

AISLAMIENTO, REPRODUCCIÓN Y EVALUACIÓN DE MICORRIZAS DE UN ANDOSOL DE USO FORESTAL

ISOLATION, REPRODUCTION AND EVALUATION OF MYCORRHIZAE OF AN ANDOSOL OF FOREST USE

**Irene Yesenia Teófilo-Rocha¹, María Eugenia Bahena-Galindo^{2*},
Denisse Acosta-Peñaloza³**

¹Maestría en Manejo de Recursos Naturales, Centro de Investigaciones Biológicas; ²Laboratorio de Edafoclimatología, Departamento de Biología Vegetal, Centro de Investigaciones Biológicas, Correo-e: bahenam@uaem.mx; ³Facultad de Ciencias Biológicas; Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, col. Chamilpa, CP 62209, Cuernavaca, Morelos, México.

*Autor para correspondencia. Correo-e: bahenam@uaem.mx

RESUMEN

El uso inmoderado de agroquímicos en el suelo ha generado la pérdida de nutrientes y microorganismos, lo que ha repercutido en la infertilidad del suelo. El uso de microorganismos como las micorrizas, ayudan a las raíces de las plantas a obtener y optimizar de forma natural la absorción de nutrientes. Diversos autores han descrito las ventajas del uso de micorrizas en muchos cultivos por lo que los objetivos del presente trabajo fueron: Aislar micorrizas de suelo; reproducir micorrizas en laboratorio en cultivo trampa y evaluar el efecto de la inoculación en el crecimiento y desarrollo del cultivo de lechuga. Para el aislamiento, en el campo Experimental de la Facultad de

Ciencias Agropecuarias, donde se observaron condiciones que benefician la presencia de micorrizas, se tomaron muestras de suelo en la zona activa de raíces secundarias en cuatro sitios con especies de Huaje (*Leucaena leucocephala*), llora sangre (*Pterocarpus hayesii*), cazahuate (*Ipomoea murucoides*) y pino ocote (*Pinus oocarpa*). El aislamiento se realizó con el método de decantación y tamizado húmedo. Para la multiplicación de micorrizas se estableció un cultivo trampa con suelo obtenido del pino ocote en macetas con capacidad de 2 kg, en las que se colocaron semillas de frijol y sorgo, previamente desinfectadas. Los tratamientos fueron: frijol, sorgo y frijol/sorgo. El cultivo trampa se mantuvo durante 90 días. Se

sembró lechuga en suelo inoculado con las micorrizas provenientes de suelo de sorgo, frijol, sorgo+frijol y suelo sin inocular, en charolas de polietileno de 200 cavidades. El crecimiento de la lechuga, se mantuvo por 21 días después de la emergencia de la semilla, posteriormente se tomaron datos de peso en fresco, tamaño de la plántula con raíz, tamaño de plántula (porción aérea), tamaño de raíz, área foliar y número de hojas verdaderas. De acuerdo a los datos obtenidos se concluyó que el tratamiento de sorgo-frijol es aquel que indujo un mejor resultado en el cultivo de plántulas de lechuga. Al evaluar el efecto de las micorrizas se encontró que un tratamiento mixto como el de frijol-sorgo tiene una mayor probabilidad de colonizar las raíces de la lechuga en comparación con la inoculación con una sola especie.

Palabras clave: *Aislamiento, Inoculación, micorrizas, lechuga.*

ABSTRACT

The immoderate use of agrochemicals in the soil has generated the loss of nutrients and microorganisms, this has affected the infertility of the soil. The use of microorganisms such as mycorrhizae help the roots of plants to naturally obtain and optimize the absorption of nutrients. Various authors have described the advantages of using mycorrhizae in many crops, so the objectives of this work were: Isolate soil mycorrhizae; reproduce mycorrhizae in the laboratory in a trap culture and evaluate the effect of inoculation on the growth and development of the lettuce seedlings production. For isolation, in the experimental field of the Faculty of Agricultural Sciences, where conditions that benefit the presence of mycorrhizae were observed, soil samples were taken in the active zone of secondary roots in four sites with species of "Huaje", "Llora sangre", "Cazahuate" and "Pino ocote" were growing. The isolation was carried out with the decanting and wet sieving method. For the multiplication of mycorrhizae, a trap culture was established with soil obtained

from "pino ocote", in pots with a capacity of 2 kg, in which previously disinfected bean and sorghum seeds, were sowed. The treatments were: bean, sorghum and bean/sorghum. The trap culture was maintained for 90 days. Lettuce was planted in soil inoculated with mycorrhizae from sorghum, bean and sorghum+bean soil, and uninoculated soil, in 200-cavity polyethylene trays. The growth of the lettuce was maintained for 21 days after the emergence of the seed, later data on fresh weight, size of the seedling with root, size of the seedling (aerial portion), size of the root, leaf area and number of true leaves, were recorded. According to the data obtained, it was concluded that the sorghum-bean treatment is the best to induce the better result in the cultivation of lettuce seedlings. When evaluating the effect of mycorrhizae, it was found that a mixed treatment such as bean-sorghum, has a greater probability of colonizing lettuce roots compared to inoculation with a single species.

Keywords: *lettuce, Isolation, Inoculation, mycorrhizae,*

INTRODUCCIÓN

La definición de suelo depende del área de interés que se involucra con él. Desde el punto de vista agrícola, el suelo es la capa de material fértil que recubre la superficie de la Tierra y que es explotada por las raíces de las plantas y a partir de la cual obtienen sostén, nutrimentos y agua; y existen varias definiciones que incorporan su papel fundamental en los procesos ecosistémicos, debido a las funciones y servicios que realiza tales como la regulación y la distribución del flujo de agua o como amortiguador de los efectos de diversos contaminantes (SEMARNAT, 2012).

Correa (2013) menciona que los microorganismos del suelo contribuyen a la sustentabilidad de todos los ecosistemas por ser los principales agentes del ciclo de los nutrientes al regular la dinámica de la materia orgánica (MO) del suelo, el

secuestro de carbono, la emisión de gases de efecto invernadero, la estructuración del suelo y la retención de agua, del aumento en la eficiencia de adquisición de nutrientes por las plantas y del mantenimiento de la salud vegetal. La mayoría de las especies vegetales en los ecosistemas establecen relaciones más o menos estrechas con microorganismos rizosféricos que les permiten acceder a nutrientes esenciales para su crecimiento. Entre los numerosos microorganismos que habitan la rizosfera se incluyen las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno, los hongos de las micorrizas y las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Sin embargo, su rol natural se ha visto marginalizado debido a modificaciones inducidas por labranzas y el uso excesivo de fertilizantes inorgánicos, herbicidas y pesticidas; mientras que las micorrizas son una condición común en la mayoría de las plantas, están distribuidas entre las familias vegetales y parece haberse dispersado y evolucionado junto con las primeras especies vegetales (Allen, 1991).

Se ha demostrado que las plantas micorrizadas incrementan la captación de nutrimentos minerales, especialmente aquellos que son poco móviles en el suelo, como fósforo, cobre y zinc (Smith & Read, 1997). Actualmente la expansión de técnicas agro-productivas convencionales (el monocultivo y el uso de agroquímicos) está provocando una profunda crisis ecológica, generando la necesidad de evaluar la eficiencia de los sistemas de producción en un contexto de sostenibilidad (Martínez, 2009). Por lo que en la producción de cultivos el rendimiento puede aumentar a través de tecnologías basadas en procesos biológicos. Según Raddatz (2001), quien señala que una alternativa para dicho fin, es el uso de biofertilizantes a base de micorrizas, hongos benéficos que han coevolucionado en simbiosis con las plantas.

