

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



**Selección de plantas hospederas y el efecto de la solución Steiner baja en
fósforo para la producción de inóculo de hongos micorrízicos
arbusculares resistentes a salinidad**

POR

Carmi Leticia Hernandez Gonzalez

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Torreón, Coahuila, México

Diciembre 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN CARRERAS AGRONÓMICAS

Selección de plantas hospederas y el efecto de la solución Steiner baja en
fósforo para la producción de inóculo de hongos micorrízicos
arbusculares resistentes a salinidad

Por:

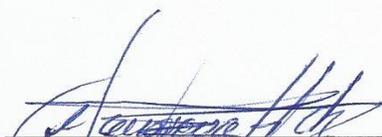
Carmi Leticia Hernandez Gonzalez

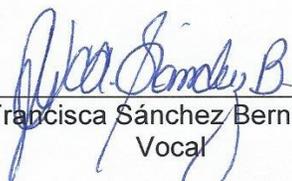
TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

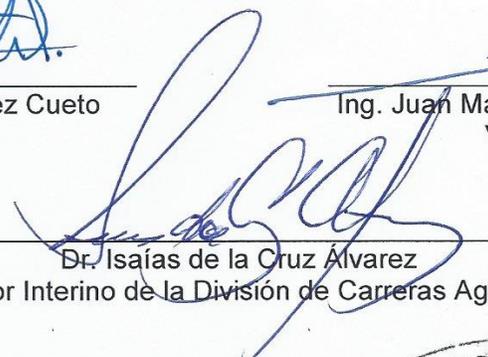
Aprobada por:


M.C. Genoveva Hernández Zamudio
Presidente


M.E. Francisca Sánchez Bernal
Vocal


M.E. Víctor Martínez Cueto
Vocal


Ing. Juan Manuel Nava Santos
Vocal Suplente


Dr. Isaías de la Cruz Álvarez
Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila, México

Diciembre 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Selección de plantas hospederas y el efecto de la solución Steiner baja en
fósforo para la producción de inóculo de hongos micorrízicos
arbusculares resistentes a salinidad

Por:

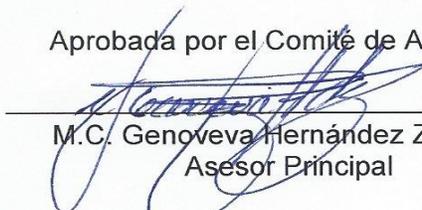
Carmi Leticia Hernandez Gonzalez

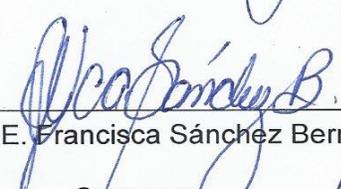
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada por el Comité de Asesoría:

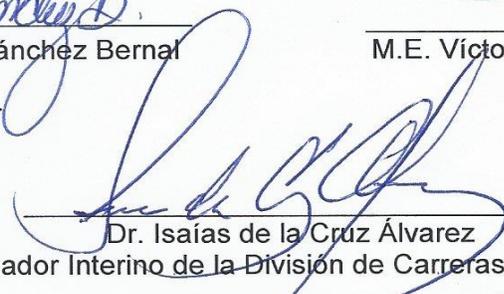

M.C. Genoveva Hernández Zamudio
Asesor Principal


M.E. Francisca Sánchez Bernal

Coasesor


M.E. Víctor Martínez Cueto

Coasesor


Dr. Isaías de la Cruz Álvarez
Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila

Diciembre 2019



AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por ser la fuerza que siempre me ha impulsado a creer y seguir adelante, por su infinito amor y las bendiciones que ha puesto en mi vida. Gracias señor por estar conmigo siempre por darme sabiduría capacidad y entendimiento a las cosas y por la paciencia.

A mi **Alma Terra Mater** mi segunda casa por más de 4 años, por ser el lugar donde aprendí cosas que me formaron como persona y donde adquirí conocimiento necesario para llegar a donde estoy.

M.C. Genoveva Hernández Zamudio: Le agradezco su confianza, comprensión y sobre todo su paciencia durante el trabajo de investigación orientándome siempre escuchándome y dando los consejos necesarios.

A mis **asesores de tesis**, M.C. Francisca Sánchez Bernal, M.E. Víctor Martínez Cueto y Juan Manuel Nava Santos, por su tiempo y dedicación y por todas sus gratas atenciones en la revisión de este trabajo de investigación.

Mis sinceros agradecimientos a todo el personal académico del **Departamento de Horticultura**, por todas sus atenciones brindadas, por compartir sus conocimientos y por darme las herramientas necesarias para desempeñarme en el ámbito profesional.

DEDICATORIAS

A mis padres

Florentino Hernández Roblero y Ademia González Pérez por darme la vida ustedes son mi motor y guía para hacer las cosas bien, se merecen todas las alegrías y triunfos que pueda llegar a conseguir, es un orgullo y honor tenerlos como padres porque me enseñaron que en la vida nunca hay que rendirse, porque con esfuerzo y dedicación todo se puede. Siempre los llevo en mi mente y en mi corazón. Los amo.

A mi hermana:

Noelinda Hernández González gracias por todo tu apoyo que me brindas y por ser como eres, mil gracias por cada uno de tus consejos porque me han servido de mucho, también quiero agradecerte por estar conmigo en las buenas y en las malas por estar siempre ahí cuando más te necesito. Este logro te lo debo a ti hermana. Le agradezco a Dios por darme una hermana como tú. Te Quiero Muchísimo Dios te colme de muchas bendiciones. Gracias por estar conmigo durante la realización de mi carrera profesional.

A mis hermanos:

Eufelio Hernández González, Arnulfo Hernández González, Pablo Rigoberto Hernández González, Benaias Hernández González y Ezequiel Hernández González, por sus apoyo incondicionalmente, aunque estamos lejos siempre estuvieron dándome ánimos para seguir adelante por los consejos que me han

brindado para lograr lo que hoy en día soy muchísimas gracias hermanos los Quiero mucho y Dios me los bendiga a cada uno de ustedes.

A mis abuelos:

Sr. Elfego González Pérez y Sr. Adelina González Vázquez por su apoyo que me brindaron durante la realización de mi carrera profesional, cada uno de sus consejos que siempre estuvieron en mi mente, por su cariño muchísimas gracias abuelos los quiero mucho. Aunque tu abuela ya no estas yo sé que desde el cielo estas cuidándome y sé que estarías orgullosa de este logro, siempre estás en mi mente y en mi corazón te extraño mucho.

A mis madrinas:

Deyanira Dardón Arrázate, por su apoyo y cariño que me brindo muchas gracias maestra por estar siempre cuando la necesito la quiero mucho.

A mis mejores amigos y amigas:

Edna Arellanes, María Ortiz, Keila Casanova, Julissa Gómez, Patricia García, Alma Giménez, Guadalupe, Velázquez, Reyna de León, Rosalía López, Celi Cifuentes, Sandra Ventura, Bella Morales, Santiago Cardenas, Inocencio Ricardo, Alan Chávez, Jorge Ramírez, Avidan Roblero, Geyber Roblero, Bilgai Morales, por estar conmigo en las buenas y en las malas, por hacerme reír en los momentos tristes por su apoyo y todos esos ánimos que me brindaron siempre que los necesite. Dios me los bendiga a cada uno de ustedes los quiero y los extraño mucho.

RESUMEN

El objetivo de tener un inóculo nativo obtenido de la Poza Salada del Valle del Sobaco, servirá para ayudar a la producción de inóculo de HMA que crecen en suelos salinos. En el presente trabajo se determinó el huésped más adecuado y el riego de mejor producción de inóculo, por otra parte se evaluaron el número de esporas y el porcentaje de micorrización de las plantas hospederas las cuales son maíz (*Zea mays* L) y pasto (*Lolium perenne* L) que fueron regadas con agua y solución Steiner baja en fósforo. Para ello se evaluó el porcentaje de micorrización de las macetas trampa en dos tiempos el primero a los 30 días después de la germinación y 60 días posterior de determinar el número de esporas homogenizado mediante tamizado en húmedo y decantación, seguido por centrifugación en gradiente de sacarosa (20 y 60 %) a 3500 rpm, después de que a los tres meses las plantas se cortaron y dejaron de regar por noventa días. De acuerdo a los resultados: El mejor hospedero para la producción de inóculo fue el maíz y el mejor riego para la producción de inóculo es la solución Steiner baja en fósforo, en cuanto al mayor porcentaje de micorrización la planta huésped es el maíz regado con agua.

Palabras clave: Producción de inóculo, Porcentaje de micorrización, Número de esporas, Planta huésped.

ABSTRACT

The objective of having a native inoculum obtained from the Salt Pool of the Sobaco Valley will help to produce the production of HMA inoculum that grows in saline soils. In the present work, the most suitable host and the irrigation of the best inoculum production were determined, on the other hand the number of spores and the percentage of mycorrhization of the host plants which are corn (*Zea mays* L) and grass (*Lolium*) were evaluated perennial L) that were watered with water and low phosphorus Steiner solution. For this, the percentage of mycorrhization of the two-stage trap pots was evaluated the first at 30 days after germination and 60 days after determining the number of spores homogenized by wet sieving and decantation, followed by sucrose gradient centrifugation (20 and 60%) at 3500 rpm, after three months the plants were cut and stopped watering for ninety days. According to the results: The best host for the production of inoculum was corn and the best irrigation for the production of inoculum is the low phosphorus Steiner solution. As for the highest percentage of mycorrhization, the host plant is the water-irrigated corn.

