



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**Programa Institucional de Maestría en  
Ciencias Biológicas**

**Facultad de Biología**

**Diversidad de Hongos Micorrizógenos  
Arbusculares y Potencial Micorrízico de dos  
Agroecosistemas y una Zona Natural del Estado  
de Michoacán.**

**Tesis**

Que como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Presenta:**

**Manuel Vega Fraga**

**Directoras de Tesis:**

**Dra. YAZMÍN CARREÓN ABUD  
Dra. MAYRA ELENA GAVITO PARDO**

Morelia Michoacán, Febrero de 2011.



EL PRESENTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL **LABORATORIO DE GENÉTICA Y MICROBIOLOGÍA**, DE LA FACULTAD DE BIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO, BAJO LA ASESORÍA DE LA **DRA. YAZMÍN CARREÓN ABUD**, EN COLABORACIÓN CON EL LABORATORIO DE INTERACCIÓN PLANTA MICROBIO DEL CIECO, UNAM, CAMPUS MORELIA, BAJO LA COASESORÍA **DE LA DRA. MAYRA ELENA GAVITO PARDO**.

**CONTENIDO**

<b>I. ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>I</b>
<b>II. ÍNDICE DE CUADROS</b>	<b>IV</b>
<b>III. RESUMEN</b>	<b>V</b>
<b>IV. ABSTRAC</b>	<b>VII</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Características de las micorrizas arbusculares</b>	<b>2</b>
<b>2.2. Estructuras de las micorrizas arbusculares</b>	<b>2</b>
<b>2.3. Taxonomía de los Hongos Micorrízicos Arbusculares</b>	<b>3</b>
<b>2.4. Perspectivas de uso de los HMA</b>	<b>5</b>
<b>2.5. Diversidad de las comunidades de HMA en los ecosistemas</b>	<b>6</b>
2.5.1. Concepto de diversidad	6
2.5.2. Respuesta de las comunidades de HMA ante el cambio de uso de suelo	7

---

<b>2.6. El cultivo del aguacate en el estado de Michoacán</b>	<b>8</b>
<b>2.7. Propagación de los HMA</b>	<b>9</b>
<b>2.8. Tipos de inoculantes</b>	<b>12</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
<b>3.1. Objetivo general</b>	<b>13</b>
<b>3.2. Objetivos particulares</b>	<b>13</b>
<b>4. HIPÓTESIS</b>	<b>14</b>
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>15</b>
<b>Capítulo 1: Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares de dos agroecosistemas y una zona natural, en la región de Zacán, Estado de Michoacán.</b>	<b>15</b>
<b>Resumen</b>	<b>15</b>
<b>Abstract</b>	<b>17</b>
<b>Introducción</b>	<b>19</b>
<b>Materiales y métodos</b>	<b>20</b>
Características del Área de Estudio	20
Localización de los puntos de muestreo.	21

Muestreo de suelos	25
Evaluación de las características físicas y químicas de los suelos.	25
Cuantificación de la riqueza y diversidad de morfotipos de HMA.	26
Extracción de esporas	26
Descripción de morfotipos de HMA	27
<b>Resultados y Discusión</b>	<b>28</b>
Propiedades del suelo	28
Riqueza de especies y ubicación taxonómica.	29
Distribución taxonómica.	32
Índice de similitud de especies	34
<b>Conclusiones</b>	<b>37</b>
<b>Literatura citada</b>	<b>38</b>
<b>Capítulo 2: Efectividad de diferentes inóculos micorrízicos locales para la producción orgánica de planta de aguacate en vivero</b>	<b>40</b>
<b>Resumen</b>	<b>40</b>

<b>Abstract</b>	<b>42</b>
<b>Introducción</b>	<b>44</b>
<b>Materiales y métodos:</b>	<b>47</b>
Colecta de suelo y extracción de esporas	47
Cultivos trampa	48
Determinación de la efectividad micorrízica	48
Preparación del inoculante	48
Elaboración de tratamientos con diferentes niveles de fertilización	49
<b>Resultados y discusión</b>	<b>52</b>
<b>Conclusión</b>	<b>63</b>
<b>Literatura citada</b>	<b>64</b>
<b>6. DISCUSIÓN GENERAL</b>	<b>69</b>
<b>7. LITERATURA COMPLEMENTARIA</b>	<b>72</b>
<b>8. ANEXO:</b> Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico.	77

## I. ÍNDICE DE FIGURAS

**Capítulo 1: Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares de dos agroecosistemas y una zona natural, en la región de Zacán, Estado de Michoacán.**

<b>Figura 1.</b> Localización del Municipio de los Reyes en el estado de Michoacán.	21
<b>Figura 2.</b> Inmediaciones de la parcela de Maíz “B”.	23
<b>Figura 3.</b> Localización del área de muestreo, toma aérea con una elevación de 2340m, de los 6 sitios de muestreo (Google Earth 2008).	24
<b>Figura 4.</b> Diseño del muestreo	25
<b>Figura 5.</b> Distribución de géneros de HMA en los tres diferentes usos de suelo en la región de Zacán.	32
<b>Figura 6.</b> Distribución de géneros de HMA en la zona natural de bosque de pino.	33
<b>Figura 7.</b> Distribución de géneros de HMA en las parcelas de maíz.	33
<b>Figura 8.</b> Distribución de géneros de HMA en las huertas de Aguacate.	34
<b>Figura 9.</b> Índice de similitud de especies entre diversos usos de suelo.	36
<b>Figura 10.</b> Índice de similitud de especies entre los dos sitios de cada uso de suelo.	36

**Capítulo 2: Efectividad de diferentes inóculos micorrízicos locales para la producción orgánica de planta de aguacate en vivero**

<b>Figura 1:</b> a) Limpieza de semillas de aguacate. b) Elaboración de las mezclas de suelo y fertilizante; c) Preparación de bolsas con suelo; d) Siembra de semillas de aguacate criollo previamente recubiertas con el inóculo micorrízico correspondiente.	50
<b>Figura 2:</b> Obtención de variables. a) Diámetro; b) Altura; c) Herbívora; d) Número de hojas; e) Presencia de patógenos.	51
<b>Figura 3:</b> Altura de las plantas de aguacate de acuerdo a los diferentes tratamientos por inoculación.	52
<b>Figura 4:</b> Altura de las plantas de aguacate de acuerdo a los diferentes tratamientos por fertilización.	53
<b>Figura 5:</b> Diámetro a la base del tallo de las plantas de aguacate de acuerdo a los diferentes tratamientos por inoculación.	53
<b>Figura 6:</b> Diámetro a la base del tallo de las plantas de acuerdo a los diferentes tratamientos por fertilización.	54
<b>Figura 7:</b> Número de hojas de las plantas de aguacate de acuerdo a los diferentes tratamientos por inoculación.	55
<b>Figura 8:</b> Número de hojas de las plantas de aguacate de acuerdo a los diferentes tratamientos por fertilización.	56
<b>Figura 9:</b> Producción de biomasa en plantas de aguacate.	58

<b>Figura 10:</b> Altura de las plantas de aguacate al finalizar el experimento.	59
<b>Figura 11:</b> Área Foliar total en plantas de aguacate.	59
<b>Figura 12:</b> Sanidad de Hojas en plantas de aguacate.	61
<b>Figura 13:</b> Porcentaje de colonización en plantas de aguacate.	62

**II. ÍNDICE DE CUADROS:**

**Capítulo 1: Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares de dos agroecosistemas y una zona natural, en la región de Zacán, Estado de Michoacán.**

**Cuadro 1.** Propiedades físicas y químicas de los suelos. 29

**Cuadro 2.** Lista de especies identificadas de los géneros Acaulospora, Ambispora, Diversispora y Gigaspora, en los 6 sitios de muestreo de la localidad de Zacán 30

**Cuadro 3.** Lista de especies identificadas de los géneros *Glomus*, *Pacispora* y *Scutellospora*, en los 6 sitios de muestreo de la localidad de Zacán 31

**Capítulo 2: Efectividad de diferentes inóculos micorrízicos locales para la producción orgánica de planta de aguacate en vivero**

**Cuadro 1.** Diseño para la obtención de inoculante. 49

### III. RESUMEN

Las actividades humanas se han convertido, en el factor primordial de la transformación de ecosistemas. Los procesos de deforestación y la expansión agrícola, producen alteraciones en las características del suelo, que en el caso de los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA), pueden tener efectos perjudiciales sobre sus poblaciones. Michoacán, es el primer productor de aguacate del país y sus bosques de pino, se están transformando aceleradamente en plantaciones de aguacate, lo que vuelve urgente la necesidad de conocer la diversidad de HMA y la susceptibilidad de las especies a las alteraciones de sus hábitats. Adicionalmente en el estado, se distribuyen bioinsumos a base de HMA, tanto de procedencia nacional como extranjera, cuya efectividad, inocuidad e invasividad en el suelo son desconocidas. Por tanto, los objetivos en el presente estudio fueron realizar una evaluación de la diversidad de HMA, en una zona de Bosque de Pino (vegetación original) y dos tipos de agroecosistemas, (huertas de aguacate y parcelas de maíz) en Zacán, Los Reyes y desarrollar inoculantes de producción local, basados en el uso de especies nativas de HMA, que se desempeñen bien en las condiciones ambientales de la zona, competitivos, pero que no lleguen a convertirse en plagas.

Las muestras de suelo se tomaron en dos sitios de cada uso de suelo en las temporadas de secas y lluvias, en un área de 30 X 60 m y en 20 diferentes puntos distribuidos en cuatro transectos paralelos y se mezclaron para formar una muestra homogénea. Se evaluaron las características físicas y químicas de los suelos, con técnicas estándar. Se extrajeron las esporas de HMA de las muestras y de cultivos trampa. Se elaboraron preparaciones y se identificaron las esporas utilizando literatura especializada, para realizar tablas de diversidad e índices de similitud. Para la segunda parte del estudio fueron desarrollados tres inóculos simples, a partir de las esporas aisladas; (*Acaulospora laevis*, *Scutellospora* aff. *pellucida* y *Pacispora scintillans*), un consorcio formado con las tres especies, la población nativa propagada completa y un testigo sin micorriza. Se probaron en combinación factorial los inóculos y tres dosis de fertilización para comparar la efectividad de los inóculos a varios niveles de fertilidad. Las tres dosis de fertilización con gallinaza

(fertilizante a base de excretas de gallina) correspondían a la mitad de la dosis normal (baja), la dosis del vivero (media) y una y media la dosis del vivero (alta). Las semillas de aguacate criollo previamente recubiertas con el inóculo micorrízico correspondiente, se sembraron directamente sobre suelo de la región. Se realizaron evaluaciones quincenales de altura, diámetro, número de hojas e índices de sanidad y herbivoría. La cosecha se realizó con 9 plantas de cada tratamiento, divididas en tres bloques, y se midió el área foliar y el peso seco de tallo y hojas, colonización micorrízica y peso seco de raíces.

Se encontraron 24 especies, y 8 morfotipos en las siguientes familias: Acaulosporaceae con 13 especies, Ambisporaceae con 2 especies, Diversisporaceae con 1 especie, Gigasporaceae con 1 especie, Glomeraceae con 9 especies, Pacisporaceae con 2 y Scutellosporaceae con 4 especies. Los bosques de pino y las huertas de aguacate presentaron entre ellas un índice de similitud de especies de 0.69 y las parcelas de maíz presentaron un índice de similitud de 0.80 al compararlas con las zonas de pino y de 0.75 con las huertas de aguacate. Lo anterior apunta a que el impacto más notorio, se da en la composición de la población y no en la riqueza de la especie de HMA, esto quizá sugiera una selección de especies, especialmente en las parcelas con maíz. Alrededor del 19% de las especies de HMA, tienen una asociación específica a la vegetación del sotobosque en bosques de pino, la más amenazada en la región.

Los resultados del experimento con los inoculantes nativos, se analizaron con ANOVAs de tres vías y mostraron pocas diferencias entre tratamientos por la gran variación al interior de estos. La interacción inóculo\*fertilizante resultó significativa para casi todas las variables y en síntesis, se observó que los mejores inóculos fueron *Scutellopora* aff. *Pellucida* y la comunidad de la zona aguacatera en su conjunto. Las diferencias existentes se debieron principalmente al crecimiento de la parte aérea. El aumento en la dosis de fertilizante tuvo un efecto negativo en la mayoría de los tratamientos por lo que se concluye que tienen implicaciones importantes para el manejo en los viveros.

#### **IV. ABSTRACT**

Human activities have become the primary factor of ecosystem transformation. The processes of deforestation and agricultural expansion, produce alterations in soil characteristics than in the case of the Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF), may have detrimental effects on their populations. Michoacán, is the largest producer of avocados in the country and its pine forests, are being transformed rapidly in avocado plantations, which makes an urgent need to understand the diversity of AMF and the susceptibility of species to changes in their habitats. Additionally in the state, bio-products are distributed based AMF, both national and foreign origin whose effectiveness, safety and invasiveness in soil are unknown. Therefore, the objectives in this study were to conduct an assessment of the diversity of AMF, in an area of pine forest (original vegetation) and two types of agroecosystems (avocado orchards and maize fields) in Zacan, Los Reyes and develop local production inoculantes based on the use of native species of AMF, which perform well in the area's environmental conditions, competitive, but do not become pests.

Soil samples were taken at two sites in each land use in the dry and rainy seasons, in an area of 30 X 60 m in 20 different points distributed in four parallel transects and mixed to form a homogeneous sample. We assessed the physical and chemical characteristics of soils, using standard techniques. It AMF spores extracted from the samples and trap crops. Preparations were make and identified the spores using literature, to developed tables of diversity and similarity indexes. For the second part of the study were developed three simple inocula, from isolated spores; (*Acaulospora laevis*, *Scutellospora* aff. *pellucida* and *Pacispora scintillans*), a consortium of the three species, the native fully propagated and a control without mycorrhizal. Inoculants and three doses of fertilization were tested in combination factorial to compare the effectiveness of the inoculants at various levels of fertility. All three doses of fertilization with chicken manure (fertilizer based on chicken manure) were half the normal dose (low), the dose of the nursery (average) and one-half the dose of the nursery (high). Criollo avocado seeds previously coated with the

corresponding mycorrhizal inoculum were sown directly on soil in the region. Evaluations were made fortnightly in height, diameter, number of leaves and levels of quality and herbivory. The harvest took place with 9 plants of each treatment, divided into three blocks, and measured leaf area and dry weight of stem and leaf dry weight and mycorrhizal colonization of roots.

We found 24 species and 8 morphs in the following families: *Acaulosporaceae* with 13 species, *Ambisporaceae*, with 2 species *Diversisporaceae* with 1 species, *Gigasporaceae* with 1 species, *Glomeraceae* with 9 species, *Pacisporaceae* with 2 and *Scutellosporaceae* with 4 species. Pine forests and orchards of avocado presented including an index of species similarity of 0.69 and maize fields showed a similarity index of 0.80 when compared with areas of pine and 0.75 with avocado orchards. This suggests that the most noticeable impact is given in the composition of the population and not in the species richness of AMF, this may suggest a selection of species, especially maize plots. About 19% of AMF species have a specific association with understory vegetation in pine forests, the most threatened in the region.

The results of the experiment with native inoculants were analyzed using three-way ANOVAs, showed few differences between treatments due to the great variation within the same treatment. Inoculum by fertilizer interaction was significant for almost all variables and is a bit complex to describe, but in summary it was noted that the best inoculum were *Scutellopora* aff. *pellucida* and the community of the avocado area as a whole. The differences were mainly due to the growth of the shoot. The increase in fertilization had a negative effect on most treatments which concludes that has important implications for management in nurseries.

## **1. INTRODUCCIÓN**

La asociación micorrízica arbuscular influye en el desarrollo de las plantas hospedadoras, al promover mayor adquisición de nutrientes, un mejor balance hídrico y brindar protección contra patógenos del suelo, así como también ventajas competitivas frente a otras plantas. Por lo tanto tiene una importancia potencial para la restauración ecológica y la agricultura. Las necesidades nutrimentales de los diversos cultivos, han sido siempre un problema vital para la agricultura y éste se ha atendido hasta hoy en día con el empleo de fertilizantes; sin embargo la utilización de estos insumos agrícolas ha traído, como resultado de su uso excesivo, problemas ecológicos y pérdidas económicas considerables a consecuencia de la degradación eventual de la calidad del suelo.

La importancia de la interacción entre plantas y hongos micorrízicos arbusculares (HMA), tanto en la conservación de ecosistemas, como en el mantenimiento de sistemas agrícolas sostenibles, se ha evidenciado en múltiples investigaciones, pero las perturbaciones al medio y las prácticas agrícolas también afectan la dinámica y biodiversidad de los HMA. Sin embargo, aún se conoce poco del efecto de estas alteraciones porque el hecho de que estos hongos sean simbiontes obligados, ha restringido su investigación, ya que son necesarios sistemas de propagación particulares para los microorganismos involucrados.

En este trabajo se evaluó el componente micorrízico de dos agroecosistemas y una zona con vegetación natural, contrastando los efectos del tipo de cobertura vegetal sobre la diversidad de los hongos micorrízicos arbusculares en cada escenario y probando la efectividad, de algunos aislamientos obtenidos de estos sitios, como parte del desarrollo de tecnología para la producción comercial de inoculantes locales de micorrizas arbusculares, para ser implementados en los métodos de agricultura orgánica de la región aguacatera de Michoacán.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Características de las micorrizas arbusculares

Las micorrizas son asociaciones multifacéticas que comprenden diversas categorías morfológicas, funcionales y evolutivas (Smith y Read, 1997; Brundrett, 2002). Algunos tipos de micorrizas son similares aún en linajes de plantas que tienen rasgos anatómicos distintos e historias evolutivas separadas (Brundrett, 2002). Las asociaciones micorrízicas más comunes, son las formadas por los hongos del Phylum Glomeromycota, también conocidos como hongos micorrízicos arbusculares (HMA). En estas asociaciones, las plantas adquieren los nutrientes inorgánicos a través de los hongos, los cuales a su vez obtienen hidratos de carbono de las plantas. Para muchas plantas terrestres, las micorrizas arbusculares (MA) son, en lugar de las raíces, los “órganos de captación” para el escaso ion fosfato (Smith y Read 1997), y bajo ciertas circunstancias también para otros iones inorgánicos.

Los HMA son ecológicamente y económicamente importantes, cruciales en la ecología y fisiología de plantas terrestres, debido a que influyen en la estabilización del suelo y la composición vegetal, productividad, diversidad y sustentabilidad en diferentes ecosistemas (Van der Heijden *et al.*, 1998),

### 2.2. Estructuras de las micorrizas arbusculares

En los HMA, el hongo invagina la membrana de la célula vegetal sin romperla y produce una estructura profusamente ramificada llamada arbusculo o bien se enrolla formando un ovillo para multiplicar el contacto entre las dos paredes celulares. El hecho de que los arbusculos provean de una amplia área de contacto entre el hongo y la planta permite la transferencia de nutrientes entre ellos, sin embargo existen evidencias de que el intercambio puede llevarse a cabo además en la interfase producida entre la pared de la célula cortical y las hifas intercelulares (Carreón, 2002).