El suelo y los microorganismos

El suelo juega un papel fundamental en todos los procesos ecosistémicos, debido a las funciones que realiza y servicios que

proporciona. Aunque constantemente está en formación, su proceso es sumamente lento por lo cual, se considera un recurso natural no renovable a escala de tiempo humana, aunado a lo difícil y costoso que resulta recuperarlo o mejorar sus propiedades después de haber sido deteriorado física, química o biológicamente (CONAFOR, 2014).

Torsvik *et al.* (2002), mencionan que la hiperdensidad e hiperdiversidad son los dos aspectos fundamentales que caracterizan a las comunidades microbianas del suelo. La cantidad de microorganismos en un gramo de suelo puede variar entre 10^7 y 10^9 células, mientras que algunas estimaciones indican la posibilidad de que haya al menos 10^4 especies microbianas distintas por gramo de suelo. La biodiversidad es una propiedad que condiciona la capacidad de recuperación del sistema edáfico ante una alteración y que le asegura su estabilidad funcional (Griffiths *et al.*, 2001), Además, brinda la posibilidad de obtener microorganismos con capacidad de promover el crecimiento de los cultivos de tal manera que la sustentabilidad de los agroecosistemas se vea favorecida por diversos mecanismos (García, 2011).

Debido a que es un medio opaco y compacto, es difícil conocerlo y en particular a los organismos microscópicos. Por eso, la mayoría de los organismos del suelo viven cerca de la superficie al igual que la mayoría de las raíces de las plantas (Plaster, 2000). Esta multitud de organismos pequeños, por su tamaño se pueden ordenar en macrofauna, mesofauna, microfauna y microflora que incluye bacterias y distintos tipos de hongos (Negrete y Barois, 2012).

Importancia de las micorrizas

Las asociaciones micorrízicas son cosmopolitas por su presencia en la mayoría de los hábitats naturales, se ha reportado que la mayoría de las plantas terrestres tienen asociaciones con hongos, cerca del 80% de las especies terrestres y el 92% de las familias de plantas muestran tener

asociaciones micorrízicas (Wang & Qiu, 2006).

Carrillo (2003) menciona que las ventajas nutricionales que obtiene cada integrante de una asociación micorrízica explica en parte, el éxito de tal interrelación. Algunos hongos micorrízicos pueden producir auxinas, es decir, hormonas que estimulan el crecimiento de los vegetales y otros producen antibióticos. Esto ayuda a regular el microambiente alrededor de las raíces y contribuye a prevenir la infección de las plantas. Experimentalmente se demostró que los hongos micorrízicos proveen protección contra *Phytophthora infestans*.

Las especies vegetales que forman micorrizas presentan una fisiología y una ecología diferentes de aquéllas que no forman esta asociación. Se considera a la asociación micorrízica como uno de los factores promotores de la diversidad vegetal, al aumentar la adecuación de las plantas (supervivencia, crecimiento y reproducción) y facilitar su establecimiento, incluso bajo condiciones de estrés ambiental lo cual, tiene un impacto positivo en la diversidad de plantas, tanto a una escala poblacional como de las comunidades vegetales (Van der Heijden, 2002).

Clasificación de las micorrizas

Frank (1885) reconoció dos tipos de asociaciones micorrízicas, empleó el término micorriza endotrófica, cuando el hongo se alojaba en el tejido interno del hospedero y micorriza ectotrófica, cuando la hifa del hongo formaba una envoltura que rodeaba a la raíz. Estas primeras clasificaciones, separaban a las micorrizas de acuerdo con su morfología y localización en las raíces de las plantas; posteriormente, llamadas endomicorrizas, ectomicorrizas y ectendomicorrizas.

Camarena (2012) clasifica a las micorrizas en siete tipos de asociaciones en función de su morfología y de los taxones de plantas asociados con hongos:

1) Ectendomicorrizas. Son asociaciones formadas entre un número limitado de ascomicetos y los géneros de coníferas *Pinus* y *Larix*; tienen un manto y una estructura compleja altamente ramificada llamada red de Hartig. Después de la formación de esta red, se desarrolla la hifa intracelular en células de la epidermis y en la corteza de la planta.

2) Ericoide. Representa un tipo único de micorrizas confinadas a varias familias del orden Ericales. Las plantas que desarrollan este tipo de micorriza forman raíces laterales muy finas que carecen de crecimiento secundario. Cada raíz consiste de un cilindro vascular delgado, una o dos capas de células corticales y una capa de epidermis. La asociación incluye la colonización de las células de la epidermis por la hifa, seguida de la formación de un complejo de hifas ramificadas.

3) Arbutoide. Dos géneros de la familia Ericaceae (*Arbutus* y *Arctostaphylos*) y varios géneros en la familia Pyrolaceae forman micorrizas arbutoides típicas. Estas micorrizas tienen un manto, una red de Hartig y forman complejos hifales intracelulares confinados a la epidermis.

4) Monotropoide. Las especies de plantas que tienen esta micorriza son no fotosintéticas. La evidencia sugiere que los hongos que forman este tipo de micorriza se asocian también a árboles vecinos fotosintéticamente activos, y que han desarrollado un mecanismo para obtener sus fotosintatos. Björkman (1960) demostró que se pueden mover fotosintatos desde árboles vecinos a *Monotropa hypopithys*.

5) Orquideoide. Sólo se desarrollan en la familia Orchidaceae. La principal característica de esta micorriza es la formación de pelotones dentro de las células de la planta.

6) Ectomicorriza. Aunque hay mucha variación estructural y morfológica, se pueden distinguir tres características reconocidas para tipificar esta asociación: la formación de un manto o vaina de hifas que cubren porciones considerables de raíces laterales, el desarrollo de hifas entre las células de la raíz para formar la red de Hartig

y la hifa que emana del manto y crece en el suelo.

7) Arbuscular. También llamada micorriza vesicular-arbuscular. Es una asociación entre las raíces de la mayoría de plantas vasculares y un grupo pequeño de hongos del nuevo *phylum Glomeromycota*. Esta micorriza se caracteriza por la presencia de una hifa intra o intercelular, arbuscúlos (hifas finamente ramificadas que participan en el intercambio de nutrientes), micelio extra-radical que conecta a la raíz con el suelo, y esporas formadas en el micelio extra-radical. Algunas especies forman estructuras llamadas vesículas, que son porciones de hifa que se llenan de cuerpos lipídicos, dando a este grupo el nombre de micorriza vesicular-arbuscular.

Garzón (2016) realizó un estudio de la importancia de las micorrizas arbusculares (MA) para un uso sostenible del suelo en la Amazonia Colombiana. Cuyos resultados demostraron que de los hongos formadores de micorrizas arbusculares, el género *Glomus* es el que se encuentra más ampliamente distribuido en los trópicos, especialmente en el área del Trapecio Amazónico. El género *Acaulospora* se encuentra en menor medida y está más relacionado con suelos ácidos; mientras que la *Gigaspora* se encuentra principalmente en zonas de terraza y loma. Otros géneros como *Archaeospora* y *Scutellospora* tienen una baja abundancia y distribución en la zona amazónica.

Ramírez et al. (2018) realizaron la biofertilización con hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) en especies forestales en vivero. Los resultados mostraron que las plantas inoculadas con *Glomus sp.* + *Gigaspora sp.* presentaron los mayores valores en alturas y diámetros, así como una mayor translocación de nutrientes hacia las especies *Gmelina arborea*, *Pachira quinata*, *Acacia mangium* y *Eucalyptus sp.* La simbiosis MA especies forestales, tiene efectos benéficos sobre el desarrollo de las plantas, permitiendo reducción de tiempo y costos de producción en vivero.

Tapia et al. (2010) evaluaron la infectividad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). En los resultados, la eficiencia de un consorcio de micorrizas conformado por cuatro morfoespecies, aisladas y propagadas de cinco sitios de suelos salinos y posteriormente propagadas e inoculadas en plantas de lechuga, conservaron su capacidad infectiva, ya que la colonización micorrízica fue mayor de 80%, sin embargo, no se observó efectividad para las variables morfológicas evaluadas (volumen radical, área foliar y peso seco del follaje).