Keywords: Production of inoculum, percentage of mycorrhization, number of spores and host plant.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iv
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ABSTRACT	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	4
1.1. Objetivo General	4
1.1.1 Objetivos Específicos	4
1.2 Hipótesis	4
II. REVISION DE LITERATURA	5
2.1 Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	5
2.2 Ciclo de vida de los hongos micorrízicos arbusculares	6
2.2.1 Fase pre-simbiótica	6
2.2.2 Fase intraradical	6
2.2.3 Fase extraradical	7
2.3 Tipos de hongos micorrízicos arbusculares más comunes	7
2.4 Hongos micorrízicos arbusculares como biofertilizantes	7
2.4.1 Tipos de biofertilizantes	8
2.4.2 ¿Para qué sirven los Biofertilizantes?	9
2.5 Producción de hongos micorrízicos arbusculares	9
2.5.1 Planta huésped para producción de hongos micorrízicos arbusculares (maíz y pasto)	10
2.5.2 Sustrato para producir hongos micorrízicos arbusculares	11
2.5.3 Nutrición en las plantas	12

2.6 Métodos para producir inóculo de HMA	13
2.7 Salinidad	13
2.7.1 Las plantas y la salinidad del suelo	14
2.7.2 Uso de los HMA como una alternativa para la producción agrícola en condiciones salinas	14
2.8 <i>Distichlis spicata</i> L	15
2.8.1 Descripción	15
III. MATERIALES Y METODOS	16
3.1 Sitio del muestro	16
3.2 Muestreo	17
3.3 Análisis físico químico del suelo	18
3.4 Macetas Trampa	18
3.5 Sustrato	19
3.5 Plantas Huésped	20
3.6 Riego	20
3.7 Tratamiento	21
3.8 Porcentaje de micorrización en raíces	22
3.9 Numero de esporas	24
3.10 Análisis Estadístico	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.1 Propiedades físicas y químicas del suelo	26
4.2 Evaluación de porcentaje de micorrización primer y segundo mes .	28
4.2 Conteo de esporas	34
V. CONCLUSIÓN	39
VI. REFERENCIAS	40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Especies de hongos micorrícicos arbusculares identificados en el suelo rizosférico de <i>Distichlis spicata</i> L.	19
Cuadro 2. Fertilizantes y dosis para la realización de solución Steiner baja en fósforo al 50 %.	21
Cuadro 3. Cuatro tratamientos con 10 repeticiones, dos plantas hospederas y dos forma de riego.	21
Cuadro 4. Descripción de características fisicoquímicas del suelo rizosférico de <i>Distichlis spicata</i> L.	26
Cuadro 5. Evaluación del porcentaje de micorrización de los HMA aisladas de la rizósfera de <i>Distichlis spicata</i> a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada en plantas de maíz (<i>Zea mays</i> L.) regada con agua o solución nutritiva baja en fósforo se realizó al mes de la fecha de siembra.....	28
Cuadro 6. Evaluación del porcentaje de micorrización de los HMA aisladas de la rizósfera de <i>Distichlis spicata</i> a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada, en plantas de maíz (<i>Zea mays</i> L.) regada con agua o solución nutritiva baja en fósforo, se realizó al segundo mes de haber iniciado la fecha de siembra.	29
Cuadro 7. Evaluación de los porcentajes de micorrización de los HMA aisladas de la rizósfera de <i>Distichlis spicata</i> a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada en plantas de (<i>Lolium perenne</i> L.) con agua o solución nutritiva baja en fósforo, se realizó la evaluación al mes de la fecha de siembra.....	31

Cuadro 8. Evaluación del porcentaje de micorrización de los HMA aisladas de la rizósfera de *Distichlis spicata* a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada en plantas de pasto (*Lolium perenne* L.) regada con agua o solución nutritiva baja en fósforo, se realizó la evaluación al segundo mes de la fecha de siembra..... 32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida los hongos micorrícicos arbusculares (Bárzana González, 2014).....	6
Figura 2. Área de muestreo de la Poza Salada en el Valle del Sobaco, en el municipio de San Pedro de las Colonias, en el Estado de Coahuila México. Tomado de (Czaja et al., 2014).....	16
Figura 3. Vista de la Poza Salada Valle del Sobaco (Hernández-Zamudio et al., 2018).....	17
Figura 4. Se colectaron las muestras de suelo de la rizósfera de (<i>Distichlis spicata</i> L Grenne), fotos tomadas por Carmi Hernández.	17
Figura 5. Cultivos para realizar el porcentaje de micorrización y el número de esporas, fotos tomadas por Carmi Hernández.	18
Figura 6. Realización de sustrato, preparación de macetas, fotos tomadas por Carmi Hernández.	19
Figura 7. Desinfección de las semillas y siembra, fotos tomadas por Carmi Hernández.	20
Figura 8. Preparación de solución nutritiva para los riegos de las plantas, fotos tomadas por Carmi Hernández.	22
Figura 9. Preparación de las raíces para montaje, observación en el microscopio óptico, fotos tomadas por Carmi Hernández.	23
Figura 10. Corte de las plantas hospederas para propiciar la esporulación, fotos tomadas por Carmi Hernández.	24

Figura 11. Extracción de esporas y montaje de estas, fotos tomadas por Carmi Hernández	25
Figura 12. Evaluación y comparación del número de esporas en 100 g de suelo de los HMA, aisladas de la rizósfera de <i>Distichlis spicata</i> a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada en plantas de maíz (<i>Zea mays</i> L.), regadas con agua y solución nutritiva baja en fósforo.....	34
Figura 13. Evaluación y comparación del número de esporas en 100g de suelo de los HMA, aisladas de la rizósfera de <i>Distichlis spicata</i> a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada en plantas de pasto (<i>Lolium perenne</i> L), regadas con solución nutritiva baja en fósforo.	35
Figura 14. Hifas y vesículas observadas en raíces de maíz en la segunda evaluación, fotos tomadas por Carmi Hernández.....	37
Figura 15. Hongos micorrizógenos arbusculares encontrados en las plantaciones de maíz y pasto. Presentes en el suelo de la rizósfera de <i>Distichlis spicata</i> , foto tomada por Carmi Hernández.	38

I. INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microorganismos del suelo que establecen relaciones simbióticas con las raíces de más del 80% de las plantas, e incrementan la asimilación de nutrimentos y la tolerancia a diversos tipos de estrés biótico y abiótico. Tienen un efecto en las relaciones hídricas de la planta y del suelo en condiciones, que modifican la conductividad estomática, la tasa fotosintética y la transpiración en las plantas, mientras que los exudados fúngicos promueven la cohesión de las partículas del suelo e incrementan la retención de agua. Los hongos adquieren de la planta fotoasimilados para su mantenimiento y de un nicho protector, (Harris-Valle *et al.*, 2009). Colonizan las células corticales de la raíz de la planta hospedera, donde desarrollan estructuras características de la simbiosis (arbúsculos, hifas y vesículas), así como micelio extrarradical.

Estos hongos incrementan el volumen de la raíz y permiten una mayor exploración de la rizósfera. Son considerados los componentes más activos de los órganos de absorción de los nutrientes de la planta, (Noda, 2009).

El fósforo es el principal elemento que los HMA proporcionan a la planta además de nitrógeno, magnesio, calcio, evitando la acción de microorganismo patógenos en la raíz, aumentando la tolerancia de la planta a condiciones de stress abiótico en el suelo, (BARRER, 2009).

La producción de inóculo de los HMA es complicada debido a su carácter de simbioses obligados y de reproducción asexual, por lo que su reproducción se

realiza por medio de macetas trampa con plantas hospederas susceptibles y cultivadas en sustratos o suelos esterilizados, (Salas y Blanco, 2000).

La tolerancia a la salinidad cobra mayor relevancia debido al gran número de hectáreas que presentan este problema en el mundo y representa un problema cada vez mayor, particularmente en las zonas áridas y zonas semiáridas (Rengasamy, 2006).

Liu et al. (2015) Demostraron que los hongos nativos de HMA desempeñan un papel en la mejora del crecimiento de los cultivos al aliviar los efectos nocivos de la alta salinidad en los sistemas de cultivo intensificados.

Santillana y Toro (2018) probaron cuatro tratamientos constituidos por suelos rizosféricos y raíces provenientes de cuatro especies de pastos naturales (*Festuca rigescens*, *Muhlenbergia ligularis*, *Calamagrostis vicunarum* y *Carex ecuadorica*). El número de esporas varía según el tipo de suelo rizosférico. El suelo extraído de *Festuca rigescens* presentó el mayor número de esporas en 100 g de suelo seco (732), y superó con diferencias significativas al resto de tratamientos, mientras que *Muhlenbergia ligularis* presentó el menor número de esporas (66).

Liu y Wang (2003) probaron cuatro especies de plantas hospederas, en tres diferentes tipos de suelos: Despojo de coalmina de la ciudad de Zhaozhuang, suelo de bosque bajo *Pinus thunbergii* Parl en las islas Changshan y suelo salino del delta del río Amarillo en la provincia de Shandong, China. Para la producción de inóculo. El hospedero en maíz presento un porcentaje en colonización mejor

en los tres tipos de suelo, seguido por el trébol blanco, mientras que el cincefoil de tabaco y silverweed mostró los niveles más bajos de colonización.

Bustamante Cubas *et al.* (2014) probaron maíz como planta hospedera para la producción de inóculos. Las cuales respondieron favorablemente a la inoculación de HMA nativos, determinándose infectividad y efectividad. En la infectividad se determinó hasta 593,1% de incremento en las esporas y 87,5% de micorrización de las raíces. En la efectividad se determinó hasta 53,7% de incremento en la altura de las plantas de maíz.

Sin embargo la investigación de los HMA nativos de clima desértico y ambiente salado ha recibido poca atención.

Debido al gran número de hectáreas cultivadas que presentan problemas de salinidad, es una necesidad de encontrar alternativas sustentables para que las plantas enfrenten el problema.

II. OBJETIVOS

1.1. Objetivo General

Evaluar el mejor hospedero y el efecto de la solución Steiner baja en fósforo para la producción de inóculo de HMA aisladas de la rizósfera de (*Distichlis spicata* L.) Greene.

1.1.1 Objetivos Específicos

1. Determinar el número de esporas en la producción de inóculo de HMA obtenidas a los tres y seis metros de distancia de la Poza Salada, regadas con agua y solución nutritiva baja en fósforo en maíz (*Zea mays* L.) y pasto (*Lolium perenne* L.).
2. Evaluar el porcentaje de micorrización de HMA obtenidas a los tres y seis metros de distancia de la Poza Salada, regadas con agua y solución nutritiva baja en fósforo en maíz (*Zea mays* L.) y pasto (*Lolium perenne* L.).

1.2 Hipótesis

Debido al alto desarrollo radicular de *Lolium perenne* regadas con solución Steiner baja en fósforo se obtiene la mejor producción de inóculo de HMA.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA)

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), son asociaciones ecológicamente mutualistas entre hongos del phylum Glomeromycota y la inmensa mayoría de la planta (cultivadas y silvestres). Se trata de una simbiosis prácticamente universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales. Las micorrizas son tan antiguas como las propias plantas y se conoce su existencia desde hace más de 400 millones de años (Pérez *et al.*, 2011).

Los HMA forman una extensa red de micelio en el suelo que proporcionan múltiples ventajas tales como: el mayor transporte de agua y nutrientes (especialmente P, Cu y Zn entre otros); protección en condiciones de estrés, debido a problemas de salinidad, sequía, acidez, elementos tóxicos o patógenos que atacan a la raíz (Pérez *et al.*, 2016).

Es reconocido que la gran mayoría de las plantas captan los nutrientes por medio de interacciones que establecen con los microorganismos que viven en la rizósfera, especialmente con aquellos que se han denominado simbiontes, tales como los HMA (Guerra-Sierra, 2008).

