



## Respuesta de *Cassia tomentosa* desarrollada en tepetate con inoculación micorrízica bajo condiciones de invernadero

Response of *Cassia tomentosa* cultivated in tepetate soil with mycorrhizal inoculation under greenhouse conditions

Elizabeth GARCÍA GALLEGOS <sup>1</sup>, Guadalupe GÓMEZ CRUZ<sup>2</sup>, Oscar G. VÁZQUEZ CUECUECHA<sup>1</sup> y Eunice M. ZAMORA CAMPOS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Genética y Ambiente (CIGyA). Universidad Autónoma de Tlaxcala. Avenida Universidad No. 1 Col. La Loma Xicohtencatl, Tlaxcala. CP 90062, Estado de Tlaxcala, México y

<sup>2</sup>Departamento de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38,5. Carretera México-Texcoco. CP 56230, Chapingo, Estado de México. E-mails: gallegoseg@hotmail.com y oscarvc1@hotmail.com

 Autor para correspondencia

Recibido: 15/07/2009

Primera revisión recibida: 02/10/2009

Fin de primer arbitraje: 15/09/2009

Aceptado: 22/12/2009

### RESUMEN

La micorriza arbuscular puede ser una herramienta útil para el manejo, la conservación y rehabilitación de suelos pobres y muy deteriorados, por ello el objetivo de este estudio fue probar la efectividad e infectividad de diferentes inóculos provenientes de suelos rizosféricos de frijol (*Phaseolus vulgaris*), haba (*Vicia faba*) y maíz (*Zea maíz*) en plantas de *Cassia tomentosa* creciendo en tepetate. Se consideraron las variables de altura de planta, biomasa seca total, volumen radicular, concentraciones de N, P y K en tejido vegetal así como colonización radicular total y número de esporas bajo condiciones de invernadero en un diseño completamente al azar. A los 120 días con el inóculo de haba se obtuvieron valores mayores y estadísticamente significativos en volumen radical, N y K en tejido vegetal, colonización total y número de esporas, con respecto a los inóculos de frijol y maíz. Sin embargo, con el inóculo de frijol se obtuvo un incremento en altura, biomasa seca total y P en tejido vegetal, así como una colonización en la raíz. Con lo que se concluye que la inoculación micorrízica favorece la resistencia al trasplante de *Cassia tomentosa* convirtiéndola en una excelente candidata para la rehabilitación de zonas donde aflore el tepetate.

**Palabras clave:** *Cassia tomentosa*, Hongos micorrizógenos arbusculares, Inóculo, Tepetate.

### ABSTRACT

Inoculation effect of three arbuscular mycorrhizal inocula types on *Cassia tomentosa* plants was evaluated as a handling, conservation and rehabilitation alternative for "tepetate soil" (soil derived from volcanic ash). Inocula origin was rhizospheric soil from bean (*Phaseolus vulgaris*), faba bean (*Vicia faba*) and corn (*Zea maíz*). Plant height, total dry biomass, root volume, N, P, and K concentrations in vegetal tissue, as well as, total root colonization and spore number were considered under greenhouse conditions in a completely randomly design. After 120 days, radical volume, N and P level in tissues, total colonization and spores number increased significantly in inoculated plants with *Vicia faba* fungi strain with respect to bean and corn inocula. However, the highest values of height, total dry biomass, P level in vegetal tissue and root colonization were obtained in plant growing with bean strain. We concluded that mycorrhizal inoculation favors *Cassia tomentosa* plant growth, and it represents a useful tool to promote soil rehabilitation, especially tepetate soil.

**Key words:** *Cassia tomentosa*, arbuscular mycorrhizal fungi, inoculum, tepetate soil.

### INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la población humana en México y la consiguiente demanda de alimentos, originan una errónea explotación del recurso suelo que aunada a los procesos de erosión, trae como consecuencia el afloramiento de tepetates. Los tepetates en México ocupan una superficie de 30700

km<sup>2</sup> lo que representa el 27% del eje Neovolcánico (Zebrowski, 1992; Guerrero *et al.*, 1992) y donde la agricultura de temporal es predominante (Quantin *et al.*, 1993). El término tepetate se refiere a un horizonte endurecido, ya sea compactado o cementado, que se encuentra comúnmente en los paisajes volcánicos de México, subyaciendo a suelos o bien aflorando en superficie. Estos horizontes

constituyen un elemento que participa activamente en la dinámica ambiental, ya que sus características físicas, mecánicas y químicas son altamente restrictivas para el desarrollo de la vegetación (alta densidad, baja conductividad hidráulica y retención de humedad, así como baja fertilidad). En consecuencia su presencia representa un problema desde el punto de vista del manejo agrícola, ya que estas capas endurecidas, dificultan la labranza, siendo costosa su rehabilitación. Por otro lado, los tepetates debajo de suelos, producen discontinuidades litológicas, impiden la infiltración del agua y favorecen el escurrimiento lateral, marcando una superficie en donde se promueven los deslizamientos. Asimismo, el tepetate puede favorecer la erosión e impedir la recarga de acuíferos (Gama *et al.*, 2007). Los tepetates pueden ser habilitados para la agricultura mediante roturación y prácticas agrícolas adecuadas, pero poseen una fertilidad muy baja (Báez *et al.*, 2002), respecto a la concentración de materia orgánica y la de N y P disponibles. La aplicación de fertilizantes suplen la deficiencia de N y P y se utilizan como complemento de la aplicación de abonos (Pérez *et al.*, 2000). Además las plantas tienen una influencia significativa sobre las características del tepetate: disgregan y agregan el material y aportan compuestos orgánicos al sustrato susceptibles de ser usados por la biota o en procesos de estructuración (Velázquez *et al.*, 2001). La importancia de rehabilitar a los tepetates a través de la incorporación de plantas y microorganismos se ha convertido en una excelente estrategia para aumentar su productividad (García *et al.*, 2008). Los microorganismos juegan un papel fundamental en la nutrición de las plantas debido a sus múltiples actividades metabólicas, como son la fijación de CO<sub>2</sub> y biotransformación de la materia orgánica. Los procesos de la fijación de N<sub>2</sub> y nitrificación hacen disponible este elemento a las plantas. En cuanto al fósforo se libera por la solubilización de las rocas y es eficientemente trasladado por la simbiosis micorrízica. La mayoría de estos eventos se amplifican en la rizósfera, sitio de interacción de los microorganismos con las raíces (Ferrera, 1995).