La planta generalmente tiene pocos pelos radicales y el hongo provee un contacto íntimo con el suelo a través de las finas hifas extrarradicales que se extienden varios centímetros alrededor de la raíz. Esta red de hifas conecta a las raíces de las plantas aún de distinta especie, incrementa la absorción del agua y nutrimentos, especialmente fósforo, y promueve el crecimiento de las plantas. La red de hifas en el suelo es además importante para la colonización rápida de plántulas. Conforme la colonización micorrízica comienza a desarrollarse, el hongo produce sobre la raíz o dentro de ella, estructuras de almacenamiento llamadas vesículas, las cuales contienen abundantes lípidos. Una vez que el hongo se ha establecido en la raíz y crecido vigorosamente en el suelo, se producen numerosas esporas de origen asexual (Bécard y Fortín 1988), la reproducción sexual no se conoce en estos hongos. La formación de la simbiosis micorrízica se reinicia con la activación del micelio del hongo, procedente bien de la germinación de las esporas o de fragmentos de raíces micorrizadas presentes en la mayoría de los suelos como restos de cultivos anteriores (Barea, 2002). Los HMA afectan la arquitectura de la raíz, al aumentar las ramificaciones. Los cambios en la morfología del sistema de la raíz, pueden a su vez modificar la dinámica de la infección (Azcón *et al.*, 2002).

### **2.3. Taxonomía de los Hongos Micorrízicos Arbusculares.**

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) estaban ubicados en el orden Glomales de la clase Zygomycetes y se agrupaban en seis géneros con aproximadamente 150 especies, (Hernández, 2003). Sin embargo una clasificación más reciente basada en evidencias moleculares lo elevó a nivel de Phylum Glomeromycota, más relacionado con Basidiomycota y Ascomycota que con Zygomycota. (Schüßler *et al.*, 2001). A la fecha este Phylum tiene descritas más de 200 especies. La siguiente es la clasificación taxonómica más reciente:

Phylum: *Glomeromycota*

Clase: *Glomeromycetes*

Orden: *Glomerales*:

Familia: *Glomeraceae*:

Género: *Glomus*

Orden: *Diversisporales*:

Familia: *Gigasporaceae*:

Géneros: *Gigaspora Scutellospora* y *Racocetra*

Familia: *Acaulosporaceae*:

Género: *Acaulospora*

Familia: *Entrophosporaceae*:

Género: *Entrophospora*

Familia: *Pacisporaceae*:

Género: *Pacispora*

Familia: *Diversisporaceae*:

Géneros: *Diversispora* y *Otospora*

Orden: *Paraglomerales*:

Familia: *Paraglomeraceae*:

Género: *Paraglomus*

Orden: *Archaeosporales*:

Familia: *Geosiphonaceae*:

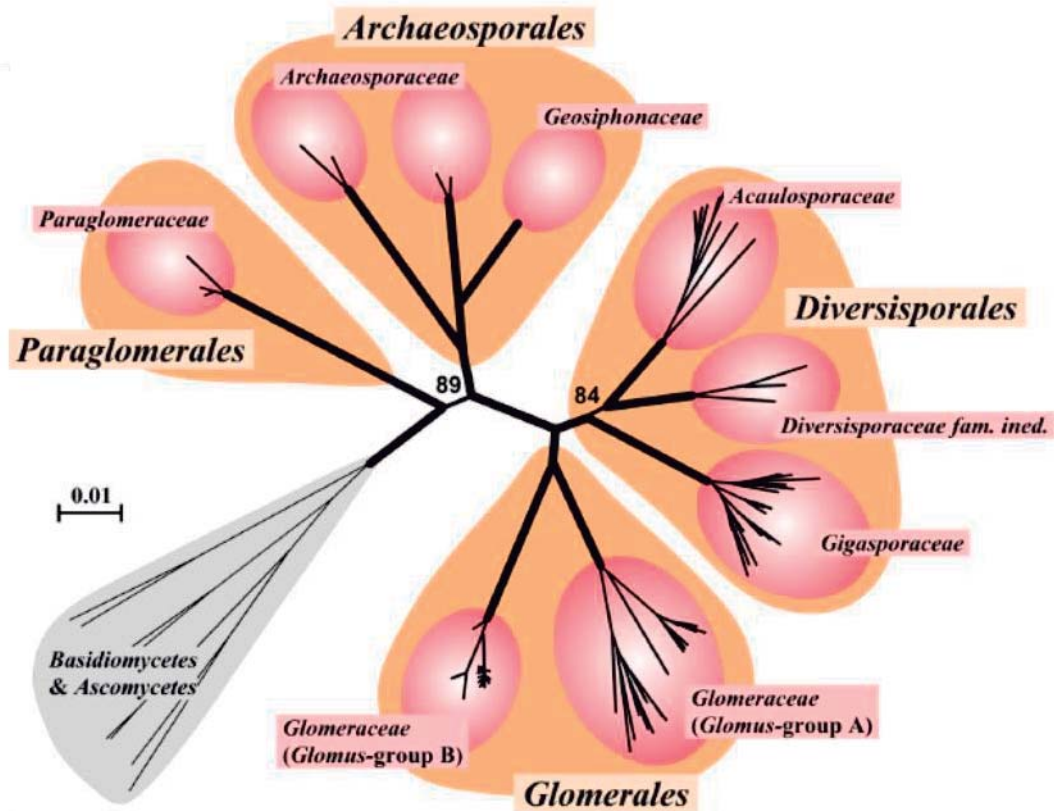
Género: *Geosiphon*

Familia: *Ambisporaceae*:

Género: *Ambispora*

Familia: *Archaeosporaceae*:

Género: *Archaeospora*



**FIGURA No.1:** Árbol filogenético del Phylum Glomeromycota, (Schüßler *et al.*, 2001).

#### 2.4. Perspectivas de uso de los HMA

En las últimas décadas se ha intentado cambiar en el ámbito global los paradigmas de la producción agrícola que implican el uso intensivo de energía, maquinaria y sustancias químicas (la llamada revolución verde) por un nuevo concepto, el de la agricultura sustentable; según ese nuevo paradigma la agricultura sustentable es un sistema integrado de prácticas de producción vegetal y animal que a largo plazo deberá, entre otras cosas, satisfacer las necesidades humanas de fibra y alimentos y mejorar la calidad ambiental y la base de recursos naturales de los cuales depende la economía agrícola (Jeffries y Barea, 2001). De lo anterior puede deducirse que el uso de las micorrizas puede ser una herramienta útil para acercarnos a una agricultura sustentable; de hecho existe una creciente conciencia ambiental gracias a la cual está aumentando la demanda de productos de

certificación orgánica, es decir aquellos con la garantía de que durante su fase de cultivo y procesamiento no se han utilizado sustancias químicas artificiales.

El desarrollo óptimo de los cultivos demanda el aporte de fertilizantes minerales como nitrógeno, fósforo (N y P) y pesticidas. Sin embargo el uso de estos productos es costoso y produce contaminación ambiental en el suelo y el agua. Los microorganismos rizosféricos fomentan el crecimiento, la nutrición vegetal y un desequilibrio en sus funciones ocasiona la pérdida de una productividad sostenida (Azcón, 2002); en este sentido las micorrizas arbusculares deberían recibir un mayor reconocimiento como componentes ineludibles del sistema planta-suelo. Estudiada en principio por su alto potencial económico, esta asociación mutualista desempeña un papel fundamental, ya no sólo en la nutrición vegetal, sino también en la estabilidad del suelo, en su equilibrio biológico y en el reciclaje de nutrientes en los ecosistemas terrestres (Bago *et al.*, 2002).

## **2.5. Diversidad de las comunidades de HMA en los ecosistemas**

### **2.5.1. Concepto de diversidad**

La diversidad o riqueza de un sitio puede entenderse como el Número total de especies obtenido por un censo de la comunidad. La diversidad alfa es la riqueza de especies de una comunidad particular a la que consideramos homogénea, la diversidad beta es el grado de cambio o reemplazo en la composición de especies entre diferentes comunidades en un paisaje, y la diversidad gamma es la riqueza de especies del conjunto de comunidades que integran un paisaje, resultante tanto de las diversidades alfa como de las diversidades beta. A diferencia de las diversidades alfa que puede ser medida fácilmente en función del número de especies, la medición de la diversidad beta es de una dimensión diferente porque está basada en proporciones o diferencias. Estas proporciones pueden evaluarse con base en índices o coeficientes de similitud, de disimilitud o de distancia entre las muestras a partir de datos cualitativos (presencia-ausencia de especies). Los índices de similitud expresan el grado en el que dos muestras son semejantes por las especies

presentes en ellas, por lo que son una medida inversa de la diversidad beta, que se refiere al cambio de especies entre dos muestras.

#### 2.5.2. Respuesta de las comunidades de HMA ante el cambio de uso de suelo

La creciente degradación de los hábitats y el cambio de uso de suelo en varias regiones, seguramente ejercen un efecto negativo en la diversidad de HMA. En un estudio realizado en la sabana natural y una zona perturbada, en Venezuela, se demostró la existencia de una elevada diversidad de especies de HMA, y señala la alta vulnerabilidad de ciertos géneros, como son *Scutellospora* y *Gigaspora*. El cambio en la composición de especies pudiera estar implicado en la escasa recuperación y el tipo de vegetación a establecerse en estas sabanas después de una severa perturbación (Lovera y Cuenca, 2007).

De manera similar un total de 60 especies de HMA se descubrieron en tres zonas ecológicas de sabanas localizadas en Benin, Oeste de África. En cada zona, se estudiaron cuatro sitios naturales y cuatro cultivados. La densidad de esporas y la riqueza de especies fueron generalmente más altas en los sitios naturales que en los sitios cultivados, particularmente (Tchabi *et al.*, 2008).

A pesar de un intensivo manejo agrícola en 90 sitios de muestreo en Sichuan, una provincia situada en el sureste de China recientes estudios revelaron que los suelos de esta región tienen de moderado a un alto número de propágulos infectivos viables de HMA así como también una alta diversidad de estos hongos, siendo las especies de *Glomus* las más distribuidas y abundantes, seguidas por *Acaulospora* y *Scutellospora* (Wang *et al.*, 2008).

En otro estudio que se realizó en La Plata Argentina, se efectuaron ensayos en campo, con el fin de evaluar durante dos años, las variaciones en la comunidad de HMA en un cultivo de trigo, en distintos estados fenológicos, bajo diferentes sistemas de labranza (labranza convencional y siembra directa) y fertilización nitrogenada, donde hallaron 24 especies.

Las especies pertenecientes a la familia *Glomeraceae* registraron mayores dominancias, especialmente en siembra directa. La ausencia de labranza en ese sistema no promovió una mayor riqueza específica o equidad en la distribución de las especies o familias de *Glomeromycota*, sino más bien tendencias opuestas (Schalamuk *et al.*, 2007).

## 2.6. El cultivo del aguacate en el estado de Michoacán

La familia Lauraceae comprende aproximadamente 2,200 especies, las que en su mayoría son tropicales y subtropicales, la mayor parte de esta familia se distingue por su follaje aromático, incluyendo al aguacatero *Persea americana Mill.* El género *Persea* está constituido por dos subgéneros, uno de ellos *Persea*, que incluye poco más de 14 especies estrechamente relacionadas, entre las que se encuentra *Persea americana Mill.* El otro subgénero es *Eriodaphe*, bastante numeroso, variable y claramente diferenciado (Campos y López, 2005)

En el estado de Michoacán, el aguacate se encuentra establecido en una franja que abarca 30 municipios, los que varían en la superficie plantada, que fluctúa desde menos de 100 ha, hasta más de 23,000 ha. Los 22 municipios en donde el cultivo es importante, están establecidos en 94,045.09 ha, entre los 1100 y los 2900 msnm, en 10 climas diferentes; pero la mayor superficie (74,463.15 ha) se localiza entre los 1600 y 2100 msnm (Lara *et al.*, 2005 citado por Aguirre 2004).

Actualmente México es el primer productor, exportador y consumidor de aguacate del mundo y Michoacán aporta el 84 % del total producido (Aguirre, 2004). Michoacán cuenta con 10,000 productores e integra a 23 asociaciones agrícolas, 296 empacadoras, 6 agroindustrias y produce 820,224 ton, exportando 80,000 t/año. El cultivo de este frutal trae consigo un impacto socioeconómico significativo al país, ya que 21,511 productores se dedican al desarrollo del aguacate, produciendo más de 950 mil toneladas, generando 47 mil empleos directos, 70 mil empleos estacionales (10.5 millones de jornales anuales) 7 187 mil empleos indirectos, generando un total de 7 millones 96 mil 978 de jornales (COMA, 2003 en Aguirre 2004).

El aguacate en fase de plántula generalmente presenta tasas de desarrollo muy lentas por lo que se hace énfasis en la necesidad del uso de biofertilizantes a base de HMA. Vidal *et al.*, (1992) observó que *G. fasciculatum* además de incrementar la biomasa aérea, también produjo beneficios en el sistema radical, el cual fue más vigoroso en comparación con plantas no-inoculadas, debido a esto la micorriza se considera como factor clave en la micropropagación de aguacate y otros frutales.

En estudios de absorción de fosfatos marcados isotópicamente se ha demostrado que las plantas micorrizadas tiene una mayor acumulación del elemento. En este sentido, la micorriza arbuscular transfiere a sus hospedantes beneficios como absorción de fósforo y nitrógeno, protección contra patógenos, longevidad de la planta y absorción de agua, etc., entonces, el uso de la micorriza en aguacate orienta hacia una tendencia de manejo sustentable (Reyes-Alemán, *et. al.* 1997).

## **2.7. Propagación de los HMA**

Debido a que los HMA no son capaces de crecer en ausencia de una planta hospedera que los alimente (Azcón y Barea, 1999), la manera más usual de propagarlos es usando un hospedero vivo que sirva como planta trampa en cultivos mixtos ó mono específicos, colocando sus esporas en contacto de una planta capaz de formar micorrizas (Brundrett *et al.*, 1996). Es significativo señalar que en cualquier técnica de propagación, es importante la selección cuidadosa de la planta hospedera, la que recomendablemente deberá de ser de ciclo de vida corto, con abundante sistema radical y por supuesto ser viable a la colonización del hongo micorrízico arbuscular de interés (Yeasmin *et al.*, 2007). El efecto de dichos hospederos es tal, que incluso en condiciones de campo es notable su efecto, por ejemplo, algunas plantas pertenecientes al estrato herbáceo, como el diente de león, mejoran el potencial de inoculación de HMA, en algunos suelos de labranza en donde se les encuentra, lo que eventualmente trae como consecuencia un aumento el aprovechamiento del fósforo (P) y propicia una mejor agregación del suelo (Kabir y Koide, 2000).

Los cultivos trampa son el medio de propagación más comúnmente utilizado. Manjarrez (2000), describió una serie de procesos a seguir para establecerlos, los cuales comienzan con el aislamiento de una sola especie, para realizar un cultivo monoespecífico o bien de una multicepa o consorcio, con el método de tamizado húmedo anteriormente mencionado. Posteriormente se establece un cultivo, en recipientes con suelo como sustrato, el cual puede ser el mismo de donde proceden las esporas y en donde la planta, servirá como organismo hospedero obligado para los HMA de interés. Así se genera un ambiente adecuado para que se lleve a cabo la asociación micorrízica. Finalmente y después de transcurridos algunos meses, se suspende el riego a las plantas, lo cual fomenta la esporulación de los hongos.

En el caso de los HMA, es difícil lograr grandes volúmenes de inóculo conteniendo un número adecuado de esporas por lo que se recomienda elaborar un inóculo mixto, a base de pedazos de raíces, hifas y esporas, esta mezcla en el inóculo, permitirá que el sistema radical de la planta entre en contacto con alguno de estos elementos infectivos y se colonice adecuadamente. También es importante cuidar la composición del sustrato de crecimiento, ya que el uso de altos niveles de materia orgánica podría actuar como inhibidor de la micorrización (Sieverding, 1991); también la aplicación de nematicidas u otros plaguicidas puede afectar severamente la colonización.

La técnica de Película Nutritiva (TPN), echa mano de las soluciones nutritivas (Cooper 1975, en Carreón, 2007), esta es una técnica hidropónica en la cual las raíces de plantas, que previamente han sido inoculadas con HMA en sustratos como la vermiculita o la arena, crecen en cámaras en donde están sumergidas en una solución nutritiva que fluye rápida y continuamente para permitir el intercambio de gases. El principal inconveniente de esta técnica, es el riesgo de contaminación con organismos indeseados, como protozoarios u otros hongos, Aún así, la cosecha no es difícil de realizar y la cantidad de propágulo micorrízico que se obtienen suele ser abundante.

Otra manera de propagación de los HMA, son los cultivos aeropónicos, los cuales al igual que en el caso anterior, necesitan la preinoculación de las raíces de plantas en sustratos inertes. Posteriormente las plantas son colocadas en una cámara, pero con la diferencia de que la solución nutritiva es atomizada con un distribuidor y pasadas 12 a 15 semanas, es posible realizar la cosecha. Una ventaja del método según Jarstfer y Sylvia (1998) es que se consigue una buena cantidad de esporas y que no es necesaria la utilización de grandes volúmenes de sustrato.

En cuanto a la propagación de los HMA en cultivos *in vitro*, hoy en día se sabe que existen diversas ventajas en la utilización de éste método, como el permitir las caracterizaciones morfológicas y bioquímicas para fines taxonómicos y fisiológicos. El procedimiento comienza con el aislamiento de esporas las cuales una vez desinfectadas superficialmente, con antibióticos y varios enjuagados con agua estéril, se procede a sembrarlas en cajas de petri y a incubarles bajo condiciones de oscuridad y temperaturas de 25- 26 0C hasta su germinación. Posteriormente son transferidas a un compartimento de cajas de petri con división, en presencia de una raíz transformada, (a consecuencia de la infección con la bacteria *Agrobacterium rhizogenes*, que le conferirá la capacidad de crecer en ausencia de la parte aérea.) la cual se encuentra ubicada en el compartimento distal. Es necesaria la utilización de un medio modificado (medio M) para que la raíz y los HMA puedan desarrollarse en estas condiciones. (Bécard y Fortín, 1988). Después de 2 a 4 meses es posible la obtención de una buena cantidad de raíces colonizadas además de gran número de esporas (Fortín *et al.*, 2002).

## 2.8. Tipos de inoculantes

De manera general existen dos tipos de inoculantes: los que se utilizan para el control de enfermedades en los cultivos y los que estimulan el crecimiento vegetal. En la industria dedicada a la producción de fertilizantes biológicos o biofertilizantes para la mejora de los cultivos, el tipo de inoculante se considera en función de dos aspectos (Ramírez, 2002): el tipo de microorganismos que contienen y a las sustancias “acarreadoras” que se utilizan en su elaboración para la presentación comercial de los mismos, de esta manera se distinguen tres grandes grupos de inoculantes:

- a. Inoculantes en polvo: soporte a base de turba, carbón o arcilla finamente molida, se aplica directamente a la semilla usando una solución adherente.
- b. Inoculantes líquidos: consiste en preparaciones acuosas (aceites o alginatos) de organismos como las bacterias que se aplican sobre la semilla.
- c. Inoculantes granulados: se trata de pequeños gránulos que se aplican al suelo junto con la semilla, son más convenientes y efectivos en suelos secos o para inocular semillas con biocidas costosos.

En el caso de los HMA, una vez que han sido aislados y propagados el inoculante puede ser manejado con el fin de establecer a los microorganismos en las hojas, tallo y raíces para establecerlos en los diversos sistemas de producción agrícola, hortícola, frutícola y comercial (Alarcón *et al.*, 2004)

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo general:

Comparar la diversidad de HMA en un Agroecosistema de aguacate, un Agroecosistema de maíz y un Bosque de Pino y elaborar y seleccionar inoculantes comerciales derivados de las comunidades nativas de HMA estudiadas.

