





**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

---

---

**Centro Interdisciplinario de Investigación para el  
Desarrollo Integral Regional  
Unidad Michoacán**



---

---

**ESTUDIO DE LA SIMBIOSIS ENTRE SORGO Y HONGOS MICORRÍZICOS  
NATIVOS DE LA ZONA GEOTÉRMICA DE IXTLÁN DE LOS HERVORES  
MICHOACAN**

**TESIS:**

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN  
AGRÍCOLA SUSTENTABLE**

**PRESENTA:**

**LGA. ANDREA ZAMUDIO HERNÁNDEZ**

**Directores:**

**DRA. VALENTINA ANGOA PÉREZ**

**DR. JOSÉ LUIS HERNÁNDEZ MENDOZA**

**JIQUILPAN, MICHOACÁN, ENERO 2019**



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
*ACTA DE REVISIÓN DE TESIS*

En la Ciudad de Jiquilpan, Michoacán siendo las 12:00 horas del día 11 del mes de Enero del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Unidad Michoacán para examinar la tesis titulada:

""Estudio de la simbiosis entre sorgo y hongos micorrízicos nativos de la zona geotérmica de Ixtlán de los Hervores Mich.""

Presentada por el alumno:

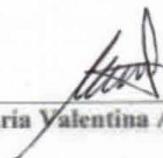
<u>Zamudio</u>	<u>Hernández</u>	<u>Andrea</u>							
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre							
Con registro:									
		<table border="1"> <tr> <td>B</td> <td>1</td> <td>6</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>8</td> <td>6</td> </tr> </table>	B	1	6	1	2	8	6
B	1	6	1	2	8	6			

aspirante de:

**Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable**

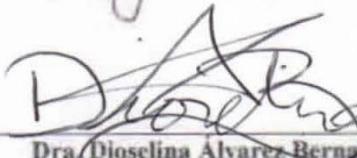
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

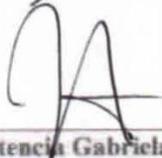
**LA COMISIÓN REVISORA**  
**Directores de tesis**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Maria Valentina Angoa Pérez**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. José Luis Hernández Mendoza**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. José Roberto Medina Medrano**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Dioselina Alvarez Bernal**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Hortencia Gabriela Mena Violante**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Hortencia Gabriela Mena Violante.**  
**PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES.**





## **INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

### **CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de Jiquilpan de Juárez Michoacán, el día 11 del mes de enero del año 2019, la que suscribe Andrea Zamudio Hernández alumna del Programa de Maestría en ciencias en Producción Agrícola Sustentable, con número de registro B161286, adscrita al C.I.I.D.I.R I.P.N. Unidad Michoacán, manifiesta que es la autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de los Dres. Ma. Valentina Angoa Pérez y José Luis Hernández Mendoza y cede los derechos del trabajo titulado Estudio de la simbiosis entre sorgo y hongos micorrízicos nativos de la zona geotérmica de Ixtlán de los Hervores Mich., al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso de la autora y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones, [vangoa@ipn.mx](mailto:vangoa@ipn.mx) ; [jluishdz@hotmail.com](mailto:jluishdz@hotmail.com). Y [andygirl\\_0307@hotmail.com](mailto:andygirl_0307@hotmail.com) Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

**Andrea Zamudio Hernández**

Nombre y firma

## **AGRADECIMIENTOS**

Infinitas gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca para la realización del posgrado.

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN) por brindarme su apoyo económico BEIFI.

Le doy infinitas gracias a Dios, por haberme dado valor para culminar esta etapa de mi vida.

Al CIIDIR IPN (Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional) unidad Mich., por permitirme realizar mis estudios de posgrado y sobre todo a los profesores investigadores que confiaron en mí, me apoyaron y me transmitieron sus conocimientos día con día.

A mis asesores la Doctora María Valentina Angoa Pérez y al Doctor José Luis Hernández Mendoza por brindarme su ayuda, apoyo y dirigirme en mi trayecto. Estoy muy agradecida.

A mis sinodales: Dra. Hortencia Gabriela Mena Violante, Dra. Dioselina Alvarez Bernal y Dr. José Roberto Medina Medrano por revisar mi tesis.

Al trabajo de la Mtra. Norma Cristina Rodríguez González y Elizabeth Fernández Rivera; al Dr. Edgar Villar por su apoyo en la identificación molecular de proyecto.

Al Centro de Biotecnología Genómica (CBG), IPN Unidad Reynosa, Tamaulipas por permitirme realizar mi estancia de investigación, y al laboratorio de Biotecnología Experimental donde realicé parte de la investigación; al Dr. Jesús Di Carlo Quiroz infinitas gracias por apoyarme y brindarme su ayuda con la identificación molecular del proyecto.

A mi padre por darme su confianza, apoyo y ayuda ante todo. Sé que está orgulloso de mí, y gracias a él he cumplido una meta más en mi vida.

Agradezco con todas mis fuerzas a mi madre que sin duda alguna en el trayecto de mi vida me ha demostrado su amor, confianza, apoyo y ha celebrado mis triunfos a pesar de la distancia.

A mis hermanos, que, aunque no siempre pude estar con ellos, siempre pusieron su fe y confianza en mí, al igual que siempre me han ayudado a afrontar los retos que se me han presentado gracias a sus consejos y cariño, los amo.

## **DEDICATORIA**

A DIOS por brindarme fe y sabiduría para continuar día con día mis estudios y por acompañarme todos los días, espero y lo siga haciendo.

A mis padres por confiar en mí y apoyarme durante todo este tiempo; a mis hermanos que creyeron en mí y jamás dejaron que me rindiera, los amo.

A la Doctora María Valentina Angoa Pérez, por confiar en mí, ayudarme y sobre todo por su paciencia. Al Dr. José Luis Hernández Mendoza por brindarme su ayuda, al igual al Dr. Jesús

Di Carlo Quiroz

A mi familia por todo su apoyo incondicional y a mi abuelita que, aunque ya no esté conmigo sé que está orgullosa y sigue cuidándome desde arriba.

Y sobre todo a mi amado esposo Juan José que ha puesto plena fe y confianza en mí y jamás desistió en apoyarme día con día, le dedico mi trabajo.

A todos los que me apoyaron para culminar mi trabajo de tesis, pues a ellos se los debo por su apoyo incondicional.

# Índice general

Resumen .....	1
Abstract.....	3
Capítulo I. Introducción.....	5
1.1    Fertilidad del suelo.....	8
1.2    Pérdida de fertilidad de los suelos y uso de fertilizantes minerales.....	9
1.2.1    Microorganismos como biofertilizantes y su importancia para uso en la agricultura.....	10
1.3    Hongos micorrízicos .....	11
1.3.1    Clasificación y características morfológicas de los hongos micorrízicos .....	13
1.3.2    Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) .....	17
1.3.3    Ciclo de vida.....	19
1.3.4    Formación de la simbiosis (hongo-planta) .....	20
1.4    Identificación de HMA .....	22
1.4    Justificación .....	26
1.5    Objetivos .....	27
1.5.1    Objetivo general .....	27
1.5.1.1    Objetivos específicos.....	27
Capítulo II. Materiales y métodos .....	28
2.1    Consortio de HMA de la región de Ixtlán de los Hervores Michoacán .....	28
2.2    Material biológico.....	30
2.2.1    Cuantificación de esporas de Hongos Micorrízicos.....	31
2.2.2    Cuantificación de colonización micorrízica por tinción de raíces .....	31
2.2.3    Desinfección y germinación de semillas de sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ).....	32
2.2.4    Evaluación del desarrollo de <i>Sorghum bicolor</i> inoculado con HMA .....	33
2.3    Extracción y cuantificación de glomalina.....	35
2.3.1    Glomalina de fácil extracción .....	35
2.3.2    Glomalina total o de difícil extracción.....	35
2.3.3    Cuantificación de proteínas por el método de Bradford .....	36

2.4. Análisis estadístico .....	36
Capítulo III. Resultados y discusión.....	37
3.1. Cuantificación de colonización micorrízica en plantas de Ixtlán .....	37
3.1.1 Cuantificación de esporas de HMA del suelo de Ixtlán .....	37
3.2. Evaluación del desarrollo de sorgo inoculado con HMA de Ixtlán .....	41
3.2.1. Cuantificación de esporas en suelo .....	41
3.2.2. Colonización de HMA en sorgo.....	44
3.2.3. Altura.....	49
3.2.4. Biomasa.....	52
3.2.5. Área foliar .....	58
3.2.6. Determinación de Glomalina en suelo .....	62
Capítulo IV. Conclusiones.....	70
V. Referencias .....	71

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Clasificación y características de los tipos de hongos micorrízicos (Rodríguez, 1989). .....	15
<b>Tabla 2.</b> Análisis del suelo de Ixtlán y Agrícola usados en el estudio.....	29
<b>Tabla 3.</b> Número total de esporas en suelos de Ixtlán en diferente época de muestreo.....	39
<b>Tabla 4.</b> Número de esporas de color amarillo en suelo de Ixtlán en diferente época de muestreo .....	39
<b>Tabla 5.</b> Número de esporas de color naranja en suelo de Ixtlán en diferente época de muestreo .....	40
<b>Tabla 6.</b> Número de esporas de color transparente en suelo de Ixtlán en diferente época de muestreo. ....	40
<b>Tabla 7.</b> Número total de esporas en suelo de plantas de sorgo a los 20 días de trasplante .....	42
<b>Tabla 8.</b> Número total de esporas de suelo de plantas de sorgo a los 40 días de trasplante .....	43

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Diferencias de crecimiento de raíces en planta colonizada por hongos micorrízicos. .....	12
<b>Figura 2.</b> Representación esquemática de endo y ectomicorizas..	13
<b>Figura 3.</b> Diferentes tipos de infección de micorizas.	14
<b>Figura 4.</b> Clasificación taxonómica de Glomeromycota	16
<b>Figura 5.</b> Ciclo de vida de los HMA.....	19
<b>Figura 7.</b> Ubicación del municipio de Ixtlán de los Hervores en Michoacán.	28
<b>Figura 8.</b> Venero del Salitre, Ixtlán de los Hervores, Michoacán.	29
<b>Figura 9.</b> Muestreos, Ixtlán de los hervores, Mich.	30
<b>Figura 10.</b> Semillas de sorgo.	32
<b>Figura 11.</b> Germinación de semillas de sorgo	33
<b>Figura 12.</b> Tinción de raíces de plantas de la rizósfera en Ixtlán de los hervores Mich.,	37
<b>Figura 13.</b> Esporas identificadas de acuerdo a su morfología.	38
<b>Figura 14.</b> Porcentaje de colonización de raíces de sorgo con HMA a los 20 días de trasplante.....	45
<b>Figura 15.</b> Porcentaje de colonización de raíces de sorgo con HMA a los 40 días de trasplante.....	46
<b>Figura 16.</b> Porcentaje de arbuscúlos en raíces de sorgo con HMA a los 40 días de trasplante. .....	48
<b>Figura 17.</b> Porcentaje de vesículas en raíces de sorgo con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas.....	49
<b>Figura 18.</b> Altura de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante.	50
<b>Figura 19.</b> Altura de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante.	51
<b>Figura 20.</b> Biomasa fresca de follaje de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante.....	52
<b>Figura 21.</b> Biomasa fresca del follaje de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante.....	53
<b>Figura 22.</b> Biomasa seca del follaje de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante.....	54

<b>Figura 23.</b> Biomasa seca del follaje de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante.....	55
<b>Figura 24.</b> Biomasa fresca de las raíces de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante.....	56
<b>Figura 25.</b> Biomasa fresca de las raíces de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante.....	56
<b>Figura 26.</b> Biomasa seca de las raíces de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante.....	57
<b>Figura 27.</b> Biomasa seca de las raíces de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante.....	58
<b>Figura 28.</b> Área foliar de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante. .	59
<b>Figura 29.</b> Área foliar de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante. .	61
<b>Figura 30.</b> Concentración de glomalina de rápida extracción de suelos de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante.....	63
<b>Figura 31.</b> Concentración de glomalina de rápida extracción de suelos de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante.....	64
<b>Figura 32.</b> Concentración de glomalina de lenta extracción de suelos de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante.....	65
<b>Figura 33.</b> Concentración de glomalina de lenta extracción de suelos de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante.....	66

## Resumen

Una alternativa sustentable para la producción agrícola es el empleo de biofertilizantes de origen microbiano como los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA). Estos organismos son capaces de proporcionar diversos beneficios a las plantas con las que se asocian, tales como: su capacidad para inducir la tolerancia a condiciones de estrés ambiental como salinidad del suelo, sequía e intervenir en el control de patógenos. Algunas de las especies que se han empleado en diversos trabajos en los que se ha reportado el papel de los HMA para soportar condiciones de estrés son provenientes de zonas con ambientes extremos, tal como: desiertos, suelos salinos y zonas geotérmicas. Se hipotetiza que especies de HMA nativos, adaptados a esas condiciones, pueden asociarse con sorgo (*Sorghum bicolor*) y proporcionarle beneficios para su desarrollo. Por lo antes mencionado, el objetivo de estudio fue determinar la capacidad de asociación de HMA provenientes de suelo rizosférico de la zona geotérmica de Ixtlán de los Hervores, Mich. con sorgo y promoción del desarrollo de la planta. Los HMA se obtuvieron del área de estudio en diferente época del año (marzo, junio y noviembre). Las esporas se separaron en tres colores: (blancas y transparentes (T), amarillas (A) y anaranjadas y cobrizas (N). Adicionalmente se extrajeron esporas de HMA de un suelo agrícola en el que se cultivó sorgo por varias temporadas consecutivas. Se inocularon 10 esporas por planta de sorgo de 8 días de edad del color y fecha de muestreo respectivo, las cuales fueron crecidas en una mezcla estéril de peatmoss y agrolita (1:1 v: v). Cada tratamiento constó de 12 repeticiones, 6 de las cuales se cosecharon a los 20 días después del trasplante y el resto a los 40 días. Las plantas se regaron cada tercer día y se mantuvieron en invernadero hasta su cosecha. Se realizó el conteo de esporas, colonización de raíces por los HMA, altura, área foliar, cuantificación de biomasa fresca y seca del follaje y raíces del sorgo y contenido de glomalina del suelo. Además, se realizaron análisis de pH, conductividad eléctrica, contenido de P, N y K del suelo de Ixtlán y el de las plantas de sorgo. El número de esporas presentes en el suelo de Ixtlán en el mes de junio fue mayor al encontrado en los meses de marzo y noviembre y similar al encontrado en el suelo agrícola. El porcentaje de colonización de las plantas inoculadas con los HMA de los tres grupos de colores en los tres periodos de colecta

osciló de 59 a 82 % en las plantas cosechadas a los 20 días de trasplante y del 93 al 100 % en las cosechadas a los 40 días. La altura de las plantas cosechadas a los 20 días fue mayor en el tratamiento de esporas amarillas colectadas en noviembre y a los 40 días el de esporas transparentes colectadas en junio y noviembre. La biomasa fresca del follaje de plantas de los 20 días fue significativamente mayor en los tratamientos con esporas amarillas de marzo, amarillas de noviembre, naranja de noviembre y transparentes de marzo. Para los 40 días, presentaron cambios, ya que los tratamientos con mayor biomasa fueron nuevamente amarillas de marzo y transparentes de marzo, junio y noviembre. En la biomasa seca de follaje a los 20 días, el tratamiento con mayor biomasa fue el de noviembre con esporas amarillas, y a los 40 días el tratamiento de junio con esporas transparentes presentó la mayor biomasa. En cuanto a la biomasa fresca de la raíz de plantas de sorgo a los 20 días, el tratamiento que mayor biomasa fresca presentó fue el de esporas amarillas de noviembre y a los 40 días el tratamiento de marzo con esporas transparentes. La biomasa seca de las raíces de sorgo a los 40 días fue mayor con esporas transparentes de marzo y noviembre. El área foliar de las plantas a los 20 días fue mayor con esporas amarillas de noviembre. A los 40 días el tratamiento con esporas transparentes de noviembre y junio. La concentración de glomalina de rápida extracción en los suelos de plantas a los 20 días osciló de 8.5 a 9.6  $\mu\text{g/mL}$ . Los tratamientos que mayor concentración presentaron fueron los de noviembre con esporas naranjas, marzo amarillas y el suelo agrícola. La concentración a los 40 días osciló de 8.1 a 8.9  $\mu\text{g/mL}$ . El tratamiento que mayor concentración presentó fue el de noviembre con esporas naranjas. La concentración de Glomalina de Difícil Extracción a los 20 días osciló entre los 7.3 a 9.7  $\mu\text{g/mL}$  y fue mayor en el tratamiento con esporas transparentes de marzo; las más bajas fueron las encontradas en los suelos de Ixtlán en los diferentes tiempos de colecta. La concentración a los 40 días osciló entre los 7.3 a 9.9  $\mu\text{g/mL}$ , y fue mayor en el tratamiento con esporas naranjas y amarillas de marzo. La inoculación de las plantas de sorgo con las esporas de los HMA obtenidos de Ixtlán tienen un efecto positivo en diferentes parámetros evaluados, lo que puede traducirse en mayor biomasa, altura de planta, área foliar y glomalina. También, lo que resalta es la capacidad de los HMA de adaptarse a condiciones totalmente diferentes a las reinantes en los puntos geotérmicos de Ixtlán de los Hervores. Eso preconiza la posibilidad de empleo de estos hongos en la inoculación de este cultivo.

## Abstract

A sustainable alternative for agricultural production is the use of biofertilizers of microbial origin such as the Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF). These organisms are able to provide various benefits to the plants with which they are associated, such as: their ability to induce tolerance to environmental stress conditions such as soil salinity, drought and intervene in the control of pathogens. Some of the species that have been used in various works in which the role of AMF has been reported to withstand stress conditions are coming from areas with extreme environments, such as: deserts, saline soils and geothermal areas. It is hypothesized that native AMF species, adapted to these conditions, can be associated with sorghum (*Sorghum bicolor*) and provide benefits for its development. For the aforementioned, the objective of the study was to determine the association capacity of HMA from rhizospheric soil in the geothermal zone of Ixtlan de los Hervores, Mich. with sorghum and promotion of the development of the plant. The AMF were obtained from the study area at different times of the year (March, June and November). The spores were separated into three colors: (white and transparent (T), yellow (A) and orange and coppery (N).) Additionally, AMF spores were extracted from an agricultural soil in which sorghum was grown for several consecutive seasons. Inoculated 10 spores per plant of 8-day-old sorghum of the respective color and date of sampling, which were grown in a sterile mixture of peatmoss and agrolita (1: 1 v: v) Each treatment consisted of 12 repetitions, 6 which were harvested 20 days after the transplant and the rest at 40 days. The plants were irrigated every third day and were kept in the greenhouse until harvesting. The spores were counted, colonization of roots by the HMA, height, foliar area, quantification of fresh and dry biomass of the foliage and roots of sorghum and soil glomalin content, in addition, pH, electrical conductivity, P, N and K content of the soil of Ixtlan and the plants were analyzed. The number of spores present in the soil of Ixtlan in the month of June was greater than that found in the months of March and November and similar to that found in agricultural land. The percentage of colonization of the plants inoculated with the AMF of the three groups of colors in the three collection periods ranged from 59 to 82 %

in the harvested plants 20 days after transplant and from 93 to 100% in the harvested plants. 40 days. The height of the harvested plants at 20 days was higher in the treatment of yellow spores collected in November and at 40 days the height of transparent spores collected in June and November. The fresh biomass of the foliage of plants of the 20 days was significantly greater in the treatments with yellow spores of March, yellow of November, orange of November and transparent of March. For the 40 days, they presented changes, since the treatments with the highest biomass were again March yellow and transparent in March, June and November. In the dry biomass of foliage at 20 days, the treatment with the highest biomass was that of November with yellow spores, and at 40 days the treatment of June with transparent spores presented the highest biomass. As regards the fresh biomass of the root of sorghum plants at 20 days, the treatment with the highest fresh biomass was that of yellow spores in November and at 40 days the treatment of March with transparent spores. The dry biomass of sorghum roots at 40 days was higher with transparent spores of March and November. The leaf area of the plants at 20 days was higher with November yellow spores. After 40 days, the treatment with transparent spores of November and June. The rapid extraction of glomalin concentration in the plant soils at 20 days ranged from 8.5 to 9.6  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . The treatments with the highest concentration were those of November with orange spores, yellow margins and agricultural soil. The concentration at 40 days ranged from 8.1 to 8.9  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . The treatment with the highest concentration was that of November with orange spores. The Glomalin concentration of Difficult Extraction at 20 days ranged between 7.3 to 9.7  $\mu\text{g} / \text{mL}$  and was higher in the treatment with transparent spores of March; the lowest were found in the soils of Ixtlan in the different collection times. The concentration at 40 days ranged between 7.3 to 9.9  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , and was higher in the treatment with orange and yellow spores in March. The inoculation of the sorghum plants with the spores of the AMF obtained from Ixtlan has a positive effect on different parameters evaluated, which can translate into greater biomass, plant height, leaf area and glomalin. Also, what stands out is the capacity of the AMF to adapt to conditions totally different from those prevailing in the geothermal points of Ixtlan de los Hervores. This suggests the possibility of using these fungi in the inoculation of this crop.

## Capítulo I. Introducción

En muchos países, la erosión del suelo está superando con creces la reposición natural de nutrimentos (Pimentel, 2006; Oliver y Gregory, 2015; Tully *et al.*, 2015). Por ello, la existencia de comunidades microbianas capaces de ayudar al uso eficiente de recursos escasos para la planta, capaces de establecer alianzas entre cultivos agronómicos y suelo, como es el caso de los hongos micorrízicos, podrían ayudar a resolver estos problemas (Andrews *et al.*, 2012; Denison, 2012).

El estudio de las micorrizas cada vez tiene mayor relevancia dentro de la agricultura dado los múltiples beneficios que estos le proporcionan a las plantas hospederas: como biofertilizantes, para facilitar la nutrición y enraizamiento de la planta extendiendo la rizósfera para mayor captación de nutrientes del suelo y mejorar sus propiedades; biocontrol, para protección de la planta contra patógenos que afecten su sistema radical, esto ha tenido especial atención en el manejo de las mismas (Alarcón y Ferrera, 2000; Gosling *et al.*, 2006; Ellouze *et al.*, 2014; Köhl y Van der Heijden, 2016; Rodríguez y Sanders, 2015).

Del mismo modo, estos tienen las características de ser agentes biorreguladores del crecimiento, por tanto, incrementan la resistencia a estrés hídrico y salino, así como también, ayudan a mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas que intervienen en el funcionamiento y características del suelo, como los agregados, la estabilidad y / o la capacidad de retención de agua en el suelo entre otras (Alarcón y Ferrera, 2000; Mardhiah *et al.*, 2016; Wilson *et al.*, 2009; Willis *et al.*, 2013; Zhu y Miller, 2003).

Por otro lado, la inoculación de las plantas con hongos micorrízicos arbusculares (HMA), provoca de manera general, un marcado incremento en los procesos de absorción y traslocación de nutrientes como: N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Mo, Fe, Mn, etc. La presencia de

micorrizas en los suelos, moviliza una gran cantidad de nutrientes que antes no estaban a disposición de las plantas, por lo que incrementa la fertilidad de éstos (Van Der Heijden, *et al.* 2015).

Sin embargo, una planta micorrizada adquiere mayor resistencia a las toxinas que pueda haber en el suelo y en el ambiente; por ejemplo, se ha comprobado en suelos afectados por los metales pesados que las plantas micorrizadas poseen mayor resistencia, gracias a la capacidad que obtiene para inmovilizar los metales en la raíz, impidiendo que éstos pasen a la parte aérea de la planta (Morales, 2007).

Se han realizado estudios que demostraron que estos hongos presentan diferencias en su capacidad para colonizar las plantas (infectividad) y su efectividad en la promoción del crecimiento, lo cual ha hecho necesario el estudio de la ecología de dichas asociaciones. Sin embargo, estos estudios se han visto limitados por la dificultad para identificar de manera precisa los hongos presentes y el desconocimiento sobre la afinidad de la planta por uno o varios de estos hongos (Hernández y Chailloux, 2001). El interés reciente en la ecología de las micorrizas arbusculares se ha centrado en la distribución espacial de las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y la especificidad y la funcionalidad de las interacciones de la planta con HMA.

Hay indicios de que la diversidad y distribución de HMA en el suelo dependen de las propiedades del suelo tales como: el nivel freático, la textura del suelo o la química del mismo, además de las preferencias de plantas anfitrionas para HMA. Sin embargo, las interacciones específicas de especie no siempre ocurren, lo que sugiere que las comunidades HMA pueden ser más específicas para grupos funcionales de plantas que para especies de plantas individuales. Además, la interacción entre HMA y plantas genera retroalimentaciones que influyen en la diversidad de especies de las comunidades fúngicas y, en última instancia, de las comunidades vegetales. Por lo tanto, la comunidad de HMA que colonizan las raíces de las plantas depende de la planta hospedante, la disponibilidad local de inóculos y de las retroalimentaciones de la planta-HMA (Martínez-García y Pugnaire, 2011).

Por consiguiente, las micorrizas son una alternativa eficiente para ayudar a la planta en condiciones de estrés hídrico y salino, problema que ha llevado a los agricultores que se vean

con la necesidad de emplear cada vez más agroquímicos que solo deterioran el medio ambiente, la salud humana y el suelo (Altieri, 2013; Sarabia, *et al.*, 2010).