2.2 Ciclo de vida de los hongos micorrízicos arbusculares

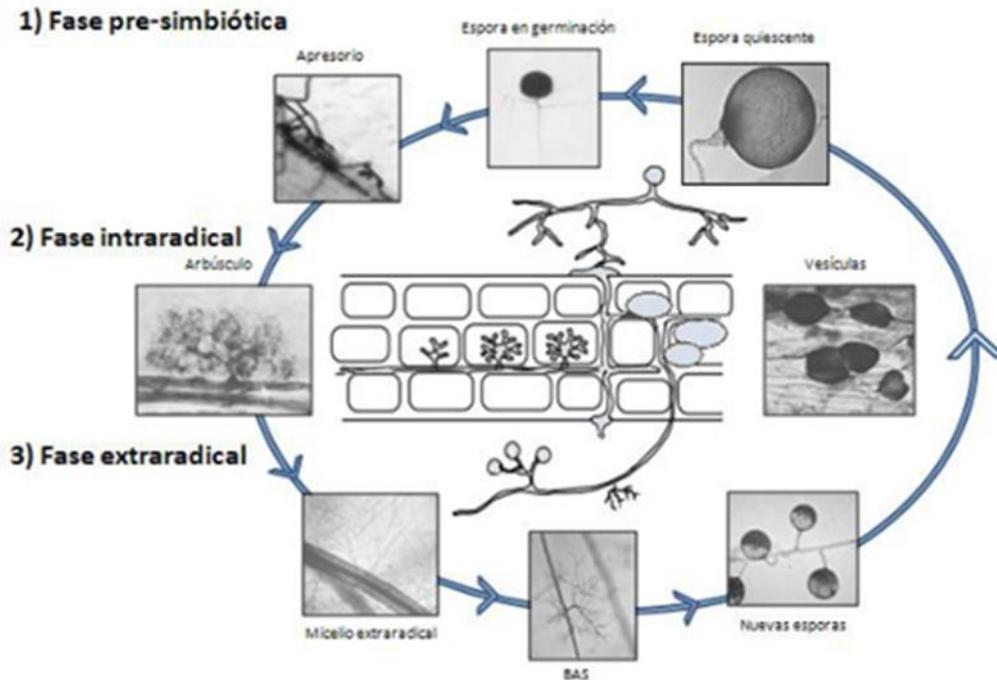


Figura 1. Ciclo de vida los hongos micorrízicos arbusculares (Bárzana González, 2014)

2.2.1 Fase pre-simbiótica

Existen tres fuentes de propágulos por las que los hongos pueden llegar a colonizar nuevas plantas: esporas, fragmentos de raíces micorrizadas e hifas, adquiriendo cada una diferente importancia como propágulo según el hábitat (Bárzana González, 2014).

2.2.2 Fase intraradical

El aparato de pre-penetración (PPA) es el comienzo de la fase de colonización y se genera unas 4-6h después de la formación del apresorio, dando tiempo suficiente a la preparación de la planta para el inicio de la penetración mediante la activación de nuevos genes (Bárzana González, 2014).

2.2.3 Fase extraradical

Cuando la infección interna está bien establecida, las hifas del hongo crecen externamente formando el micelio extraradical, aumentando considerablemente el volumen de suelo que puede ser explotado para la adquisición de recursos para la planta hospedadora (Bárzana González, 2014) (figura 1).

2.3 Tipos de hongos micorrízicos arbusculares más comunes

Se pueden distinguir tres grupos fundamentales que difieren tanto en estructura como en las características fisiológicas de la simbiosis (Brundrett y Soil, 2009). Las endomicorrizas colonizan las células del córtex de la raíz penetrando en su interior. La mayoría pertenecen al grupo de las micorrizas arbusculares (MA), que se caracterizan porque colonizan el interior de las células mediante divisiones dicotómicas sucesivas formando una estructura en forma de árbol donde se lleva a cabo el intercambio de nutrientes entre la planta y el hongo (Barea *et al.*, 2008).

Las ectomicorrizas se caracterizan por la formación de una envoltura o manto alrededor de las células. En este caso el micelio penetra en las raíces a través de los espacios intercelulares sin llegar a penetrar intracelularmente. Por último existe un tercer grupo conocido como ectendomicorrizas, que presenta características intermedias de los dos grupos anteriores formando un manto y penetraciones intracelulares (Bárzana González, 2014).

2.4 Hongos micorrízicos arbusculares como biofertilizantes

Los biofertilizantes son formulaciones de microorganismos beneficiosos como bacterias y hongos, que se aplican a los cultivos agrícolas o al suelo, solos o

combinados, para favorecer su actividad biológica (Lozano Contreras y Ramírez Jaramillo, 2016).

Una de las alternativas para incrementar la producción agrícola es la aplicación de biofertilizantes producidos a partir de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los que al establecer la simbiosis con las raíces de las plantas desempeñan importantes funciones, pues contribuyen de forma más eficiente a la supervivencia y el crecimiento de los cultivos, además de reducir los efectos de estrés asociados con la nutrición y las relaciones con el agua. En este sentido, la formación de micorrizas juega un papel importante en el crecimiento de las plantas en condiciones de estrés hídrico (Montero *et al.*, 2010).

Los biofertilizantes están constituidos por microorganismos vivos; los cuales, cuando se aplican a semillas, superficies de plantas o suelos, colonizan la rizósfera o el interior de la planta, promueven el crecimiento al incrementar el suministro o la disponibilidad de nutrientes primarios a la planta huésped. No contaminan los productos vegetales, ni el suelo; por el contrario, son regeneradores de éste, además algunos inducen el desarrollo de mecanismos de defensa de las plantas (Anaya *et al.*, 2011).

2.4.1 Tipos de biofertilizantes

Entre los microorganismos de mayor importancia usados como biofertilizantes, destacan bacterias como los rizobios, *Azotobacter* y *Azospirillum*, hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) y rizobacterias como *Pseudomonas* y *Bacillus*. Los biofertilizantes más conocidos se elaboran utilizando hongos benéficos llamados micorrizas, esta palabra se compone de

dos partes, mico que significa hongo y riza, que significa raíz. Otro tipo de biofertilizantes se elaboran con bacterias del genero Azospirillum spp. Azotobacter spp., Burkholderia spp., Rhizobium spp., entre otros (Lozano Contreras y Santamaría Basulto, 2013).

Azotobacter: facilita la captación de nutrientes favoreciendo su desarrollo y protección contra patógenos, produce Fitohormonas que favorecen el enraizamiento, incrementan la resistencia, tolerancia de la planta a la sequía o salinidad (Quille Mamani, 2015).

2.4.2 ¿Para qué sirven los Biofertilizantes?

Estos son capaces de poner a disposición de las plantas, mediante su actividad biológica, una parte importante de las sustancias nutritivas que necesitan para su desarrollo en cuanto a mayor altura, vigor y área foliar, se incrementan los rendimientos (entre 15 y 50%), así como suministrar sustancias hormonales o promotoras del crecimiento (Ramírez y Feria, 2017).

Además no contaminan ni degradan su capacidad productiva, son regeneradores de su población microbiana y tienen una función protectora del sistema radicular de la planta contra microorganismos patógenos (Novo, 2002).

2.5 Producción de hongos micorrízicos arbusculares

Uno de los aspectos más importantes para la selección de hongos micorrízicos es la posibilidad de manejarlos en laboratorio, aislándolos y producirlos en cultivos puros. Este carácter es importante para realizar mecanismos de optimización que nos permita obtener inóculo en grandes cantidades con el

objeto de producción de planta micorrizada para el empleo en programas de fitorremediación o reforestación de zonas degradadas así como en repoblaciones forestales (MADRID, 2016).

El inóculo se encuentra en su comportamiento simbiótico, los hongos requieren obligatoriamente de una planta huésped para su crecimiento. A partir del inóculo fúngico, generalmente hecho de esporas y raíz colonizada segmentos, se incorporan a un sustrato de crecimiento para la producción de plántulas (Brundrett *et al.*, 1996). Los hongos se propagan en el sustrato y colonizan las plántulas de la raíz. Ambos colonizados los sustratos y las raíces pueden servir como inóculo micorrízico. Las esporas facilitan la nutrición uniforme de las plantas colonizadas (Hock y Varma, 1999).

2.5.1 Planta huésped para producción de hongos micorrízicos arbusculares (maíz y pasto)

El maíz (*Zea mays* L.) es la especie cultivada con más amplia distribución en México, en donde cumple una función de gran importancia en el suministro alimentario familiar y se encuentra muy ligada a la cosmovisión de los pueblos indígenas (Ayala Sánchez *et al.*, 2009). Esta especie ha sido catalogada como una planta micotrófica facultativa que responde a la presencia de HMA en suelos con bajo o moderado nivel de fertilidad (Gavito *et al.*, 1998) aunque también se ha observado que el grado de dependencia micotrófica en suelos con bajo nivel de fósforo varía ampliamente entre variedades de maíz (Khalil *et al.*, 1994).

Entre los procesos de innovación agroecológica que están siendo impulsados en el cultivo de maíz se encuentra el manejo de AVCC, la aplicación de abonos orgánicos líquidos y la inoculación de micorrizas arbusculares (Pérez-Luna *et al.*, 2012).

Lolium perenne L. (ballica inglesa) es la gramínea perenne más cultivada en la Zona Sur del país, debido a que presenta un alto rendimiento y calidad de materia seca. Está presente en praderas naturalizadas y mejoradas, pero en la época estival con bajas precipitaciones muere y disminuye su participación en la pradera. Cuando *L. perenne* es sometida a déficit hídrico incrementa la densidad de macollos de menor tamaño y de raíces laterales, lo que favorece el crecimiento de la fitomasa aérea por sobre el crecimiento radicular. Las raíces superficiales podrían morir, pero un aumento de raíces a mayor profundidad en el perfil del suelo, le permite sobrevivir en condiciones hídricas desfavorables (Schnettler, 2017).

2.5.2 Sustrato para producir hongos micorrízicos arbusculares

Los sustratos elegidos para anclar las plantas huésped pueden influir directamente en la producción de inóculo. Debe contener un nivel óptimo de nutrientes de tal manera que debe apoyar el crecimiento de la planta huésped y al mismo tiempo inducir a los hongos HMA a esporular y multiplicar (Kumar y Saxena, 2017).

Otros medios hacen uso de la perlita, la turba de coco o de algas, el corcho, la arcilla expandida, los sistemas hidropónicos, la técnica de película de nutrientes o cultivo axénicos de órganos de raíz (Blanco y Salas, 1996).

2.5.3 Nutrición en las plantas

El efecto nutricional más notorio, y también el más estudiado, es el aumento en la absorción de fósforo, elemento que limita el crecimiento vegetal en la mayoría de los suelos. La falta de nitrógeno, conjuntamente con la de fósforo, representa una de las principales limitaciones para el crecimiento de las plantas en los trópicos (Fernández, 1999). Así como ocurre con el fósforo, tanto las hifas como las raíces micorrizadas son capaces de absorber nitrógeno en varias formas y transferirlo hacia la planta (Llonín y Medina, 2002).