#### 3.2. Objetivos particulares:

a) Caracterización de las aéreas de estudio, a través de la determinación de su manejo y uso del suelo y evaluación de las características físicas y químicas.

b) Cuantificar la diversidad de especies de HMA, a partir de los morfotipos de esporas, presentes en los suelos de bosque de Pino y dos Agroecosistemas, huerta de aguacate, y parcela de maíz.

c) Aislar y evaluar cepas de HMA para ser utilizadas como inoculantes, a partir de especies provenientes de las poblaciones nativas estudiadas, en cultivos trampa puros o en consorcios formados por varias especies.

d) Realizar una valoración de la efectividad e infectividad de las especies de HMA que conforman la población nativa y de especies aisladas en cultivos trampa puros, separados o en consorcio con diferentes niveles de fertilización.

#### **4. HIPÓTESIS**

Los ecosistemas están sujetos a la transformación por el hombre, lo que causa una gran pérdida de la riqueza biótica. Esta modificación en la cobertura vegetal ocasiona además un cambio microclimático, que a su vez puede afectar la composición y abundancia de los organismos en las áreas perturbadas, como es el caso de la riqueza de especies de los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA).

1. Debido al cambio de uso de suelo y de plantas hospederas, la diversidad de especies, en las comunidades de HMA de dos agroecosistemas, será menor, en relación a la de una zona con vegetación natural en la región de Zacán, Michoacán.
2. La infectividad y efectividad de diferentes especies de HMA, provenientes de la región de Zacán, utilizadas como inoculantes en cultivos de aguacate, disminuirán ante el incremento de diferentes dosis de fertilizante orgánico (gallinaza),

## 5. RESULTADOS

### Capítulo 1

#### **Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares de dos agroecosistemas y una zona natural, en la región de Zacán, Estado de Michoacán.**

Vega Fraga, M.<sup>1</sup>, Y. \*Carreón Abud<sup>1</sup> y M.E. Gavito<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética y Microbiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. <sup>2</sup>Centro de Investigaciones en Ecosistemas UNAM  
Campus Morelia, Michoacán \*ycabud@yahoo.com.mx

#### **Resumen**

La creciente degradación de los hábitats y el cambio de uso de suelo pueden en algunos casos ejercer un efecto negativo en la diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA). Los bosques de pino del centro de Michoacán están siendo transformados aceleradamente a plantaciones de aguacate, sobretodo en años recientes, además de las conversiones tradicionales para establecer maíz. Aunado a esto los pronósticos del cambio climático para los bosques templados del centro de México son muy adversos (Villers y Trejo, 1997) y por eso se hace aún más necesario conocer la diversidad de HMA de estos sitios y la susceptibilidad de las especies a los frecuentes cambios de uso de suelo. Se realizó una evaluación de la diversidad de HMA, en una zona de Bosque de Pino (vegetación original de la zona) y dos tipos de agroecosistemas, (huertas de aguacate y parcelas de maíz) en Zacán, Los Reyes. En la hipótesis se planteó que en la región de Zacán, municipio de Los Reyes, el cambio de uso de suelo promueve cambios en la diversidad de comunidades micorrízicas.

Las muestras de suelo se tomaron en dos sitios de cada uso de suelo en secas y lluvias, en un área de 30 X 60 m y en 20 diferentes puntos distribuidos en cuatro transectos paralelos, los cuales se mezclaron para formar una muestra homogénea. Se evaluaron las características físicas y químicas de los suelos, con

técnicas estándar. Se realizaron extracciones (Gerdermann y Nicholson, 1963) y conteos de esporas de las muestras y de cultivos trampa. Se elaboraron preparaciones y se identificaron las esporas utilizando literatura especializada.

Se encontraron 24 especies, y 8 morfotipos en las siguientes familias: Acaulosporaceae con 13 especies, Ambisporaceae con 2 especies, Diversisporaceae con 1 especie, Gigasporaceae con 1 especie, Glomeraceae con 9 especies, Pacisporaceae con 2 y Scutellosporaceae con 4 especies. Tanto los bosques de pino, como las huertas de aguacate presentaron 23 especies de HMA con 6 y 5 especies únicas respectivamente, presentando entre ellas un índice de similitud de 0.69. Las parcelas de maíz mostraron 17 especies y solamente una especie única en cada caso, estas últimas presentaron un índice de similitud de 0.80 al compararlas con las zonas de pino y de 0.75 con las huertas de aguacate. Trece especies estuvieron presentes en los tres usos de suelo. Los resultados sugieren que el impacto más notorio entre los diferentes usos de suelo, se da en la composición de la población y no en la riqueza de la especie de HMA, lo que apoya la hipótesis inicial, dado que hay diversidad alta en todos y existe presencia de especies únicas, pero éstas se encontraron tanto en la vegetación de pino original, como en las huertas de aguacate. Esto quizá sugiera una selección de especies, especialmente en las parcelas con maíz. Alrededor del 19% de las especies de HMA, tienen una asociación específica a la vegetación del sotobosque de los bosques de pino, que es la más amenazada en la región.

## **Abstract**

The growing degradation of habitats and land use change can in some cases have a negative effect on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). The pine forests of the center of Michoacán State in Mexico are being rapidly transformed into avocado plantations, especially in recent years, besides the traditional conversions to establish maize fields. Additionally, the predictions for the temperate forests of the center of Mexico climate change scenarios are very adverse and for that reason it is even more necessary to know the diversity of AMF of these places and the susceptibility of the species and communities to the frequent changes in land use. We made an evaluation of the diversity of HMA, in pine forests (original vegetation of the area) and two common agroecosystems types, (avocado plantations and maize fields) in Zacán, Michoacán. The hypothesis was that land use would have modified the composition and abundance of species of AMF, selecting some species for specific types of land use.

The soil samples were taken in two sites of each land use in the dry and the rainy season, in a 30 X 60 m plot. Samples from 20 different points distributed in four parallel transects were mixed to form a homogeneous sample. The physical and chemical characteristics of the soils were evaluated, with standard techniques. We made extractions and spore counts and spores mounted on slides were used to identify the AMF species using specialized literature.

There were 24 species, and 8 morphotypes in the following families: Acaulosporaceae with 13 species, Ambisporaceae with 2 species, Diversisporaceae with 1 species, Gigasporaceae with 1 species, Glomeraceae with 9 species, Pacisporaceae with 2 and Scutellosporaceae with 4 species. The pine forests and the avocado plantations presented 23 species of AMF with 6 and 5 unique species, respectively, having an index of similarity of 0.69. Maize fields showed 17 species and only one unique species in each case. They had a similarity index of 0.80

compared to the pine forest areas and of 0.75 when compared with the avocado plantations. Thirteen species were present in the three land uses.

The results suggest that the most notorious impact of the land uses, is given in the community composition and not in the species richness of AMF. This supports the initial hypothesis, that there is high species richness in all places and we found some unique species, but these were similar in the original pine forests and in the avocado plantations. This may suggest a selection of species, especially in maize fields. Around 19% of these have a specific association to the vegetation of the pine forests that is the most threatened in the region.

## **Introducción**

Las micorrizas arbusculares (MA) son asociaciones que se establecen entre un selecto grupo de hongos (Glomeromycota) y la gran mayoría de las plantas, ya que aproximadamente un 80% de las familias de plantas existentes tienen la potencialidad de formar este tipo de asociación (Trappe, 1987). La diversidad de Hongos micorrízicos arbusculares (HMA) es el mayor factor en el mantenimiento de la diversidad de plantas así como de la estabilidad y funcionalidad de los ecosistemas en que se encuentran. Muchos estudios muestran que los HMA alteran la estructura de la comunidad de plantas ya que afectan la abundancia relativa y la diversidad de las especies de plantas presentes en el ecosistema (Quilambo, 2003). Las MA son el tipo de micorrizas que forman la mayoría de las plantas de interés agrícola. Actualmente son bien conocidos los efectos benéficos de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales comprenden la mayor absorción de elementos poco móviles en el suelo como el fósforo, cobre y zinc por parte de las plantas micorrizadas en comparación con las no micorrizadas (Smith y Read, 1997).

El cultivo de aguacate en Michoacán, se inició en la década de los cincuentas en Ziracuaretiro y Uruapan y durante los sesentas se extendió a municipios vecinos como Tingambato, Tacámbaro, Peribán, Tingüindín, San Juan Nuevo, Salvador Escalante, Tancítaro, Ario de Rosales, Tocumbo, Cotija, Cañada de los Once Pueblos y Zitácuaro. El suelo y el clima resultaron ser magníficos para su desarrollo (Bárcenas y Aguirre, 2005), lo que trajo como consecuencia que muchos de los bosques de pino del centro de Michoacán estén siendo transformados aceleradamente a plantaciones de aguacate, sobretodo en años recientes, además de las conversiones tradicionales para establecer maíz. En un trabajo anterior, realizado en un área localizada en el cerro de Las Cortinas, próximo a la comunidad de Jujacato, municipio de Salvador Escalante, se estudió un área ocupada por un bosque de pino-encino y en una huerta de aguacate de 15 años de establecida. Se realizó un muestreo del suelo tanto en la época seca (abril) como en la de lluvias (agosto) y los índices de diversidad fueron más altos para el bosque en ambas épocas de muestreo y al ser comparados, se encontró que existen diferencias

significativas entre el bosque y la huerta, para las dos épocas de muestreo, atribuyéndose esto al cambio de uso del suelo (González, 2005).

Debido a que la MA influye en la estabilización del suelo y determina la composición vegetal, productividad y diversidad en diferentes ecosistemas (Van der Heijden *et al.*, 1998), es importante la realización de estudios que nos brinden conocimientos sobre la diversidad Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y su efecto en el mantenimiento de los ecosistemas. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la diversidad de HMA, en una zona sin perturbar de bosque de pino y dos tipos de agroecosistemas, (huertas de aguacate y parcelas de maíz) en la localidad de Zacán municipio de los Reyes, Michoacán, para determinar cómo afecta el cambio de uso del suelo a la diversidad micorrízica en dicha localidad, ya que los ecosistemas están sujetos a la transformación por el hombre, lo que en ocasiones causa una gran pérdida de la riqueza biótica.

## **Materiales y métodos**

### Características del área de estudio

El área de estudio se encuentra ubicada en la localidad de Zacán, Municipio de Los Reyes Michoacán, el cual se localiza al oeste del Estado, en las coordenadas 19°35' de latitud norte y 102°28' de longitud oeste, a una altura promedio de 2,300 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con Tingüindín, al este con Charapan y Uruapan, al sur con Peribán y el Estado de Jalisco, y al oeste con Tocumbo, (figura 1.). Su distancia a la capital del Estado es de 220 Kms.



**Figura 1.** Localización del Municipio de los Reyes en el estado de Michoacán.

Su clima es tropical y templado con lluvias en verano (Aw y Cw). En cuanto a la vegetación encontramos bosque tropical subcaducifolio y caducifolio, con parota (*Enterolobium cyclocarpum*), guaje (*Leucaena leucocephala*), cascalote (*Acacia farnesiana*) y cirián (*Crescentia alata*), bosque mixto, con pino encino (*Pinus spp* y *Quercus spp.*) y aile (*Alnus acuminata*) y pino. La fauna incluye conejo (*Sylvilagus sp*), liebre (*Lepus californicus*), armadillo (*Dasyurus novemacutus*), tlacuache (*Delphis virginiana*), coyote (*Canis latrans*), tuza (*Pappogeomys sp*), mapache (*Procyon lotor*) y pato (*Anas sp*). Los suelos principales del Municipio son luvisol, andosol, vertisol, feozem, acrisol y cambisol. Su uso es primordialmente forestal y en menor proporción agrícola y ganadero. (Atlas geográfico del estado de Michoacán, 2003).

Localización de los puntos de muestreo.

Las muestras de suelo que se colectaron para obtener las esporas de HMA, fueron extraídas de dos Agroecosistemas de aguacate, dos Agroecosistemas de maíz y dos Bosques de Pino, para un total de seis sitios de muestreo (figura 2.)

Huerta de aguacate “A”: se encuentra localizada en las coordenadas 19°33'20.2"N, 102°17'50.2"O, con 2182 msnm y 19°33'17.3"N, 102°17'51.5"O, con 2198 msnm. Antes de que el volcán Parícutín hiciera erupción esta área estaba cubierta por un bosque de pino. Posterior a esta perturbación, el sitio fue convertido en agostadero, pues se manejó para el pastoreo de ganado. Se ha utilizado como huerta aguacatera durante los últimos 20 años.

Huerta de Aguacate “B”: se encuentra localizada en las coordenadas 19°34'20.9"N, 102°18'17.1"O, con 2223 msnm y 19°34'16.6"N, 102°18'24.1"O, con 2198 msnm. Al igual que en el caso anterior inicialmente ésta área se encontraba cubierta por un bosque de pino, el cual fue removido hace más de 40 años para utilizarla como parcela agrícola, siendo el maíz el cultivo principal. Finalmente, hace aproximadamente 25 años se cambió a huerta aguacatera.

Ambos sitios son tratados con el fertilizante conocido como “Triple 16” (N, P, K) los cuales son empleados, según las prácticas del lugar, hasta 5 veces al año. En el caso de los plaguicidas, se utilizan los fungicidas; Caldo Bordelés, Mancozep y Benlate principalmente. De ser necesario se utilizan insecticidas comerciales como la Cipermetrina, el Dimetoato y Paration, estos productos son aplicados comúnmente con los fertilizantes o en más ocasiones en el caso de aparecer alguna plaga.

La parcela de Maíz “A” se encuentra localizada en las coordenadas 19°34'09.3" N, 102°15'24.66"O, con 2386 msnm y 19°34'0.8"N, 102°15'25.4" O, con 2380 msnm. La vegetación natural de esta zona fue inicialmente bosque de pino, el cual fue retirado en ésta área hace más de 40 años y ha funcionado desde entonces como parcela, principalmente para cultivos de maíz. La práctica que es común en la región, para la siembra del maíz es anual y permite descansar el suelo durante un año, lo cual es conocido como “año y vez”. Actualmente los dueños de este predio comenzaron a convertir la parcela en una huerta de aguacate, ya que durante los

meses de agosto y septiembre de 2008 se comenzaron a sembrar arbolitos de este frutal de aproximadamente medio metro de altura.

La parcela de Maíz “B” se encuentra localizada en las coordenadas 19°34'27.2"N, 102°14'09.5"O, con 2394 msnm y 19°34'29.4"N, 102°14'07.8"O, con 2394 msnm. Originalmente esta parcela tenía bosque de pino y hace aproximadamente 50 años se talo para utilizarla como parcela, principalmente se sembraba maíz, hace como 5 años fue removida aproximadamente un metro de la capa superior del suelo para ser vendido para uso en invernaderos, actualmente esta actividad puede ser observada en algunos terrenos cercanos, ya que esta práctica es común en la región. Sin embargo en las pendientes aledañas crecen pinos jóvenes, esto gracias a un programa de reforestación que se llevó a cabo hace 15 años.

Estas dos parcelas son tratadas con el fertilizante conocido como “Formula fosfonitrato 18- 46- 0. Se utilizan también los insecticidas comerciales antes mencionados, Cipermetrina, el Dimetoato y Paration.



**Figura 2.** Inmediaciones de la parcela de Maíz “B”.

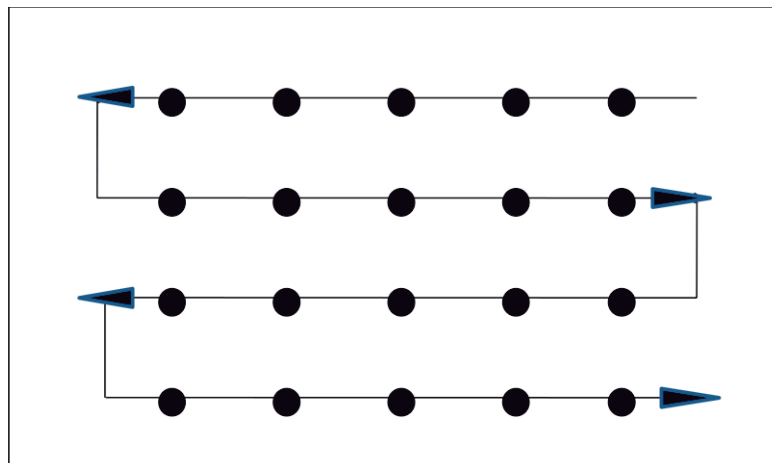
En cuanto a los dos últimos sitios el de Pino "A" se encuentra localizado en las coordenadas  $19^{\circ}33'59.1''N$ ,  $102^{\circ}17'43.0''O$ , con 2219 msnm y  $19^{\circ}34'01.3''N$ ,  $102^{\circ}17'45.9''O$ , con 2235 msnm y el de Pino "B" se encuentra localizado en las coordenadas  $19^{\circ}34'25.1''N$ ,  $102^{\circ}18'17.0''O$ , con 2237 msnm y  $19^{\circ}34'28.9''N$ ,  $102^{\circ}18'21.3''O$ , con 2250 msnm. Estas zonas de bosque, han tenido historias semejantes, ya que la flora nativa nunca ha sido removida, pero han sufrido perturbaciones fuertes, ya que en primer lugar; recibieron la lluvia de ceniza procedente del volcán Parícutín durante los 7 años en que estuvo activo, lo cual formó acumulaciones de este material de aproximadamente un metro de altura, al paso de los años el agua ha erosionado esas acumulaciones. En segundo lugar la constante tala y el cambio de uso de suelo los han convertido en relictos o "islas" de lo que fue la vegetación natural.



**Figura 3.** Localización del área de muestreo, toma aérea con una elevación de 2340m, de los 6 sitios de muestreo (Google Earth 2008).

### Muestreo de suelos

Las muestras de suelo necesarias para el aislamiento y propagación de esporas, fueron tomadas tanto en época de secas en el mes de abril, como en época de lluvias, en el mes de octubre, del 2008. Se realizaron dos muestreos adicionales para realizar los estudios fisicoquímicos y de aislamiento de esporas en el mes de septiembre de 2008 y otro enero del 2009 tan solo para aislamiento de esporas. Para la toma de muestras se utilizó una técnica llamada rectángulo abierto, para lo cual se delimitó un área de 30 X 60m, posteriormente se tomaron muestras simples de alrededor de 2 kilos, en 20 diferentes puntos distribuidos en cuatro transectos paralelos, a través de la parcela. De cada uno de los sitios se colectaron aproximadamente 40 kilos de suelo, los cuales se mezclaron para formar una muestra homogénea y representativa de toda el área muestreada, (Foth, 1990). Posteriormente las muestras de suelo fueron colocadas en bolsas de polietileno negro debidamente etiquetadas, para su traslado al laboratorio y almacenadas a 4°C hasta el momento de su utilización.



**Figura 4.** Diseño del muestreo

Evaluación de las características físicas y químicas de los suelos.

Tanto para la zona natural, como para los dos agroecosistemas, se realizaron los siguientes análisis a partir de las muestras suelo: Determinación del color en el

suelo, por medio de una comparación con una carta de colores estándar (Munsell, Color.Co.INC.1958); Determinación de textura a través del método del hidrómetro, propuesto por Bouyoucos en 1928; Determinación de densidad y porosidad; Humedad del suelo por contenido gravimétrico; Determinación de materia orgánica, con el método de combustión húmeda basado en la oxidación del ácido crómico (Walkley y Black) ; Determinación de pH en agua, con un potenciómetro; Determinación de intercambio catiónico y determinación de cationes intercambiables ( $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$ ), cuya determinación se basa en la saturación de los sitios de absorción intercambiables con un solo catión ( $\text{NH}_4^+$  o  $\text{Ca}^{++}$ ), valorando posteriormente la cantidad total de cationes absorbidos (Cabrera *et al.*, 2008); Determinación de Fósforo aprovechable por el método de Olsen (1954).

