air part, and after in the laboratory the mycorrhizal colonization of the roots.

The biofertilizant that only contain spores have better performance a difference that the contain one mixture of hifes, arbuscules, vesicules and spores in less quantity.

The plants are developed better with the technique of inoculation when the biofertilizant are dispersed homogeneously in the soil.

The corn presents better mycorrhizal colonization when is dispersed the hydrogel homogeneously in the soil. In a measure that increments the concentration for each soil gram of the biofertilizers, this also increases the development of the mycorrhizal colonization.

The barley presents better development of the air biomass when is inoculated the biofertilizers directly in the seed.

Continue the research about the specificity of certain mycorrhizal fungi types with different varieties of plants is of importance vital. Of the same manner is fundamental that the academic sector diffuses the scientific knowledge to the agricole sector for applicant this research and with this fortify actions for the success sustainable development.

With the present research are establish strategies and skills that serve of utility for potencialize the crops of organic maize and barley with the aim of fortify the sustainable development.

I. Introducción

Uno de los objetivos del desarrollo sustentable y la agroecología es disminuir el hambre mediante la producción de alimentos que no dañen al ambiente ayudando a transformar los sistemas de producción insostenibles actuales por un modelo sostenible haciendo uso de investigaciones y conocimientos científicos (Altieri,1995; Gliessman et al, 1998; Altieri,1999; Altieri, 2000).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son estructuras fúngicas que se establecen en el suelo y las raíces de las plantas relacionándose simbióticamente (Guerra, 2008).

Los HMA establecen relaciones simbióticas con la mayor parte de las plantas en el mundo, estimándose entre el 80 al 90% de las especies (Lanfranco et al, 1995; Smith y Read ,1997; Giovanetti, 1998; Benzing, 2001; Vierheilig, 2004; Barrer, 2009).

Para la agroecología los HMA son un pilar esencial para contribuir al establecimiento de prácticas agrícolas sostenibles (Bago, 1998; Barrer, 2009).

Se ha estipulado que la colonización micorrízica de las plantas es uno de los principales factores que influyen en el gradiente de crecimiento de la planta en condiciones de un suelo fértil (Gerdemann, 1975; Noda, 2009).

Las malas prácticas agrícolas ocasionan pérdida de diversidad en suelos, y también de tipos de HMA que son esenciales, la conservación de los sistemas naturales son un factor fundamental para mantener la sostenibilidad del planeta (Azcon-Aguilar, 1997; Van der Heijden, 1998).

Los HMA pertenecen al orden Glomales, se establecen al interior de la raíz y por medio de las hifas atraen nutrientes como el fósforo y mejoran la captación hídrica. La planta dota a los HMA de exudados de carbono con los cuales ellos se nutren (Harrison y Van Buuren, 1995; Rivera et al, 2003; Guerra, 2008; Carreón, 2009).

En los últimos años se han incrementado las investigaciones sobre el uso de HMA como estrategia de la agroecología para que las plantas potencialicen la captura de nutrientes

de difícil acceso convirtiéndolos disponibles para la planta (Colozzi-Filho, 2000; Xoconostle y Medrano, 2002).

El nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, zinc, y magnesio son de los nutrientes absorbidos como beneficio simbiótico entre la planta y el hongo (Barea, 2005, Blanco, 1997; Requena, 2006, Guerra, 2008).

La planta y el hongo tienen una relación simbiótica defensiva ya que el hongo forma una capa alrededor de las raíces que puede estimular bioquímicamente a la planta para repeler patógenos que pudieran atacarla (Dassi et al., 1998; Cuenca et al., 1998; Barea, 2005; Guerra, 2008; Barrer, 2009).

Otro aspecto positivo de los HMA es que cumplen la función de reservorio hídrico y amortiguamiento cuando existe estrés hídrico y abiótico en la planta (Merryweather y Fitter, 1996; Rivas, 1997; Alkaraki, 1998; Colozzi Filho, 2000; Barea, 2005; Requena, 2007).

Las hifas como componente vital de los HMA forman arbuscúlos y vesículas mediante la colonización de las raíces, estableciéndose en las células corticales de las raíces de las plantas en las que se van a desarrollar (Douds, 1999)

Aún hay procesos en los cuales se desconocen las interacciones simbióticas planta-hongo, de colonización micorrízica y en como interviene el estado del suelo (Serralde, 2004; Motta, 2005).

Khanam (2006) postula que es de vital importancia conocer los tipos de HMA que se aplican en distintas técnicas de fertilización como promotores de desarrollo vegetal y también conocer su desempeño con distintos tipos de cultivos, en especial cereales y legumbres.

Los HMA generalistas presentan distintos desarrollos de colonización en los tipos de suelo, plantas y clima que pueden existir en distintas regiones del mundo (Sieverding, 1986; McGonigle y Fitter, 1990, Appoloni, 2006).

Los HMA específicos llamados especialistas presentan mejor comportamiento y desarrollo de capacidad de colonización en plantas específicas (Sieverding, 1986; McGonigle y Fitter, 1990, Appoloni, 2006).

El establecimiento de la micorriza arbuscular además de propiciar un mejor crecimiento de biomasa en las plantas, también beneficia los procesos fotosintéticos de la planta y una mejor fotoasimilación (Bago, 1998)

Se estima que la mejora en fotoasimilación de la planta va del 4 al 20% cuando las plantas establecen una relación simbiótica con el HMA (Douds et al., 2000; Graham, 2000).

En distintas investigaciones se ha destacado el buen desarrollo que presenta la colonización de los HMA con la planta de maíz. (Lanfranco et al, 1995; Roveda et al.1998; Urdaneta y Roveda, 1999).

Investigar la inoculación de los HMA de la especie "*Rhizophagus irregularis*", permitirá establecer estrategias de cultivo promoviendo y potencializando su utilización encaminada a una producción más sostenible.

La utilización de HMA de la especie "*Rhizophagus irregularis*" como biofertilizante busca potencializar el desarrollo de cultivos y aprovechamiento de nutrientes en la rizósfera para el desarrollo de la planta.

El objetivo es tener alternativas que reemplacen a los fertilizantes químicos que deterioran el suelo y son un factor económico importante para el sector rural que no lo puede adquirir.

El presente estudio analiza cómo estos biofertilizantes que contienen HMA se desempeñan evaluando la colonización micorrízica, altura y peso de distintos factores de la planta.

El desarrollo de las plantas permitirá comprender como se beneficiaron de estos HMA.

II. Objetivo general

Evaluar el efecto del tipo de inóculo, el gradiente de concentración y la técnica de inoculación de propágulos de HMA, en el desarrollo de plantas de maíz y cebada bajo condiciones de invernadero.

2.1 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del tipo de inóculo y el gradiente de concentración en el desarrollo de plantas de maíz (altura, peso seco, aéreo, peso seco radicular) y en la colonización micorrizica.
- Evaluar el efecto del tipo de inóculo en el desarrollo de plantas de cebada (altura, peso seco aéreo, peso seco radicular) y en la colonización micorrizica.
- Evaluar el efecto de la técnica de inoculación (sobre la semilla o esparcido en el sustrato) en el desarrollo de plantas de maíz y cebada en la colonización micorrizica.

III. Antecedentes

3.1 Crisis ecológica en la agricultura

La producción agrícola actual, está creando una crisis ecológica insostenible por todos los recursos naturales que degrada (Sapiña, 2006).

La explotación de los recursos por la especie humana durante los últimos 100 años ha llevado a un deterioro ambiental nunca antes existente en el planeta (Toledo, 1995).

En el siglo XX la revolución verde generó gran productividad de alimentos, utilizando diseños de irrigación modernistas, fertilizantes químicos, mejora de semillas y uso de máquinas a base de combustión de hidrocarburos (Carroll et al. 1990; Pretty, 2008).

El aumento de la población, seguido de factores de desigualdad en cuanto a la distribución de los alimentos, en manejos de la tierra y económicamente, llevan a la necesidad de satisfacer la creciente demanda alimentaria y consecuentemente la explotación de recursos (Sapiña, 2006).

Los alimentos de generarse naturalmente sin utilizar agentes artificiales y de solo extraer lo necesario de la naturaleza, pasaron después de varios miles de años a un modelo industrializado con grandes monocultivos y dependencia del petróleo (Rosello et al, 2000).

Oligarquías agrícolas acaparan la producción de alimentos a nivel mundial, controlan territorios de siembra, semillas, patentes y hasta fertilizantes, por lo que para establecer un desarrollo sustentable son necesarios modelos de producción que sean amigables con el ambiente (Altieri y Nicholls, 2000).

Un excesivo uso de fertilizantes químicos en los cultivos causa que las colonizaciones micorrízicas y las cantidades internas de las esporas se vean mermadas y muchas veces inhibidas (Gianinazzi, 1994; Carling et al, 1996).

Con el uso de HMA como herramienta de fertilización se podría reemplazar del 50 al 80% de los fertilizantes químicos que ocasionan degradación ambiental. Solo entre el 40 al 60% del fertilizante químico es captado por la planta y lo demás se pierde en el

ambiente por lixiviación ocasionando eutroficación de los sistemas hídricos. (Mosse, 1981; Plenchette et al. 1983; Harrison, 1997; Roveda et al. 1998; Urdaneta y Roveda, 1999; Sapiña, 2006; Cuenca, 2007; Noda, 2009).

3.2 Los HMA como parte del desarrollo sustentable y herramienta de la agroecología.

En el último medio siglo comenzó a tomar cada vez más importancia el término sustentable el cual propone utilizar recursos naturales de manera que se disminuya el impacto en el ambiente para que las generaciones futuras los tengan en buen estado. (Altieri, 1999; Reid, 2005; Redclift y Woodgate, 2002).

El término establece la importancia de manejar los recursos naturales de manera consciente y responsable, colaborando con instancias gubernamentales para establecer políticas públicas (Masera et al, 2008).

Los agricultores deben adquirir conocimientos sobre las mejoras que implica el cambio de producción sostenible, potencializando el desarrollo de cultivos sin dañar las condiciones de los recursos bióticos y abióticos (Altieri y Nicholls, 2000)

El primer paso para lograr la producción sostenible sería anular la dependencia de los fertilizantes químicos, el segundo sería incorporar insumos orgánicos para planear procesos de producción fructíferos y sostenibles (Gliessman, 1998; Gliessman, 2002).

Es esencial que las culturas mexicanas, en particular los indígenas, no olviden las prácticas ancestrales de fertilización de los suelos, comprendan la importancia que tiene el conocer los recursos genéticos naturales y se apropien de los nuevos recursos científicos de la agroecología (Ortega, 2003b).

Por causas ambientales, económicas, culturales, ideológicas y políticas se promueve cada vez más la adquisición de alimentos orgánicos, lo que implica desarrollar la agricultura autosostenible respetando la conservación de los recursos naturales bióticos y abióticos (Restrepo, 1996; Rosset, 1997).

El uso de compostas, biochar, *Trichoderma*, *Azospirillum*, abonos verdes, biol y humus (Barrer, 2009) además del uso de HMA como promotor de crecimiento vegetal, cumplen la función de biofertilizantes como estrategia para potencializar las comunidades de biodiversidad en el suelo y el desarrollo de cultivos agrícolas,

reduciendo así el uso de fertilizantes químicos que dañan el ambiente (Guerra, 2008, Borda-Molina, 2009).

Los HMA contribuyen a sustituir el exceso de fertilizantes, a mantener sanos los ecosistemas, fortalecen la resiliencia y amortiguan en las plantas factores de estrés por recursos hídricos o patógenos; para los agricultores les permite reducir su dependencia económica de los caros fertilizantes químicos, y a nivel social establecer modelos de producción sustentable (Guerra, 2008).

3.3 Maíz (*Zea mays*)

El maíz es esencial en la nutrición de la población mexicana desde tiempos antiguos, además de que es pieza fundamental clave del patrimonio biológico y cultural de México por estar presente en muchos pueblos como parte de su seguridad alimentaria (Alvarez-Bullya, 2013).

El maíz tiene vital importancia como producto agrícola, ya que mueve parte importante de la economía en el país, las tortillas en el territorio nacional son parte vital de la gastronomía mexicana además de que son fundamentales para obtener proteínas, calcio y energía (Palacios-Fonseca, Vázquez-Ramos, y Rodríguez-García, 2009; Mora-Rochin et al. 2010).

El maíz es característico de México, se domesticó entre el 8000 y el 6000 AC, viéndose diversificado por movimiento de semillas a otras partes del continente americano generando variantes de razas, por lo tanto, México puede considerarse como centro de diversidad genética (Mc Clintock, 1981; Wilkes, 1995).