Por tal motivo, se requiere realizar más investigaciones en las que se genere conocimiento sobre las comunidades de HMA de zonas nativas en condiciones de estrés donde su ambiente está en constante cambio biótico y abiótico. La complejidad y diversidad de comunidades microbianas del suelo continúa impulsando la discusión y debate sobre las ventajas relativas de cada grupo funcional microbiano, tanto en ecosistemas nativos como en agroecosistemas (Rousk y Frey, 2015; Bender *et al.*, 2016).

En este trabajo se pretende conocer si los HMA presentes en un área geotérmica con alta salinidad, pH bajo, baja disponibilidad de nutrientes y clima semiárido, son capaces de interactuar de manera eficiente con un cultivo de interés agrícola como el sorgo (*Sorghum bicolor*). En este sentido, el sorgo resultó atractivo como cultivo modelo dado que también está siendo usado para el estudio de la genética funcional de variedades mejoradas ya que los conocimientos adquiridos al estudiarlo son fácilmente transferibles a otros cultivos (Paterson *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2011) Adicionalmente, su tolerancia a la sequía lo hace importante para el futuro de la seguridad alimentaria (Hadebe *et al.*, 2016). Interesantemente, Cobb *et al.* (2016), reportaron que los genotipos modernos de sorgo dependen en mayor grado de los fertilizantes sintéticos más que de los socios microbianos presentes en el suelo. Estos autores consideran crítico evaluar no solo el rendimiento de grano y la calidad de genotipos de sorgo, sino también su influencia en las comunidades microbianas del suelo (especialmente los hongos HMA), ya que estas pueden ser clave para Sostenibilidad agrícola (Cobb *et al.*, 2016; Cobb *et al.*, 2017). Adicionalmente, debido a que el sorgo utiliza una vía fotosintética C4, y dado que se ha demostrado que las gramíneas C4 son simbioses obligados con HMA (Wilson y Hartnett, 1998), se tiene mayor probabilidad de que los HMA puedan interactuar con la planta, generando conocimiento sobre la capacidad de colonizar las raíces de las plantas y producción de propágulos en el suelo, así como también, el efecto de los HMA nativos para proporcionar beneficio como biofertilizante a cultivos de interés.

Por lo anterior, *Sorghum bicolor* fue sembrado e inoculado con los HMA nativos, clasificados de acuerdo al color de sus esporas, lo cual pudiese implicar la existencia de diferentes especies. También se determinó su capacidad para colonizar la gramínea de interés, permanencia en el suelo agrícola (resistencia en el medio), los beneficios que aportan al cultivo, además de información sobre cuáles de los grupos de esporas de HMA muestran más afinidad para establecer la simbiosis con la planta.

Para cumplir con el objetivo planteado, se estudió la relación hospedero-simbionte, la infectividad y la afinidad entre HMA-Gramínea, colectados de una zona geotérmica del municipio de Ixtlán de los Hervores, Michoacán.

## **1.1 Fertilidad del suelo**

La fertilidad del suelo puede ser definida como la capacidad del mismo para suministrar a las plantas agua y nutrientes esenciales para su crecimiento y desarrollo. Sin embargo, la sola presencia de los elementos nutritivos no nutre a la planta, sino que estos deben ser retenidos durante cierto tiempo, para evitar su pérdida, y puestos a disposición de los vegetales. Estos, por su parte, deben absorberlos y metabolizarlos, gracias al agua, el oxígeno del suelo y el desarrollo radicular (Bernal, 2013; Cerisola, 2015).

Por otra parte, existen factores que pueden determinar la fertilidad del suelo como: a) Factores físicos que condicionan el desarrollo del sistema radicular y su aporte hídrico, entre los que se encuentran la textura (Arena, arcilla y limo), estructura, porosidad, aireación, capacidad de retención hídrica, estabilidad de agregados, etc. b) Factores químicos, que se refieren a la reserva de nutrientes y su aporte a las plantas mediante intercambio de cationes (suelo-planta), el pH, materia orgánica del suelo, macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S), micronutrientes (B, Fe, Mo, Mn, Zn, Cu, Na y Cl), y sus formas químicas en el suelo que condicionan su biodisponibilidad. c) Factores biológicos, que están determinados por la actividad de los microorganismos del suelo, los cuales utilizan la materia orgánica como sustrato y fuente de energía, interviniendo en la producción de enzimas, ciclo del carbono (C) y del nitrógeno (N),

transformaciones biológicas de nutrientes y procesos de humificación y mineralización (Bernal, 2013).

La capacidad del suelo para retener ciertos elementos nutritivos depende de su capacidad de intercambio catiónico (CIC), la cual está condicionada por el contenido de arcilla y humus. Por lo tanto, la actuación directa para CIC, es conservar o aumentar la fertilidad del suelo, y consiste en aportar materia orgánica, que es la fuente del humus (Cerisola, 2015).

## **1.2 Pérdida de fertilidad de los suelos y uso de fertilizantes minerales**

La producción agrícola en cualquier sitio representa la interacción del suelo y factores meteorológicos, sistemas de cultivo, operaciones de siembra y labranza, uso de productos químicos (formulaciones, dosis, localización, tiempo y método de aplicación), irrigación (métodos de aplicación, calidad del agua, cantidad, frecuencia de aplicación) y métodos de cosecha y disposición de residuos (López, 2002).

Por consiguiente, lo anterior tiene relación con la pérdida de fertilidad del suelo que ha sido un problema para la agricultura en la actualidad, ya que el deterioro del mismo se debe en parte a la erosión debida a la eliminación de la cubierta vegetal por el sobrepastoreo o el movimiento constante del suelo, también a la compactación por maquinaria agrícola, reducción del contenido de materia orgánica, lo cual han afectado a la estructura y por tanto la composición del mismo; de la misma manera los plaguicidas, herbicidas y fungicidas tienen un efecto directo en el deterioro de la biodiversidad. Estos factores que ocasionan la degradación, afectado la productividad y fertilidad del suelo hacen que disminuya el rendimiento agrícola, y debido a estas condiciones, el productor requiere emplear cada vez más fertilizantes minerales para mantener los mismos rendimientos (Maass y García, 1990). Por ello el uso de fertilizantes minerales se ha vuelto indispensable para incrementar la fertilidad de los suelos y ayudar a los cultivos agrícolas para su crecimiento, desarrollo y producción.

De igual manera, las actividades de producción agrícola han impactado los sistemas naturales afectando los procesos de transporte (erosión hídrica y eólica, escurrimiento superficial, infiltración del agua en el suelo) y transformación (química, física y biológica). Los procesos ambientales que se señalan como responsables del transporte de sustancias químicas usadas en

la agricultura son: el desvío hacia la atmósfera en el momento de la aplicación, la volatilización y evaporación, atrape y suspensión por el viento de partículas de suelo con sustancias químicas adsorbidas, también el arrastre de partículas y sustancias químicas por escorrentía, interflujo en el agua superficial, lavado o percolación profunda a través del suelo por debajo de la zona de raíces a los acuíferos subterráneos, absorción de sustancias químicas por las plantas y remoción durante la cosecha (López, 2002).

Con lo anterior, queda claro que el uso excesivo de fertilizantes minerales ha ocasionado un serio problema relacionado con el medio ambiente y la salud humana, ya que son ampliamente reconocidos como contaminantes que afectan la calidad del agua y función del ecosistema natural impactando negativamente por la escorrentía de nutrientes (Daigle, 2003). Adicionalmente, el uso de estos insumos, ha aumentado los costos para los agricultores dados los gastos para la explotación, producción y transporte de los mismos. La agricultura es esencial para la manutención de la población, sin embargo, debe realizarse tomando las medidas necesarias para la preservación del medio ambiente. Es por ello que se han desarrollado alternativas naturales eficientes, necesarias para la producción agrícola, como el empleo de biofertilizantes con el fin de reducir el uso de fertilizantes químicos de manera parcial o total y a su vez generar rentabilidad. El uso de esta alternativa amigable podría mitigar el problema de contaminación ambiental, por lo que podría cobrar más fuerza en la agricultura actual (Audelo y Irizar, 2012; Ellouze *et al.*, 2014).

### **1.2.1 Microorganismos como biofertilizantes y su importancia para uso en la agricultura**

La importancia que tienen los biofertilizantes en la naturaleza es más evidente en la agricultura ya que satisfacen las necesidades de los cultivos, por ello se tiene la necesidad de adoptar la utilización de microorganismos como biofertilizante porque juegan un papel sustancial como una alternativa para la sustitución parcial o total de los fertilizantes minerales. Entre el grupo de biofertilizantes, se encuentra el de los microorganismos (bacterias u hongos), que viven asociados o en simbiosis con las plantas y ayudan a su proceso natural de nutrición, favoreciendo la captación de los minerales esenciales (N, P, K, entre otros), permitiéndole a la

planta un mejor desarrollo radicular, así como también la fijación de nitrógeno atmosférico (N<sub>2</sub>), solubilización de elementos minerales, o la mineralización de compuestos orgánicos (Grageda *et al.*, 2012; SAGARPA, 2013).

La diversidad microbiana es el principio para la búsqueda de microorganismos con una actividad fisiológica específica. De este modo, se asegura que el beneficio que los microorganismos pueden proveer a sus hospedantes sea rápidamente visible. Éstos se encuentran de forma natural en suelos que no han sido afectados por el uso excesivo de fertilizantes minerales u otros agroquímicos, que disminuyen o eliminan sus poblaciones (Morales, 2007).

En términos generales, los biofertilizantes más difundidos se basan en HMA y bacterias rizosféricas, que establecen relaciones con una gran diversidad de plantas y en diversos suelos. Estos HMA juegan un papel clave en los ecosistemas terrestres, ya que influyen en la estructura del suelo y en la multifuncionalidad de los ecosistemas (Zamudio, 2016).

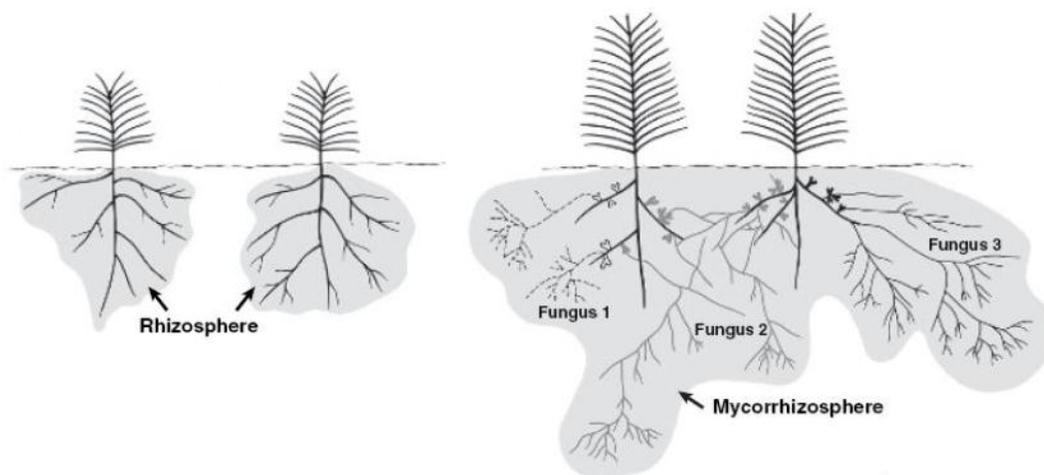
Según Van Der Heijden *et al.* (2015), hacen mención que hasta el 80% del N y P de la planta es proporcionado por los HMA y muchas especies de plantas dependen de estos simbiontes para el crecimiento además de la supervivencia las estimaciones sugieren que hay cerca de 50,000 especies de HMA que forman asociaciones con cerca de 250,000 especies de plantas. A continuación, se muestra una breve descripción de los HMA y su importante papel como biofertilizantes.

### **1.3 Hongos micorrízicos**

Existe una gran diversidad de plantas y hongos que forman micorrizas de forma natural, en donde el componente fúngico puede pertenecer al grupo de los ascomicetos, basidiomicetos y glomeromycota (Schüssler, *et al.*, 2001; Kosuta, *et al.*, 2003). El término micorriza fue acuñado por el botánico alemán Albert Bernard Frank en 1885 y procede del griego *mykos* que significa hongo y *rhiza* que significa raíz, definiendo así la asociación simbiótica entre el micelio de un hongo y las raíces de un vegetal (Grageda *et al.*, 2012). Los hongos que forman las asociaciones son conocidos como simbiontes biótrofos obligados, lo que quiere decir que

sólo pueden completar su ciclo de vida colonizando raíces de plantas hospederas. Este tipo de asociación simbiótica posee efecto biofertilizante y bioprotector de cultivos (Carvajal y Mera, 2010).

Dicha asociación simbiótica también es conocida como mutualista, porque tanto el hongo como la planta hospedera se benefician, ya que el hongo tiene la capacidad de penetrar las raíces, anclarse y extenderse hacia el suelo para el intercambio de nutrientes y reservas (transportan varios elementos del suelo al interior de la planta huésped, entre ellos fósforo, zinc y cobre cuya disponibilidad para las plantas es limitada) (Figura 1). El hongo simbionte recibe carbohidratos de la planta ya que él es incapaz de realizar fotosíntesis y, a cambio, le brinda a la planta varios beneficios reflejados en su crecimiento (Reyes, 2011).

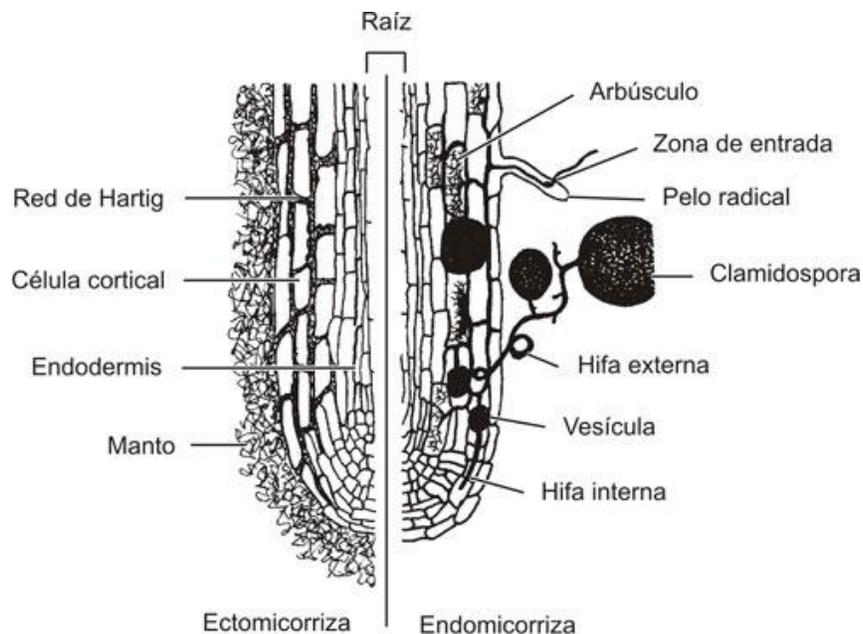


**Figura 1.** Diferencias de crecimiento de raíces en planta colonizada por hongos micorrízicos (Tomado de Mohammadi, et al., 2011).

Del mismo modo, estos hongos tienen la característica de ser agentes biorreguladores del crecimiento vegetal, por lo que incrementan la resistencia a estrés hídrico y salino; actúan como agentes de biocontrol para la protección de la planta contra patógenos que afecten su sistema radical, lo que ha tenido especial atención en el manejo de plagas y enfermedades (Alarcón y Ferrera, 2000).

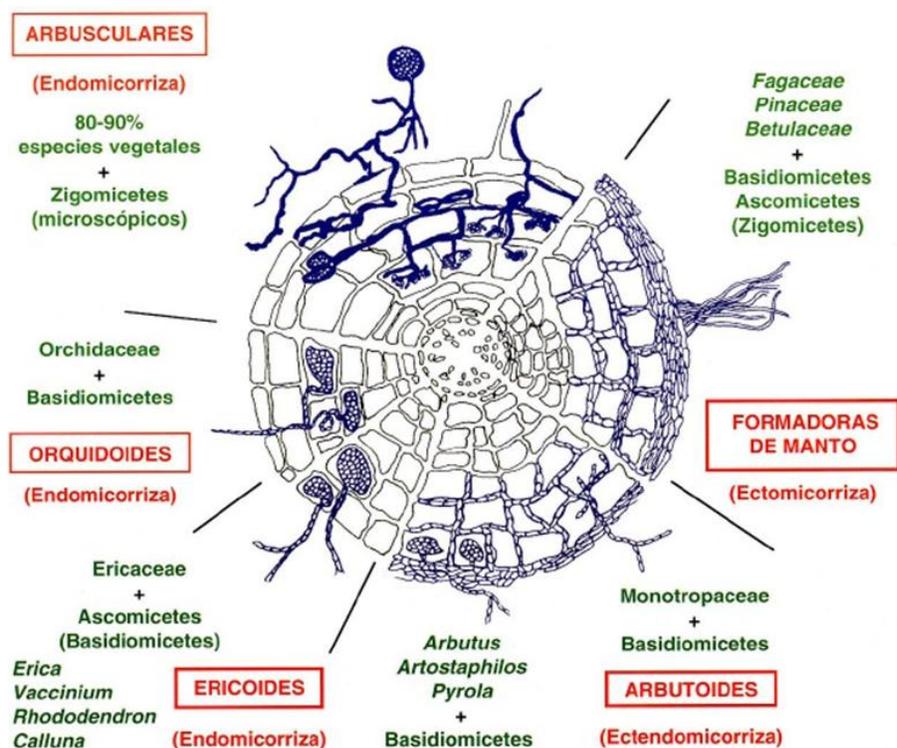
### 1.3.1 Clasificación y características morfológicas de los hongos micorrízicos

En la naturaleza, cada tipo de micorriza se presenta en un ecosistema o ambiente edáfico particular y, en ocasiones, con familias de plantas específicas. En la figura 2 se muestran las diferencias entre ectomicorriza y endomicorriza de acuerdo a su estructura, morfología, modo de infección. Las ectomicorrizas se distinguen porque sus hifas no penetran en las células de la raíz, sino que la cubren situándose en los intersticios entre ellas. Se observa a simple vista formando una red llamada Red de Hartig. Este tipo es el que predomina en los árboles de zonas templadas como: hayas (*Fagus sylvatica* L), robles (*Cuercus robur* L.), eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y pinos (*Pinus sylvestris*) (Rodríguez, 1989). Por otro lado, las endomicorrizas no poseen manto externo que se ve a simple vista, pues se introducen en las células de la raíz formando vesículas alimenticias y arbuscúlos. Por eso se les conoce como micorrizas vesículo-arbusculares. Estas micorrizas se dan en todo tipo de plantas, sobre todo en las gramíneas, pues abundan en los suelos pobres de praderas y estepas (Shalini, *et al.*, 2000).



**Figura 2.** Representación esquemática de endo y ectomicorrizas. (Tomado de <http://www.asturnatura.com/articulos/hongos/liquenes-micorrizas.php>, 2015 ).

Basándose en las características morfológicas de la infección, se distinguen cinco tipos de micorrizas: formadores de manto (ectomicorriza), arbutoides (ectendomicorriza), ericoides (endomicorriza), orquidoides (endomicorriza) y vesículo-arbusculares (endomicorriza) (HMA) (Salamanca y Solís, 1998). Las cuales se pueden observar en la figura 3.



**Figura 3.** Diferentes tipos de infección de micorrizas (Tomado de Arriagada, et al., 2001).

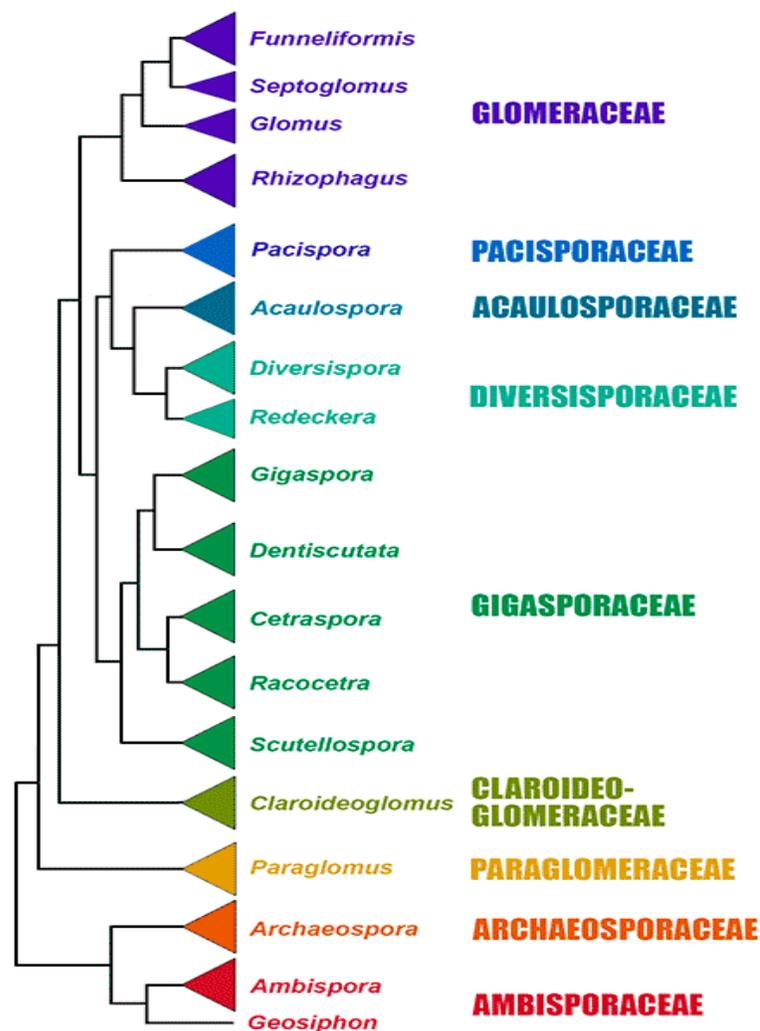
Por ejemplo, la micorriza ericoide predomina en suelos localizados en altas latitudes y elevadas altitudes de clima frío; en plantas de la familia *Ericaceae*, las especies ectomicorrizógenas predominan en ecosistemas forestales con gran acumulación de materia orgánica, ubicados en latitudes y altitudes intermedias, de clima templado-frío, principalmente con gimnospermas, y la micorriza arbuscular prevalece en comunidades de clima cálido seco, cálido húmedo y templado-frío, dominadas por herbáceas y leñosas, en suelos minerales de

bajas latitudes (Camargo, *et al.*, 2012). De igual manera, las micorrizas se pueden definir como simbiosis biotróficas de hongos con sistemas radiculares de vegetales herbáceos, arbustivos o arbóreos (Rodríguez, 1989). Una clasificación más detallada se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1.** Clasificación y características de los tipos de hongos micorrízicos (Rodríguez, 1989).

Tipos de micorrizas					
Denominación		Características	Planta huésped	Hongos que la forman	
Clásica	Actual				
Ectotróficas	Formadoras de manto (shearing)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Forman manto que cubre la raíz.</li> <li>- Hifas sólo intercelulares que forman la red de Hartig.</li> <li>- Hongo de Micelio septado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Betulaceae</i></li> <li><i>Fagaceae</i></li> <li><i>Pinaceae</i></li> <li><i>Eucaliptus</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Agaricaceae</i></li> <li><i>Boletaceae</i> y otros</li> </ul>	
	Vesículo arbusculares (VA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Desarrollo mayoritario del hongo dentro de la raíz.</li> <li>- Hifas externas no formadoras de manto.</li> <li>- Micelio no septado, salvo en hifas viejas.</li> <li>- Hifas inter e intracelulares: las intracelulares no forman red de Hartig, las intracelulares forman arbuscúlos y vesículas.</li> </ul>	Se han encontrado en la mayoría de las plantas que viven en la corteza terrestre.	Ficomicetos microscópicos pertenecientes a la familia <i>Endogonaceae</i>	
Endotróficas (Ectendotróficas)	Ericácea	Ericoides	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rudimento de manto.</li> <li>- Hifas inter e intracelulares: las intracelulares forman masas compactas que pueden ser lisadas o digeridas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Ericaceae</i></li> <li><i>Epacridaceae</i></li> <li><i>Empetraceae</i></li> </ul>	Ascomicetos
		Arbutoides	<ul style="list-style-type: none"> <li>- No se forman vesículas ni arbuscúlos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Ericaceae</i></li> <li><i>Pyrolaceae</i></li> <li><i>Monotropaceae</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Arbutus</i></li> <li><i>Arctostaphylos</i></li> <li><i>Boletus</i></li> </ul>
	Orquidáceas		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Forman manto.</li> <li>- Hifas intra e intercelulares: las intercelulares no forman red de Hartig.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Ericaceae</i></li> <li><i>Pyrolaceae</i></li> <li><i>Monotropaceae</i></li> </ul>	
			<ul style="list-style-type: none"> <li>- La planta huésped tiene un periodo de su ciclo de vida heterótrofo durante el cual, para sobrevivir, necesita ser infectado por un hongo micorrízico.</li> <li>- La infección del huésped por el hongo puede evolucionar a micorriza o parasitismo.</li> </ul>	<i>Orchidaceae</i>	Basidiomicetos

Cabe mencionar, que se han descrito aproximadamente 160 grupos taxonómicos de HMA del orden Glomales (*Glomeromycota*), los cuales se han clasificado con base en la morfología de las esporas, aunque los análisis moleculares demuestran que existe mayor cantidad (Johansson, *et al.*, 2004). Por otro lado la clasificación más estudiada es la del phylum *Glomeromycota*. En la figura 4 se muestra la clasificación con sus diferentes géneros y familias.