Sánchez et al. (2018) realizaron el aislamiento e identificación de micorrizas arbusculares asociadas a la rizósfera del chile piquín (*Capsicum annum var aviculare L.*). En los resultados que se obtuvieron de catorce aislamientos mono-específicos, integrando siete especies de hongos micorrízicos: *Rizophagus intraradices*, *Glomus sp.*, *Glomus mosseae*, *Glomus clarum*, *Gigaspora albida*, *Sclerocystis coremioides* y *Acaulospora sp.* La especie con mayor número de esporas fue *Rizophagus intraradices* con 3,285 esporas, alcanzando también los más altos porcentajes de colonización.

Parada et al. (2018) evaluaron el efecto de la fertilización y la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en los perfiles y actividades antioxidantes en la fruta *Fragaria ananassa*. Frutos sin tratamientos de fertilización y con medio tradicional, presentaron mayores concentraciones de antocianinas. En general, se obtuvieron valores más altos sin colonización de hongos micorrízicos arbusculares. Sin embargo, las pruebas espectrofotométricas mostraron la mayor actividad y concentración en los tratamientos inoculados con MA. Es probable que haya compuestos fenólicos distintos de las antocianinas en los extractos. Estos otros compuestos no pudieron identificarse mediante el método utilizado, pero sí pudieron detectarse mediante el método Folin-Ciocalteu.

Vieira *et al.* (2019) identificaron los factores edáficos que influyen en la distribución de hongos micorrícicos arbusculares a lo largo de un gradiente altitudinal de una montaña tropical. Cuyos resultados fueron, que los niveles más bajos de la diversidad de Shannon, ocurrieron solo a menor altitud. Sin embargo, no hubo diferencia en la riqueza de hongos micorrícicos arbusculares (MA). La estructura del conjunto de MA entre las dos altitudes más altas fue similar y diferente en relación con la altitud más baja. Hubo variación en la distribución de las especies de MA, que se relacionó con la textura del suelo y los factores químicos a lo largo del gradiente de altitud.

Bustamante (2019) realizó la multiplicación de micorrizas en tres diferentes sustratos en simbiosis con plantas trampa de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) y albahaca (*Ocimum basilicum*) en condiciones de invernadero. Donde los resultados mostraron que la determinación del tipo de cepa que presenta mayor capacidad micorrízica tanto la micorriza nativa, cómo la LMSSK al 60%, alcanzaron valores de 99% de colonización, es decir, ambas tienen capacidad de colonización. Y que el mejor sustrato con el 99% de colonización y 1,960 esporas/100 g de suelo independientemente del tipo e inóculo, fue el que contiene la mezcla tierra + turba de coco + picón.

Martínez *et al.* (2019) determinaron la efectividad de hongos micorrizo-arbusculares (MA) de suelos con diferentes usos agropecuarios. Donde se evaluó el efecto de la inoculación micorrizal mediante el monitoreo del contenido de P foliar en las plantas de *Leucaena leucocephala*, en función del tiempo y la colonización micorrizal. En donde el crecimiento de *Leucaena leucocephala* y el contenido de P foliar fue significativamente superior cuando el suelo se inoculó con *Glomus fasciculatum*, en comparación a aquel observado con los demás tratamientos. De igual forma, la colonización micorrizal fue muy alta en las raíces de

Leucaena leucocephala que crecieron en el suelo inoculado con *Glomus fasciculatum* e inferior en los otros tratamientos. Y concluyeron que los resultados indican que los MA nativos de suelos con diferentes usos, provenientes del Centro de Investigación Turipaná de Agrosavia, exhibieron bajo potencial para desarrollar simbiosis micorrizal, lo que limitó el crecimiento y la concentración de P foliar en la planta hospedera.

Por lo anterior los objetivos del presente trabajo fueron: Aislar micorrizas presentes en muestras de suelo; Reproducir micorrizas en laboratorio bajo cultivo trampa y evaluar el efecto de la inoculación en el crecimiento y desarrollo del cultivo de lechuga.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de Edafoclimatología del Centro de Investigaciones Biológicas y en las Instalaciones del campo experimental de la Facultad de Ciencia Agropecuarias, ambos pertenecientes a la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, ubicados entre las coordenadas 18° 58' 56" de latitud norte y a 99° 13' 48" de longitud oeste; y a una altitud promedio de 1860 msnm.

Abad-Fitz (2003) menciona que la zona presenta un clima (A)C(w₂)(w)_{ig}, semicálido, el más fresco de los cálidos con lluvias en verano, el más húmedo de los subhúmedos, con presencia de canícula, porcentaje de lluvia invernal menor de cinco, verano largo y fresco, isotermal y marcha de temperatura tipo Ganges.

El mes más caliente es mayo (23 °C) en tanto que el mes más frío es enero (18.7 °C); sin embargo, la temperatura máxima promedio es de 26.8 °C y la mínima promedio de 15.1 °C, por ubicarse latitudinalmente dentro de la zona tropical permite que la oscilación térmica anual sea poca (4.3 °C). La precipitación total anual es de 1332.5 mm, el mes más húmedo por lo

general es agosto con 381.3 mm, en tanto que el más seco o sin precipitación es febrero; la sequía relativa se presenta durante el mes de julio con una duración promedio de dos meses y una intensidad de 11.77%.

Unidad edáfica.

En términos edáficos, la zona se caracteriza por la presencia de Andosoles (del japonés: An=oscuro y Do= suelo); formados de materiales ricos en vidrio volcánico, presenta un horizonte A de color pardo oscuro a negro por la presencia de materia orgánica (hasta un 8% en zonas no perturbadas), además de una estructura migajonosa a granular, con una densidad aparente de 0.86-1.73 g/ml, esta propiedad física refleja la alta porosidad (Bahena, 2011).

Son suelos sueltos, inmaduros, con profundidades mayores de 50 cm, con pH ligeramente ácido llegando en ocasiones hasta la neutralidad; ubicados en topografía accidentada y de fácil erosión, caracterizando áreas donde ha habido una reciente actividad volcánica; todos son de textura media, con fases líticas someras y profundas (Aguilar, 1990; Boyás *et al.*, 1993).

Flora.

La flora de Cuernavaca es muy variada de acuerdo con sus zonas: El norte de la zona se encuentra cubierto por bosques de tipo mesófilos de montaña, pino y encino; al extremo sur predomina el pastizal inducido, asociado con condiciones secundarias de selva baja caducifolia, representada por herbáceas altas como la higuera y acahuales; en las barrancas que se localizan al poniente y en las que cruzan la ciudad, se aprecian distintas variedades de árboles como fresno, jacaranda, ciruelo, sauce, amate y guayabo. Dentro de las barrancas, en las partes húmedas, se presentan bosques de galería, los cuales están dejando de existir por el crecimiento de la población (INAFED, 2001).

Selección de la zona de muestreo.

Se realizó un recorrido en las instalaciones del Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, con el fin de encontrar las condiciones que benefician la presencia de micorrizas; como lo son lugares con vegetación nativa o un área agrícola donde el uso de agroquímicos no es frecuente, además de contar con presencia de materia orgánica, lo cual indica que la zona no está perturbada y si conservada. Se seleccionaron cuatro sitios tomando como referencia las siguientes especies: huaje, llora sangre, caahuate y pino ocote.

Muestreo de suelo.

Para la toma de muestras es necesario considerar que la copa de la especie seleccionada delimita el área a muestrear, y que, de tres cuartos de distancia del tronco, a la orilla de la copa en forma de circunferencia bajo el suelo, se encuentra la zona activa de raíces secundarias. En dicha zona se cavó un pozo de 20 x 20 cm, se colectó aproximadamente un kilo de muestra, se rotuló con el nombre de la especie sustraída y su lugar geográficamente localizado; posteriormente se trasladó al laboratorio para su análisis y observación.