Matsuoka *et al* (2002) estableció con estudios moleculares que el maíz fue domesticado hace unos 9000 años en zonas altas del sur del país en el estado de Oaxaca, mientras que Mc Clintock (1978) y Kato (1984), mencionan que el maíz pudo domesticarse en cinco zonas de lo que hoy se conoce como Mesoamérica, lo que engloba al centro, y sur de México. En el territorio nacional mexicano se han reportado aproximadamente 59 razas endémicas (Alvarez-Bullya, 2013)

En el territorio nacional mexicano se han reportado aproximadamente 59 razas endémicas (Alvarez-Bullya, 2013).

La planta de maíz está caracterizada por tener en su estructura dos variantes de raíces, las cuales son fibrosas, y las segundas adventicias que crecen en la parte superior del suelo, los dos tipos tienen el mismo objetivo que es mantener erguida a la planta (Kato, 2009).

De acuerdo a Salazar y Godínez (2010), el maíz tiene la característica de ser una planta que se puede sembrar en una amplia variedad de climas, suelos y altitudes.

3.4 Cebada (*Hordeum vulgare*)

Históricamente la cebada es postulada como el cultivo más antiguo con el cual el hombre comenzó el proceso agrícola. Aproximadamente en el siglo XVI en América del norte se comenzó su producción gracias a las semillas traídas de Europa por españoles y alemanes (Garza, 2000).

La planta de cebada se desarrolla en crecimiento aproximadamente de 60 a 100 cm, su tallo es recto, en la punta desarrolla espigas con seis o dos carreras, la cebada tiene ciclos vegetativos que van de 100 a 125 días en completar su madurez (Olvera, 1991).

3.5 Inoculación con Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA).

Los HMA son un factor esencial para que las plantas puedan disponer de los nutrientes de manera más sencilla, y en pago simbiótico la planta brinda a los hongos micorrízicos exudados de carbono y hospedaje (Corredor, 2008).

La colonización efectiva de varios tipos de HMA en las raíces trae consecuentemente una mejor captación de fósforo en la rizósfera. En este proceso se mejora el crecimiento desarrollo de la planta aprovechando mejor los recursos del sistema natural (Habte y Soedarijo, 1996; Smith y Read, 1997; Blancof, 1997; Van der Heijden, 1998).

Las plantas que cuentan con establecimiento de HMA tienen mejor respiración en sus raíces a comparación de las plantas que no cuentan con desarrollo micorrízico (Shachar-Hill *et al.*, 1995; Douds *et al.*, 2000; Graham, 2000).

Los HMA se desarrollan de manera inter e intracelular en la estructura cortical de las raíces de las plantas, creando dos tipos de componentes que son los arbusculos y las vesículas (Bonfante-Fasolo, 1984; Quilambo, 2003).

Los arbusculos tienen como estructura a las hifas, las cuales dicotómicamente están separadas. Los arbusculos están en las células corticales de las raíces teniendo un corto lapso de vida, resultado de la simbiosis que se forma intercambiando nutrientes. (Bonfante- Fasolo, 1984; Ayling et al., 1997; Bago, 1998, Barker, 1998).

Los arbusculos en su fase periarbuscular generan intercambio bidireccional de nutrientes con las raíces de la hospedera haciendo con esto que la capacidad de contacto entre el hongo y la planta sean mayores (Gerdemann, 1968; Harley y Smith, 1983; Bonfante-Fasolo, 1984).

Las vesículas, que son otro componente importante en el establecimiento micorrízico y que sirven como estructura de concentración, son creadas en las puntas de las hifas (Barker, 1998)

La diversidad de HMA en variados sistemas naturales y las relaciones simbióticas que tienen con las raíces son factores importantes que inciden en biodiversidad de las plantas. (Van der Heijden, 1998)

El HMA que sea inoculado como promotor de crecimiento vegetal debe tener características semejantes al del hongo nativo de la zona para competir satisfactoriamente y efectuar adecuadamente los beneficios simbióticos con las plantas nativas (Mukerji *et al.* 1988; Tisdall *et al.*, 1997).

Para que se generen condiciones óptimas de colonización micorrízica se necesita establecer una buena simbiosis entre la hospedera y el hongo (Vierheilig 2004).

Del establecimiento micorrízico arbuscular que establece una planta, del 0 al 10% es gracias a los exudados de carbono que brindó otra hospedera cercana que ya tenía su establecimiento micorrízico arbuscular en las raíces. (Watkins *et al.*, 1996; Graves *et al.*, 1997).

Los HMA reducen su capacidad de colonización y biodiversidad por factores como el establecimiento de monocultivos, cambio de uso de suelo, la inoculación de fertilizantes químicos y pesticidas (Sieverding, 1991; Gianianazzi, 1994; Oehl, 2003).

Las cantidades de esporas nativas no tienen una relación en cuanto a la colonización micorrízica que efectúan las plantas (Hetrick y Bloom, 1986; Díaz y Honrubia, 1994). Khanam (2006) planteó que el pH, los nutrientes esenciales para las plantas y la cantidad de agua disponible en el suelo para la planta si dirigen el desempeño de la colonización micorrízica y también en la población de esporas.

Para valorizar el estado del suelo podemos utilizar como indicadores al pH y la materia orgánica, además de que los climas en los que se desarrollan también tienen incidencia en el desarrollo micorrízico (Abbott y Robson, 1991; Khalil *et al.*, 1992; Serralde, 2004).

Las características químicas del suelo como lo es el potencial de hidrogeno (pH) (Noyd *et al.*, 1996), el potasio (Ouimet *et al.*, 1996), el nitrógeno (Treseder, 2008) y el fósforo hacen que de existir exceso de estos nutrientes por fertilización se provoca inhibición

en el desarrollo de los HMA (Blancof, 1997; Amije *et al.*, 1989; Smith, 1997; Vierheilig, 2000).

La causa de que los HMA inhiban su desarrollo es que al existir grandes cantidades de fósforo y nitrógeno hacen que las raíces de las plantas no exuden carbono para que se alimenten los HMA haciendo que no se desarrollen óptimamente en las raíces hospederas (Hayman, 1982; Hayman, 1987; Fitter *et al.* 1998, Vierheilig, 2004, Treseder, 2008).

Labrar la tierra e insertar abono con cal (Gavito y Miller, 1998) podrían hacer variable el establecimiento de la colonización micorrízica en las raíces. Se sabe que el maíz criollo en condiciones adaptadas a climas, tipos de precipitación y altitud demuestra buen desempeño en cuanto a relaciones simbióticas asociadas con microorganismos con el objetivo de fijar nitrógeno y fósforo para la planta (Alvarez-Buylla, 2013).

Los exudados de las raíces tienen un papel fundamental para la acción de colonización micorrízica arbuscular óptima, viéndose modificada la exudación. Esto también podría tener un decremento en la colonización de los HMA (Vierheilig y Piché, 2002; Jennings, 1995; Fitter *et al.*, 1998; Robinson y Fitter, 1999).

Del 45 al 95% de las micorrizas arbusculares son conformadas por los reservorios de carbón que brinda la planta, estos están constituidos principalmente por lípidos (Beilby, 1983; Jabaji-Hare, 1988; Be'card *et al.*, 1991).

Se calcula que entre el 95 y el 99% del fósforo que está en el suelo no está disponible para el aprovechamiento. Es deseable establecer procesos de simbiosis entre el hongo y la planta que mejoren la captación del fósforo por parte del endófito (Hayman, 1982).

Los tipos de HMA no son limitados a establecer simbiosis con ciertos tipos de plantas (Smith, 1997; Posada, 2001). En contraste, las plantas si tienden a tener mejor desarrollo con tipos específicos de HMA dependiendo de la zona y las cualidades abióticas (Hayman, 1982; Van der Heijden, 1998).

El ciclo de vida del HMA empieza a partir de los propágulos que son introducidos en el suelo y comienzan a desarrollarse, haciendo que en este proceso la planta hospedera establezca la relación simbiótica (Bago, 1998).

Cuando el HMA se comienza a desarrollar y el hospedero no establece la relación simbiótica con el hongo se comienzan a dar efectos por parte del hongo para que se promueva la unión simbiótica y se puedan obtener sus beneficios (Giovannetti et al., 1994; Smith and Read, 1997; Blee and Anderson, 2000; Lambais, 2000; Shaul et al., 2000).

En los hongos micorrízicos las hifas como parte de sus componentes tienden a caracterizarse en tres variantes que son:

- Las hifas absorbentes que extraen de la rizósfera los nutrientes
- Las hifas infectivas que son las que establecen procesos de relación simbiótica con nuevos hospederos mediante la colonización.
- Las hifas fértiles, que contienen a las esporas.

Hay dos variantes en la manera en que los HMA colonizan a la parte cortical de la raíz, el estilo Paris consiste en que las hifas y arbusculos se enrollan intracelularmente. El estilo Arum presenta un desarrollo intercelular de hifas y arbusculos internamente en la estructura cortical celular de la raíz (Barker, 1998; Peterson, 2004; Cavagnaro, 2001).

Las ectomicorrizas tienen el compuesto fúngico esparcido en la raíz sin insertarse en las células, en las endomicorrizas el componente fúngico invade la raíz intercelularmente insertándose de la rizodermis a las células corticales y radicales (Ferrera y Perez, 1995; Popoff, 2008).

De acuerdo a Bago (2000) los hongos micorrízicos tardan de una a dos semanas para establecer relación simbiótica con la raíz de la planta. En el proceso se forma un componente conocido como apresorio que tiene la función de que las hifas ingresen en las células corticales.

El hidrogel con HMA como promotor del crecimiento vegetal permite reducir la cantidad de fertilizante químico, aumenta la absorción de nutrientes y mejora la tolerancia ante sequías. (<http://cosustenta.com/catalogo.html#>, consultado el 7 de septiembre de 2016).

IV. Pregunta de investigación

¿Cuál es el efecto del tipo de inóculo (espora o inóculo molido) y de la técnica de inoculación (en el sustrato o sobre la semilla) del hongo micorrízico arbuscular (*Rhizophagus irregularis*) en el desarrollo de maíz (*Zea mays*) y cebada (*Hordeum vulgare*)?

V. Hipótesis

Existen diferencias en el desarrollo de plantas de maíz y cebada y en la colonización micorrízica dependiendo del tipo de inóculo (esporas e inóculo molido), la concentración (1,5,10 propagulos por gramo de suelo para maíz y 10 propagulos para cebada) y la técnica de inoculación (semilla o sustrato).

VI. Metodología

Como parte del proyecto “Innovación en promotores de crecimiento vegetal” se aplicaron dos tipos de HMA (Esporas e inóculo molido) de la especie *Rhizophagus irregularis* bajo dos técnicas de inoculación (en el sustrato y sobre la semilla) con distintos gradientes de concentración por gramo de suelo que fueron: uno, cinco y diez propágulos por gramo de suelo a plantas de maíz y solo diez p/g.s. en cebada, además de un testigo. Se utilizó un diseño experimental en bloques al azar.

En maíz se aplicaron 13 tratamientos incluyendo al testigo con cinco repeticiones por tratamiento, para un total de 65 unidades experimentales (Tabla 1).

Para el caso de cebada se aplicaron cinco tratamientos incluyendo al testigo, para un total de 25 unidades experimentales (Tabla 2).

Los inóculos fueron proporcionados por la empresa COSUSTENTA®, y en base a la evaluación realizada por el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) se determinó que el inóculo de las esporas contenía 5×10^3 esporas por ml, mientras que el inóculo molido contenía 2×10^3 propágulos por ml.

6.1 Obtención y esterilización del suelo

Se obtuvo suelo y se mezcló con arena en proporción 1:1, posteriormente se pesaron 800 gr los cuales se insertaron en dos bolsas de plástico y se revolvieron, para posteriormente esterilizarlas en autoclave dos veces con un tiempo de una hora cada vez a una temperatura de 120 °C a presión de 15 bar.

Las plantas se sembraron en macetas de 1 L con 800 g de la mezcla suelo: arena. Al momento de la cosecha se evaluaron las siguientes variables dependientes:

- Alturas (cm)
- Peso seco de la parte aérea (gr)
- Peso seco de la raíz (gr)
- Porcentaje de colonización micorrízica

6.2 Obtención y selección de semillas de Maíz

Se utilizó semilla de maíz de la variedad H377 de Milpal®, a la cual se le retiró el fungicida enjuagándole con agua.

6.3 Obtención y selección de semillas de cebada

Se utilizó semilla de la variedad Doña Josefa, desarrollada por el INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias).

