



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**TRANSLOCACIÓN DE FÓSFORO Y NITRÓGENO
EN DOS LEGUMINOSAS INOCULADAS CON
HONGOS MICORRIZÓGENOS ARBUSCULARES
(HMA), BAJO CONDICIONES DE
INVERNADERO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :
B I Ó L O G O

PRESENTA:

MARCO DANIEL RIVAS SAAVEDRA

DIRECTORA DE TESIS: Dra. ROSALVA GARCÍA SÁNCHEZ

Tesis apoyada por el proyecto PAPIIT IN-216610



México D.F. 2012

DEDICATORIA

A MIS PADRES

MARIO RIVAS Y LAURA SAAVEDRA, POR SER MAGNÍFICAS PERSONAS, GRACIAS POR BRINDARME TODO SU CARIÑO Y PORQUE SIEMPRE ME APOYARON PARA QUE NO CLAUDICARA NI EN LOS MOMENTOS MÁS DIFÍCILES A USTEDES MÁS QUE A NADIE LES DEDICO ESTE TRABAJO.

A MI HERMANO

OMAR RIVAS POR DARMER TANTAS ALEGRÍAS Y APOYARME A LO LARGO DE MI VIDA ACADÉMICA.

A MI HERMANA

BELEN PAOLA RIVAS, QUE CON SUS RISAS Y CONSEJOS ME BRINDO GRANDES IDEAS, TRABAJA DURO Y ESFUÉZATE HERMANITA, SE QUE TÚ PUEDES LLEGAR MÁS LEJOS.

A MI ABUELITA +

CARLOTA ABARCA QUE AUNQUE YA NO ESTÁS PRESENTE, TE ENCUENTRAS EN MI PENSAMIENTO Y EN MÍ CORAZÓN GRACIAS POR HABERME CUIDADO DESDE PEQUEÑO.

A VIANEY GUTIERREZ SERRANO

GRACIAS POR TU APOYO Y TODOS LOS MOMENTOS QUE HEMOS COMPARTIDO JUNTOS, POR TU PRESENCIA, POR TU AMOR Y POR TODOS LOS SUEÑOS QUE TENEMOS Y QUE FALTAN POR CUMPLIR. GRACIAS. TE AMO.

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO POR HABERME DADO LA SATISFACCIÓN DE ESTUDIAR EN SUS AULAS DESDE EL BACHILLERATO Y EN ESPECIAL A LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA POR LA FORMACIÓN ACADÉMICA QUE RECIBÍ Y CON ELLO TODO LO QUE APRENDÍ.

A LOS PROFESORES DE LA CARRERA DE BIOLOGÍA QUE SIEMPRE ME GUIARON CON SUS CONSEJOS TAN ACERTADOS Y DE LOS CUALES APRENDÍ MUCHO, CON RESPETO Y ADMIRACIÓN, MUCHAS GRACIAS POR HACER DE MÍ UN GRAN PROFESIONISTA.

AL LABORATORIO DE ZONAS ÁRIDAS POR HABERME DADO LA OPORTUNIDAD DE REALIZAR ESTE TRABAJO EN ESPECIAL A LA PROFESORA ROSALVA GARCÍA SÁNCHEZ POR SUS COMENTARIOS, SUS CONSEJOS, POR SU ASESORÍA SU PACIENCIA Y SOBRE TODO POR SU AMISTAD, TODO ELLO HIZO POSIBLE CONCLUIR ESTE TRABAJO MUCHAS GRACIAS.

A MIS SINODALES: ARCADIO MONROY ATA, BALBINA VÁZQUEZ BENÍTEZ, BÁRBARA SUSANA LUNA ROSALES, JUAN MANUEL VALDERRÁBANO GÓMEZ Y ROSALVA GARCÍA SÁNCHEZ QUE CON SUS ACERTADOS COMENTARIOS Y CONSEJOS CONTRIBUYERON A MEJORAR Y ENRIQUECER EL PRESENTE TRABAJO.

Y FINALMENTE A TODOS LOS AMIGOS Y COMPAÑEROS QUE CONOCÍ A LO LARGO DE LA CARRERA Y CON LOS CUALES COMPARTÍ MUCHAS AVENTURAS EN ESPECIAL GABRIELA SORIANO, ADRIAN JIMÉNEZ, MARIANA LADRÓN, JOSE LUIS (NIÑO), OSWALDO, ITZEL, CESAR, GILBERTO, VIANEY ETC. GRACIAS

Índice

1. RESUMEN	8
2. INTRODUCCIÓN	9
3. MARCOTEÓRICO	11
3.1 Tipos de micorriza	11
3.2 Fisiología de la micorriza	13
3.3 Relación suelo-micorriza	14
3.4 Principales nutrimentos en la fisiología de las plantas	16
3.5 El Fósforo (P)	18
3.6 El Nitrógeno (N)	20
3.7 Características de las especies	21
3.7.1 Descripción botánica <i>Acacia schaffneri</i>	21
3.7.2 Descripción botánica <i>Prosopis laevigata</i>	23
4.-ZONA DE ESTUDIO	24
5.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
6.-JUSTIFICACIÓN	27
7.-HIPÓTESIS	28
8.-OBJETIVOS	28
9.-MATERIAL Y MÉTODOS	29
9.1 Preparación del sustrato	29
9.2 Montaje de las unidades experimentales	29
9.3 Tratamientos experimentales	30
9.4 Riego de los tratamientos	31
9.5 Evaluación de la evaporación en los tratamientos	31
9.6 Evaluación de variables de respuesta de ambas leguminosas	31
9.7 Tasa de crecimiento relativo	31
9.8 Biomasa húmeda y seca	32
9.9 Potencial hídrico de los tratamientos	32
9.10 Evaluación fósforo y nitrógeno en las hojas	33
9.11 Clorofilas en las hojas de <i>Acacia schaffneri</i> y <i>Prosopis laevigata</i>	33
9.12 Evaluación de la densidad de esporas en el inóculo	33
9.13 Porcentaje de colonización micorrízica	34
9.14 Dependencia micorrízica	35
9.15 Análisis estadístico	36

10.-RESULTADOS	37
10.1 Densidad de esporas en el inóculo	37
10.2 Tasa de crecimiento relativo (TCR)	38
10.3 Potencial hídrico	43
10.4 Clorofilas y área foliar	44
10.5 Biomasa fraccionada, cociente R/V	45
10.6 Colonización micorrízica	47
10.7 Análisis de fósforo y nitrógeno en sustrato y foliar	48
10.8 Dependencia micorrízica	50
11.-DISCUSIÓN DE RESULTADOS	52
12.-CONCLUSIONES	57
13.-ANEXOS	59
14.-REFERENCIAS	65

Índice de Cuadros y Figuras

Cuadro 1. Morfo especies encontradas en la rizósfera de *Bouteloua gracilis*

Cuadro 2. Biomasa seca *Acacia schaffneri*

Cuadro 3. Biomasa seca *Prosopis laevigata*

Cuadro 4. Porcentaje de colonización micorrízica después de 91 días en el invernadero.

Cuadro 5. Análisis del sustrato *Acacia schaffneri*

Cuadro 6. Análisis del sustrato *Prosopis laevigata*

Cuadro 7. Análisis foliar *Acacia schaffneri*

Cuadro 8. Análisis foliar *Prosopis laevigata*

Figura 1. Morfología de los tipos de micorriza

Figura 2. *Acacia schaffneri*

Figura 3. *Prosopis laevigata*

Figura 4. Morfoespecies encontrados en la rizósfera de *Bouteloua. gracilis*

Figura 5. Altura promedio semanal del tallo en *Acacia schaffneri* con micorriza (M+), micorriza y solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

Figura 6. Altura promedio semanal del tallo en *Prosopis laevigata* con micorriza (M+), micorriza y solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

Figura 7. Diámetro promedio semanal de la media de *Acacia schaffneri* con micorriza (M+), micorriza y solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

Figura 8. Diámetro promedio semanal de la media de *Prosopis laevigata* con micorriza (M+), micorriza y solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

Figura 9. Número de pinnas en *Acacia schaffneri* con micorriza (M+), micorriza y solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

Figura 10. Número de pinnas de *Prosopis laevigata* con micorriza (M+), micorriza y solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

Figura 11. Tasa de crecimiento relativo para ambas especies

Figura 12. Potencial hídrico en ambas leguminosas

Figura 13. Evaluación de concentración de clorofila en ambas leguminosas

Figura 14. Área foliar para ambas especies de leguminosas, al final de 13 semanas de cultivo

Figura 15. Porcentaje de colonización en ambas leguminosas

Figura 16. Porcentaje de dependencia micorrízica en ambas especies

1.- RESUMEN

Las hifas de los hongos micorrízicos incrementan el volumen de suelo explorado por las raíces de la planta, accediendo a nutrimentos como fósforo (P) y nitrógeno (N) entre otros, que son absorbidos y suministrados a la planta hospedera. En el presente trabajo se evaluó la translocación de fósforo y nitrógeno como resultado de la simbiosis micorrizica en dos especies de plantas silvestres *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* bajo tres tratamientos micorrizado (M+), micorrizado y con riego de solución nutritiva (M+R) y no micorrizado (M-). El inóculo micorrízico se obtuvo de suelo del Parque Ecológico Cúbitos localizado en el estado de Hidalgo, donde la vegetación dominante es un matorral xerófilo. El trabajo se llevó a cabo en el invernadero de la FES-Zaragoza durante 13 semanas. De cada uno de los tratamientos: con inóculo (M+), inóculo mas riego de solución nutritiva (M+R) y sin inóculo (M-), se establecieron ocho repeticiones por cada tratamiento, para cada una de las especies, teniendo un total de 48 unidades experimentales. Semanalmente se evaluó: altura, diámetro del tallo y número de pinnas de cada planta. Al final del experimento se midieron las variables como tasa de crecimiento relativo (TCR), biomasa húmeda y seca, potencial hídrico caulinar ($\Psi\omega$), contenido de fósforo foliar y en el sustrato, contenido de clorofilas en unidades SPAD, cociente raíz/vástago y porcentaje de colonización micorrízica. Los resultados mostraron que los HMA provenientes de la rizósfera de *Bouteloua gracilis* colonizaron en más del 50 % a ambas especies. En las variables de crecimiento, la comparación estadística mostro diferencias significativas entre los tratamientos micorrizados y no micorrizados en ambas especies. En *Prosopis laevigata*, las respuestas entre los tratamientos M+ y M+R son similares, mientras que *Acacia schaffneri* presento mejor respuesta con el tratamiento M+R, lo que sugiere que *Acacia schaffneri* requiere del aporte extra de nutrimentos (mediante el uso de solución nutritiva) para su crecimiento. Se concluye que los HMA provenientes de la rizósfera de *Bouteloua gracilis* forman micorrizas con las dos leguminosas en porcentaje suficiente para promover eficientemente la translocación de los nutrimentos N y P del suelo a la planta.

2.-INTRODUCCIÓN

La historia evolutiva de la micorriza se remonta a unos 460 millones de años, específicamente al periodo Devónico, a partir del cual hongos y plantas han coevolucionado hasta lo que son hoy en día (Varela y Trejo, 2001). La micorriza es una condición común en la mayoría de las plantas terrestres incluyendo las cultivadas. Esta simbiosis mutualista está ampliamente distribuida entre las familias vegetales y parece haberse dispersado y evolucionado junto con las primeras plantas terrestres (Allen, 1991). Se trata de una simbiosis prácticamente universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales (López, 2007). Se estima que aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo (Hernández-Cuevas *et al.*, 2003).

La arquitectura, morfología y fisiología de la raíz es un factor clave en la productividad de las plantas, por lo cual en asociación simbiótica con los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), benefician la nutrición de la planta cuando el fósforo y nitrógeno en el suelo se encuentran en formas poco solubles, o en pocas cantidades (Fitter y Hay, 2002). Los elementos minerales que necesitan las plantas son absorbidos por las raíces en la solución que las rodea y son transportados desde ésta hacia el vástago en la corriente transpiratoria (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000). Aunque la disponibilidad de minerales depende principalmente de la naturaleza del suelo circundante, la actividad de los hongos micorrizógenos arbusculares es fundamental (Allan, 1971). Las características del suelo que afectan la disponibilidad de minerales para las plantas incluyen: la roca madre, el tamaño de las partículas, la cantidad de humus que contiene y el pH (Bremmer, 1965). La demanda de un nutrimento en particular depende de las necesidades internas de la planta, y el suministro depende de su disponibilidad y movilidad en el suelo (Bridge, 1979). Nutrimentos como el fósforo son poco móviles en el suelo y es común observar zonas de la rizósfera donde toda la disponibilidad de este nutrimento está agotado (Castillo, 2005). Las plantas, en general, producen una acidificación del medio, lo que ayuda a degradar las superficies de las rocas y a liberar iones

cargados positivamente de estas superficies (Cornejo, 2006). Cuando las partes vegetales mueren y se descomponen, se añaden constantemente al humus, cambiando así, no sólo el contenido del suelo, sino también su textura y su capacidad para retener minerales y agua (Garrido *et al.*, 1998). A su vez, las plantas dependen del contenido mineral del suelo y de su capacidad de retención de agua y nutrientes (López y López, 1990). Las plantas micorrizadas obtienen más fósforo al explorar un área mayor a la que la raíces sin micorriza llegan (Linderman, 1992).

Para el caso de *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* se sabe que forman simbiosis con los HMA, sin embargo se desconoce la eficiencia de los diferentes consorcios de HMA para translocar nutrimentos del suelo a la planta, por ello en este trabajo se propone evaluar la translocación de fósforo y nitrógeno aportados mediante el riego con solución nutritiva como resultado de la eficiencia de la micorriza formada por las leguminosas y el consorcio de HMA de Cubitos.

3.-MARCO TEÓRICO

3.1 Tipos de micorriza

Los tipos de micorrizas se dividen de acuerdo a su asociación fúngica, con base en el sitio que ocupa el micelio micótico en asociación con la raíz de la planta. Harley y Smith (1983), dividieron las micorrizas en tres grandes grupos: ectomicorrizas, endomicorrizas y ectendomicorrizas.

Las ectomicorrizas se caracterizan porque los hongos que las forman, Basidiomicetes y Ascomicetes, desarrollan una espesa capa de micelio sobre la zona cortical de las raíces de las plantas y se producen principalmente sobre especies forestales y leñosas.

Las endomicorrizas se producen invaginando el plasmalema sin penetrar las células corticales. Dentro este grupo existen tres tipos característicos:

- ❖ Orquideomicorrizas: asociadas a orquídeas
- ❖ Ericomicorrizas: ligadas a la Familia Ericáceas y con muchas similitudes estructurales con las ectendomicorrizas.
- ❖ Micorrizas arbusculares: Caracterizadas por formar arbusculos intracelulares y sin duda las de mayor difusión e importancia económica y ecológica

Las ectendomicorrizas son hongos que colonizan de forma dual las raíces externamente formando un manto cortical e internamente penetrando intercelularmente en el córtex (Figura 1).