Observación de la presencia de micorrizas.

Para llevar a cabo este procedimiento se realizó un lavado de partículas, mediante el método de decantación y tamizado húmedo el cual consiste en lo siguiente:

Paso 1. Se tomó una muestra de 20 g de suelo y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 500 ml, el cual se aforó a 450 ml con agua corriente y se le aplicó fuerza rotatoria durante 30 seg, se dejó reposar hasta que las partículas de suelo se sedimentaron.

Paso 2. Una vez sedimentado el suelo; se realizó el proceso de decantación

pasando el agua por distintos tamices de acero inoxidable (MONT INOX) con distintos tamaños de mallas (0.0165", 0.0098", 0.0048", 0.0029", 0.0021" pulgadas), esto se repitió dos veces más con la muestra inicial.

Paso 3. El material captado a través de los tamices de malla de 0.0048" y 0.0029" fue retirado cuidadosamente con ayuda de una piceta con agua destilada y colocado en una caja Petri de 60x15, posteriormente se observó en un microscopio estereoscópico y se determinó la presencia o ausencia de esporas de micorrizas. Una vez confirmada la presencia en cada una de las muestras se procedió a la multiplicación mediante la utilización de un cultivo trampa.

Establecimiento del cultivo trampa.

Para la multiplicación de micorrizas se estableció un cultivo trampa con suelo obtenido del pino ocote en macetas que tenían capacidad aproximada de 2 kg de suelo de la rizósfera (Figura 1), proveniente del área donde se observó la presencia de micorrizas. Posteriormente, la reproducción consistió en colocar semillas de frijol y sorgo bajo un diseño experimental de bloques al azar de tres tratamientos distribuidos en nueve macetas. Previamente las semillas a utilizar fueron colocadas en una solución de 50 ml agua y 50 ml de alcohol (50%), para su desinfección en un intervalo de 5 minutos en la solución. Los tratamientos fueron los siguientes: frijol (F); sorgo (S) y frijol/sorgo (FS). Se colocaron 15 semillas por maceta y cada tratamiento con tres repeticiones. El periodo de desarrollo del cultivo trampa comprendió aproximadamente 90 días y se regó para garantizar la humedad y crecimiento óptimo. Posteriormente cumplido el ciclo de vida del cultivo se extrajo una muestra de suelo y raíces y se aplicó el método propuesto por Gerdemann y Nicolson (1963) descrito en el siguiente apartado.

Aislamiento de micorrizas bajo el método de Gerdemann y Nicolson (1963)

El método se ilustra en la Figura 2 y consistió en los pasos siguientes:

Paso 1. Se preparó una solución de sacarosa concentrada de azúcar morena al 20% (50 g de azúcar + 250 ml de agua destilada) y al 60% (150 g de azúcar + 250 ml de agua destilada), y se guardó en el refrigerador durante 12 hr aproximadamente.

Paso 2. Se tomó una muestra de 80 g de suelo de cada maceta, se dividió en cuatro porciones de 20 g y se aplicó el método de decantación y tamizado húmedo (paso 1 y 2, descrito anteriormente) hasta obtener 25 ml del lavado (agua y suelo).

Paso 3. Se colocaron los 25 ml del lavado en un tubo de centrifuga de 50 ml, posteriormente se le agregaron 8 ml de la solución de sacarosa al 20% y 8 ml de la solución al 60%, se centrifugó a 3000 RPM durante 8 minutos. Una vez centrifugado se decantó solamente la parte más clara, sobre el tamiz de malla de 0.0021" para obtener la muestra.

Paso 4. Para recuperar la muestra del tamiz, se utilizó una piceta con agua destilada para poder bajar lo que quedó sobre la malla a una caja Petri y se observó en un microscopio estereoscópico para llevar a cabo el aislamiento.

Paso 5. Las esporas de micorrizas aisladas fueron contabilizadas por tratamiento y fueron conservadas en agua destilada y en refrigeración.

Siembra del cultivo de lechuga.

Para llevar a cabo la siembra de lechuga se utilizó el suelo inoculado obtenido a través de los tres tratamientos de las especies sorgo y frijol, y el mismo suelo sin inocular, los recipientes para la siembra fueron charolas de polietileno para germinación de 200 cavidades a las cuales se les agregó el suelo en un cuadro de 8*8 por tratamiento. Los tratamientos se muestran en el Cuadro 1.



Figura 1. Siembra, desarrollo y cosecha de los cultivos trampa para el aislamiento, reproducción y evaluación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

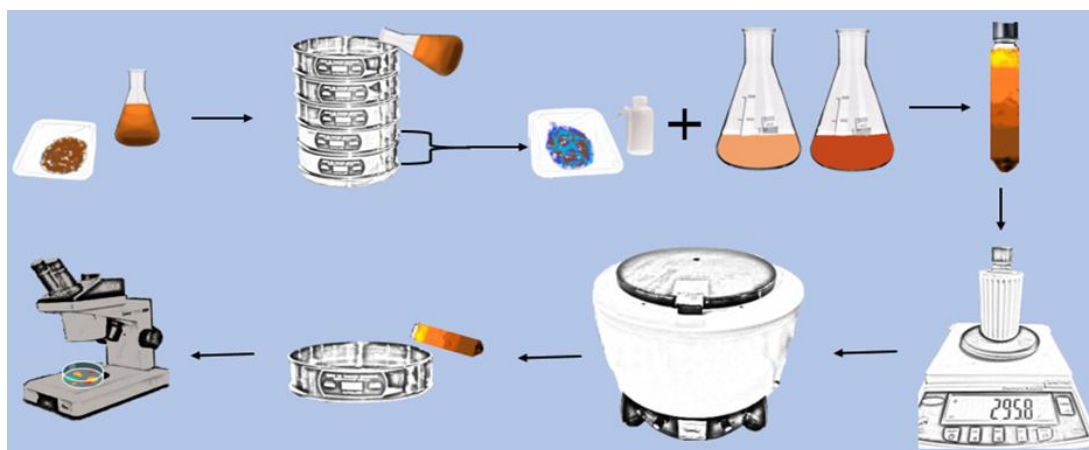


Figura 2. Extracción de esporas por el método de tamizado húmedo (Gerdemann y Nicolson, 1963), para el aislamiento de micorrizas de un andosol de uso forestal.

Cuadro 1. Tratamientos para la inoculación del cultivo de lechuga para la evaluación de micorrizas de un andosol de uso forestal

Tratamiento	Descripción
T1	Suelo inoculado con micorrizas de frijol (F)
T2	Suelo inoculado con micorrizas de sorgo (S)
T3	Suelo sin inocular (T)
T4	Suelo inoculado con micorrizas de Sorgo/Frijol (FS)

En cada tratamiento se colocaron dos semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) por cavidad teniendo en total 128 semillas por cada tratamiento, pero solo dejando crecer una planta por cavidad en los casos donde germinaron las dos semillas.

Variables a evaluar en el cultivo de lechuga

El periodo de crecimiento de la planta de lechuga, después de la emergencia de la semilla, fue del 22 de febrero del 2020 al 17

de marzo del 2020, finalizando este plazo se tomaron datos del peso en fresco, el tamaño de la planta en conjunto con la raíz, el tamaño de la planta (porción aérea), tamaño de raíz, área foliar (longitud y ancho de la hoja), y el número de hojas verdaderas de acuerdo con la Figura 3. Además, para llevar a cabo la obtención de datos sobre el crecimiento y desarrollo de la lechuga se sacrificó el 25% de la población total, tomando 17 plantas por tratamiento a las

cuales se le tomaron las mediciones anteriormente mencionadas de forma manual con el uso de un vernier digital y una balanza analítica digital.