La inoculación de los HMA se llevó a cabo con una micropipeta científica, los mililitros de inóculo se determinaron en base a la cantidad del hidrogel original y la cantidad de propágulos que contenían, basándonos en los 800 g de suelo que se debían cubrir para la investigación.

6.4 Primer factor de variación

Tipos de biofertilizantes de HMA de la especie *Rhizophagus irregularis*

1. Hidrogel con propágulos de Inóculo Molido
2. Hidrogel con propágulos de Esporas

6.5 Segundo factor de variación

Técnicas de inoculación

1. Inoculación directa sobre la semilla
2. Inoculación esparcida de manera homogénea sobre el sustrato

6.6 Tercer factor de variación

Gradientes de concentración de los propágulos por gramo de suelo (Solo para el experimento de maíz).

Dosis	(1 propágulo/gr suelo)		(5 propágulos/gr suelo)		(10 propágulos/gr suelo)	
Técnica	En sustrato	En semilla	En sustrato	En semilla	En sustrato	En semilla
Esporas	T1	T 2	T 5	T 6	T9	T10
Inóculo Molido	T3	T 4	T 7	T 8	T 11	T 12
Testigo sin inóculo	T 13					

Tabla 1. Diseño experimental en maíz.

Técnica	En sustrato	En semilla
Esporas	T1 10 pr/gr suelo	T2 10 pr/gr suelo
Inóculo Molido	T3 10 pr/gr suelo	T4 10 pr/gr suelo
Testigo Inóculo	sin T5	

Tabla 2. Diseño experimental en cebada

Las plantas se desarrollaron por un periodo de ocho semanas (14 de octubre – 9 de diciembre del 2014).

6.7 Ejecución de las técnicas de inoculación

Se procedió primero a mezclar los dos tipos de biofertilizante (inóculo molido y las esporas) en el suelo de las bolsas de forma homogénea para las muestras que indicaban la técnica de inoculación de los HMA en el sustrato.

Teniendo ya las macetas con el inóculo molido y las esporas dispersas homogéneamente en el suelo se procedió a insertar las semillas de maíz y cebada.

A cada maceta originalmente se le sembraron dos semillas para asegurar una germinación por individuo.

Se procedió a inocular directamente sobre la semilla los dos tipos de HMA en las macetas, cumpliendo con los distintos gradientes de concentración de HMA adicionados a cada semilla de acuerdo al diseño experimental.

6.8 Riego

La capacidad de campo se determinó a través del método gravimétrico propuesto por Llorca (2006).

$$\% \text{ de la capacidad de campo} = \frac{(\text{Peso de suelo humedo} - \text{peso de suelo seco})}{(\text{Peso de suelo seco})} \times 100$$

A cada maceta se le agregaron 50 ml de agua y se llevaron al invernadero del IIES de la UNAM. Las plantas se mantuvieron a una capacidad de campo del 80% de humedad regándose todos los días.

6.9 Medición semanal de la altura aérea de las plantas en invernadero

Cada semana se midió la altura para ver como las plantas fueron creciendo.

En las macetas en las que en la primera semana germinaron las dos plántulas se eliminó una para permitir desarrollarse satisfactoriamente a la otra plántula y así dejar que solo una plántula aprovechara el efecto de los HMA para la atracción de nutrientes hacia la rizosfera.

6.10 Medición del peso fresco

Al terminar de cosechar las plantas de maíz y cebada, se procedió a eliminar los restos de suelo que estaban en las raíces. Las raíces se secaron con papel higiénico y se insertaron en una bolsa de papel estraza para proceder a pesarlas en una báscula y obtener el peso fresco.

6.11 Medición de peso seco de la raíz

Después de la cosecha de las plantas se procedió a cortar la parte de la raíz de las plantas y a meterlas en bolsas papel estraza para insertarlas en un horno de secado Fisher Scientific® durante 72 h a 70 °C, procediendo posteriormente a obtener los datos del peso seco total.

Se retiró una pequeña parte de las raíces (2 g aproximadamente) para evaluar la colonización micorrízica.

6.12 Medición de peso seco de la parte aérea

La parte aérea de la planta se insertó en papel estraza y se secó durante 72 horas a 70° C para proceder a tomar los datos de peso seco por planta.

6.13 Obtención de la colonización micorrízica

Se utilizó la técnica de tinción de raíces de Phillips y Hayman (1970). Este procedimiento es aplicado con el objetivo de conocer el desempeño que tuvo la colonización de los HMA en las raíces, se mide el grado de colonización, analizando con un previo conocimiento, el establecimiento de hifas, vesículas y arbusculos.

Procedimiento:

1. Se obtuvieron dos gramos de raíz por planta.

2. Las raíces se lavaron con agua potable para eliminar restos de suelo, y posteriormente se enjuagaron con agua destilada y se cortaron en pequeños fragmentos.

3. Se colocaron los fragmentos en tubos falcón y se cubrieron con una solución de KOH al 10% (correspondiente al método de clareo), posteriormente se calentaron en Baño María a 65°C, durante 10 minutos.

4. Se decantó el KOH y se lavaron 3 veces las muestras con agua destilada para eliminar el resto de los pigmentos.

5. Se mantuvieron las raíces cubiertas con HCl al 10%, esto con el fin de neutralizar los residuos de KOH. Se decantó el HCl sin enjuagar después de esta etapa.

6. Se cubrieron las raíces con una solución de azul tripano al 0.05% en lactoglicerol calentándose en baño maría a 65°C por 10 minutos.

7. Se eliminó el colorante poniendo el excedente en un recipiente para su posterior desecho.

8. Se les adicionó lactoglicerol con el objetivo de cubrir las raíces teñidas previamente con el Azul Tripano.

Con esta técnica de tinción se remueve el contenido celular y la raíz se torna opaca, y hace resaltar las estructuras de los HMA (hifas, vesículas, arbusculos) de un color azul intenso haciéndoles fáciles de analizar y observar.

El porcentaje de colonización se midió a partir de 10 fragmentos de raíz teñida de aproximadamente 1 cm de longitud, seleccionados al azar, registrando la presencia de estructuras propias del hongo MA por cada campo óptico de observación microscópica, con un aumento de 40 X.

De acuerdo a la técnica de Read (1976) se estimó el porcentaje de la colonización micorrízica que se estableció en las raíces de la planta, de acuerdo al análisis con la siguiente técnica se evaluó la presencia de arbusculos, esporas, hifas y micelio

El porcentaje de colonización se determina a partir de la siguiente fórmula (Giovanetti y Mosse, 1980).

$$\text{colonización} = \frac{(\text{n. intersecc. micorrizadas})}{(\text{n. intersecc. observadas})} \times 100$$

6.14 Análisis estadísticos

Teniendo las bases de datos en Microsoft Excel 2007 de la empresa Microsoft® de cada factor (Alturas, Pesos secos, peso fresco, pesos secos de la raíz, colonización micorrízica) se procedió a analizarlas con el programa estadístico StatGraphics® versión 5.0.

Las variables medidas fueron evaluadas mediante el análisis de varianza ANOVA de tres vías para el maíz y ANOVA simple para la cebada.

Las pruebas de diferencia de medias en el tipo de biofertilizante, técnica de inoculación y concentraciones se realizaron por el método de Tukey, con un nivel de confiabilidad de 95%.

VII. Resultados y discusión

7.1 Maíz

7.1.1 Altura

Como se puede observar en la Figura 1 no se encontraron diferencias significativas en el análisis de varianza ($P > 0.05$) para ninguno de los factores evaluados, con los dos tipos de biofertilizantes, las dos técnicas de inoculación, y concentraciones de los propágulos.

Bago (2000) estipula que los HMA establecen su colonización de forma simbiótica en un lapso aproximado de una a dos semanas por lo que el tiempo de ocho semanas es suficiente para satisfacer el presente estudio.

Kurle y Pflieger (1994) indicaron que hay tipos de HMA que pueden brindar beneficios a la planta, pero no específicamente incrementar el crecimiento de la planta.

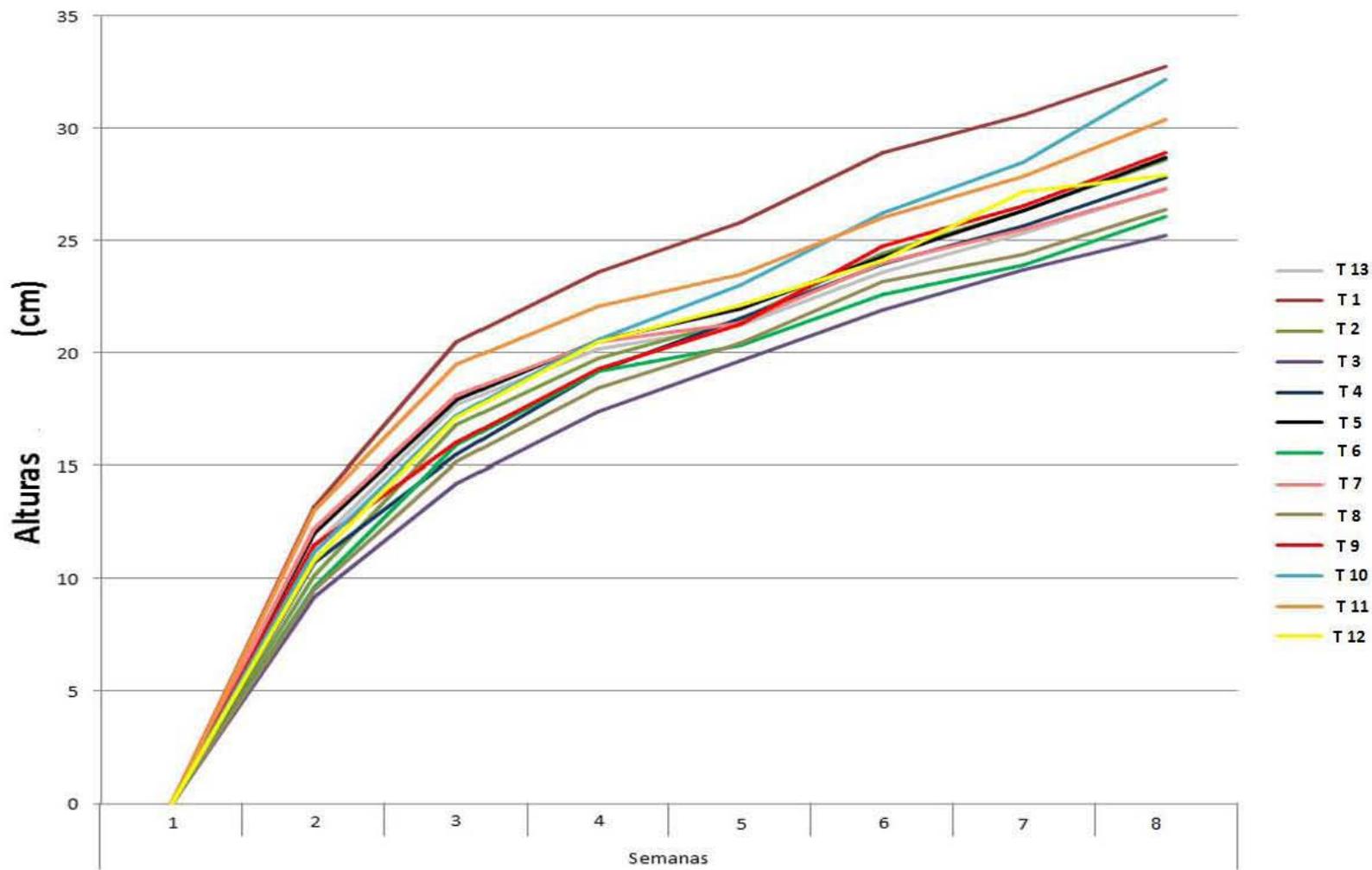


Figura 1. Efecto del tipo, técnica y dosis de inóculo de HMA en altura de plantas de maíz.

De acuerdo al trabajo de López (2011) mostro que su mejor desarrollo fue de 23 cm, a comparación del presente estudio, en el cual el mejor desarrollo (con un propagulo de espora por gramo de suelo en el sustrato) en un aproximado de 15 días, tenía 17 cm de altura lo que muestra menor desempeño en el crecimiento del maíz en nuestro estudio.

López (2013) trabajo con dos gradientes de irrigación (45 y 85%), con HMA nativos y de la especie *Rhizophagus intraradices* en un desarrollo de 42 días. Los resultados indicaron un mejor desarrollo en plantas hibridas a comparación del maíz con inóculos de HMA nativos y de *Rhizophagus intraradices*. A mayor capacidad de campo el testigo presentó mejor desarrollo a comparación del HMA nativo y de *Rhizophagus intraradices* con 68 cm a una capacidad de campo de 85%.