Además de su papel en la nutrición vegetal, la asociación micorrizal contribuye significativamente al mejoramiento de la estructura del suelo, incrementa la resistencia de la planta al estrés hídrico, al ataque de enfermedades y favorece interacciones con otros microorganismos benéficos. La inoculación micorrizal ha mejorado el crecimiento de plántulas de diversas especies vegetales como: aguacate, café, pastos, especies de interés forestal, entre otras. La calidad del inóculo es determinante para evaluar su efectividad sobre las plántulas; en general, se considera un inóculo adecuado cuando este contiene al menos 30 propagulos infectivos por g de suelo. Comercialmente se exige que haya 50 propagulos micorrizales infectivos por g de suelo. El inóculo micorrizal debe estar y mantenerse seco, esto le permite mantener su viabilidad por varios meses y aún años (Osorio, 2012).

2.6 Métodos para producir inóculo de HMA

Existen varios métodos para producir inóculo de HMA. El cultivo en macetas es el más común y confiable, en el cual se deposita una pequeña cantidad de fragmentos de raíces o esporas tamizadas del suelo, en una maceta con un sustrato esterilizado y se siembra una planta hospedadora. Después de 3 a 6 meses, el hongo habrá colonizado las raíces y producido nuevas esporas. La maceta contendrá, además del sustrato, raíces infectadas, fragmentos de hifas y esporas, se utiliza turba, vermiculita y agregados de arcilla expandida. También se ha modificado el método de cultivo aeropónico, donde se aplica una niebla fina de una solución nutritiva en las raíces colonizadas, obteniéndose una gran cantidad de esporas de hongos y fragmentos de raíces, que permanecen infectivos por más de 23 meses (Bustamante Cubas *et al.*, 2014).

La tercera técnica fue “cultivo in vitro” con uso de raíces transformadas por *Agrobacterium tumefaciens*, lográndose reproducir el hongo, aunque con un costo elevado. La técnica de la “película nutritiva” es excelente para la producción de inoculante, por la cantidad y rapidez de propágulos (Martínez-Viveros *et al.*, 2010).

2.7 Salinidad

Entre las condiciones adversas de los sistemas agrícolas, la salinidad es el factor que más ha influido sobre el establecimiento de las poblaciones humanas y existen registros históricos de migraciones provocadas por la salinización del suelo cultivable, es un serio problema para la agricultura, fundamentalmente para las regiones áridas y semi-áridas. La superficie total de los suelos afectados en

el mundo es de 831 millones de hectáreas que incluyen 397 y 434 millones de hectáreas de suelos salinos y sódicos, respectivamente (Hasanuzzaman *et al.*, 2014).

2.7.1 Las plantas y la salinidad del suelo

El efecto más común de la salinidad sobre las plantas es la reducción del desarrollo, debido a una disminución del potencial osmótico del medio y en consecuencia del potencial hídrico del suelo, una toxicidad específica normalmente asociada con la absorción excesiva de Na^+ de Cl^- , un desequilibrio nutricional debido a la interferencia de los iones salinos con los nutrientes esenciales y la combinación de los efectos antes indicados. Como consecuencia de estos efectos primarios, a menudo ocurren otros estreses secundarios, como el daño oxidativo (Daie, 1989).

2.7.2 Uso de los HMA como una alternativa para la producción agrícola en condiciones salinas

Aunque existen evidencias de que la simbiosis micorrízica afecta y regula varios de los mecanismos implicados en la tolerancia de las plantas a la salinidad, muchos de los aspectos fisiológicos y las bases moleculares de esta regulación son desconocidos. Lo que sí está ampliamente demostrado es la importancia ecológica de la asociación micorrízica para la supervivencia y el crecimiento de las plantas bajo condiciones de estrés salino y; por tanto, su importancia para la agricultura bajo esta condición (Medina-García, 2016).

El estrés salino afecta el crecimiento de la planta y los efectos de la salinidad en la actividad metabólica de esta pueden cambiar de acuerdo al uso de los HMA; por lo que se hace necesario realizar estudios que profundicen en la selección de cepas efectivas de HMA para mejorar el desarrollo de las plantas bajo condiciones de estrés (Medina-García, 2016).

2.8 *Distichlis spicata* L

2.8.1 Descripción

(*Distichlis spicata* L.) Greene es una especie potencial de césped de temporada cálida que tiene la capacidad de crecer bajo alta salinidad (estrés salino) condiciones y con fuentes de agua disponibles limitadas (Pessaraki *et al.*, 2012).

Común en las mareas costeras del Atlántico, así como en el interior marismas salinas de América del Norte. En el campo, esta especie muestra una distribución muy amplia con respecto a la salinidad del suelo; compite eficazmente en pannes altamente salinos (NaCl 500-600 mM), así como en áreas de filtración de agua dulce (0-170 mM), y se encuentra más comúnmente en áreas de salinidad moderada del suelo (Warren y Gould, 1982).

III. MATERIALES Y METODOS

El experimento se llevó acabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro unidad laguna, ubicada en la ciudad de Torreón, Coahuila, México, en el invernadero #1 del departamento de horticultura con coordenadas geográficas $103^{\circ} 25' 57''$ de longitud oeste meridiano de Greenwich y $25^{\circ} 31' 11''$ de latitud norte, con una altura de 1123 msnm.

3. 1 Sitio del muestreo

La Poza Salada está ubicada en el estado de Coahuila, en el Municipio de San Pedro de las Colonias, en el Valle del Sobaco, con las coordenadas $26^{\circ} 10' 55.07''$ N y $102^{\circ} 42' 24.11''$ O (figura 2 y 3).

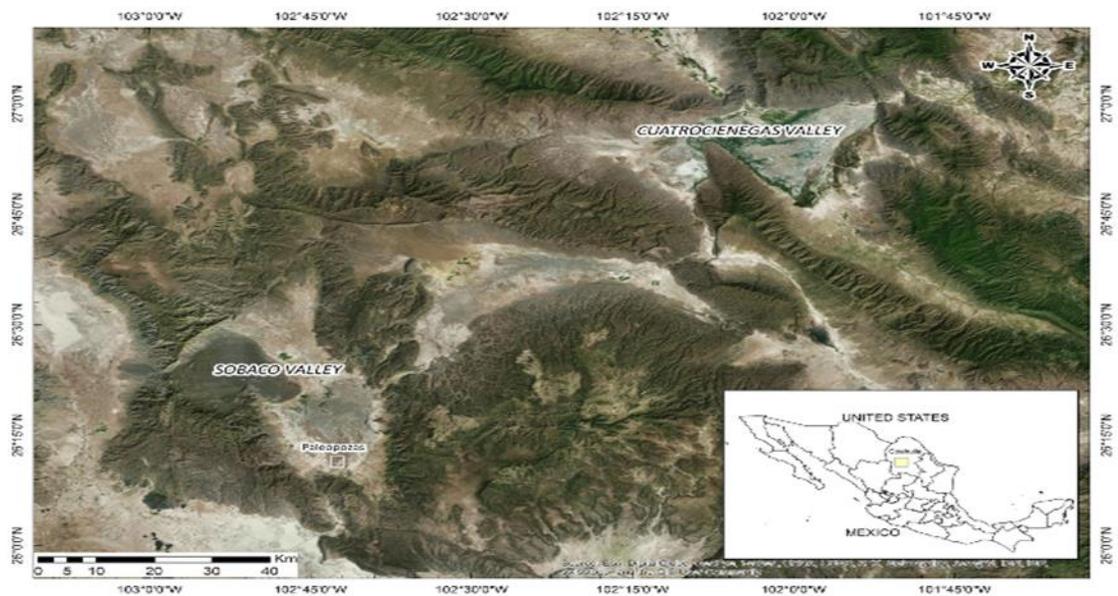


Figura 2. Área de muestreo de la Poza Salada en el Valle del Sobaco, en el municipio de San Pedro de las Colonias, en el Estado de Coahuila México. Tomado de (Czaja et al., 2014)



Figura 3. Vista de la Poza Salada Valle del Sobaco (Hernández-Zamudio et al., 2018)

3.2 Muestreo

Las muestras de suelo rizosférico y de las raíces de *Distichlis spicata* de 10 individuos de tamaño promedio seleccionados al azar. En dos distancias en relación con el cuerpo de agua (3 y 6 m). Se obtuvieron aproximadamente 500 g de suelo de cada uno de los individuos, a una profundidad de 10 a 20 cm. Se tomaron tres muestras de cada distancia para hacer el análisis físico químico del suelo. Las muestras se secaron a temperatura ambiente por 5 días (figura 4).



Figura 4. Se colectaron las muestras de suelo de la rizósfera de (*Distichlis spicata* L Grenne), fotos tomadas por Carmi Hernández.

El suelo ya seco se pasó por un tamiz de 2 mm para eliminar materia orgánica y rocas. Posteriormente el suelo fue almacenado en bolsas de polietileno a 4° C de temperatura hasta su procesamiento.

3.3 Análisis físico químico del suelo

La segunda porción de suelo se secó al aire y se cribó (2 mm de malla) el análisis de la textura del suelo se realizó mediante el tamaño de partícula por medio del método del hidrómetro (Bouyoucos, 1962). La conductividad eléctrica y el pH fueron medidas con un medidor de pH de vidrio-electrodo en una 1: relación de suelo a agua 2,5 (w / v). El porcentaje de carbono orgánico (C) se determinó por el método oxidación húmeda de Walkley y Black, mientras que el porcentaje total de N se midió por el método de micro-Kjedahl. La materia orgánica se estimó como el contenido de carbono multiplicado por el factor 1,72. El P disponible se ensayó por el método de Bray y Kurtz.

3.4 Macetas Trampa

Se utilizaron dos especies de plantas para la producción de inóculo los cuales fueron Maíz (*Zea mays* L) y pasto (*Lolium perenne* L) (figura 5).



Figura 5. Cultivos para realizar el porcentaje de micorrización y el número de esporas, fotos tomadas por Carmi Hernández.

3.5 Sustrato

El sustrato de las macetas se conformó con el 50 % la arena de río cribada y esterilizada con hipoclorito de sodio al 0.2 ppm, 20 % de perlita, 20 % de suelo rizosférico de *Distichlis spicata* que presentaba la diversidad de esporas (cuadro 1), de 3 y 6 metros en relación al cuerpo de agua y 10 % de vermicomposta. Se utilizaron bolsas de polietileno negro de 40 x 40 cm (figura 6).



Figura 6. Realización de sustrato, preparación de macetas, fotos tomadas por Carmi Hernández.

Cuadro 1. Especies de hongos micorrícicos arbusculares identificados en el suelo rizosférico de *Distichlis spicata* L.

Familia	Especie	3 m	6 m
Ambiosporaceae	<i>Ambispora fennica</i>	x	
Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomerus etunicatum</i>	x	X
Glomeraceae	<i>Funneliformis geosporum</i>		X

3.5 Plantas Huésped

Las semillas de maíz y pasto se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0,5 % durante 3 minutos, enjuagando con agua destilada. La siembra de las semillas se efectuó depositando 25 de maíz y 8 g de pasto en cada maceta a una profundidad de 2 cm. Manteniéndose en el invernadero ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) (figura 7).



Figura 7. Desinfección de las semillas y siembra, fotos tomadas por Carmi Hernández.