Cuantificación de la riqueza y diversidad de morfotipos de HMA.

Con la finalidad de tener esporas en buen estado y en cantidades suficientes, se procedió a la elaboración de cultivos trampa: se comenzó por esterilizar arena colocándola en bolsas de polietileno, en una autoclave durante 1h, posteriormente se dejó airear durante 24 h. Se repitió el procedimiento durante tres días y se dejó airear durante 48 h antes de ser utilizada. Se mezcló en una proporción de 1 a 3 con la arena estéril y el suelo de los sitios, previamente tamizado con una malla de 2 mm y sin esterilizar. La mezcla resultante fue vaciada en macetas de 4 litros de suelo y se sembraron semillas de maíz, pasto, girasol, cebolla y trébol, entre otras. Se regaron a capacidad de campo cada vez que fue necesario durante tres meses, después de los cuales se suspendió el riego y una vez que las plantas estuvieron secas se cortaron los tallos a nivel del suelo. Esto último fue realizado con la intención estimular la producción de esporas de HMA en las macetas, al someterlas a estrés hídrico y ya sin el aporte de carbono de las plantas.

Extracción de esporas

Se realizaron extracciones y conteos de esporas de los suelos, directamente de las muestras procedentes de los sitios de estudio y también de los suelos que se obtuvieron de los de cultivos trampa. El método que se utilizó para el aislamiento, es

el descrito por Gerdermann y Nicholson en 1963 con algunas modificaciones (Carreón *et al.*, 2007), éste se basa en suspender una muestra de suelo en agua corriente y pasarlas por varios tamices de diámetro descendente, para posteriormente centrifugar la interfase obtenida en un gradiente de sacarosa y recuperar las esporas en un tamiz de malla muy fina.

#### Descripción de morfotipos de HMA

Una vez que las esporas fueron extraídas del suelo directo y de cultivos trampa, se procedió a la elaboración de preparaciones en medios de montaje, lo que permitió realizar una observación minuciosa de sus características morfológicas. Actualmente el líquido de montaje más recomendado es el alcohol polivinílico lacto-glicerol (Carreón *et al.*, 2007). Finalmente las esporas se identificaron haciendo uso del manual de identificación del INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu>) y de literatura especializada. En un microscopio de alta resolución, fueron observadas características taxonómicas tales como: color, diámetro, número y medidas de la pared celular, morfología de la unión de hifa presencia de esporocarpo, etc. Finalmente se realizaron tablas de riqueza de especies y con los datos obtenidos se evaluó la semejanza entre especies de HMA en los diferentes sitios, mediante la utilización del índice de Sorensen. El índice de similitud de Sorensen, relaciona el número de especies en común, con la media aritmética de las especies en dos sitios (Moreno, 2001).

La fórmula es la siguiente:

$$I_s = \frac{2c}{a + b}$$

En la cual “a” es el número de especies de HMA presentes en el sitio A, “b” el número de especies de HMA presentes en el sitio B y “c” es el número de especies compartidas por ambos sitios (Moreno, 2001).

## **Resultados y Discusión**

### Propiedades del suelo

Los resultados obtenidos de las muestras, indican que el suelo de 5 de los 6 sitios de muestreo presenta un color negro, lo cual puede ser atribuido a la presencia de ceniza volcánica, y una clase textural migajón-arenosa Cuadro 1.

En cuanto a los resultados de materia orgánica se muestra valores bajos y similares para los seis sitios, muy probablemente debido a su historia en común, pero en particular para la parcela de maíz "B", lo que tal vez se deba a la remoción de suelo que se llevo a cabo en el lugar. Por otra parte los resultados obtenidos de pH, muestran valores neutros para 5 de los 6 sitios de muestreo, en donde la zona de pino "A" presenta un valor ligeramente ácido, Cuadro 1.

En las zonas de bosque los valores de fósforo aprovechable, fueron menores a las 9 ppm, lo que se consideran como deficiente. En contraste, las concentraciones de fósforo en el suelo más altas se presentaron en las huertas de aguacate y en cantidades adecuadas, al presentar más de 24 ppm. Los valores de fósforo en las parcelas de maíz son considerados como bajos, Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Propiedades físicas y químicas de los suelos.

Propiedades Físicas Y Químicas									
Muestra	Textura			Clase Textural	pH	Materia Orgánica %	Fósforo aprovechable		
	Arena	Limo	Arcilla				ppm	Kg/Ha	Interpretación
Aguacate A	92.2 %	3.98 %	3.82 %	Arenoso migajón	7.38 Neutro	3.78	36.09	100.33	Adecuado
Aguacate B	92.4 %	4.0%	3.6 %	Arenoso migajón	7.24 Neutro	2.78	35.89	96.19	Adecuado
Maíz A	92.2 %	4.0 %	3.78%	Arenoso migajón	6.58 Neutro	2.08	9.02	21.83	Bajo
Maíz B	92.32 %	4.08 %	3.6 %	Arenoso migajón	6.82 Neutro	1.69	12.55	36.14	Bajo
Pino A	77.84%	16.0%	6.16%	Arenoso migajón	6.33 Acido	2.77	5.69	13.54	Deficiente
Pino B	92.16 %	4.0 %	3.84 %	Arenoso migajón	6.68 Neutro	1.87	8.04	22.83	Deficiente

#### Riqueza de especies y ubicación taxonómica.

Como resultado del análisis de las muestras del suelo directo colectadas en los meses de abril y noviembre, de cultivos trampa preparados a partir de la colecta del mes de abril del 2008 y de las dos colectas adicionales en los meses de septiembre y enero, en los dos agroecosistemas y las zonas de bosque, se obtuvieron un total de 24 especies, y 8 morfotipos en las siguientes familias: *Acaulosporaceae* con 13 especies, *Ambisporaceae* con 2 especies, *Diversisporaceae* con 1 especie, *Gigasporaceaea* con 1 especie, *Glomeraceae* con 9 especies, *Pacisporaceae* con 2 y *Scutellosporaceae* con 4 especies. Tanto los bosques de pino, como las huertas de aguacate presentaron 23 especies de HMA, con 6 y 5 especies únicas respectivamente. Las parcelas de maíz mostraron 17 especies y solamente una especie única en cada caso. Trece especies estuvieron presentes en los tres usos de suelo.

**Cuadro 2.** Lista de especies identificadas de los géneros Acaulospora, Ambispora, Diversispora y Gigaspora, en los 6 sitios de muestreo de la localidad de Zacán

Colectas		18-Abril-2008						Propagación 1						29-Septiembre-2008						10-Noviembre-2008						20-Enero2009							
No	Especies	A	A	M	M	P	P	A	A	M	M	P	P	A	A	M	M	P	P	A	A	M	M	P	P	A	A	M	M	P	P		
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B		
1	<i>Acaulospora delicata</i>							X												X						X	X						
2	<i>Acaulospora denticulata</i>	X	X	X	X	X	X							X	X					X	X	X	X	X	X	X							
3	<i>Acaulospora foveata/lacunosa</i>																			X	X									X			
4	<i>Acaulospora koskei</i>							X																									
5	<i>Acaulospora laevis</i>	X	X	X	X	X						X				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
6	<i>Acaulospora rehmi</i>													X	X											X		X	X				
7	<i>Acaulospora scrobiculata</i>					X	X					X		X	X	X	X			X	X	X				X				X	X		
8	<i>Acaulospora spinosa</i>					X	X					X								X		X	X	X	X	X				X			
9	<i>Acaulospora splendida</i>											X				X												X	X		X		
10	<i>Acaulospora amarilla</i>					X																									X	X	
11	Acaulospora con espinas aplastadas																									X							
12	Acaulospora con espinas internas																														X		
13	<i>Acaulospora hialina grande</i>																			X							X				X		
14	<i>Ambispora brasiliensis</i>							X																									
15	<i>Ambispora leptoticha</i>							X					X	X							X				X	X			X		X	X	
16	<i>Diversispora spurca</i>			X	X	X														X	X					X	X	X		X	X	X	X
17	<i>Gigaspora albida</i>		X		X							X		X	X	X						X	X			X	X		X		X		X

X= Presencia de especie en el sitio

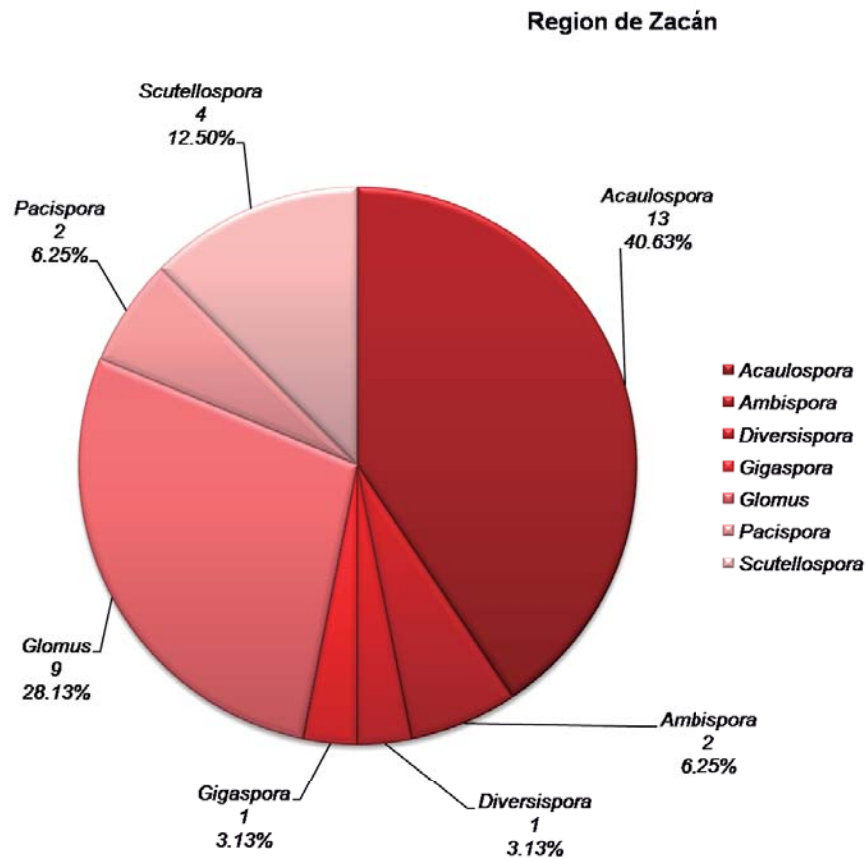
**Cuadro 3.** Lista de especies identificadas de los géneros *Glomus*, *Pacispora* y *Scutellospora*, en los 6 sitios de muestreo de la localidad de Zacán

No	Colectas Especies	18-Abril-2008						Propagación I						29-Septiembre-2008						10-Noviembre-2008						20-Enero2009					
		A	A	M	M	P	P	A	A	M	M	P	P	A	A	M	M	P	P	A	A	M	M	P	P	A	A	M	M	P	P
18	<i>Glomus fasciculatum</i>													X		X	X	X		X						X	X				
19	<i>Glomus microaggregatum</i>																		X	X											
20	<i>Glomus mosseae</i>					X	X					X	X	X	X	X	X	X			X	X			X	X				X	
21	<i>Glomus sinuosum</i>							X											X	X		X			X	X					
22	<i>Glomus tortuosum</i>																					X	X								
23	<i>Glomus amarillo p.</i>																					X	X								
24	<i>Glomus café grande</i>																		X												
25	<i>Glomus hialino muy grande</i>																											X			
26	<i>Glomus pared gruesa</i>					X																									
27	<i>Pacispora coralloidea</i>							X						X																	
28	<i>Pacispora scintillans</i>	X	X	X		X	X					X	X																		
29	<i>Scutellospora fulgida</i>			X	X							X	X								X	X	X		X	X	X	X			
30	<i>Scutellospora cerradensis</i>					X												X											X		
31	<i>Scutellospora gregaria</i>	X	X	X	X		X						X								X						X			X	
32	<i>Scutellospora reticulata</i>			X																											

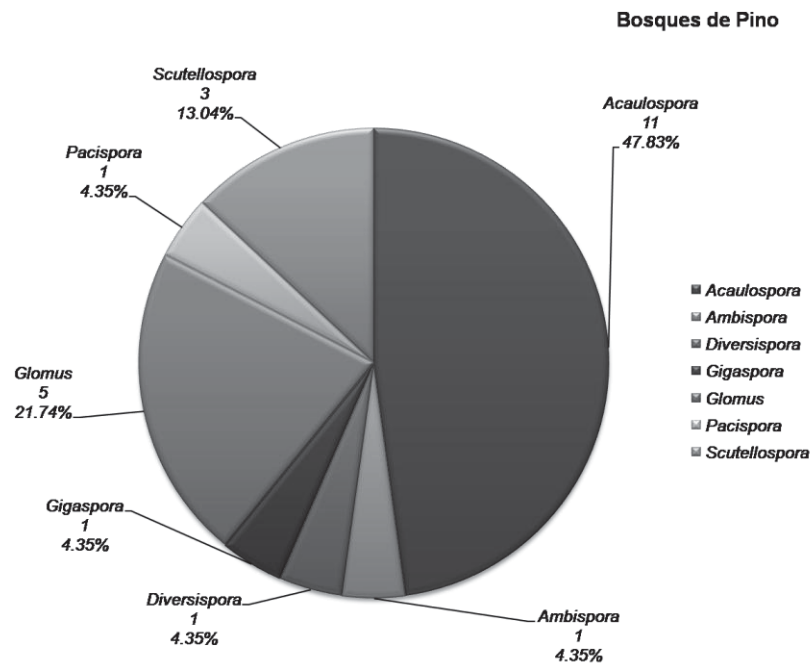
X= Presencia de especie en el sitio.

Distribución taxonómica.

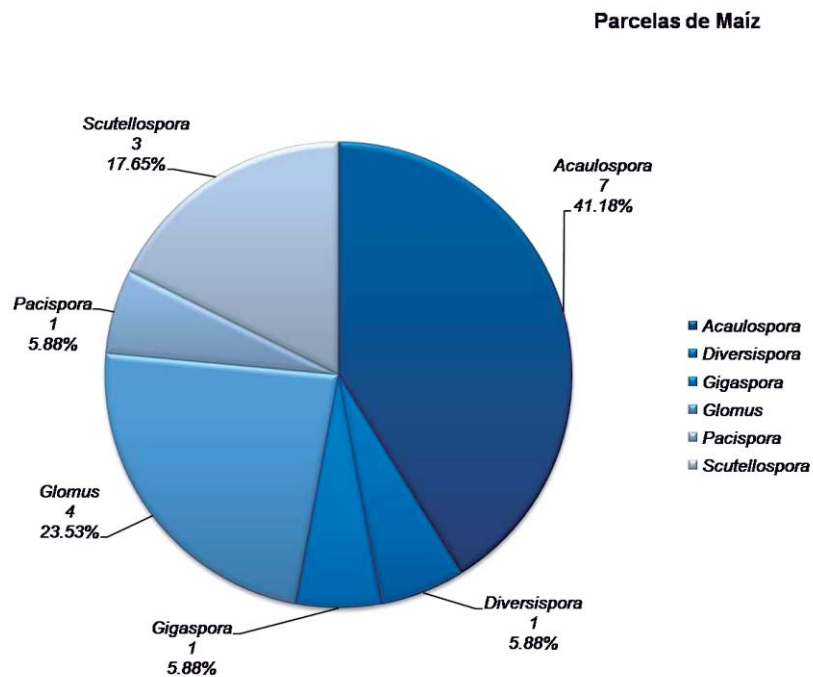
En lo relativo a la distribución de los géneros (figura 5), se encontró que el género con mayor número de especies en los tres tipos de ecosistemas es *Acaulospora*, seguido por el género *Glomus*. La dominancia de estos géneros también fue encontrada en condiciones de perturbación volcánica, en un sitio aledaño al Monte Fuji en Japón, estudio el cual se identificaron un total de 17 de HMA, (Bingyun Wu *et al.*, 2007). Es de notarse que, si bien el género *Ambispora* se encuentra presente en el agroecosistema de Aguacate y en bosque de pino, no se encuentra presente en las parcelas de maíz (figura 6,7 y 8).



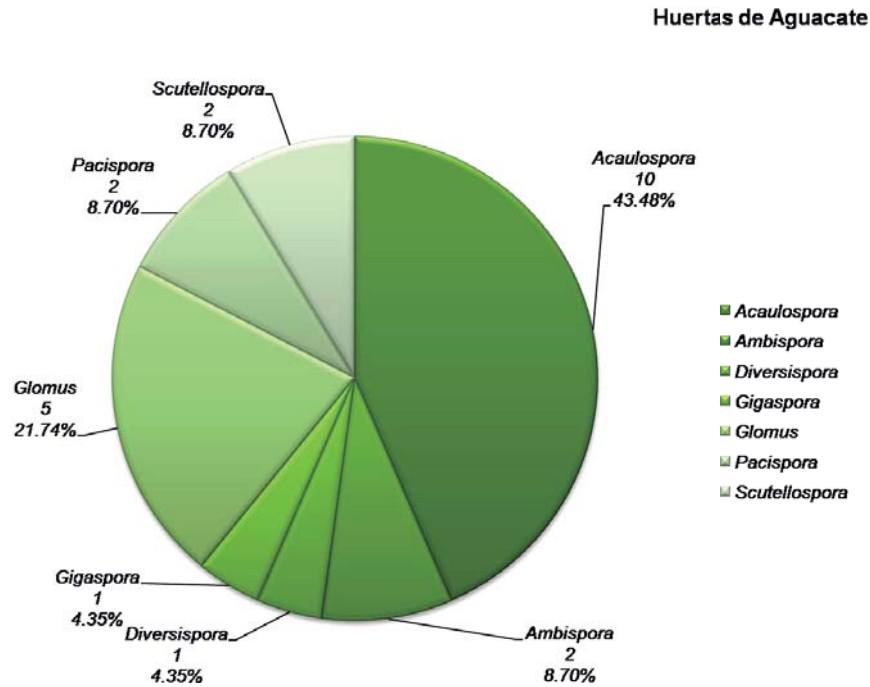
**Figura 5.** Distribución de géneros de HMA en los tres diferentes usos de suelo en la región de Zacán.



**Figura 6.** Distribución de géneros de HMA en la zona natural de bosque de pino.



**Figura 7.** Distribución de géneros de HMA en las parcelas de maíz.



**Figura 8.** Distribución de géneros de HMA en las huertas de Aguacate.

#### Índice de similitud de especies

En cuanto al Índice de similitud de especies obtenido entre diversos usos de suelo (figura 2), se esperaba que la riqueza de especies de HMA fuera más alta en los bosques de Pino y más baja en los agroecosistemas, lo que sólo se comprobó parcialmente debido a que los tres tipos de uso de suelo no tienen mucha diferenciación al compartir más del 70% de las especies. Sin embargo, es de notarse que al obtener el índice de similitud de especies entre los dos sitios de cada uso de suelo (figura 3), las huertas de aguacate solo tienen el 63% de especies en común, lo que probablemente se deba a su uso de suelo previo al establecimiento de las plantas de aguacate. Lo anterior aporta evidencia de que existen cambios en la composición de las especies de HMA debido a la utilización del suelo, ya que en una de las huertas el uso previo fue de agostadero y en la otra huerta fue de parcelas de maíz. Aunque en ambos casos la cobertura vegetal principal fueron gramíneas, para agostadero rara vez se aplican fertilizantes y se aplica labranza y para parcelas de

maíz se labra el suelo y se fertiliza. En ambos casos el suelo se empobrece de materia orgánica, ya sea por el pastoreo o por el retiro del rastrojo y las mazorcas.