**Figura 4.** Clasificación taxonómica de *Glomeromycota* (Tomado de <http://invam.wvu.edu/the-fungi/classification>, 2017).

### 1.3.2 Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA)

Dentro del grupo de hongos capaces de formar micorriza, los más distribuidos y estudiados son aquellos conocidos como Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA). Los HMA son simbiontes biótrofos obligados, así como cenocíticos multinucleados, se reproducen asexualmente produciendo esporas que germinan sólo en presencia de la planta hospedera, pero tienen una diversidad de hospederos y una distribución extremadamente amplia; pueden ser hallados en briofitas (musgos), pteridofitas (helechos), gimnospermas (plantas sin flores) y angiospermas (plantas con flores). Se estima que cerca de 90% de las especies vegetales pueden tener endomicorrizas arbusculares, 5% ectomicorrizas, 3% otra forma de micorrización y el resto son plantas poco conocidas (ecológica o bioquímicamente) o son plantas sin micorrización (Gardezi, *et al.*, 2000). Se ha probado que la diversidad de HMA presentes en el suelo, determinan la variabilidad de un ecosistema, su productividad y su biodiversidad vegetal (Van der Heijden, *et al.*, 1998; Koide y Dickie, 2002). Pertenecen a la clase Zigomicetes dentro del orden Glomales y se caracterizan por poseer una fase extraradical (en el suelo) con hifas, esporas, células auxiliares y esporocarpos; y otra intraradical, donde son capaces de formar hifas inter e intracelulares, arbusculos y vesículas (Smith y Read, 1997; Bécard, *et al.*, 2004). Los tipos de estructuras internas que se desarrollen dependen de la combinación de planta/hongo (Parniske, 2008).

Se sabe que durante la simbiosis el hongo penetra en las paredes de las células corticales de la raíz en forma de haustorios (estructuras del hongo que sirven para absorber o intercambiar nutrientes, también conocidas como hifas), formando estructuras ramificadas (arbusculos) dentro del citoplasma del hospedador, por tanto, los arbusculos son estructuras que dan nombre a este tipo de hongo que proporcionan un aumento de la superficie durante el intercambio metabólico directo entre la planta y el hongo. Los arbusculos tienen vida relativamente corta, menos de 15 días y éstos se desintegran en el suelo cuando muere la raíz de la planta. Algunos HMA también producen vesículas, que son estructuras que funcionan como órganos de almacenamiento (Johansson *et al.*, 2004), y cuando la planta concluye su ciclo de vida las vesículas se preparan para dejar las raíces de la misma y se guardan para colonizar otra planta.

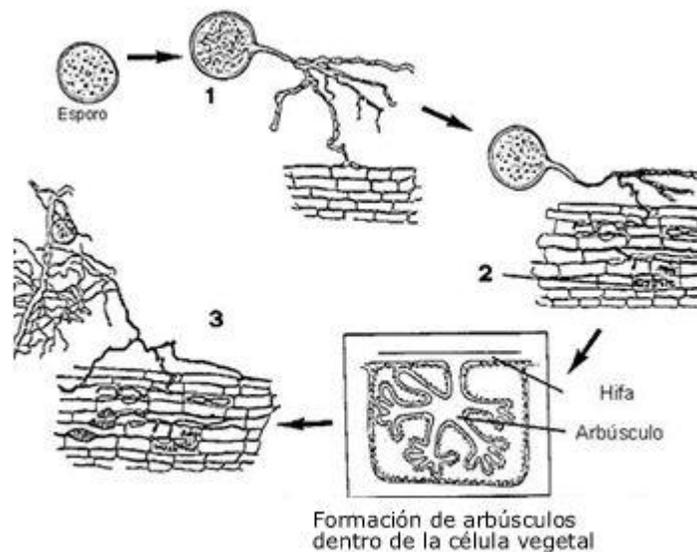
Por otra parte, en los HMA el micelio incrementa el área de absorción de la raíz de la planta hasta en 100 veces y, por lo tanto, tienen mayor contenido de micro y macro nutrientes. En general, las plantas micorrizadas presentan un incremento en las tasas fotosintéticas, mayor tolerancia a la sequía y salinidad. De igual manera es notorio que se incrementa la tolerancia de la raíz a patógenos y la captación de metales pesados en suelos contaminados (Carreón, *et al.*, 2008).

Generalmente, el principal beneficio que el HMA le proporciona a la planta durante la simbiosis es la absorción de los nutrientes inmóviles del suelo en particular el fósforo; las asociaciones de HMA aumentan la acumulación de nitrógeno en los tejidos vegetales, y como resultado las hifas comienzan a competir por la mineralización del nitrógeno orgánico que se encuentra en el suelo, además, estos hongos comienzan a interactuar con otros organismos que también participan en procesos metabólicos importantes, por ejemplo, la fijación biológica del nitrógeno por *Rhizobium* en leguminosas (Mohammadi, *et al.*, 2008).

Por tanto, la utilización de insumos químicos, pueden dañar las poblaciones de hongos micorrízicos del suelo, y esto sería un indicador del descenso del equilibrio del sistema planta-suelo (Blanco y Salas, 1997). Es por ello que el proceso de colonización del hongo realiza alteraciones fisiológicas, bioquímicas, morfológicas y estructurales (Barea, *et al.*, 2000), que benefician y proporcionan a la planta un mayor incremento del crecimiento y absorción de nutrimentos (Jeffries y Barea, 1994), así como la inducción diferencial de sistemas enzimáticos (Rodríguez, *et al.*, 2002), como la capacidad de la planta para superar condiciones de estrés, tanto biótico, como abiótico (Ruiz, *et al.*, 1996; Azcón y Barea, 1997; Leyval, *et al.*, 1997; Mena, *et al.*, 2006), de tal manera que incrementan la resistencia al trasplante (Jeffries y Barea, 2001), mejora las propiedades físico-químicas del suelo (Requena, *et al.*, 2001; Bronick y Lal, 2004); además de que benefician la estructura y diversidad de las comunidades vegetales (Van der Heijden, 2004) y facilitan la sustitución vegetal o rotación de cultivo (Sanders, *et al.*, 1996). A continuación, se describe como comienzan a reproducirse los HMA y su ciclo de vida.

### 1.3.3 Ciclo de vida

El ciclo de vida de los HMA comienza con una espora de tipo asexual, producida en la punta de la hifa o en algunos casos dentro de la raíz, dependiendo de la especie; cuando la espora madura se separa de la hifa y se dispersa. Si la espora es producida en el suelo, puede ser dispersada por el viento, agua u otros organismos y sin las plantas las esporas pueden sobrevivir por algunos años (Smith y Read, 1997). Las esporas contienen grandes cantidades de lípidos y cientos de núcleos, responden a la presencia de raíces de la planta propiciándose la germinación de la misma. Una vez germinada la espora, se promueve el crecimiento de la hifa hacia los pelos radicales de la raíz de la planta hospedera y al estar en contacto con ésta se desarrolla un apresorio, que funciona como punto de unión en la superficie de la raíz (Figura 5) (Carreón *et al.*, 2008).



**Figura 5.** Ciclo de vida de los HMA: (1) interacción de la hifa con la raíz, (2) extensión de hifa dentro de la raíz y (3) formación de arbusculos dentro de las regiones vasculares

(Tomado de

<http://www.agro.uba.ar/agro/ced/microbiologia/clases/micorrizas/clase/clase3.htm>, 2017).

### 1.3.4 Formación de la simbiosis (hongo-planta)

La simbiosis requiere el desarrollo coordinado del hongo y de la planta y se asume que requiere de un intercambio de señales. Se ha demostrado que los exudados de la raíz estimulan el crecimiento y la ramificación de las hifas. Se ha sugerido que las bajas concentraciones de ciertos flavonoides/isoflavonoides, que son componentes importantes de algunos exudados de la raíz de la planta, son también capaces de promover crecimiento hifal (Giovannetti, *et al.*, 1993; Nair, *et al.*, 1991).

Las raíces de la planta lanzan “factores de ramificación” (BFs por sus siglas en inglés) que inducen respuestas morfológicas y citológicas en las hifas fúngicas (Buée, *et al.*, 2000). Alternadamente, las hifas producen los factores myc que conducen a la inducción transcripcional de genes relacionados a la simbiosis en la raíz del hospedero (Kosuta *et al.*, 2003; Andreas y Martin, 2006).

La intensidad de la infección de la raíz por hongos puede estar regulada por el hospedero en diversos niveles durante el proceso de colonización (Novero, *et al.*, 2002); entre ellos se encuentran: nutrición de la planta y fertilización, plaguicidas, intensidad luminosa, humedad del suelo, pH y susceptibilidad de la planta; sin embargo, algunos estudios han encontrado que existen diferencias intraespecíficas en la respuesta de la planta a la inoculación con HMA. De igual manera, se ha reportado que morfotipos de la misma especie de HMA colectados de diferentes sitios confieren diferente beneficio fisiológico a la misma especie de planta, por ejemplo, pueden presentar diferencias interespecíficas de efectividad para absorber fósforo, entre otros nutrientes y traslocarlos a la planta (Parniske, 2008; Díaz, *et al.*, 2013).

De igual manera, la respuesta de la planta puede variar en función del grado de dependencia entre los endófitos y la planta hospedante, así como al grado de colonización. También se señala que la actividad fúngica representa un costo para la planta, ya que le proporciona carbohidratos al hongo. Lo anterior confirma que existen diferencias en la relación costo/beneficio cuando se emplean cepas de diferentes ambientes, se ha comprobado que los conceptos de infectividad y efectividad no están relacionados dado que el establecimiento entre la colonización no inducirá necesariamente mayores efectos sobre el desarrollo, se pueden encontrar HMA que colonicen raíz en menor cantidad y muestren buenos efectos en la

nutrición de la planta. Así como también la variación de las condiciones ambientales influye en la fisiología de las plantas y por lo tanto en la colonización micorrízica, ya que, no todas las estructuras fúngicas estén activas (Tapia-Goné, *et al.*, 2010).

Así mismo, los factores que deben considerarse en la eficiencia de los HMA son la capacidad que tiene para resistir en el medio donde se encuentran, la infectividad y capacidad de dispersión por lo que algunas veces las condiciones de infectividad y efectividad del hongo micorrízico dependen no solo del simbiote, sino también de las condiciones ambientales, lo que aumenta la importancia de seguir realizando estudios con propósito de seleccionar cepas eficientes (Tapia-Goné *et al.*, 2010).

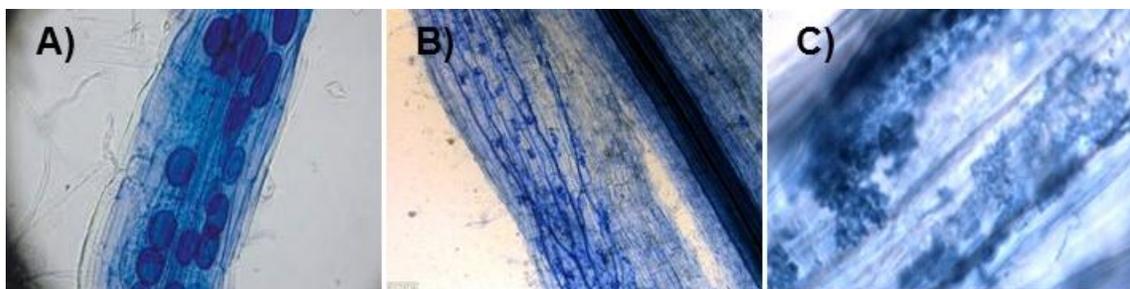
Sin embargo, este proceso debe manejarse adecuadamente, ya que puede darse el caso de que, bajo ciertas condiciones ambientales, la simbiosis micorrízica, usualmente considerada como mutualista puede convertirse en parasítica (Johnson, *et al.*, 1997). Este proceso también está influenciado por la concentración de nutrientes y por las interacciones con otros organismos (Tiunov y Scheu, 2005).

No obstante, la selección de un hongo micorrízico requiere la verificación de su efectividad en términos de promoción del crecimiento de la planta, lo cual no necesariamente está relacionado con el grado de colonización del hospedero (Sanders y Fitter, 1992), pero sí con su capacidad para competir con la comunidad de hongos nativos y/o su compatibilidad con diferentes tipos de suelos (Bethlenfalvay, 1992), sin dejar de lado la capacidad de respuesta diferencial de las plantas a la colonización por hongos micorrizógenos. Este fenómeno de “preferencia” también ha sido observado en plantas cultivadas sometidas a una alta concentración de fertilizantes y pesticidas, donde se encontró que, el manejo de las especies, regula el grado de respuesta de las éstas a la colonización (Koide *et al.*, 1988; Khalil, *et al.*, 1994). Todo lo anterior, permitiría en un plazo corto, que la alta fertilización disminuya como resultado de los beneficios derivados de la simbiosis (Peoples, *et al.*, 2001).

## 1.4 Identificación de HMA

Tomando en consideración las diferencias, en cuanto a la capacidad para colonizar las plantas y su efectividad en la promoción del crecimiento entre diferentes especies de hongos micorrízicos e incluso entre individuos de una misma especie, se ha vuelto necesario el estudio de la biología y ecología de dichas asociaciones micorrízicas. Sin embargo, estos estudios han estado limitados por la dificultad para identificar de manera precisa a los HMA presentes (Merryweather y Fitter, 1998).

Respecto a la caracterización de HMA se han empleado diversos métodos, los más utilizados son aquellos basados en las características morfológicas de las esporas, tales como: forma, tamaño, color, número de paredes, grosor, etc. Sin embargo, la principal desventaja de este método estriba en que las esporas pueden ser morfológicamente similares entre diferentes especies de HMA y varían dependiendo del estado de madurez. De igual manera, éste método no resulta adecuado cuando se trata de identificar al simbionte dentro de la raíz (Walker y Trappe, 1992), ya que diferentes especies de HMA pueden colonizar una misma planta en condiciones de campo (Wright y Morton, 1989), sin embargo, esto se puede observar por el método de tinción de raíces (Figura 6) (Phillips y Hayman, 1970); por otra parte, esta técnica es de escaso valor taxonómico (Brundrett, *et al.*, 1996; Merryweather y Fitter, 1998), ya que no se han encontrado diferencias claras en las estructuras formadas (arbúsculos y vesículas) por las diferentes especies de hongos.



**Figura 6.** Tinción de raíz de micorrizas con azul de tripano: A) Tinción de raíz, se observa las vesículas dentro de las células de la planta y las hifas; B y C) Tinción de raíz de plantas donde se aprecia los arbúsculos y vesículas colonizando los ases vasculares (tomado de

*http://www.efa-dip.org/comun/publicaciones/FTecnicas/Download/49ok%20micorizasarbusculares.pdf.,*  
2015)

Tomando en consideración las dificultades en la identificación de estos hongos a partir de los métodos clásicos, en la actualidad se ha incrementado el uso de técnicas moleculares para determinar las especies de las poblaciones activas dentro de las raíces, que constituyen alternativas más rápidas sensibles y confiables, mismas que incluyen, tanto el estudio de marcadores bioquímicos basados en la generación de patrones electroforéticos isoenzimáticos (Hepper, *et al.*, 1986), como la detección inmunoquímica (Sanders y Fitter, 1992).

Los marcadores bioquímicos basados en la generación de patrones electroforéticos isoenzimáticos son más eficientes que los morfológicos, ya que por lo general permiten distinguir genotipos homocigóticos de heterocigóticos, pues una de sus características es la de presentar codominancia de los alelos de un mismo locus, lo cual constituye una ventaja sobre los descriptores morfológicos que en la mayoría de los casos son de carácter dominante (Marker y Moller, 1995). No obstante, debe considerarse que las proteínas, siendo un producto de la expresión génica, pueden ser afectadas cualitativa y cuantitativamente en su nivel de expresión por factores ambientales, por ello deben identificarse los estados de desarrollo del HMA durante los cuales la proteína es estable.

Por su parte, las técnicas de inmunolocalización como ELISA, que han sido utilizadas para la caracterización (Wright y Morton, 1989), se basan en la especificidad de la reacción antígeno-anticuerpo, en la cual un anticuerpo reconoce al antígeno y se combina sólo con la porción que le dio origen. A pesar de que es una técnica aplicada para la identificación, presenta algunas limitaciones tales como: necesidad de obtener previamente el antisuero de un animal inmunizado utilizando soluciones purificadas para dar el antígeno. Aunque la sensibilidad es excelente, los métodos inmunológicos raramente superan el problema de especificidad más allá del nivel de subgénero (Wilson y Thirck, 1983). Los antisueros reaccionan fuertemente con su antígeno homólogo, pero algunos pueden tener reacción cruzada a antígenos heterólogos presentes en HMA (Aldwell, *et al.*, 1983). Por otra parte, anticuerpos específicos a antígenos de esporas muchas veces producen resultados negativos en presencia de hifas infectivas únicamente (Wright y Morton, 1989), por lo tanto, esto permite identificar y

distinguir entre las hifas de HMA relacionados como no relacionados con la planta hospedera (Jason, *et al.*, 1996).

Otra opción es el uso de ácidos nucleicos amplificados por la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), la cual consiste en obtener copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un fragmento original o molde, esta técnica se ha convertido en una herramienta popular y de gran alcance para la identificación y cuantificación de los HMA. Utilizando oligómeros de ácidos nucleicos conocidos técnicamente como “primers” específicos para ciertos hongos, por medio de esta técnica pueden amplificarse secuencias únicas de regiones de ADN fúngico que codifican para algunas regiones específicas tales como las subunidades del rARN (rADN) (Simon Bousquet, *et al.*, 1993).

Otra técnica conocida para la identificación de HMA es la hibridación fluorescente *in situ* (FISH por sus siglas en inglés), la cual se emplea para determinar los núcleos provenientes de las esporas *Scutellospora castanea*, ya que se ha demostrado que una población de núcleos genéticamente diferentes coexiste en este hongo individual y es una de las características de los HMA (presencia de esporas unicelulares vegetativas que contienen varios cientos a miles de núcleos) y sobre todo desarrollaron la capacidad de contener muchos genomas divergentes (Feddermann *et al.*, 2007; Parniske, 2008; Redecker, 2000).

La metagenómica se apoya de las técnicas moleculares; entre dichas estrategias destacan los SSCPs (Polimorfismo de la conformación de cadena sencilla) por sus siglas en inglés, técnica que tiene su fundamento en la conformación de la cadena sencilla del ADN ya que aun cuando las secuencias sean muy similares la conformación que toman será muy distinta debido a que difieren en algunas bases y aun siendo diferentes en una sola base tomarán una conformación diferente lo que provoca que al momento de separarlas en un gel se desplazarán diferente velocidad y se posicionen en diferentes puntos del mismo gel y así se pueda identificar a los organismos presentes en la muestra (Estrada, *et al.*, 2005).

La identificación de manera más específica y precisa de los HMA permitirá la realización de experimentos para conocer a mayor profundidad la complejidad de las interacciones de estos microorganismos con otros presentes en la rizósfera de las plantas hospederas ya que el nicho generado por el suelo, aporta gran complejidad. Además, existe una necesidad urgente de

estudiar estos organismos, no sólo intentando descubrir el número de especies, sino también caracterizando el papel que estas simbiosis juegan en el funcionamiento de los ecosistemas (Tilman, *et al.*, 1996; Read, 1998).

Por esta razón, se han buscado métodos que permitan el trabajo en laboratorio y la disminución de variables que interfieran. En este sentido, existen reportes que indican que la diversidad de (HMA) presente en un suelo puede depender de múltiples factores entre los que destacan las propiedades del mismo como: cantidad de agua, textura, propiedades físicoquímicas, y la planta hospedera (Helgason, *et al.*, 2007; Scheublin, *et al.*, 2007) con la cual no siempre se presentan interacciones entre la planta y el hongo (Martínez-García, *et al.*, 2011; Opick, *et al.*, 2009), sugiriendo que las comunidades de HMA pueden ser más específicas a grupos funcionales de plantas que a especies individuales (Scheublin, *et al.*, 2004). Además, la interacción entre HMA y plantas genera fenómenos de retroalimentación que influyen la diversidad de especies de comunidades fúngicas y finalmente de comunidades de plantas (Castelli y Casper 2003; Martínez-García y Pugnaire, 2011).

Cabe señalar que estos organismos multinucleados presentan dificultades en identificar su especie por los diferentes genomas que presenta una sola espora ya son organismos heterocariontes y que incluso su genoma puede variar de una espora a otra.

Se tiene conocimiento que la diversidad de HMA se puede evaluar mediante microscopía en análisis de la morfología de las esporas o métodos moleculares. Sin embargo, la producción de esporas depende en gran medida de las condiciones ambientales y del estado fisiológico y la estrategia de vida del hongo micorrízico particular. Los métodos moleculares permiten la identificación de la comunidad simbiótica que actualmente coloniza las raíces de una planta individual en un momento dado. La mayoría de los estudios moleculares recientes han usado cebadores específicos para HMA para genes de RNAr codificados nuclearmente (ADNr). Sin embargo, la identificación de HMA en la especie o incluso el nivel de aislamiento se complica por la heterogeneidad del ADNr dentro de las esporas de glomeromicota y aislados. Varios autores han demostrado que diferentes variantes de genes de ADNr coexisten dentro de esporas de HMA individuales. Por lo tanto, se recomienda un enfoque conservador en la evaluación de los análisis filogenéticos, por ejemplo, definiendo un grupo de secuencias monofiléticas bien soportadas como un filotipo de HMA (Sýkorová *et al.* 2007).

## 1.4 Justificación

En la actualidad se han realizado investigaciones con HMA comerciales y de ambientes agrícolas, evaluando su capacidad de colonización de las plantas y promoción del desarrollo y los beneficios reportados en la literatura de estos en distintos hospederos demostrando su eficiencia y capacidad de promover beneficios a la diversidad de plantas de importancia agrícola; sin embargo, no hay información sobre la capacidad de los HMA nativos de zonas geotérmicas para establecer la simbiosis con plantas de interés agrícola, debido a que están adaptados a condiciones ambientales distintas, tales como las de la región geotérmica de Ixtlán, con suelos salinos, pH ácido y baja disponibilidad de nutrientes, además se encuentran temperaturas del agua de los veneros superiores a los 60° C. por lo tanto, se pretende conocer las interacciones que pueden llegar a tener con una gramínea de interés agrícola como el sorgo crecido en condiciones de invernadero, en distinto suelo y con condiciones ambientales distintas. Por tal motivo se consideró generar conocimiento de las interacciones que pueden llegar a tener con una gramínea de interés agrícola como el sorgo crecido en condiciones de invernadero, en distinto suelo y con condiciones ambientales distintas. Cabe señalar que se usó al sorgo como planta modelo debido a la afinidad de los HMA que muestran con las gramíneas, las cuales son regularmente usadas como plantas trampa para la multiplicación de dichos hongos, ya que se ha reportado que las condiciones ambientales (pH, suelo), la planta hospedera y la misma especie de HMA llagan influir en las respuestas para relacionarse en su entorno.

## **1.5 Objetivos**

### **1.5.1 Objetivo general**

Determinar la capacidad de asociación y promoción del desarrollo de hongos micorrízicos provenientes de suelo rizosférico de la zona geotérmica de Ixtlán de los Hervores, Mich. en plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*).

#### **1.5.1.1 Objetivos específicos**

1. Conocer la capacidad infectiva de los HMA nativos de Ixtlán en la asociación con sorgo
2. Conocer la respuesta del sorgo a la inoculación con los HMA nativos de Ixtlán

## Capítulo II. Materiales y métodos

El desarrollo experimental del presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR, IPN Unidad Michoacán), ubicado en Jiquilpan, Michoacán y del Centro de Biotecnología Genómica (CBG), IPN Unidad Reynosa, en Tamaulipas.

### 2.1 Consorcio de HMA de la región de Ixtlán de los Hervores Michoacán

El área de muestreo fue la zona geotérmica “El salitre” ubicado en Ixtlán de los Hervores, Michoacán, con coordenadas  $20^{\circ}10'$  de latitud norte y  $102^{\circ}23'27''$ , a una elevación aproximada de 1550 msnm (Figura 7).



*Figura 7. Ubicación del municipio de Ixtlán de los Hervores en Michoacán (Ramos, 2012).*

Se realizó el análisis de suelo en los distintos meses de muestreo y también del suelo agrícola usado como control, usando los métodos: (Nom-021-RECNAT-2000, Método AS-02, Nom-021-RECNAT-2000, Método AS-18, Kjeldhal, Nom-021-RECNAT-2000, Método AS-10 y Nom-021-RECNAT-2000, Método AS-12) (Tabla 2). Los venteros cerca de donde se tomó muestra alcanzan temperaturas en la superficie del agua desde 48 a 94 °C (Figura 8).

**Tabla 2.** Análisis del suelo de Ixtlán y Agrícola usados en el estudio.

<b>MUESTRA</b>	<b>pH</b>	<b>Conductividad eléctrica (dS/m)</b>	<b>Fósforo aprovechable (mg Kg<sup>-1</sup> de suelo)</b>	<b>Nitrógeno total (%)</b>	<b>Potasio C mol (+) Kg<sup>-1</sup></b>
<b>Marzo</b>	5.4	8.07	72.73	0.0326	7.21
<b>Junio</b>	6.2	6.8	72.48	0.0326	5
<b>Noviembre</b>	4	8.41	216.6	0.0326	4.26
<b>Agrícola</b>	5.4	0.64	18.15	0.014	1.15



**Figura 8.** Venero del Salitre, Ixtlán de los Hervores, Michoacán.

Posteriormente se realizaron los mismos análisis para el sustrato empleado en el crecimiento de las plantas de sorgo a los 20 y 40 días después del trasplante (DDT). Se realizaron los siguientes análisis: pH y conductividad eléctrica (CE) de acuerdo a la norma: Nom-021-RECNAT-2000, por el método AS-02; fósforo aprovechable de acuerdo a la norma: Nom-021-RECNAT-2000, método AS-10; y potasio por la norma: Nom-021-RECNAT-2000, método AS-12.