Análisis estadístico

Para evaluar los resultados se aplicó análisis de varianza (ANOVA) a los distintos datos obtenidos a partir de las 17 plantas de cada uno de los tratamientos.

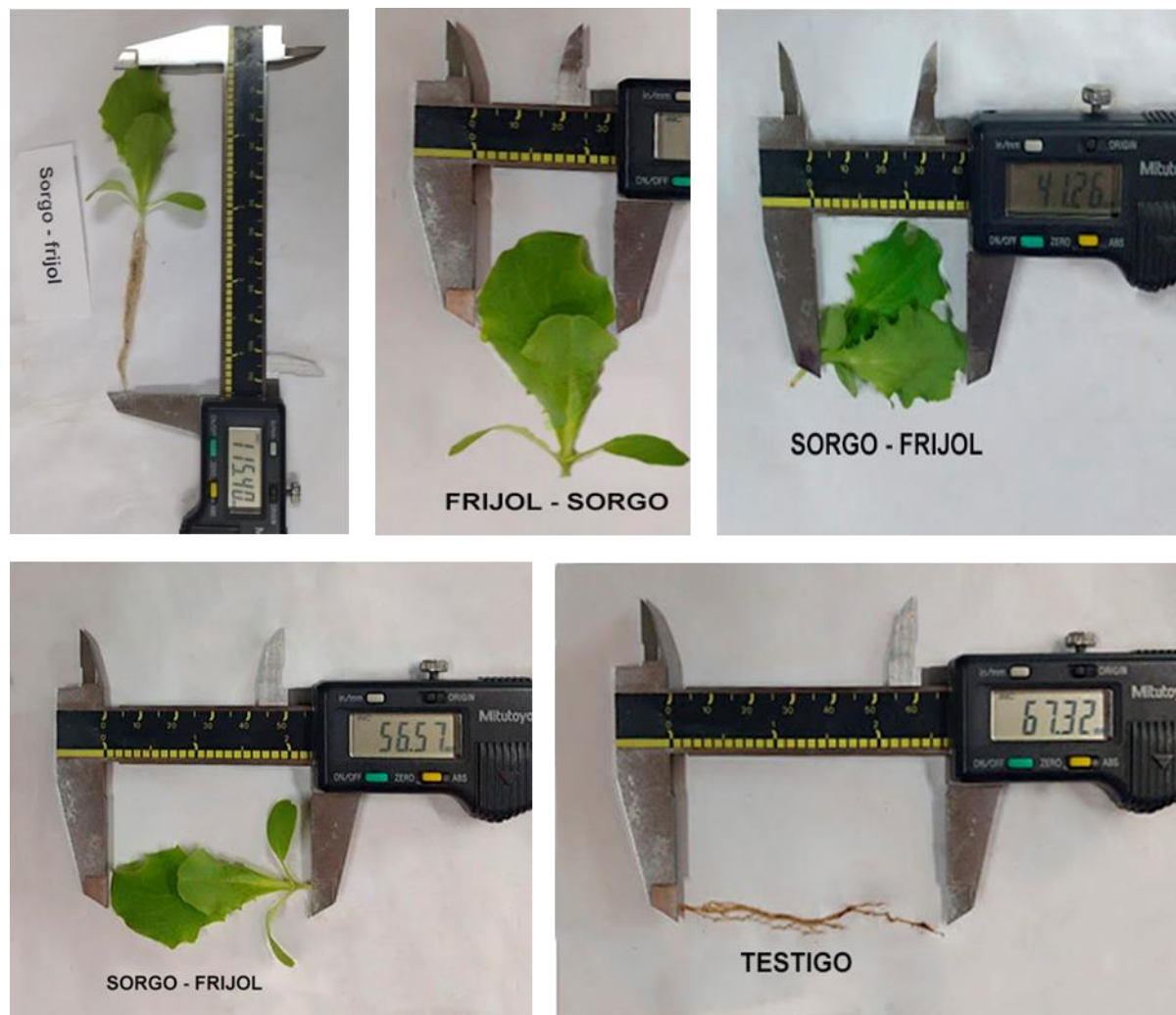


Figura 3. Toma de medidas del cultivo de lechuga para la evaluación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Presencia de esporas de micorrizas

Para el aislamiento de las micorrizas bajo la metodología de Gerdemann y Nicolson (1963) se observó al microscopio y se determinó que la especie pino ocote es la que presentó el mayor número de esporas de micorrizas (17), seguida de la especie huaje (15), cacahuete (11) y el lloa sangre (9) respectivamente, representados en el Cuadro 2. Y concordando con Wang & Qiu (2006) el cual nos dice que las asociaciones micorrízicas son cosmopolitas por su presencia en la mayoría de los hábitats naturales.

Cuadro 1. Conteo de esporas de micorrizas de cuatro especies de árboles, para la reproducción y evaluación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

Muestra	Árbol de extracción	Número de esporas de micorrizas
1	Pino ocote	17
2	Cacahuete	11
3	Lloa sangre	9
4	Huaje	15

Reproducción mediante cultivo trampa

Para llevar a cabo la reproducción de micorrizas es necesario la utilización de cultivos trampa, por lo que fue necesario tomar en cuenta lo expuesto por Bustamante (2019), donde explica que el cultivo trampa son especies vegetales altamente sensibles a determinados organismos, por ejemplo micorrizas, que generalmente no pueden vivir bien sin estar asociados; así mismo Aguilar W. *et al.* (2016) explican que el frijol o vainica ha sido utilizado en varias investigaciones como trampa para la producción de micorrizas, por su susceptibilidad para ser colonizado por ellas y su rápido crecimiento. Mientras que

Bustamante (2019) menciona que el sorgo ha demostrado ser un buen hospedante.

Con base a las referencias anteriores se utilizaron estas dos especies (sorgo y frijol) inoculadas con suelo extraído de pino ocote en tres tratamientos (sorgo, frijol y la asociación sorgo-frijol) a cielo abierto, el cual estuvo en un periodo de reproducción de 95 días; al cual se le colocaron 17 esporas como número inicial de micorrizas y al final del periodo, se le realizó un conteo para identificar el aumento o disminución de estas mismas. De acuerdo con los resultados presentados en el Cuadro 3, el cultivo trampa con mayor aumento de micorrizas fue la combinación de las dos especies puestas en una misma maceta, 24, 19, 23; seguido del tratamiento de solo frijol con 19, 22, 20 y finalmente el sorgo con 11, 12, 8. Cabe destacar que la combinación de estas dos especies (sorgo-frijol) funciona para la reproducción de micorrizas de esta zona, concordando con Secilia y Bagyaraj (1992), donde mencionan que los resultados obtenidos en los cultivos trampas inoculadas son diferentes con respecto a su testigo, esto se debe a que ciertos hongos pueden formar asociaciones preferenciales con ciertas plantas hospederas.

Cuadro 2. Conteo de esporas del cultivo trampa para la evaluación de la inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

# de esporas muestra inicial	Tratamientos	# final de esporas del cultivo trampa
17	Sorgo	11
		12
		8
	Frijol	19
		22
		20
	Sorgo / frijol	24
		19
		23

Crecimiento de las plántulas de lechuga

Las plantas fueron cosechadas a los 25 días después de la siembra y divididas en hojas y raíz, ambas fueron medidas con un vernier; de acuerdo con la metodología se seleccionó una población total de 68 plántulas que engloban a todos los tratamientos realizando las mediciones dasonómicas anteriormente establecidas, como son: peso en fresco, altura total de la planta con raíz, altura de la planta, largo y ancho de la hoja. Así mismo se aplicó un análisis de varianza (anova) y una prueba de Tukey para establecer las diferencias significativas entre tratamientos.

Peso (g) de las plántulas de lechuga.