En contraste con las huertas de aguacate, las parcelas de maíz fueron más parecidas y esto puede deberse a que su historia de uso fue similar ya que ambas se derivaron de bosques de pino. Los bosques de pino fueron los más parecidos entre sí como se esperaría de vegetación original. Resultados similares se encontraron en un estudio realizado en la región de Chamela Jalisco, México, en donde se evaluó la composición y diversidad de las comunidades de especies de HMA, en tres usos del suelo bosques primarios, bosques secundarios y pastizal, sus resultados indican que existen cambios en la composición de las especies de HMA debido al uso del suelo, pues se encontró una mayor riqueza de especies en los bosques primarios, con respecto a los bosques secundarios y pastizales, sin embargo los dos sitios de bosque primario eran muy diferentes entre sí y la riqueza en uno de ellos era tan bajo como en el bosque secundario y pastizal (Gavito *et al.*, 2008). Esto se atribuyó a la diferencia de los suelos entre los dos sitios, que en este estudio parece ser menor entre los dos sitios con bosque de pino.

Aunque se comparten muchas especies entre sitios, es relevante que los bosques de pino y las huertas de aguacate son los sitios con más especies únicas, lo cual sugiere que sus condiciones son necesarias para un número importante de especies y que es importante mantener estos ambientes para conservar una alta diversidad de HMA.

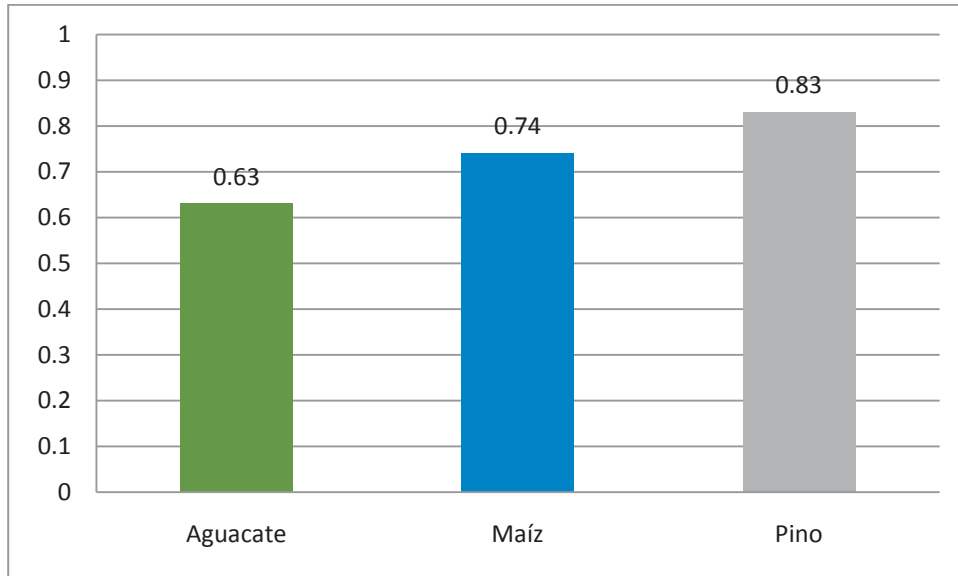


Figura 9. Índice de similitud de especies entre diversos usos de suelo.

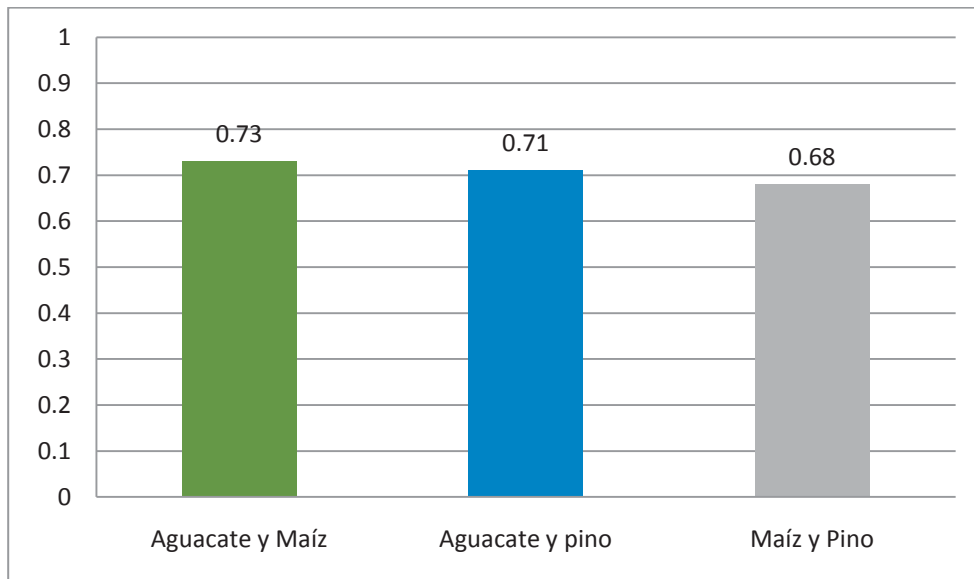


Figura 10. Índice de similitud de especies entre los dos sitios de cada uso de suelo.

## **Conclusiones**

El factor más importante que altera la composición de las especies de HMA parece ser el manejo que se hace del suelo, a través de prácticas agrícolas tales como la fertilización en los sitios manejados. A su vez la riqueza de especies de HMA, parece estar relacionada a la diversidad de plantas herbáceas, la cual es más alta en las huertas aguacate y en el bosque de pino y a las condiciones ambientales bajo un dosel de árboles.

Los resultados apoyan parcialmente la hipótesis inicial de que el cambio de uso de suelo promueve cambios en la diversidad de comunidades micorrízicas, dado que hay diversidad alta en todos los sitios, pero si bien existe una riqueza similar de especies en la vegetación de pino original y en las huertas de aguacate, la presencia de varias especies únicas para cada sitio sugiere un cambio en la composición de especies al interior de la comunidad.

## Literatura citada

**Aguirre P. S.** 2004. Presencia de HMA en aguacate bajo manejos: convencional y orgánico. Memorias del 1er Simposio sobre Hongos Micorrizicos Arbusculares. Pp. 82-102.

**Bárceñas O. A. E.** y Aguirre P. S. 2005 Pasado Presente y Futuro del Aguacate en Michoacán. II Congreso Mexicano y latinoamericano del Aguacate, Uruapan, Mich. México. p. 2.

**Bingyun Wu,** Taizo Hogetsu,, Katsunori Isobe y Ryuichi Ishii. 2007. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in a primary successional volcanic desert on the southeast slope of Mount Fuji. Mycorrhiza. 17:495–506

**Bouyoucos G. J.** 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soil. Agron. J. 54:464-465.

**Cabrera G A.,** González C. J., Ayala G. J., Medina O. L., Ramos R. A., Rosas M. S. y Robles V. J. 2008. Manual para el curso de edafología. Facultad de biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 49 p.

**Campos R. E.** y López M. L., 2005. Diversidad del género *Persea* y sus usos. Memorias, II Congreso Mexicano y latinoamericano del Aguacate, Uruapan, Mich. México. p. 3-4.

**Carreón A. Y.,** Gómez D. N., y Martínez T.M. 2007. Hongos micorrizógenos arbusculares y su uso como fertilizantes. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Fundación produce de Michoacán A.C. 87 p.

**Foth, D. H.** 1990. Fundamentals of soil science. 8 .Ed. John Wiley y Sons, Inc. Pp 360

**Gavito Mayra E.,** Pérez-Castillo D., González-Monterrubio C. F., Vieyra-Hernández T., y Martínez-Trujillo M. 2008. High compatibility between arbuscular mycorrhizal fungal communities and seedlings of different land use types in a tropical dry ecosystem. Mycorrhiza. 14 p.

**Gerdemann, J.W.** y Nicolson T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society. 46:235-244.

**González C. J.** 2005. Diversidad de hongos micorrízicos Arbusculares en un agroecosistema de aguacate (*Persea americana* mill) comparado con un bosque natural. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias. Facultad de biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 73 p.

**Moreno**, C.E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T-Manuales y Tesis SEA, Vol. 1. Zaragoza, España, 84 pp.

**Munsell** Color Company. 1958. Munsell book of color. Munsell Color Company Inc. Maryland.USA.

**Olsen**, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S. y Dean L. A. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. Department of Agriculture. Circular 939. U.S. Washington, D. C.

**Quilambo**, O., 2003. The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. African Journal of Biotechnology. 2(12): 539-546.

**Smith** S.E. y Read D.J. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. 2nd ed. Academic Press, London. 605 p.

**Trappe**, J. M. 1987. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophyin the angiosperms from an evolutionary standpoint. In: G. R. Safir(ed.), Ecophysiology of VA mycorrhizal plants. CRC Press, Boca Raton, FL. Pp. 5-25.

**Van der Heijden** M.G.A., Klironomos J.N., Ursic M., Moutoglis P., Streitwolf-Engel R., Boller T., Wiemken A. y Sanders I.R. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. Nature 396:69-72.

**Villers**, R. L. y Trejo-Vázquez I. 1997. Assessment of the vulnerability of forest ecosystems to climate change in Mexico. Climate Research 9: 87-93.

## Capítulo 2

### Efectividad de diferentes inóculos micorrízicos locales para la producción orgánica de planta de aguacate en vivero

Vega Fraga, M.<sup>1</sup>, Y. \*Carreón Abud<sup>1</sup> y M.E. Gavito<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética y Microbiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. <sup>2</sup>Centro de Investigaciones en Ecosistemas UNAM Campus Morelia, Michoacán \*ycabud@yahoo.com.mx

#### Resumen

En Michoacán, primer productor de aguacate del país, se comercializan varios inoculantes micorrízicos, algunos nacionales y algunos extranjeros, cuya efectividad, inocuidad e invasividad en el suelo se desconocen. Este estudio se diseñó para desarrollar inoculantes de producción local que se desempeñen bien en las condiciones ambientales de la zona, competitivos, pero que no lleguen a convertirse en plagas. Se probaron en combinación factorial los inóculos y tres dosis de fertilización para comparar la efectividad de los inóculos a varios niveles de fertilidad. Los tres inóculos simples fueron desarrollados a partir de esporas aisladas de suelos de la zona aguacatera (*Acaulospora laevis*, *Scutellospora* aff. *pellucida* y *Pacispora scintillans*), un consorcio formado con las tres especies, la población nativa propagada completa y un testigo sin micorriza. Las tres dosis de fertilización con gallinaza (fertilizante a base de excretas de gallina) correspondían a la mitad de la dosis normal (baja), la dosis del vivero (media) y una y media la dosis del vivero (alta). Las semillas de aguacate criollo previamente recubiertas con el inóculo micorrízico correspondiente se sembraron directamente sobre suelo agregando una fertilización adicional con gallinaza. Se realizaron evaluaciones quincenales de altura, diámetro, número de hojas e índices de sanidad y herbivoría.

La cosecha se realizó con 9 plantas de cada tratamiento, divididas en tres bloques, y se midió el área foliar y el peso seco de tallo y hojas, colonización micorrízica y peso seco de raíces.

Los resultados se analizaron con ANOVAs de tres vías y mostraron pocas diferencias entre tratamientos por la gran variación dentro del mismo tratamiento. La interacción inóculo por fertilizante resultó significativa para casi todas las variables y es un poco compleja de describir, pero en resumen se observó que los mejores inóculos fueron *Scutellopora* aff. *Pellucida* y la comunidad de la zona aguacatera en su conjunto. Los valores más bajos fueron los de *Acaulospora laevis*, *Pacispora scintillans* y el consorcio. Las diferencias se debieron principalmente al crecimiento de la parte aérea ya que las raíces fueron similares. Esto cambió un poco dependiendo de la dosis de fertilizante pero en general el aumento en la fertilización tuvo un efecto negativo en la mayoría de los tratamientos. Estos resultados sugieren que el inóculo de *Scutellopora pellucida* fue el mejor y debería seguir evaluándose con pruebas adicionales, mientras que *Acaulospora laevis*, *Pacispora scintillans* y el consorcio no tuvieron efecto sobre el aguacate. Los efectos negativos de la fertilización tienen implicaciones importantes para el manejo en los viveros.

Palabras clave: Aguacate, biofertilizante, micorriza arbuscular.

## Abstract

In Michoacán, the largest producer of avocados in Mexico, several mycorrhizal inoculants are marketed; some are local and some are foreign, and their effectiveness, safety and invasiveness in the soil are unknown. This study was designed to develop local production inoculants that perform well in the area's environmental conditions, and that are competitive but do not become pests. Factorial combinations were designed to compare the effectiveness of inocula at various levels of fertility. Three single inocula were developed from spores isolated from soil in the avocado region (*Acaulospora laevis*, *Scutellospora* aff. *pellucida* and *Pacispora scintillans*), a consortium of the three species, the native community fully propagated and a control without mycorrhiza. All inoculation treatments were combined with three doses of fertilization with chicken manure (fertilizer based on chicken manure) at half the normal dose (low), the dose of the nursery (medium) and twice the dose of the nursery (high). Criollo avocado seeds previously coated with the corresponding mycorrhizal inoculum were sown directly on soil adding additional fertilization with chicken manure. Every two weeks, height, stem diameter, number of leaves and levels of pathogen damage and herbivory were recorded. The harvest took place with 9 plants of each treatment, divided into three blocks, and leaf area and dry weight of stem and leaf dry weight and mycorrhizal colonization of roots were measured.

The results, analyzed using three-way ANOVAs, showed few differences between treatments due to the great variation within the same treatment. Inoculum by fertilizer interaction was significant for almost all variables and is a bit complex to describe, but in summary it was noted that the best inoculum were *Scutellospora* aff. *pellucida* and the community of the avocado area as a whole. The lowest values were those of *Acaulospora laevis*, *Pacispora scintillans* and the consortium. The differences were mainly due to the growth of the shoot and the roots were similar. This changed a little depending on the doses of fertilizer but in general the increase in fertilization had a negative effect on most treatments.

These results suggest that inoculum of *Scutellospora pellucida* was the best and should be further evaluated with additional tests, while *Acaulospora laevis*, *Pacispora scintillans* and the consortium had no effect on avocado. The negative effects of fertilization has important implications for management in nurseries.

Key words: Avocado, biofertilizer, arbuscular mycorrhizal.

## **Introducción**

Muchas pueden ser las razones para la crisis de la producción de alimentos de las últimas cuatro décadas, pero para poder llegar a la conformación de una alternativa, necesariamente se tendrá que romper con los viejos paradigmas de la producción agropecuaria, que se impuso en el mundo y por ende en el país, a mediados del siglo XX y que se conoció como la “Revolución Verde”.

El uso de fertilizantes químicos e híbridos (semillas de alto rendimiento), aunado con el uso de productos químicos para el combate de plagas y enfermedades, fueron la base de esta revolución, lo que logró de inmediato incrementar la producción de alimentos en niveles que excedían los requerimientos de la población (Romero, 2002; Vázquez, 2006). El éxito que se buscó llegó, pero duró muy poco tiempo, mostrándonos sus límites y sus altos costos, que generaron en México una de las agriculturas más ineficientes del mundo y altamente contaminante (Klaasen, 2001).

Los fertilizantes sintéticos presentan baja eficiencia ( $\leq 50\%$ ) para ser asimilados por los cultivos, el fertilizante no incorporado por las plantas trae un impacto ambiental adverso, tal como contaminación de mantos acuíferos con  $\text{NO}_3^-$ , eutrofización, lluvia ácida y calentamiento global (Armenta-Bojórquez *et. al.*, 2010).

Se estima que del fertilizante químico que se aplica al suelo sólo es aprovechado por la planta entre 30 y 40%, el resto se desperdicia, lo cual es causa de contaminación ambiental tanto del suelo, como de los ríos y mares. (Fontanetto *et al.*, 2002; Hargrove, 1988; Videla, 1994; Barbieri *et. al.*, 2005; Caballero, 2009; Keeney, 1982).

El siglo XXI es el siglo de la ciencia como alternativa, en México y el mundo. En el caso de los trabajos de investigación científica vinculados con la producción agropecuaria en nuestro país, no son pocos los resultados que se han obtenido

después de varias décadas de trabajo, estudiando los procesos biológicos que se llevan a cabo en el suelo, por medio de microorganismos, ejemplo de ello son los trabajos entorno a *Azospirillum brasiliense* que tiene una serie de efectos en la nutrición y desarrollo de la planta y *Rhizobium etli* que participa en la fijación de nitrógeno atmosférico en las plantas y que cuenta con patente reconocida internacionalmente, (Yang y Crowley, 2000; Richards, 1987). En el caso de los hongos del suelo, entre los más importantes está los hongos micorrízico arbusculares, estos presentan asociación simbiótica con las plantas, de las que obtienen además de un nicho ecológico, la fuente de carbono que necesitan para su desarrollo, recíprocamente la planta se beneficia, entre otras cosas, incrementando la captación de nutrimentos minerales del suelo, principalmente fósforo (Alloush *et al.*, 2000; Giovannetti y Sbrana, 1998). Tales microorganismos, son la base para la producción de los llamados biofertilizantes, que son un medio de proporcionarle a la planta los nutrientes requeridos para su crecimiento y desarrollo, fomentando los procesos naturales en el suelo, al reincorporar la microbiota perdida a causa de procesos antropogénicos.

Los biofertilizantes son una alternativa biotecnológica que emplea la biodiversidad microbiana existente en nuestro planeta, que pueden contribuir a lograr una agricultura sustentable y no contaminante del ambiente. El interés por el uso de los biofertilizantes ha captado el interés de algunos gobiernos estatales y del titular de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (Caballero, 2009).

En Michoacán, uno de los principales cultivos frutales y de mayor peso económico es el aguacate, en el 2004 la superficie establecida con cultivos perennes en el Estado fue de 288,885 hectáreas, 14% más que en el 2000. De este periodo, a la fecha, los 10 principales cultivos acumularon, en promedio, el 91% de la superficie total, destacando el aguacate con el 31%, que junto con limón, mango, guayaba, durazno y toronja, que representan el 56%; seguidos por los forrajes (pastos y

alfalfa), con el 26%, y caña de azúcar y agave con el 8% (CEMUE-PIAPYME PED, 2006). Actualmente México es el primer productor, exportador y consumidor de aguacate del mundo y Michoacán aporta el 84% del total producido (Aguirre, 2004). Michoacán cuenta con 10,000 productores e integra a 23 asociaciones agrícolas, 296 empacadoras, 6 agroindustrias y produce 820,224 ton, exportando 80,000 t/año. El cultivo de este frutal trae consigo un impacto socioeconómico significativo al país, ya que 21,511 productores se dedican al desarrollo del aguacate, produciendo más de 950 mil toneladas, generando 47 mil empleos directos, 70 mil empleos estacionales (10.5 millones de jornales anuales) 7 187 mil empleos indirectos, generando un total de 7 millones 96 mil 978 de jornales (COMA, 2003 citado por Aguirre, 2004).

Se ha comprobado que el uso de microorganismos beneficiosos como la inoculación micorrízica del suelo en combinación con composta de alta calidad y sustratos, puede mejorar el estado nutricional y desarrollo de las flores de las plantas cultivadas. (Perner *et al.*, 2007). También hay que tomar en cuenta que la adquisición de fósforo bajo la influencia de los HMA, depende de la especie y el tipo de planta. En Líneas puras de maíz la inoculación con el HMA *Gigaspora margarita*, causó una reducción en la longitud de raíz, pero mejor colonización de la misma, 55% de aumento en la absorción de P y el 27% de aumento en el crecimiento de brotes, en relación con los resultados obtenidos cuando solo se usó fertilizante, (Ramírez *et al.*, 2009).