## 2.2 Material biológico

Se emplearon HMA recolectados de la rizósfera de plantas de la zona geotérmica de Ixtlán de los Hervores, Michoacán, el muestreo se realizó en 3 épocas del año 2017: marzo (periodo de estío o muy cambiante), junio (periodo donde inician lluvias) y noviembre (periodo de templado a frío) para determinar variaciones en cantidad de esporas de acuerdo al periodo del año (figura 9); de igual manera se recolectaron raíces de las plantas de la zona para verificar su colonización por HMA.



**Figura 9.** Muestras de los veneros, Ixtlán de los hervores, Mich. Correspondientes a marzo(a), junio (b) y noviembre (c).

### **2.2.1 Cuantificación de esporas de Hongos Micorrízicos**

El procedimiento se realizó por la técnica de tamizado en húmedo y decantación de Gederman y Nicholson (1963) modificada, que permite estimar poblaciones de hongos micorrízicos presentes en suelo rizosférico. Se tomó una muestra de suelo de 150 g la cual se colocó en un vaso de precipitado con agua destilada hasta saturar el suelo, dejándolo reposar 10 min. Una vez transcurridos, se tamizó la muestra con malla de 178, 78 y 45 micras, dejando la arcilla más fina en la malla de menor tamaño.

El suelo del último tamiz, se recuperó en tubos para centrifuga (50 mL) y se le inyectaron 5 mL de una solución saturada de glucosa y también se usó  $ZnSO_4$  (sulfato de zinc), luego se centrifugó a 3500 rpm durante 8 min. Posteriormente se recuperó el sobrenadante, el cual se filtró en una membrana de nylon de 0.45  $\mu$ m la cual, se colocó entre porta y cubreobjetos para el conteo de las esporas presentes, separándolas por color, tamaño, tipo y/o forma. Se contaron al menos 8 puntos de referencia distribuidos en la membrana, obteniendo el promedio y multiplicándolo por los gramos de suelo de la muestra por analizar, de ahí se multiplicó por 20 para obtener el número de esporas por Kg de suelo. Las muestras se trabajaron en el microscopio estereoscópico y se contabilizó en el microscopio bacteriológico (compuesto).

### **2.2.2 Cuantificación de colonización micorrízica por tinción de raíces**

La cuantificación de colonización micorrízica se realizó a partir de las raíces de las plantas nativas de la zona geotérmica y las de plantas de sorgo; estas se lavaron con agua corriente, luego se cortaron en segmentos de 1 cm de longitud y se colocaron los fragmentos en microtubos de 2.5 mL por cada muestra; posteriormente, se les adicionó KOH (hidróxido de potasio) al 10 % hasta cubrir totalmente y se colocaron en un vaso de precipitados con agua calentándola a 95 °C por 10 min. Después se decantó el hidróxido de potasio y se hicieron varios lavados de las raíces con agua bidestilada estéril hasta que el agua quedara clara. Se adicionó  $H_2O_2$  (peróxido de hidrógeno) puro durante 1-3 min (el tiempo dependió del contenido lignocelulósico de las raíces), esto para eliminar compuestos fenólicos. Transcurrido este tiempo, se agregó ácido clorhídrico al 0.1 N durante 30 segundos, al cabo de los cuales se

extrajo todo el ácido de los tubos y se agregó azul de Tripiano al 0.05 % en etanol y se colocó en un vaso de precipitados con agua a 95 °C durante 10 min. Posteriormente, se retiró el colorante y se adicionó solución de lactoglicerol hasta cubrir las raíces. Finalmente se montaron 5 segmentos de la raíz sobre una gota de lactoglicerol en un portaobjetos, cubriéndolos posteriormente con un cubreobjetos y realizando una ligera presión para romper las raíces y poder visualizar con mayor claridad las estructuras fúngicas (Phillips y Hayman, 1970). Las preparaciones se observaron en un microscopio compuesto marca Karl Zeiss a 40X.

### **2.2.3 Desinfección y germinación de semillas de sorgo (*Sorghum bicolor*)**

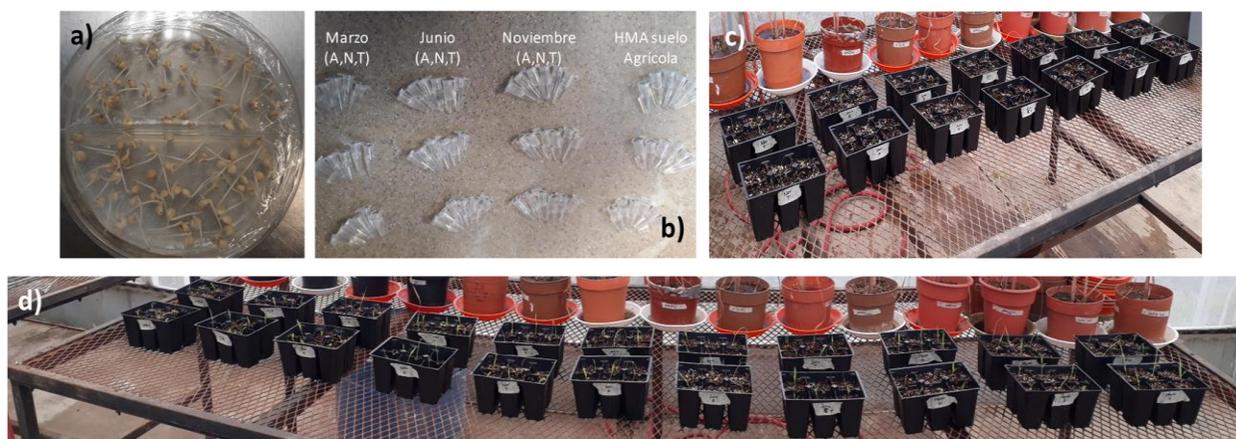
Las semillas de sorgo comercial fueron adquiridas con un proveedor; dado que estaban recubiertas con un antifúngico, se lavaron con agua estéril y jabón para eliminar todo el producto, después se remojaron en hipoclorito de sodio al 10 % durante 3 min y se enjuagaron con agua destilada estéril, para proceder a dejar por 2 min en HCl al 0.1 N se enjuagaron con agua bidestilada estéril. Para su germinación, se colocaron en cajas Petri con agua estéril y se guardaron dentro de bolsas de plástico para favorecer un microambiente durante 8 días.



***Figura 10. Semillas de sorgo.***

## 2.2.4 Evaluación del desarrollo de *Sorghum bicolor* inoculado con HMA

Para evaluar el desarrollo de las plantas de sorgo se realizó el experimento empleando una mezcla de peatmoss y agrolita (1:1 v: v), el cual fue esterilizado en la autoclave a 120 °C durante 1 h. Adicionalmente se desinfectaron las charolas de vivero con 6 espacios de 250 g cada uno en el cual se le colocaron las plántulas de sorgo de 10 días de crecimiento, y se les inocularon 10 esporas de los colores y fechas de muestreo respectivos (Figura 11).



**Figura 11.** a) Germinación de semillas de sorgo, b) separación de esporas de HMA por color y temporada de muestreo, c) plantación de las plantas de sorgo en semilleros y d) colocación de plantas de sorgo en invernadero.

Los tratamientos utilizados en el diseño experimenta fueron: 1)Sorgo sin HMA (control absoluto), 2) Sorgo+HMA SA (control suelo agrícola), 3) Sorgo +HMA MarA (esporas colectadas en marzo amarillas), 4) Sorgo +HMA JunA (esporas colectadas en junio amarillas), 5) Sorgo +HMA NovA (esporas colectadas en noviembre amarillas), 6) Sorgo +HMA MarN (esporas colectadas en marzo naranja o cobrizas), 7) Sorgo +HMA JunN (esporas colectadas en junio naranja o cobrizas), 8) Sorgo +HMA NovN (esporas colectadas en noviembre naranja o cobrizas), 9) Sorgo +HMA MarT (esporas colectadas en marzo transparentes o blancas), 10) Sorgo +HMA JunT (esporas colectadas en junio transparentes o blancas), 11) Sorgo +HMA NovT (esporas colectadas en noviembre transparentes o blancas). Se usaron 12 repeticiones

por tratamiento, las primeras 6 repeticiones fueron colectadas a los 20 días después del trasplante y el resto a los 40 días, con la finalidad de determinar si los tiempos de establecimiento de la colonización radical y formación de estructuras de intercambio entre la planta y el simbionte (arbuscúlos y vesículas) se encontraba dentro del reportado en la literatura. Las plantas tuvieron riego 3 veces por semana y se mantuvieron en condiciones de invernadero, hasta que cumplieron los tiempos establecidos, momento en que se cosecharon, retirando del suelo cuidadosamente, lavando las raíces y secado con toallas de papel para realizar los siguientes análisis:

Altura: esta se midió con ayuda de una cinta métrica flexible, partiendo de la corona de la raíz hasta la hoja más larga.

Diámetro del tallo: esto se realizó midiendo el diámetro de la corona.

Área foliar: esta se midió utilizando solo la hoja más larga, la cual fue escaneada y analizada en el programa imagen j (ij152-win-java8) que permite hacer el cálculo usando un algoritmo que permite hacer la integración de la superficie analizada y proporciona el dato resultante.

Biomasa fresca del follaje y raíz: una vez cosechada la planta, se separó la raíz del follaje. Se pesaron ambas partes en una balanza analítica marca Shimadzu ATX224.

Biomasa seca de follaje y raíz: una vez registrado el peso fresco de cada parte de la planta, éstas fueron colocadas dentro de bolsas de papel previamente etiquetadas y se colocaron en una estufa a 75 °C durante 72 h, momento en que se llegó a peso constante del tejido y se procedió a pesar nuevamente en balanza analítica.

Por otra parte, se tomaron solo algunas de las raíces secundarias para realizar la prueba de colonización radical por HMA mediante la tinción de las mismas con azul de tripano, usando la técnica antes mencionada (Phillips y Hayman 1970). Posteriormente se montaron en portaobjetos y se visualizaron en un microscopio compuesto Marca Karl Zeiss a 40X.

De igual manera, se tomaron 25 g de suelo de cada planta para realizar el conteo de esporas siguiendo el método reportado por Gederman y Nicholson (1963) modificado.

Finalmente se tomó parte del suelo para realizar un análisis del pH, conductividad eléctrica, nitrógeno total, fósforo disponible y potasio siguiendo las normas (Nom-021-RECNAT-2000,

Método AS-02, Nom-021-REC NAT-2000, Método AS-18, Kjeldhal, Nom-021-REC NAT-2000, Método AS-10 y Nom-021-REC NAT-2000, Método AS-12 respectivamente).

## **2.3 Extracción y cuantificación de glomalina**

La extracción de glomalina, una proteína con función de aglutinante de partículas de suelo producida por los HMA, se realizó por el método de Wright y Upadhyaya (1998), primero se recolectó una muestra del suelo cercano a las raíces de la planta de interés (sorgo), esta muestra se colocó en tubos falcón de 15 ml, se etiquetaron y almacenaron a 4°C hasta su análisis. Antes del análisis el suelo fue tamizado con malla de 45 micras para obtener el suelo más fino.

### **2.3.1 Glomalina de fácil extracción**

Se emplearon tubos Falcón (50 mL), se le colocó 1 g de muestra de suelo con 8 mL de citrato de sodio 20 mM y posteriormente se colocaron en la autoclave por 60 min a 121 °C, una vez fríos, los tubos se centrifugaron a 5000 rpm, se removió el sobrenadante que contiene la proteína y se almacenó a 4 °C para su posterior preparación para lectura en espectroscopia de UV/vis a una longitud de onda de 595 nm.

### **2.3.2 Glomalina total o de difícil extracción**

Para este procedimiento de glomalina de difícil extracción se realiza de la misma manera que la de fácil extracción, solo que se adiciona a 1 g de suelo colocado en tubos Falcón (50 mL) 8 mL de citrato de sodio 50 mM, se coloca en la autoclave por 60 min a 121 °C, luego se centrifugó a 5000 rpm por 15 min inmediatamente después se removió el sobrenadante que es lo que contiene la proteína, repitiendo el procedimiento hasta que la muestra quedó clara. Finalmente, las otras extracciones se juntaron para almacenarlas a 4 °C, para llevarlo a lectura por UV/Vis A 595 nm. Se cuantifico la proteína por el método de Bradford.

### **2.3.3 Cuantificación de proteínas por el método de Bradford**

En tubos eppendorf, se preparó una alícuota de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90  $\mu\text{L}$  de 0.5 mg/ mL solución de BSA (albumina sérica bovina), que se llevó a un volumen a cada una de ellas a 100  $\mu\text{L}$  con NaCl a 0.15 N que sirvió como blanco, se le añadió a cada uno 1 mL de reactivo de Bradford, se agitó por 2 min a temperatura ambiente, y se midió en un espectro uv-vis a una absorbancia de 595 nm, colocando en una celda de cuarzo de 2 mL la solución estándar previamente preparada, se generó una curva estándar trazando la absorbancia a 595 nm frente a la concentración de proteína. Una vez terminada la cuantificación se calculó la concentración mediante la ecuación generada y se estableció la correlación entre la glomalina y los hongos micorrízicos por medio del programa SAS.

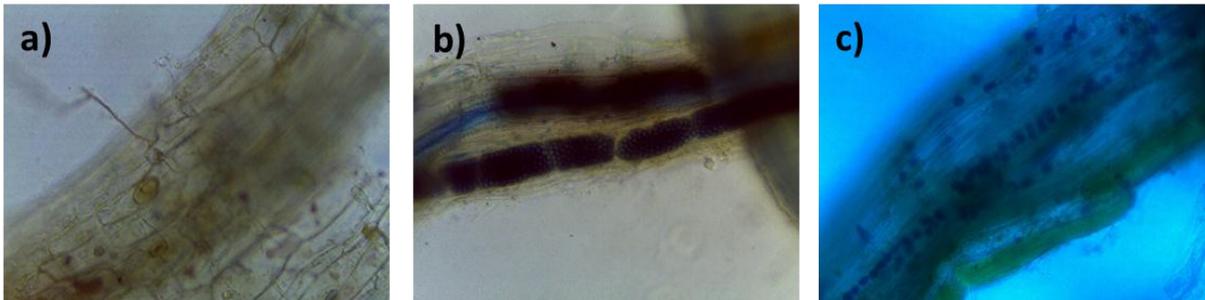
### **2.4. Análisis estadístico**

Los datos generados de la cuantificación de la colonización micorrízica y del conteo de esporas tanto de suelo rizosférico de la región de Ixtlán como del cultivo trampa fueron sometidos a un análisis estadístico de varianza y una comparación de medias de Tukey con el programa SAS versión 9.0.

## Capítulo III. Resultados y discusión

### 3.1. Cuantificación de colonización micorrízica en plantas de Ixtlán

La tinción de raíces de plantas de la rizósfera de la zona geotérmica de Ixtlán de los hervores permitió confirmar que estas plantas se encontraban asociadas con los HMA del lugar, ya que pudieron apreciarse estructuras fúngicas como hifas, vesículas, arbuscúlos (Fig 12).

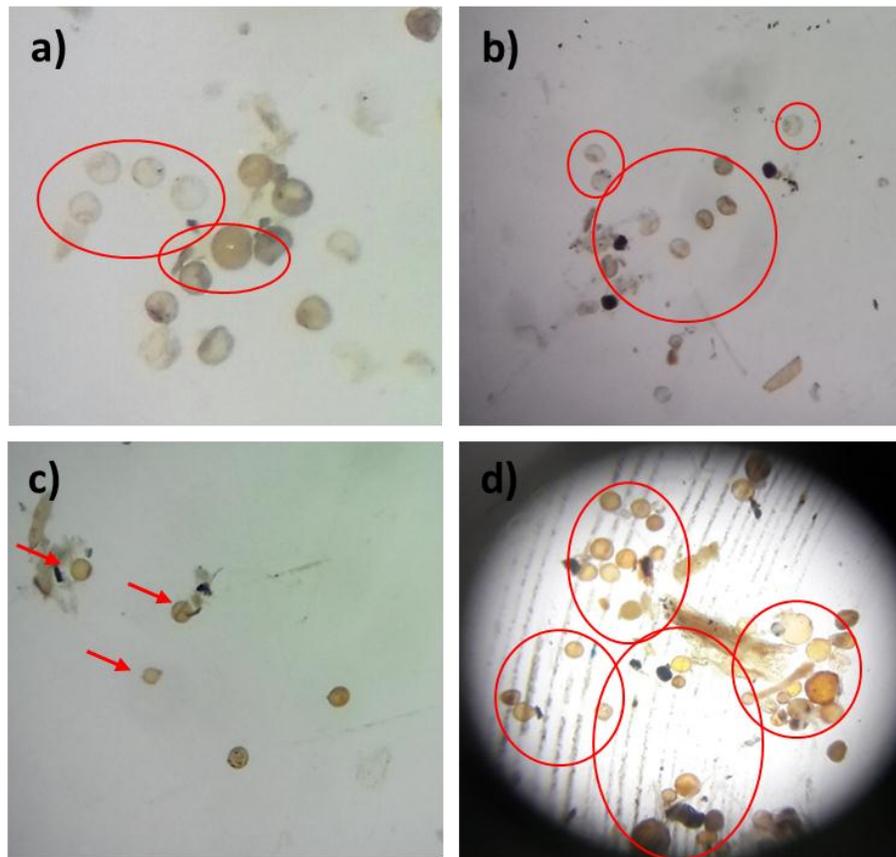


*Figura 12. Tinción de raíces de plantas de la rizósfera en Ixtlán de los hervores Mich., a) se aprecian las vesículas y la extensión hifas dentro y fuera de los ases vasculares, b) se observan arbuscúlos dentro de las células y c) se aprecian las vesículas y estructuras de almacenamiento de los HMA.*

#### 3.1.1 Cuantificación de esporas de HMA del suelo de Ixtlán

En la figura 13 se muestran las 3 tonalidades seleccionadas de las esporas: blancas y transparentes, amarillas y naranjas a cobrizas. Cabe mencionar que las diferentes morfologías, tamaños y colores permiten hacer una identificación aproximada de los HMA presentes en un suelo determinado. El tamaño, es un criterio de identificación, en la figura 13a y 13d pueden apreciarse esporas de mayor tamaño que otras; otra característica que ayuda a la identificación es el color de las esporas este puede ir del blanco al cobrizo. Finalmente, la forma de las mismas también es otro criterio usado para la identificación; no obstante, estos criterios pueden resultar inespecíficos dado que algunas especies de HMA pueden cambiar en tamaño y color dependiendo de su ciclo de vida. Este procesamiento permite la identificación más

precisa, pero ello también requiere del ojo entrenado para percibir todos los detalles y estructuras necesarias para la identificación (Walker y Sanders, 1986).



**Figura 13.** Esporas identificadas de acuerdo a su morfología; a) se aprecia la diferencia de una espora mayor comparándola con las pequeñas transparentes; b) esporas de menor tamaño transparentes; c) y d) se aprecia mayor variedad de color y tamaño de esporas.

En la tabla 3, se muestra el número total de esporas de HMA de suelo rizosférico de Ixtlán. Como puede verse, el número es muy bajo, estos resultados eran esperados, debido a que es un suelo nativo, (un inóculo comercial requiere de al menos  $10,000 \text{ esporas Kgs}^{-1}$ ). El mayor número se obtuvo en junio. Por su parte las esporas fueron escasas en los meses de marzo y noviembre. Se ha reportado que de acuerdo a las condiciones climáticas existen variaciones en la esporulación. En cuanto al suelo agrícola, el cual fue utilizado como control positivo, la

cantidad de esporas fue similar a la obtenida para el mes de junio en suelos de Ixtlán, sin embargo aunque la cantidad no difiere con la del mes de junio, si hubo variación en la cantidad de esporas por colores identificados.

**Tabla 3.** Número total de esporas en suelos de Ixtlán en diferente época de muestreo

<b>Muestra</b>	<b>No. esporas Kgs<sup>-1</sup></b>	<b>ANOVA</b>
<b>Marzo</b>	66.6 ± 6.6	b
<b>Junio</b>	150 ± 16.6	a
<b>Noviembre</b>	73.3 ± 6.6	b
<b>S. agrícola</b>	150 ± 3.3	a

Letras iguales no muestran diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ )

En la tabla 4 se muestra la cantidad de esporas de color amarillo de acuerdo a los muestreos de marzo, junio y noviembre, en donde el número de esporas de ese color fue similar entre muestreos.

**Tabla 4.** Número de esporas de color amarillo en suelo de Ixtlán en diferente época de muestreo

<b>Muestra</b>	<b>No. esporas Kgs<sup>-1</sup></b>	<b>ANOVA</b>
<b>marzo</b>	6.6 ± 0	a
<b>junio</b>	6.6 ± 0	a
<b>noviembre</b>	11.6 ± 5	a

Letras iguales no muestran diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ )

En la tabla 5 el número de esporas de color naranja fue similar entre los diferentes muestreos; no obstante, este número fue mayor comparado con el número de esporas de color amarillo.

**Tabla 5.** Número de esporas de color naranja en suelo de Ixtlán en diferente época de muestreo

<b>Muestra</b>	<b>No. esporas Kgs<sup>-1</sup></b>	<b>ANOVA</b>
<b>marzo</b>	8.8 ± 3.8	a
<b>junio</b>	11.11 ± 7.6	a
<b>noviembre</b>	22.2 ± 3.8	a

Letras iguales no muestran diferencias significativas (Tukey p≤0.05, n=3)

La tabla 6 muestra las diferencias significativas en el número de esporas de color transparente, siendo el mes de junio el que se obtuvo mayor cantidad en cuanto al color y cantidad. Comparando la cantidad de esporas por colores la espora predominante fue la transparente, la cual mostró mayor cantidad en el mes de junio.

**Tabla 6.** Número de esporas de color transparente en suelo de Ixtlán en diferente época de muestreo.

<b>Muestras</b>	<b>No. esporas Kgs<sup>-1</sup></b>	<b>ANOVA</b>
<b>marzo</b>	6.6 ± 0	b
<b>junio</b>	133.3 ± 13.3	a
<b>noviembre</b>	22.2 ± 3.8	c

Letras diferentes muestran diferencias significativas (Tukey p≤0.05, n=3)

Comparando esto con un estudio realizado por Vaz *et al.*, (2012) el número de esporas de HMA encontradas en este trabajo, resultó de 25 a 40 veces menor que el encontrado en la rizósfera de *Myrtus communis* una planta silvestre cultivada en un Parque Natural del Mediterráneo en España, el cual osciló entre 1500 y 6300 esporas por Kg de suelo. Lo anterior puede deberse a la riqueza de suelos y condiciones ambientales que son más favorables que las encontradas en el suelo de Ixtlán.

### **3.2. Evaluación del desarrollo de sorgo inoculado con HMA de Ixtlán**

Los resultados obtenidos de la medición de las distintas variables sobre el desarrollo de las plantas de sorgo inoculadas con los HMA de Ixtlán se presentan a continuación.

#### **3.2.1. Cuantificación de esporas en suelo**

En la tabla 7 se presenta el número de esporas en el suelo de plantas de sorgo inoculadas con los HMA a los 20 días de trasplante. El mayor número de esporas lo presentaron los tratamientos inoculados con esporas amarillas colectadas en noviembre. Los que menos esporas produjeron fueron el de esporas transparentes colectadas en noviembre. Por otro lado, cabe destacar que la cantidad de esporas presentes en los suelos aumentó significativamente en comparación con las existentes en el suelo nativo de Ixtlán. Lo que indica que los hongos si son capaces de establecerse y que las plantas de sorgo son sensibles a la colonización diferencial por los hongos con los que fueron inoculados. Esto también muestra la posibilidad de usarse como inoculantes en este cultivo. Este fenómeno ya había sido reportado en la literatura usando las gramíneas como hospederos de excelencia para la multiplicación de HMA (Johansson, *et al.*, 2004).

**Tabla 7.** Número total de esporas en suelo de plantas de sorgo a los 20 días de trasplante

<b>Muestras</b>	<b>No. esporas Kgs<sup>-1</sup></b>	<b>ANOVA</b>
<b>Control</b>	1.6 ± 0.4	g
<b>SA</b>	58 ± 2.0	de
<b>Mar A</b>	70 ± 2.0	c
<b>Mar N</b>	66 ± 2.0	cd
<b>Mar T</b>	32 ± 2.0	cd
<b>Jun A</b>	38 ± 2.0	f
<b>Jun N</b>	58 ± 2.0	de
<b>Jun T</b>	52 ± 4.0	e
<b>Nov A</b>	176 ± 4.0	a
<b>Nov N</b>	142 ± 6.0	b
<b>Nov T</b>	28 ± 0.0	g

Letras iguales no muestran diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ )

En la tabla 8 se presenta el número de esporas en el suelo de plantas de sorgo inoculadas con los HMA a los 40 días de trasplante. El mayor número de esporas lo presentaron los tratamientos inoculados con esporas naranjas colectadas en noviembre, lo que significa que las esporas naranja tienen el doble de potencial de producción de esporas en rizósfera que los otros dos tipos para este muestreo. De tal manera que, a los 40 días las esporas naranja muestran mayor potencial de multiplicación en las plantas de sorgo, esto a diferencia de las esporas de marzo, que fueron las transparentes. Cabe destacar que en este tiempo de muestreo, la cantidad de esporas encontradas fue menor en comparación con las del día 20, esto pudiera ser el resultado de que la simbiosis ya se encontraba avanzada y dado que la interacción fue adecuada, los HMA no se vieron en la necesidad de reproducirse al grado en el que lo tuvieron que hacer en los primeros días de establecimiento de la simbiosis (20 días).