La micorriza debe entenderse como una estructura especializada con diversas funciones, la cual se origina al asociarse, en forma mutualista con diversos grupos de hongos específicos en el sistema radical de las plantas. En muchas ocasiones, pueden existir confusiones en esta definición, sobre todo cuando se menciona que la micorriza corresponde a hongos que se establecen en la raíz de la planta, y

debe entenderse bien claro que los hongos endomicorrizógenos arbusculares (HMA) son aquellos que originan la estructura denominada micorriza. La importancia de los HMA puede traducirse en los beneficios que aportan a las plantas, en relación con el mejor aprovechamiento de agua y nutrimentos, especialmente de fósforo cuando éste es limitado. Además, mantienen por mayor tiempo la funcionalidad de las raíces, mientras que el micelio externo (extramatricial) genera una extensa red de hifas en el suelo que permite a la raíz mayor capacidad de exploración del volumen de suelo. De esta forma el sistema radical micorrizado posee mayor capacidad de absorción, tanto de nutrimentos como de agua, en comparación con aquellas raíces que no tienen la simbiosis establecida. De este modo, la fisiología de la simbiosis provee a las plantas mayor capacidad de adaptación, establecimiento y crecimiento (Alarcón, 2007).

Por otro lado, el suelo también es favorecido por la actividad de los HMA. En cuanto a su estabilidad, las hifas permiten la agregación de las partículas del suelo, lo que evita que la pérdida de éste por agentes de erosión sea menor (Abbott y Gazez, 1994). A su vez, la actividad de los HMA permite que las poblaciones microbianas sean modificadas, participando así como agentes reguladores de microbiota benéfica y patogénica y, de este modo influyen en la dinámica del carbono orgánico del suelo y de la fertilidad del mismo (Alarcón, 2007). Barea (1999) menciona que el emplear HMA no sólo ha facilitado un mejor desarrollo de plantas en suelos degradados como los tepetates, sino también ha mejorado la repoblación de especies vegetales en suelos forestales. Lo anterior es confirmado por Rodríguez *et al.* (2002) quienes manifiestan que cuando se aplican HMA, la pérdida de nutrimentos por lixiviación, fijación y erosión se disminuye, dado que la red de hifas captura y trasloca elementos nutritivos hacia la planta desde sitios no explorados por la raíz. En el mismo sentido García *et al.* (2008) señalan que aplicar HMA favorece las características físicas y químicas del tepetate, lo que permite el desarrollo de plantas y por lo tanto se mejora la calidad productiva del mismo.

Los HMA pueden ser incorporados al suelo en forma de inóculos. Sin embargo, el proceso de inoculación es complejo, contempla los siguientes pasos: 1) obtención de propágulos; 2) multiplicación de cepas de hongos; 3) aislamiento, selección y caracterización de cepas; 4) propagación masiva; 5)

inoculación en plantas de interés agronómico (Molina *et al.*, 2005). Es necesario realizar un estudio ecológico que permita conocer las características del suelo, planta y el ambiente a los que los hongos están expuestos con el fin de dirigir el uso de determinados hongos a condiciones específicas como suelos degradados, suelos con problemas de salinidad, alcalinidad, acidez, contaminación, entre otros. Los parámetros evaluados en primera instancia son la colonización endomicorrízica en el hospedero y la cuantificación de esporas, para su posterior aislamiento y purificación (Johansson *et al.*, 2004). Las especies de los géneros *Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Entrophosphora*, *Gigaspora* y *Scutellospora* son ampliamente conocidas como HMA por su habilidad para formar asociaciones simbióticas con las raíces de la mayoría de las plantas vasculares; además de ser de los más utilizados para la producción de inóculos debido a su alta infectividad; por lo que la factibilidad de la inoculación resulta altamente redituable, ya que el objetivo de esta fase es producir planta de calidad con mayor vigor y salud, de modo que tengan ventaja microbiológica cuando sean llevadas al sitio definitivo. El aislamiento constante de nuevas cepas, hacen indispensable la selección de inóculos de HMA, pues se ha demostrado que aunque no tienen especificidad, su infectividad también varía de acuerdo a la planta hospedera (Green *et al.*, 1983; Aguilera *et al.*, 2007; Hernández y Salas, 2009).