Es considerable el impacto que las micorrizas pueden tener en el desarrollo del cultivo de aguacate, debido por una parte a que reduce el daño al ambiente y promueve un enfoque de producción sustentable y con estas nuevas tecnologías se logra una modernización que incrementa la productividad (Reyes Alemán *et al.*, 1997). Lo anterior nos habla de la importancia de generar un biofertilizante que mejore la producción. A partir de los años noventa, se ha sensibilizado al sector productivo, a cambiar a esquemas de producción orgánica de aguacate, lo que se suma favorablemente a la demanda de este fruto, producido bajo tecnologías de

insumos de bajo riesgo para la salud de sus consumidores (Aguirre y Bárcenas, 2005).

La micorriza se encuentra en los hábitats naturales donde el aguacate es nativo (Reyes-Alemán, 1997). La selección de los microorganismos a utilizar así como las condiciones del sitio, es un elemento determinante en el éxito del uso de los microorganismos. El uso de organismos alóctonos es una buena alternativa para recuperar y rehabilitar sitios contaminados o erosionados, siempre que el sitio a trabajar no tenga otra solución (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2001), por lo que es preferible el empleo de microorganismos de origen local.

Este estudio se diseñó para desarrollar inoculantes de producción local, que se desempeñen bien en las condiciones ambientales de la zona, en cultivos de importancia regional. Se probaron en combinación factorial, diferentes inóculos micorrízicos y tres dosis de fertilización, para comparar el desempeño de la inoculación, en diferentes proporciones de fertilización en plantas de aguacate a edades tempranas.

### **Materiales y métodos:**

#### Colecta de suelo y extracción de esporas

Para generar los inoculantes, se realizó la extracción e identificación de esporas de HMA, procedentes de un área de estudio ubicada en la localidad de Zacán, municipio de Los Reyes Michoacán, el cual se localiza al oeste del estado, la colecta de suelo se realizó en los meses de abril y noviembre de 2008.

### Cultivos trampa

Fueron elaborados cultivos trampa mixtos, para lo cual se realizó una mezcla con una proporción de 1 a 3 de la arena estéril y el suelo de los agroecosistemas de interés. Adicionalmente se realizaron cultivos trampa puros, a partir de la inoculación directa de esporas de HMA de una sola especie, aisladas con las técnica de tamizado húmedo (Gerderman y Nicholson, 1963), en raíces de plantas pregerminadas, dichas plantas fueron colocadas en tubos de germinación y como sustrato se utilizó la mezcla de arena y suelo anteriormente descrita, ambos sustratos fuero previamente esterilizados. Una vez elaborados estos cultivos trampa, se procedió a irrigar a capacidad de campo cada vez que fue necesario, durante tres meses, después de los cuales se suspendido el riego y una vez que las plantas estuvieron secas se cortaron a nivel del suelo. Esto último fue realizado con la intención estimular la producción de esporas de HMA en las macetas, al someterlos a estrés hídrico.

### Determinación de la efectividad micorrízica

Con el propósito de determinar la efectividad tanto de las esporas de HMA que conforman la población nativa en el suelo directo, como de las esporas aisladas y propagadas, fue necesario realizar una comparación a través de un bioensayo en dos fases. En la primera parte del experimento se procedió a la preparación y propagación del inoculante necesario, en la segunda parte fueron sembradas e inoculadas, plantas de aguacate en tratamientos con diferentes niveles de fertilización, en donde se tomaran las variables agronómicas de las plantas.

### Preparación del inoculante

Para obtener la cantidad necesaria de inoculante y libre de agentes patógenos, se elaboraron cultivos trampa. Como planta hospedera se utilizó pasto, cuyas semillas fueron desinfectadas y sembradas en 90 macetas de plástico de 2kg de capacidad. Se utilizó como sustrato, suelo procedente de la región de Zacán, el cual se esterilizó en autoclave, posteriormente se adicionaron como inoculo raíces

colonizadas, las cuales se obtuvieron de los cultivos trampa mixtos, para obtener la población nativa y cultivos trampa puros, para las especies aisladas.

El establecimiento de los tratamientos siguió la siguiente combinación de elementos (Cuadro 1).

Tratamiento	Nº De macetas	Planta hospedera	Sustrato	Inóculo
Testigo	15	Pasto	Suelo estéril	Sin inóculo
Población nativa	15	pasto	Suelo estéril	Raíces de cultivos trampa
1. Especie aislada <i>Scutellospora pellucida</i>	20	Pasto	Suelo estéril	Suelo y raíces de cultivos puros
2. Especie aislada <i>Pacispora cintillans</i>	20	Paso	Suelo estéril	Suelo y raíces de cultivos puros
3. Especie aislada <i>Acaulospora laevis</i> Consortio de las 3 spp	20	Pasto	Suelo estéril	Suelo y raíces de cultivos puros

**Cuadro 1.** Diseño para la obtención de inoculante.

Las plantas se colocaron en invernadero durante 60 días, para permitir el establecimiento de la colonización micorrízica, al término de los cuales se confirmó la presencia de colonización micorrízica, mediante la técnica de tinción de raíces de Phillips y Hayman. La presencia de al menos un punto de entrada o inicio de colonización micorrízica en la raíz se considera como un registro positivo. (Lovera y Cuenca, 2007).

#### Elaboración de tratamientos con diferentes niveles de fertilización

Esta evaluación se realizó en condiciones de vivero, en la región de Ziracuaretiro Michoacán, para lo cual, se utilizó suelo de la región proporcionado por el personal del vivero, el cual fue vertido en bolsas de plástico negro con capacidad de 4 kg, en las cuales se sembraron semillas de aguacate criollo, previamente

recubiertas con el inoculo micorrízico obtenido en la fase anterior. Se procedió al adiconamiento de un biofertilizante (gallinaza), en tres diferentes proporciones de fertilización, la dosis uno consistió en aplicar la mitad de fertilizante utilizada convencionalmente 8.3 g/kg, la dosis dos corresponde a la cantidad empleada por los viveristas 16.6 g/kg y la dosis tres, es una y media dicha cantidad 25 g/kg, lo anterior generó tres tratamientos testigo, tres tratamiento con la población nativa de Zacán, tres tratamientos para cada una de las tres especies aisladas de HMA y tres tratamientos con una combinación o consorcio, de las tres especies aisladas(Figura 1).



**Figura 1:** a) Limpieza de semillas de aguacate. b) Elaboración de las mezclas de suelo y fertilizante; c) Preparación de bolsas con suelo; d) Siembra de semillas de aguacate criollo previamente recubiertas con el inóculo micorrízico correspondiente.

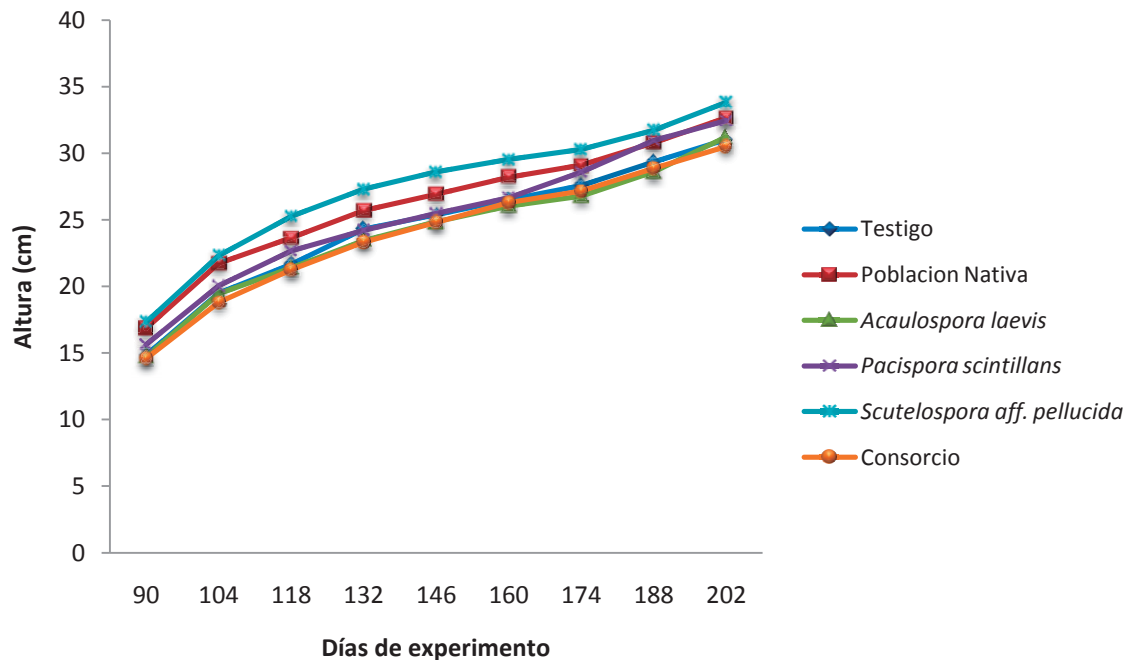
En cada uno de los tratamientos se utilizaron 10 plantas, para un total de 180 en todo el bioensayo. Las plantas fueron atendidas por el personal del vivero, siguiendo sus técnicas convencionales, pero se evitó el uso de agroquímicos. Durante los días que duró el experimento, se llevó un registro quincenal del porcentaje de supervivencia, altura de la parte aérea, diámetro del tallo y las lesiones en las hojas de las plantas, ocasionadas por patógenos y herbívora (Figura 2). Se realizó la cosecha a los 7 meses después de la siembra para la obtención de las siguientes variables: Altura de la planta, peso seco de la parte aérea, peso seco de la raíz, área foliar y colonización micorrízica. Los datos obtenidos de las variables fueron sujetos a análisis de varianza, seguido por una prueba de Tukey con un alfa  $\leq 0.05$ .



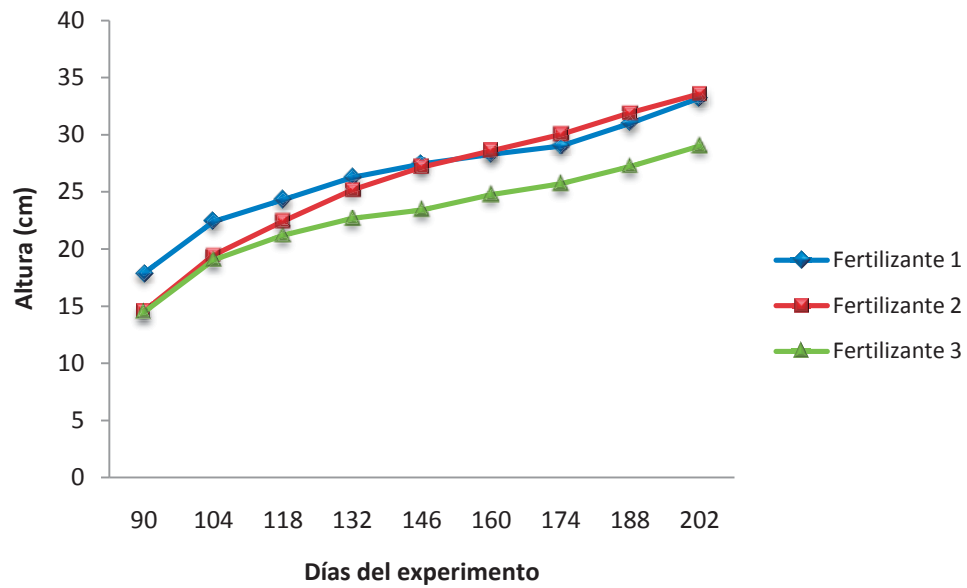
**Figura 2:** Obtención de variables. a) Diámetro; b) Altura; c) Herbívora; d) Número de hojas; e) Presencia de patógenos.

## Resultados y discusión

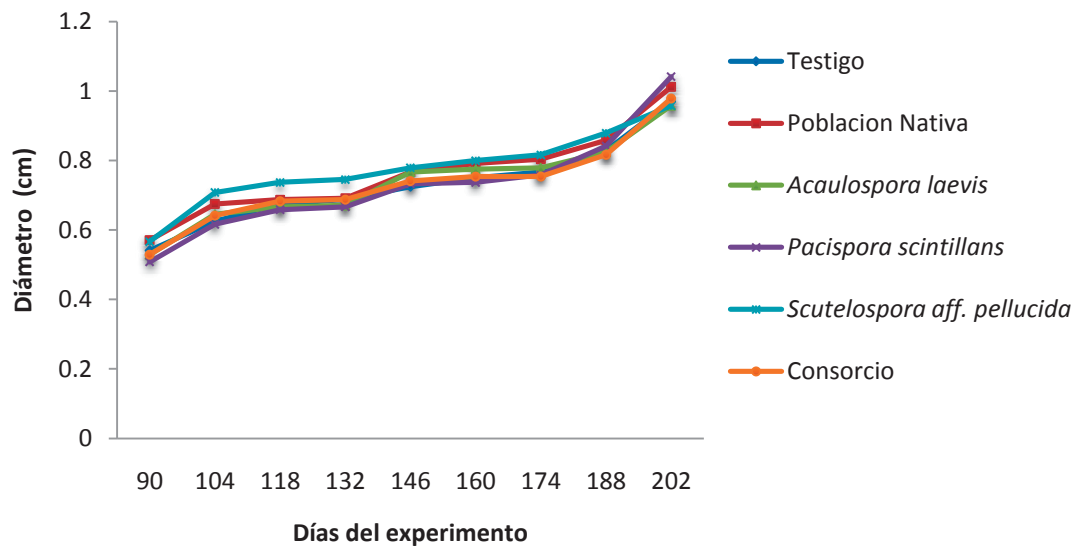
Los resultados se analizaron con ANOVAs y mostraron pocas diferencias significativas entre Inóculos, pero si hubo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las diferentes dosis de fertilizante (figuras 3, 4, 5 y 6).



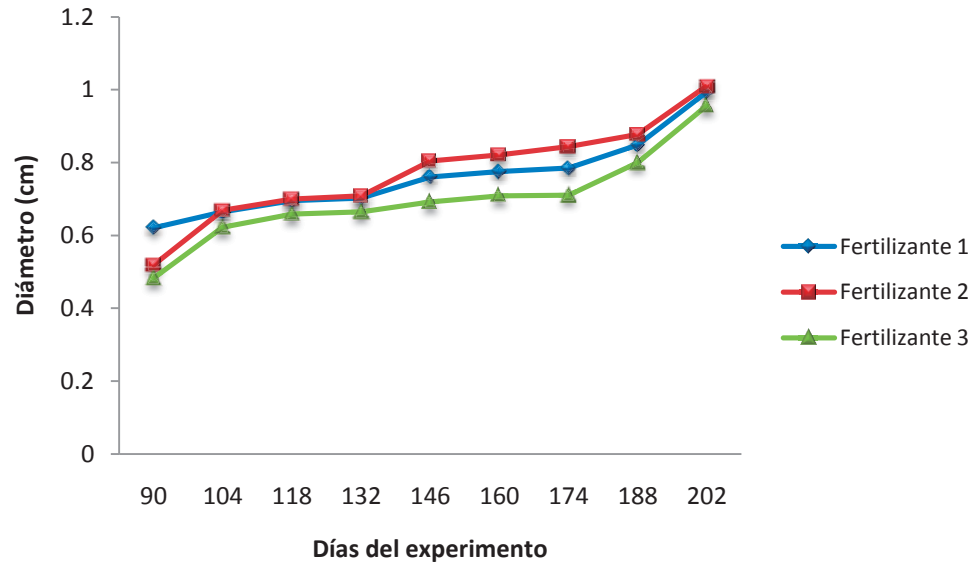
**Figura 3:** Altura de las plantas de aguacate de acuerdo a los diferentes tratamientos por inoculación.



**Figura 4:** Altura de las plantas de aguacate de acuerdo a los diferentes tratamientos por fertilización.



**Figura 5:** Diámetro a la base del tallo de las plantas de aguacate de acuerdo a los diferentes tratamientos por inoculación.



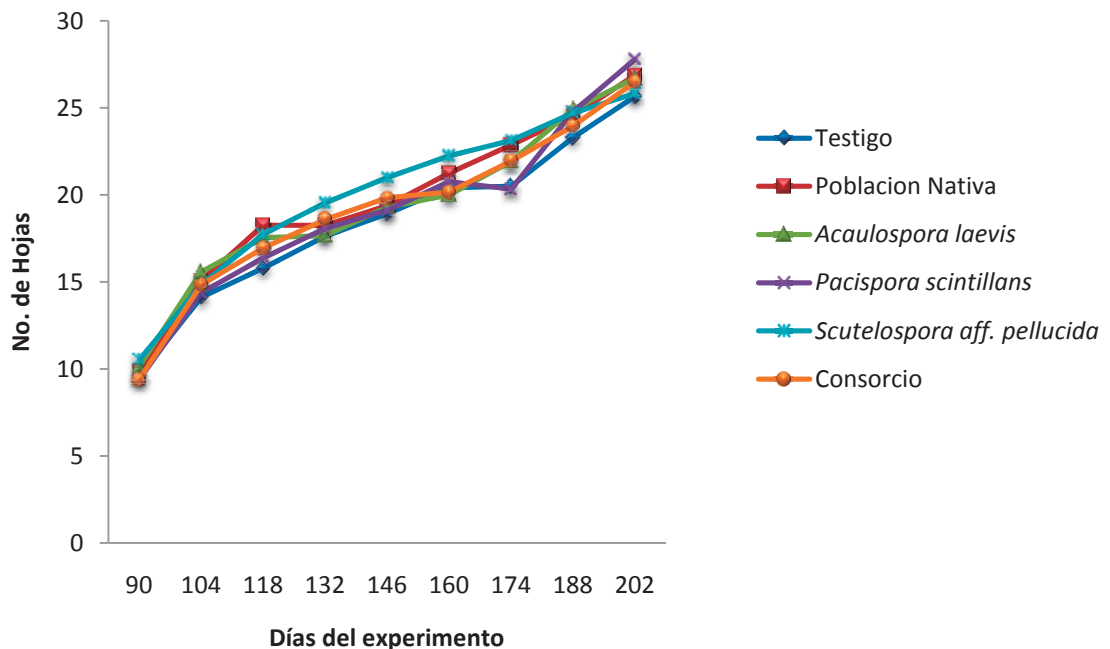
**Figura 6:** Diámetro a la base del tallo de las plantas de acuerdo a los diferentes tratamientos por fertilización.

El análisis mostró una diferencia significativa entre niveles de fertilización para las variables de altura (figura 4) y producción de hojas (figura 8), desde la primera medición, mientras que los valores del diámetro empezaron a comportarse de manera diferente a partir del día 146 (figura 6). De acuerdo a estos resultados se infiere que el incremento de las dosis de fertilización provoca un efecto negativo ya que el nivel de fertilización 3 es el que presenta los valores más bajos de altura, diámetro y número de hojas.