De acuerdo a los resultados que se pueden inferir de dicho trabajo, el inóculo nativo se adapta mejor a condiciones de estrés y presenta mejor desarrollo en la planta que los inóculos de HMA nativo y de *Rhizophagus intraradices*, pero en cambio cuando se fertiliza con fósforo a 45% de capacidad de campo se revierte el efecto presentando el testigo y el HMA *Rhizophagus intraradices* los mejores resultados.

7.1.2 Peso seco de la parte aérea

Como se puede contemplar en la Figura 2 no se encontraron diferencias significativas en el análisis de varianza ($P > 0.05$) para ninguno de los factores evaluados. No se presentó normalidad en el análisis estadístico, aunque los errores estándar indican que debió haber diferencias significativas.

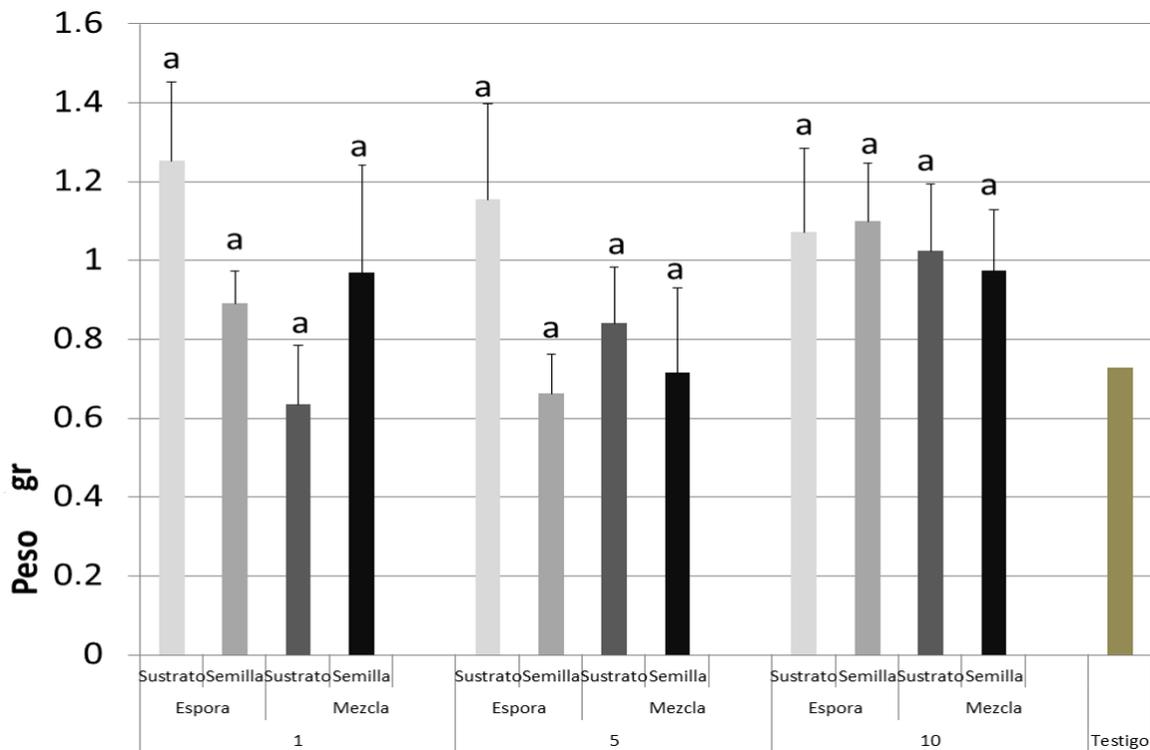


Figura 2. Efecto del tipo, técnica y dosis de inoculo de HMA en el peso seco aéreo de maíz.

Los HMA no potencializaron el desarrollo de la planta, al respecto Smith y Read (1997) señalan que los beneficios de los HMA están relacionados al beneficio de diversos factores como lo es la simbiosis para la toma de nutrientes, además de incrementar la obtención de agua para la planta, y no solamente adaptados para beneficiar el crecimiento de las plantas Kurle y Pflieger (1994).

Esto puede ser una explicación de lo que sucedió en el presente trabajo, en que las plantas se pudieron ver beneficiadas en otros factores como resistencia a sequía,

resistencia a patógenos o colonización micorrízica, pero no necesariamente en el crecimiento vegetal.

De acuerdo al estudio de Cuenca *et al.* (2007) se esperaba que en nuestro estudio las plantas que contenían los HMA con los dos tipos y sus gradientes, inoculados con las dos técnicas tuvieran diferencias significativas en el peso seco comparándolas contra el testigo.

Smith y Gianinazzi-Pearson (1988) plantearon que los HMA incrementan la obtención de los nutrientes contenidos en la rizósfera lo que podría beneficiar el crecimiento de las plantas, aunque para nuestro estudio no se presentó el planteamiento anterior.

Saucedo (2016) encontró un peso seco aéreo de 0.6 g en cuanto a plantas de maíz con HMA en una parcela del Estado de México y de 0.4 g en una parcela de Michoacán. Este último resultado tuvo menor desarrollo a comparación de nuestros desempeños con el tratamiento de las esporas en el sustrato y también todos los tratamientos con la concentración de 10 propágulos por gramos de suelo.

López (2013) en el estudio de 42 días encontró que el peso seco de la parte aérea del testigo presentó mayor desarrollo a comparación de las plantas con HMA nativo y *Rhizophagus intraradices* a comparación de nuestro estudio en el cual no hay diferencias significativas.

En el estudio de López (2013) en el tratamiento de irrigación al 85% con fertilización de fósforo y el testigo presentaron altos desempeños de 8 gramos aproximadamente lo que contrasta los resultados obtenidos en nuestro estudio sin fósforo.

En el presente estudio el mayor desempeño fue de 1.2 gr a comparación del de López (2013) en el que en 42 días se logró un desempeño de 8 gramos, lo que demuestra que el fósforo es determinante para el desarrollo de la planta. En nuestro estudio el maíz al depender de los HMA para la obtención de este nutriente pudo haber inhibido la colonización y por lo tanto el desempeño en crecimiento de la planta pudo también haberse afectado.

Esto nos podría demostrar que, aunque existió en el presente estudio una colonización micorrízica para las plantas de maíz, pudo haber baja dependencia hacia los HMA ocasionando que no existiera un apto desarrollo en el crecimiento de la planta.

7.1.3 Peso seco de la raíz

Para esta variable no se encontraron diferencias significativas en el análisis de varianza ($P > 0.05$) para ninguno de los factores evaluados, ni se presentó normalidad en la distribución como se muestra en la Figura 3.

De acuerdo a Smith (1982) las plantas tienden a que sus raíces muestren distintos comportamientos en crecimiento respondiendo a varios gradientes de fósforo disponible en el suelo.

Se esperaba que los HMA tuvieran buen desarrollo y que no presentaran inhibición por la presencia de fósforo. Las raíces necesitan crecer más para ir en la búsqueda de nutrientes y al encontrar los propágulos de los HMA se comienza a establecer la simbiosis.

Se demuestra un desarrollo importante, aunque no significativo estadísticamente en el crecimiento de la raíz cuando se inoculan los propágulos de las esporas con ambas técnicas, teniendo un gran contraste en cuanto al desempeño del inóculo molido.

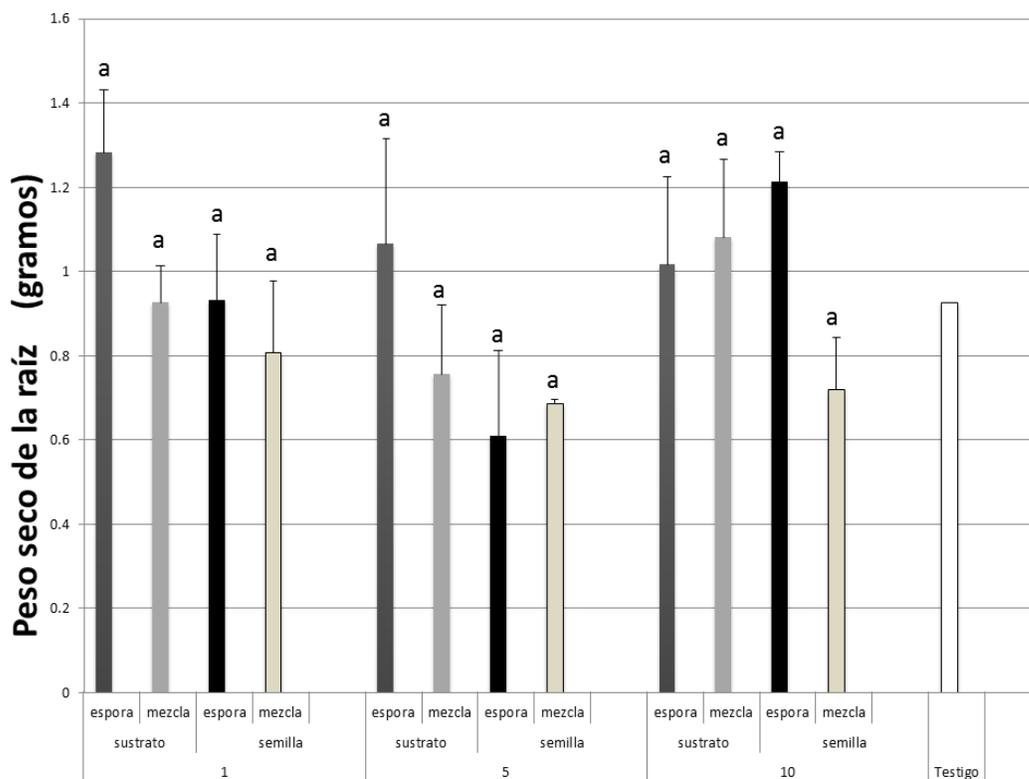


Figura 3. Efecto del tipo, técnica y dosis de inóculo de HMA en el peso seco de la raíz en el maíz.

De acuerdo al trabajo de Gutiérrez (2012) se observó que cuando no hay fosforo o buena captación de nutrientes la raíz reduce su tamaño, produciendo menor masa radicular.

El estudio de Saucedo (2016) en el cual las plantas se desarrollaron en 10 semanas en invernadero se muestra que el peso seco radicular testigo presentó 3.8 g, mientras que el desarrollo de maíz con HMA en una parcela de Guanajuato 4.8 g, Michoacán 6g y en Estado de México 5.8 g. Lo anterior muestra un beneficio por la presencia de los HMA a comparación del testigo, aunque para nuestro estudio con presencia de HMA el mejor desarrollo en un tiempo de 8 semanas fue de 1.2 gr aproximadamente.

López (2013) evaluó dos gradientes de irrigación (45 y 85%), con HMA nativos y de la especie *Rhizophagus intraradices* en un desarrollo de 42 días. Se pudo volver a presenciar el mismo efecto que en el peso seco de la parte aérea, en el cual el tratamiento de 85% con fósforo y el testigo fueron los que tuvieron el mayor desarrollo radicular presentando de 6 a 6.3 gramos.

Comparando los resultados de López (2013) con nuestro estudio se puede concluir que la falta de nutrientes en la rizósfera es un factor determinante para limitar el crecimiento de la raíz, así como también que la presencia de fósforo inhibe el establecimiento de los HMA.

7.1.4 Porcentaje de colonización micorrízica

Como se aprecia en las figuras 4 y 5 los propágulos de esporas tuvieron un mejor desempeño, que hace que se presenten diferencias significativas en mejor colonización micorrízica a comparación de los propágulos de inóculo molido.

De acuerdo al estudio de Doude et al. (1990) se plantea que las esporas al tener lípidos necesitan satisfacer su demanda de carbono, y las raíces al tener alta colonización micorrízica estrechan relación con las hifas hacia la fuente de carbono.

Se puede comprender para el presente estudio que el efecto de la presencia de esporas en mayores cantidades por cada gramo de suelo entre tratamientos hace que se potencialice el establecimiento de colonización por los HMA. A mayor concentración de los propagulos de esporas se establece mayor colonización lo que brinda mayores exudados de carbono y esto se ve reflejado en las diferencias de concentración de cinco y diez esporas por gramo de suelo.