En México se han probado principalmente gramíneas de grano pequeño como trigo, cebada y avena para rehabilitar zonas donde aflora el tepetate, además de la rotación de leguminosas como frijol, haba y veza con gramíneas (Flores *et al.*, 2004). Harley y Smith (1983) reportaron que el género *Cassia* se adapta a condiciones de suelo adversas y puede responder a la micorrización; por lo que se puede emplear para este tipo de sustratos. Es el cuarto género de las leguminosas con aproximadamente 600 especies, es el más grande de la familia Fabaceae, subfamilia Caesalpinioideae (Rzedowski y Rzedowski, 1990). En México a *Cassia tomentosa* L. f. se le conoce con el nombre común de “retama”, se adapta y crece muy bien en un amplio rango de elevaciones, suelos, temperaturas y precipitaciones, es un arbusto de 2 a 3 m de altura, pubescente, con hojas de 4 a 10 cm de longitud, cortamente pecioladas; foliolos de 6 a 8 pares, tiene inflorescencias racimosas, igual o menor que las hojas, flores amarillas oscuras, florece en los meses de septiembre y octubre (Sánchez, 2001). Wilcock *et al.* (2004)

reportan que específicamente *Cassia sturtii* es empleada como forraje para animales en la India, en este mismo sentido, García *et al.* (2009) mencionan que *Cassia* sp. es utilizada como forrajera debido a su alto contenido proteínico; mientras por otro lado, Machado *et al.* (2005) reportan que el género *Cassia* puede emplearse como cerca viva y abono verde.

Por lo anteriormente expuesto se realizó el presente trabajo, cuyo objetivo fue probar inóculos de tres cepas de HMA aisladas de suelo rizosférico de haba, frijol y maíz en plantas de *Cassia tomentosa* L. f. con el fin de contribuir a la rehabilitación de los tepetates y con ello mejorar su calidad productiva.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Producción de inóculo

Se realizó un recorrido de campo en suelos agrícolas cultivados con frijol, haba y maíz criollos, en los meses de julio-agosto para obtener 500 g de suelo rizosférico a una profundidad de 0-30 cm. Los suelos rizosféricos se identificaron como CF (inóculo de frijol), CH (inóculo de haba) e CM (inóculo de maíz) y se aislaron esporas empleando 100 g de suelo, siguiendo el método de tamizado y decantación en húmedo, propuesto por Gerdemann y Nicolson (1963). Se seleccionaron esporas en base a color y tamaño, a la par se preparó una lámina permanente utilizando como medio de montaje alcohol polivinílico en lactoglicerol (PVLG) según Koske y Tessier (1983). Con la ayuda de la literatura especializada se procedió a identificar las esporas del género *Glomus* en las muestras de suelo de frijol, haba y maíz. Si bien, se conoce que existe una gran diversidad de especies de este género en el suelo y que dependiendo de la especie es su grado de infectividad (Varela y Trejo, 2001), en este trabajo sólo se aislaron las esporas en base a género para producir los inóculos, con lo que se espera una mayor respuesta de inoculación.

Se utilizó *Trifolium* sp. como planta “trampa” para favorecer la esporulación del hongo. Las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3%. A nueve vasos de poliestireno expandido (unicel) de 200 g, tres por cada cepa, se les agregó una mezcla de suelo:arena (2:1 v/v) la cual previamente se esterilizó en autoclave a 121 °C y 1 atm por una hora, dejando reposar 24 h y puesta a esterilizar una hora más. Sobre la mezcla se colocaron las esporas aisladas de cada una de las cepas. Las plantas se

dejaron por un espacio de 45 días, manteniéndolas a humedad constante bajo condiciones de invernadero.

Para propagar el inóculo se prepararon 10 macetas de 3 kg por cepa, a las que se les agregó una mezcla de suelo:arena estéril (2:1 v/v) sembrando nuevamente *Trifolium* sp. A cada maceta se le agregó 20 g del inóculo. La propagación se llevó a cabo en dos épocas diferentes de 90 días cada una. Durante el periodo de propagación, las macetas se fertilizaron cada tercer día con una solución nutritiva (Douglas, 1976) a una cuarta parte de su formulación.

Al término del tiempo de propagación, al inóculo se le realizó una evaluación del porcentaje de colonización micorrízica en raíces según el método descrito por Phillips y Hayman (1970). El inóculo de CF, CH y CM presentaron un 86,5; 80,5 y 82,5% de colonización micorrízica total respectivamente y se contabilizaron en 100 g de sustrato 223, 238 y 255 esporas del género *Glomus* sp., respectivamente. Como criterio de calidad de inóculos se tomó el número de esporas por gramo de suelo seco (Sieverding, 1983) de la siguiente manera: >10 esporas/g sustrato (alto); 1-10 esporas/g sustrato (mediano); < 1 espóra/g sustrato (bajo).

### Experimento en invernadero

Mediante un ensayo en invernadero se probaron los inóculos de CF, CH y CM en plantas de *Cassia tomentosa* L.f. desarrolladas en tepetate, a través de un diseño experimental basado en un análisis de varianza unifactorial completamente al azar, con cuatro tratamientos incluyendo el control sin inóculo, cinco repeticiones por cada tratamiento.

El tepetate provino de la comunidad de San Juan Tezontla, Municipio de Texcoco, estado de México, el cual presenta condiciones graves de deterioro, lo que constituye un problema social y económico (Baéz *et al.*, 2002). Se secó a temperatura ambiente, fue tamizado con una malla de 2 mm de apertura, se tomó una muestra para determinarle textura (hidrómetro de Bouyoucos), densidad aparente (método del terrón parafinado), pH (relación suelo:agua, 1:2), materia orgánica (método de Walkey y Black), N (método Kjeldahl), P (método Olsen) y K (acetato de amonio 1N pH 7 por espectrofotometría de emisión de flama) de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000.