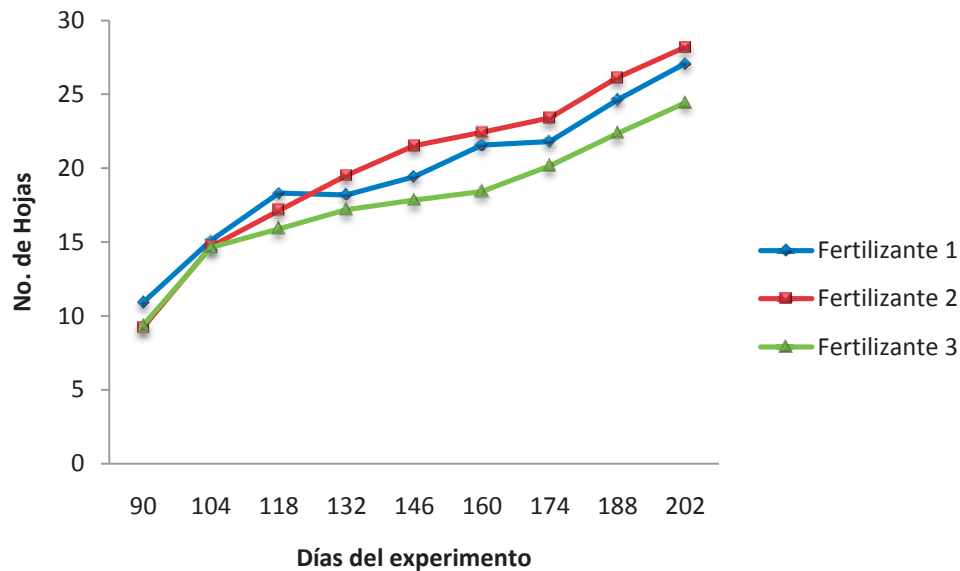
Al realizar un análisis de la interacción del inóculo con el fertilizante, resultó que el uso combinado de estos elementos tiene un efecto significativo y positivo sobre las variables de altura y diámetro de la planta de aguacate, lo que coincide con la conclusión de Reyes y Colaboradores, (1997) y Silva y Siqueira, (1991), quienes mencionaron que el uso combinado de fertilizante y la inoculación mejora en

algunas ocasiones la interacción de la planta con los HMA, lo que favorece el crecimiento inicial de las plantas, aunque es importante determinar las dosis adecuadas de fertilización y la combinación con endófitos de menor susceptibilidad.

A pesar de que en los diferentes análisis que se realizaron, los efectos de la fertilización en el desarrollo de las plantas son más evidentes, en contraste con lo que tuvieron las diferentes especies de HMA, los efectos de la micorrización también son perceptibles, ya que el desempeño de las plantas testigo fue inferior al de las plantas inoculadas (figura 3, 5, 7), lo cual concuerda con lo observado en diferentes estudios donde la inoculación en vivero puede ser un factor clave, que opera beneficiando el crecimiento y desarrollo de plantas de aguacate (Vidal *et al.*, 1992; Reyes-Alemán *et al.*, 1997).



**Figura 7:** Número de hojas de las plantas de aguacate de acuerdo a los diferentes tratamientos por inoculación.



**Figura 8:** Número de hojas de las plantas de aguacate de acuerdo a los diferentes tratamientos por fertilización.

La interacción Inoculo\*Fertilizante para número de hojas presento diferencias significativas en los 90, 146, 160 y 202 días de experimento, donde sobresalió siempre el inoculo *Scutellopora aff. pellucida*, hasta el día 174, donde empezó a sobresalir el inoculo *Pacispora scintillans* lo cual pudo haber sido por que tuvo menos herbivoría (figura 12).

Para herbívora la interacción Inoculo\*Fertilizante empieza a tener una diferencia significativa entre tratamientos, a partir de día 104. A los 132 días, el inoculo *Scutellopora aff. pellucida* fue de los que más herbivoría tuvo (figura 12) pero sin embargo se mantuvo produciendo un buen número de hojas hasta el día 202, donde fue superado por el inoculo *Pacispora scintillans* (figura 7 y 9). La respuesta de la planta de aguacate en relación a los HMA varía de acuerdo a las especies de hongos los cuales pueden proporcionarle mejor nutrición, mayor contenido de sustancia de reserva y mayor desenvolvimiento vegetativo (Silveira, 2002).

Durante el experimento, se establece una tendencia en cuanto a los inóculos que más sobresalieron, a pesar de que no hay diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ), en donde destacan *Scutellopora* aff. *Pellucida* y la Población nativa, como promotores en el desarrollo de las plantas (figura 3, 5 y 7). El Testigo, que es la población que traía el suelo de campo fue intermedia y los valores más bajos fueron los del consorcio, *Acaulospora laevis* y *Pacispora scintillans*, cabe mencionar que el inóculo *Pacispora scintillans* empezó a despuntar a partir de los 174 días en la mayoría de las variables, quedando a la cabeza para el día 202 (figuras 3, 5, 7). Si bien se han reportado trabajos donde la inoculación temprana del aguacate ha afectado favorablemente el crecimiento y estado nutricional de la planta por parte de la micorrización (Silva y Siqueira, 1991), también debe considerarse que en la mayoría de las especies arbóreas las plántulas dependen del contenido de reservas de sus hojas cotiledonares (Alarcón y Cerrato, 1999). La semilla de aguacate es muy grande y tiene muchas reservas, de manera que en las primeras etapas de crecimiento, se alimenta del embrión, y la plántula puede no requerir nutrimentos adicionales y por tanto no requerir de los HMA en los primeros meses de vida. Esto nos da una posible respuesta del porque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos al inicio del experimento y a mediados, empezando a cambiar a partir de los 174 días de vida de la planta donde se empieza a ver una diferencia en cuanto al comportamiento de uno de los inoculantes, *Pacispora scintillans* que despunta. Sería recomendable darle seguimiento a este estudio por un periodo más largo y en especial a los inoculantes que se mantuvieron siempre dentro de los 2 o 3 primeros lugares.

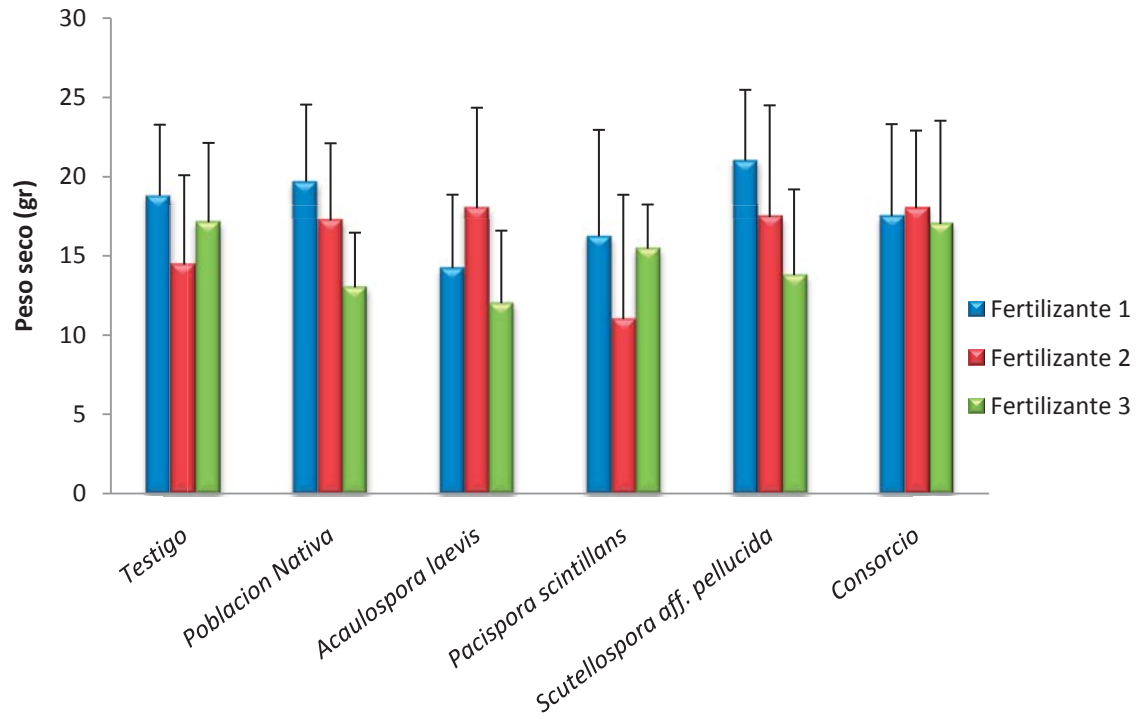


Figura 9: Producción de biomasa en plantas de aguacate.

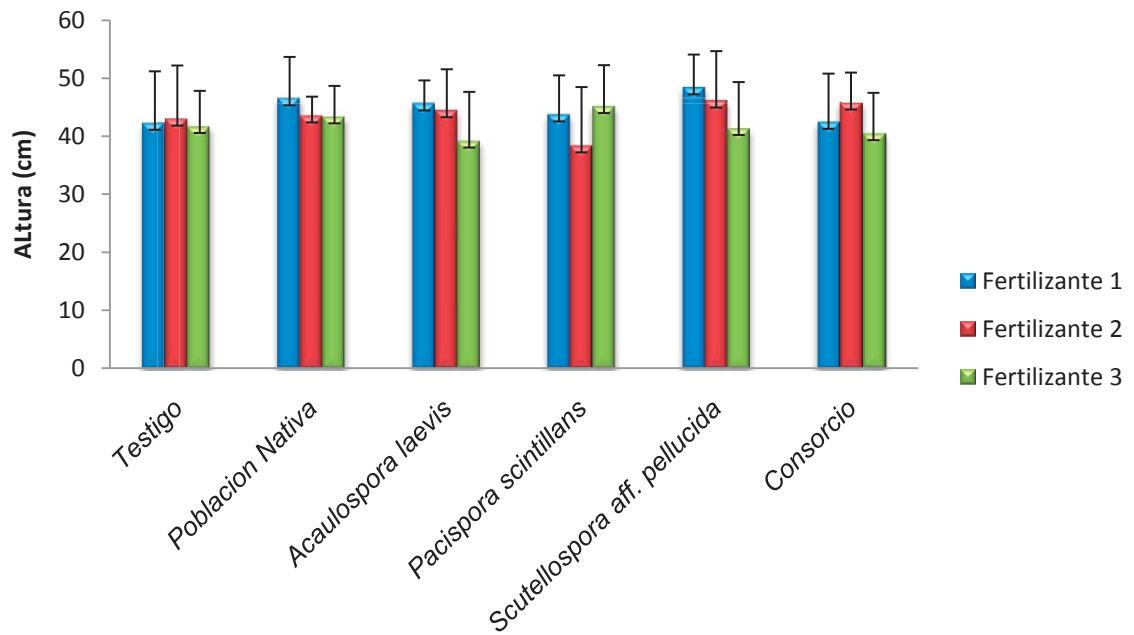


Figura 10: Altura de las plantas de aguacate al finalizar el experimento.

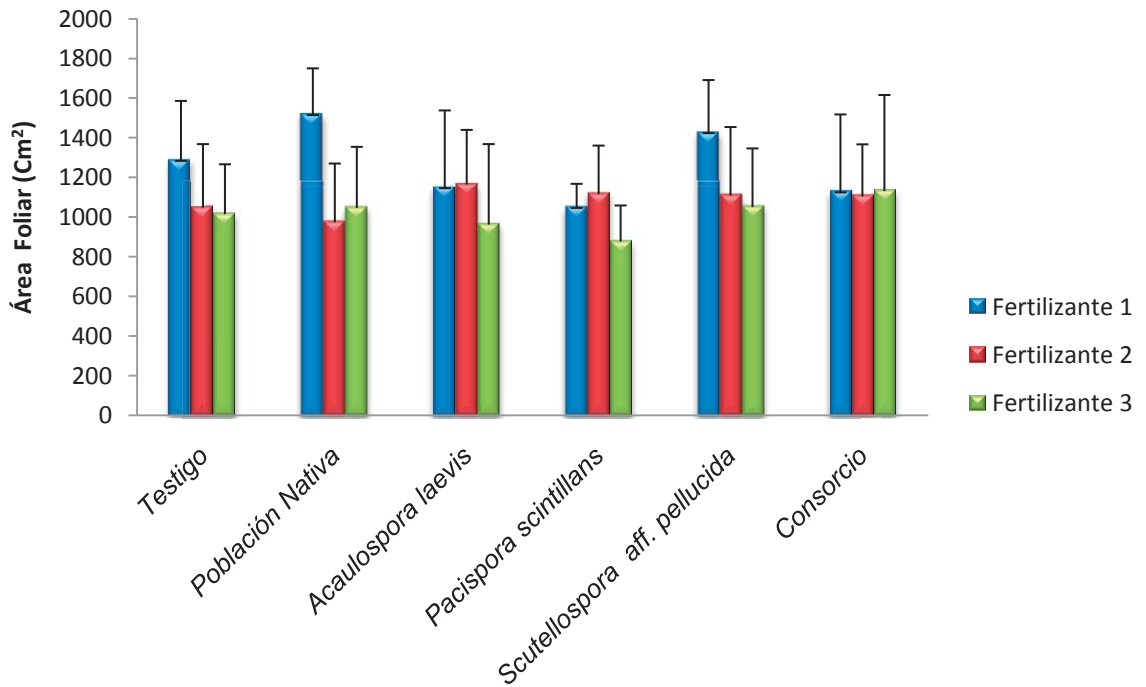
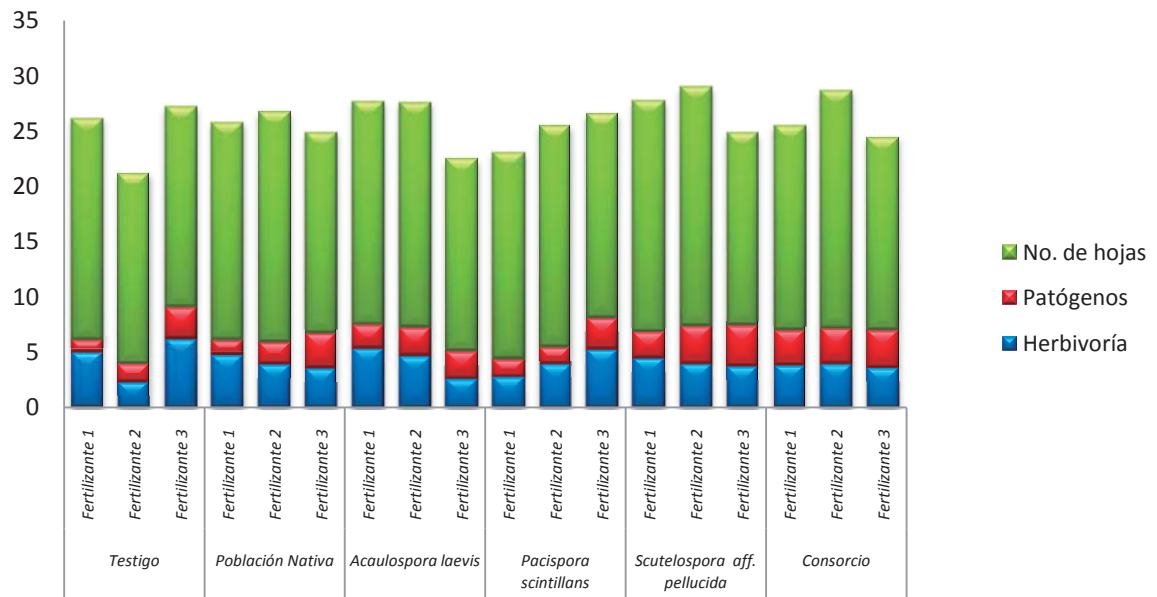


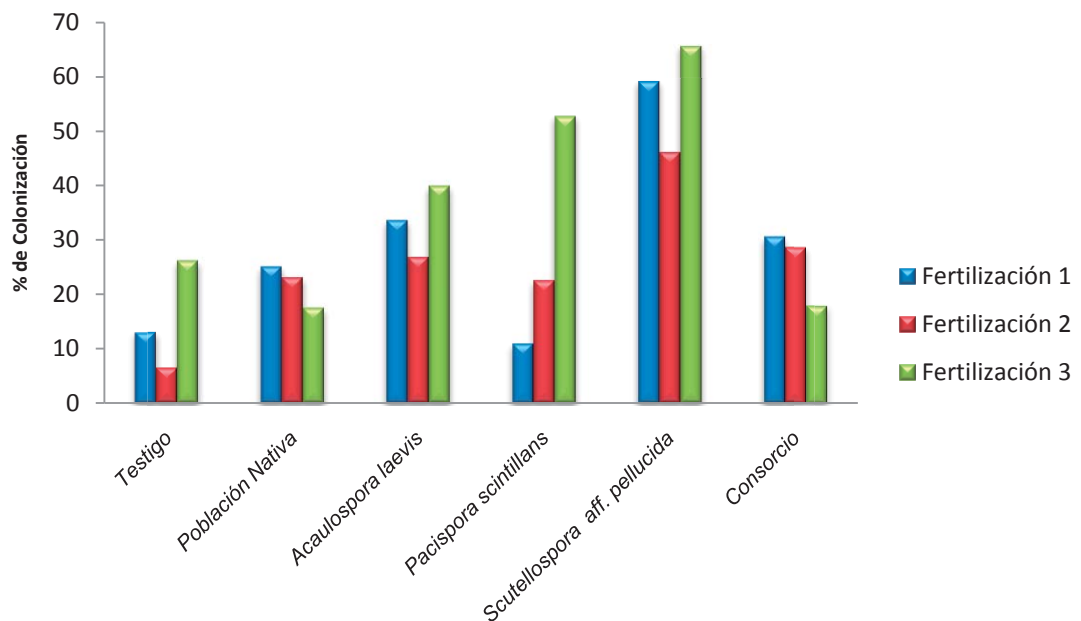
Figura 11: Área Foliar total en plantas de aguacate.

La interacción inoculante\*fertilizante fue significativa y el inóculo que produjo mayor cantidad de biomasa fue la población nativa con el nivel de fertilización 1, seguido por *Scutellopora aff. Pellucida* (figura 9), mientras que al finalizar el ensayo se encontró un comportamiento inverso al presentar mayor altura las plantas tratadas con *Scutellopora aff. Pellucida*, que las plantas tratadas con la población nativa (figura 10). *Pacispora cintillans*, a pesar de que sobresalió en diámetro y producción de hojas para el día 202 (figura 5 y 7), fue bajo en cuanto a producción de biomasa, y a la altura de la planta al finalizar el ensayo (figura 9 y 10) aún en comparación con tratamiento testigo, confirmando con esto que no todas las especies de HMA son igual de eficientes en todas las variables (da Silveira, 2003; Menge *et al.*, 1980). Al comparar los resultados de área foliar (figura 11) se encontró un comportamiento coincidente con los datos de producción de biomasa (figura 9), de tal manera que el inoculante *Scutellopora aff. pellucida* con la dosis de fertilización más baja se destaca por su eficacia, donde finalmente se encuentra una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) para las dos variables mencionadas.



**Figura 12:** Sanidad de Hojas en plantas de aguacate.

En cuanto a la presencia de patógenos y de herbivoría en la planta de aguacate se tienen reportes que mencionan que la sanidad que producen los HMA pueden ser factor de mayor ataque o incidencia de patógenos y de herbívoros (Camprubi, 1993), lo cual puede explicar que en la especie *Scutelospora aff. pellucida* que presentó mayor producción de biomasa entre los tratamientos con mayor presencia tanto de patógenos como de herbivoría (figura 12).