Los resultados obtenidos indican que de acuerdo con el peso se observa que el mejor tratamiento es el de la asociación sorgo-frijol y el tratamiento con los resultados más bajos es el testigo (Cuadro 4), Por otro lado, el análisis de varianza mostró el mismo resultado, sin embargo, en la Figura 4, se observa que tiene similitud con el tratamiento frijol; por otra parte, las diferencias significativas entre tratamientos se hacen evidentes. Los resultados de esta investigación concuerdan con Kapoor *et al* (2004) quien demostró que los hongos micorrízicos son altamente eficientes para promover el crecimiento de los cultivos y el aumento de la biomasa y que dicha promoción puede depender de la planta.

Medición dasonómica de las plántulas de lechuga

En cuanto a las variables altura de la planta con raíz, altura de la planta, tamaño de raíz, largo y ancho de la hoja, se obtuvieron los promedios de cada uno de los tratamientos (Cuadro 5), el cual muestra que el tratamiento de la asociación sorgo-frijol presentó los mejores resultados en cuanto a los parámetros antes mencionados en comparación con los demás tratamientos.

Cuadro 3. Peso (g) promedio de las plantas de lechuga en el experimento para evaluación de inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

Tratamiento	Peso (g)
Frijol	0.4297 a
Sorgo	0.1682 b
Testigo	0.1094 c
Sorgo – frijol	0.6140 a

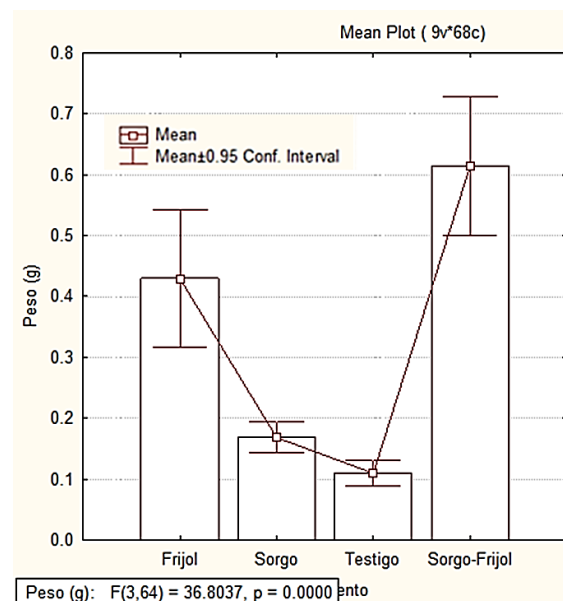


Figura 4. Peso (g) promedio de las plantas de lechuga en el experimento para evaluación de inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

Por otro lado al realizar el análisis de varianza de las medidas dasonómica se encontró que para la variable altura de la planta con raíz y altura de la planta de la porción aérea, muestran diferencias significativas (Figuras 5 y 6), entre el tratamiento sorgo-frijol con respecto a los otros tratamientos (T1, T2 y T3), al mismo tiempo, el tratamiento frijol muestra similitud entre el tratamiento sorgo y el tratamiento

testigo; esto resulta consistente con lo encontrado por Dell'Amico *et al.* (2002) en los ensayos en plantas de tomate, en los que determinaron que la micorrización provoca cambios sustanciales en el crecimiento de las plantas y generan un aumento en la biomasa total.

Tamaño de la raíz (mm)

En el análisis de varianza de la variable tamaño de raíz, se muestra que el tratamiento sorgo registró los mayores niveles en tanto que el menor, lo presentó el

tratamiento frijol; sin embargo, el tratamiento frijol y el tratamiento testigo muestran similitudes (Figura 8). De manera complementaria, se observó la fisonomía de las raíces de los diferentes tratamientos de los cuales se puede apreciar un mayor volumen en el tratamiento sorgo-frijol, lo cual podría estar implicado en el aumento de pelos radicales que incrementan la superficie de contacto favoreciendo la absorción de nutrientes (Figura 7); sin embargo, este parámetro no fue considerado en el análisis metodológico.

Cuadro 4. Promedios de medición de las plantas de lechuga en el experimento para evaluación de inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

Tratamiento	Altura de la planta con raíz (mm)	Altura de la planta (porción aérea) (mm)	Tamaño de raíz (mm)
Frijol	88.49 a*	42.09 b	50.34 d
Sorgo	83.76 b	26.10 c	62.16 a
Testigo	73.98 c	21.84 d	53.93 c
Sorgo - frijol	107.16 a	60.29 a	59.65 b

*Letras iguales en las columnas indican sin diferencia significativa

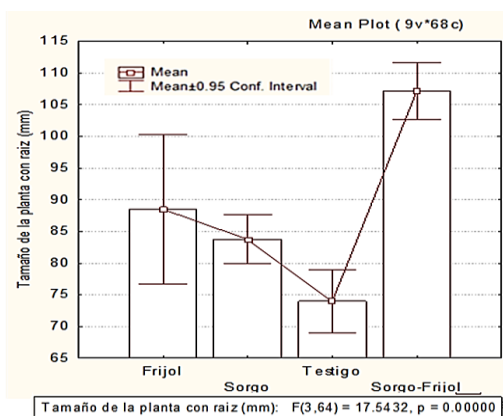


Figura 5. Altura de planta con raíz (mm) en el experimento para evaluación de inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

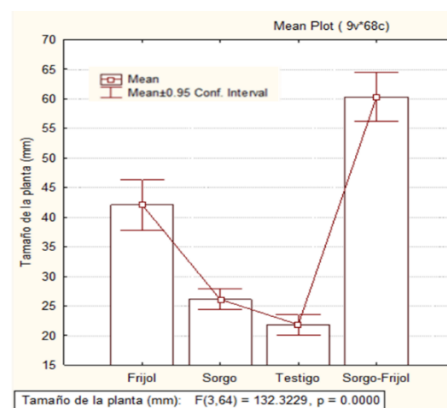


Figura 6. Altura de planta (porción aérea) (mm) en el experimento para evaluación de inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

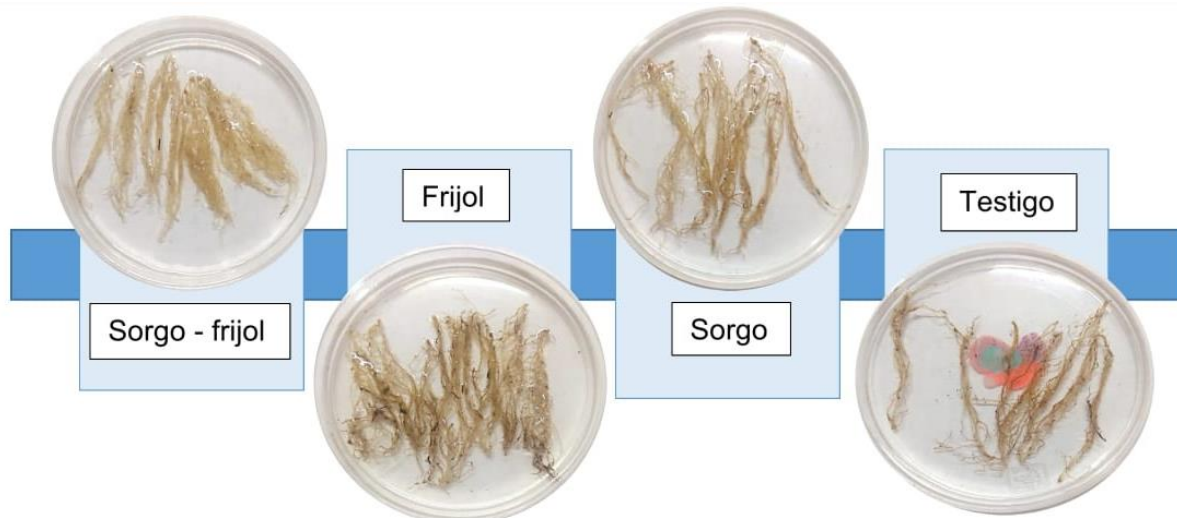


Figura 7. Raíces de los distintos tratamientos en el experimento para evaluación de inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