A macetas de 2 kg previamente desinfectadas con etanol al 70% (v/v) se les agregó tepetate

previamente fumigado con bromuro de metilo (120 g m<sup>-2</sup>) de acuerdo con Ríos (1994) y Figueiredo *et al.* (2002).

Las semillas de *Cassia* se trataron con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0.1 N de 3 a 5 minutos antes de sembrarlas en una mezcla de suelo-arena estéril (2:1 v/v) en semilleros de plástico. Después de 15 días se seleccionaron plántulas del mismo tamaño para transplantar dos a cada maceta, una vez adaptadas se dejó una. Se aplicaron 15 g de inóculo por plántula en forma subyacente (Salas y Blanco, 2000), se adicionaron 60 kg ha<sup>-1</sup> de superfosfato de calcio triple (46% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) para subsanar la deficiencia de P del tepetate.

El tepetate se mantuvo a humedad constante por 120 días que duró el experimento. Al término, en planta se determinó altura final mediada a ras de suelo, volumen radical, medido por el volumen de agua desplazada por la raíz en probeta, para esta variable se extrajo con cuidado la raíz del suelo y se lavó con agua destilada, se tomaron diez raíces al azar de cada planta para determinar el porcentaje de colonización micorrízica, siguiendo la técnica propuesta de Phillips y Hayman (1970). Se tomaron 100 g de suelo rizosférico de cada planta para determinar el número de esporas por el método de tamizado y decantación en húmedo de acuerdo al método de Gerdemann y Nicolson (1963). La biomasa seca total (suma de la biomasa por estructuras, hoja, tallo y raíz) en horno de secado a 75 °C por 24 horas. En planta se determinó N total por el método kjeldahl, P por colorimetría y K por fotometría de flama (Alcántar y Sandoval, 1999), para esto se molió en mortero el tejido de la parte aérea y se pesó 0.5 g de cada una de las plantas para cada determinación.

Todas las variables de respuesta se sometieron a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey (p≤0.05) empleando el paquete estadístico SAS versión 5 (SAS Institute, 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tepetate empleado para el experimento presentó una clase textural franco arenosa, una densidad aparente de 1,47 g cm<sup>-3</sup>, un pH 7,5 (moderadamente alcalino); 0,01% de materia orgánica (muy bajo); 0,001% de N (bajo); 0,80 mg P kg<sup>-1</sup> (bajo) de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000 y 249,1 mg K kg<sup>-1</sup> (rico) según Vázquez (1997).

Las plantas tuvieron una influencia significativa ( $p < 0,01$ ) en altura y biomasa seca total con el inóculo CF. Mientras, el inóculo CH promovió un mayor desarrollo radical con respecto al control y los inóculos CF y CM ( $p < 0,01$ ). Al respecto, Guillemín *et al.* (1991) mencionan que algunas respuestas de las plantas con aplicación de HMA pueden ser negativas, sobretodo en la parte aérea, ya que estos endófitos modifican la arquitectura del sistema radical y, en esta etapa, el crecimiento de la parte aérea puede detenerse de manera significativa. En cuanto a la cantidad de nutrimentos que absorbió la raíz y traslocó a la parte aérea de *Cassia*, el N con el inóculo CH presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) con respecto a los inóculos CF y CM; sin embargo, aunque el valor sea estadísticamente diferente según la prueba de Tukey, el porcentaje de N es cercano al que la planta absorbió sin micorrización. El contenido de P y K mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre los inóculos y el control. En este sentido, el conocimiento del papel de los HMA en la absorción de nutrimentos, aparte del P y N, es limitado porque las investigaciones son pocas; sin embargo, es necesario conocer sobre esta cuantificación, ya que los HMA a través de sus hifas externas pueden proveer a la planta, en adición al P, N, K, Cu y Zn en diversos tipos de suelos (Hernández y Salas, 2009). En lo que respecta al porcentaje de colonización y número de esporas fueron estadísticamente significativos ( $p < 0,01$ ) entre los inóculos y el control (Cuadro 1).

Es ampliamente reportado que el principal beneficio de la simbiosis micorrízica en la planta, es el incremento en biomasa (Lara *et al.*, 1998 y Alarcón, 2007). En este aspecto, la mayor respuesta

se presenta cuando se utilizan sustratos o suelo con baja disponibilidad de nutrimentos como los tepetates, en los cuales los hongos micorrízicos tienen mayor impacto al permitir mayor aprovechamiento de nutrimentos y agua para las plantas. El adicionar fertilizantes para subsanar las deficiencias nutrimentales del tepetate principalmente de N y P satisface los requerimientos de las plantas y biota, con lo que se puede favorecer su permanencia en el sustrato (Pérez *et al.*, 2000). Por otra parte, en las raíces de las leguminosas hay actividad biológica que favorece la fijación biológica de nitrógeno y la producción de mayor cantidad de exudados radicales que modifican de manera favorable el medio (Puget y Drinkwater, 2001).