3.6 Riego

Se realizó con riegos de Solución Steiner baja en Fósforo al 50 % y agua, con un Ph: 7.13 y con una conductividad eléctrica de 1.962 ms/cm, modificada por (Sylvia y Jarstfer, 1992) (cuadro 2).

Cuadro 2. Fertilizantes y dosis para la realización de solución Steiner baja en fósforo al 50 %.

Fertilizantes	Dosis
Nitrato de calcio	23.18 g
Nitrato de potasio	72.28 g
Nitrato de magnesio	27.24 g
Sulfato de magnesio	21.47 g
Ácido fosfórico	6.7 ml

3.7 Tratamiento

Los tratamientos que se utilizó los que se muestran en el cuadro 1, dos especies de planta hospederas y regadas con agua y solución Steiner baja en fósforo (Figura 8) con 10 repetidores.

Cuadro 3. Cuatro tratamientos con 10 repeticiones, dos plantas hospederas y dos forma de riego.

Tratamiento	Plantas	Riego
T 1	<i>Zea mays</i>	Agua
T 2	<i>Zea mays</i>	Solución Steiner baja en fósforo
T 3	<i>Lolium perenne</i>	Agua
T 4	<i>Lolium perenne</i>	Solución Steiner baja en fósforo



Figura 8. Preparación de solución nutritiva para los riegos de las plantas, fotos tomadas por Carmi Hernández.

3.8 Porcentaje de micorrización en raíces

El porcentaje de micorrización se realizó en las plantas de las macetas trampa a los 31 y 62 días de la siembra para ello las raíces frescas de maíz y pasto se lavaron con agua corriente para eliminar cualquier residuo de suelo. Luego fueron clareadas usando KOH al 10% y tenidas con azul de tripano. Se examinaron 10 segmentos de aproximadamente 1 cm de largo. Para realizar la evaluación de las estructuras morfológicas características de los HMA, se realizaron observaciones en el microscopio óptico a través del objetivo de 40x empleando el método de (Phillips y Hayman, 1970). Enjuagamos el exceso de colorante con agua de la llave y se guardó las raíces en lactoglicerol. (Koskey, 1983). Se dejó secar las preparaciones a temperatura ambiente por una semana y cada laminilla se selló con esmalte transparente.

Para ello se efectuaron pasajes equidistantes por laminilla. Al revisar un campo óptico, se le otorgó el valor de 1 para la evaluación total toda vez que se encontró alguna estructura de los HMA (hifas, vesículas o arbusculos), independientemente de la intensidad de micorrización (figura 9).



Figura 9. Preparación de las raíces para montaje, observación en el microscopio óptico, fotos tomadas por Carmi Hernández.

Las plantas de maíz y pasto se cortaron a ras del suelo cumpliendo los tres meses y también se dejó de regar para que propiciaran la esporulación por 90 días (figura 10).



Figura 10. Corte de las plantas hospederas para propiciar la esporulación, fotos tomadas por Carmi Hernández.

3.9 Numero de esporas

Las esporas de los HMA fueron extraídas en 100 g de suelo seco de la rizósfera de tres macetas seleccionadas al azar por cada tratamiento, se utilizó el método de homogenizado mediante tamizado en húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963), seguido por centrifugación en gradiente de sacarosa (20 y 60 %) a 3500 rpm (Sieverding, 1983). Las esporas sanas se colocaron en una placa de Petri para la observación directa bajo un microscopio estereoscópico (40 x). Para la identificación, de las esporas se montaron en polivinílico-ácido láctico-glicerina (PVLG) (Koskey, 1983) y PVLG 1:1 (V / V) mezclada de reactivo de Melze, (Brundrett *et al.*, 1999) (figura 11).

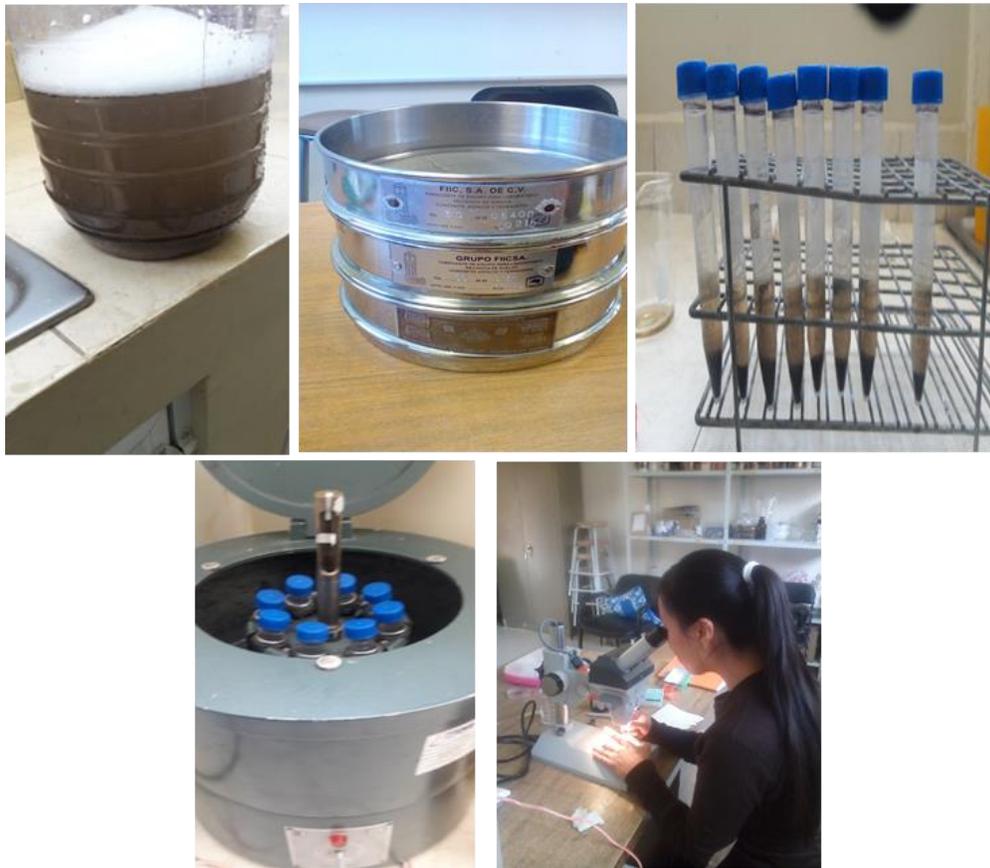


Figura 11. Extracción de esporas y montaje de estas, fotos tomadas por Carmi Hernández

3.10 Análisis Estadístico

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza y cuando fue apropiado, se realizó la prueba de Tukey, ambas a un nivel de significancia menor al 5%, para lo cual se utilizara el software estadístico SPSS versión 17.0 para Windows (SPSS, 2008).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Propiedades físicas y químicas del suelo

Cuadro 4. Descripción de características fisicoquímicas del suelo rizosférico de *Distichlis spicata* L.

PROPIEDADES FÍSICAS:							
Distancia	Textura	Fertilidad			Salinidad (en extracto de saturación)		
		(M.O) %	(N-NO3) p.p.m.	(P)p.p. m.	(CaCO3) %	pH	C. Eléctrica (mScm-1)
3 m	Arenoso	1.89	6.1	33.6	13.7	7.7	7.6
6 m	Migoso Arenoso	2.41	4.1	31.8	27	8.38	7.34

Como se observa en el cuadro 4, la textura del suelo que más predominó fue el tipo arenoso.

Respecto a materia orgánica (M.O.) el mayor contenido se presentó a 6 m de distancia del agua, con 2.41 % y el más bajo porcentaje se observó a 3 m con 1.86 de M.O.

La distancia que presentó mayor cantidad de Nitrógeno fue a 3 m con 6.1 ppm, por lo contrario, la distancia con menor cantidad de Nitrógeno fue a 6 m con 4.1 ppm.

Referente al fósforo, la mayor cantidad se encontró a 1 m con 36.6 ppm, y en la distancia a 6 m fue la que presentó menor cantidad de fósforo, pues solo se encontraron 31.8 ppm.

La mayor cantidad de carbonato de calcio se presentó a 6 m con un porcentaje de 27 y la que tuvo menor cantidad fue a 1 m de distancia con 10.47 %.

Siguiendo con el efecto mayormente elevado de pH, el más alto fue a una distancia de 3 m con 7.7 mientras que el valor de impacto más bajo fue a 6 m con 8.38.

Por último, referente a la conductividad eléctrica la más elevada fue determinada a 6m de distancia con 7.34 m S/cm y teniendo el valor más bajo a 3 m de distancia con 7.6 m S/cm.

Manzano Lamar y Oña Hidalgo (2018) en su trabajo de investigación de análisis de la espectroscopia de reflectancia para la determinación de las propiedades químicas de suelos agrícolas en la parroquia de Lloa, obtuvieron resultados en los tratamientos en 5 zonas, el pH: 0,5566, MO: 0,0105, N: 0,0095*, P: 0,1931*, estos resultados obtenidos son menores a los obtenidos en este trabajo.

4.2 Evaluación de porcentaje de micorrización primer y segundo mes

Cuadro 5. Evaluación del porcentaje de micorrización de los HMA aisladas de la rizósfera de *Distichlis spicata* a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada en plantas de maíz (*Zea mays* L.) regada con agua o solución nutritiva baja en fósforo se realizó al mes de la fecha de siembra.

	Riego	Porcentaje de micorrización	Hifas	Arbúsculos	Vesículas
3 Metros 1° Mes					
Maíz	Agua	96.66 a	96.66 a	19.12 a	0.00 a
Maíz	Sol. Nut	97.50 a	97.50 a	41.66 a	0.00 a
6 Metros 1° Mes					
Maíz	Agua	100.00 a	100.00 a	20.82 a	0.00 a
Maíz	Sol. Nut	83.33 a	83.33 a	26.66 a	0.00 a

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

En el cuadro 5, se observan los porcentajes de micorrización en las raíces de maíz, a los tres metros del cuerpo de agua, no presentó diferencias significativas, en la colonización micorrízica con riego de agua y solución nutritiva baja en fósforo. De igual manera para la distancia de seis metros del cuerpo de agua regado con solución nutritiva al mes de la siembra. Es evidente que el micelio es mayor en las plantas regadas con agua, la formación de arbúsculos fue menor con ambos riegos. Al mes de inoculadas las plantas no presentan vesículas.

Serralde (2004) en su trabajo de investigación análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes sustratos obtuvo una colonización micorrízica en las raíces de maíz, de 83 % estos resultados son iguales solo a los obtenidos en maíz con riego con solución nutritiva, siendo el menor en todos los tratamientos.

Los resultados obtenidos en este trabajo son mayores a los obtenidos. Rendón *et al.* (2013) en su trabajo de investigación caracterización de hongos formadores de micorrizas arbusculares en maíz (Var. ICA-508) de Cajicá (Colombia), con un 90 % de colonización micorrízica.