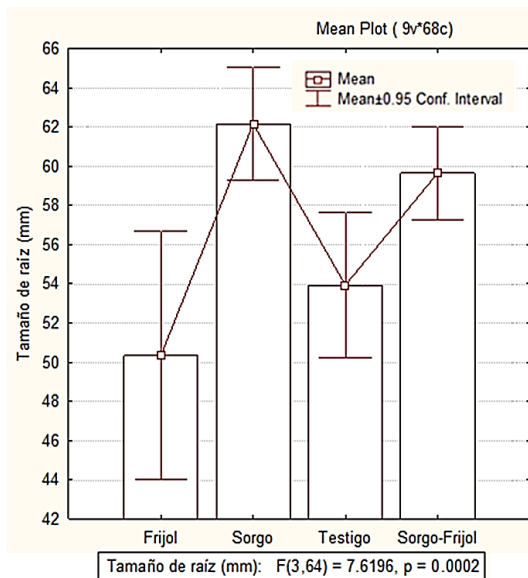


Figura 8. Tamaño de raíz (mm) en el experimento para evaluación de inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

Área foliar (longitud y ancho de la hoja)

Respecto a la longitud y ancho de la hoja (área foliar) (Figuras 9 y 10) el análisis de varianza (ANOVA), mostró diferencias significativas y no hay similitudes entre tratamientos, pero demuestra que el tratamiento sorgo-frijol tuvo el mayor tamaño en longitud y en el ancho de la hoja, estos resultados concuerdan con los presentados por Dell'Amico *et al.* (2002) que evaluaron el crecimiento foliar de tomate, encontrando como resultados que el efecto de la micorrización en las variables del crecimiento evaluadas se encontró que en el área foliar las plantas inoculadas y bien regadas presentaron incrementos en esta variable de 19.5 y 28.9 % con respecto a su control. Por otra parte, las plantas no micorrizadas y estresadas disminuyeron su área foliar en un 49.7 %.

Cuadro 5. Promedio del número de hojas verdaderas de cada tratamiento en el experimento para evaluación de inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

Tratamiento	Longitud de la hoja (mm)	Ancho de la hoja (mm)	Número de hojas verdaderas
Frijol	33.38 b*	20.91 b	2.29 b
Sorgo	17.50 c	13.15 c	1.70 abc
Testigo	13.56 d	10.63 d	1.17 c
Sorgo – frijol	46.91 a	26.84 a	2.47 a

*Letras iguales en las columnas indican sin diferencia significativa.

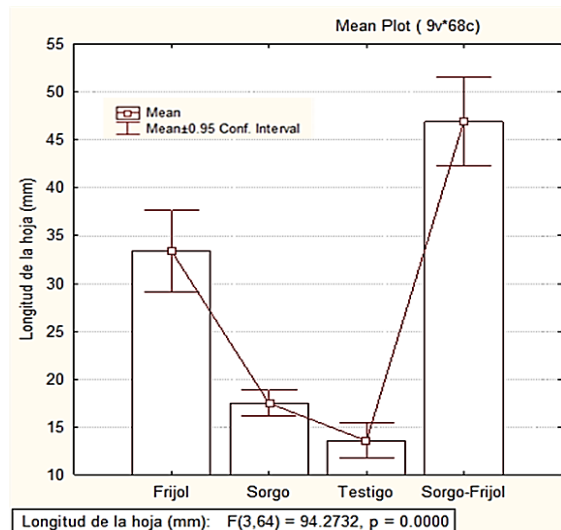


Figura 9. Longitud de la hoja (mm) en el experimento para evaluación de inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

Número de hojas verdaderas de las plántulas de lechuga

De acuerdo al promedio de los datos obtenidos de las 17 plantas de cada tratamiento se observó que los tratamientos frijol, sorgo y sorgo-frijol presentaron mayor cantidad de hojas verdaderas, en comparación con el tratamiento testigo, así como puede observarse en el Cuadro 6. Mientras que el análisis de varianza evidenció diferencias significativas entre el tratamiento sorgo-frijol con respecto al

tratamiento testigo, mientras que los tratamientos frijol y sorgo-frijol mostraron similitudes (Figura 11).

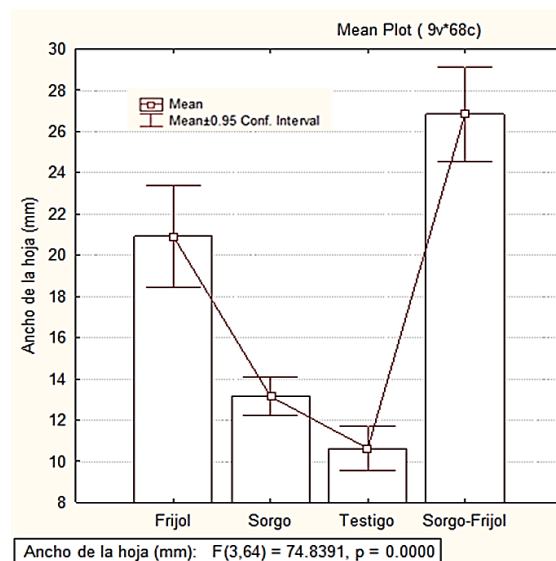


Figura 10. Ancho de la hoja (mm) en el experimento para evaluación de inoculación de micorrizas de un andosol de uso forestal.

Los resultados concuerdan con Alonso-Contreras et al. (2013) quienes encontraron en su investigación, que en área foliar también existieron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) en los tratamientos inoculados con HMA respecto a los tratamientos testigo; la mayor área foliar y la mayor producción de biomasa se

presentaron en el tratamiento con inoculación de hongos micorrícicos arbusculares.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los datos obtenidos a través de estos estudios, se determinó que el tratamiento de sorgo-frijol es aquel que indujo un mejor resultado en el cultivo de plántulas de lechuga.

Durante el desarrollo del cultivo se comprobó que las micorrizas contribuyen a la sustentabilidad de la planta.

Al analizar el efecto de las micorrizas se encontró que el tratamiento mixto de frijol/sorgo tiene una mayor probabilidad de colonizar las raíces de la lechuga en comparación con las de una sola especie.

PERSPECTIVAS FUTURAS

A partir de los estudios realizados se pretende orientar las perspectivas en dos direcciones; la primera sería implementar el uso de micorrizas en diversos cultivos para disminuir el uso de agroquímicos y la segunda sería impulsar la extracción de micorrizas de una forma más rudimentaria de manera que el productor sea capaz de extraerlas por sí mismo y así pueda implementarlas en sus cultivos.

LITERATURA CITADA

Abad-Fitz, I. 2003. Efecto ecoclimático y fertilización orgánica en la producción de amaranto en un andosol. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos 76 pp.

Aguilar B., S. 1990. Dimensiones ecológicas del estado de Morelos. Centro Regional de Investigaciones Multidisciplinarias, UNAM. 221 pp. Citado en CONABIO y UAEM. 2004. La Diversidad Biológica en Morelos: Estudio

del Estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 155 pp.

Aguilar, W., P. Arce, F. Galiano, T. Torres. 2016. Aislamiento de esporas y evaluación de métodos de inoculación en la producción de micorrizas en cultivos trampa. Revista Tecnología en Marcha. Edición Especial Biocontrol Pp 5-14.

Alonso-Contreras, R., L.I. Aguilera-Gómez, M. Rubí-Arriaga, A. González-Huerta, V. Obalde-Portugal y I.V. Rivas-Manzano. 2013. Influencia de hongos micorrícicos arbusculares en el crecimiento y desarrollo de *Capsicum annum* L. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 4: 77-88.