La adquisición de fósforo por los hongos micorrízicos ha tenido especial interés, ya que este elemento es regulador principal de su efectividad. Al aplicar HMA al tepetate y una dosis de  $60 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , la planta de *Cassia* absorbió P en un rango de  $105 \pm 0,8$  a  $118 \pm 0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ . El P es un macronutriente para la planta ya que representa el 0.2% de su peso seco y siendo componente fundamental de las moléculas de ácidos nucleicos, fosfolípidos y ATP, por lo que su deficiencia impide el crecimiento adecuado de las plantas (Holford, 1997). La absorción de P por la planta se facilita de acuerdo a la morfología de la raíz, debido a que un sistema radical con elevadas relaciones de superficie en volumen de área, será mucho más efectivo para explorar un mayor volumen de suelo (Lynch, 1995). Por lo que los HMA son importantes para la adquisición de P, ya que en las plantas micorrizadas se incrementa el volumen de exploración de suelo mediante la extensa red de hifas que se forma. El grado de fertilidad del suelo, especialmente en cuanto

Cuadro 1. Valores promedio de altura, biomasa seca total, volumen radical; N, P y K en tejido vegetal, colonización total y número de esporas en plántulas de *Cassia* inoculadas con cepas de HMA provenientes de la rizósfera de plantas de haba, frijol y maíz.

Variable	Control	CF	CH	CM
Altura (cm)	$12,9 \pm 0,4$ a †	$18,6 \pm 0,6$ c	$15,2 \pm 0,3$ b	$13,7 \pm 0,4$ a
Biomasa seca total (g)	$0,5 \pm 0,04$ a	$2,4 \pm 0,1$ c	$0,8 \pm 0,05$ b	$0,6 \pm 0,02$ ab
Volumen radical ( $\text{cm}^3$ )	$1,5 \pm 0,05$ a	$1,6 \pm 0,05$ a	$3,1 \pm 0,08$ b	$1,6 \pm 0,08$ a
N total (%) en tejido vegetal	$0,1 \pm 0,05$ ab	$0,1 \pm 0,04$ a	$0,2 \pm 0,04$ b	$0,1 \pm 0,04$ a
P ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en tejido vegetal	$80 \pm 1,6$ a	$118 \pm 0,8$ d	$105 \pm 0,8$ b	$110 \pm 3,7$ c
K (%) en tejido vegetal	$1,6 \pm 0,05$ b	$1,8 \pm 0,05$ c	$2,3 \pm 0,05$ d	$1,3 \pm 0,05$ a
Colonización total (%)	$4 \pm 0,5$ a	$53 \pm 0,7$ b	$76 \pm 0,5$ c	$41 \pm 0,8$ d
No. Esporas/100 g tepetate	$105 \pm 0,4$ a	$771 \pm 0,5$ b	$986 \pm 0,7$ c	$769 \pm 1,1$ b

† Medias con la misma letra no son estadísticamente significativas  $\pm$ DE,  $n=5$  Tukey  $p \leq 0,05$ . CF=Cepa proveniente de frijol, CH=Cepa proveniente de haba, CM=Cepa proveniente de maíz.

al P, repercute en la presencia y efectividad de los HMA. Así, se menciona que concentraciones de P mayores que 10 mg de P extraíble por kg, afectan la funcionalidad de los endófitos y, por consiguiente, el beneficio que aporta al hospedero es menor (Sylvia *et al.*, 1993). Sin embargo, algunos hongos pueden tolerar mayores concentraciones de P y contribuir en el crecimiento de sus hospederos (Bolan, 1991). En un experimento, utilizando P marcado, Pearson y Jakobsen (1993) observaron diferencias en la absorción de este elemento en tres diferentes especies HMA que se encontraban asociados a *Cucumis sativus* L. Así *Glomus caledonium* probó poseer mayor rapidez al absorber  $^{32}\text{P}$  y traslocarlo, que *Glomus* sp. y que *Scutellospora calospora*.

La capacidad que tienen los HMA para penetrar e invadir la raíz intensamente y explorar el suelo adyacente son características de un simbiote infectivo, así como su habilidad de persistir en el sistema productivo (Abbott *et al.*, 1992). Aunque no se conoce si se ha logrado establecer una interacción importante entre la extensión de la formación micorrízica dentro y fuera de la raíz con la infectividad de la misma, es indudable que el crecimiento de la hifa asegura el funcionamiento de la simbiosis por lo que su papel debe considerarse al hacer la selección de las cepas. Por otro lado, las condiciones de infectividad y efectividad de los hongos endomicorrízicos dependen no sólo del simbiote, sino también de las condiciones ambientales (Haas y Krikun, 1985), lo que aumenta la importancia de los estudios ecológicos realizados con propósito de seleccionar cepas eficientes (Manjarrez *et al.*, 2000).

La efectividad o funcionamiento de un inóculo está condicionada por una serie de factores edáficos que de una u otra forma influyen en el efecto real que las micorrizas pueden ejercer sobre una especie o un grupo de especies en particular. Se mencionan factores como acidez del suelo, temperatura, aireación, humedad, estado nutricional e influencia de la luz, todos aunque distintos afectan la formación y la actividad fisiológica de los HMA (Hernández y Salas, 2009). Por lo que las características físicas y químicas del suelo que se pretende rehabilitar deben de tomarse en cuenta. En este caso, las características del tepetate no impidieron obtener un buen porcentaje de colonización en la raíz de *Cassia*, siendo el rango de 41 a 76% (Cuadro 1). El inóculo de maíz fue el que presentó el menor porcentaje de colonización, así

como el número de esporas, probablemente debido a que se aislaron hongos de una especie diferente. Sin embargo, Tovar (2006) menciona que cuando se trabaja con leguminosas, el inóculo debe de provenir a partir de una gramínea, para disminuir el peligro de patógenos que puedan ser muy parecidos o iguales.