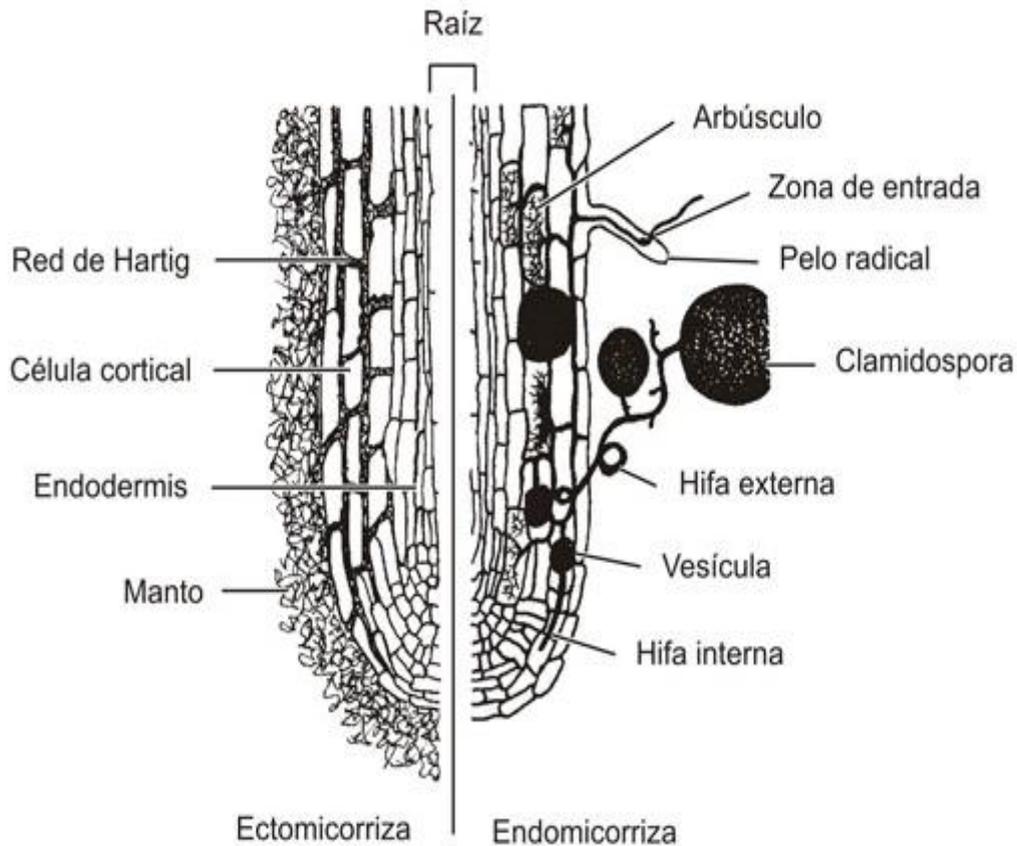


Figura 1. Morfología de los tipos de micorriza según González-Chávez *et al.*, (1998).

De las micorrizas la arbuscular es la más ampliamente distribuida; se forma entre las raíces de la mayoría de las especies vegetales de herbáceas, árboles tropicales y de climas secos (Janos, 2003). La micorriza arbuscular se caracteriza principalmente por formar estructuras tanto extra-radicales como intra-radicales, que solo son visibles a nivel microscópico; donde se identifican diversas estructuras que conforman la asociación simbiótica entre raíz-hongo (Smith y Smith, 1997).

Según Barea y Azcón-Aguilar (1983), el proceso de formación de las micorrizas arbusculares se divide en cinco fases:

- Activación de los propágulos del hongo que persisten en el suelo.
- Estimulación de los micelios formados cuando alcanzan la rizósfera de una planta susceptible.
- Unión de la hifa a la superficie de la raíz y formación de los primeros puntos de penetración del hongo.
- Progreso de colonización de la raíz.
- Crecimiento del micelio externo en el suelo que la circunda.

En el suelo existen tres formas de propágulos, con diferente capacidad de supervivencia y potencial infectivo que pueden originar la simbiosis micorrízica arbuscular. Estos propágulos son:

- a. Las esporas que son el resultado de la propagación de los hongos y las estructuras de resistencia del mismo.
- b. Raíces micorrizadas, o sus fragmentos, procedentes de plantas preexistentes
- c. Agregados de hifas que sobreviven en el suelo, conocido como micelio externo.

3.2 Fisiología de la micorriza

En asociación mutualista los hongos micorrizógenos arbusculares participan como agentes reguladores de las comunidades microbianas que se desarrollan en los sistemas radicales micorrizados (Finlay, 2008).

Por otra parte (Llu, 2007), menciona que los hongos micorrízicos también interactúan con la mesofauna del suelo, la cual puede participar como agente

de dispersión de propágulos micorrízicos con capacidad infectiva (micelio y esporas).

La fisiología de estos hongos depende directamente de la asociación con la raíz, el hongo recibe productos de la fotosíntesis de la planta donde el flujo de los carbohidratos está regulado por las especies de plantas hospederas (Akiyama *et al.*, 2005). Se estima que el hongo micorrizógeno arbuscular recibe del 1 al 17% de los carbohidratos producidos por las plantas, mismos que le son restados a la producción de biomasa radical, sin embargo, el micelio externo lo compensa con su actividad y desarrollo (Auge, 2001).

3.3 Relación suelo-micorriza

La micorriza arbuscular (MA) es un intermediario para que la planta (su hospedero) pueda beneficiarse en su nutrición, crecimiento, productividad y funcionalidad a través de los elementos nutritivos del suelo (Genre, 2008).

El desarrollo vegetal incrementa coordinadamente en la interface suelo-raíz, como factor imprescindible se encuentran los hongos formadores de micorrizas arbusculares (Barea, 1998; Fernández *et al.*, 1999).

La micorriza favorece la absorción de iones poco móviles del suelo, particularmente fosfatos, pero también zinc, cobre y amonio (Sylvia, 2008). Las hifas del hongo captan el fósforo necesario para la planta, lo que provoca que el hospedero no genere demasiada raíz ya que la mayor aportación de fósforo la brinda el hongo, una vez que este nutrimento ingresa al interior de las hifas, viaja 1000 veces más rápido de lo que puede transportarse en el suelo (Parniske, 2004).

Algunos factores, como luz y temperatura, inhiben el óptimo desarrollo y fisiología de las micorrizas arbusculares, los cuales, pueden reducir la producción de esporas y la colonización de la raíz de una planta, cuando ésta se ve sometida a grandes sombras o cuando la temperatura disminuye drásticamente (Medrano, 2002). En segundo término existen factores al nivel de las comunidades vegetales que están relacionados con la propagación natural de las micorrizas arbusculares ya que se relacionan con la cobertura del suelo y con la persistencia de comunidades de plantas micotróficas; igualmente se considera como factor la altitud a la que se encuentran así como las etapas sucesionales del ecosistema (Camargo-Ricalde, 2001).

La importancia económica de la asociación micorrízica radica en la relación armónica de ayuda nutricional que se establece entre ambos organismos, con el flujo bidireccional de nutrimentos (Ferrol *et al.*, 2004). Se sabe que el hongo absorbe principalmente fósforo (P) del suelo (Chiu *et al.*, 2001) y lo transporta a la planta (Pearson y Jakobsen, 1993; Solaiman y Saito, 2001), de la cual se mueven una serie de compuestos carbonados hacia el hongo (Pfeffer *et al.*, 1999; Bago *et al.*, 2003). Por esta razón, la planta aunque es capaz de crecer de manera independiente, generalmente, tiene mayor desarrollo cuando es colonizada por el hongo micorrízico sobre todo en condiciones de bajos niveles de nutrimentos en el suelo, característico de suelos tropicales que suelen afectar a la productividad agrícola.

La micorriza arbuscular (MA), representa una de las estructuras absorbentes del subsuelo de la mayoría de las plantas en la naturaleza (Harrison, 1999) y ha sido una de las estrategias más antiguas y prósperas que han desarrollado

los sistemas radicales de las plantas para el establecimiento del beneficio recíproco con los microorganismos (Remy *et al.*, 1994).

Los hongos MA obtienen carbono de la planta hospedera (Pfeffer *et al.*, 1999), en forma de moléculas de hexosa, que es convertida a lípidos (triacilglicerol y carbohidratos) y glicógeno en el micelio intrarradical, los cuales son translocados al micelio extrarradical y a partir de los cuales se sintetizan el carbohidrato estructural quitina y los carbohidratos de almacén trehalosa y glicógeno (Bago, *et al.*, 2003).

El movimiento del ion fosfato desde el suelo a la raíz a través de la red de hifas externas, inicia con la absorción de la solución del suelo por transportes de fosfatos H⁺-ATPasa (localizados en la hifa extra radical), seguido por la conversión a polifosfatos de cadena corta que son translocados a las estructuras intrarradicales a través de vacuolas móviles del hongo y la subsecuente hidrólisis de los mismos por las fosfatasas localizadas en las hifas intrarradicales (Ferrol *et al.*, 2004). Enseguida el P es transferido del hongo al apoplasto interfacial por flujo, el cual es tomado (por planta) por transportadores de membrana, de tal manera que generan aumento del crecimiento, sanidad y resistencia al estrés, particularmente para las plantas micorrizadas en condiciones limitantes de nutrimentos.

3.4 Principales nutrimentos en la fisiología de las plantas

Las plantas necesitan 13 elementos minerales del suelo que son considerados como esenciales (Mengel y Kirkby, 2001). Los elementos con funciones específicas en el metabolismo de las plantas se clasifican, según su concentración en la planta y conforme a sus requerimientos para el adecuado

crecimiento y reproducción, en dos grupos: macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, O, H, S) y micronutrientes u oligoelementos (Fe, Al, Zn, Mn, B, Cu, Mo, Cl) (Epstein y Bloom, 2005).

La inoculación de las plantas con hongos micorrizógenos provoca de manera general, un marcado incremento en los procesos de absorción y translocación de nutrientes tales como: P, N, K, Ca, Mg, Zn, Mo y B (Koide, 1991; Marschner y Dell, 1994).

El papel de las micorrizas en la absorción de nutrientes es muy complejo, y puede ser resultado de algunos posibles mecanismos planteados por Siqueira y Franco (1988) y Crawford (1995) como son:

- Aumento en la superficie de absorción radical y exploración del suelo (efecto físico).
- Aumento de la capacidad de absorción de la raíz (efecto fisiológico)
- Utilización de formas no disponibles para las raíces no micorrizadas a través de la solubilización y mineralización en el caso de las ectomicorrizas y de modificaciones en la dinámica del equilibrio de nutrientes entre la fase sólida y líquida del suelo. En el caso de los HMA.
- Almacenamiento temporal de nutrientes en la biomasa fúngica o en las raíces evitando su inmovilización química y biológica o su lavado.
- Establecimiento de microorganismos mineralizadores, solubilizadores de nutrientes y diazotróficos en la micorrizósfera.

- Amortiguación de los efectos adversos de pH, metales pesados salinidad, estrés hídrico y ataque de patógenos radicales sobre la absorción de nutrimentos.

3.5 El Fósforo (P)

El fósforo es el segundo nutrimento en importancia para la planta, siendo un elemento relativamente estable en los suelos. La gran estabilidad que presenta se debe a la baja solubilidad que puede causar deficiencias en su disponibilidad para las plantas, a pesar de la continua mineralización de compuestos orgánicos del suelo (Rao *et al.*, 1996). El fósforo se acumula principalmente en los tejidos activos como meristemos, semillas y en los frutos (Marschner, 1995).

Estas asociaciones son un factor de relevante importancia por las siguientes razones:

- Los bajos niveles de P asimilable o la alta capacidad de fijación de este elemento en el suelo.
- La alta velocidad de los procesos de fijación en suelo y sus respectivas pérdidas.
- La creciente dificultad de producir fertilizantes fosfóricos solubles, debido a la escasez de yacimientos (Bhat y Nye, 1973).

El pH del suelo interviene en su disponibilidad, ya que de sus valores dependen las formas iónicas del fósforo este se encuentra entre los valores de pH en 6.0-8.0 (Sánchez, 2007). Así en condiciones de gran acidez predomina la forma monovalente (H_2PO_4^-), mientras la divalente (HPO_4^{2-}) se encuentra en valores

de pH intermedios y la forma trivalente (PO_4^{-3}) se encontrará en soluciones alcalinas (Fan y Wan, 2008).

Las plantas presentan diferencia en su capacidad de absorción de nutrimentos, para el fósforo se sabe que las diferencias genéticas en la absorción pueden deberse a la morfología de la raíz, su longitud, aérea superficial de absorción y la tasa de crecimiento (Baber, 1984).

Los hongos micorrizógenos juegan un papel vital en la toma del P presente en los suelos. Principalmente en las zonas tropicales donde las cantidades de P asimilable a las plantas son frecuentemente bajas (Harley y Smith, 1983; y Perrini 1990).

El mecanismo para incrementar la absorción de fósforo vía micorriza, es de naturaleza física, desarrollado a partir de la capacidad de las hifas de explorar un mayor volumen de sustrato con mayor eficiencia que el sistema radical por sí solo (Cox y Tinker, 1976). La micorriza a través de su efecto físico, no solo representa una extensión del sistema de absorción de las plantas y de los efectos fisiológicos que aumentan la capacidad de absorción de las raíces, ya que como asociación funcional realiza una utilización eficiente del fósforo, logrando de esta manera una mayor eficiencia en el uso de los fertilizantes fosfóricos aplicados en suelos deficientes y con elevada capacidad de fijación de fosfato (Joner y Johansen, 2000).

Parte de los nutrimentos absorbidos del suelo son almacenados temporalmente en la biomasa micorrízica, contribuyendo a la reducción de la inmovilización causada por las reacciones de absorción con los coloides del suelo, la precipitación y las pérdidas por lixiviación (Rodríguez, 1996).

Por otro lado las micorrizas arbusculares presentan una escasa biomasa fúngica en la raíz y no producen una red micelial profusa, por lo tanto almacenan pequeñas cantidades de nutrimentos. No obstante, existen evidencias que estos simbiontes pueden promover un reciclaje interno en las raíces de la misma planta o entre plantas diferentes, a través de conexiones de hifas entre raíces con diferentes estadios fisiológicos (Siqueira y Franco 1988; Rodriguez, 1996).

Además del efecto directo sobre el crecimiento de las plantas, el favorecimiento en la absorción de fósforo aumenta el crecimiento de las raíces y la fijación biológica de N, en las plantas que forman simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno (Requena *et al.*, 2003).

3.6 El Nitrógeno (N)

El nitrógeno es uno de los nutrimentos más importantes para las plantas, pues es parte de la célula viva y se requiere en grandes cantidades; interviene en todas las reacciones enzimáticas de los vegetales, por ser todas las enzimas proteínas y estar compuestas por nitrógeno. Es parte de la molécula de clorofila y está directamente involucrado en la fotosíntesis. Interviene en la producción y consumo de carbohidratos, y actúa en diversas reacciones energéticas (Romheld y Marschner, 1991). La carencia de nitrógeno provoca una falta en la producción de clorofila, su sintomatología es palidez en las hojas en contraste con las sanas (Snowball y Robson, 1991). Dependiendo de la especie, estado de desarrollo y órgano en cuestión, el contenido de nitrógeno varía entre 2 y 5 % del peso seco de la planta (Marschner, 1995).