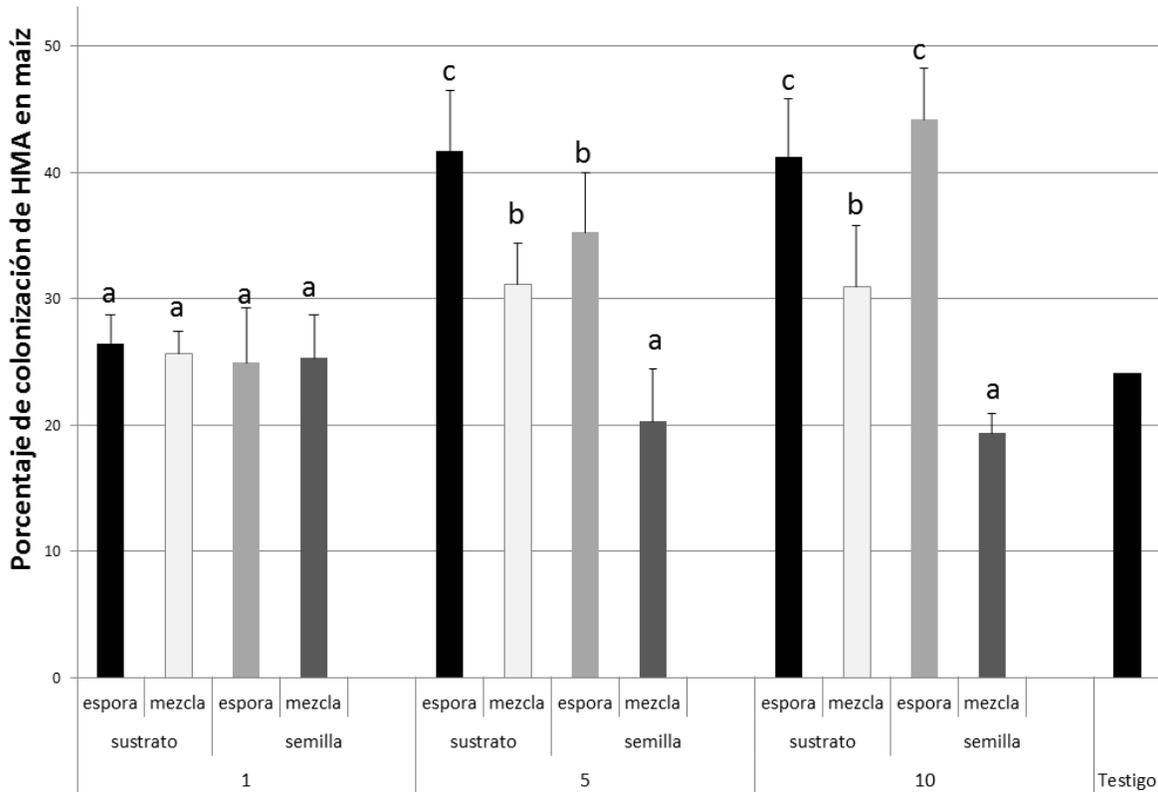


Figura 4. Efecto del tipo, técnica y dosis de inóculo de HMA en el porcentaje de colonización micorrízica en el maíz.

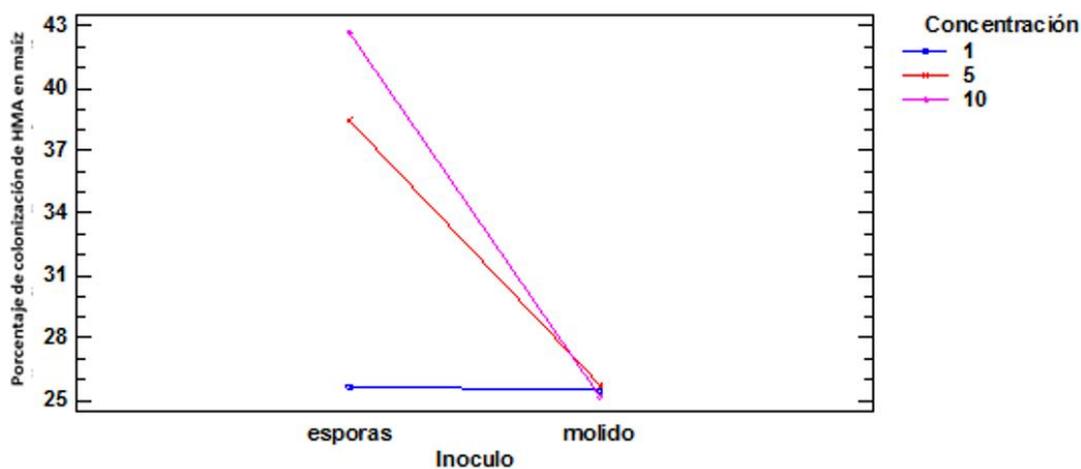


Figura 5. Interacciones de los gradientes de concentración en relación con los tipos de biofertilizantes en las plantas de maíz.

Se muestra que de acuerdo al aumento de la concentración de los propágulos de los promotores de crecimiento vegetal es mejor el desempeño que las plantas tienen en cuanto a colonización micorrízica, por lo que se puede confirmar como una buena estrategia y herramienta para potenciar el rendimiento de los cultivos de maíz.

7.2 Cebada

7.2.1 Altura de la parte aérea

Como se puede apreciar en la Figura 6, la altura de las plantas se incrementó cuando los propágulos fueron inoculados directamente en la semilla. En contraparte cuando los propágulos se inoculan esparcidos homogéneamente sobre el sustrato se nota una deficiencia en el crecimiento de la cebada.

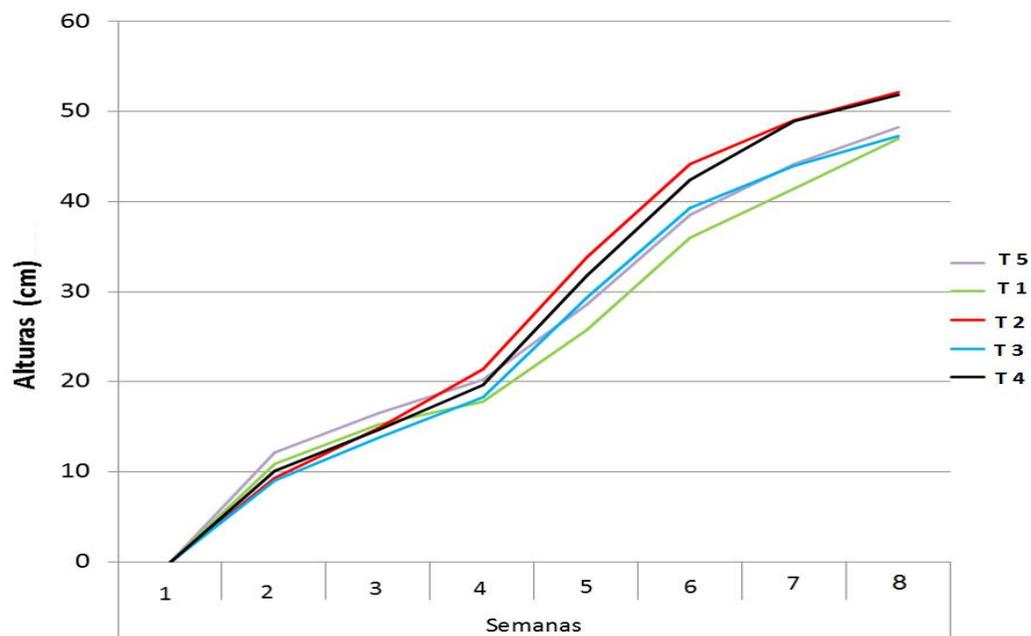


Figura 6. Efecto del tipo y técnica de inoculación en altura de plantas de cebada.



Figura 7. Plantas de cebada en el invernadero de la UNAM campus Morelia.

Suárez (2016) trabajó con cebada inoculándosele HMA, *Pseudomonas spp.*, y nanotubos de carbono en un desarrollo de 8 semanas. Presentaron los testigos una altura de 60 cm, lo cual fue mayor que lo obtenido en el presente estudio.

En el estudio de Suárez (2016) entre los tratamientos que se les inocularon solamente HMA no hubo diferencias significativas, pero cuando se inoculó HMA + nanotubos de carbono con 100mg/P hubo diferencias significativas en altura, al igual que cuando se inocularon los HMA + *Pseudomonas spp* + nanotubos de carbono con las concentraciones de 50 mg/P y 100 mg/P.

De lo anterior puede entenderse que los HMA nativos dan mejor potencial de crecimiento para la cebada a comparación del coctel de HMA, *Pseudomonas spp*. y nanotubos de carbono.

La cebada no es buena estableciendo colonización micorrizica (Hetrick y Bloom,1986; Díaz y Honrubia, 1994) y presenta un desempeño en crecimiento importante cuando se aplican altas dosis de fósforo, hay que recordar que el fósforo inhibe la colonización micorrízica (Khanam, 2006, Serralde, 2004).

7.2.2 Peso seco de la parte aérea

Se puede apreciar en la Figura 8 que hay diferencias significativas en la técnica de inoculación, teniendo la aplicación sobre la semilla un mejor desempeño.

Cabe destacar que no hubo diferencias significativas en los propágulos de esporas inoculados directamente sobre el sustrato, en el que el inóculo molido presentó una diferencia significativa en comparación con las esporas.

Este efecto se puede explicar en función de que en ocasiones los HMA pueden no beneficiar a la planta en su desarrollo, pero si otros factores como la resistencia a sequía (Kurle and Pflieger, 1994).

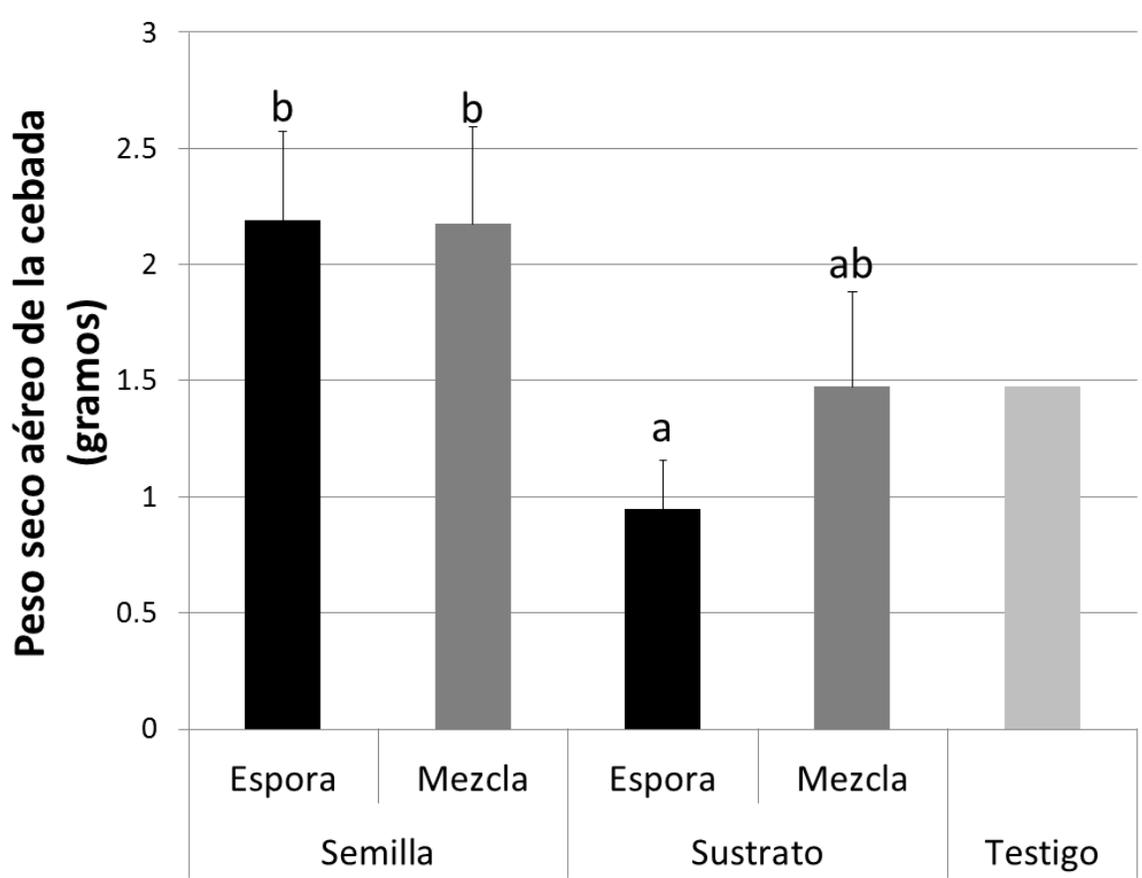


Figura 8. Efecto del tipo de inoculo y técnica de inoculación en peso seco aéreo de plantas de cebada. Letras diferentes indican diferencias significativas estadísticamente entre tratamientos.