Flores *et al.* (2000) determinaron el efecto de dos cepas de *Glomus* (*Glomus intraradices* y *Glomus etunicatum*) en la respuesta de crecimiento de *Leucaena leucocephala* (leucaena) en condiciones de vivero. Los resultados indicaron que el HMA puede ser una opción para la producción de plántulas de leucaena en vivero y que al ser trasplantadas a campo, ya sea en suelos fértiles o en áreas erosionadas donde aflora el sustrato conocido como tepetate puedan adaptarse. Zulueta *et al.* (2000) evaluaron el efecto de la inoculación con una mezcla de HMA sobre el crecimiento de plantas de cedro (*Cedrela odorata* L.) y primavera (*Tabebuia donell-smithii* Rose) en la etapa de vivero, obteniéndose en esta última diferencias estadísticamente significativas en las variables evaluadas, producción de biomasa radical y aérea, altura y diámetro del tallo, por lo que puede emplearse en áreas de suelos tropicales degradados.

De la misma manera, Matías *et al.* (1991) comprobaron la efectividad de los HMA en cuanto al suministro de nutrimentos esenciales a *Eysenhardtia polystachya*, la cual se desarrolló en un sustrato deficiente de nutrimentos como el tepetate. En otros estudios se ha observado que *Acacia cyanophylla* inoculada con estos hongos presenta un crecimiento equivalente al obtenido con altos niveles de fertilización fosfatada, considerando que el empleo de la simbiosis en plantas propagadas en vivero, para propósitos de conservación o rehabilitación de suelos, es una alternativa de alta viabilidad y de bajo costo que puede ser implementada para favorecer la supervivencia y funcionalidad de diversas especies a las condiciones limitantes de áreas degradadas (Guzmán y Ferrera, 1990). Por otro lado, autores como Cuenca *et al.* (2003) recomiendan el uso de *Clusia pusilla* y *Gongylolepis benthamiana* para reforestar áreas degradadas, debido a su elevado poder de germinación y tolerancia a condiciones de alta irradiación, inoculadas con *Glomus manihotis*. De manera particular, se reporta que al inocular *Cassia tora* con *Glomus tenuis* se estimula el crecimiento, además de proteger en un 100% a la raíz del hongo *Fusarium oxysporum* (Chakravarty y Mishra, 1986). Wilcock *et al.* (2004) reportan que *Cassia sturtii* es

empleada como alimento para ganado, además de adaptarse a zonas áridas.

A pesar de saber que varias especies vegetales se asocian con HMA, aún hace falta información para el manejo y producción de inoculantes de HMA, debido a que es imprescindible tomar en cuenta la importancia de esta asociación en programas de rehabilitación de suelos degradados. El hecho de emplear cepas nativas permite asegurar el éxito en el desarrollo de la asociación y con ello el mejor desarrollo de las especies vegetales. Lograr esto, implica un conocimiento básico de la riqueza y abundancia de especies de HMA presentes en la zona de interés y de sus efectos sobre las posibles plantas hospederas (Ramos *et al.*, 2004).

### CONCLUSIONES

Los inóculos evaluados en este trabajo, permiten sugerir que la biomasa de la planta puede ser útil para predecir el potencial micorrízico de un determinado inóculo. Así el inóculo de frijol que favorece este incremento y que promovió una mayor absorción de P puede emplearse para producir plantas de *Cassia tomentosa* con mayor vigor, las cuales pueden ser empleadas para programas de rehabilitación de tepetates. Mientras el inóculo de CH fue el que presentó un mayor porcentaje de colonización en la raíz de *Cassia tomentosa*; sin embargo, la planta tuvo una disminución en su biomasa seca total.