**Tabla 8.** Número total de esporas de suelo de plantas de sorgo a los 40 días de trasplante

<b>Muestras</b>	<b>No. esporas Kgs<sup>-1</sup></b>	<b>ANOVA</b>
<b>Control</b>	0.0	g
<b>SA</b>	25.3 ± 2.3	ef
<b>Mar A</b>	24.0 ± 0.0	f
<b>Mar N</b>	24.0 ± 0.0	f
<b>Mar T</b>	44.0 ± 4.0	b
<b>Jun A</b>	33.3 ± 2.3	cd
<b>Jun N</b>	25.3 ± 2.3	ef
<b>Jun T</b>	32.0 ± 4.0	cde
<b>Nov A</b>	28.0 ± 4.0	def
<b>Nov N</b>	68.0 ± 4.0	a
<b>Nov T</b>	36.0 ± 0.0	c

Letras iguales no muestran diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ )

Lo anterior permite resaltar, que, si bien el número de esporas cuantificado en el mes de junio en el suelo de Ixtlán fue mayor al del resto de los tiempos colectados, una vez que los HMA establecieron la simbiosis con el sorgo, la capacidad de formación de propágulos cambió. El número de propágulos cuantificado en el mes de noviembre, fue significativamente mayor en ambos tiempos de muestreo, seguido del de marzo, para finalizar con el de junio y el del suelo agrícola, el cual fue de los más bajos.

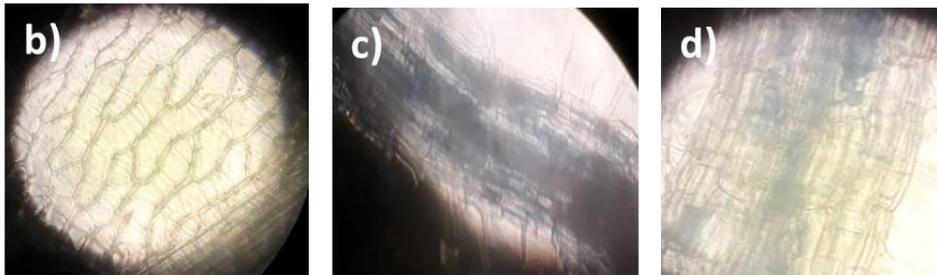
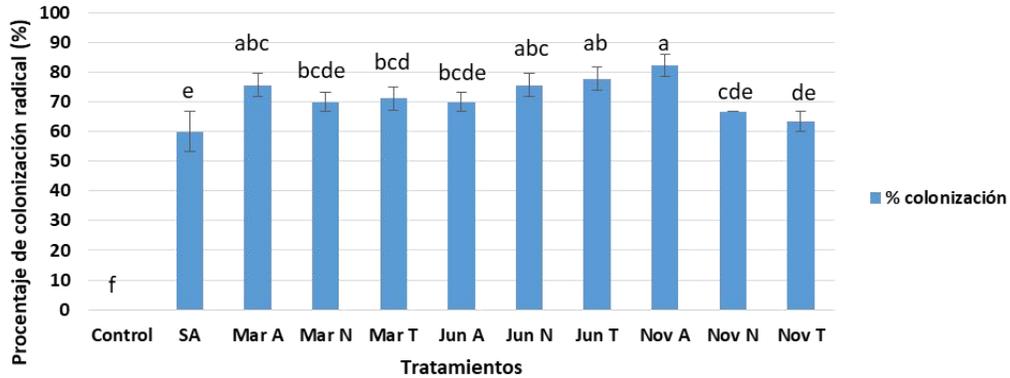
Esto quiere decir que de acuerdo al tiempo de muestreo, el potencial de multiplicación de los hongos (por color de espora) puede cambiar. Esto demuestra la posibilidad de que la capacidad competitiva de los propágulos en los meses de primavera fue mayor a los obtenidos en el mes de junio. Esto también pudiese ser resultado de que las especies presentes en los diferentes momentos de colecta pudiesen ser diferente (Walker y Sanders, 1986).

### **3.2.2. Colonización de HMA en sorgo**

Los resultados obtenidos del porcentaje de colonización radical de plantas de sorgo con 20 días después de trasplante por los distintos HMA de los diferentes tiempos de muestreo se muestran en la figura 14. Como puede verse, los tratamientos con esporas amarillas, naranjas y transparentes colectados en marzo, junio y esporas amarillas colectadas en noviembre, presentaron porcentajes de colonización similares, los cuales oscilaron entre 71 y 82 %. En este punto es importante resaltar que las esporas colectadas en suelos agrícolas tienen niveles de colonización más bajos (de 59 a 69%) que las esporas obtenidas de los suelos de Ixtlán, lo que puede significar, que las esporas de esos suelos son competitivamente más eficientes que las mismas obtenidas de los suelos cultivados con el mismo sorgo. Esto es muy importante ya que confirma el potencial de uso de estos agentes en apoyo a volver más sustentable la producción de este cultivo.

Estos resultados muestran que la capacidad de establecer la simbiosis de los tres grupos de HMA de la zona de Ixtlán con las raíces de sorgo fue buena, e incluso mejor que la presentada por los HMA obtenidos del suelo agrícola en donde se cultivó sorgo por varios años consecutivos, lo cual permitió comprobar que, pese a que los HMA utilizados están adaptados a otro ambiente y condiciones edáficas, son capaces de interactuar con un hospedero distinto y en condiciones climáticas y edáficas también diferentes. De igual manera, el tiempo utilizado para la colonización se encuentra dentro del rango reportado en la literatura que va de los 20 a los 35 días.

**a) Porcentaje de colonización de raíces de sorgo con HMA a los 20 días de trasplante**

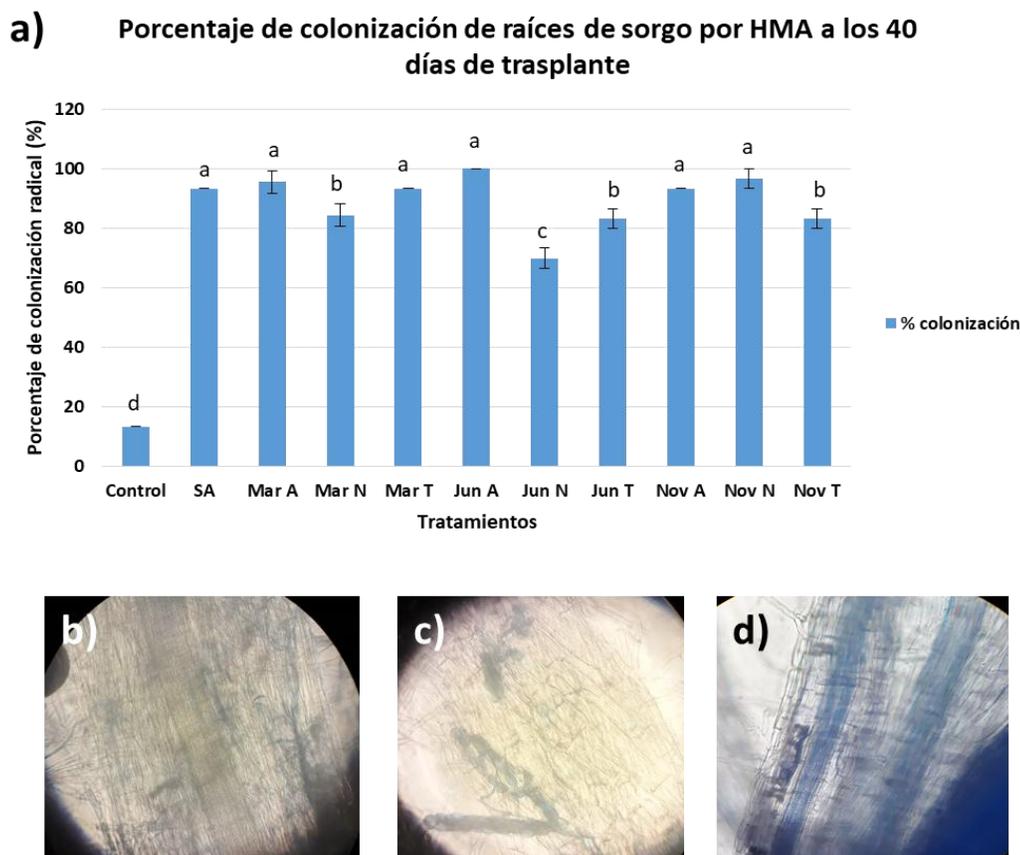


**Figura 14.** a) Porcentaje de colonización de raíces de sorgo con HMA a los 20 días de trasplante. Letras diferentes no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ ). b) control sin colonización, b) se aprecian estructuras (vesículas en haces vasculares) de HMA y c) se observa una serie de vesículas dentro de los haces vasculares.

Por otro lado, los resultados obtenidos del porcentaje de colonización radical de plantas de sorgo con 40 días después de trasplante por los distintos HMA de los diferentes tiempos de muestreo se muestran en la figura 15. Como puede verse, los tratamientos con esporas amarillas de los 3 periodos de muestreo, esporas transparentes de marzo y naranjas de noviembre y las esporas del suelo agrícola presentaron los mayores porcentajes de colonización, los cuales oscilaron del 93 al 100%.

Cabe señalar que, para los 40 días, las diferencias en la capacidad de colonización de los grupos de esporas de color amarillo fueron capaces de colonizar mejor las plantas de sorgo. De igual manera, se hizo evidente que, aunque las esporas del suelo agrícola tomaron más tiempo

para colonizar la planta, con el tiempo permitieron incrementar este proceso, logrando colonizar las raíces en un 93%.



**Figura 15.** a) Porcentaje de colonización de raíces de sorgo con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ ); b) se aprecian hifas dentro de la raíz, c) se observan estructuras fúngicas, como un conjunto de vesículas dentro de los haces vasculares y d) se encontraron extensiones de hifas y vesículas en raíces.

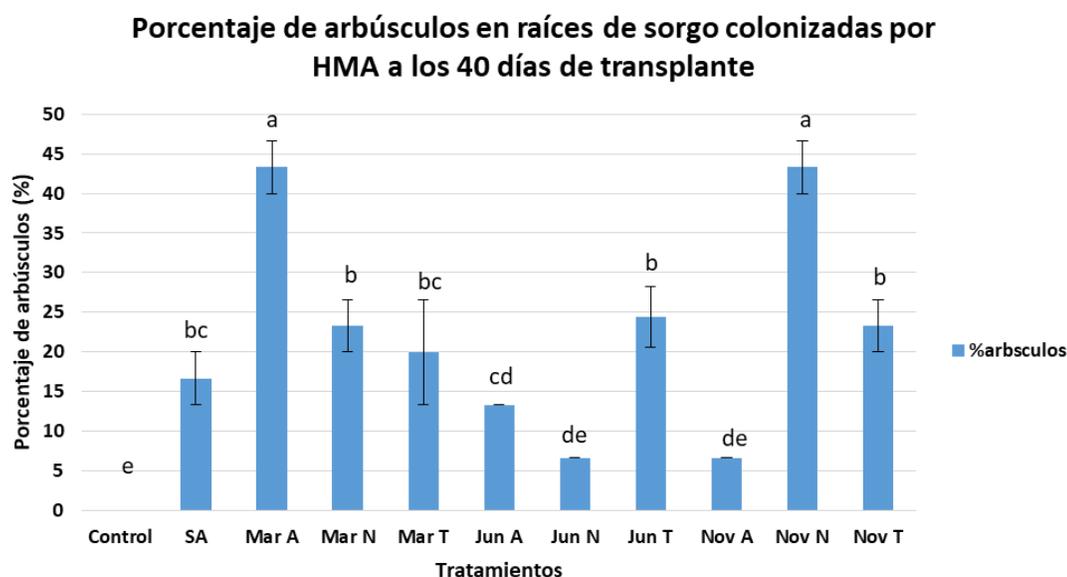
El presente estudio, los efectos de la formación de HMA en la planta de sorgo fueron superiores a los reportados por Cobb *et al.*, (2017), reportan un efecto de compost de lombrices aplicado a plantas de sorgo en comparación con al suelo modificado con fertilizantes comerciales en cuanto a la colonización radical de las plantas por HMA,

señalando que las plantas sin micorrizar presentaron un 32.5 %, las plantas con HMA y compost presentaron un 35.2 % y las plantas con fertilizante y HMA presentaron un 29.1%. Por su parte, Sun *et al.* (2017), quien determinó la colonización de plantas de sorgo de 10 meses sometidas a distintos regímenes de riego por el HMA *Funneliformis mosseae*, obteniéndose un 40% de colonización bajo riego normal. Porcentajes similares de colonización por una cepa de HMA fueron reportados por Cobb *et al.* (2016), en raíces de sorgo de polinización abierta (50 a 60%) y otras variedades híbridas (10 y 20 %) en suelo nativo de África no fertilizado, la cual también fue similar a la reportada en raíces de sorgo cultivado en invernadero en un suelo con baja concentración de P (como en el caso del suelo del área de estudio), los cuales son considerados como buenos (52 a 60%) (Raju *et al.*, 1990). Finalmente, los porcentajes de colonización obtenidos en este trabajo, también superan los reportados para raíces de *M. communis*, una planta silvestre de un Parque Natural en el Mediterráneo, que fueron principalmente colonizadas con HMA con un  $37,6 \pm 5,4\%$  de colonización por longitud de raíz (Vaz *et al.*, 2012).

Estos resultados pueden atribuirse a que la iniciación y formación la simbiosis AMF depende de la producción y regulación de una variedad de productos químicos tanto dentro de la planta hospedera como en la rizosfera (Abdel-Lateif *et al.*, 2012; Gutjahr, 2014; Bonfante y Genre, 2015; Pozo *et al.*, 2015; Takeda *et al.*, 2015). Los exudados radicales influyen la respuesta de múltiples comunidades microbianas del suelo con las plantas (Bertin *et al.*, 2003), en este sentido, se han mostrado que distintos genotipos de sorgo producen un conjunto diferente de exudados en la rizosfera (Tsfamariam *et al.*, 2014). Esto mismo puede ocurrir con otras plantas e incluso con el tipo de moléculas señal que facilitan la comunicación entre los simbiontes. En este sentido, las prácticas agrícolas modernas puede que interrumpan inadvertidamente este intrincado diálogo químico entre plantas y hongos mutualistas, de ahí las diferencias observadas.

Adicionalmente a la formación de hifas intra y extraradicales, las raíces de sorgo a los 40 días permitieron observar las estructuras de intercambio conocidas como arbusculos en donde la figura 16 muestra la tabla de los tratamientos que mayor porcentaje de arbusculos presentaron fueron los de esporas amarillas de marzo y naranjas de noviembre (43.3 % respectivamente).

Los tratamientos que menor porcentaje de arbuscúlos presentaron fueron el de esporas naranjas de junio y amarillas de noviembre (6.6%), que no fueron significativamente distintos al control que no presentó estas estructuras en sus raíces. Lo anterior, muestra que los HMA de Ixtlán no solo fueron capaces de colonizar las raíces de sorgo, el cual fue en algunos casos mayor que el efectuado por las esporas del suelo agrícola, además, que es indicativo que hubo un intercambio activo el cual mejora su estado nutrimental o intercambio de señalizaciones entre ambas que mejoran el crecimiento de la planta y su biomasa total.

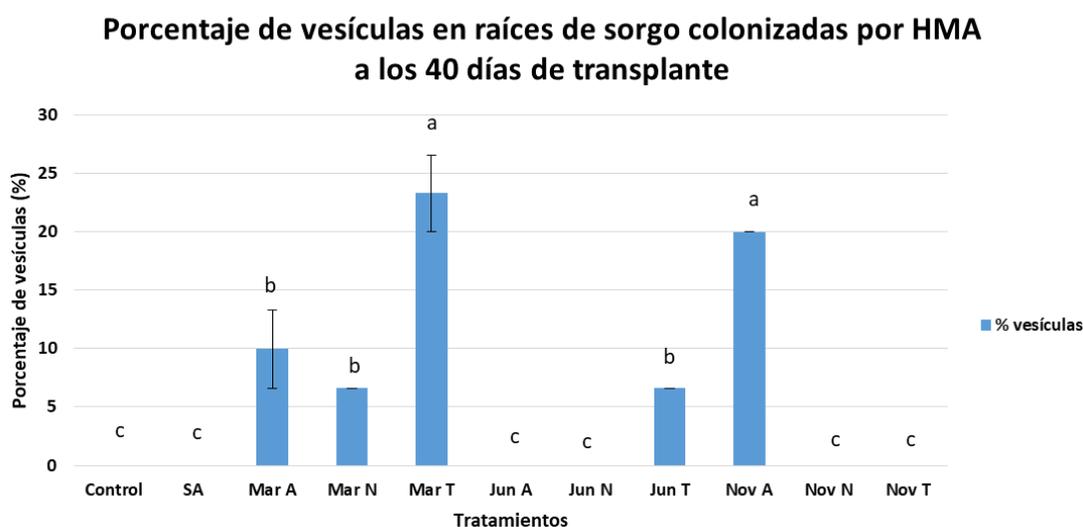


**Figura 16.** *Porcentaje de arbuscúlos en raíces de sorgo con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )*

Dado que el arbuscúlo es un sello de la simbiosis, en el que el fósforo, el nitrógeno y otros nutrientes son transportados a la raíz cortical (García *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2013) de las células y, a cambio, los carbohidratos se transfieren al HMA (Gianinazzi-Pearson, 1996; Harrison *et al.*, 2002; Helber *et al.*, 2011; Fiorilli *et al.*, 2013). La cantidad de arbuscúlos intactos podría reflejar la efectividad del HMA (Sun *et al.*, 2017). Por lo tanto, el colapso de los arbuscúlos o el retardo en la formación de los mismos, podría indicar capacidades de interacción distintas

entre los HMA evaluados, lo cual repercutiría de manera importante en las funciones del HMA, tales como menor producción de las hifas y reducción su extensión en el suelo lo que limitaría aún más su capacidad micorrízico arbuscular, y su función en captación de nutrientes y de agua (Neumann *et al.*, 2009).

Además de la formación de los arbusculos los HMA, también fueron capaces de formar vesículas, que son estructuras que cumplen con la función de almacenamiento para los hongos como se observa en la gráfica, en la figura 17. En este caso, los tratamientos que mayor porcentaje de vesículas presentaron fueron el de esporas transparentes de marzo (23.3 %) y amarillas de noviembre (20%), todos ellos, tratamientos que también presentaron arbusculos, lo cual indicó un proceso activo de simbiosis. El resto de los tratamientos no presentó vesículas

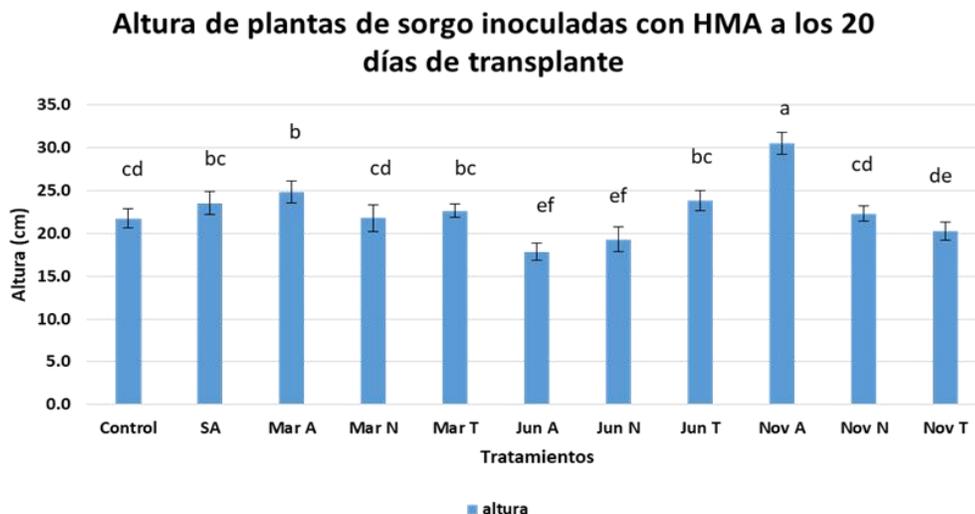


**Figura 17.** Porcentaje de vesículas en raíces de sorgo con HMA a los 40 días de trasplante.  
*Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )*

### 3.2.3. Altura

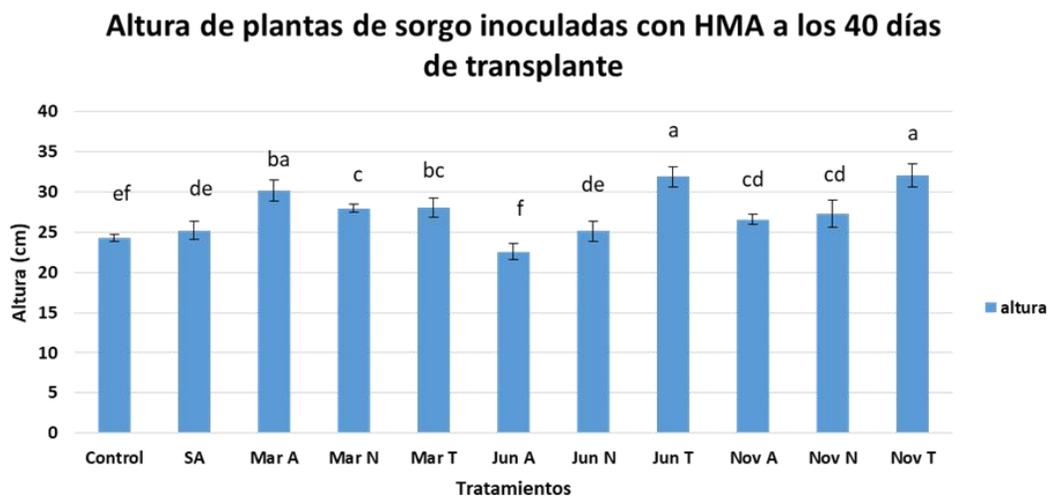
Los resultados de la altura que presentaron las plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante se presentan en la figura 18. Como puede verse, el tratamiento que mayor altura presentó fue el de esporas amarillas colectadas en noviembre, seguida de las amarillas

de marzo y transparentes de marzo y junio y suelo agrícola. Las plantas que menor altura presentaron fueron las inoculadas con esporas de junio de colores amarillo y naranja, que fueron más pequeñas que el resto de los tratamientos, incluyendo el control no inoculado.



**Figura 18.** *Altura de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )*

Los resultados de la altura que presentaron las plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante se presentan en la figura 19. Como puede verse, los tratamientos que mayor altura fue el de esporas transparentes colectadas en junio y noviembre, seguida del resto de los tratamientos. Las plantas que menor altura presentaron fueron nuevamente las de junio amarillas y naranjas, que fueron más pequeñas que el resto de los tratamientos, incluyendo el control no inoculado.

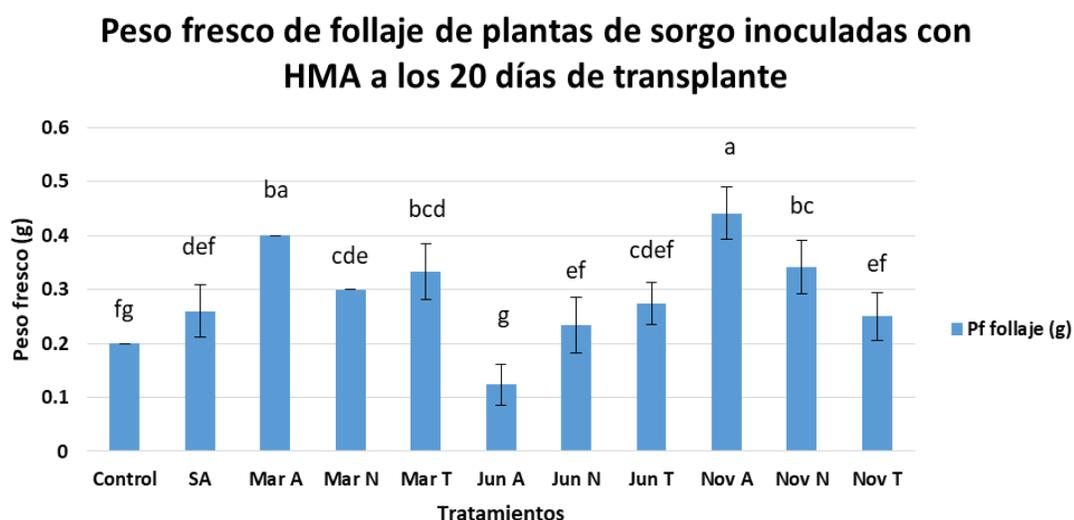


**Figura 19.** *Altura de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )*

Los resultados observados en este trabajo muestran la adaptabilidad de los HMA ciertas condiciones medioambientales distintas a las de su hábitat natural y sobre todo al hospedero utilizado como modelo para el estudio. En este sentido esto concuerda con lo señalado en el trabajo realizado por Covacevich y Echeverría, (2010), que detalla que los suelos difieren en su receptividad a los HMA introducidos, definiendo esta como la capacidad de un suelo para favorecer el desarrollo de la simbiosis luego de la inoculación, por lo cual hay que considerar que el bajo número de propágulos de inóculos nativos puede limitar su eficiencia para aumentar el crecimiento, por lo cual es un factor clave para la elección del mejor inóculo; en este sentido, resulta útil la evaluación de las respuestas y actividad de crecimiento de las plantas sobre todo el enraizamiento para determinar los mejores inóculos y su respuesta de condiciones edáficas adecuadas.