En el trabajo de investigación por Pérez-Luna *et al.* (2012) en Chiapas México en diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes, se obtuvieron valores de 80.3 % de colonización micorrízica, estos resultados son menores a los obtenidos en este trabajo.

Cuadro 6. Evaluación del porcentaje de micorrización de los HMA aisladas de la rizósfera de *Distichlis spicata* a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada, en plantas de maíz (*Zea mays* L.) regada con agua o solución nutritiva baja en fósforo, se realizó al segundo mes de haber iniciado la fecha de siembra.

	Riego	Porcentaje de micorrización	Hifas	Arbúsculos	Vesículas
3 Metros 2° Mes					
Maíz	Agua	95.83 a	95.83 a	47.50 b	79.17 a
Maíz	Sol. Nut	100.00 a	100.00 a	80.00 a	55.83 b
6 Metros 2° Mes					
Maíz	Agua	95.83 a	95.83 a	63.33 a	65.00 a
Maíz	Sol. Nut	56.67 a	56.67 a	41.66 a	18.83 b

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Como se observa en el cuadro 6, el porcentajes de micorrización en las raíces de maíz, mostrando diferencias significativas, donde las muestras de suelo a los tres metros con riego de solución nutritiva baja en fósforo, presentaron abundantes arbúsculos e hifas y una cantidad moderada de vesículas a diferencia del riego con agua, lo mismo para el maíz regado con agua y solución nutritiva a los dos meses de la siembra de maíz, se observa una colonización diferencial entre los riegos, donde las plantas regadas con agua presenta una

abundante presencia de hifas e arbusculos y una cantidad ligeramente mayor de vesículas a diferencia del riego con solución nutritiva baja en fósforo. Al segundo mes de inoculadas las plantas si presentan vesículas (figura 14).

En el trabajo de investigación por Carrenho *et al.* (2001) en Brasil en evaluación de colonización en maíz en campo abierto en monocultivo en tres años, se obtuvieron valores de 56.87 a 87% son menores a los obtenidos en este trabajo.

Bustamante Cubas *et al.* (2014) en su trabajo de investigación Eficiencia de la multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), nativos en *Zea mays* L. en condiciones de invernadero, obtuvo muestras con un promedio de 61,5% germinativos de HMA, estos resultados son parecidos con este trabajo.

Álvarez y Blanco (2011). En su trabajo de investigación comparación de diferentes inóculos de hongos endomicorrícicos en maíz (*Zea mays* L.) variedad criolla en condiciones de invernadero en el Municipio de Florencia-Caquetá, obtuvo muestras con un promedio de 75 % son menores a los resultados en este trabajo.

Cuadro 7. Evaluación de los porcentajes de micorrización de los HMA aisladas de la rizósfera de *Distichlis spicata* a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada en plantas de (*Lolium perenne* L.) con agua o solución nutritiva baja en fósforo, se realizó la evaluación al mes de la fecha de siembra.

	Riego	Porcentaje de micorrización	Hifas	Arbúsculos	Vesículas
3 Metros 1° Mes					
Pasto	Agua	38.33 a	38.33 a	26.66 a	0.00 a
Pasto	Sol. Nut	83.33 a	83.33 a	10.83 a	0.00 a
6 Metros 1° Mes					
Pasto	Agua	33.33 a	33.33 a	26.67 a	0.00 a
Pasto	Sol. Nut	39.17 a	39.17 a	11.67 a	0.00 a

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

En el cuadro 7, se observa los porcentajes de micorrización en las raíces de pasto, no presento diferencias significativas, las diversas estructuras del hongo, para las plantas inoculadas de suelo de tres metros inoculadas de suelo de tres seis metros de espejo de la poza, lo mismo para el pasto regado con agua y solución nutritiva a los treinta días de sembrado en el pasto. Es evidente que el micelio es mayor en las plantas regadas con solución nutritiva, la formación de arbúsculos se presentó más en las plantas regadas con agua. Al mes de inoculadas las plantas no presentan vesículas.

En el trabajo de investigación por Torres-Arias *et al.* (2017) producción de inóculo nativo de hongos micorrízicos arbusculares en diferentes condiciones ambientales, se obtuvieron valores de 50 % a 84 % de colonización en condiciones de invernadero, son menores a los resultados en este trabajo.

Pérez *et al.* (2016) en su trabajo de investigación colonización de micorrizas arbusculares en tres especies de pasturas del departamento de Sucre,

obtuvieron promedios de 45,76 a 48,27 % de colonización, son mayores a los obtenidos en este trabajo.

Los resultados obtenidos en este trabajo fueron mayor a los obtenidos en este trabajo. Pérez y Vertel (2010) en su trabajo de investigación de evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus, obtuvieron 88 a 55 % en porcentajes de colonización.

Cuadro 8. Evaluación del porcentaje de micorrización de los HMA aisladas de la rizósfera de *Distichlis spicata* a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada en plantas de pasto (*Lolium perenne* L.) regada con agua o solución nutritiva baja en fósforo, se realizó la evaluación al segundo mes de la fecha de siembra

	Riego	Porcentaje de micorrización	Hifas	Arbúsculos	Vesículas
3 Metros 2° Mes					
Pasto	Agua	33.99 a	33.99 a	13.33 a	10.83 a
Pasto	Sol. Nut	30.00 a	30.00 a	22.50 a	16.66 a
6 Metros 2° Mes					
Pasto	Agua	56.67 a	56.67 a	41.66 a	15.83 a
Pasto	Sol. Nut	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Al observar el cuadro 8, se evidencia que los porcentajes de micorrización en las raíces de pasto al segundo mes de la siembra, no se encontró diferencias significativas en la colonización de las raíces con riego de agua y solución nutritiva baja en fósforo a los tres metros del espejo de la poza, para el pasto con riego de agua y solución nutritiva baja en fósforo, si presento diferencias significativas a los seis metros de distancia del espejo de la poza, para el riego con agua presenta una abundante presencia de hifas e arbúsculos y una cantidad ligeramente menor de vesículas a diferencia del riego con solución nutritiva baja

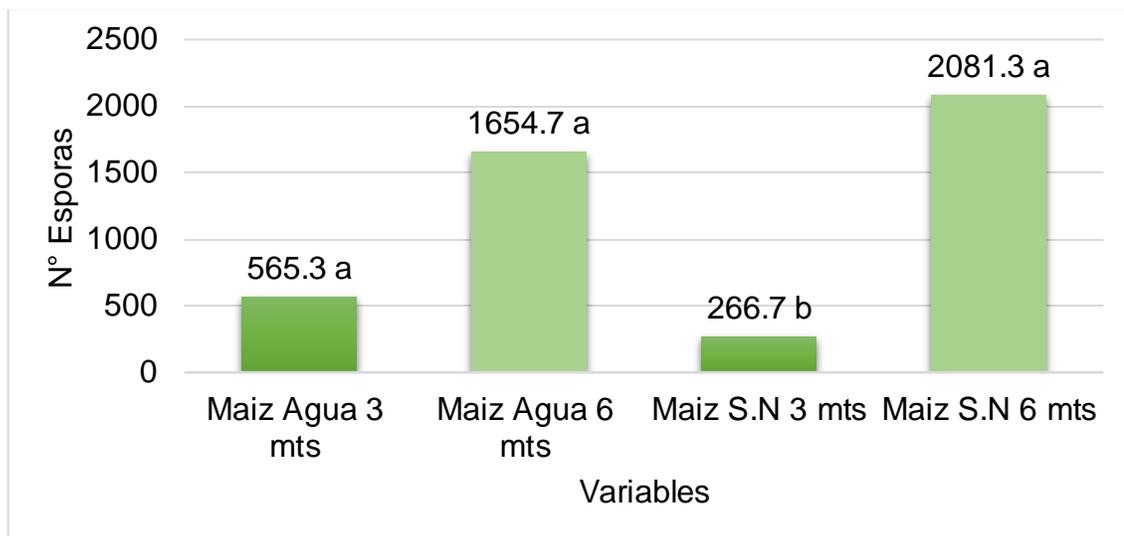
en fósforo, donde el porcentaje de colonización fue escaso con bajo o nulo desarrollo de hifas, arbusculos y vesículas. Al segundo mes de inoculadas las plantas si presentan vesículas.

Olivo Fernández (2019) en su trabajo de investigación, estandarización del proceso de esporulación masiva de hongos micorrícicos arbusculares HMA bajo condiciones controladas, obtuvo resultados de 21 a 35 % de porcentaje de micorrización, estos datos son menores a los obtenidos en este trabajo.

En el trabajo de investigación por Caro *et al.* (2009), efecto de la inoculación de hongos micorriza arbuscular y aplicación de fertilizantes sobre la calidad nutricional de pasto kikuyo, se obtuvieron valores 35.40 % y 34.90 % de colonización, son mayores a cuanto el número de hifas con riego de agua obtenidos en este trabajo.

En el trabajo de investigación por Pérez *et al.* (2010), determinación de un modelo logístico para evaluación in situ de la colonización de micorrizas en pasto *Dichanthium aristatum* (L). Obtuvieron 78 % de colonización de micorrizas arbusculares, estos resultados son mayores a los obtenidos en este trabajo.

4.2 Conteo de esporas



Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 12. Evaluación y comparación del número de esporas en 100 g de suelo de los HMA, aisladas de la rizósfera de *Distichlis spicata* a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada en plantas de maíz (*Zea mays* L.), regadas con agua y solución nutritiva baja en fósforo.

En la figura 12, se observa que para la distancia de tres metros al evaluar el número de esporas en el inóculo producido con plantas de maíz y regado con agua y solución nutritiva baja en fósforo mostro diferencias significativas, en cuanto al número de esporas fue doblemente mayor en las plantas regadas con agua.

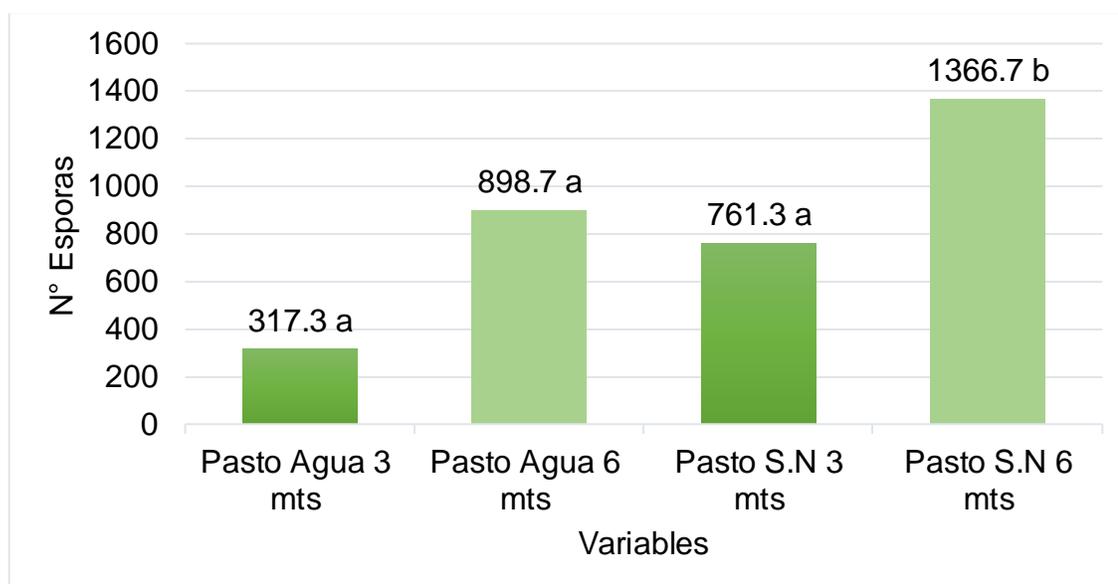
Se observa también que para la distancia de seis metros no se encontró diferencias significativas siendo ligeramente mayor el número de esporas en las plantas de maíz regadas con solución nutritiva baja en fósforo (Figura 14).