El nitrógeno es el único elemento que puede ser absorbido en forma de catión NH_4^+ o de anión NO_3^- (Asher, 1991) al mismo tiempo depende de la especie y edad de la planta, siendo la forma nítrica la más absorbida por la raíz y la que corre por la savia, la forma amoniacal es la fijada por las células de tejido vegetal (Bergmann, 1992). Los hongos micorrizógenos a pesar de que no son capaces de fijar N atmosférico, favorecen su adquisición a través de efectos indirectos y de un aumento en la absorción del N del suelo. Así como ocurre con el P, las hifas y raicillas inoculadas son capaces de tomar el N del suelo en varias formas y transferirlo a las plantas (Siqueira y Franco, 1988). Las plantas micorrizadas absorben los iones amonio (NH_4^+) en forma de glutamina a partir del complejo enzimático de la glutamina-sintetasa (GS), lo transforman en trehalosa y lo translocan de esta manera; también se absorbe nitrato y se ha observado actividad de la enzima nitrato reductasa fúngica (Strullu, 1991). Por lo tanto los HMA poseen la capacidad de emplear NH_4^+ , sin embargo sus efectos tienen mayor repercusión fisiológica producto de la absorción de amonio, ion que a diferencia del nitrato, se difunde lentamente en la rizósfera y por lo tanto es menos accesible a las raicillas de las plantas (Marschner, 1995). Los HMA son capaces de absorber el amonio a concentraciones más bajas que las raíces y lo asimilan rápidamente (Baath y Spokes, 1989).

3.7 Características de las especies

3.7.1. Descripción botánica de *Acacia schaffneri* (S. Watson) F.J. Herm.

Nombre común: huizache, huizache chino.

Árbol de copa plana de 2-4 m de alto, ramificaciones rígidas, densamente extendidas y pilosas en alguna partes (cáliz y corola esparcidamente pubescentes); ramas con flores de 4-2 mm de grueso, presencia de estípulas subuladas, espinas de 2-8 mm de largo; hojas de 2-4 cm de largo; pinnas 2-5

pares; raquis con el nectario en forma de copa ubicado entre el par de pinnas inferiores o entre el par de pinnas terminales; foliolos de 10-20 pares, oblongo-lineares, obtusos, 1.5-3 mm de largo, 1 mm de ancho o menos, glabro por encima; flores amarillo brillantes, sésiles en cabezuelas 0.7-1 cm de diámetro, solitarias o en pares, pedúnculos de 1-1.5 cm de largo, con una corta espuela axilar en las ramas viejas; cáliz campanulado, 1-1.5 mm de largo, con dientes agudos pequeños pilosos; corola tubular con 2 mm de largo, estambres conspicuos; frutos ligeramente pilosos, 1-1.5 cm de ancho comprimidos, a menudo curvados entre las semillas, con un ápice romo, sésiles o inconspicuamente pediceladas, semillas de color café oscuro. Florece de marzo a mayo (Figura 2).



Figura 2. *Acacia schaffneri*

Distribución geográfica: se distribuye ampliamente desde el oeste de Texas hasta Durango, Tamaulipas, Hidalgo y Colima, en Oaxaca: Municipio de Hidalgo; Municipio de San Pedro Huamelula. Distrito Tehuantepec, Distrito Tlacolula (Rzedowski, 1983). Se encuentra en matorrales xerófilos, selvas medianas y selvas bajas caducifolias desde el nivel del mar y hasta 2400 msnm.

3.7.2. Descripción botánica de *Prosopis laevigata* (Willd) M. C. Johnst.

Nombre común: En México es conocido como mezquite; algarrobo en Argentina y Chile, y como Bayahonda en Haití.

Árbol o arbusto perenne de 10 a 15 m de altura; tronco de corteza oscura o negruzca (Figura 3) ramas flexibles formando una copa esférica o deprimida: los tallos y las ramas más delgadas; espinas abundantes axilares o terminales siempre en pares; hojas compuestas, bipinnadas con 12 a 15 pares de folíolos (oblongos o lineares), de 15 a 10 mm de largo, más o menos persistentes, pero caducos en invierno; flores amarillo verdosas, agrupadas en inflorescencias en espigas, sumamente pequeñas, florecen en junio a agosto; el fruto en vaina, de color amarillo-violácea, alargada, recta o arqueada y en algunos casos en forma de espiral, indehiscentes, de 10 a 30 cm de longitud, aplanadas o cilíndricas en la madurez; 12 a 20 semillas, oblongas o aplastadas, duras de café claro u obscuro (Rzedowski, 1988).



Figura 3. *Prosopis laevigata*

4.-ZONA DE ESTUDIO

La investigación se realizó en el invernadero de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Campus II de la UNAM, la fuente del inóculo se tomo del Parque Ecológico Cubitos localizado en Pachuca estado de Hidalgo el Parque se localiza en la porción Noroeste de la Cuenca del Valle de México entre los paralelos 20° 06´ 33” y 20° 07´ 39” de Latitud Norte y 98° 45´ 00” y 98° 44´ 60” de Longitud Oeste. Pertenece al sector del parteaguas de la Región Sur de la Sierra de Pachuca y los lomeríos que lo conforman están en la provincia ecológica de los Lagos y Volcanes de Anáhuac (SEDESOL, 1993). De acuerdo a la clasificación de suelos de la carta edafológica elaborada por la Dirección General de Geografía (DGG, 1983), ordenados con el sistema de clasificación de suelos son los denominados Vertisol pélico y Feozem háplico. El clima según Köppen modificado por García (1981), la región presenta el subtipo BS1 kw, caracterizado por ser semiseco templado con verano cálido.

El inóculo sé tomó de la rizósfera de *Bouteloua gracilis* debido a la abundancia de esporas y tener un potencial infectivo alto (García-Sánchez y Monroy-Ata, 2005).

5.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las zonas áridas y semiáridas el factor que limita el crecimiento vegetal es la falta de agua a consecuencia de escasas e irregulares precipitaciones pluviales y por una excesiva evaporación, esto aunado a la presencia de suelos delgados, con poca materia orgánica y actividad biológica estacional con relación a la presencia de agua, resulta en la escasez de nutrientes disponibles en el suelo y en problemas de nutrición en las plantas que crecen en esos suelos; por ello en este trabajo se cuestiona si las esporas de HMA provenientes del suelo rizosférico de *Bouteloua gracilis* son capaces de colonizar y translocar eficientemente el P y N en plántulas de *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata*, en los ambientes áridos la simbiosis de las plantas con los hongos micorrizógenos arbusculares es una respuesta para mejorar la absorción de nutrientes, y la mejor opción para la supervivencia de las especies vegetales. La micorriza se caracteriza por la gran capacidad que tiene de proveer a la planta de nutrientes, entre éstos P y N. Sin embargo la dependencia micorrízica es diferente entre *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* ante la misma comunidad de HMA, se sabe que no todas las especies vegetales tienen la misma respuesta a la micorrización, hay especies que presentan mayor dependencia micorrízica, mientras que otras no dependen de la micorriza para la translocación de nutrientes, ni todos los HMA producen la misma respuesta en la planta, a esto se le conoce como compatibilidad funcional planta-hongo (García-Sánchez, 2011). Conforme haya mayor compatibilidad existirá mayor eficiencia de la micorriza, la que a su vez, dependerá de la riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares presentes en el suelo y que son con quienes las plantas pueden formar la micorriza. En los

ecosistemas naturales, la formación de micorrizas eficientes favorece la estabilidad y diversidad y amortiguan el estrés biótico y abiótico que afectan la adaptación de las plantas a estos ambientes.

6.-JUSTIFICACIÓN

En los programas de recuperación de la cubierta vegetal de los ecosistemas semiáridos de México, se ha recomendado reiteradamente el uso de plantas nativas micorrizadas, las cuales favorecen el crecimiento y establecimiento de las plantas (Monroy-Ata *et al.*, 2007), sin embargo, se desconoce la respuesta fisiológica de la mayoría de las plantas silvestres, entre las que destacan las especies de leguminosas como *Acacia* y *Prosopis*. Hay estudios sobre el efecto de estas especies sobre las comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares en la etapa adulta, pero se desconoce como ocurre la micorrización en la etapa inicial de crecimiento y que le da ventaja en el establecimiento en campo (Barragán, 2003). La micorriza favorece la actividad del sistema radicular porque contribuye a la mejor absorción y transporte de agua y nutrientes del suelo a la raíz, en especial en la absorción de fósforo (P) y de nitrógeno (N); el incremento en la translocación de estos nutrientes por los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), se expresa en la mayor acumulación de biomasa vegetal y por tanto en mayor crecimiento de las especies vegetales; esto se ha evaluado frecuentemente en las especies cultivadas, pero hay pocos trabajos sobre translocación de nutrientes depende en parte de la densidad y riqueza de los hongos que estén presentes en el suelo, aunque en sitios perturbados los hongos suelen ser insuficientes para el establecimiento de la simbiosis (Flores y Cuenca, 2004). En el Valle del Mezquital se ha planteado la recuperación de la cubierta vegetal con géneros de *Acacia* y *Prosopis* para ello se han generado lotes de plantas micorrizadas que han sido transplantadas a campo, pero es notoria la preferencia de los herbívoros por el mezquite, una razón puede ser que tiene mayor contenido de

nutrimentos. Por ello, el conocer la eficiencia de los HMA en la translocación de los nutrimentos fósforo y nitrógeno en *Acacia* y *Prosopis* es un acercamiento al conocimiento de estas leguminosas y de la funcionalidad de los HMA de diferentes procedencias.

7.-HIPOTESIS

Los hongos micorrizógenos arbusculares provenientes de suelo rizosférico de *Bouteloua gracilis* son compatibles con las leguminosas *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata*, por lo que es posible inducir la formación de la micorriza, la cual, hará más eficiente el transporte de fósforo y nitrógeno y en consecuencia, habrá mayor acumulación de biomasa y nutrimentos en su tejido foliar.

8.-OBJETIVOS

- Evaluar la compatibilidad de los HMA del suelo del Parque Ecológico Cubitos provenientes de la rizósfera de *Bouteloua gracilis* con *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* mediante la colonización micorrízica.
- Evaluar la efectividad de los hongos micorrizógenos arbusculares del Parque Ecológico Cubitos en la translocación de fósforo y nitrógeno foliar de *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* creciendo en condiciones de invernadero.
- Evaluar el crecimiento de *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* en sustratos con y sin enriquecimiento de nutrimentos (solución nutritiva Long Ashton) en condiciones de invernadero.

9.-MATERIAL Y MÉTODOS

9.1 Preparación del sustrato

El sustrato que se usó en las unidades experimentales se preparó con suelo colectado del Parque Ecológico Cubitos; se tamizó con una malla metálica de 2 mm de apertura. Una vez tamizado, se mezcló con arena sílica en una relación 2:1 (arena sílica: suelo), para formar un sustrato especialmente arenoso. Esta mezcla, se esterilizó en una autoclave durante una hora a una temperatura de 120 °C y 1.2 atm de presión. Este procedimiento se repitió tres veces.

Se tomaron muestras de la mezcla de sustrato para realizar análisis físicos y químicos al inicio del experimento, con base en la norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 los análisis realizados fueron: densidad real DR (picnómetro), densidad aparente DA (probeta), pH activo (potenciómetro relación 2:1 en agua), porcentaje de humedad a capacidad de campo CC (columna de suelo), porcentaje de materia orgánica M.O. (Walkley y Black), conductividad eléctrica C.E. (conductímetro), contenido de nitrógeno total Nt (microkjendhal) y fósforo P disponible (Olsen).

9.2 Montaje de las unidades experimentales

Se prepararon 48 macetas con tubos de plástico de PVC (cloruro de polivinilo) de 24 cm de alto y diámetro de 7.5 cm. Cada una de estas macetas se selló en la base con una tapa de acetato y se reforzó con cinta canela, evitando así la pérdida de agua. Una vez terminadas las unidades, se dividieron en dos lotes de 24 macetas cada uno. De un lote de 24 macetas a 8 se le agregó sólo suelo esterilizado, a las otras 16 macetas se les agregaron suelo esterilizado más 100 g de inóculo micorrízico (proveniente de suelo rizosférico de plantas de

Bouteloua gracilis que crecen en el Parque Ecológico Cubitos) y se colocaron tres semillas de *Prosopis laevigata*. A las 24 macetas restantes se les aplicó el mismo procedimiento colocando semillas de *Acacia schaffneri*. Es importante señalar que las macetas no tenían agujeros para drenaje, con el fin de tener un control de la humedad del suelo. Además se prepararon, como testigos de humedad 3 macetas que solo tuvieron suelo esterilizado para mantener controlada la evaporación y con ello mantener las unidades experimentales regadas a capacidad de campo.

Las semillas de las 2 especies se desinfectaron previamente, para ello, se lavaron con hipoclorito de sodio al 10% por 10 minutos, después se enjuagaron con suficiente agua destilada para eliminar los patógenos que pudieran afectar su germinación. Posteriormente a las semillas se les realizó una escarificación mecánica, para ello, se hizo una pequeña incisión a la testa con ayuda de un cortauñas para bebé. Una vez realizada la escarificación, se colocaron en sus macetas previamente humedecidas a capacidad de campo.

9.3 Tratamientos experimentales

Se colocaron tres tratamientos que consistieron en: 8 unidades experimentales (U.E.) micorrizadas y regadas con agua destilada (M+), 8.U.E. micorrizadas y regadas con solución Long Ashton (M+R) y 8.U.E. con plantas no micorrizadas y regadas con agua destilada (M-), esto para cada una de las especies de leguminosa.

9.4 Riego de los tratamientos

Las unidades experimentales se regaron cada semana con base en la pérdida de agua por evaporación, obtenida del promedio de los testigos sin planta. De las plantas micorrizadas a cada lote se les aplicó riego con agua destilada y agua destilada más solución nutritiva Long Ashton, según correspondió a cada tratamiento.

9.5 Evaluación de la evaporación en los tratamientos

La cantidad de agua perdida semanalmente por evaporación del suelo en la maceta, se estimó con base en 3 macetas con suelo sin planta. Cada una se pesó semanalmente antes de realizar el riego y con la diferencia del peso inicial y final de cada semana se obtuvo la evaporación en mm para mantener a las unidades experimentales a capacidad de campo cada semana.

9.6 Evaluación de las variables de respuesta en ambas leguminosas

A partir de la tercera semana después de la emergencia de las plántulas, se comenzaron a medir las diferentes variables de respuesta. Para ello se midió la altura total y diámetro del tallo con ayuda de un vernier y regla metálica según se fue requiriendo. Además, se contó el número de pinnas producidas por planta. Estas evaluaciones se realizaron semanalmente durante 13 semanas (91 días).

9.7 Tasa de crecimiento relativo

Para realizar el cálculo de la tasa relativa de crecimiento (TCR), primero se calculó el promedio de alturas (inicial y final) en cada tratamiento. Posteriormente se aplicó la fórmula del modelo de crecimiento exponencial y se dividió entre el número de días que duró el experimento (Valencia *et al.*, 2010).

$$TRC = \frac{\ln L2 - \ln L1}{t2 - t1}$$

En donde:

TCR= Tasa de crecimiento relativo

L2= Altura final

L1= Altura inicial

t= Número de días del experimento

9.8 Biomasa húmeda y biomasa seca

Transcurridas las 13 semanas de crecimiento, se sacrificaron 4 individuos de cada tratamiento para evaluar la biomasa húmeda y seca. Para ello, se pesó en una balanza analítica por separado la raíz, el tallo y las hojas para obtener el peso húmedo. Para cuantificar la biomasa seca, se colocaron las estructuras por separado en bolsas de papel dentro de una estufa a 60 °C hasta obtener peso constante y se pesaron nuevamente.