### 3.2.4. Biomasa

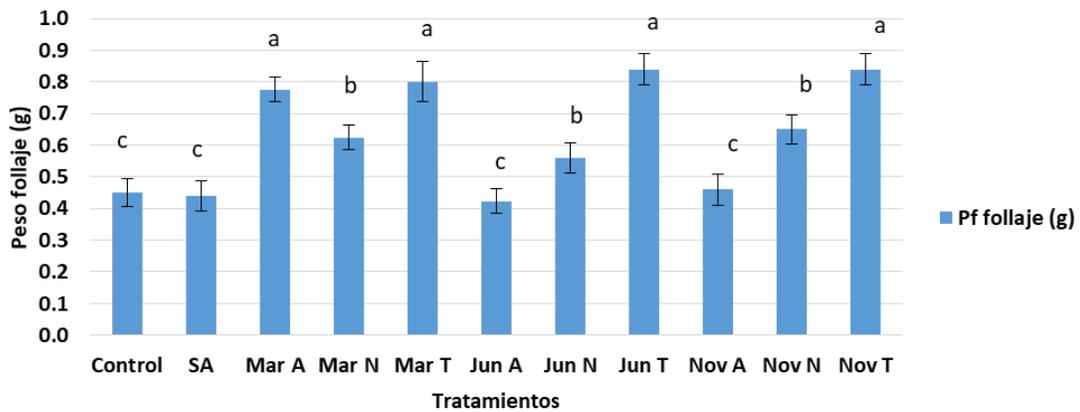
En cuanto a los resultados de la cuantificación de la biomasa fresca del follaje de plantas de sorgo inoculadas con los HMA a los 20 días de trasplante se presentan en la figura 20. Como puede verse, los tratamientos con esporas amarillas de marzo y noviembre presentaron mayor biomasa. Estos resultados son consistentes con los observados en la altura de las plantas al mismo tiempo de cosecha, ya que los mismos tratamientos presentaron la mayor altura. Algo similar se observó con el tratamiento de esporas amarillas de junio que fue el que menor biomasa presentó y también ocurrió lo mismo con la altura al mismo tiempo de muestreo, el cual fue superado por el resto de los tratamientos, incluso el control si inocular.



**Figura 20.** Biomasa fresca de follaje de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )

Para los 40 días, la biomasa fresca del follaje de las plantas presentó ligeros cambios, ya que los tratamientos con mayor biomasa fueron nuevamente marzo amarillos y marzo, junio y noviembre transparentes. Entre los tratamientos con menor biomasa destacan el de esporas amarillas de junio y los controles sin inocular y el suelo agrícola (Fig.21).

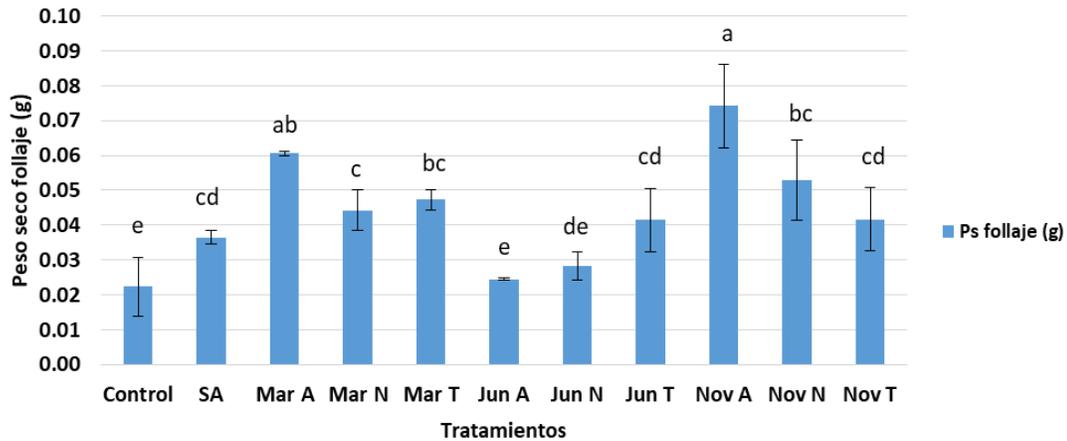
### Peso fresco de follaje de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante



**Figura 21.** Biomasa fresca del follaje de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )

En la biomasa seca de follaje a los 20 días de trasplante, se mantiene el comportamiento observado en la cuantificación de biomasa fresca al mismo tiempo de muestreo, ya que el tratamiento con mayor biomasa fue el de noviembre con esporas amarillas, seguido de los tratamientos de marzo y noviembre. Nuevamente el tratamiento con tendencia a desarrollar menor biomasa fue el de junio con esporas amarillas (Fig. 22).

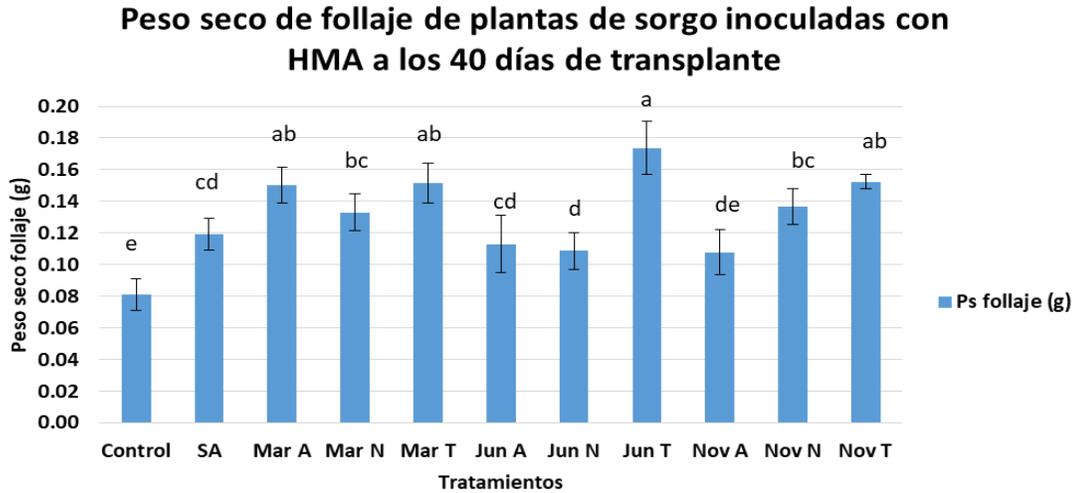
### Peso seco de follaje de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante



**Figura 22.** Biomasa seca del follaje de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )

En cuanto a la biomasa seca del follaje a los 40 días de trasplante (Fig.23), también se mantiene el comportamiento observado en la biomasa fresca al mismo tiempo de muestreo, ya que es el tratamiento de junio con esporas transparentes el que mayor biomasa presentó, seguido de los tratamientos de marzo con todos sus colores de esporas y noviembre naranja, posteriormente junio amarillas y naranjas junto con el control sin inocular y finalmente una tendencia del suelo agrícola a presentar menor biomasa de todos.

Cabe señalar que, para este momento, la colonización de las plantas en los tratamientos inoculados superó el 70 %.



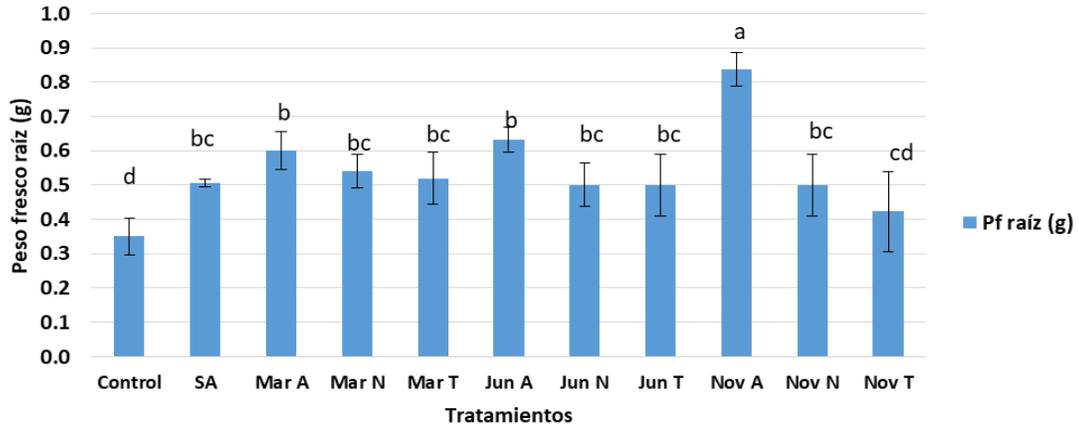
**Figura 23.** Biomasa seca del follaje de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )

En cuanto a la biomasa fresca de la raíz de plantas de sorgo a los 20 días del trasplante, el tratamiento que mayor biomasa fresca presentó fue el de esporas amarillas de noviembre. Los demás tratamientos presentaron biomásas similares (Fig. 24).

Por su parte, la biomasa fresca de la raíz a los 40 días de trasplante (Fig. 25), permitió observar variaciones, ya que la mayor biomasa la presentó el tratamiento de marzo transparente, seguida de noviembre transparente.

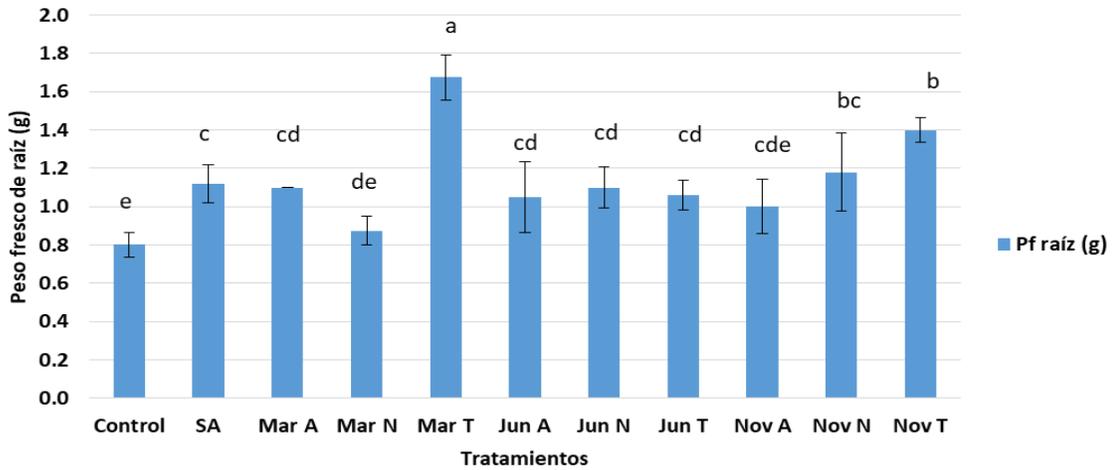
En ambos tiempos de muestreo, así como en la altura y biomasa del follaje, se observa una tendencia de las esporas colectadas en marzo y noviembre a presentar mayores beneficios a las plantas hospederas.

**Peso fresco de raíces de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de transplante**



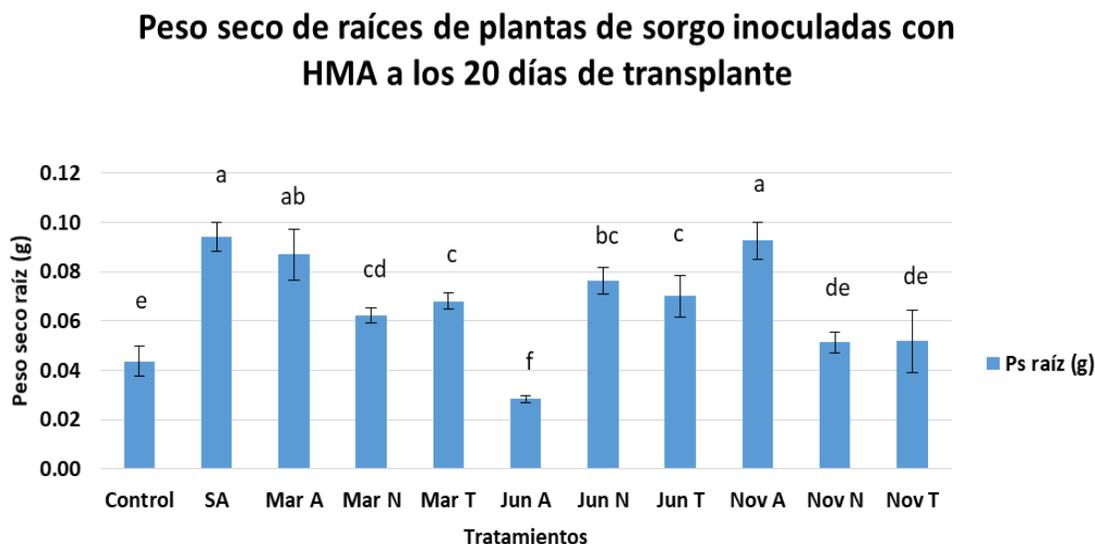
*Figura 24. Biomasa fresca de las raíces de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )*

**Peso fresco de raíces de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de transplante**



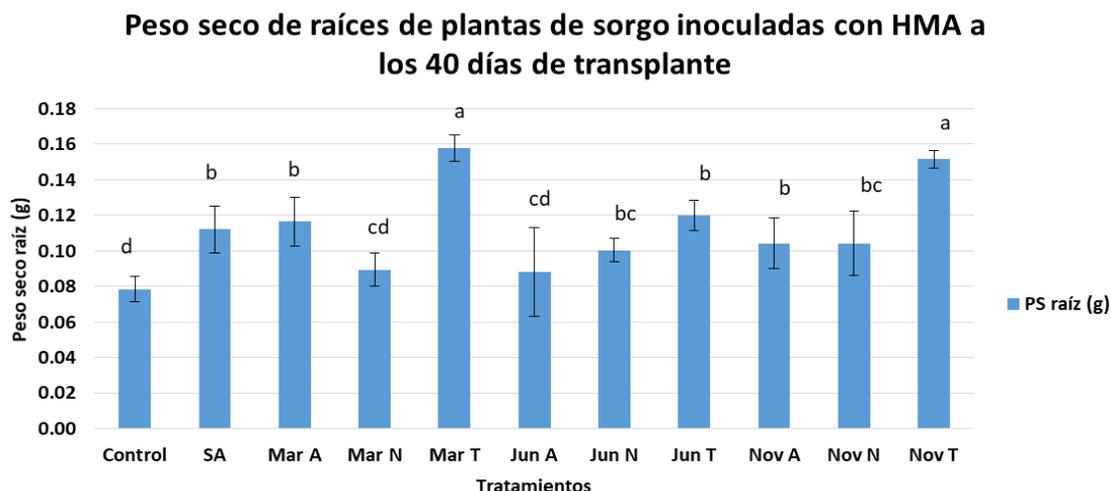
*Figura 25. Biomasa fresca de las raíces de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )*

La biomasa seca de las raíces de sorgo a los 20 días de trasplante (Fig. 26), de los tratamientos de suelo agrícola y esporas amarillas de marzo y noviembre, presentaron mayor biomasa seca radical, y donde nuevamente se observa que el tratamiento con menor biomasa seca radical fue el de esporas amarillas de junio, el cual fue inferior al resto de los tratamientos, incluso que el control sin inocular.



**Figura 26.** Biomasa seca de las raíces de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )

La biomasa seca de las raíces de sorgo a los 40 días de trasplante (Fig. 27), se comportó de manera semejante a la observada en la biomasa fresca al mismo tiempo de muestreo, ya que los tratamientos con mayor peso fueron el de marzo y noviembre con esporas transparentes. En este caso, también el suelo agrícola presentó una tendencia a mostrar menor biomasa.



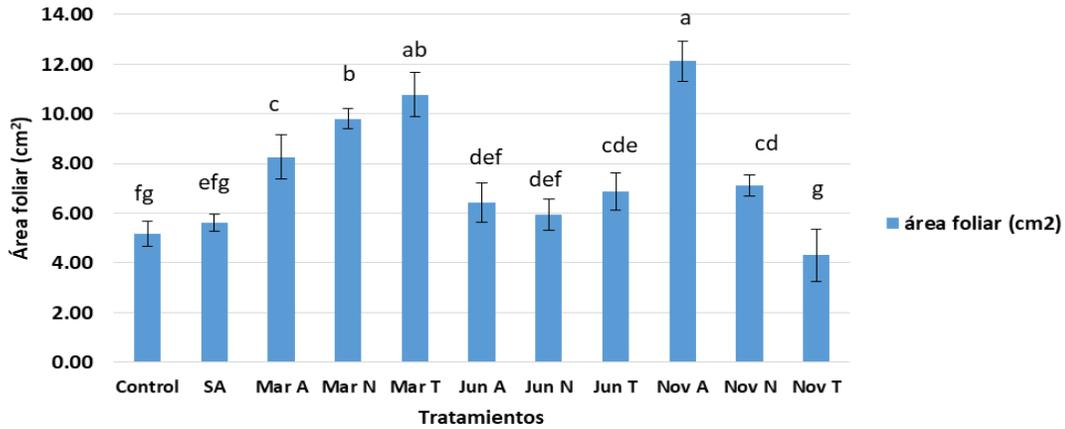
**Figura 27.** Biomasa seca de las raíces de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )

Cabe resaltar que, al igual que ocurrió con la biomasa del follaje tanto seca como fresca, se observó una tendencia de las esporas amarillas y transparentes colectadas en los meses de marzo y noviembre a promover mayor desarrollo e las plantas, con excepción del tratamiento de junio transparente que promovió una mayor biomasa de follaje a los 20 días del trasplante.

### 3.2.5. Área foliar

Por otra parte, los resultados obtenidos del análisis de área foliar de las plantas a los 20 días de trasplante se presentan en la figura 28; al igual que en la biomasa fresca del follaje al mismo tiempo de muestreo, los tratamientos que mayor área foliar presentaron fueron el de esporas amarillas en noviembre y marzo transparentes. En este caso, los tratamientos control, suelo agrícola, todos los colores de junio y esporas transparentes de noviembre fueron los que menor área foliar presentaron.

**Área foliar de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante**



**Figura 28.** Área foliar de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante.

Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )

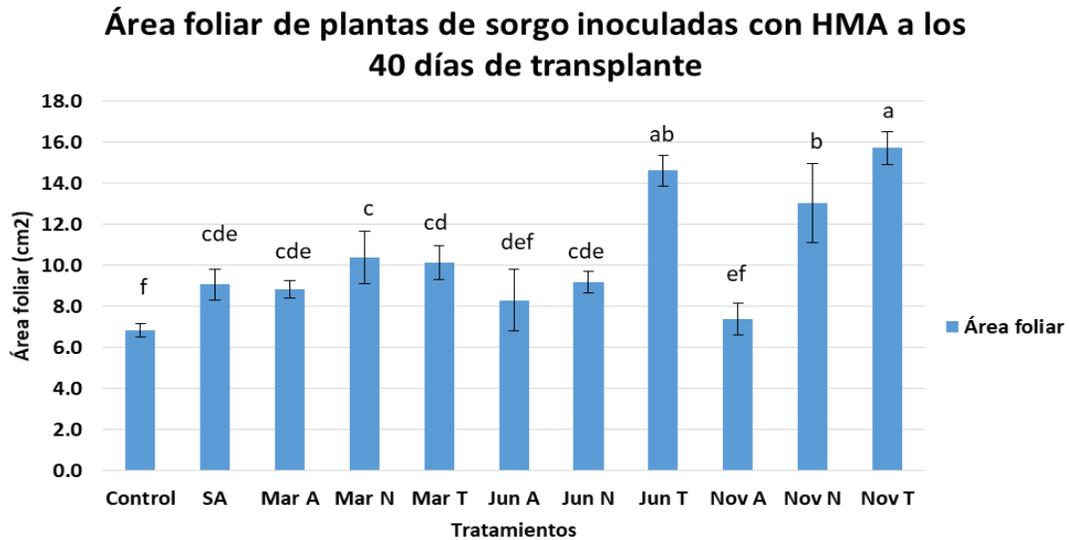
Los efectos de los HMA observados en este trabajo, son consistentes con los reportados en otros estudios, tal como el realizado por Raju *et al.* (1990) en plantas de sorgo cultivado en invernadero en un suelo con bajo P ( $3,6 \text{ mg / kg}^{-1}$ ) inoculado con el hongo micorrízico *Glomus fasciculatum*. Se determinó los efectos de este sobre crecimiento de plantas cosechadas a los 48 días después del trasplante. La biomasa seca total de la planta osciló de 0.43 a 0.46 g en plantas no micorrizadas y de 2.59 a 2.90 en las micorrizadas. Resultados similares también fueron reportados por Sun *et al.* (2017), quienes encontraron que plantas de sorgo de 10 de semanas de edad inoculadas con el HMA *Funneliformis mosseae* y bajo riego normal presentaron mayor biomasa tanto del follaje (5.21 g), como de raíz (2.22 g), en comparación con las plantas no micorrizadas (follaje 3.04 g y raíz 1.31 g).

Respuestas similares a la micorrización en cuanto a biomasa se han realizado en muchas plantas nativas de la pradera (Wilson y Hartnett, 1998) y para cultivos como el trigo, la caña de azúcar, el maíz y la soja (Kelly *et al.*, 2001; Ellouze *et al.*, 2015). Hetrick *et al.* (1993, 1995) reportaron que la interacción de razas de trigo (*Triticum spp.*) con HMA fue buena, sin embargo, los genotipos de trigo modernos fueron menos sensibles y el peso seco total de la planta se redujo, en comparación con sus primeros ancestros, cuando fueron cultivados en

suelos con baja fertilidad. El peso total seco de las variedades de polinización abierta (4) osciló entre 45 y 50 g, en tanto que las híbridas (4) oscilaron de 15 a 18 g en plantas de 4 meses.

Hay muchas variables, como la genética de cultivos, involucrado en el aprovechamiento de los beneficios de los hongos de HMA en la agricultura. De hecho, numerosos estudios indican que los genotipos de plantas varían en su capacidad de respuesta a las micorrizas (Smith y Read, 2008; Liu *et al.*, 2000), incluyendo plantas de importancia agronómica (Cobb *et al.*, 2016). Schmidt *et al.* (2016), explica que examinando genotipos de cultivos por diferencias en la capacidad de respuesta a HMA (es decir, la cantidad de beneficio recibido por el establecimiento de la simbiosis con la planta) ayudará a aclarar las bases genéticas del mutualismo y eficiencia agrícola. Esto es un elemento esencial en la evaluación de la importancia de la simbiosis en las fincas.

En cuanto al área foliar a los 40 días de trasplante (Fig. 29), cambió drásticamente, ya que el tratamiento con esporas transparentes de noviembre que fue uno de los que menor área foliar presentó a los 20 días, a los 40 fue, junto con los de junio transparentes y noviembre naranja los que mayor área foliar mostraron. Por su parte, el tratamiento de noviembre amarillas que fue el que mayor área foliar tuvo a los 20 días, a los 40 fue de los que menor área presentó a los 40, junto con el control sin inocular y junio esporas amarillas. En este caso los 3 colores de marzo presentaron áreas foliares intermedias.



**Figura 29.** Área foliar de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )

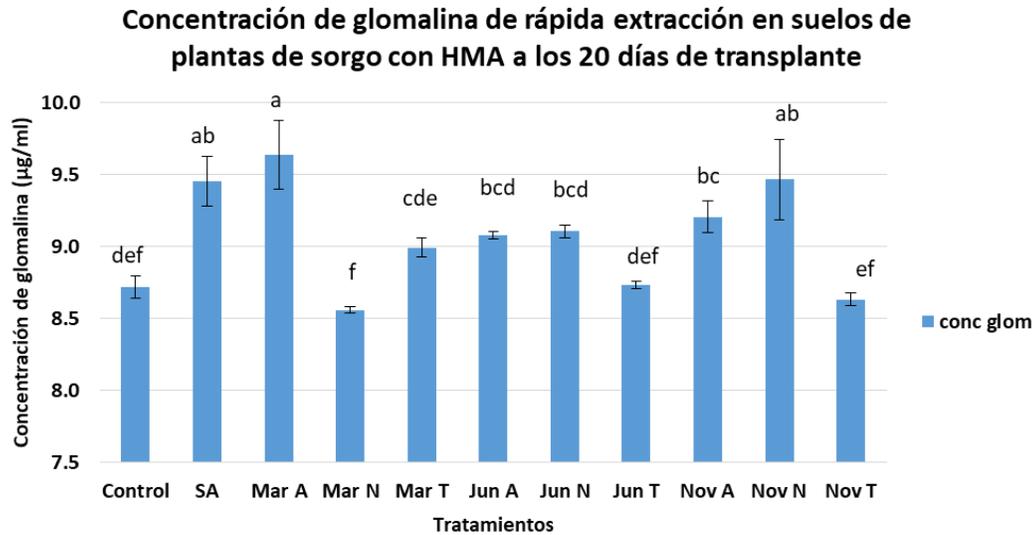
Meenakshisundaram y Santhaguru (2011), mencionan que los HMA provenientes de suelos donde el sorgo era principal cultivo obtuvieron buena colonización radical, alta área foliar y peso seco y fresco altos en comparación con otros cultivos concluyendo que HMA son omnipresentes en los ecosistemas y desempeñan un papel importante en la mejora del crecimiento de las plantas a través de una mejor captación de nutrientes, especialmente fósforo. De igual manera cabe señalar que los HMA encontrados en zonas como las de Ixtlán de los hervores no presentan el mismo comportamiento de HMA comerciales o identificados en suelos agrícolas, detalle que se menciona por Martínez –García (2011) y Díaz *et al.*, (2015), donde se estudió el comportamiento del sorgo al inocular HMA comerciales y como era esperado una buena respuesta de la planta al ser inoculado con estos HMA se menciona que existen factores clave en el crecimiento de la planta, como es el clima o temporada de inoculación y la respuesta de la planta ante los HMA y también la disponibilidad del inoculo a la planta. No obstante, si puede resaltarse la constante en cuanto al mayor incremento de área foliar de las plantas micorrizadas con respecto a las no micorrizas, independientemente de si se cultivaron en condiciones de estrés (Sun *et al.*, 2017).