Fernández Martín (2003) recomienda que un aspecto importante a la hora de seleccionar un huésped para producir los HMA deben de ser preferentemente

una planta de ciclo corto (4 - 6 meses), que posee a su vez un sistema radical que garantice una adecuada producción de propágulos micorrízicos.

Los resultados obtenidos en este trabajo son similares a los obtenidos por (Salas y Blanco, 2000) donde evaluaron cinco plantas hospederas siendo el maíz la más promisoría para la producción de inóculo de las HMA,

Bustamante Cubas *et al.* (2014) mencionan que las plantas de maíz fueron eficientes para la multiplicación de HMA, evidenciándose infectividad, se determinó hasta 593,1% de incremento en las esporas.



Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 13. Evaluación y comparación del número de esporas en 100g de suelo de los HMA, aisladas de la rizósfera de *Distichlis spicata* a 3 y 6 metros de distancia del espejo de la Poza Salada en plantas de pasto (*Lolium perenne* L), regadas con solución nutritiva baja en fósforo.

En la figura 13, se presenta el número de esporas producidas a los tres metros del espejo de la poza salada, observándose que no hubo diferencias significativas. Pero es evidente que las esporas se encontraron un mayor número con riego de solución nutritiva.

En cuanto a las esporas obtenidas en las plantas a seis metros de distancia del espejo de la Poza Salada presento diferencias significativas entre el riego con agua y solución nutritiva baja en fósforo. Presentando el mejor con solución nutritiva ya que se puede observar que presento un buen número de esporas (figura 14).

Pérez Cordero (2003) ellos realizaron los rangos de densidad de esporas/100 g de suelo hallados en las fincas ganaderas del municipio de Corozal, que reporta un rango de 830 – 2600 esporas/100 g de suelos en un estudio realizados con pasturas en Nicaragua y Costa Rica, estos resultados son menores a los obtenidos en este trabajo.

El pasto guinea es un hospedador propicio para la producción de hongos micorrízico arbusculares, Chim (2019) quien en su trabajo analizo ocho especies de gramíneas y determinó que el pasto guinea es un mejor hospedador ya que es más susceptible a la colonización, obtuvo mayor producción de esporas con un incremento que va desde 836 hasta 1505.2 esporas/ 100 g de suelo, son mayores a los obtenidos en este trabajo.

Los resultados obtenidos en este trabajo son menores a los obtenidos por Pérez *et al.* (2012) donde evaluaron la rizósfera del suelo en las fincas ganaderas, obtuvieron abundantes esporas de HMA en un rango de 1500 a 6000 esporas/100 g de suelo.

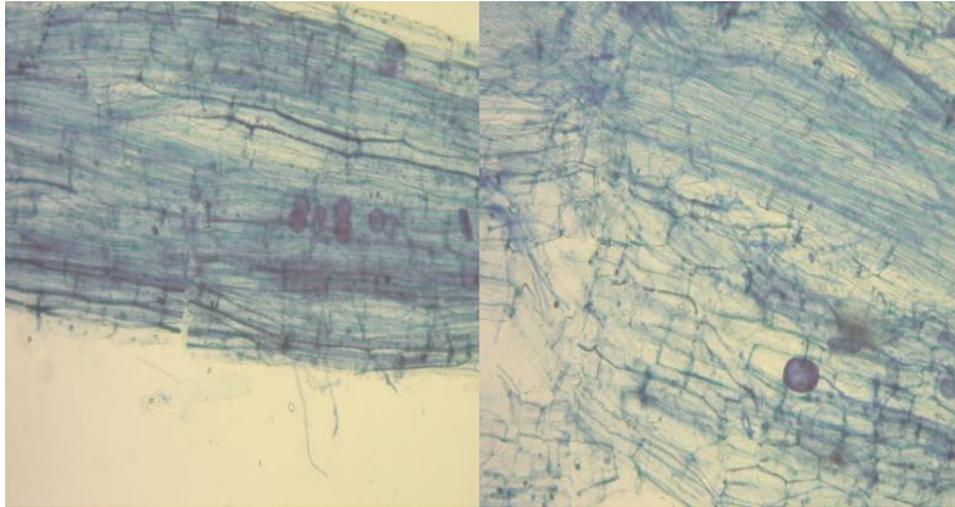


Figura 14. Hifas y vesículas observadas en raíces de maíz en la segunda evaluación, fotos tomadas por Carmi Hernández.

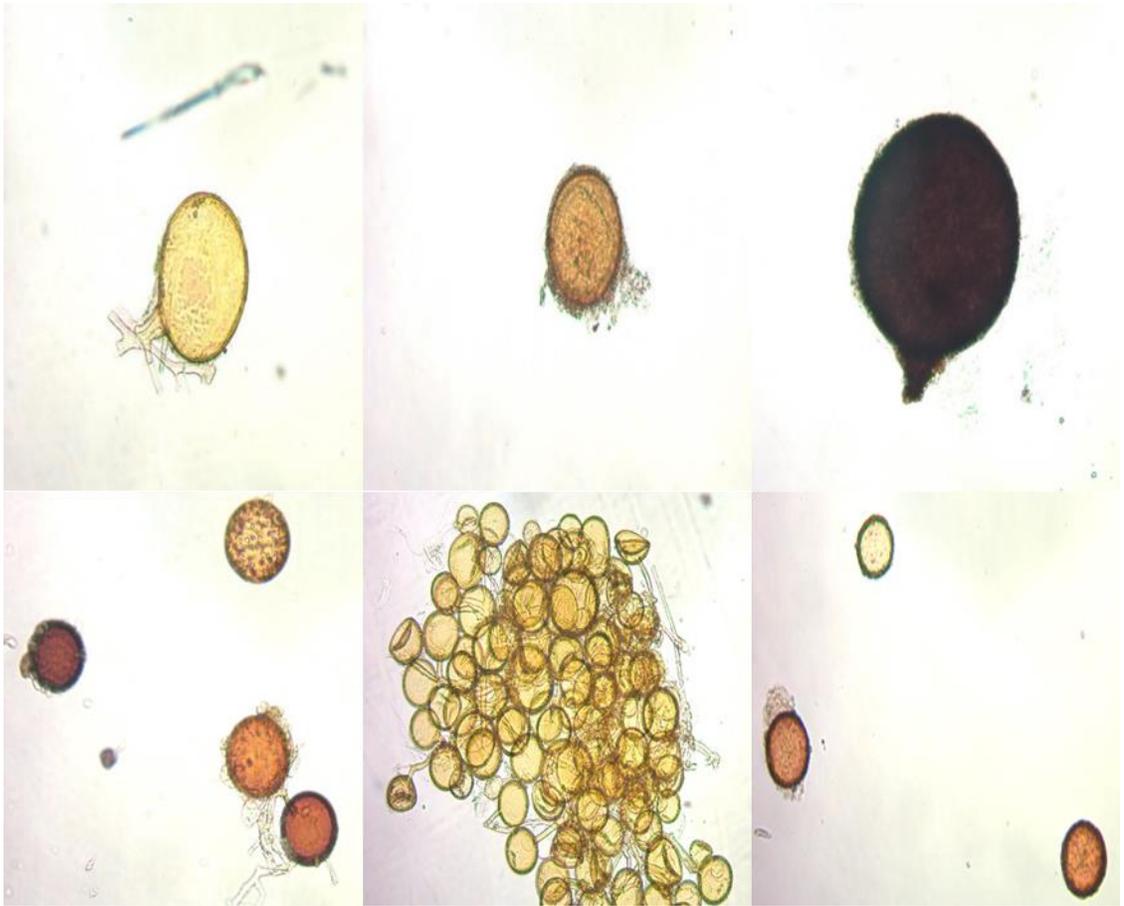


Figura 15. Hongos micorrizógenos arbusculares encontrados en las plantaciones de maíz y pasto. Presentes en el suelo de la rizósfera de *Distichlis spicata*, foto tomada por Carni Hernández.

V. CONCLUSIÓN

El mejor hospedero para la producción de inóculo de esporas obtenidas con alto gradiente de salinidad es el maíz, debido a que produjo un mayor número de esporas.

El mejor riego para la producción de inóculo es la solución Steiner baja en fósforo porque se obtuvo alto número de esporas.

La planta huésped que presentó mayor porcentaje de micorrización fue el maíz porque presentó un mayor número de estructuras de los HMA intrarradicales.

El mejor riego que presentó mayor porcentaje de micorrización fue con agua.

El inóculo producido de HMA, ayudara a las plantas a aliviar el estrés provocado por suelos salinos, además de las ventajas que este organismo le proporciona.

VI. REFERENCIAS

- Álvarez, F. y J. C. J. F.-F. d. C. A. Blanco. 2011. Comparación de diferentes inóculos de hongos endomicorrícicos en maíz (zea mays l.) variedad criolla en condiciones de invernadero en el municipio de florencia-caquetá. 3(1).
- Anaya, A., M. de Lourdes, R. Jarquín Gálvez, C. Hernández Ramos, M. S. Figueroa y C. T. J. R. m. d. c. a. Monreal Vargas. 2011. Biofertilización de café orgánico en etapa de vivero en chiapas, méxico. 2(3):417-431.
- Ayala Sánchez, A., L. Krishnamurthy y J. J. T. L. Basulto Graniel. 2009. Leguminosas de cobertera para mejorar y sostener la productividad de maíz en el sur de yucatán. 27(1):63-69.
- Barea, J.-M., N. Ferrol, C. Azcón-Aguilar y R. Azcón. 2008. Mycorrhizal symbioses The ecophysiology of plant-phosphorus interactions. p 143-163. Springer.
- BARRER, S. E. 2009. El uso de hongos micorrizicos arbusculares como una alternativa para la agricultura arbuscular mycorrhizal fungi as alternative to sustentable agriculture.
- Bárzana González, G. 2014. Regulación por micorrizas arbusculares de la fisiología y las acuaporinas de maíz (zea mays l.) en relación con la tolerancia de la planta hospedadora al déficit hídrico. Universidad de Granada.
- Blanco, L. y M. J. J. o. B. C. Salas. 1996. Relating structure to function in 29 DNA polymerase. 271(15):8509-8512.