9.9 Potencial hídrico de los tratamientos

Para determinar el potencial hídrico se utilizó la cámara de Schollander, de igual manera se usaron cuatro plántulas sacrificadas al final del experimento, cortando la parte aérea desde la base del tallo de las plantas; éstas se colocaron en el orificio del tapón de goma, para después insertarla en el aparato de modo que la planta quedó dentro de la cámara y la base del tallo pasó a través del tapón hacia el exterior (el tapón impide que el gas empleado, en este caso nitrógeno, escape de la cámara), posteriormente se aseguró la cabeza de la cámara girándola, para quedar herméticamente sellada. Después, se procedió a inyectar a presión nitrógeno gaseoso para inducir la circulación de agua en forma inversa en los haces vasculares de la muestra vegetal (de los

estomas hacia el tallo) hasta llegar a la formación de una burbuja en la base del tallo, en ese momento se tomo la lectura del potencial hídrico.

9.10 Evaluación de nitrógeno y fósforo en las hojas

Las hojas se pusieron a secar, se molieron y pesaron, a partir de este material se evaluó el contenido de nitrógeno (microkjendhal) y el fósforo fue extraído con bicarbonato de sodio al 0.5 N (pH 8.5) usando molibdato – ácido ascórbico (Olsen *et al.*, 1954). Los análisis se mandaron a realizar en el Laboratorio de Nutrición Vegetal (LABSAB), del Colegio de Postgraduados.

9.11 Clorofilas en las hojas de *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata*

La evaluación de la concentración de clorofila se determinó con un clorofilómetro marca SPAD 50 en cada tratamiento de las dos leguminosas.

9.12 Evaluación de la densidad de esporas en el inóculo

Se utilizó el método de tamizado y decantación Ferrera-Cerrato *et al.*, (1993) con las siguientes modificaciones:

Para realizar esta prueba se tomó el suelo de la rizósfera de *Bouteloua gracilis*, se colocaron 100 g de suelo en un vaso de precipitados con aproximadamente 300 mL de agua destilada. Se agitó mecánicamente (en batidora Oster) durante 5 minutos y se dejó reposar tres minutos, con la finalidad de que partículas grandes se sedimenten. La suspensión pasó por una serie de tamices de 500 y 44 micras y se lavó con abundante agua. Se agregó agua al decantado y se repitieron los pasos anteriores dos veces más y finalmente se lavó nuevamente en el tamiz para eliminar las arcillas. Con ayuda de una piseta se vertió el contenido del tamiz en una caja Petri y se procedió al conteo de esporas, esto se realizó con la ayuda de un microscopio estereoscopio.

9.13 Porcentaje de colonización micorrízica

El porcentaje de colonización micorrízica se evaluó con base en la técnica propuesta por Phillips y Hayman (1970). Se extrajo la raíz completa de cuatro plantas sacrificadas y se lavo cuidadosamente para quitar partículas del suelo que pudieran estar adheridas, posteriormente se tomaron muestras de raicillas finas que fueron fijadas en una solución de alcohol al 50% y se colocaron en el refrigerador hasta su tinción.

Para teñir las raíces, estas se colocaron en un vaso de precipitados de 100 mL, con una solución de KOH al 10% y se dejaron toda la noche, la solución de KOH se cambio tres veces hasta que se torno transparente. Las raíces se enjuagaron con agua destilada y se colocaron en una solución de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 10% durante 3 minutos, para eliminar los residuos de pigmentos que pudieran afectar la observación. Terminando este lapso se procedió a enjuagar con agua destilada y se adiciono ácido clorhídrico (HCl) al 10% durante un periodo de tres minutos, para después quitar el exceso de ácido y sin enjuagar cubrir con el azul Tripano, dejando reposar toda la noche. Después, las raíces teñidas se colocaron dentro de un contenedor de plástico que contiene lacto glicerol por 24 horas para quitar el exceso de azul Tripano

Las raíces teñidas se colocaron sobre un portaobjetos y se les adicionó de una a dos gotas de lacto glicerol, después se colocó un cubreobjetos presionando de manera uniforme y gradual para aplastar las raíces y eliminar cualquier burbuja de aire que impida tener una mejor visión.

La observación de las raíces se realizó con ayuda de un microscopio compuesto, en cada observación se buscó y anotó cada segmento de la raíz que contenía hifas, vesículas o arbuscúlos.

El número de puntos colonizados en la raíz se dividió sobre el total de puntos observados y son convertidos en porcentaje utilizando la siguiente fórmula (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1993).

$$\%CT = \frac{D}{T} \times 100$$

Donde:

%C= Porcentaje de colonización

D= Número de vesículas, arbuscúlos y/o hifas

T= Campos totales observados

9.14 Dependencia micorrízica

Según Gendermann (1975), la dependencia micorrízica (DM) está dada por el grado de relación que existe entre la planta y su simbiote, y puede ser determinada a través de una expresión matemática que relaciona las variables de crecimiento o rendimiento de las plantas micorrizadas con las no micorrizadas, expresadas a su vez en porcentaje (Siqueira y Franco, 1988).

$$DM = \frac{\text{Productividad de la planta micorrizada}}{\text{Productividad de la planta no micorrizada}} \times 100$$

9.15 Análisis estadístico

A las variables evaluadas como son altura, diámetro, número de pinnas, área foliar, potencial hídrico y clorofilas. Se les aplicó un análisis de ANDEVA de dos factores con diferencias significativas menores al 0.05 ($p \leq 0.05$). Por su parte las medias se compararon con un análisis de Tukey, con el programa InfoStat versión 2012e.

10.-RESULTADOS

10.1 Densidad de esporas del inóculo

Entre los resultados obtenidos en la presente investigación, se encontró que en la rizósfera de *Bouteloua gracilis* se tienen 236 esporas en 100 g de suelo seco, además se encontraron 10 morfoespecies de hongos micorrícicos arbusculares (Figura 3) en el suelo usado como inóculo, los cuales se listan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Morfoespecies encontrados en la rizósfera de *B. gracilis*

<i>Acaulospora</i> sp.	<i>Funneliformis mosseae</i>
<i>Ambispora</i> sp.	<i>Gigaspora margarita</i>
<i>Claroideoglomerus etunicatum</i>	<i>Glomus aggregatum</i>
<i>Entrophospora infrequens</i>	<i>Glomus</i> sp.
<i>Funneliformis geosporum</i>	<i>Pacispora</i> sp.

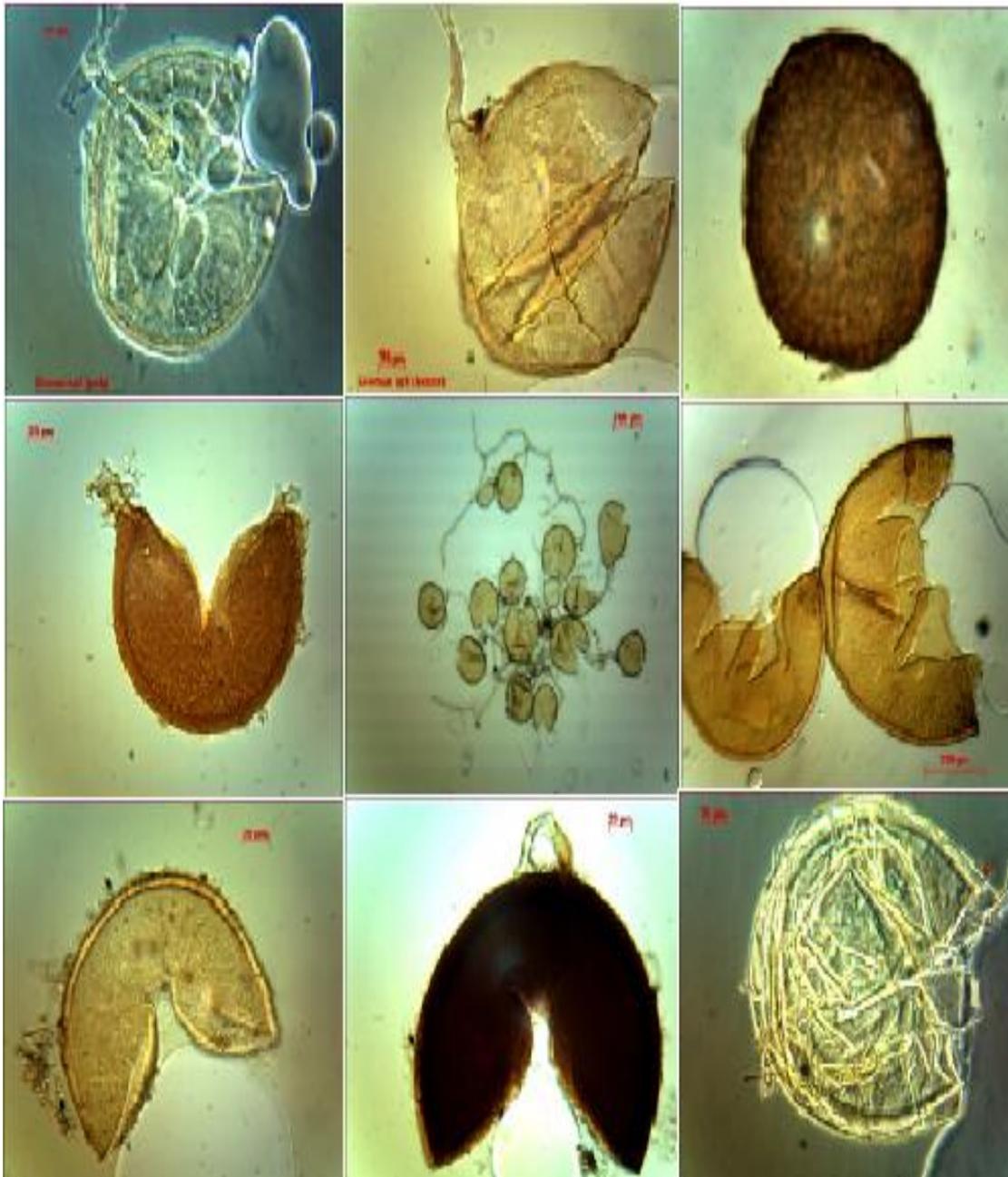


Figura 4. Morfo especies encontradas en la rizósfera de *Bouteloua gracilis*

10.2 Crecimiento de las plantas

En las figuras 5 y 6 se muestran las relaciones obtenidas entre la altura de las plantas de *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* con respecto al tiempo y de acuerdo a los tratamientos M+, M+R y M-. En el caso de *Acacia schaffneri*, el análisis de medias aplicado a los datos promedio de altura de cada semana y final, muestran que no existen diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre

tratamientos. Sin embargo, se observó que el crecimiento en esta especie fue mayor en el tratamiento M+R.

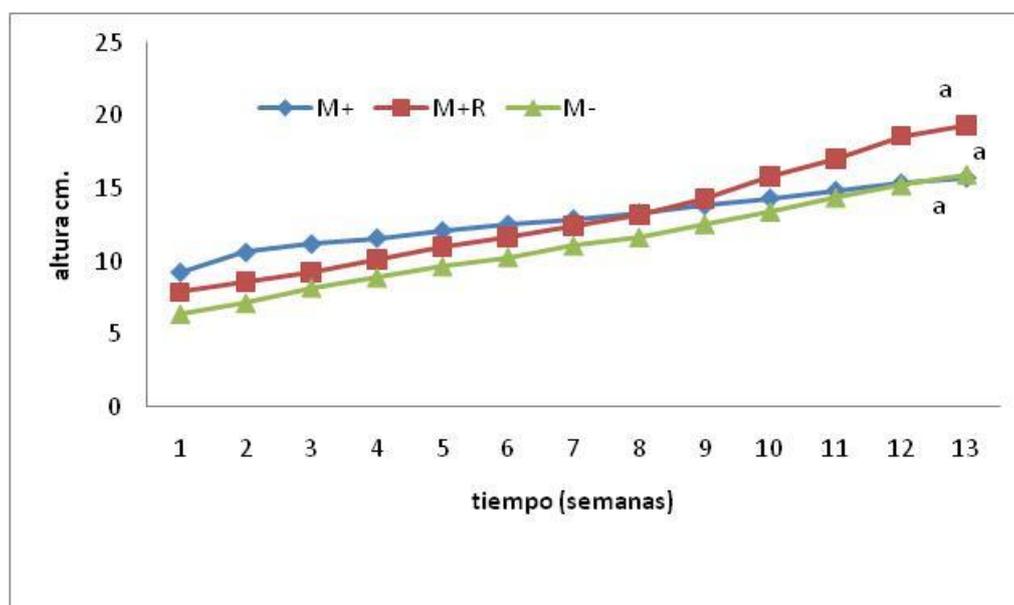


Figura 5. Altura promedio semanal del tallo en *Acacia schaffneri* con micorriza (M+), micorriza y solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

En el caso de *Prosopis laevigata* a partir de la octava semana de cultivo, mostró cambios en altura entre tratamientos, las diferencias en crecimiento fueron estadísticamente significativas entre tratamientos ($p \geq 0.05$), se observó mayor crecimiento en el tratamiento micorrizado (M+) (Figura 6).

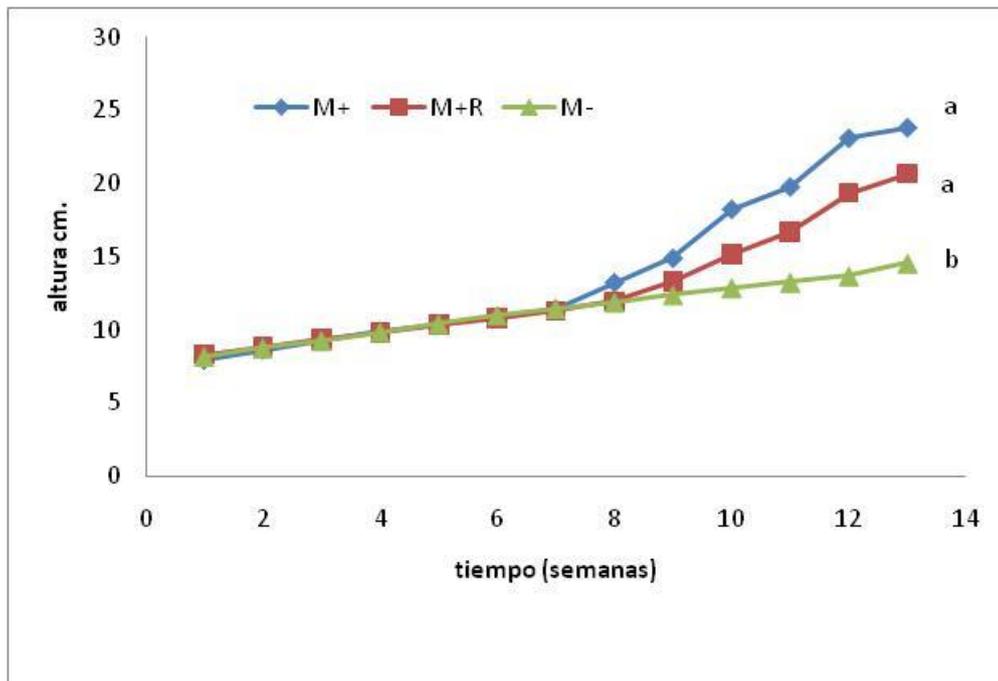


Figura 6. Altura promedio semanal del tallo en *Prosopis laevigata* con micorriza (M+), micorriza y solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

En la décima semana de cultivo se observó que *Acacia schaffneri*; mostro mayor diámetro en el tratamiento M+R con respecto a los otros tratamientos, esta diferencia no fue significativa ($p \geq 0.05$) de acuerdo al análisis de varianza aplicado (Figura 7).