Relacionando esta información con la obtenida en la colonización radical, puede verse una congruencia, ya que todas las plantas inoculadas con los HMA colectadas en los distintos tiempos de muestreo presentaron colonización mayor al 70 %. Adicionalmente, a los 40 días presentaron en diversos grados la formación de las estructuras de intercambio (arbúsculos), la cual fue mayor en los tratamientos de marzo, noviembre y suelo agrícola y en mucho menor grado el de junio con esporas amarillas, que es el que menores pesos, alturas y área foliar promovió. Por su parte, la presencia de estructuras de almacenamiento (vesículas), solo se reportó en los tratamientos de marzo, junio transparentes y noviembre amarillas, que son los que se han destacado también por la promoción del desarrollo de las plantas.

### **3.2.6. Determinación de Glomalina en suelo**

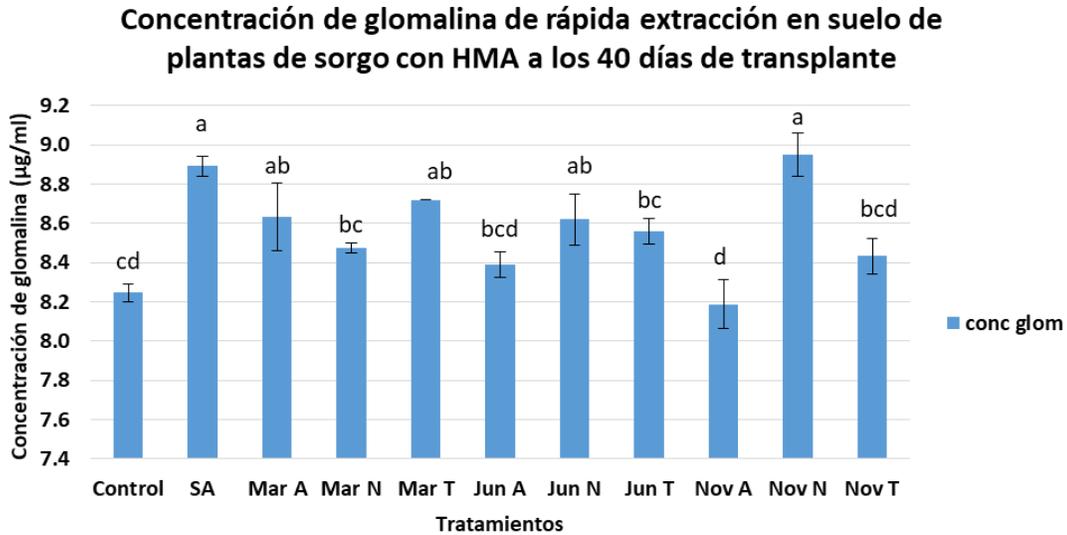
Finalmente, los resultados obtenidos del contenido de glomalina, una glicoproteína indicadora de la calidad del suelo y sensible a las perturbaciones, producida por las paredes de las hifas de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), se presenta a continuación.

La concentración de glomalina de rápida extracción se determina en suelos donde la simbiosis es reciente, por lo cual se pudo cuantificar en el suelo de las plantas antes de su cosecha a los 20 y 40 días de trasplante. La concentración de glomalina en los suelos de plantas a los 20 días de trasplante oscilaron de 8.5 a 9.6  $\mu\text{g/mL}$ . Los tratamientos que mayor concentración presentaron fueron los de noviembre con esporas naranjas, marzo amarillas y el suelo agrícola. El tratamiento que menos contenido presentó fue el de esporas naranjas de marzo (Fig. 30).



*Figura 30. Concentración de glomalina de rápida extracción de suelos de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )*

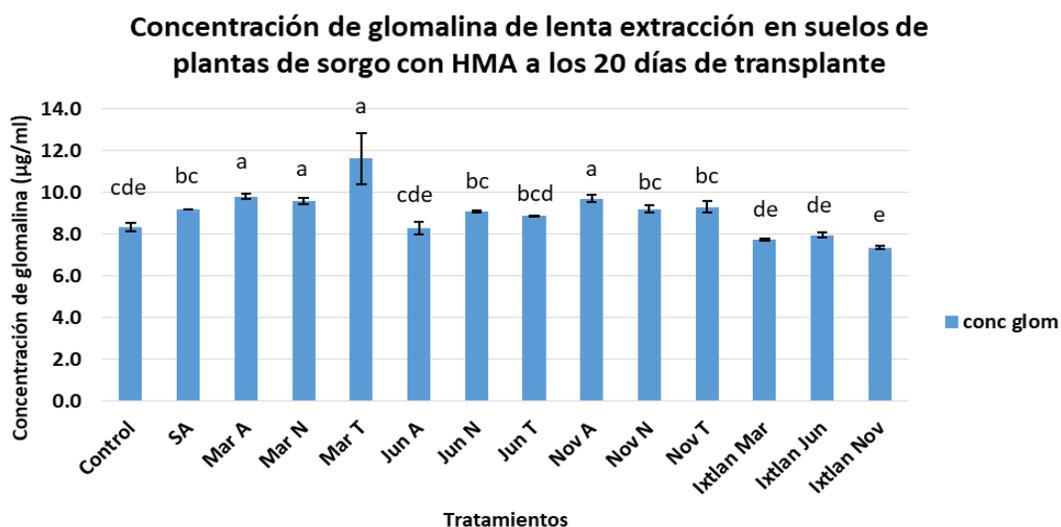
La concentración de glomalina en los suelos de plantas a los 40 días de trasplante oscilaron de 8.1 a 8.9 µg/mL. Los tratamientos que mayor concentración presentaron fueron los de noviembre con esporas naranjas, aunque el nivel de colonización fue muy bajo (13%), pudo haber manifestado mayor colonización extraradical, la cual pudo ser responsable de la producción de glomalina observada. Los tratamientos que menos contenido presentaron en este tiempo de muestreo fueron el de noviembre esporas amarillas y el suelo agrícola (Fig. 31), el cual a los 20 días fue el de los que mostró mayor concentración. Lo anterior, puede ser el resultado a la colonización, que está encaminada a contribuir al desarrollo de la planta y el hongo tiene poco desarrollo extra radicular. Todo está de manera prioritaria hacia la asociación con la planta, sobre todo en las esporas amarillas de noviembre, esta hipótesis puede soportarse al observar el incremento de colonización intraradical en este tiempo y la formación de estructuras de intercambio entre la planta y el hongo.



*Figura 31. Concentración de glomalina de rápida extracción de suelos de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ ).*

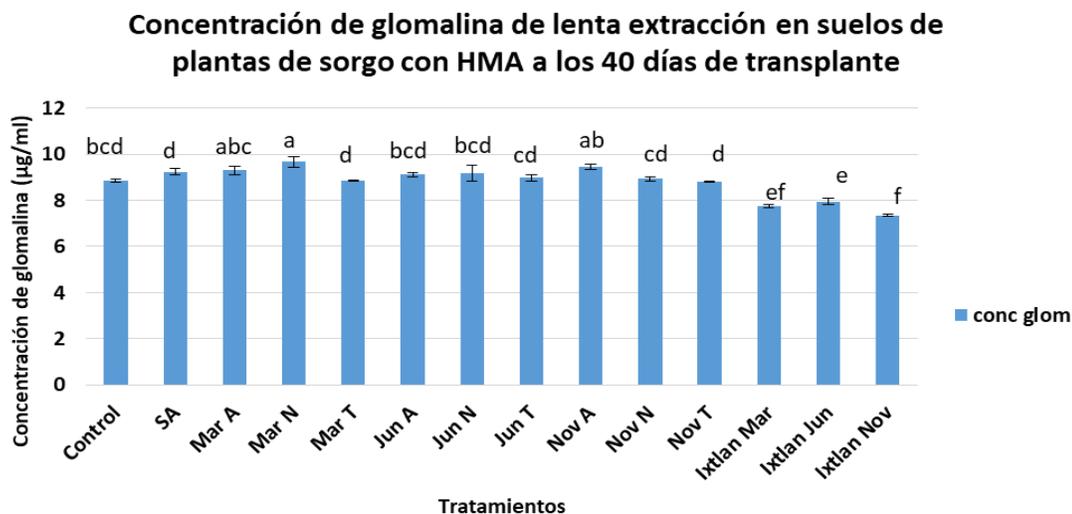
En cuanto a la concentración de glomalina de lenta extracción, la literatura indica que es la que se puede determinar cuando la simbiosis lleva mayor tiempo de establecimiento. Por esta razón, la cuantificación del contenido de esta proteína se hizo también a las muestras de suelo rizosférico de Ixtlán y se comparó con la producción en los suelos de las plantas de sorgo a los 20 y 40 días de trasplante inoculadas con los HMA.

Como puede verse en la figura 32, la concentración de esta glomalina a los 20 días de trasplante osciló entre los 7.3 a 9.7 µg/mL. Sin embargo, los análisis estadísticos no permiten demostrar diferencias significativas entre tratamientos (fechas y tipo de esporas). La cual fue mayor en el tratamiento con esporas transparentes de marzo, el resto de los tratamientos de sorgo presentaron concentraciones similares y las más bajas fueron las encontradas en los suelos de Ixtlán en los diferentes tiempos de colecta. Esto último era de esperarse debido a que, aunque hay colonización radical de las plantas de Ixtlán, esta no es alta.



**Figura 32.** Concentración de glomalina de lenta extracción de suelos de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 20 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )

La concentración de esta glomalina a los 40 días de trasplante osciló entre los 7.3 a 9.9 µg/mL (Fig. 33). La cual fue mayor en el tratamiento con esporas naranjas y amarillas de marzo, amarillas de noviembre. El resto de los tratamientos de sorgo presentaron concentraciones similares y las más bajas fueron las encontradas en los suelos de Ixtlán en los diferentes tiempos de colecta. Como puede verse, la concentración de glomalina de lenta extracción fue mayor a la obtenida en la de rápida, sobre todo a los 40 días de trasplante, momento en que dicha producción tiende a incrementarse, pero se hace más difícil de cuantificar porque queda integrada en los terrones de suelo que ayuda a formar.



**Figura 33.** Concentración de glomalina de lenta extracción de suelos de plantas de sorgo inoculadas con HMA a los 40 días de trasplante. Letras iguales no presentan diferencias significativas (Tukey  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ )

Los resultados obtenidos en este trabajo son menores a los reportados por Wright *et al.* (1996), quienes inocularon con distintas especies de hongos micorrízicos plantas de: *Zea mays*, *Sorghum sudanense* y *Trifolium partense* crecidas en macetas durante 5 meses para determinar su producción de glomalina. Tal vez eso se deba a que ellos mantuvieron las plantas por unos 150 días, mientras que en este ensayo solo fueron 40 ddi (días después de la inoculación). Los autores reportaron contenidos que oscilaban de los 60 a 63 µg/mg de suelo en plantas inoculadas con especies de *Gigaspora* y de los 12 a los 29 µg/mg de suelo en plantas inoculadas con diferentes especies de *Glomus*.

Estas diferencias pudieran ser resultados del tiempo de establecimiento de la simbiosis. En las plantas del presente trabajo solo se midió la cantidad de glomalina a los 20 y 40 días, que son los periodos en que se reporta que se lleva a cabo la simbiosis, por lo cual, podría suponerse que mientras mayor tiempo de establecimiento de la asociación hay mayor puede ser el contenido de proteína encontrado, esto sin dejar de lado la afinidad de los HMA por determinadas plantas y las condiciones del suelo en donde se establecieron las plantas. Como puede verse, en el estudio de Wright, se determinó la proteína a los 5 meses y usando especies

de colección. Esta hipótesis puede ser soportada por los contenidos de glomalina reportados por Sanzano (2016), quien determinó estos contenidos en una zona de matorral de la sierra de Mariola en España. Los contenidos para el área sin perturbar, que lleva décadas de establecida oscilaron de 20000 a 25000  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de suelo, pero estos disminuyeron a 14000  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de suelo cuando el ecosistema se perturbó con un incendio.

Por otro lado, algunos autores reportan cambios en la cantidad de glomalina producida dependiendo de la especie de HMA con el que se está relacionando la planta. En este sentido Wright *et al.* (1996), reportan que cuando una planta inoculada con un cultivo monospórico de HMA bajo las mismas condiciones de laboratorio *Gigaspora rosea* y *G. gigantea* tendieron a desplegar mayor producción de glomalina que *Glomus intraradices* y *G. etunicatum*. Por su parte Wright y Upadhyaya (1999), midieron el film de glomalina producido en especies hortícolas y encontraron que *Gigaspora rosea* y *Glomus caldonium* produjeron 30 a 43% más glomalina por unidad de film que *Glomus intraradices*. Por su parte, Lovelock *et al.* (2004) observaron que *Acaulospora morrowiae* produjeron niveles más altos de glomalina (3600  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) comparados con *Gigaspora rosea*, *Glomus etunicatum* y *Glomus intraradices* (2600, 2200 y 680  $\mu\text{g}/\text{mg}$  respectivamente). Estos resultados indican que especies de *Glomus* parecen concentrar en menor grado sus energías en la producción de glomalina que *Gigaspora* y *Acaulospora*. En este sentido, *Glomus* difiere de otros géneros de HMA en varios rasgos ecológicos adicionales. Este grupo tiende a invertir menos energía en la producción de micelio extraradical y más estructuras intraradicales que *Gigaspora*, *Acaulospora*, y *Scutellospora* (Dodd *et al.*, 2000; Klironomos *et al.*, 1998; Treseder, 2005), es probable que exista un mayor número de especies de *Glomus* que de otras especies de HMA en los inóculos usados en la presente tesis.

Los resultados obtenidos pueden explicarse con lo reportado por Koyama *et al.* (2017), que reconocen que se tiene un conocimiento limitado de los mecanismos evolutivos que dan forma al funcionamiento de la simbiosis micorrízica arbuscular, donde las especies de HMA están presentes en la mayoría de los ecosistemas terrestres y solo se han descrito aproximadamente 250 especies. Tal distribución generalizada de pocas especies de HMA en diferentes ambientes, junto con baja especificidad del hospedero, pero, sin embargo, alta variabilidad en

las respuestas de crecimiento de las plantas a diferentes aislamientos de HMA de la misma especie, plantea preguntas sobre la adaptabilidad de HMA a sus entornos locales. Esto incluye la posibilidad de adaptación local, formado como resultado de las presiones de selección biótica y abiótica en socios simbióticos, y de los socios entre sí. Por esto, se ha proporcionado evidencia de la adaptabilidad local en la simbiosis fúngica (HMA) mostrando beneficios de plantas hospedera y suelo en combinaciones alopatricas de los tres componentes. Es decir, mejoran la disponibilidad de nutrientes en los suelos locales que debería ser uno de los principales controladores para la co-adaptación de HMA y sus plantas hospederas, dado su papel crítico en la adquisición de nutrientes limitantes para sus anfitriones.

Cabe resaltar, que las interacciones específicas de especie no siempre ocurren, lo que sugiere que las comunidades HMA pueden ser más específicas para grupos funcionales de plantas que para especies de plantas individuales (Martínez-García, *et al*, 2011), de ahí la afinidad reportada con las gramíneas. Además, la interacción entre HMA y plantas genera retroalimentaciones que influyen en la diversidad de especies de las comunidades fúngicas y, en última instancia, de las comunidades vegetales (Martínez-García, *et al*, 2011) tal como se vio en el consorcio de HMA evaluado, cuando se separó por colores, las especies presentes establecieron interacción con el hospedero que derivó en la colonización y promoción de beneficios diferenciales.

Por lo tanto, la comunidad de HMA que colonizan las raíces de las plantas depende de la planta hospedante, la disponibilidad local de inóculos y de las retroalimentaciones de la planta-HMA (Martínez-García, *et al*, 2011). Por esto, la relación de HMA de zonas geotérmicas puede beneficiar al sorgo en condiciones agrícolas. Según Sýkorová *et al*. (2007), la influencia de las especies de plantas en la composición de la comunidad HMA en las raíces están en acuerdo con los resultados de varios estudios que han presentado evidencia de las preferencias del huésped en la micorriza arbuscular en los últimos años. En todos estos casos, plantas hospederas albergan diversas comunidades de simbiontes *Glomeromycota*, generalmente de diferentes géneros o familias.

En otros estudios, factores ambientales distintos de la preferencia del huésped parecían ser dominante: como ejemplo se determina la dependencia del sitio, temporada de muestreo y suelo contenido de nitrógeno, fecha de muestreo y sitio de campo, o edad y clases de plantas

de semillero. Esta información fue corroborada con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

De igual manera, las diferencias en la promoción del desarrollo de las plantas por esporas del mismo color, pero colectadas en distintos momentos del año, pudiera ser resultado de que las variaciones en los morfotipos pueden promover beneficios diferenciales en la planta hospedera. Esto ha sido reportado por varios autores, que dicen que morfotipos de la misma especie de HMA colectados de diferentes sitios confieren diferente beneficio fisiológico a la misma especie de planta, por ejemplo, pueden presentar diferencias interespecíficas de efectividad para absorber fósforo, entre otros nutrientes y traslocarlos a la planta (Parniske, 2008; Díaz, *et al.*, 2013). Lo anterior se evidencia en un estudio realizado con petunias, en la cual tres especies diferentes de hongos mostraron efectos generalmente positivos, pero solo una pudo proteger la planta contra un hongo patógeno de la raíz (Hayek *et al.*, 2012). Por lo tanto, los efectos particulares de la inoculación de HMA deben probarse entre diferentes genotipos y condiciones ambientales (Rouphael *et al.*, 2015).

## Capítulo IV. Conclusiones

Los resultados obtenidos demuestran que:

- 1) Los HMA presentes en suelo rizosférico de Ixtlán de los hervores Mich. fueron capaces de asociarse con plantas de sorgo al presentar altos porcentajes de colonización radical e incrementar el número de esporas presentes en el suelo de dichas plantas.
- 2) Se pudo evidenciar que los HMA colectados en los distintos tiempos de muestreo produjeron un efecto diferencial en el desarrollo de las plantas de sorgo. Los HMA colectados en los meses de marzo y noviembre, principalmente con los grupos de esporas de color amarillo y transparente incrementaron la altura, biomasa fresca y seca y área foliar de las plantas de sorgo en los tiempos de cosecha. Solo las esporas transparentes colectadas en junio promovieron el incremento en la biomasa y área foliar de las plantas en alguno de los tratamientos analizados.
- 3) La concentración de glomalina presente en los suelos de Ixtlán, fue menor a la de los suelos en donde se creció las plantas de sorgo inoculadas con los HMA, lo cual evidencia la efectividad de los HMA para promover beneficios adicionales al suelo circundante a las plantas de sorgo.

## V. Referencias

- Abdel-Lateif, K., Bogusz, D. y Hocher, V., (2012). The role of flavonoids in the establishment of plant roots endosymbioses with arbuscular mycorrhiza fungi, rhizobia and Frankia bacteria. *Plant Signaling and Behavior*, 7, 636–641.
- Alarcón, A. y Ferrera, R., (2000). Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra*, 17(3), 179-191.
- Aldwell, F., Hall, I. y Smith J., (1983). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to identify endomycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 15, 377-378.
- Altieri, M., (2013). La Agricultura Moderna: Impactos Ecológicos y la Posibilidad de una Verdadera Agricultura sustentable. Extraído el 10 de marzo de 2017 desde: [http://www.motril.es/fileadmin/areas/medioambiente/ae/presentacion/documentos/IOA\\_g\\_riculturaModerna.pdf](http://www.motril.es/fileadmin/areas/medioambiente/ae/presentacion/documentos/IOA_g_riculturaModerna.pdf).
- Andreas, B. y Martin, P., (2006). The most widespread symbiosis on Earth. *PLoS Biol*, 4(7), 239.
- Andrews, M., Cripps, M.G. y Edwards, G.R., (2012). The potential of beneficial microorganisms in agricultural systems. *Annual Applied Biology*, 160, 1–5.
- Arriagada, C., Pereira, G. y Herrera, M., A., (2001). Recuperación de la flora microbiana de suelos contaminados con metales pesados a través del establecimiento de *Eucalyptus globulus* y *Glycine max* inoculadas con hongos micorrícicos y saprófitos. En: *Actas Sociedad Española de Fisiología Vegetal*, 340; ISBN: 84-7723-455-8.
- Audelo, M.A., y Irizar, M.B., (2012). Diseño de un sistema para la desinfección de sustrato utilizado en la producción de micorrizas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (4), 624-635.
- Azcón, R. y Barea, J.M., (1997). Mycorrhizal dependency of a representative planta species in Mediterranean shrublands (*Lavándula spica*, L.) as a key factor to its use for revegetation strategies in desertification threatened areas. *Applied Soil Ecology*, 7, 83-92.

- Barea, J.M., Bago, B., Azcón, C. y Piché, Y., (2000). Branching absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of simbitic arbuscular Mycorrhizal fungi. *New Phytology*, 139, 375-388.
- Bécard, G., Kosuta, M., Tamasloukht, N., Séjalon-Delmas, Y. y Roux, C., (2004). Partner communication in the arbuscular mycorrhizal interaction. *Canadian Journal of Botany*, 82, 1186-1197.
- Bender, S.F., Wagg, C. y Van der Heijden, M.G., (2016). An underground revolution: biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability. *Trends in Ecology and Evolution* 31, 440–452.
- Bernal, M., (2013). Fertilidad y contaminación de suelos agrícolas. Aplicación al cultivo de la vid. Extraído el 24 de julio desde [http://www.haro.org/pdf/resumen\\_bernal.pdf](http://www.haro.org/pdf/resumen_bernal.pdf).
- Bertin, C., Xiaohan, Y. y Weston, L.A., (2003). The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant Soil* 256, 67–83.
- Bethlenfalvay, G., (1992). Mycorrhizae and crop Productivity. In: *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. G.J. Bethlenfalvay; R.G. Linderman (Eds.). American Society of Agronomy INC. Madison Wisconsin. USA.
- Blanco, F.A. y Salas, E.A., (1997). Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en costa rica. *Agronomía Costarricense*, 21(1), 55-67.
- Bonfante, P. y Genre, A., (2015). Arbuscular mycorrhizal dialogues: do you speak “plantish” or “fungish”? *Trends in Plant Science* 20, 150–154.
- Bronick, C.J. y Lal. R., (2004). Soil structure and management: a review. *Geoderma* XX, 1-20.
- Brundrett M., Bougher N., Dell B., Grove T. y Malajczuk N., (1996). *Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture*. ACIAR. Pirie. Canberra, Australia. 374 pp.
- Buée M., Rossignol M., Jauneau A., Ranjeva R. y Bécard G., (2000). The presymbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 13, 693-698.
- Camargo, S.L., Montaña, N.M., De la Rosa, C.J. y Montaña, S.A., (2012). Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. *Revista Digital Universitaria*, 13(7), 1067-6079.

- Carreón, Y., Gómez, N. y Martínez, M., (2008). Las micorrizas arbusculares en la protección vegetal. *Biológicas*, 10, 60-70.
- Carvajal, J.S., y Mera, A.C. (2010). Fertilización biológica: técnicas de vanguardia para el desarrollo agrícola sostenible. *Producción más limpia*, 5(2), 77-96.
- Castelli, J.P. y Casper, B.B., (2003). Intraspecific AM fungal variation contributes to plantfungal feedback in a serpentine grassland. *Ecology*, 84, 323-336.
- Cerisola I.C., (2015). Fertilidad química, fertilización mineral: N-P-K. Obtenido de [http://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/20779/mod\\_folder/content/0/TEORIA%20FERTILIDAD%20MINERAL%202015.pdf](http://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/20779/mod_folder/content/0/TEORIA%20FERTILIDAD%20MINERAL%202015.pdf).
- Cobb, A. B., Wilson, G. W.T., Goad, C. L., Bean, S. R., Tesso, T. T. y Wilson J. D. (2017). Assessing the influence of farm fertility amendments, field management, and sorghum genotypes on soil microbial communities and grain quality. *Applied Soil Ecology*, 119: 367–374.
- Cobb, A.B., Wilson, G.W.T., Goad, C.L., Bean, S.R., Kaufman, R.C., Herald, T.J. y Wilson, J.D., (2016). The role of arbuscular mycorrhizal fungi in grain production and nutrition of sorghum genotypes: enhancing sustainability through plant-microbial partnership. *Agriculture, Ecosystem and Environment* 233, 432–440.
- Covacevich F. y Echeverría H.E., (2010). Indicadores para seleccionar inóculos de hongos micorrícicos arbusculares eficientes en suelos moderadamente ácidos. *Ci Suelo*; 28(1): 9-22.
- Daigle, D., (2003). Dead seas: nutrient pollution in coastal waters. *Multinational Monitor* 24, 12–14.
- Denison, R.F., (2012). *Darwinian Agriculture: How Understanding Evolution can Improve Agriculture*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Díaz A., Magallanes A., Aguado A., y Hernández J.L., (2015). Respuesta de la soya a inoculantes microbianos en el norte de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*; 6(2); 227-238.
- Dodd, J.C., C.L. Boddington, A. Rodriguez, C. Gonzalez-Chavez, y I. Mansur. (2000). Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: Form, function, and detection. *Plant Soil*. 226:131–151.