### LITERATURA CITADA

- Abbott, L. K.; A. D. Robson and C. Gazey. 1992. Selection of inoculate vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *In*: V.R. Norris, D.J. Read and A.K. Varma (EDS). *Methods in Microbiology*. Academic Press. London. p. 1-19.
- Abbot, L. K. and C. Gazey. 1994. An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. *Plant and Soil*. 159: 69-78.
- Aguilera, G. L. I.; V. Olalde; M. R. Arriaga y R. Contreras. 2007. Micorrizas arbusculares. *Ciencia Ergo Sum*. 14 (3): 300-306.
- Alarcón, A. 2007. Micorriza arbuscular. *In*: R. Ferrera y A. Alarcón (EDS). *Microbiología Agrícola*. Editorial Trillas, México, D. F. p. 90-119.
- Alcántar, G. G. y M. Sandoval. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación Especial No. 10. de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Chapingo, México. 156 p.
- Báez, P. A.; J. D. Etchevers; C. Hidalgo; C. Prat; V. Ordaz y R. Núñez. 2002. C Orgánico y P-Olsen en tepetates cultivados de México. *Agrociencia* 36: 643-653.
- Barea, J.M. 1999. Las micorrizas arbusculares componente clave en la productividad y estabilidad de agroecosistemas. Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos, Estación Experimental del Zaidín, Granada, España. p. 50.
- Bolan, N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 134: 198-207.
- Chakravarty, P. and R. R. Mishra. 1986. Influence of endotrophic mycorrhizae on the fusarial wilt of *Cassia tura* L. J. *Phytopathology* 115: 130-133.
- Cuenca, G.; Z. De Andrade; M. Lovera; L. Fajardo; E. Meneses; M. Márquez y R. Machuca. 2003. Pre-selección de plantas nativas y producción de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) de relevancia en la rehabilitación de áreas degradadas de la gran sabana, estado de Bolívar, Venezuela. *Ecotropicos* 16(1): 27-40.
- Douglas, J.S. 1976. *Advanced guide to hydroponics*. Drake Publishers, Inc., New York. USA. 195 p.
- Ferrera, C. R. 1995. Efecto de rizósfera. *En*: Ferrera, C. R. y J. Pérez (EDS). *Agromicrobiología*. Elemento útil en la agricultura sustentable. Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo, estado de México. 36-53 p.
- Figueiredo, M. V. B.; H. A. Burity; A. C. E. S. Mergulhao; W. M. Araújo; C. R. Salinas y J. A. G. Silveira. 2002. Respuesta a la inoculación de *Bradyrhizobium* sp. en caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.) utilizando diferentes sustratos de cultivos alternativos. *Investigación Agrícola: Producción Protección Vegetal*. 17 (1):
- Flores, B.R.; S. Aguilar; R. García y A. Zamora. 2000. Respuesta de crecimiento en plántulas de leucaena a la micorriza arbuscular en condiciones de vivero. *In*: A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (EDS).

- Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Mundi Prensa. México. 156-161 p.
- Flores, S.D.; M. A. Pérez y H. Navarro. 2004. Rehabilitación agroecológica de suelos volcánicos endurecidos, experiencias en el Valle de México. LEISA Revista de Agroecología 1: 24-27.
- Gamma, C. J.; R. E. Solleiro; R. D. Sedov; B. H. Cebadas y O. J. Díaz. 2007. Los tepetates y su dinámica sobre la degradación y el riesgo ambiental: el caso del Glacis de Buenavista, Morelos. Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana. Tomo LIX Número 1: 133-145.
- García, C.; D. Flores; N. E. García y R. Ferrera. 2008. Efecto de enmiendas orgánicas, higuera y micorriza sobre las características de un tepetate. Terra Latinoamericana. 26: 309-315.
- García, D. E.; M. G. Medina; P. Moratinos; L. J. Cova; A. Torres; O. Santos y D. Perdon. 2009. Caracterización químico-nutricional de forrajes leguminosas y de otras familias botánicas empleando análisis descriptivo y multivariado. Avances en Investigación Agropecuaria (AIA). 13 (2): 25-39.
- Gerdemann, J. M. and T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions British Mycological Society. 46: 235-244.
- Guerrero, E. E. G.; M. J. L. Luna y O. E. Caballero. 1992. Distribución de los tepetates de la República Mexicana. Escala 1:4 000 000. Terra 10: 131-150.
- Guillemin, J. P.; S. Gianinazzi and V. Gianinazzi-Pearson. 1991. Léndomycorrhization de vitroplants d '*Ananas comosus*: Mise evidence d'un effect mycorrhizen. Fruits. 46: 355-358.
- Guzmán, P. R. y R. Ferrera-Cerrato. 1990. La endomicorriza vesículo-arbuscular en las leguminosas. Sección Microbiología. Centro de Edafología. Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México. 120 p.
- Green, N.; M. Smith; W. Beavis and E. Aldon. 1983. Influence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on the nodulation and growth of subclover. Journal Range Management 86 (5): 576-578.
- Haas, J. H. and J. K. Krikun. 1985. Efficacy of endomycorrhizal fungus isolates and inoculum quantities required for growth response. New Phytologist 100: 613-622.
- Harley, J. L. and S. E. Smith. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London. 345 p.
- Hernández, W. y E. Salas. 2009. La inoculación con *Glomus fasciculatum* en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. Agronomía Costarricense 33 (1): 17-30.
- Holford, I. C. R. 1997. Soil phosphorus its measurement and its uptake by plants. Australian Journal Soil Research. 35: 227-239.
- Johansson, J. F.; L. R. Paul and R. D. Finlay. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. FEMS Microbiology Ecology. 48: 1-13.
- Koske, R. E. and B. Tessier. 1983. A convenient, permanent slide mounting medium. Mycological Society American Newsletter 34: 59.
- Lara, L.; D. Trejo and M. Escalona. 1998. The response of *Carica papaya* L. to native mixture arbuscular mycorrhizal fungi inoculation. In: Ahonen, J. U.; D. P. Franson; O. Karen; B. Lindahl; I. Rangel and R. Finlay (EDS). Programme and abstracts of the second international conference on mycorrhiza. 5-10 julio, Uppsala, Suecia.
- Lynch, J. 1995. Root architecture and plant productivity. Plant Physiology. 109: 7-13.
- Machado, R.; M. Navarro; C. Funy y J. Reino. 2005. Prospección y colecta de leguminosas multipropósito en áreas marginales de tres provincias cubanas. Pastos y Forrajes 28 (3): 187-197.
- Manjarrez, M.J.; A. Alarcón; R. y Ferrera. 2000. Biotecnología de la producción de inóculo micorrízico arbuscular y su control de calidad. In: A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (EDS). Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Mundi Prensa. México. 239-250 p.
- Matías, C.S.; C.G. Gómez; R. Ferrera; R. Quintero y R. Santizo. 1991. La influencia de los hongos