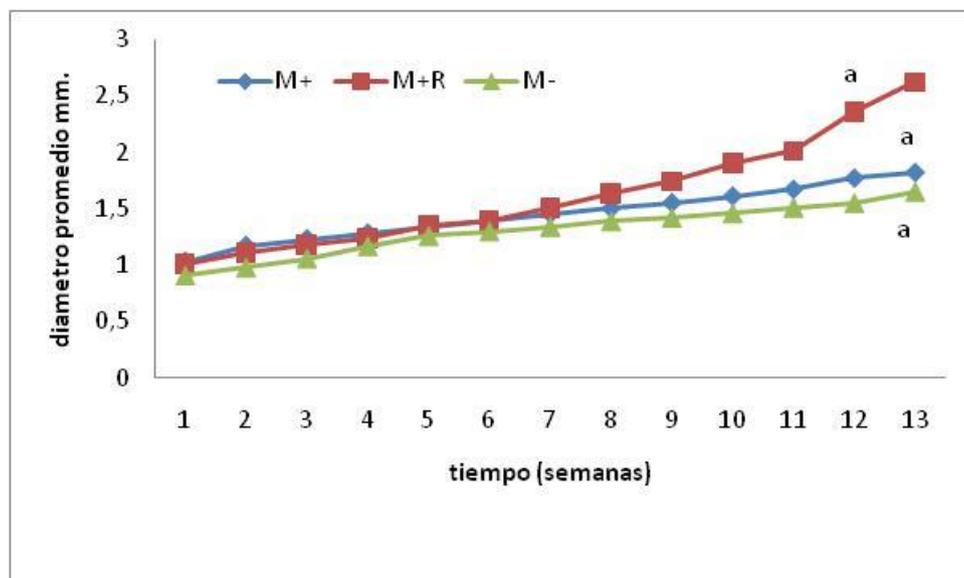


Figura 7. Diámetro promedio semanal del tallo de *Acacia schaffneri*

En *Prosopis laevigata*, la evaluación del diámetro del tallo en el tratamiento M+ fue en promedio de 2.5 cm, mientras que el tratamiento M+R fue de 2.3 cm y el de M- fue de 1.8 cm, el análisis de varianza mostró que las diferencias fueron significativas ($p \geq 0.05$) entre tratamientos (Figura 8).

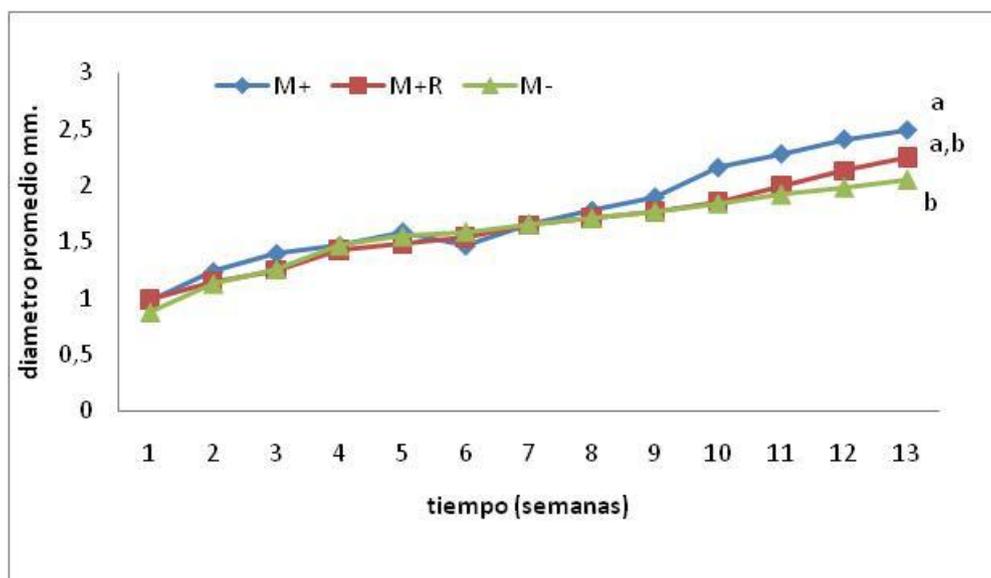


Figura 8. Diámetro promedio semanal del tallo de *Prosopis laevigata*

En relación al número de pinnas, los resultados mostraron que en *Acacia schaffneri* hubo incremento en la décima semana para el tratamiento micorrizado (M+), con un total de 59 pinnas en promedio. En el tratamiento con riego de solución nutritiva (M+R) se tuvieron 38 pinnas promedio, mientras que el menor número de pinas se presentó en el tratamiento M- con 30 pinnas en promedio. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre tratamientos ($p \geq 0.05$) (Figura 9).

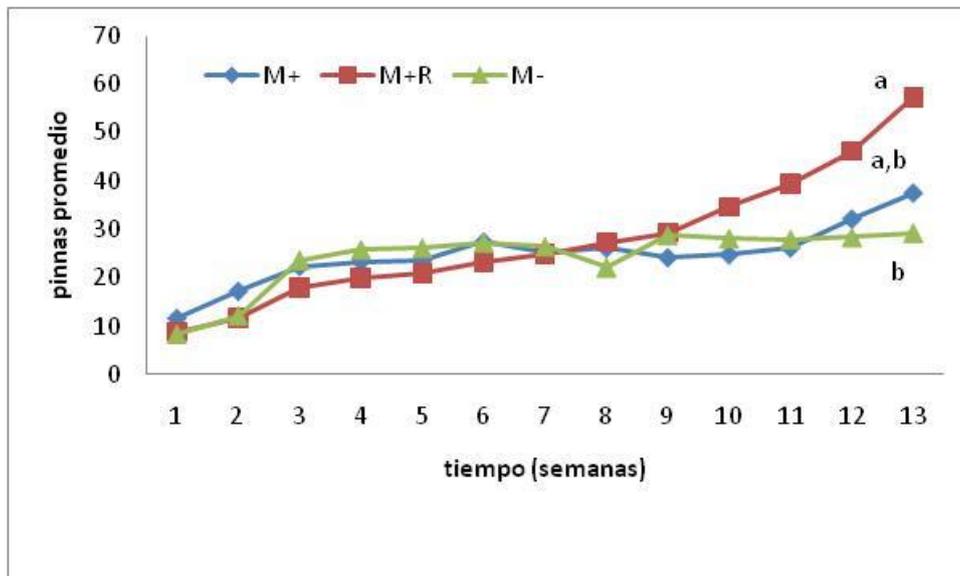


Figura 9. Número de pinnas en *Acacia schaffneri* con micorriza (M+), micorriza y solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

En *Prosopis laevigata* los resultados no mostraron diferencias entre los tratamientos M+ y M+R, ya que estos tuvieron un mayor número de pinnas a partir de la octava semana de cultivo comparadas con el tratamiento M-. Las diferencias estadísticas no fueron significativas ($p \geq 0.05$), entre los tratamientos micorrizados (M+) y con riego de solución nutritiva (M+R) pero si de ellos con respecto al tratamiento no micorrizado (M-) (Figura 10)..

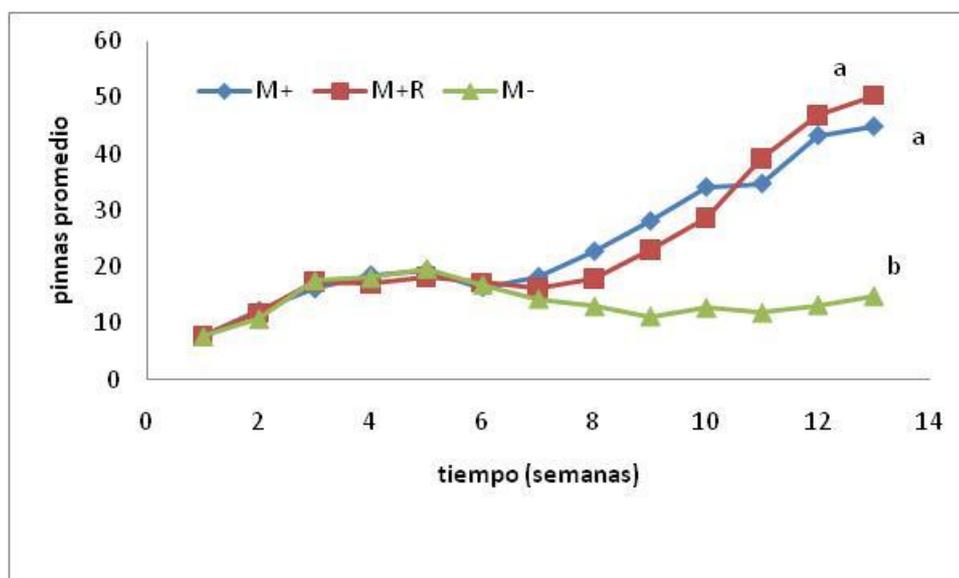


Figura 10. Número de pinnas en *Prosopis laevigata* con micorriza (M+), micorriza y solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

Se calculo la tasa relativa de crecimiento (TCR) en altura para todo el periodo de crecimiento, los resultados para *Acacia schaffneri* en los tratamientos M+R y M-, mientras que el menor valor se tuvo en M+, mientras que *Prosopis laevigata* mostro mayor TRC en el tratamiento M+ M+R y el menor valor en el tratamiento M- (Figura 11).

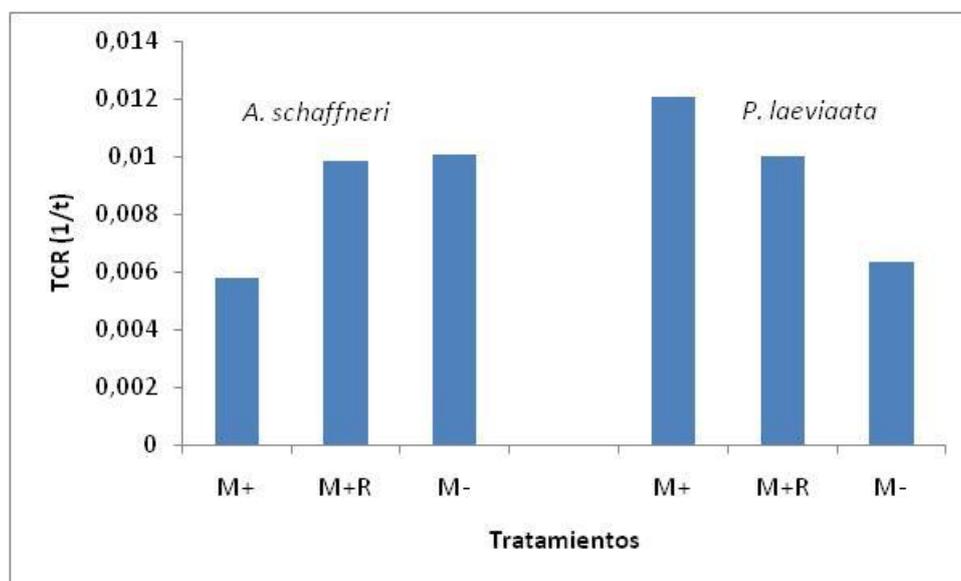


Figura 11. Tasa de crecimiento relativo para ambas especies

10.3 Potencial hídrico caulinar

Al término de las 13 semanas de cultivo, se evaluó el potencial hídrico caulinar promedio en las dos especies de leguminosas, obteniendo así los grados de hidratación de la planta en cada tratamiento, los resultados en *A. schaffneri* mostraron potenciales de $\psi_w = -1.39$ MPa para el tratamiento M+, para M+R $\psi_w = -1.066$ MPa y para M- $\psi_w = -1.025$ MPa. Mientras que en *P. laevigata* los potenciales por tratamiento fueron M+ $\psi_w = -1.31$ MPa, M+ R $\psi_w = -1.2$ MPa y M- $\psi_w = -0.95$ MPa (Figura 12).

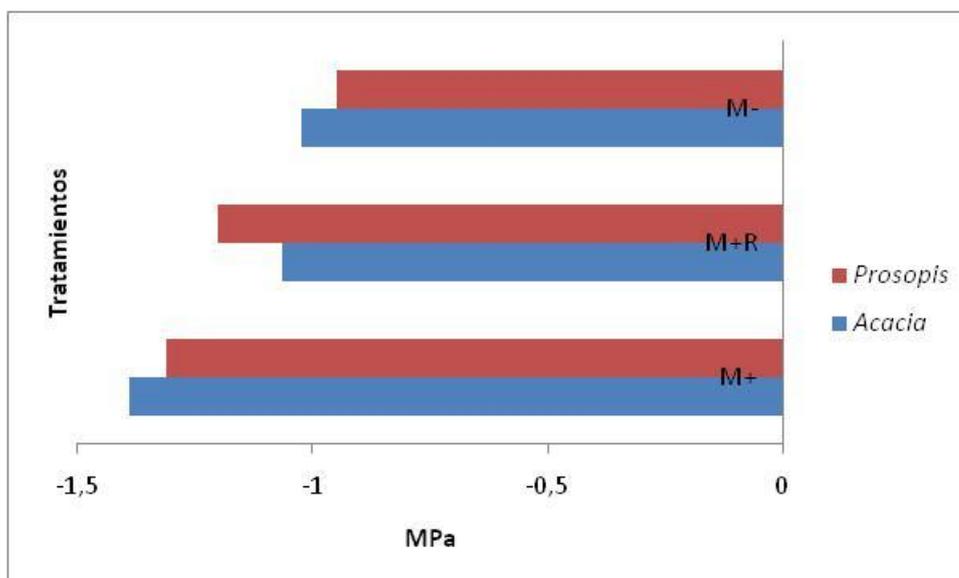


Figura12. Potencial hídrico en ambas leguminosas después de 13 semanas de cultivo

10.4 Contenido de clorofila y área foliar

En la figura 13 se muestra que en *A. schaffneri* el contenido de clorofilas medido en unidades SPAD se obtuvo en el tratamiento M+R, mientras que en *P. laevigata* el valor más alto se obtuvo en el tratamiento M+. En todos los tratamientos *P. laevigata* mostró valores más altos en esta variable.