Suarez (2016) trabajó con cebada inoculando HMA, *Pseudomonas spp.*, y nanotubos de carbono. En un periodo de 8 semanas existieron diferencias significativas cuando se inoculó HMA con *Pseudomonas spp.*

En una concentración de 100 mg/P se obtuvieron 7.5 g que es mayor que en el presente estudio, presento diferencias significativas en los tratamientos de HMA +nanotubos de carbono y en la combinación de HMA + *Pseudomonas spp.* + nanotubos de carbono.

Los resultados del presente estudio coinciden con los de Suárez (2016), en donde a las 8 semanas se obtuvieron también diferencias significativas inoculando HMA en la semilla. El propágulo de esporas con la técnica de semilla presentó mayor diferencia en el desempeño de crecimiento de la planta a comparación de la técnica en el sustrato con el mismo inóculo.

7.2.3 Peso seco de la raíz

Como se puede apreciar en la Figura 9. se presentaron diferencias significativas de acuerdo a la técnica de inoculación empleada y el tipo de inóculo.

En el desarrollo de la cebada con los propágulos de esporas se tuvo mejor desempeño cuando se inoculó directamente sobre la semilla, a comparación de los propágulos de inóculo molido, el cual presento un mejor desarrollo cuando se esparce en el sustrato.

El buen desempeño de la espora en la semilla se entiende por lo postulado por Douds *et al.* (1990) en el cual dice que las esporas al tener lípidos satisfacen su demanda de carbono. Si en las primeras instancias de desarrollo las raíces dotan de carbono al HMA se desarrolla una simbiosis benéfica e inmediata.

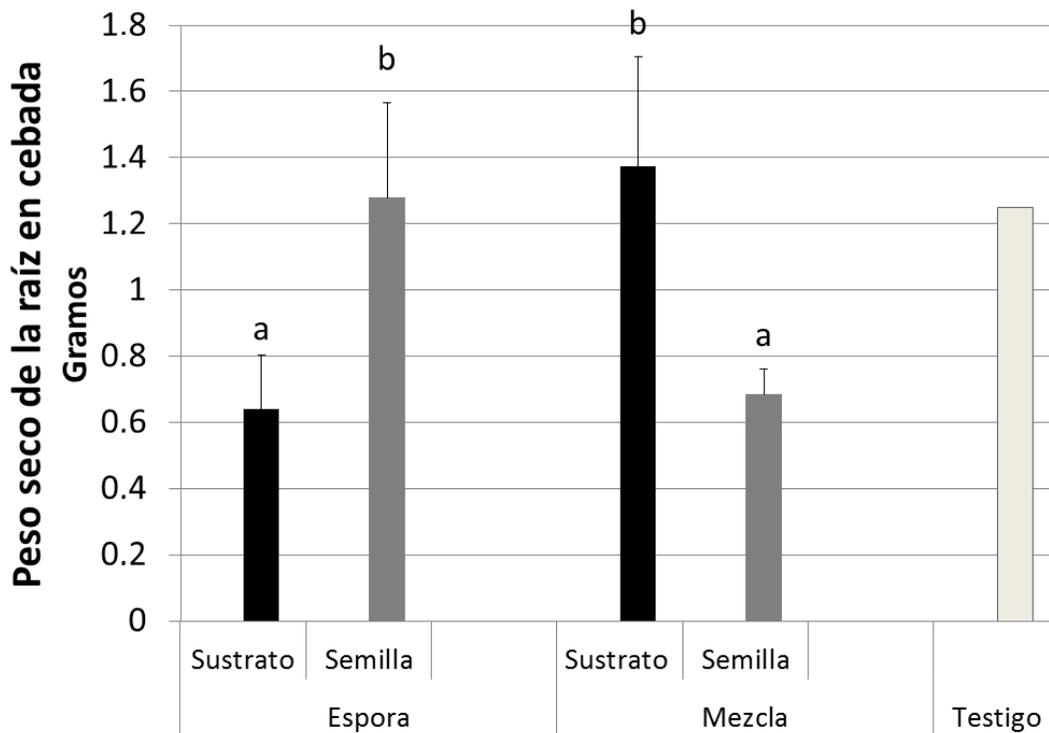


Figura 9. Efecto del tipo y técnica de inoculación de HMA en el peso seco radicular en plantas de cebada.

Suárez (2016) encontró diferencias significativas en el peso seco de raíces de cebada de ocho semanas después de haber sido inoculadas con *Pseudomonas* spp. y fertilizadas con 0 mg/P y 50 mg/P únicamente.

En el estudio de Suárez (2016) y en el presente estudio se puede analizar que cuando las raíces tienen poca presencia de fósforo tienen un buen desempeño significativo en crecimiento de las raíces, lo que indica una buena interacción simbiótica de colonización.

Cuando el inóculo de esporas fue esparcido en el sustrato se presentó inhibición en el crecimiento de las raíces, reflejo de que no se beneficiaron de la colonización para

potencializar la toma de nutrientes. La baja disponibilidad de nutrientes se vio reflejado en la inhibición del crecimiento radicular.

7.2.4 Porcentaje de colonización micorrízica.

Como se puede apreciar en la Figura 10, en el análisis de la colonización de HMA no se encontraron diferencias significativas en el análisis de varianza ($P > 0.05$) para ninguno de los factores evaluados, a pesar de los distintos tratamientos con los dos tipos de biofertilizantes, las dos técnicas de inoculación, y concentraciones de los propágulos.

Vierheilig (2004) encontró que las plantas de cebada tendían a suprimir la acción de colonización micorrízica como componente defensivo contra patógenos y también cuando existe una alta tasa de micorrización en las raíces.

En este estudio al trabajar con la dosis de diez propágulos por gramo de suelo el efecto de colonización de los HMA fue muy alto en comparación con el trabajo de Vierheilig (2004), aunque no presentó diferencias significativas entre los tratamientos.

Suárez (2016) tampoco encontró diferencias significativas en la colonización micorrízica, pero se pudo observar que mientras la tasa de fósforo aumentaba la colonización micorrízica disminuía, esto debido a que el fósforo inhibe el desarrollo de los HMA.

La respuesta no significativa entre tratamientos en este estudio coincide con lo señalado por Ferrera-Cerrato y Alarcón (2008) y Sylvia (1993), en el sentido de que la respuesta de la planta puede variar en función del grado de dependencia entre los endófitos y la hospedera, así como el grado de colonización. Así mismo, ellos señalan que la actividad fúngica representa un costo para la planta en las etapas iniciales de crecimiento, pues ésta aporta fuentes energéticas carbonadas para el metabolismo del hongo.

Vierheilig *et. al* (2000) reporta que los hongos micorrízicos inoculados en cebada tuvieron comportamientos en los cuales se presentó que la comunidad micorrízica estaba inhibida en un lado de la raíz a pesar de la labor de colonización exitosa que si se había llevado a cabo en otras partes de la raíz; si este comportamiento se presentó

en este estudio podría dar bases para comprender porque no hubo diferencias significativas en la colonización micorrízica.

Lerat *et al.* (2003) encontraron que, en cebada el reducido otorgamiento de carbono por la hospedera hizo que la colonización micorrízica en las raíces de la cebada se viera afectada en gran medida.

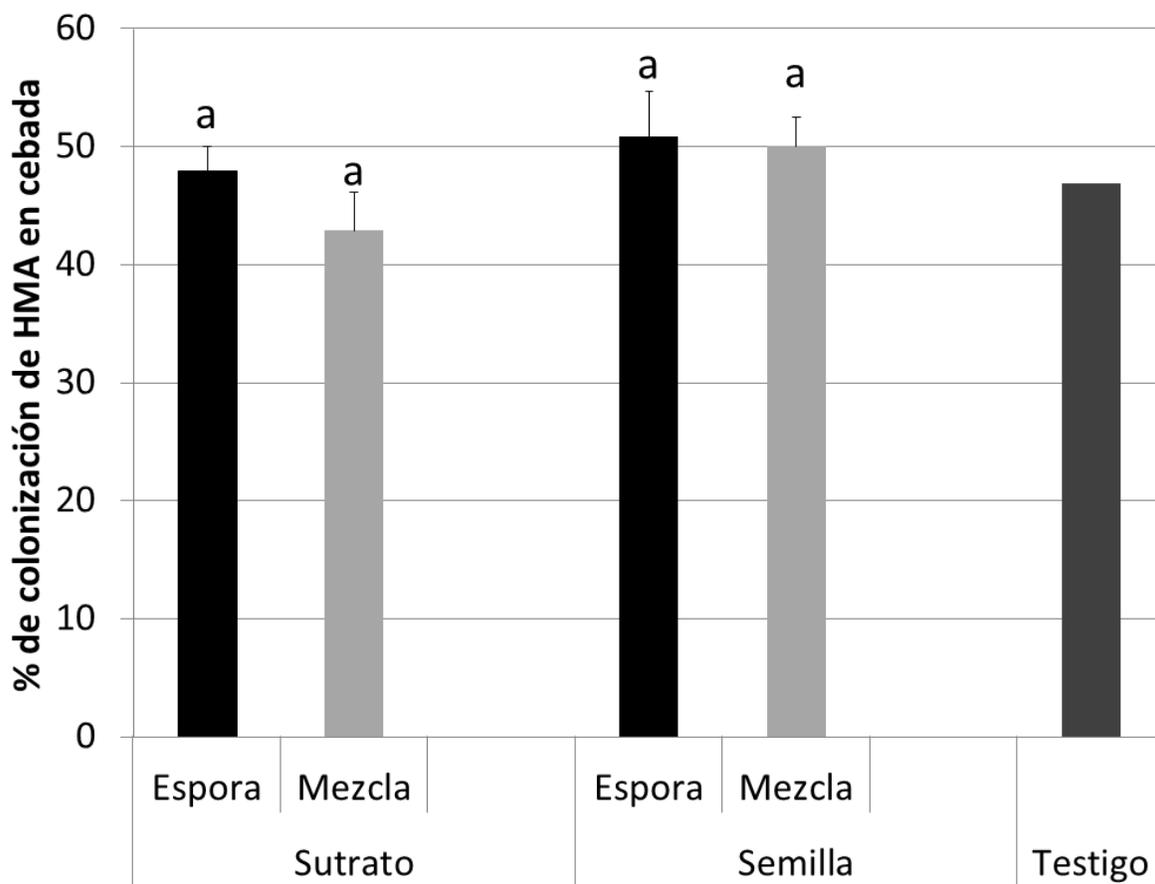


Figura 10. Promedio y error estándar del porcentaje de colonización micorrízica de HMA en cebada de acuerdo con las técnicas y aplicaciones de biofertilizantes.

VIII. Conclusiones

Las plantas de maíz presentaron un mejor desempeño en altura cuando fueron inoculadas con un propágulo por gramo de suelo del hidrogel de esporas. El estudio mostró que para el maíz la inoculación de los propágulos en el sustrato tuvo mejor desempeño que cuando se inocula directamente sobre la semilla.

La inoculación con esporas presentó mejor desempeño a comparación del inóculo molido en cuanto al peso seco de las raíces. Las concentraciones de cinco y diez propágulos por gramo de suelo del hidrogel de esporas dispersos homogéneamente en el sustrato mejoraron la colonización micorrizica, debido a que a mayor cantidad de propágulos se potencializó el establecimiento de los HMA.

Los resultados del presente estudio se compararon con otros estudios en cuanto a mismas variables en el mismo tiempo de desarrollo en crecimiento de las plantas utilizando HMA.

En el presente estudio se tuvo mejor desempeño con el hidrogel de los dos tipos de HMA a comparación de los HMA utilizados por Saucedo (2016) la cual utilizo la técnica tradicional de raíces en el suelo.

De acuerdo al estudio de Collins et al. (1991) en el cual se analizaron HMA en condiciones nativas, comparándolo con el presente estudio se mostró un mejor desempeño en cuanto a la utilización del hidrogel de esporas.

En colonización, en el presente estudio utilizando hidrogel con esporas para inocular HMA se mostró mejor rendimiento en cuanto a colonización micorrizica a comparación del trabajo de Herrejón (2015) y de Gutiérrez (2012).

Los resultados son muy complejos en cuanto a desempeños, apoyados en las conclusiones de otros trabajos como los de (Hetrick y Bloom, 1986; Díaz y Honrubia, 1994) se tienen que hacer más investigaciones de HMA para comprender su funcionamiento.

En plantas de cebada el mejor desarrollo en altura se presentó cuando se inocularon los propágulos directamente en la semilla. En específico las esporas tuvieron mejor desempeño que el inóculo molido cuando se inocularon directamente sobre la semilla.