- endomicorrízicos V-A en la disponibilidad de fósforo en *Eysenhardtia polystachya* creciendo en tepetate. XXIV Memorias del Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, Pachuca, Hidalgo, México. p. 171.
- Molina, M.; L. Mahecha y M. Medina. 2005. Importancia de los hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. Revista Colombiana Ciencia Pecuaria. 18 (2): 162-175.
- NOM-021-SEMARNAT-2000. Norma mexicana que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación 31 de diciembre de 2002. 85 p.
- Pérez, O. M. A.; J. D. Etchevers; H. Navarro y R. Núñez. 2000. Aporte de los residuos del cultivo anterior al reservorio de nitrógeno en tepetates. Agrociencia 34: 115-125.
- Pearson, J. N. y I. Jakobsen. 1993. The relative contribution of hyphae and roots to phosphorus uptake by arbuscular mycorrhizal plants, measured by dual labeling with  $^{32}\text{P}$  and  $^{33}\text{P}$ . New Phytologist 124: 489-494.
- Phillips, J.M. and D.S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions British Mycological Society 55: 158-161.
- Puget, P. and E. Drinkwater. 2001. Short-term dynamics of root and shoot-derived carbon from leguminous green manure. Soil Science of America Journal 65: 771-779.
- Quantin, P.; A. Arias; J. Etchevers; R. Ferrera; K. Oleschko; H. Navarro; G. Werner y C. Zebrowski. 1993. Tepetates de México: caracterización y habilitación para la agricultura (Informe científico final del proyecto TS2-A 212-C CEE/ORSTOM). Terra 10: 178-182.
- Ramos, A. J. y P. Guadarrama 2004. Los hongos micorrizógenos arbusculares en la restauración de comunidades tropicales. Universidad y Ciencia. Número Especial I: 59-65.
- Ríos, G.S. 1994. Manejo de la endomicorriza V-A en plantas arbóreas para la rehabilitación de tepetate. Tesis Profesional. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, estado de México. 118 p.
- Rodríguez, I.; G. Crespo y C. Rodríguez. 2002. Comportamiento de la macrofauna del suelo en pastizales con gramíneas naturales puras o intercaladas con *Leucaena leucocephala* para la ceba de toros. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 36 (2): 181-185.
- Rzedowski, J. y G. C. de Rzedowski. 1990. Flora fanerógama del Valle de México. Vol. III. Monocotyledonae. Instituto de Ecología del Centro Regional del Bajío, Patzcuáro, Michoacán. México. 494 p.
- SAS Institute. 2002. JMP statistics and graphics guide. Version 5. SAS Institute. Cary, NC, USA. pp. 315-334.
- Salas, E. y A. F. Blanco. 2000. Selección de plantas hospederas y efecto del fósforo para la producción de inóculo de hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) por el método de cultivo en macetas. Agronomía Costarricense 23 (1): 11-17.
- Sánchez de P. M. 1999. Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ciencias Básicas, Palmira, Colombia. 227 p.
- Sánchez, de L. C. J. M. 2001. Guía de las plantas ornamentales. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Sieverding, E. 1983. Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.
- Sylvia, D. M.; D. O. Wilson; J. H. Graham; J. J. Maddox; P. Miliner; J. B. Morton; H. D. Skipper; S. F. Widght and A. G. Jarstfer. 1993. Evaluation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in diverse plants and soils. Soil Biology Biochemistry 25: 705-713.
- Sylvia, D.; J. Fuhrmann; P. Hartel and D. Zuberer. 1999. Principles and applications of soil microbiology. Ed. Prentice-Hall, Inc. New Jersey, U.S.A. 550 p.

- Tovar, F. J. 2006. Selección en invernadero de inóculos de micorriza arbuscular (MA) para el establecimiento de la alfalfa en un andisol de la sabana de Bogotá. *Universitas Scientiarum* 11: 87-103.
- Varela, L. y D. Trejo. 2001. Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. *Acta Zoológica Mexicana* 1: 39-51.
- Vázquez, A. A. 1997. Guía para interpretar el análisis químico del agua y suelo. 2 edición. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. 28 p.
- Velázquez, R. A. S.; D. Flores y O. A. Acevedo. 2001. Formación de agregados en tepetate por influencia de especies vegetales. *Agrociencia* 35 (3): 311-320.
- Velázquez, R. A. S.; D. Flores; J. D. Etchevers y N. E. García. 2008. Materia orgánica en tepetate bajo cultivo de higuera y pasto, acondicionado con estiércol y fertilizante. *Agrociencia* 42 (1): 11-19.
- Wilcock, T. E.; W. A. van Niekerk; N. F. G. Rethman and R. J. Coertze. 2004. A comparison of *Cassia sturtii*, *Tripteris sinuatum* and *Sutherlandia microphylla*: three fodder shrubs applicable to revegetation of degraded rangeland in the Northern Cape Province. *South African Journal of Animal Science*. 34 (supplement 1): 114-116.
- Zebrowski, C. 1992. Los suelos volcánicos endurecidos en América Latina. *TERRA Latinoamericana* 10: 15-23.
- Zulueta, R.; M. Alejandro; M. Escalona; D. Trejo y L. Lara. 2000. Respuesta de dos especies forestales tropicales a la inoculación micorrízica. *In*: A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (EDS). *Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Mundi Prensa. México 184-193 p.