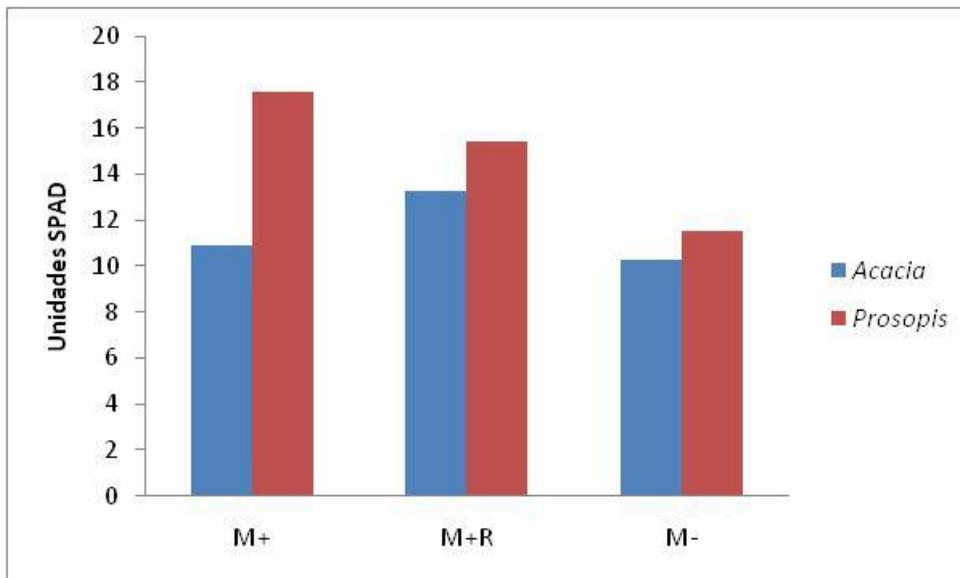


Figura 13. Evaluación de concentración de clorofila en ambas leguminosas

En lo que respecta al área foliar, en el caso de *Acacia schaffneri* se tuvo en el tratamiento (M+R) mayor área foliar con 125 cm² que fue el doble de la que presento el tratamiento M+ y tres veces más que el tratamiento M-. En el caso mientras que para el tratamiento M- se tuvo 50 % menos área foliar. En todos los tratamientos *Prosopis laevigata* mostro mayor área foliar que *Acacia schaffneri* (Figura 14).

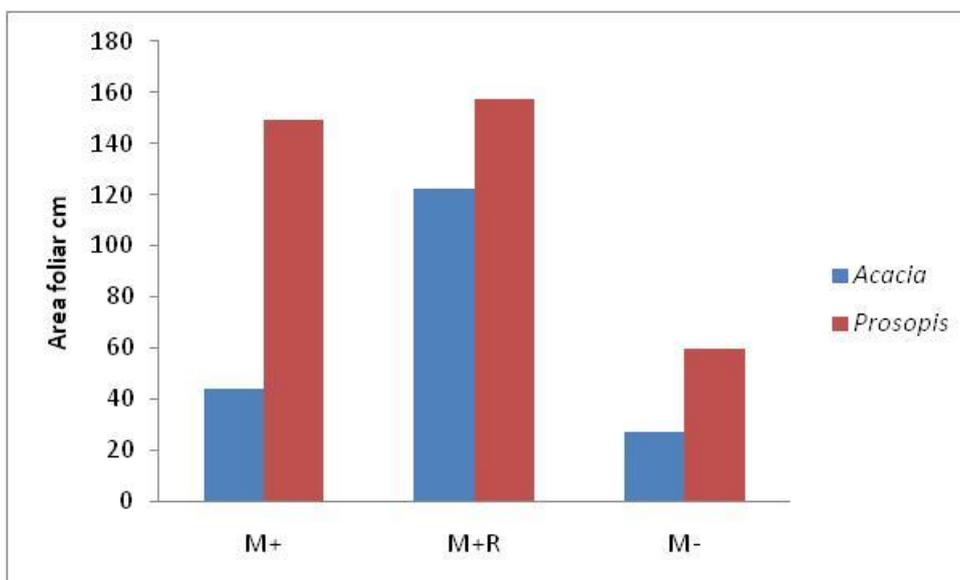


Figura 14. Área foliar para ambas especies de leguminosas, al final de 13 semanas de cultivo

10.5 Biomasa fraccionada y cociente R/V

En el cuadro 2, se presentan los valores de biomasa fraccionada y el cociente raíz/vástago (R/V), en *Acacia schaffneri* el valor más alto en biomasa se obtuvo en el tratamiento M+R, mientras que en el cociente R/V el valor más alto se tuvo en el tratamiento M-, el cociente con menor valor fue para el tratamiento con riego suplementario (M+R). En el caso de *Prosopis laevigata*, se tuvo similar cantidad de biomasa seca en los tratamientos M+ y M+R, ambos tratamientos presentaron el mismo valor de cociente R/V, mismo que fue menor que el cociente más alto alcanzado con el tratamiento M-, aunque la diferencia entre los cocientes fue menor (Cuadro 3).

Cuadro 2. Biomasa seca *Acacia schaffneri*

	Biomasa seca		Cociente R/V
	Vástago	Raíz	
	-----g-----		
M+	0.603±0.48	0.863±0.39	1.43
M+R	0.995±0.80	0.592±0.34	0.59
M-	0.370±0.30	1.049±0.55	2.83

Cuadro 3. Biomasa seca *Prosopis laevigata*

	Biomasa seca		Cociente R/V
	Vástago	Raíz	
	-----g-----		
M+	1.29±0.89	0.65±0.31	0.50
M+R	1.24±0.96	0.62±0.31	0.50
M-	0.44±0.40	0.30±0.27	0.68

10.6 Colonización micorrízica

Como se muestra en la figura 15, *A. schaffneri* y *P. laevigata* tuvieron 90% de colonización con M+, mientras que con M+R disminuyó a 62 y 56% de colonización respectivamente.

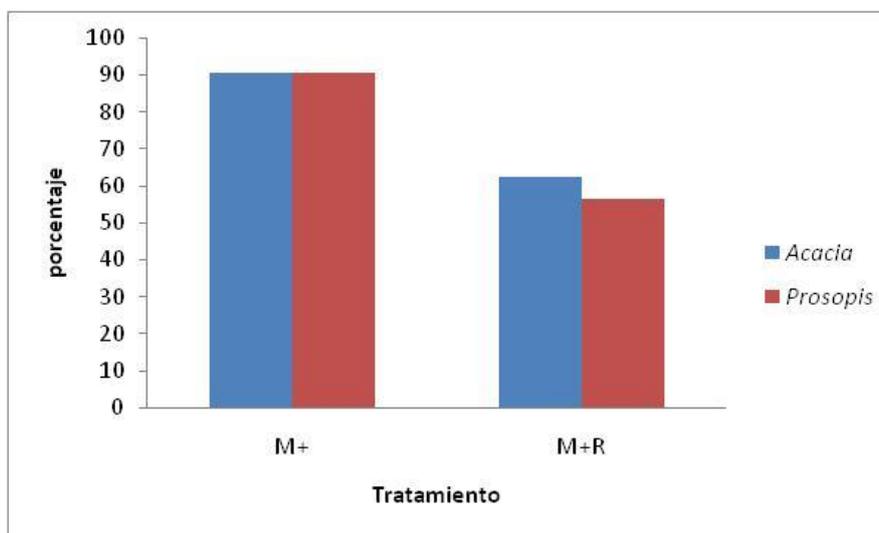


Figura 15. Porcentaje de colonización en ambas especies de leguminosas

En el cuadro 4 se presentan los resultados del conteo de las estructuras encontradas (vesículas, arbusculos e hifas), en los fragmentos de las raíces analizadas en ambas especies, con su respectivo porcentaje de colonización.

Cuadro. 4. Porcentaje de colonización micorrízica fraccionada después de 91 días en el invernadero.

Especie	Tratamiento	Vesículas	Arbusculos	Hifas
		-----	% -----	
<i>A.schaffneri</i>	M+	28.5	2.6	68.9
	M+R	35.2	1.2	63.6
<i>P. laevigata</i>	M+	30.2	3.6	66.2
	M+R	31.3	1.2	67.6

10.7 Análisis de fósforo y nitrógeno en sustrato y foliar

En los cuadros 5 y 6 se muestran los resultados del análisis al sustrato de ambas especies al inicio y al final del experimento para cada tratamiento.

Cuadro 5. Análisis del sustrato *Acacia schaffneri*

Propiedad	Inicio	M+	M+R	M-
DR(g/cm ³)	2.25	2.56	2.78	2.47
DA(g/cm ³)	1.72	1.74	1.73	1.72
pH activo	7.4	7.7	7.5	7.6
% M.O.	0.26	0.43	0.67	0.38
Clase textural	Arenosa	Arenosa	Arenosa	Arenosa
Nt (%)	0.010	0.0126	0.0105	0.0119
P (ppm)	11.04	19.52	15.95	13.05

Micorrizado (M+), micorrizado con solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

Cuadro 6. Análisis del sustrato *Prosopis laevigata*

Propiedad	Inicio	M+	M++	M-
DR (g/cm ³).	2.25	2.83	2.94	2.60
DA (g/cm ³).	1.72	1.74	1.73	1.72
pH activo	7.4	7.5	7.3	7.6
M.O (%).	0.26	0.63	0.75	0.42
Clase textural	Arenosa	Arenosa	Arenosa	Arenosa
Nt (%)	0.010	0.0112	0.014	0.0105
P (ppm)	11.04	16.82	13.05	14.51

Micorrizado (M+), micorrizado con solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

En los cuadros 6 y 7 se muestran los valores obtenidos del análisis foliar.

Cuadro 7. Análisis foliar *Acacia schaffneri*

<i>Acacia schaffneri</i>	Nt (%)	P (ppm)
M+	2,72	1225,03
M+R	2,91	1639,83
M-	1,91	984,98

Micorrizado (M+), micorrizado con solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

Cuadro 8. Análisis foliar *Prosopis laevigata*

<i>Prosopis laevigata</i>	Nt (%)	P (ppm)
M+	2.56	1945.03
M+R	2.64	1856.49
M-	1.41	860.81

Micorrizado (M+), micorrizado con solución nutritiva (M+R) y sin micorriza (M-).

10.8 Dependencia micorrízica

Para la variable dependencia micorrízica se encontró que las plantas de *A. schaffneri* en el tratamiento M+ mostraron 15% de dependencia micorrízica, mientras que en el tratamiento M+R presentaron el 29%, por otra parte en *P. laevigata*, en los tratamientos M+ y M+R mostraron el mismo grado de dependencia micorrízica con un 17% (Figura 16).

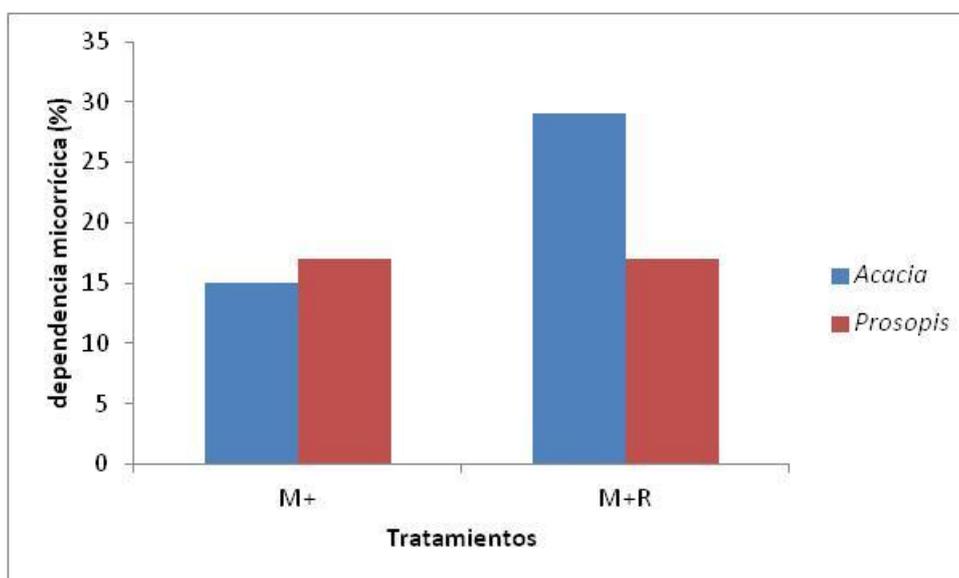


Figura 16. Porcentaje de dependencia micorrízica en ambas especies

11. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

a) Dinámica de crecimiento

El crecimiento de una planta es el cambio irreversible en el aumento de peso (biomasa), número de hojas, longitud de raíz, grosor de tallo, acumulación de nutrimentos entre otras variables, y ocurre con un patrón diferente en cada especie, en el caso de *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* estos patrones se desconocen. Además, cada una de las variables de crecimiento describe algo diferente y rara vez se relacionan entre sí de una manera simple porque a menudo el crecimiento ocurre en diferentes direcciones y distintas tasas (Beadle, 1988; Bidwell, 1979; Rojas y Rovalo, 1979). En trabajos previos se ha demostrado que el crecimiento en altura y número de hojas de *Acacia schaffneri* (Miranda, 2003) y de *Prosopis laevigata* (García-Sánchez, 2011) se favorece cuando forman micorrizas.

En este trabajo se probó el efecto de la micorriza en las variables de crecimiento evaluadas (altura, diámetro y número de pinnas) se muestra un efecto positivo en el crecimiento de las plantas de *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* al asociarse con los hongos micorrizógenos arbusculares provenientes de la rizósfera de *Bouteloua gracilis*, dando como resultado una mejor nutrición y por consecuencia un mejor crecimiento (Azcón-Aguilar y Barea, 1988). Resultados similares se encontraron en estudios realizados por Torres (2011) y Montañó (2000), quienes reportan que las especies *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* micorrizadas creciendo en invernadero registraron un incremento mayor en altura que las plantas testigo, estos autores mencionan haber regado sus experimentos con la solución nutritiva baja en

fósforo (misma que se utiliza comúnmente para regar), sin embargo, no evaluaron si la solución nutritiva (Long Asthon) potencializa el efecto de la micorriza ya que las plantas micorrizadas que fueron regadas con solución nutritiva alcanzaron mayor talla, diámetro medio y número de hojas en *Acacia schaffneri*; no así en *Prosopis laevigata* donde las plantas con el tratamiento M+ presentaron mayor crecimiento que el tratamiento M+R lo cual puede ser resultado de las características propias de cada especie.

b) Variables fisiológicas

El potencial hídrico obtenido en ambas leguminosas presentaron valores negativos similares. No se encontraron diferencias significativas ($p \geq 0.5$) entre los tratamientos, este resultado contrasta con lo reportado con Luna (2005), quién trabajó con *Prosopis laevigata* y encontró potenciales más negativos en lotes de plantas testigo comparadas con la micorrizadas. Sin embargo, Vargas (2011) reportó que en *Mimosa* no existen diferencias significativas entre las plantas micorrizadas y sus testigos, si las plantas presentan potenciales hídricos más negativos implica que tienen mayor cantidad de agua para llevar a cabo sus funciones elementales (Cox y Tinker, 1976). González (2003) encontró que la simbiosis micorrízica mejora la conductividad hidráulica de la raíz aumentando la absorción y flujo de agua; esto coincide con lo reportado por Simancas (2007) donde las especies vegetales micorrizadas tienen un potencial hídrico más negativo que las no micorrizadas, en este trabajo los resultados mostraron un potencial menos negativo en las plantas testigo y mayor en las plantas micorrizadas de los dos tratamientos (M+ y M+R), esto puede ser resultado de un aumento en la transpiración debida a la mayor cantidad de área foliar que tienen estas plantas.

La presencia de la micorriza y el riego con solución nutritiva no muestra ventajas a la planta en la absorción de nutrimentos para el caso de *Prosopis laevigata* lo que no ocurre en las plantas de *Acacia schaffneri* donde se observa que se ve beneficiada con esta solución, relaciones similares reporta López (2007), en plantas inoculadas de *Prosopis laevigata*, así mismo Guzman-Plazola y Ferrera-Cerrato (1990), reportaron mayor área foliar en leguminosas inoculadas con HMA en relación a las plantas no micorrizadas.