Las raíces se desarrollaron mejor cuando se inoculó la spora de manera homogénea en el sustrato.

La cebada tuvo mejor interacción con las esporas para establecer colonización.

Es importante que los productores de cebada conozcan que la inoculación de esporas son una herramienta fundamental para potencializar la colonización en sus cultivos.

Nuestros resultados fueron comparados con otros estudios que tienen variables, especies y técnicas semejantes para brindar conclusiones objetivas basadas en literatura científica.

Para fortalecer el desarrollo sustentable de los cultivos es indispensable que los conocimientos de la academia se permeen hacia los campesinos, para que con buenas herramientas de la agroecología se potencialice el desarrollo de cultivos.

IX. Referencias

- Abbott, L.K., Robson A.D. (1991)** Factors influencing the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhiza. *Agril Ecosyst Environ* 35: 121-150
- Aguilar, J. S., y Aguirre, E. H. (2009).** La historia se repite: una visión del desarrollo y del desarrollo sostenible. *Revista Facultad de Ciencias Económicas: Investigación y Reflexión*, 17(1), 195-216.
- Al-Karaki, G.N, Clark R.B. (1998)** Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat under water stress. *J. Plant Nutr* 21:263-276
- Altieri, M. (1995).** *Agroecology: the science of sustainable agriculture*. Westview Press. Boulder, Colorado. 448 p.
- Altieri, M. (1999).** *Agroecología, Bases científicas para una agricultura sustentable*. CLADES-Chile. 235 p.
- Altieri, M. y C. Nicholls. (2000).** *Agroecología: Teoría y práctica para una agricultura sustentable*. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. México.
- Altieri, M.A. (2000).** The ecological impacts of transgenic crops on agroecosystem health. *Ecosystem Health*, 6(1), 13-23.
- Alvarado, M. (2015)** Caracterización de comunidades de Hongos micorrízicos arbusculares en diferentes agroecosistemas de maíz (*Zea mays L.*) (Tesis de licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México.
- Alvarez-Buylla, E., y Alma Piñeyro-Nelson (2013).** "El maíz en peligro ante los transgénicos." *UNAM-UCCS. México* (2013).
- Amijie F., Tinker P.B. y Stribley D.P. (1989).** The development of endomycorrhizal root systems. *New Phytol* 111: 435-446.

- Appoloni, Susann et al. (2006)** Molecular Community Analysis of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Roots of Geothermal Soils in Yellowstone National Park (USA). *Microbiological Ecology*, 56:649-659. 2006.
- Ayling, S. M., Smith, S. E., Smith, F. A., y Kolesik, P. (1997).** Transport processes at the plant fungus interface in mycorrhizal associations: physiological studies. In *Plant Nutrition for Sustainable Food Production and Environment* (pp. 737-742). Springer Netherlands.
- Azcón-Aguilar, C. y J.M.Barea.(1997).** Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture:significance and potentials. *Scientia Horticulturae* 68: 1-24
- Bago, B., Azcon-Aguilar C, Goulet A, Piche, Y. (1998b)** Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 139: 375–388
- Barea, J.M., Jeffries. P. (1995)** Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant systems. In A Varma, B Hock, eds, *Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology*. Springer-Verlag, Berlin, pp 521–560
- Barker, S. J., Tagu, D., y Delp, G. (1998).** Regulation of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbioses. *Plant physiology*, 116(4), 1201-1207.
- Barocio, C. (2014)** Estudio de las interacciones entre cepas comerciales de hongos promotores del crecimiento y antagonistas (*Trichoderma spp.*), y hongos entomopatógenos (*Metarhizium anisopliae*, y *Bauveria bassiana*) (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Barrer, S. E. (2009).** El uso de hongos micorrizicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(1).
- Be´card, G., Doner, L.W., Rolin, D.B., Douds, D.D., Pfeffer, P.E. (1991)** Identification and quantification of trehalose in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi by in vivo ¹³C NMR and HPLC analyses. *New Phytol* 118: 547–552

- Beilby, J.P. (1983)** Effects of inhibitors on early protein, RNA, and lipid synthesis in germinating vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spores of *Glomus caledonium*. *Can J Bot* 29: 596–601
- Benzing, A., Bullón, Amés, J., Soto, L., Rosalem, C. A., Machado, J. R., Michan, M. M., y Daghlian, C. (2001).** Agricultura orgánica-fundamentos para la región andina (No. F08-11). Instituto de la Potasa y el Fósforo, Quito (Ecuador).
- Blanco, F., y Salas, E. (1997).** Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía costarricense*, 21(1), 55-67.
- Blee, K. A., y Anderson, A. J. (2000).** Defense responses in plants to arbuscular mycorrhizal fungi. *Current advances in mycorrhizae research*. Edited by GK Podila and DD Douds, Jr. APS Press, St. Paul, Minn, 27-44.
- Bonfante-Fasolo, P. (1984)** Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In CL Powell, DJ Bagyaraj, eds, *VA Mycorrhiza*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 5–33
- Borda-Molina, D., Pardo-García, J. M., Martínez-Salgado, M. M., & Montaña-Lara, J. S. (2009).** Producción de un biofertilizante a partir de un aislamiento de *Azotobacter nigricans* obtenido en un cultivo de *Stevia rebaudiana* Bert. *Universitas Scientiarum*, 14(1), 71-78.
- Carling, D.E., Roncadori, R.W., Hussey, R.S. (1996)** Interactions of arbuscular mycorrhizae, *Meloidogyne arenaria*, and phosphorus fertilization on peanut. *Mycorrhiza* 6:9-13.
- Carroll, R. J. Vandermeer y P. Rosset (1990).** *Agroecology*. McGraw-Hill, Ed. 641 p.
- Cavagnaro, T. R., Gao, L. L., Smith, F. A., y Smith, S. E. (2001).** Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity. *New Phytologist*, 151(2), 469-475.

- Chacón, A. M. y Cuenca, G. (1998).** Efecto de las micorrizas arbusculares y de la fertilización con fósforo, sobre el crecimiento de la guayaba en condiciones de vivero. *Agronomía Tropical*, 48(4), 425-440.
- Collins, N., Pflieger, F., Crookston, R., Simmons, S. y Coipeland, P. (1991).** Vesicular-Arbuscular mycorrhizas respond to corn and soybean cropping history. *New Phytol* 117: 657-663.
- Colozzi Filho, A., y Cardoso, E. J. B. N. (2000).** Detecção de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotalária cultivada na entrelinha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(10), 2033-2042.
- Corredor, G. A. (2008).** Micorrizas arbusculares: Aplicación para el manejo sostenible de los agroecosistemas.
- Cuenca, G., Cáceres, A., Oirdobro, G., Hasmy, Z., y Urdaneta, C. (2007).** Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 32(1), 23-29.
- Dassi, B., Dumas-Gaudot, E., y Gianinazzi, S. (1998).** Do pathogenesis-related (PR) proteins play a role in bioprotection of mycorrhizal tomato roots towards *Phytophthora parasitica*?. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 52(3), 167-183.
- Douds, D. D., y Millner, P. D. (1999).** Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agriculture, ecosystems & environment*, 74(1), 77-93.
- Douds, D.D, Pfeffer, P.E., Shachar-Hill, Y. (2000)** Carbon partitioning, cost and metabolism of arbuscular mycorrhizae in arbuscular mycorrhizas: physiology and function. In Y Kapulnick, DD Douds Jr, eds, *Arbuscular Mycorrhizas: Molecular Biology and Physiology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands

- Douds, D.D. Jr., Galvez L., Janke R.R. y Wagoner P. (1995).** Effect of tillage and farming system upon populations and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 52: 111-118.
- Douds, D.D., Jr., Galvez L., Bécard G. y Kapulnik Y. (1990).** Regulation of arbuscular mycorrhizal development by plant host and fungus species in alfalfa. *New Phytol* 138: 27-35.
- Ezawa, T., Yamamoto, K., y Yoshida, S. (2000).** Species composition and spore density of indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi under different conditions of P-fertility as revealed by soybean trap culture. *Soil science and plant nutrition*, 46(2), 291-297.
- Ferrera-Cerrato, R. (1995).** Efecto de rizosfera. R. Ferrera-Cerrato y J. Pérez M.(eds.). *Agromicrobiología. Elemento útil en la agricultura. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México*, 36-52.
- Fitter, A.H., Graves J.D., Watkins. N.K., Robinson. D, Scrimgeour. C. (1998)** Carbon transfer between plants and its control in networks of arbuscular mycorrhizas. *Funct Ecol* 12: 406-412
- Garg, K. L., y Mukerji, K. G. (Eds.)(1988).** *Biocontrol of plant diseases.* Crc Press.
- Gavito, M.E. y Miller M-H. (1998).** Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop management practices. *Plant and soil* 198: 185-192.
- Gerdemann, J. W. (1975).** *Vesicular-arbuscular mycorrhizae.*
- Gerdemann, J.W. (1968)** Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Annu Rev Phytopathol* 6: 397-418
- Giovanetti, Manuela y Sbrana, Cristiana (1998).** Meeting a non-host: the behavior of AM fungi. *Mycorrhiza*,8: 123-130. 1998
- Giovannetti, M., Sbrana, C., Citernesi, A,S., Avio, L., Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S. (1994)** Recognition and infection process, basis for host

specificity of arbuscular mycorrhizal fungi. In S Gianinazzi, H Schüepp eds, Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Birkhauser-Verlag, Basel, pp 61–72

Giovannetti, M., y Mosse, B. (1980). An evaluation of technique for measuring vesicular – arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol* 84: 489-500.

Gliessman, S. (2002). Agroecología: Procesos ecológicos en agricultura sostenible. CATIE. Costa Rica. 359 p.

Gliessman, S., E. Engles y R. Krieger. (1998). Agroecology: ecological processes in sustainable agriculture. Ann Arbor Press. Chelsea, UK. 212 p.

González-Chávez, M., Alarcón, A., y Ferrera-Cerrato, R. (2008). Biodiversidad funcional de los hongos micorrízicos arbusculares en zonas áridas y semiáridas. Montaña-Arias, M., SL Camargo-Ricalde., R. García-Sánchez & A. Monroy-Ata, 13-37.

Graham, J.H. (2000) Assessing costs of arbuscular mycorrhizal symbiosis agroecosystems fungi. In GK Podila, DD Douds Jr, eds, Current Advances in Mycorrhizae Research. APS Press, St. Paul, pp 127–140

Graves, J.D., Watkins, N.K., Fitter, A.H., Robinson, D., Scrimgeour, C. (1997) Intraspecific transfer of carbon between plants linked by a common mycorrhizal network. *Plant Soil* 192: 153–159

Guerrero, E. (1996). Micorrizas recurso biológico del suelo. Fondo Fen. Bogotá, Colombia, 6-50.

Gutiérrez, C. (2012) Respuesta de Hongos Micorrízicos Versículo Arbusculares nativos a inóculos comerciales de microorganismos biofertilizadores (Tesis de licenciatura). Universidad Tecnológica de Morelia, México.

- Habte, M, Soedarijo, M (1996)** Response of *A.mangium* to vesicular arbuscular mycorrhizal inoculation, soil pH and soil P concentration in an oxisol. *Can J Bot* 74:155-161
- Harley, J.L., Smith, S.E. (1983)** *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London
- Harrison, M. J. (1997)**. The arbuscular mycorrhizal symbiosis: an underground association. *Trends in Plant Science*, 2(2), 54-60.
- Harrison, M.J., van Buuren ML (1995)** A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature* 378: 626–629
- Hayman, D. S. (1982)**. Influence of soils and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology*.
- Hayman, D. S. (1987)**. VA mycorrhizas in field crop systems.
- Hetrick, B.A.D., Bloom, J. (1986)** The influence of host plant on production and colonization ability of vesicular arbuscular mycorrhizal spores. *Mycologia* 78:32-36
- Howeler, R. H., Sieverding, E., y Saif, S. (1987)**. Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. In *Plant and Soil Interfaces and Interactions* (pp. 249-283). Springer Netherlands.
- Jabaji-Hare, S. (1988)**. Lipid and fatty acid profiles of some vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: contribution to taxonomy. *Mycologia*, 622-629.
- Jennings, D.H. (1995)** *The Physiology of Fungal Nutrition*. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- Kato, T., Mapes, C., Mera, L., Serratos, J.,Bye, R.(2009)**. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

- Kato, Y., T. (1984).** Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evol. Biol.*, 17,219-253.
- Khalil, S., Loynachan, T.E., McNabb, H.S. (1992)** Colonization of soybean by mycorrhizal fungi and spore population in Iowa soils. *Agron J* 84: 832-836.
- Khanam, D., Mridha, M. A. U., Solaiman, A. R. M., y Hossain, T. (2006).** Effect of edaphic factors on root colonization and spore population of arbuscular mycorrhizal fungi. *Bulletin of the Institute of Tropical Agriculture, Kyushu University*, 29(1), 97-104.
- Kurle, J. E., y Pflieger, F. L. (1994).** The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi. *Mycorrhizae and plant health*, 101-132.
- Lambais, M.R. (2000)** Regulation of plant defense related genes in arbuscular mycorrhizae. In GK Podila DD Douuds Jr, eds, *Current Advances in Mycorrhizae Research*. APS Press, St. Paul, pp 45–60
- Lanfranco, L., Wyss, P. Marzachi, C. y Bonfante, P. (1995).** Generation of RADP-PCR primers for the identification of isolates of *Glomus mosseae*, an arbuscular mycorrhizal fungus. *Mol. Ecol.* 4: 61-68.
- Lerat, S., Lapointe, L., Gutjahr, S., Piché, Y., y Vierheilig, H. (2003a).** Carbon partitioning in a split-root system of arbuscular mycorrhizal plants is fungal and plant species dependent. *New Phytol.* 157: 589–595.
- López, D. (2013)** Respuesta de micorrizas de maíz (*Zea mays*) a un gradiente de estrés hídrico y fertilización mineral (Tesis de Maestría).). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- López, J.E (2011)** Evaluación del efecto de Hongos Micorrizicos Arbusculares en la etapa presimbótica contra *pythium ultimum* en plantas de maíz. (Tesis de licenciatura). Universidad Tecnológica de Morelia, México.