Allen. 1991. Citado en Varela L; & Trejo D. 2001. Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. Acta Zoológica Mexicana (nueva serie), (Es1), 39-51.

Bahena, G., M.E. 2011. El uso de la Gallinaza en el Medio Rural como mejorador de las propiedades físicas y químicas de dos unidades edáficas cultivadas con amaranto. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del estado de Morelos 69 pp.

Bjorkman, E. 1960. *Monotropia hypopitys* L. Un epiparásito en las raíces de los árboles. *Physiologia Plantarum*, 13(2): 308-27.

Boyás J., C., M. Cervantes S., J. Javelly, M. Linares A., F. Solares A., R. Soto E., I. Naufal T. y L. Sandoval C. 1993. Diagnóstico forestal del estado de Morelos. INIFAP. Citado en CONABIO y UAEM. 2004. La Diversidad Biológica en Morelos: Estudio del Estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México. 155 pp.

Bustamante, M. 2019. Multiplicación de micorrizas en tres diferentes sustratos en

- simbiosis con plantas trampa de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) y albahaca (*Ocimum basilicum*) en condiciones de invernadero. Quevedo. UTEQ. 80 pp.
- Camarena G. 2012. Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente 18(3): 409-421.
- Carrillo, L. 2003. Microbiología Agrícola. Universidad Nacional de Salta ISBN 987-9381-16-5. 151 pp.
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). 2014. Protección, restauración y conservación de suelos forestales. Manual de obras y prácticas. México. 285 pp.
- Correa, O. 2013. Los Microorganismos del suelo y su rol indiscutido en la nutrición vegetal. Cátedra de Microbiología Agrícola e Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA/CONICET-UBA). Facultad de Agronomía. Buenos Aires, Argentina 11 pp.
- Dell'Amico, J., P. Rodríguez, A. Torrecillas, A. Morte, & M.D.J Sánchez-Blanco. 2002. Influencia de la micorrización en el crecimiento y las relaciones hídricas de plantas de tomate sometidas a un ciclo de sequía y recuperación. Cultivos Tropicales 23(1): 29-34.
- Frank A.B. 1885. Ueber die auf Wuzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. Ber. D. deutsch. Bot. Gesell III. Lehrbuch der Botanik, Bd. p 264. Citado en: Luna B. (2014). Desarrollo de una trampa in situ para el Aislamiento Micorrízico de Una Orquídea Epífita del Parque Nacional el Tepozteco. UNAM. Facultad De Estudios Superiores Zaragoza. México. 156 pp.
- García, de S., I. E. 2011. Microorganismos del suelo y sustentabilidad de los agroecosistemas. Revista Argentina de Microbiología 43(1): 1-3. Asociación Argentina de Microbiología Buenos Aires, Argentina.
- Garzón L. 2016. Importancia de las micorrizas arbusculares (MA) para un uso sostenible del suelo en la Amazonia Colombiana. Luna Azul ISSN 1909-2474, 16(4), 201-234. 07/10/2019, De DOI: 10.17151/luaz.2016.42.14
- Gerdemann, J.W. y T.H. Nicolson. 1963. Esporas de especies micorrícicas endógenas extraídas del suelo mediante tamizado húmedo y decantación. *Transacciones de la British Mycological Society*, 46(2): 235-244. doi: 10.1016 / s0007-1536 (63) 80079-0
- Griffiths, B.S., M. Bonkowski, J. Roy, K. Ritz. 2001. Functional stability substrate, utilisation and biological indicators of soil following environmental impacts. *Appl Soil Ecol* 16: 49-61.
- INAFED. 2001. Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. Estado de Morelos. Ayuntamiento de Cuernavaca. 28 pp. Consultado el 20 de febrero de 2019 en: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM17morelos/municipios/17007a.html>
- Kapoor, R., G. Bhoopander, K.G. Mukerji. 2004. Mejor crecimiento, rendimiento y calidad de aceite esencial en el molino de *Foeniculum vulgare* en inoculación micorrízica complementada con fertilizante. *P. Rev. Tecnología Bioambiental* 93(3): 307-311.
- Martínez A, J., N. Osorio V., & J. Garrido P. 2019. Efectividad de hongos micorrizo-arbusculares nativos en suelos con diferentes usos agropecuarios. *Revista MVZ Córdoba*, 24(2): 7256-7261. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1703>
- Martínez, R. 2009. Sistemas de producción agrícola sostenible Tecnología en Marcha. 22(2): 23-39.
- Negrete Y, S., E. Barois B. 2012. Bajo tus pies, la vida en el suelo. *Biodiversitas*. Num. 105. Boletín Bimestral de la Comisión

- Nacional para el Reconocimiento de la Biodiversidad. 16 pp.
- Plaster. E.J. 2000. La Ciencia del Suelo y su Manejo. Editorial Paraninfo. Madrid, España.
- Parada, J., T. Valenzuela, F. Gómez, G. Tereucán, S. García, P. Cornejo, P. Winterhalter, A. Ruiz. 2018. Efecto de la fertilización y la inoculación de hongos micorrícicos arbusculares en los perfiles y actividades antioxidantes en la fruta *Fragaria ananassa*. J Sci Food Agric 99(3): 1397-1404. 7/10/2019, De <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.9316>
- Raddatz. 2001. Citado en Reyes B; Espinal de Rueda D; Rueda A. (2003). Efecto del uso de micorrizas durante la fase de aclimatación de plantas de plátano (*Musa spp.*) producidas a partir de ápices meristemáticos. Ceiba: A Scientific and Technical Journal. Vol. 44; Nº. 1. Págs. 89-91.
- Ramírez G., M., A. Peñaranda R., U.A. Pérez M., P. Serralde D. 2018. Biofertilización con hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) en especies forestales en vivero. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 16(2): 15-25.
- Sánchez, A., S. Salcedo, R. Mendoza, J. Pinedo, S. Moreno. 2018. Aislamiento e Identificación de Micorrizas Arbúsculares (MA) Asociadas a la Rizósfera del chile piquín (*Capsicum annuum var. aviculare L.*). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 3: 86-91. 7/10/2019, De <http://www.fcb.uanl.mx>
- Secilia, J. And D.J. Bagyaraj. 1992. Selection of efficient vesicular arbuscular mycorrhiza fungi for wetland rice (*Oryza sativa L.*). *Biol. Fertil. Soli* 13: 108-111.
- SEMARNAT. 2012. Suelos. México. 36 pp. Disponible en: https://apps1.semarnat.gob.mx:445/dgeia/informe_12/pdf/Cap3_suelos.pdf. Fecha de consulta: 22 de febrero de 2019.
- Smith & Read. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press. London. 605 pp.
- Tapia, J., R. Ferrera, L. Varela, J. Rodríguez, J. Soria, M. Tiscareño, C. Loredó, J. Alcalá, C. Villar. 2010. Infectividad y efectividad de hongos micorrícicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). *Revista mexicana de micología*, 31: 69-74. Recuperado en 16 de enero de 2020, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802010000100010&lng=es&tlng=pt.
- Torsvik, V., L. Øvreås, T.F. Thingstad. 2002. Prokaryotic diversity - magnitude, dynamics, and controlling factors. *Science* 296: 1064-6.
- Van Der Heijden, M. G. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi as a determinant of plant diversity: in search of underlying mechanisms and general principles. In *Mycorrhizal ecology* (pp. 243-265). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Vieira, L., D. Da Silva, M. De Melo, I. Escobar, F. Oehl, G. Da Silva. 2019. Factores edáficos influyen en la distribución de hongos micorrícicos arbusculares a lo largo de un gradiente altitudinal de una montaña tropical. *Microb Ecol*, Springer link, 1-10. 7/10/2019, De <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01354-2>
- Wang, B. y Y.L. Qiu. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16(5): 299-363.