Agbenin y Tiesse (1994) propusieron relaciones directas entre el contenido de clorofilas y de nutrimentos como N, Mg y Fe, con los dos primeros elementos forman parte de la molécula de clorofila, y están directamente relacionados en la síntesis de ella, al igual que el hierro. La deficiencia de cualquiera de éstos elementos puede afectar la síntesis de clorofila (Guardiola y García, 1991). En este trabajo se encontró que *Acacia schaffneri* tuvo mayor concentración de clorofilas en el tratamiento M+R, mientras que en *Prosopis laevigata* presentó mayor cantidad de unidades SPAD en el tratamiento micorrizado (M+), en general, los resultados sugieren una relación directa entre los mayores contenidos de clorofila (unidades SPAD) y el porcentaje de micorrización en las plantas.

Los resultados de biomasa seca indican mayor acumulación en la parte aérea con los tratamientos M+ y M+R, esto coincide con los resultados del estudio realizado por Vargas (2011), quién menciona que las plantas micorrizadas tienen una mejor translocación de nutrimentos, debido a la red hifal que da energía a la formación de biomasa de la parte aérea, reduciendo el desarrollo de un sistema radical amplio, por lo cual la repartición de recursos favorece a la parte aérea. En ambas especies se tuvo un vigoroso crecimiento del vástago

en *Acacia schaffneri* el mejor tratamiento fue el micorrizado con riego (M+R) y en *Prosopis laevigata* el tratamiento micorrizado (M+), esto se expresó en las variables de crecimiento como la altura y cantidad de biomasa producida, además de que la micorriza incrementó la captación y eficiencia de los nutrientes especialmente N y P la adición de nutrientes favorece a las especies que actúan como invasoras, lo que permite el desarrollo de las plantas en suelos poco productivos como hace referencia Bago *et al.*,(2003) y Brokes *et al.*,(1984).

c) Translocación de nutrientes

Con el aumento en la absorción de fosfatos resultado de la micorrización, las plantas se desarrollan de mejor manera produciendo mayor cantidad de biomasa, el comportamiento de *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* en este aspecto fue diferente para cada especie, para *Acacia schaffneri* se tuvo que el tratamiento con micorriza y riego (M+R) favoreció mayor acumulación de biomasa, mientras que en *Prosopis laevigata* el tratamiento micorrizado (M+) favoreció la acumulación de mayor cantidad de biomasa, esto puede deberse a que *Prosopis laevigata* presenta una mejor y fuerte respuesta a la inoculación micorrízica, coincidiendo con los resultados encontrados por López (2007) y García-Sánchez (2011).

La simbiosis planta-HMA generalmente incrementa la biomasa total de la planta modificando el cociente raíz-vástago (R/V). La distribución de los fotosintatos se refleja en este índice. En este trabajo, para ambas especies, el valor más alto se obtuvo en el tratamiento testigo, lo que sugiere que la planta al no contar con la red hifal para la exploración del suelo en búsqueda de

nutrimentos y agua, tiene que asignar mayor cantidad de recursos al crecimiento de la raíz y con esto se ve afectado negativamente el desarrollo de la parte aérea. Para *Acacia schaffneri* el tratamiento testigo M- tiene un cociente R/V mayor. En el caso de *Prosopis laevigata* los valores obtenidos del cociente R/V fueron menores e iguales en los tratamientos M+ y M+R, los resultados son en general, similares a los reportados por Davies *et al.*, (2000). Smith y Read (1997) quienes indican una reducción en el cociente R/V cuando la planta presenta mayor porcentaje de colonización radical por los HMA. Dickson *et al.*, (1999), señalaron una reducción del cociente cuando la planta colonizada por HMA crece en suelos con alto nivel de fertilidad.

El porcentaje de colonización radical total, indica que tanto interactúan las plantas con los hongos micorrízicos, generalmente, entre más alto es el porcentaje de colonización se sugiere mayor influencia del crecimiento y desarrollo de la planta (López, 2007). Sin embargo, dependerá de la especie y condiciones de cultivo. Generalmente las plantas muestran valores altos de colonización radical con respecto a los porcentajes encontrados en raíces de la misma especie colectadas en campo. En este estudio, se encontraron en ambas especies las estructuras básicas vesículas e hifas, estas últimas en mayor cantidad, que de vesículas. No se observaron arbusculos en ninguna de las especies ni tratamientos. Se ha demostrado (Smith y Read 1997) que las plantas micorrizadas incrementan la captación de nutrimentos minerales, especialmente aquellos que son poco móviles en el suelo como el fósforo. En este trabajo se muestra que en *Acacia schaffneri* además de la alta micorrización le es necesario el aporte de nutrimentos por medio de la solución nutritiva, ya que las mejores respuestas en la mayoría de las variables

evaluadas se presentaron en el tratamiento M+R. En el caso de *Prosopis laevigata*, las respuestas obtenidas con los tratamientos M+ y M+R fueron similares, sin embargo el mejor tratamiento es el M+, lo que sugiere que la simbiosis micorrizica que forma es eficiente para translocar nutrimentos y suficiente para obtener un buen crecimiento en invernadero, cabe mencionar que se han encontrado pocos trabajos que aborden la translocación de nutrimentos en plantas silvestres, en particular para *Acacia schaffneri* por lo que estos pueden ser los primeros reportes para esta especie.

Los resultado del índice de dependencia micorrizica mostraron que la especie *Acacia schaffneri* presenta mayor valor (29%) en el tratamiento M+R lo que sugiere que necesita los nutrimentos aportados por la solución para sustentar el nivel de micorrización que presento no así en la especie *Prosopis laevigata* el índice es más bajo y similar entre tratamientos.

El análisis foliar muestra que la mayor concentración de nitrógeno total (Nt %) para *Acacia schaffneri* se tuvo en el tratamiento M+R coincidiendo con *Prosopis laevigata* en el mismo tratamiento. Torres (2011), reporta que los tratamientos micorrizados presentaron mayor cantidad de nitrógeno, lo cual puede deberse a que el inóculo presentaba no solo la micorriza sino bacterias que no fueron eliminadas y que junto con la leguminosa ayudaron a la fijación de nitrógeno ya que existe una simbiosis entre leguminosa, HMA y bacterias (Varenes y Goss, 2002). Zandavalli *et al.*, (2004) obtuvo resultados similares en trabajos con *Araucaria angustifolia*. Para el fósforo foliar en *Acacia schaffneri* se tiene un incremento en el tratamiento M+R, mientras en *Prosopis laevigata* no se ve beneficiada con el riego, haciendo comparación de

tratamientos M+ y M+R. Montaña (2000) para *Prosopis laevigata* tiene una mayor concentración de fósforo en plantas inoculadas con micorrizas.

12.-CONCLUSIONES

Se encontró un total de 10 morfoespecies de HMA en el inóculo proveniente de la rizósfera de *Bouteloua gracilis* del Parque Ecológico "Cubitos" con un promedio de 236 esporas en 100 g de suelo seco, se identificaron seis especies de HMA que son: *Claroideoglomus etunicatum*, *Entrophospora infrequens*, *Funneliformis geosporum*, *Funneliformis mosseae*, *Gigaspora margarita* y *Glomus aggregatum*, además de cuatro morfoespecies no identificadas de los géneros: *Acaulospora* sp, *Ambispora* sp, *Glomus* sp y *Pacispora* sp.

El porcentaje de micorrización de ambas especies fue mayor al 50%, por tanto, se considera que *Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata* en condiciones de invernadero son hospederos apropiados para los HMA provenientes de la rizósfera de *Bouteloua gracilis*, formando la simbiosis micorrízica.

Ambas especies mostraron un aumento en su contenido hídrico, la TCR fue más alta en plantas inoculadas con respecto a las plantas testigo.

La influencia de los HMA sobre el desarrollo de la biomasa en ambas especies favoreció la parte aérea, en los tratamientos M+ y M+R que en el tratamiento testigo M- para ambas especies.

El aporte de los riegos con solución nutritiva tuvo mayor efecto en la especie *A. schaffneri* en el tratamiento M+R, no así en *P. laevigata* donde el aporte no

refleja diferencias significativas entre tratamientos en la mayoría de las variables.

Acacia schaffneri tuvo mayor acumulación de nitrógeno y fósforo foliar en el tratamiento M+R reflejando que necesita de la solución nutritiva para un mejor desarrollo, mientras que en *Prosopis laevigata* se tuvo mayor cantidad de nitrógeno foliar en el tratamiento M+R y el tratamiento M+ mayor acumulación de fósforo foliar.

Para el caso de restauración ecológica se propone la utilización de *P. laevigata* ya que no necesita el aporte de nutrimentos haciendo más fácil su desarrollo en invernadero para su trasplante a campo.

13.- ANEXOS

Protocolo de preparación de la solución Long Ashton

→Macroelementos: en un recipiente de 10 L se agregan 5 L de agua desmineralizada y se adicionan los primeros tres compuestos por separado se esperará a que cada uno se disuelva antes de adicionar el siguiente. Seguidamente se disuelven 200 ml de agua desmineralizada el sulfato de magnesio heptahidratado antes de agregarlo al matraz anterior con objeto de evitar un precipitado de sulfato de calcio.

→Oligoelementos: La preparación de las distintas soluciones de oligoelementos será la siguiente.

1.-Para la preparación de solución de molibdato de amonio se pesan 1.76 g y se disuelven en 1 L de agua desmineralizada en un matraz aforado (solución concentrada 20000 veces). Se conserva en el refrigerador y se agrega a razón de 50ml/L solución de oligoelementos concentrada 1000 veces.

2.-La solución de sulfato ferroso al 1% se añade a razón de 2ml/L de solución de nutrimentos.

3.- Se preparo una solución concentrada de oligoelementos donde se agregan los compuestos del 5 al 9 por separado esperando que cada uno se disuelva antes de agregar el siguiente. Se añadirá 50 ml de solución concentrada de molibdato de amonio y se lleva a volumen 1L. Se conservará en el refrigerador a 4°C.

4.-Se añaden 100 ml de esta solución concentrada de oligoelementos a la solución de macroelementos. Se completa a un volumen final de 10 L, se añade la solución de sulfato ferroso y se agita. Se refrigera hasta el uso.

Macroelementos	Compuesto	mg/l de sol. de nutrimentos
	1.- KNO ₃	808
	2.- Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	944
	3.- NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	184
	4.- MgSO ₄ 7H ₂ O	368
Oligoelementos	Compuesto	mg/l de sol. de nutrimentos
	5.- MnSO ₄ 4H ₂ O	2.23
	6.- CuSO ₄ 5H ₂ O	0.25
	7.- ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.29
	8.- H ₃ BO ₃	3.10
	9.- NaCl	5.90
	10.- (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ 4H ₂ O	1.76

	11.- Sulfato ferroso (1%)	2ml

Nota: La solución de oligoelementos concentrada no se esteriliza para evitar la formación de precipitados y se añade a razón de 10 ml/L.

Análisis estadísticos

Análisis de varianza en la altura

Acacia schaffneri

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	47,88	2	23,94	1,21	0,3268
TRATAMIENTOS	47,88	2	23,94	1,21	0,3268
Error	276,35	14	19,74		
Total	324,22	16			

Prosopis laevigata

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	453,86	2	226,93	13,33	0,0002
TRATAMIENTOS	453,86	2	226,93	13,33	0,0002
Error	357,50	21	17,02		
Total	811,36	23			

Análisis de varianza del diámetro

Acacia schaffneri

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,15	2	1,58	20,08	0,0001
TRATAMIENTOS	3,15	2	1,58	20,08	0,0001
Error	1,10	14	0,08		
Total	4,25	16			

Prosopis laevigata

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,79	2	0,39	4,93	0,0176
TRATAMIENTOS	0,79	2	0,39	4,93	0,0176
Error	1,68	21	0,08		
Total	2,47	23			

Análisis de la varianza en número de hojas

Acacia schaffneri

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2468,02	2	1234,01	4,49	0,0311
TRATAMIENTOS	2468,02	2	1234,01	4,49	0,0311
Error	3845,87	14	274,70		
Total	6313,88	16			

Prosopis laevigata

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5841,33	2	2920,67	10,35	0,0007
TRATAMIENTOS	5841,33	2	2920,67	10,35	0,0007
Error	5927,63	21	282,27		
Total	11768,96	23			

Análisis de la varianza en área foliar

Acacia schaffneri

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30283,92	2	15141,96	4,28	0,0354
TRATAMIENTOS	30283,92	2	15141,96	4,28	0,0354
Error	49526,75	14	3537,62		
Total	79810,67	16			

Prosopis laevigata

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	47307,79	2	23653,90	2,93	0,0754
TRATAMIENTOS	47307,79	2	23653,90	2,93	0,0754
Error	169461,25	21	8069,58		
Total	216769,04	23			

Análisis de la varianza en potencial hídrico

Acacia schaffneri

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	219,38	2	109,69	3,45	0,0607
TRATAMIENTOS	219,38	2	109,69	3,45	0,0607
Error	445,74	14	31,84		
Total	665,12	16			

Prosopis laevigata

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	55,08	2	27,54	1,47	0,2534
TRATAMIENTOS	55,08	2	27,54	1,47	0,2534
Error	394,38	21	18,78		
Total	449,46	23			

Análisis de la varianza en clorofilas

Acacia schaffneri

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30,91	2	15,46	0,77	0,4838
TRATAMIENTOS	30,91	2	15,46	0,77	0,4838
Error	282,86	14	20,20		
Total	313,78	16			

Prosopis laevigata

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	148,20	2	74,10	1,99	0,1614
TRATAMIENTOS	148,20	2	74,10	1,99	0,1614
Error	781,22	21	37,20		
Total	929,42	23			

14.-Referencias

- Agbenin J. O. and Tiessen A.P. 1994. Phosphorous transformations in a toposequence of Lithosols and Cambisols from semi-arid northeastern Brazil *Geoderma* 62: 345-362.
- Akiyama K., K. Matsuzaki, H. Hayashi. 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 435:824-827.
- Alarcón A. Ferrera-Cerrato R. 2000. *Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular*. Colegio de Postgraduados. Pp 579:251.
- Allan J. E. 1971. The preparation of agricultural samples for analysis by atomic absorption spectroscopy. Varian Techtron, Walnut Creek, California. Pp: 202-212.
- Allen M.F. 1991 "The ecology of mycorrhizae". University Press, Cambridge. pp: 45-58
- Asher C. J. 1991. Beneficial elements, functional nutrients and possible new essential elements. In: Mortvedt J. J., F. R. Cox Editions. *Micronutrients in Agriculture*. Madison: Soil Science Society of America 2:703-723.
- Auge M. F. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
- Azcón-Aguilar C. y Barea J.M. 1992. Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms. M.F. Ed. *Mycorrhizal Functioning*, Chapman Hall, Nueva York. pp. 163-198
- Baber S. A, 1984. *Soil nutrient bioavilidad. A mechanistic approach*. Jhon wiley. New York

- Bago B., Pfeffer P.E., Abubaker J., Jun J., Allen J.W., Brouillette J., Douds D.D., Lammers P.J., Shachar-Hill Y. 2003. Carbon export from arbuscular mycorrhizal roots involves the translocation of carbohydrate as well as lipid. *Plant Physiol.* 131:1496-1507.
- Barea J.M. 1998. Biología de la rizósfera. *Investigación y Ciencia* 47: 74-81 pp.
- Barea J.M. y Azcón Aguilar, C. 1983. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. En: *Advances in Agronomy*. Vol 36, editado por N.C. Brandy, Academic Press, Nueva York, pp 1-53.
- Baath E. y Spokes J. 1989. The effect of added nitrogen and phosphorous on mycorrhizal growth response and infection in *Allium schoenoprasum*. *Can. J. Bot.* 67:3221-3232.
- Bath K.S. y Nye P.H. 1973. Diffusion of phosphate to plants roots in soil, I, Quantitative autoradiography on the depletion zone. *Plant and Soil.* 38:161-175.
- Barragán E. A. 2003. Inoculación micorrízica de *Prosopis laevigata* (Mezquite) en condiciones de invernadero y su efecto y trasplante a condiciones de campo. Tesis de Licenciatura UNAM.
- Beadle C. L. 1988. Análisis del crecimiento vegetal, en Coombs J., may D.O., Long S.P. y Scurlock J.M.O. (eds.). *Técnicas en fotosíntesis y bioproductividad*. Ed. Futura S. A. México, COLPOS, pp. 17-22.
- Bergmann W. 1992. *Nutritional Disorders of Plants: development, visual and analytical diagnosis*. Stuttgart: Gustav Fisher Verlag 741 pág.
- Bidwell R. G. S. 1979. *Fisiología vegetal*, 1ra. Edición, AGT Editores, S.A., México.