- Masera,R.O., Astier,M y Galván-Miyoshi (2008).** Evaluación de la sustentabilidad, un enfoque dinámico y multidimensional. SEAE, CIGA, ECOSUR, UNAM, GIRA, Mundiprensa, CIEco. IMAG Impressions. Valencia, España.210 p.
- Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M., J. Sanchez, J., Buckler, E., y Doebley, J. (2002).** A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. PNAS,99, 6080-6084.
- McClintock, B. (1978).** Significance of chromosome constitutions in tracing the origin and migration of races of maize in the Americas. In D. B. Walden (Ed.), Maize Breeding and Genetics (pp.159-184). New York: John Wiley and Sons.
- McClintock, B. (1981).** Chromosome constitution of races of maize; its significance in the interpretation of relationships between races and varieties in the Americas (No. 04; CP, QH470 M3.).
- Merryweather, J., y Fitter, A. (1996).** Phosphorus nutrition of an obligately mycorrhizal plant treated with the fungicide benomyl in the field. New Phytologist, 132(2), 307-311.
- Mora-Rochin, S., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Sánchez-Peña, P., Reyes-Moreno, C., y Milán-Carrillo, J. (2010).** Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. Journal of Cereal Science,52(3), 502-508.
- Mosse, B. (1981).** Vesicular arbuscular mycorrhizal research in tropical agriculture. Res. Bull.194
- Motta, Dumar y Munévar, Fernando (2005).** Respuesta de plántulas de palma de aceite a la micorrización. Palmas,26(3): 11-20.
- Noda, Y. (2009).** Las Micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. Pastos y Forrajes, 32(2), 1-1.

- Noyd, R.K., Pfleger F.L. y Norland M.R., (1996).** Field responses to added organic matter, arbuscular mycorrhizal fungi, and fertilizer in reclamation of taconita iron ore tailing. *Plant and Soil* 179: 89-97.
- Oehl, Fritz et al. (2003)** Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(5): 2816-2824.
- Ortega, P., R. (2003).** La diversidad del Maíz en México. En G. Esteva, & C. Marielle (Edits.), *Sin maíz no hay país. Culturas Populares de México.*
- Ouimet, R., Camiré C. y Furlan V. (1996).** Effect of soil K, Ca and Mg saturation and endomycorrhization on growth and nutrient uptake of sugar maple seedlings. *Plant and Soil* 179: 207-216.
- Palacios-Fonseca, A. J., Vazquez-Ramos, C., y Rodríguez-García, M. E. (2009).** Physicochemical characterizing of industrial and traditional nixtamalized corn flours. *Journal of Food Engineering*, 93(1), 45-51.
- Peterson, Larry; Massicote, Hugues y Melville, Lewis (2004).** *Mycorrhizas: Anatomy and cell biology.* Ottawa: NRC Research press, 173.
- Phillips, J. M. y D.S. Hayman (1970).** Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans.Br. Mycol. Soc.*, 55:158-161
- Plenchette, C., Fortin, J. A., y Furlan, V (1983).** Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and soil*,70(2), 199-209.
- Popoff, O. (2008).** *Beino fungi: Micorrizas.*
- Posada, Raúl (2001)** Presencia de propágulos de hongos de micorriza arbuscular en muestras de hojarasca alrededor de dos especies arbóreas en un bosque húmedo tropical. *Acta biológica colombiana*,6(1): 47-55.

- Pretty, J. (2008)** Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. *Phil. Trans. R. Soc. B* 363:447-465
- Quilambo, Orlando (2003)** The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal Biotechnology*, 2(12):539-546. 2003.
- Read, D.J., Koucheki, H.K., Hodgaon, J. (1976)** Vesicular arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. *New Phytol* 77:641-653.
- Redclift, M., y Woodgate, G. (2002).** *Sociología del medio ambiente; una perspectiva internacional.* McGraw-Hill.
- Reid, W. 2005.** Evaluación de los ecosistemas del milenio, ONU, Borrador final no Publicado. Consultado en línea en mayo 2012 en: [//www.millenniumassessment.org/proxy/Document.439.aspx](http://www.millenniumassessment.org/proxy/Document.439.aspx)
- Requena, N., Serrano, E., Ocón, A., y Breuninger, M. (2007).** Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. *Phytochemistry*, 68(1), 33-40.
- Restrepo, J. (1996).** Elementos básicos sobre agricultura orgánica en Centroamérica. Corporación Educativa para el Desarrollo Costarricense, San Jose (Costa Rica).
- Rivas, D.M. (1997).** Sustentabilidad y desarrollo sostenible. In *Sustentabilidad: desarrollo económico, medio ambiente y biodiversidad* (pp. 41-68). Parteluz.
- Rivera, R., Fernández, K., Hernández, A., Triana, J. R., y Fernández, K. (2003).** El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. La Habana, Cuba, 35.
- Robinson, D., Fitter, A. (1999)** The magnitude and control of carbon transfer between plants linked by a common mycorrhizal network. *J Exp Bot* 50: 9-13

- Roselló, O.J., A. Dominguez y A. Gascón. (2000).** Comparación del balance energético y de los costos económicos en cítricos y hortalizas valencias en cultivo ecológico y convencional. IV Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica. Córdoba, España.
- Rosset, P.M. (1997).** La crisis mundial de la agricultura convencional y la respuesta agroecológica. Conferencias. III Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Villa Clara, Cuba.
- Roveda, G., Rojas, A., Ramírez, M., Alegría, E., Corredor, G.(1998)** Efecto de la asociación micorrízica con plantas de maíz bajo condiciones de suelos de los Llanos Orientales de Colombia. Memorias IX Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo. Paipa, Boyacá. Octubre 21-24, pp. 211-215.
- Sanchez-Diaz, M., y Honrubia, M. (1994).** Water relations and alleviation of drought stress in mycorrhizal plants. In Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems (pp. 167-178). Birkhäuser Basel.
- Sapiña, F., y Navarro, F. S. (2006).** ¿Un Futuro sostenible?: el cambio global visto por un científico preocupado (Vol. 10). Universitat de València.
- Saucedo, E. (2016)** Efecto de la interacción entre comunidades nativas de hongos micorrízicos arbusculares y cepas del genero *Trichoderma* sobre el crecimiento y nutrición del maíz (Tesis de Maestría). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México.
- Serralde, Ana y Ramirez, María. (2004)** Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. Revista Corpoica, 5(1) 31-40.
- Shachar-Hill, Y., Pfeffer, P.E., Douds, D., Osman, S.F., Doner, L.W., Ratcliffe, R.G. (1995)** Partitioning of intermediate carbon metabolism in VAM colonized leek. Plant Physiol 108: 7-15

- Sieverding, E. (1991).** Vesicular-arbuscular mycorrhizae management in tropical agrosystems. Technical Cooperation Federal Republic of Germany. Eschborn.371p
- Sieverding, Ewald (1986)** El papel de las micorrizas en la agricultura. Suelos Ecuatoriales, 16(1) 52-59. .
- Siqueira, J. O., y Moreira, E. M. S. (2003).** Microbial populations and activities in Spain.
- Smith, S. E., Gianinazzi-Pearson, V., Koide, R., y Cairney, J. W. G. (1994).** Nutrient transport in mycorrhizas: structure, physiology and consequences for efficiency of the symbiosis. Plant and Soil, 159(1), 103-113.
- Smith, S.E. (1982)** Inflow of phosphate into mycorrhizal and non mycorrhizal plants of *Trifolium subterraneum* at different levels of soil phosphate. New Phytol 90:293-303.
- Smith, S.E., Gianinazzi-Pearson, V. (1988).** Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 39: 221-244.
- Smith, S.E., Read, D.J., (1997).** Mycorrhizal Symbiosis, second ed. Academic Press, London, UK.
- Suárez, J.L (2016)** Inoculación de promotores de crecimiento y diferentes dosis de fertilización fosforada en cebada (*Hordeum vulgare*) (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Sylvia, D.M., Hammond, L.C., Bennett, J.M., Haas, J.H., Linda, S.B. (1993)** Field response of maize to VAM fungus and water management. Agron J 85: 193-198.
- Taba, S. (1995).** Current Activities of CIMMYT Maize Germplasm Bank. The CIMMYT Maize Germplasm Bank: Genetic Resource Preservation, Regeneration,

Maintenance and Use (S. Taba, editor). Maize Program Special Report. CIMMYT, México DF.

- Tisdall, J.M., Smith, S. E., y Rengasamy, P. (1997).** Aggregation of soil by fungal hyphae. *Australian Journal of Soil Research*, 35(1), 54-60.
- Toledo, V.M. (1995).** Campesinidad, agroindustrialidad, sostenibilidad: los fundamentos ecológicos e históricos del desarrollo rural, [Peasantry, agroindustriality, sustainability: the ecological and historical basis of rural development]. Cuadernos de trabajo, (3).
- Treseder, K.K. (2008).** Nitrogen additions and microbial biomass: A metaanalysis of ecosystem studies. *Ecology letters*, 11(10), 1111-1120.
- Urdaneta P. y Roveda G.(1999).** Efecto de las prácticas agronómicas (adición de P y micorrizas arbusculares) en plantas de maíz (*Zea mays* L.) en suelos ácidos de Colombia. Tesis. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas. Biología. Octubre 1999.
- Van der Heijden, M.G., Klironomos, J. N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., y Sanders, I.R.(1998).** Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*,396(6706), 69-72.
- Vavilov, N. I. (1931).** Mexico and Central America as the principal center of origin of cultivated plants of the New World.
- Vierheilig, H. (2004).** Regulatory mechanisms during the plant arbuscular mycorrhizal fungus interaction. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1166-1176.
- Vierheilig, H., and Piché, Y. (2002).** Signalling in arbuscular mycorrhiza: facts and hypotheses. In *Flavonoids in cell function*. Edited by B. Buslig and J. Manthey. Kluwer Academic –Plenum Publishers, New York. pp. 23–39.

- Vierheilig, H., Garcia-Garrido, J.M., Wyss, U., and Piché, Y. (2000b).** Systemic suppression of mycorrhizal colonization of barley roots already colonized by AM fungi. *Soil Biol. Biochem.* 32: 589–595.
- Watkins, N.K., Fitter, A.H., Graves, J.D., Robinson, D. (1996)** Carbon transfer between C3 and C4 plants linked by a common mycorrhizal network, quantified using stable carbon isotopes. *Soil Biol Biochem* 28: 471–477
- Weatherwax, P. (1954).** Indian corn in old America.
- Wellhausen, E. J., Roberts, L. M., Hernandez, X., & Mangelsdorf, P. C. (1952).** Races of maize in Mexico. Their origin, characteristics and distribution. Bussey Institution, Harvard University.
- Wilkes, G. (1995).** The ethnobotany of artificial selection in seed plant domestication. *Ethnobotany. Evolution of a Discipline*, 203-208.
- Xoconostle, B., y Medrano, R. (2002).** Impacto de la biotecnología agrícola en cultivos: el caso de las micorrizas. *Avance y Perspectiva*, 21, 263-266.