- Bouyoucos, G. J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. *Agron. J.* 54(5):464-465.
- Brundrett, M., L. Abbott y D. J. M. Jasper. 1999. Glomalean mycorrhizal fungi from tropical australia. 8(6):305-314.
- Brundrett, M., N. Bougher, B. Dell, T. Grove y N. Malajczuk. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture, Australian Centre for International Agricultural Research Canberra.
- Brundrett, M. C. J. P. y Soil. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: Understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. 320(1-2):37-77.
- Bustamante Cubas, A., Z. Espinoza y W. Natali. 2014. Eficiencia de la multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares (hma), nativos en zea mays I. En condiciones de invernadero, mayo–diciembre, 2014.
- Caro, M. L. L., K. F. Gutiérrez, C. Ú. Osorio y D. C. J. R. P. Sánchez. 2009. Efecto de la inoculación de hongos micorriza arbuscular y aplicación de fertilizantes sobre la calidad nutricional de pasto kikuyo. 5(9):100-106.
- Carrenho, R., E. S. Silva, S. F. B. Trufem y V. L. R. J. B. J. o. M. Bononi. 2001. Successive cultivation of maize and agricultural practices on root colonization, number of spores and species of arbuscular mycorrhizal fungi. 32(4):262-270.
- Chim, J. L. E. 2019. Establecimiento de la producción de hongos micorrízicos arbusculares asociados a cocotero a través de cultivos trampa, Centro de Investigación Científica de Yucatán.

- Czaja, A., J. L. Estrada-Rodríguez y U. R. J. B. d. I. S. G. M. Méndez. 2014. Freshwater mollusks of the valley of sobaco, coahuila, northeastern mexico—a subfossil ecosystem similar to cuatrociénegas. 66(3):459-469.
- Daie, J. J. S. S. 1989. Annual review of plant physiology and plant molecular biology. 147(5):385.
- Fernández, F. 1999. Manejo de los movimientos micorrízicos arbusculares sobre la producción de posturas de cafeto (c. Arabica l. Var. Catura) en algunos suelos, Tesis de Grado]. UNAH.
- Fernández Martín, F. 2003. Avances en la producción de inoculantes micorrízicos arbusculares. Ediciones INCA.
- Gavito, M. E., M. H. J. P. Miller y soil. 1998. Early phosphorus nutrition, mycorrhizae development, dry matter partitioning and yield of maize. 199(2):177-186.
- Gerdemann, J. y T. H. J. T. o. t. B. M. s. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. 46(2):235-244.
- Guerra-Sierra, B. E. J. R. T. e. M. 2008. Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. 21(1):ág. 191-201.
- Harris-Valle, C., M. Esqueda, E. M. Valenzuela-Soto y A. E. J. R. f. m. Castellanos. 2009. Tolerancia al estrés hídrico en la interacción planta-hongo micorrízico arbuscular: Metabolismo energético y fisiología. 32(4):265-271.

- Hasanuzzaman, M., K. Nahar y M. Fujita. 2014. Role of tocopherol (vitamin e) in plants: Abiotic stress tolerance and beyond Emerging technologies and management of crop stress tolerance. p 267-289. Elsevier.
- Hernández-Zamudio, G., J. Sáenz-Mata, A. Moreno-Reséndez, G. Castañeda-Gaytán, A. Ogaz, S. Carballar-Hernández y L. J. R. a. d. m. Hernández-Cuevas. 2018. Dinámica de la diversidad temporal de los hongos micorrícicos arbusculares de *larrea tridentata* (sesse & mocino ex dc) coville en un ecosistema semiárido. 50(3):301-310.
- Hock, B. y A. Varma. 1999. Mycorrhiza: Structure, function, molecular biology, and biotechnology; with 32 tables. Springer Science & Business Media.
- Khalil, S., T. E. Loynachan y M. A. J. A. j. Tabatabai. 1994. Mycorrhizal dependency and nutrient uptake by improved and unimproved corn and soybean cultivars. 86(6):949-958.
- Koskey, R. J. N. M. S. A. 1983. A convenient, permanent slide mounting medium. 3459.
- Kumar, M. y A. K. Saxena. 2017. Conventional methods for mass multiplication of amf Mycorrhiza-nutrient uptake, biocontrol, ecorestoration. p 287-300. Springer.
- Liu, R. y F. Wang. 2003. Selection of appropriate host plants used in trap culture of arbuscular mycorrhizal fungi. Mycorrhiza 13(3):123-127.
- Llonín, D. y N. J. C. T. Medina. 2002. Nutrición mineral con n, pyk en la simbiosis hongos micorrizógenos-tomate (*lycopersicon esculentum* mill.) en ferralsols. 23(4):83-88.

- Lozano Contreras, M. G. y G. Ramírez Jaramillo. 2016. Biofertilizantes para la producción de plantines de estevia.
- Lozano Contreras, M. G. y F. Santamaría Basulto. 2013. Uso de biofertilizantes en la producción de planta de papaya maradol.
- MADRID, M. Á. C. 2016. Producción de inóculo fúngico para la micorrización de árboles destinados a recuperar zonas degradadas por la actividad industrial.
- Manzano Lamar, D. A. y D. L. Oña Hidalgo. 2018. Análisis de la espectroscopia de reflectancia para la determinación de las propiedades químicas de suelos agrícolas en la parroquia de Iloa, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Carrera de Ingeniería Geográfica y
- Martínez-Viveros, O., M. Jorquera, D. Crowley, G. Gajardo, M. J. J. o. s. s. Mora y p. nutrition. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. 10(3):293-319.
- Medina-García, L. R. J. C. T. 2016. La agricultura, la salinidad y los hongos micorrízicos arbusculares: una necesidad, un problema y una alternativa. 37(3):42-49.
- Montero, L., C. Duarte, R. Cun y J. A. J. C. T. Cabrera. 2010. Efectividad de biofertilizantes micorrízicos en el rendimiento del pimiento (*capsicum annum* l. Var. Verano 1) cultivado en diferentes condiciones de humedad del sustrato. 31(3):00-00.
- Noda, Y. J. P. y f. 2009. Las micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. 32(2):1-1.

- Novo, R. J. A. d. I. A. C. r. e. e. E. Q., agosto. 2002. Curso internacional de microbiología del suelo, los biofertilizantes y la biofertilización. 19.
- Olivo Fernández, K. J. 2019. Estandarización del proceso de esporulación masiva de hongos micorrícicos arbusculares hma bajo condiciones controladas, Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil.
- Osorio, N. J. M. I. d. S. y. N. V. 2012. Uso de hongos formadores de micorriza como alternativa biotecnológica para promover la nutrición y el crecimiento de plántulas. 1(2):1-4.
- Pérez-Luna, Y. d. C., J. D. Álvarez-Solís, J. Mendoza-Vega, J. M. Pat-Fernández, R. Gómez-Álvarez y L. J. G. B. Cuevas. 2012. Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en chiapas, méxico. 69(1):46-56.
- Pérez, A., C. Botero y M. J. R. M. C. Cepero. 2012. Diversidad de micorrizas arbusculares en pasto colosuana (*bothriochloa pertusa* (L) a. Camus de fincas ganaderas del municipio de corozal-sucre. 17(2):3024-3032.
- Pérez, A., K. Cury y L. J. T. A. Oviedo. 2016. Colonización de micorrizas arbusculares en tres especies de pasturas del departamento de sucre. 65-75.
- Pérez, A., J. ROJAS y J. J. R. C. d. C. A.-R. Fuentes. 2010. Determinación de un modelo logístico para evaluación in situ de la colonización de micorrizas en pasto *dichanthium aristatum* (L). 73-84.
- Pérez, A., J. ROJAS y D. J. R. C. d. C. A.-R. MONTES. 2011. Hongos formadores de micorrizas arbusculares: Una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el caribe colombiano. 366-385.

- Pérez, A. y M. J. R. M. C. Vertel. 2010. Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *bothriochloa pertusa* (L) a. Camus.
- Pérez Cordero, A. F. 2003. Eficiencia de hongos formadores de micorrizas arbusculares (hma) nativos, asociados a la producción de forraje en la especie de pasto colosuaña (*bothriochloa pertusa* (L.) a. Camus) en el municipio de corozal, departamento de sucre, colombia, Bogotá-Uniandes.
- Pessarakli, M., M. Harivandi, D. M. Kopec y D. T. J. I. J. o. A. Ray. 2012. Growth responses and nitrogen uptake by saltgrass (*distichlis spicata* L.), a halophytic plant species, under salt stress, using the ^{15}N technique. 2012.
- Phillips, J. M. y D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55(1):158-118.
- Quille Mamani, J. A. 2015. Efecto de la inoculación de *azotobacter chroococcum* y niveles de fertilización nitrogenada en el rendimiento de la variedad de cebolla roja ilabaya (*allium cepa* L.).
- Ramírez, G. G. y C. P. J. D. D. L. S. Ferial. 2017. Aplicación de micorrizas: Alternativa ecológica para la disminución o sustitución de fertilizantes químicos en el cultivo del maní. 10(29):14.
- Rendón, Y., C. Mancipe, V. Andrade, G. Bello, J. Sánchez, S. Campos y H. J. S. E. Rivera. 2013. Caracterización de hongos formadores de micorrizas arbusculares en maíz (var. Ica-508) de cajicá (colombia). 43(1):29-34.
- Rengasamy, P. 2006. World salinization with emphasis on australia. *Journal of experimental botany* 57(5):1017-1023.

- Salas, E. y F. J. A. C. Blanco. 2000. Selección de plantas hospederas y efecto del fósforo para la producción de inoculo de hongos formadores de micorrizas arbusculares por el método de cultivo en macetas. 24(1).
- Santillana, N. y M. J. E. A. Toro. 2018. Asociación micorrízica arbuscular en pastizales de la comunidad alto andina de Ccarhuaccpampa-ayacucho. 17(2):165-169.
- Schnettler, A. F. W. 2017. Efecto de la restricción hídrica y suministro de nitrógeno sobre las características productivas de una mezcla de *Lolium perenne* L. y *Trifolium repens* L., Universidad Austral de Chile.
- Serralde, A. M., Ramírez, María Margarita 2004. Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. 5(1):31-40.
- Sieverding, E. 1983. Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio.
- Sylvia, D. M. y A. J. A. E. M. Jarstfer. 1992. Sheared-root inocula of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. 58(1):229-232.
- Torres-Arias, Y., R. O. Fors, C. Nobre, E. F. Gomez y R. L. Berbara. 2017. Production of native arbuscular mycorrhizal fungi inoculum under different environmental conditions. Braz J Microbiol 48(1):87-94.
- Warren, R. S. y A. R. Gould. 1982. Salt tolerance expressed as a cellular trait in suspension cultures developed from the halophytic grass *Distichlis spicata*. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 107(4):347-356.