- Bremner J. M. 1965. Total nitrogen. C.A. Black (ed), Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin pág 1149-1178.
- Bridge W.C. 1979. The ecology of fungus. CRC, Boca Raton, Florida, pág. 187-190.
- Brookes P. C., Powlson D. S. y Jenkinson D.S. 1984. Phosphorous in soil microbial biomass. Soil Biology and Biochemistry (England) V.16. 2. pp. 169-175
- Burkart A. 1976. A Monograph of the Genus *Prosopis*. Journal Arn. Arb. 57: 3–4
- Camargo-Ricalde, S. L. 2001. Some biological aspects of the arbuscular mycorrhizal fungi. Boletín de la Sociedad Botánica de México 68: 15-32
- Castillo C.G. 2005. Biodiversidad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares en ecosistemas agro-forestales del Centro Sur de Chile. Tesis Doctoral, Universidad de La Frontera. 124 p.
- Chiu T.J., Liu H. y Harrison M.J. 2001. The spatial expression patterns of a phosphate transporter (MtPT1) from *Medicago trincatula* indicate a role in phosphate transport at the root/soil interface. Plant Journal 25: 281-293.
- Clement L.W, y Köppen S, 2008 Strategies of a parasite of the ant-Acacia mutualisms. Behav Ecol Sociobiol 26:953–962.
- Cornejo E.P. 2006. Influencia de la cobertura vegetal sobre la diversidad y estructura de las comunidades de hongos micorrízicos y su estabilización de suelos disgregados. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. pp. 243.

- Cox G. y Tinker P.B. 1976. Traslocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas.I. The arbuscule and phosphorus transfer a quantitative ultrastructural study. *New Phytol.* 7:371-378.
- Crawford N.M. 1995. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *Plan Cell.* 7:859-868.
- Davies Jr. F.T., Estrada-Luna A.A.; Finnerty, J.N.; Egilia y V. Olalde-Portugal. 2000. Applications of mycorrhizal fungi in plant propagation system. 129-146 pp.
- Dickson S., Smith y A. Smith. 1999. Characterization of two arbuscular mycorrhizal fungi in simbiosis with *Allium porrum* colonitation, plant growth and phosphate uptake. *New Phytology* 144: 163-172.
- Dirección General de Geografía 1983 (DGG). Carta Edafológica de Pachuca. Escala 1:50000. México D.F.
- Epstein E. y Bloom J. 2005. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives, Second Edition* Academic Publisher E. U. pp 380
- Fagg C.W y J. L. Stewart. 1994. The value of *Acacia* and *Prosopis* in arid and semi-arid Environments. *Journal of Arid Environments* 27: 3-25.
- Fan M. y Wan Q. 2008. Studies on the tolerance of rice varieties to Phosphorus deficiency. In *Symposium Responses and Tolerance Mechanisms plants to Adverse Soil Conditions.* 234-238.
- Fernández, E., Rivera, R., Noval B. 1999. Metodología de recubrimiento de semillas con inóculo micorrizógeno. *Plant and Soil.* 159, 123-132.
- Ferrera-Cerrato, R., González C. Ma. Del C y Rodríguez, M. Ma. De las N. 1993. *Manual de agromicrobiología.* Trillas, México. 53-90 pp.

- Ferrol N, Calvente R., Cano C., Barea J.M., Azcón-Aguilar. 2004. Analysing arbuscular mycorrhizal fungal diversity in shrub-associated resource islands from a desertification-threatened semiarid Mediterranean ecosystem. *Applied Soil Ecology*. 25:123-133pp.
- Finlay R. D. 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *J. Exp. Bot.* 59: 1115-1126
- Fitter A.H. y Hay R.K.M. 2002. *Environmental physiology of plants*. 2 edn. Academic Press, London.
- Flores C. y Cuenca G. 2004 Crecimiento y dependencia micorrízica de la especie pionera y polenectarífera *Oyedaea verbesinoides* (tara amarilla), *Asteraceae*. *Interciencia* vol. 29 número 11.
- García E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Tercera edición Indianápolis 30. México. 241p.
- García-Sánchez R. 2011. Diversidad funcional de los hongos micorrizógenos arbusculares de islas de recursos del Valle del Mezquital, Hidalgo. Tesis Doctoral Colegio de Postgraduados.
- García-Sánchez R. y Monroy-Ata A. 2005. Micrositios del pasto navajita (*Bouteloua gracilis*) en comunidades de pastizal y de matorral del antiplano mexicano. Vol 8 número 2.
- Garrido I., R. Díaz, M. Escalona, D. Trejo. 1998. Efecto de la endomicorriza y vermicomposta en plantas de Jamaica en semillero y campo. Resúmenes del II Symposium Nacional de la Simbiosis Micorrizica. Colima, México pp. 64.

- Gendermann J. W. 1975. Vesicular arbuscular mycorrhizae. En: The development and Function of Roots. Eds: Torrey J. C. y D. T. Clarkson. Academy Press. London. Pág. 575- 591.
- Genre A. 2008. Prepenetration apparatus assembly precedes and predicts the colonization patterns of arbuscular mycorrhizal fungi within the root cortex of both. *Medicago truncatula* and *Daucus carota*. Plant Cell 20: 1455-1466.
- González-Chávez C, Ferrera-Cerrato R. y Perez M.J. 1998. Biotecnología de la micorriza arbuscular en fruticultura. Universidad Autónoma de Veracruz y Colegio de Postgraduados. México. Pp. 131.
- González C.F. 2003. Influencia de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en el desarrollo de plántulas de *Opuntia streptacantha* Lem. Sometidas a sequia, en condiciones de invernadero. Tesis profesional de Biólogo. Fes Zaragoza, UNAM.
- Guzmán-Plazola R.A. y Ferrera-Cerrato R. 1990. La endomicorriza vesiculo-arbuscular en las leguminosas. Colegio de Postgraduados. Mexico. 119 pag.
- Guardiola P. R. and García E.R. 1991. Defining phosphorous efficiency in plants. Plant and Soil 155/156:289-292.
- Harley J.L. y Smith S.E. 1983. Mycorrhizal Symbiosis. Ed Academic Press. New York. 483 pp.
- Harrison M.J. 1999. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 50:361-389.

- Hernández-Cuevas L., Castillo A. S., Guadarrama C.P., Martínez O. Y., Romero R.M., Sánchez G.I. 2003. Hongos micorrizógenos arbusculares del Pedregal de San Ángel. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 2-15:84.
- Janos D. P. 2003. Mycorrhiza applications in tropical forestry: are temperate – zone approaches appropriate En: Trees and Mycorrhiza. Forest Research Institute Malaysia, Kuala Lumpur.
- Joner E.J. y Johansen A. 2000. Phosphatase activity of external hyphae of two arbuscular mycorrhizal fungi. Mycol. Res. 104:81-86.
- Koide R.T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. New Phytol. 117:365-386.
- Linderman R.G. 1992. Vesicular arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. Mycorrhizae in sustainable Agriculture. ASA Special Publication No. 54, Madison.
- Llu J. 2007. Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots Plant J. 50: 529-544.
- López M.L. 2007. Evaluación de 5 inóculos multiespecíficos de hongos producidos en el invernadero. Tesis de Licenciatura. Fes Zaragoza UNAM. 92pp.
- López R. J y López M. J. 1990. El diagnóstico de suelos y plantas: Métodos de campo y de laboratorio. 4ª edición. Ediciones Mundi-Prensa, España. P. 152.
- Luna C.L.A. 2005. Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) sobre el desarrollo de *Agave salmiana* (Agavaceae) y *Opuntia*

- streptacantha* (Cactaceae) en condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura Fes Zaragoza. UNAM.
- Marschner H. y Dell B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*. 159:89-102.
 - Marschner H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. New York: Academic Press. 2 edition, pp. 889.
 - Medrano C.H.I. 2002. Obtención de un inóculo endomicorrízico nativo para un agostadero semiárido degradado en Santiago de Anaya, Hidalgo. Tesis de Licenciatura UNAM.
 - Mengel K. y Kirkby E. A. 2001. *Principles of plant nutrition*. 5th Edition. Academic Publishers. E.U. pp. 849.
 - Miranda, R.J. 2003. Establecimiento y sobrevivencia de plantas de *Acacia schaffneri* inoculadas con Hongos Micorrizógenos Arbusculares en condiciones de invernadero y campo. Tesis de Licenciatura UNAM.
 - Montaña N.M. 2000. Potencialidad de Hongos Micorrizógenos Arbusculares de las Islas de Fertilidad del Mezquite (*Posopis laevigata*) de dos agostaderos semiáridos del Valle de Actopan, México Central, enfoque ecológico para recuperar la vegetación. Tesis de Licenciatura UNAM.
 - Monroy-Ata A, Estevez-Torres J. García S.R. y Ríos G. R. 2007. Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 80: 49-57

- Olsen S. R., Cole C. V. Watanabe F. S. and Dean L. A. 1954. Estimation of available phosphorous in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circ. 939 US Washington D. C.
- Ordinola A. M. I. S. 2005. Germinación y establecimiento de cuatro especies de leguminosas, bajo el efecto de micorrizas arbusculares, en condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura- UNAM.
- Parniske M. 2004. Molecular genetics of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Curr. Opin. Plant biology.* 7: 414-421.
- Pearson J.N. y Jakobsen Y. 1993. The relative contribution of hyphae and roots to phosphorus uptake by arbuscular mycorrhizal plants, measured by dual labeling with ^{32}P and ^{33}P . *New Phytol.* 124: 489
- Perrini R. 1990. Interactions between mycorrhizas and diseases caused by soil-borne fungi. *Soil use and Management* 6:189-195.
- Pfeffer P. E., Douds D.D., Bécard G. y Schachar-Hill Y. 1999. Carbon uptake and metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiol.* 120:587-598.
- Phillips J.M. and Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Journal Transactions of the British Mycological Society* Vol. 55 No. 1 pp. 158-161.
- Rao M. A. Gianfreda L., Palmeiro F. y Violante A., 1996. Interactions of acid phosphatase with clays, organic molecules and órgano-mineral complexes. *Soil science* 16 (11): 751-760.
- Read D.J. 1991 Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47: 376-391

- Requena N., Breuninger M., Franken P., y Ocon A. 2003. Symbiotic status, phosphate, and sucrose regulate the expression of two plasma membrane H⁺-ATPase genes from the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant Physiol.* 132:1540-1549.
- Remy W., Taylor T.N., Hass H. y Kerp H. 1994. 400 million year old vesicular-arbuscular mycorrhizae. (VAM). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 91:11841-11843.
- Rojas G.M. y Rovalo M. M. (1979). *Fisiología vegetal aplicada* 2^a edición. Ed. MacGraw-Hill, México. pp.147-179
- Rodríguez, F. 1996. *Fertilizantes Nutrición Vegetal* A.G.T. editor S.A. México, pp:70-91.
- Roig F.A. 1993. Informe Nacional para la Selección de Germoplasma en Especies de *Prosopis* en la Republica Argentina. IADIZA- CRICYT.
- Romheld V. y Marschner H. 1991. Functions of micronutrients in plants. In: Mortvedt, J.J., F.R. Cox, L.M. Shumman, R.M. Welch. Ed. *Micronutrients in Agriculture*. Madison Wisconsin, USA: SSSA. 2:297-328.
- Rzedowski J. 1983. *Vegetación de México*. Ed. Limusa. México.
- Rzedowski J. 1988. Análisis de la distribución geográfica del complejo *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae) en Norteamérica. *Acta botánica Mexicana*. 3:7-19.
- Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL). 1993. *Ordenamiento General del Territorio Nacional*. Instituto Nacional de Ecología.
- Simancas O.J.E. 2007. Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), de *Azospirillum brasilense* y de su interacción en el

- desarrollo de plántulas de *Agave salmiana* en condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura UNAM.
- Siqueira J. O. y Franco A. A. 1988. Biotecnología do solo. Fundamentos e Perspectivas. Mecosal-faepe-abeas. Brasilia, 235 pp.
 - Solaiman M.D.Z. y Saito M. 2001. Phosphate efflux from intraradical hyphae of *Gigaspora margarita* in vitro and its implication for phosphorous traslocation. *New Phytol.* 147: 357-366.
 - Smith S. E. and Read D. J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. London UK. Academic Press.
 - Smith F. A. y S. E. Smith. 1997. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytol.* 137: 373-388.
 - Snowball K. y Robson A. 1991. Carencias y toxicidades nutricionales que afectan al trigo. México, pp 1-25.
 - Strullu D.G. 1991. Les mycorrhizes des abres et plantes cultivees. Technique et Documentation. Lavosier. París.
 - Sylvia D.M. y Williams S.E. 2008. Micorrizae and enviromental stress. Bethlenfalvay, G. J. y R.G. Linderman Ed. Mycorrhizae in sustainable agricultura. Special publication No. 84 American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
 - Torres A. A. B. 2011. Establecimiento de plántulas de *Acacia schaffneri* inoculadas con Hongos Micorrízicos Arbusculares bajo dos tratamientos. Tesis de Licenciatura. FES- Zaragoza UNAM.
 - Varennes A. and Goss M.J. 2007. The tripartite symbiosis between legumes, rhizobia and indigenous mycorrhizal fungi is more efficient in undisturbed soil. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 2603-20607.

- Vargas V. C. A. 2011. Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) sobre el desarrollo de *Acacia farnesiana* (huizache) y *Mimosa biuncifera* (gatuño) en condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura. Fes Zaragoza UNAM.
- Valencia W., Sampaio P. y Souza L. 2010. Crecimiento inicial de Palo de Rosa (*Aniba rosaeodora* Duke) en distintos ambientes de fertilidad. Acta Amazónica 40: 693-698.
- Varela L, Trejo, D. 2001. Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. Acta Zool. México. Número especial. 1:39-51.
- Zandavalli R.B., Dillenburg L.R. and Souza P.D., 2004. Growth responses of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) to inoculation with the mycorrhizal fungus *Glomus clarum*. Applied Soil Ecology. 25:245-255.