- Ellouze, W., Hamel, C., DePauw, R.M., Knox, R.E., Cuthbert, R.D. y Singh, A.K., (2015). Potential to breed for mycorrhizal association in durum wheat. *Canadian Journal of Microbiology* 62, 263–271.
- Ellouze, W., Taheri, A.E., Bainard, L.D., Yang, C., Bazghaleh, N., Navarro-Borrell, A., Hanson, K. y Hamel, C., (2014). Soil fungal resources in annual cropping systems and their potential for management. *BioMed Research International* 2014.
- Estrada A., Sandoval J., Guevara M. y Fujita R., (2005). Uso de la técnica SSCP para detectar mutaciones puntuales del ADN mitocondrial humano. *Revista. Peruana de Biología*. 12(3); 349- 358.
- Feddermann, N. Boller, T., Salzer, P., Elfstrand, S., Wiemken, A. y Elfstrand, M. (2007). *Medicago truncatula* shows distinct patterns of mycorrhiza-related gene expression after inoculation with three different arbuscular mycorrhizal fungi. *Planta*. DOI 10.1007/s00425007-0649-1.
- Fiorilli, V., Lanfranco, L. y Bonfante, P., (2013). The expression of GintPT, the phosphate transporter of *Rhizophagus irregularis*, depends on the symbiotic status and phosphate availability. *Planta* 237, 1267–1277.
- Garcia, K., Doidy, J., Zimmermann, S.D., Wipf, D. y Courty, P.E., (2016). Take a trip through the plant and fungal transportome of mycorrhiza. *Trends of Plant Science* 21 (11), 937–950.
- Gardezi, A.K., Cetina, V.M., Talavera, D., Ferrera, R., Rodríguez, F. y Larqué, M., (2000). Efecto de inoculación con endomicorriza arbúscular y dosis creciente de fertilización fosfatada en el crecimiento de chapulixtle. *Terra Latinoamericana*, 18(2), 153-159.
- Gederman, W.T. y Nicolson T.H., (1963). Spores of mycorrhizal endogone species stracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions British Mycological Society*, 46, 23-244.
- Gianinazzi-Pearson, V., (1996). Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis. *Plant Cell* 8, 1871–1883.

- Giovannetti, M, Sbrana, C, Avio, L, Citernesi, A.S. y Logi, C., (1993). Differential hyphal morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi during pre-infection stages. *New Phytologist*, 125, 587-593.
- Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G. y Bending, G.D., (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture Ecosystem and Environment* 113, 17–35.
- Grageda, O.A., Díaz, A., Peña, J.J., y Vera, J.A., (2012). Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6), 1261-1274.
- Gutjahr, C., (2014). Phytohormone signaling in arbuscular mycorrhiza development. *Current Opinion in Plant Biology* 20, 26–34.
- Hadebe, S.T., Modi, A.T. y Mabhaudhi, T., (2016). Drought tolerance and water use of cereal crops: a focus on sorghum as a food security crop in sub-Saharan Africa. *Journal Agronomy and Crop Science* 203, 177–191.
- Harrison, M.J., Dewbre, G.R. y Liu, J., (2002). A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Cell* 14, 2413–2429.
- Helber, N., Wippel, K., Sauer, N., Schaarschmidt, S., Hause, B. y Requena, N.,(2011). A versatile monosaccharide transporter that operates in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus sp.* is crucial for the symbiotic relationship with plants. *Plant Cell* 23 (10), 3812–3823.
- Helgason, T.H.O.R., Merryweather, J.W., Young, J.P.W. y Fitter, A.H., (2007). Specificity and resilience in the arbuscular mycorrhizal fungi of a natural woodland community. *Journal Ecology*, 95, 623-630.
- Hepper, C.M., Sen, R. y Maskal, C.S., (1986). Identification of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in roots of leek (*Allium porrum* L.) and maize (*Zea mays*, L.) On the basis of enzyme mobility during polyacrylamide gel electrophoresis. *New Phytologist*, 102(4), 529-539.
- Hernández, M.I., y Chailloux, M., (2001). La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill). *Temas de ciencia y tecnología*, 5(13), 11-27.

- Hetrick, B.A.D., Wilson, G.W.T. y Cox, T.S., (1993). Mycorrhizal dependence of modern wheat cultivars and ancestors—a synthesis. *Canadian Journal of Botany* 71, 512–518.
- Hetrick, B.A.D., Wilson, G.W.T., Gill, B.S. y Cox, T.S., (1995). Chromosome location of mycorrhizal responsive genes in wheat. *Canadian Journal of Botany* 73, 891–897
- [Http: //invam.wvu.edu/the-fungi/classification](http://invam.wvu.edu/the-fungi/classification), (2015). Clasificación taxonómica de Glomeromycota. Recuperado de <http://invam.wvu.edu/the-fungi/classification>.
- [Http: //www.agro.uba.ar/agro/ced/microbiologia/clases/micorrizas/clase/clase3.htm](http://www.agro.uba.ar/agro/ced/microbiologia/clases/micorrizas/clase/clase3.htm), (2015). Ciclo de vida de los HMA. Recuperado de <http://www.agro.uba.ar/agro/ced/microbiologia/clases/micorrizas/clase/clase3.htm>.
- [Http: //www.asturnatura.com/articulos/hongos/liquenes-micorrizas.php](http://www.asturnatura.com/articulos/hongos/liquenes-micorrizas.php), (2015). Representación esquemática de endo y ectomicorriza. Recuperado de <http://www.asturnatura.com/articulos/hongos/liquenes-micorrizas.php>.
- [Http://operacionco2.com/life-news/grata-colaboracion-en-el-analisis-de-la-presencia-demicorrizas-373.html](http://operacionco2.com/life-news/grata-colaboracion-en-el-analisis-de-la-presencia-demicorrizas-373.html), (2015). Tinción de raíces con azul de Tripano. Recuperado de <http://operacionco2.com/life-news/grata-colaboracion-en-el-analisis-de-la-presencia-demicorrizas-373.html>.
- [Http://www.efadip.org/comun/publicaciones/FTecnicas/Download/49ok%20micorrizas%20arbusculares.pdf](http://www.efadip.org/comun/publicaciones/FTecnicas/Download/49ok%20micorrizas%20arbusculares.pdf), (2015). Tinción de raíces con azul de Tripano. Recuperado de <http://www.efadip.org/comun/publicaciones/FTecnicas/Download/49ok%20micorrizas%20arbusculares.pdf>.
- Jason, D.A., Hetrick. B.A.D, y Jurgenson, J.E., (1996). Isolate Specific Detection of Mycorrhizal Fungi Using Genome Specific Primer Pairs. *Mycologia*, 88(6), 939-946.
- Jeffries, P. y Barea, J.M., (1994). Biogeochemical cycling and arbuscular mycorrhizas in the sustainability of plant-soil systems. In: *Impact of Arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems* Gianinazzi, S., Schüepp, H. (Eds.), Birkhäuser Verlag, Basel (p.101-115).
- Jeffries, P. y Barea, J.M., (2001). Arbuscular mycorrhiza a key component of sustainable plantsoil ecosystems. In: *The Mycota*. Hock, B. (Ed.), Fungal Associations. Springer- Verlag, Berlin, Heilderberg, 9, 95-113.

- Johansson, J.F., Paul, L.R. y Finlay, R.D., (2004). Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology*, 48, 1-13.
- Johnson, N.C. Graham, J.H. y Smith, F.A. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytology*, 135, 575-586.
- Kelly, R., Edwards, D., Thompson, J. y Magarey, R., (2001). Responses of sugarcane, maize, and soybean to phosphorus and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Crop Pasture Science* 52, 731–743.
- Khalil, S., Loynachan, T. y Tabatabai, M. (1994). Mycorrhizal dependency and nutrient uptake by improved an unimproved corn and soybean cultivars. *Agronomy journal*, 86, 949.
- Klironomos, J.H., M. Ursic, M. Rillig, y M.F. Allen. (1998). Interspecific differences in the response of arbuscular mycorrhizal fungi to *Artemisia tridentata* grown under elevated CO<sub>2</sub>. *New Phytologist* 138:599–605.
- Köhl, L. y van der Heijden, M.G., (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal species differ in their effect on nutrient leaching. *Soil Biology and Biochemistry* 94, 191–199.
- Koide, R. T. y Dickie, I. A., (2002). Effects of micorrhizal fungi on plant populations. *Plant Soil*, 244, 307-317.
- Koide, R.M.L., Lewis, J. y Irby, C., (1988). Role of mycorrhizal infection in the growth and reproduction of wild vs cultivated plants. I. wild vs cultivated oats. *Oecología*, 77, 537-543.
- Kosuta, S., Chabaud, M., Loughon, G., Gough, C. y Dénarié, J., (2003). A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis specific MtENOD expression in roots of *Medicago trunculata*. *Plant Physiology*, 131, 952-962.
- Koyama A., Pietrangelo O., Sanderson L. y Antunes P.M., (2017). An empirical investigation of the possibility of adaptability of arbuscular mycorrhizal fungi to new hosts. *Mycorrhiza*; 27; 553–563. DOI 10.1007/s00572-017-0776-x.

- Kumar, A.A., Reddy, B.V.S., Sharma, H.C., Hash, C.T., Rao, P.S., Ramaiah, B. y Reddy, P.S., (2011). Recent advances in sorghum genetic enhancement research at ICRISAT. *American Journal of Plant Science* 2, 589–600.
- Leyval, C., Turnau, K. y Haselwandter, K., (1997). Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7, 139-153.
- Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R.I. y Smith, D.L., (2000). Mycorrhizae formation and nutrient uptake of new corn (*Zea mays* L.) hybrids with extreme canopy and leaf architecture as influenced by soil N and P levels. *Plant Soil* 221, 157–166.
- López R., (2002). Degradación del suelo, causas, procesos, evaluación e investigación. 2ªed. Centro interamericano de desarrollo e investigación ambiental y territorial, universidad de los andes; Mérida, Venezuela. Pp.273.
- Lovelock, C.E., S.F. Wright, y K.A. Nichols. (2004). Using glomalin as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal growth: An example from a tropical rain forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 36:1009–1012.
- Maass, J.M. y García, F., (1990). La conservación de los suelos en zonas tropicales: el caso de México. *Ciencia y Desarrollo*, 15(90), 21-36.
- Mardhiah, U., Caruso, T., Gurnell, A. y Rillig, M.C., (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae reduce soil erosion by surface water flow in a greenhouse experiment. *Applied Soil Ecology* 99, 37–140.
- Marker, C., y Moller, F., (1995). Multiple form of enzymes: Tissue ontogenetic and species specific patterns. *Proceedings. National Academic Science (USA)*, 45, 753-763.
- Martínez-García, L.B. y F.I. Pugnaire., (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi host preference and site effects in two plant species in a semiarid environment. *Applied soil ecology*, 48, 313317.
- Martínez-García, L.B., Armas, C., Miranda, J.D., Padilla, F.M. y Pugnaire, F.I., (2011). Shrubs influence arbuscular mycorrhizal fungi communities in a semi-arid environment. *Soil Biology and Biochemistry*, 43, 682-689.

- Mena, H.G., Ocampo-Jiménez, O.; Dendooven, L.; Martínez-Soto, G.; González-Castañeda, J.; Davies Jr., F. T., y Olalde-Portugal, V., (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance fruit growth and quality of chile ancho (*Capsicum annum* L. cv San Luis) plants exposed to drought. *Mycorrhiza*, 16, 261-267.
- Merryweather, J. y Fitter, A.H., (1998). The arbuscular mycorrhizal fungi of *Hyacinthoides non-scripta*. II. Seasonal and spatial patterns of fungal populations. *New Phytologist's*, 138, 131-142.
- Mohammadi, E., Rezaee, Y., Prasad, D.R. y Varma, A., (2008). Mycorrhizal Fungi: What We Know and What Should We Know?. A. Varma (Ed.), *Mycorrhiza* (p.3-27).
- Mohammadi, K., Khalesro, S., Sohrabi, y Heidari, G., (2011). A Review: Beneficial Effects of the Mycorrhizal Fungi for Plant Growth. *Journal Applied Environment Biology Science*, 1(9), 310-319.
- Morales, M., (2007). Los biofertilizantes. Una alternativa productiva, económica y sustentable. *Procuraduría agraria*, (36) <http://www.buscagro.com/>. Extraído el 03 de noviembre de 2013 desde [http://www.pa.gob.mx/publica/rev\\_36/Marcel%20Morales%20Ibarra.pdf](http://www.pa.gob.mx/publica/rev_36/Marcel%20Morales%20Ibarra.pdf).
- Murugan M. y Karrupagnaniar S. (2011). Studies on association of arbuscular mycorrhizal fungi with *gluconacetobacter diazotrophicus* and its effect on improvement of sorghum bicolor (L.), *International Journal of Current Scientific Research*; 1(2): 23 – 30.
- Nair, M., Safir, G. y Siqueira, J., (1991). Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots. *Applied Environmental Microbiology*, 57, 434-439.
- Neumann, E., Schmid, B., Römheld, V. y George, E., (2009). Extraradical development and contribution to plant performance of an arbuscular mycorrhizal symbiosis exposed to complete or partial rootzone drying. *Mycorrhiza* 20, 13–23.
- Novero, M., Faccio, A., Genre, A., Stougaard, J., Webb, K.J., Mulder, L., Parniske, M. y Bonfante, P., (2002). Dual requirement of the *LjSym4* gene for mycorrhizal development in epidermal and cortical cells of *Lotus japonicus* roots. *New Phytologist*, 154, 741-749.

- Oliver, M.A. and Gregory, P.J., (2015). Soil, food security and human health: a review. *European Journal of Soil Science* 66, 257–276.
- Opick, M., Metsis, M., Daniell, T.J., Zobel, M. y Moora, M., (2009). Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest. *New Phytologist*, 184, 424-437.
- Parniske, M., (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Review Microbiology*, 6, 763-775.
- Paterson, A.H., Bowers, J.E. y Feltus, F.A., (2008). Genomics of sorghum, a semi-arid cereal and emerging model for tropical grass genomics. In: Moore, P.H., Ming, R. (Eds.), *Genomics of Tropical Crop Plants*. Springer, New York, pp. 469–482.
- Peoples, M.B., Herridge, D.F. y Ladha, J.K., (1995). Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? *Plant and Soil*, 174, 3–28.
- Phillips, J.M. y Hayman, D.S., (1970). Improved procedure of clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions British Mycological Society*, 55, 158-161.
- Pimentel, D., (2006). Soil erosion: a food and environmental threat. *Environment, Development and Sustainability* 8, 119–137.
- Pozo, M.J., Lopez-Raez, J.A., Azcon-Aguilar, C. y Garcia-Garrido, J.M., (2015). Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 205, 1431–1436.
- Raju, P.S., Clark, R.B., Ellis, J.R., Duncan, R.R. y Maranville, J.W. (1990). Benefit and cost analysis and phosphorus efficiency of VA mycorrhizal fungi colonizations with sorghum (*Sorghum bicolor*) genotypes grown at varied phosphorus levels. *Plant and Soil* 124:199-204.
- Ramos, J., (2012). Municipios de la región. Blogspot. Obtenido de <http://jaimeramosmendez.blogspot.mx/2012/01/municipios-de-la-region-zamora.html>.
- Read, D.J., (1998). Plants on the web. *Nature*, 396, 22-23.
- Redecker, D., (2000). Specific PCR primers to identify arbuscular mycorrhizal fungi within colonized roots. *Mycorrhiza*, 10, 73-80.

- Requena, N., Pérez-Solis, E., Azcón-Aguilar, C., Jeffries, P. y Barea, J.M., (2001). Management of indigenous plant-microbe symbiosis aids restoration of desertified. *Applied and Environment Microbiology*, 67, 495-498.
- Reyes, I., (2011). La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizosfera: comunidad microbiológica dinámica del suelo. *Contactos*, 81, 17-23.
- Rodríguez, A. y Sanders, I.R., (2015). The role of community and population ecology in applying mycorrhizal fungi for improved food security. *ISME J.* 9, 1053–1061.
- Rodríguez, J.A., (1989). Importancia de la micorrización artificial de diversas especies forestales españolas. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 15, 33-41. Extraído el 13 de noviembre de 2013 desde <https://n-1.cc/file/download/1861987>.
- Rodríguez, Y., Pérez, E., Lara, R.M., Fernández, F., De La Noval, B., y De La Providencia, I., (2002). Polimorfismo bioquímico de 7 especies de hongos micorrizógenos arbusculares inoculados en sorgo. *Cultivos Tropicales*, 23, 25-28.
- Rouphael, Y., Franken, P., Schneider, C., Schwarz, D., Giovannetti, M., Agnolucci, M., De Pascale, S., Bonini, P. y Colla, G. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops, *Scientia Horticulturae* 196 (2015) 91–108.
- Rousk, J. y Frey, S.D., (2015). Revisiting the hypothesis that fungal-to-bacterial dominance characterizes turnover of soil organic matter and nutrients. *Ecology Monography* 85, 457–472.
- Ruiz, J.M., Azcón, R. y Gómez, M., (1996). Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. *Physiology Plantarum*, 98, 767-772.
- SAGARPA, (2013). Biofertilizantes, Alternativa para una producción agrícola sustentable: INIFAP. Extraído el 11 de agosto de 2013, desde [http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/campeche/Lists/Boletines/Attachments/25/300609 %20biofertilizantes%20inifap.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/campeche/Lists/Boletines/Attachments/25/300609%20biofertilizantes%20inifap.pdf).
- Salamanca, C.R., y Solís, M.R., (1998). Las micorrizas como alternativa para el manejo sostenible de los agroecosistemas tropicales. *Corpoica*, 12, 5-26.

- Samano, L., M., G., (2014). Efecto de un consorcio de hongos micorrízicos de una zona geotérmica en maíz bajo estrés hídrico. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR, Unidad Michoacán).
- Sanders, I.R. y Fitter, A.H., (1992). The ecology and functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas in co-existing grassland species II. Nutrient uptake and growth of vesicular arbuscular mycorrhizal plants in semi-natural grassland. *New Phytology*, 120, 525-533.
- Sanders, I.R., Clapp, J.P. y Wiemken A., (1996). The genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in natural ecosystems a key to understanding the ecology a functioning of the mycorrhizal symbiosis. *New Phytology*, 133, 123-134.
- Sanzano, A.M. T. (2016). Evaluación del uso de la glomalina como indicador del impacto del fuego y el manejo post-incendio. *Universitas Miguel Hernández*. España.
- Sarabia, M., Madrigal, R., Martínez, M. y Carreón, Y., (2010). Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Biológicas*, 12(1), 65-71.
- Scheublin, T.R., Ridgway, K.P., Young, J.P.W. y Van der Heijden, M.G.A., (2004). Non legumes, legumes, and root nodules harbor different arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 6240-6246.
- Scheublin, T.R., Van Logtestijn, R.S.P. y Van der Heijden, M.G.A., (2007). Presence and identity of arbuscular mycorrhizal fungi influence competitive interactions between plant species. *Journal Ecology*, 95, 631-638.
- Schmidt, J.E., Bowles, T.M. y Gaudin, A.C., (2016). Using ancient traits to convert soil health into crop yield: impact of selection on maize root and rhizosphere function. *Frontiers in Plant Science* 7.
- Schüssler, A., Schwarzott, D. y Walker, C., (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycology Research*, 105, 1413-1421.
- Shalini, R., Chamola, B.P. y Mukerji, K.G., (Aut.)(2000). *Mycorrhizal biology*. Muketji, K.G., Chamola, B.P., & Singh, J., (Ed). (p. 1-20). University of Delhi: Delhi, India.

- Simon, L., Bousquet, R., Levesque, C. y Lalonde, M., (1993). Origin and Diversification of Endomycorrhizal Fungi and Coincidence with Vascular Land. Plants. *Nature*, 363, 67-69.
- Smith, S. y Read, D., (1997). *Mycorrhizal symbiosis*, 2nd ed. London, UK: Academic Press.
- Smith, S.E. y Read, D.J., (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*, third ed. Academic Press, Oxford.
- Sun, X., Shi, J. y Ding, G. (2017). Combined effects of arbuscular mycorrhiza and drought stress on plant growth and mortality of forage sorghum. *Applied Soil Ecology* 119: 384–391.
- Sýkorová Z., Wiemken A. y Redecker D., (2007). Cooccurring *Gentiana verna* and *Gentiana acaulis* and their neighboring plants in two swiss upper montane meadows harbor distinct Arbuscular Mycorrhizal Fungal communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, (17). 5426–5434.
- Takeda, N., Handa, Y., Tsuzuki, S., Kojima, M., Sakakibara, H. y Kawaguchi, M., (2015). Gibberellin regulates infection and colonization of host roots by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Signaling and Behavior* 10, e1028706.
- Tapia-Goné J.J., Ferrera-Cerrato R., Varela-Fregoso L., Rodriguez-Ortiz J.C., Soria-Colunga J.C., Tiscareño-Iracheta M.A., Loredó-Osti C., Alcalá-Jáuregui J. y Villar-Morales C., (2010). Infectividad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga. *Revista mexicana de micología*. 31; 69-74.
- Tesfamariam, T., Yoshinaga, H., Deshpande, S.P., Rao, P.S., Sahrawat, K.L., Ando, Y., Nakahara, K., Hash, C.T. y Subbarao, G.V., (2014). Biological nitrification inhibition in sorghum: the role of sorgoleone production. *Plant Soil* 379, 325–335.
- Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'Antonio, C., Dobson, A., Howarth, R., Schindler, D., Schlesinger, W.H., Simberloff, D. y Swackhamer, D., (2001). Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*, 292, 281–284.
- Tilman, D., Wedin, D., y Knops, J., (1996). Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature*, 379, 718-720.

- Tiunov, V.V. y Scheu, S., (2005). Arbuscular mycorrhiza and Collembola interact in affecting community composition of saprotrophic microfungi. *Oecología*, 142, 636-642.
- Treseder, K.K. (2005). Nutrient acquisition strategies of fungi and their relation to elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. p. 713–731. In J. Dighton et al. (Ed.). *The fungal community: Its organization and role in the ecosystem*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Tully, K., Sullivan, C., Weil y R. y Sanchez, P., (2015). The state of soil degradation in sub-Saharan Africa: baselines, trajectories, and solutions. *Sustainability* 7, 6523–6552.
- Van Der Heijden, M.G.A., (2004). Arbuscular mycorrhizal fungi as support systems for seedling establishment in grassland. *Ecology Letters*, 7, 293-303.
- Van Der Heijden, M.G.A., Klinomoros, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A. y Sanders, I.R., (1998). Mycorrhizal fungal biodiversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 296, 69-72.
- Van Der Heijden, M.G.A., Martin, F.M., Selosse, M.A. y Sanders, I.R., (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205, 1406-1423.
- Vaz, A.B.M., Sampedro, I., Siles, J.A., Vasquez, J.A., García-Romera, I., Vierheilig, H., Rosa, C.A. y Ocampo, J.A. (2012). Arbuscular mycorrhizal colonization of *Sorghum vulgare* in presence of root endophytic fungi of *Myrtus communis*. *Applied Soil Ecology* 61 (2012) 288– 294.
- Walker, C. y Sanders, F.E., (1986). Taxonomic concepts in the Endogonaceae: III. The separation of *Scutellospora* gen. nov. from *Gigaspora* Gerd. & Trappe. *Mycotaxon*, 27, 169-182.
- Walker, C. y Trappe, J.M., (1992). Names and epithets in the Glomales and Endogonales. *Mycology Research*, 96.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J., (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand

D.H., Sninsky J.J., White T.J. (eds) PCR protocols, a guide to methods and applications (p. 315-322). Academic, San Diego.

- Willis, A., Rodrigues, B.F. y Harris, P.J.C., (2013). The ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *CRC Critical Review in Plant Science* 32, 1–20.
- Wilson, G.W. y Hartnett, D.C., 1998. Interspecific variation in plant responses to mycorrhizal colonization in tallgrass prairie. *American Journal and Botany* 85, 1732–1738.
- Wilson, G.W., Rice, C.W., Rillig, M.C., Springer, A. y Hartnett, D.C., (2009). Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecology Letters* 12, 452–461.
- Wilson, J.M, y Thinrck, M.J., (1983). Infection development and interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 93, 543-553.
- Wright S. y Upadhyaya A., (1996). Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science* 161: 575586.
- Wright, S.F. y Morton J.B., (1989), Detection of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungus Colonization of Roots by Using a Dot-immunoblot Assay. *Applied and Enviromental Microbiology*, 55(3), 761-763.
- Wright, S.F., Franke-Snyder M., Morton J.B. y Upadhyaya A. (1996). Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant and Soil* 181: 193-203.
- Wright, S.F., y A. Upadhyaya. (1999). Quantify cation of arbuscular mycorrhizal fungi activity by the glomalin concentration on hyphal traps. *Mycorrhiza* 8:283–285.
- Zamudio, H. A., (2016). Comparación de la infectividad de un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en distintos cultivos trampa y su identificación molecular. (Tesis no publicada). UCEM. Sahuayo, Michocán, Mex. Pp. 104.
- Zhu, Y.G. y Miller, R.M., (2003). Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. *Trends in Plant Science* 8, 407–409.