**Figura 13:** Porcentaje de colonización en plantas de aguacate.

La colonización micorrízica no presentó ningún patrón de comportamiento con respecto a las diferentes dosis de fertilización, sin embargo la infección encontrada en las raíces inoculadas con *Scutellospora aff. pellucida*, fue mayor en todos los tratamientos de fertilización, presentando una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con respecto a los otros inoculantes (figura 13). Este último resultado plantea el hecho de que el tratamiento con *Scutellospora aff. pellucida* al tener mayor colonización promovió el desarrollo de las plantas inoculadas, el género *Scutellospora* también resaltó por su eficacia en el desarrollo de plantas de aguacate en un experimento realizado en Eldorado do Soul, Brasil (da Silveira, 2003) al obtener resultados de altura y biomasa, muy similares a los obtenidos en este experimento, superiores a otros 4 tipos de inoculantes a base de HMA.

## Conclusión

No hubo diferencias significativas entre los tratamientos, posiblemente porque la semilla del aguacate es muy grande y tiene muchas reservas, de manera que en las primeras etapas de crecimiento, se alimenta del embrión, y al parecer la plántula no requiere nutrimentos adicionales, por tanto no requiere de los HMA en los primeros meses de vida.

Los resultados mostraron pocas diferencias significativas entre inoculantes lo cual puede deberse a la gran variación existente dentro del mismo tratamiento.

La diferencia que se mostró en la interacción inóculo\*fertilizante dependió en gran medida a dosis de fertilizante aplicado. En general el aumento en la fertilización tuvo un efecto negativo en la mayoría de los tratamientos. Los efectos negativos de la fertilización tienen implicaciones importantes para el manejo en los viveros tanto de tipo ecológico como económico

De acuerdo a los análisis la mejor combinación fue la del nivel de fertilización 1 con *Scutellopora aff. pellucida*, los resultados sugieren que este inóculo fue el mejor y debería seguir evaluándose con pruebas adicionales junto con *Pacispora scintillans* para ver si se siguen comportando igual, mientras que *Acaulospora laevis*, y el consorcio no mostraron ningún efecto sobre el aguacate.

## **Literatura citada**

**Aguirre C.**, Tapia S., Zamar M.I., Leaño M., Agostini E.B. y Quiroz P. 2004. Fluctuación poblacional de trips en el cultivo del palto, *Persea americana* Miller, cv Hass, bajo condiciones de diferentes tratamientos de control, en la localidad de Yuto, Jujuy. XXVII Congreso Argentino de Horticultura. Pp19.

**Aguirre P. S.** y Bárcenas O. A. E., 2005. La Agenda Administrativa y Técnica del Manejo del Cultivo del Aguacate, como Instrumento de Valuación. Primer Simposio Nacional de Valuación Rural. 1 y 2 de julio de 2005. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Instituto Nacional de Valuación Agropecuaria y Forestal, A. C., Centro Cultural Universitario. Agosto, Morelia Michoacán México.

**Alarcón A.** y Ferrera-Cerrato R. 1999. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. 17(3):179-191.

**Alloush G.A.**, Zeto S.K. y Clark N. 2000. Phosphorus source, organic matter, and arbuscular mycorrhizal effects on growth and mineral acquisition of chickpea grown in acidic soil. *Journal of Plant Nutrition*. 23(9):1351-1369

**Armenta-Bojórquez A. D.**, García-Gutiérrez C., Camacho-Báez J. R., Apodaca-Sánchez M. Á., Gerardo-Montoya L. y Nava-Pérez, E. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México role of biofertilizers in the agricultural development in México, *Ra Ximhai*. 6(1):51-56.

**Barbieri P. A.**, Echeverría H. E. y Sainz Rosas H. 2005. “Cuantificación de las pérdidas de nitrógeno por volatilización en el cultivo de maíz en función de la fuente, dosis y métodos de colocación del fertilizante”. (Convenio INTA Balcarce - Profertil, 2004/05).

**Caballero-Mellado** J., Onofre-Lemus J., Wong-Villarreal A., Castro-González R., Estrada-de los Santos P., Rodríguez-Salazar J., Suárez R., Iturriaga G. y Martínez-Aguilar L. 2009. Uso de Azospirillum en México como biofertilizante y potencial de nuevas especies bacterianas como biofertilizantes, agentes de biorremediación y biocontrol de fitopatógenos. XIII Congreso Nacional de Biotecnología y bioingeniería.VII Simposio Internacional de Alcoholes y Levaduras.

**Camprubi** A., Pinochet J., Calvet C. y Estaun V. 1993. Effects of root lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the growth of three plum rootstocks. Plant Soil 153 (2): 223-229.

**Centro Empresarial México Unión Europea-Programa Integral de Apoyo a Pequeñas y Medianas Empresas (CEMUE-PIAPYME PED)**. 2006. Asistencia técnica para la elaboración de diagnósticos Estratégicos sectoriales para proyectos de Exportación a la unión europea.

[http://www.cemue.com.mx/apps/portal/contenedor3.nsf/navidoc/895563B96A74B28586257354005F2AB1/\\$FILE/Diagnostico%20Bioenerg%C3%A9ticos%20y%20cultivos%20no%20Alimenticios%20MICHOA1.pdf](http://www.cemue.com.mx/apps/portal/contenedor3.nsf/navidoc/895563B96A74B28586257354005F2AB1/$FILE/Diagnostico%20Bioenerg%C3%A9ticos%20y%20cultivos%20no%20Alimenticios%20MICHOA1.pdf). Accesada 20-08-2010.

**Ferrera-Cerrato** R. y Alarcón A. 2001. La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. Ciencia ergo sum. 8(2):175-183.

**Fontanetto** H., Vivas H., Keller O. y Romera J. 2002. Evaluación de la volatilización de amoníaco desde diferentes fuentes nitrogenadas aplicadas en soja con siembra directa. II Congreso Brasileiro de Soja. Mercosoja. 229 p.

**Gerdeman** J.W. y Nicolson T.H. 1963. Spores of Mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society. 46:235-244.

**Giovannetti M.** y Sbrana. 1998. Meeting a non-host: behaviour of AM fungi. *Mycorrhiza*. 8:123-130.

**Hargrove, W. L.** 1988. Soil, Environmental, and management factors influencing ammonia volatilization under field conditions. In B. R. Bock and D. E. Kissel (ed.). Bulletin Y-206. National Fertilizer Development Center, Tennessee Valley Authority, Muscle Shoals, Alabama. 2:17-36.

**Finck A.** 1988. Fertilizantes y fertilización. Editorial Reverté S.A. Encarnación 86. Barcelona. 439 p.

**Klaassen, CD** y Watkins, J.B. 2001. Manual de Toxicología. (5ta Ed.). McGraw Hill Companies, Inc. México

**Keeney D. R.** 1982. Nitrogen management for maximum efficiency and minimum pollution. Farmed soils, fertilizer, agroecosystems. *Agronomy. A series of monographs-Americans Society of Agronomy*. (22):605-649.

**Lovera M.** y Cuenca G. 2007. Diversidad de hongos micorrízico arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de la Gran Sabana, *Interciencia*. 32(2):108-114.

**Menge J.A., La Rue J., Labanauskas C.K.** y Johnson E. L. V. 1980. The effect of two mycorrhizal fungi upon growth and nutrition of avocado seedlings grown with six fertilizer treatments. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 105: 400-404.

**Perner H., Schwarz D., Bruns C., Mäder P.** y George E. 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal colonization and two levels of compost supply on nutrient uptake and flowering of pelargonium plants. *Mycorrhiza* 17:469-474.

**Pichardo-González B.** 2006. La revolución verde en México. Agrária, São Paulo, 4:40-68,

**Ramírez R.,** Mendoza B. y Lizaso J. 2009. Mycorrhiza effect on Maize P uptake from Phosphate Rock and Superphosphate. Soil Science and Plant Analysis, 40(13, 14): 2058-2071.

**Reyes Alemán J.C.,** Alarcón A., y Ferrera-Cerrato R. 1997. Aspectos relacionados sobre el uso de la endomicorriza arbuscular en aguacate (*Persea americana* Mill). Memoria, Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX. Coatepec Harinas México. 83-94.

**Richards B. N.** 1987. The microbiology of terrestrial ecosystems. LST; John Wiley and Sons. Inc. New York. 327-329.

**Romero E.** 2002. Un siglo de agricultura en México. Ed. Porrúa IIEC's-UNAM. México. 101 pp.

**Silva L. C. y** Siqueira J. O. 1991. Growth and nutrient contents of avocado, mango and papaya seedlings under the influence of different vesicular-arbuscular mycorrhiza fungal species. Revista Brasileira de Ciencia do solo 15: 283-288.

**Silveira S. V. da.,** Souza P. V. D. de y Koller O. C. 2002. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos de abacateiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira. [online]. 37(3): 303-309.

**Vázquez L. L.** 2006. La lucha contra las plagas agrícolas en Cuba. De las aplicaciones de plaguicidas químicos por calendario al manejo agroecológico de plagas. Fitosanidad 10 (3): 221-242.

**Vidal**, M. T., Azcón-Aguilar, C. y Barea, J.M. 1992. Mycorrhizal inoculation enhances growth and development of micropropagated plants of avocado. Hortscience 27(7): 785 - 787

**Videla** C. C. 1994. La volatilización de amoníaco: una vía de pérdida de nitrógeno en sistemas agropecuarios. EEA Balcarce INTA. Boletín Técnico 131. 16 p.

**Yang** C.H. y Crowley D.E. 2000. Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. Applied and Environmental Microbiology. 60(1):345-351.

## **6. DISCUSIÓN GENERAL**

La expansión agrícola es un caso más de los frecuentes cambios producidos por los humanos en los ecosistemas terrestres, dichas alteraciones influyen sobre el clima y la biodiversidad (Paruelo *et al.*, 2005), por lo que una de las aportaciones en el presente trabajo, al contrastar la diversidad de HMA, de la vegetación original (Bosque de Pino) y dos tipos de agroecosistemas, (huertas de aguacate y parcelas de maíz), fue demostrar que pese al cambio de uso de suelo, aun se comparten muchas especies entre estos sitios.

A pesar de sus consecuencias sociales y ambientales, el aumento de la superficie agrícola aparece como un proceso ineludible, ante una demanda creciente de alimentos y el estado de Michoacán es un claro ejemplo, ya que al ser el primer productor de aguacate del país, realiza conversiones de sus bosques de pino, para establecer plantaciones de este frutal, de lo que surge la importancia de este estudio, el cual brinda información sobre el efecto que las transformación de estos ecosistemas naturales y las consecuentes modificaciones que las condiciones del suelo, tienen sobre las poblaciones de microorganismos benéficos, como lo son los HMA.

La degradación del entorno y la pérdida de diversidad vegetal, pueden tener efectos perjudiciales sobre las poblaciones de hongos formadores de micorriza arbúscular, que en condiciones naturales, se encuentran asociados a la gran mayoría de las especies de plantas, sin embargo, en este estudio se descubrió que si bien existen diferencias en la composición de especies al interior de la comunidad, la riqueza de especies entre la zona natural y las plantaciones de aguacate no es muy diferente, en contraste con los resultados de González (2005) en donde reportó una mayor riqueza de especies en los bosques de pino que comparó con cultivos de aguacate. Aunado a esto, ambos sitios presentan más especies únicas, lo que tal vez se deba a la permanencia de un estrato herbáceo en las plantaciones la mayor parte

del año, estas condiciones brindan una gama de plantas hospederas que puede mantener la diversidad micorrízica local.

De lo anterior se desprende la importancia que las prácticas agrícolas tienen en la región, que permiten el crecimiento de dicho estrato, sin embargo es importante complementarlas, con un correcto empleo de los diversos productos agrícolas, entre ellos, los inoculantes a base HMA, ya que la aplicación de agroquímicos y prácticas agronómicas excesivas, afectan adversamente la estabilidad de los HMA en el suelo (Reyes-Alemán, *et al.*, 1997). Por ende, surge otra contribución de este trabajo, al aportar elementos para el desarrollo inoculantes de producción local, cuyas ventajas ya han sido mencionadas, tomando como principio el empleo de especies de HMA procedentes de la región.

Tras el proceso de identificación de las 24 especies, y los 8 morfotipos de HMA encontrados, fue posible el aislamiento y propagación de tres de ellos, para la realización de un experimento en vivero, en donde fueron utilizados como inoculantes de plantas de aguacate, adicionalmente también se examinaron los efectos combinados de la fertilización. Una de la especies que se logró aislar fue la *Acaulospora leavis* que de acuerdo a los resultados obtenidos, pertenece al género con mayor número de especies, en los tres tipos de ecosistemas, seguido por *Glomus*, que se presenta en segundo lugar, sin embargo no fue posible aislar alguna especie de este género para incluirla en el ensayo, lo cual hubiera sido interesante ya que *Glomus* es el género más abundante y diverso, por tal motivo, estas especies de hongos son las más utilizadas en las inoculaciones en vivero (Honrubia *et al.* 1992).

Las diferencias que se presentaron entre tratamientos, respondieron principalmente a las proporciones de fertilizante que se administraron. En donde el incremento de las dosis de fertilizante provocó un efecto negativo sobre las plantas de aguacate. Los resultados sugieren que el nivel más bajo de fertilización y los inóculos *Scutellopora aff. pellucida*, y *Pacispora scintillans* fueron los que mejor

efectividad tuvieron, con respecto a la producción de biomasa, en otro estudio Aguirre 2009, menciona que las especies del genero *Scutellospora* fueron abundantes en huertas de aguacate con sistemas orgánicos, por lo que sería conveniente realizar pruebas adicionales, que den continuidad a este experimento, debido a la compatibilidad del genero que en estos estudios se demuestran para su implementación en estos sistemas. Dada la importancia que tienen, tanto social, como ambiental, la práctica de procedimientos agrarios adecuados y la generación de conocimiento, que es indispensable, para hacer propuestas compatibles con los métodos actuales y beneficiosos para el ambiente, de tal manera que se atenué el deterioro de las áreas naturales.

## 7. LITERATURA COMPLEMENTARIA

**Aguirre C.**, Tapia S., Zamar M. I., Leaño M., Agostini E. B. y Quiroz P. 2004. Fluctuación poblacional de trips en el cultivo del palto, *Persea americana* Miller, cvHass, bajo condiciones de diferentes tratamientos de control, en la localidad de Yuto, Jujuy. XXVII Congreso Argentino de Horticultura. Res. p. 19.

**Alarcón A.**, Almaraz S. J. J., Ferrera-Cerrato R., González-Chávez M. C., Lara H.M.E, Manjarrez M.M.J., Quintero L. R. y Santamaria R. S. 2004. Manual: Tecnología de hongos micorrícicos en la producción de especies forestales en vivero. 33-73 pp. En: Ferrera-Cerrato, A. Alarcón y M. E. Lara (Eds.). Colegio de Postgraduados, Montesillo. SEMARNAT-PRONARE. México. 98 p.

**Azcón R.**, 2002. Papel de la simbiosis micorrizica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola. IRENAT. Colegio de posgraduados. 1 p.

**Azcón-Aguilar C.**, Barea J. M. 1999. Saprophytic growth of arbuscular mycorrhizal fungi. En Varma A, Hock B (Eds.) *Mycorrhiza*. 2<sup>nd</sup> ed. Springer. Heidelberg, Alemania. p. 391-408.

**Azcón-Aguilar C.**, Jaizme-Vega, M. C. y Calvet, C. 2002. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil borne plant pathogens. In: Gianinazzi, S.; Schüepp, H.; Haslwandter, K.; Barea, J.M. Mycorrhizal Technology in Agriculture: from Genes to Bioproducts. ALS, Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland, p. 187-197.

**Bago B.**, Azcón C.-Aguilar, Y. Shachar-Hill, and P. Pfeffer.2000. El micelio externo de la micorriza arbuscular como puente simbiótico entre la raíz y su entorno. p. 78-92. En Alarcón, A., y R. Ferrera-Cerrato (eds.) Ecología, fisiología y biotecnología de

la micorriza arbuscular. Colegio de Postgraduados, Ediciones Mundi Prensa, Montecillo, México. 3 p.

**Barea J.** 2002. Rhizosphaera and mycorrhizal of fieldcrops. Science and policy. p. 1.

**Bécard G.** y Fortin J. A. 1988. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots. New Phytologist. 108 : 211-218

**Brundrett M.,** Bougher N., Dell B., Grove T., y Malajczuk N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research. 32: 374 p.

**Brundrett M. C.** 2002. Co evolution of roots and mycorrhizas of land plants. New Phytologist 154: 275–304.

**Campos E.** y López L. 2005. Diversidad del género *Persea* y sus usos. Memorias del II Congreso Mexicano y Latinoamericano del Aguacate: Resúmenes. pp. 3-4.

**Carreón A. Y.** 2002. Estructura y función de la simbiosis micorrízica arbuscular. Ciencia Nicolaita No 31. UMSNH. P. 47-49.

**Carreón A. Y.,** Gómez D. N., y Martínez T.M. 2007. Hongos micorrizógenos arbusculares y su uso como fertilizantes. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Fundación produce de Michoacán A.C.

**Fortin J.,** Bécard G., Declerck S., Dalpé Y., St-Arnaud M., Coughlan A, Pichéy. 2002. Arbuscular Mycorrhiza on Root-Organ Cultures. Canadian Journal of Botany. 80:1-20.

**González C.**, JC. 2005. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en un agroecosistema de aguacate (*Persea americana* Mill) comparado con un bosque natural. Tesis de maestría. Facultad de Biología. UMSNH. Morelia, Mich. 76 p.

**Hernández C. L.**, Castillo A.S., Guadarrama C.P., Martínez O. Y Romero R. M.A, Sánchez G. I. 2003. Hongos micorrizógenos arbusculares del pedregal de San Angel. Facultad de Ciencias UNAM. Ed. Las prensas de ciencias. 77 p.

**Honrubia M**, P Torres, G Díaz, A Cano. 1992. Manual para micorrizar plantas en viveros forestales. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. ICONA. 47 p.

**Jarstfer A. G.**, Farmer-Koppenol P. Sylvia, D. M. 1998. Tissue magnesium and calcium affect arbuscular mycorrhiza development and fungal reproduction. *En: Mycorrhiza* 7(5): 237-242.

**Jarstfer A. G.** y Sylvia D. M. 1998. Aeroponic culture of VAM fungi. pp. 427-441. In: *Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology*, 2nd. edition. A.K. Varma and B. Hock (eds.). Springer-Verlag, Berlin.

**Jeffries P.** y Barea J. M. 2001. Arbuscular Mycorrhiza: a key component of sustainable plant-soil ecosystems. In: B. HOCK. *The Mycota vol. IX Fungal Associations*. Ed. Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg. p. 95-113.

**Lara CH.** B. N., Gutiérrez C. M, Guillen A. H., López M. J. y Vidales F. J. A. 2005. Caracterización agroclimática de la franja aguacatera del Estado de Michoacán, México. *Memorias del II Congreso Mexicano y Latinoamericano del Aguacate*, Uruapan Mich. México. p. 2-11

**Lee Y. J.** y George E. 2005. Development of a nutrient film technique culture system for arbuscular mycorrhizal plants. *Horticultural Science*. 40:378–380.

**Lee** Y.J, y George E. 2005 Contribution of mycorrhizal hyphae to the uptake of metal cations by cucumber plants at two levels of phosphorus supply. *Plant Soil* 278:361–370

**Lovera** M. y Cuenca G. 2007. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de La Gran Sabana, Venezuela, *Interciencia*, 32(2):108-114

**Manjarrez** M. M. J., Ferrera-Cerrato R. y Alarcón A. 2000. Biotecnología de la producción de inóculo micorrízico arbuscular y su control de calidad. pp. 238-250. En: Alarcón, A. y R. Ferrera-Cerrato (eds.). *Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. Mundi Prensa, México.

**Paruelo** JM., Piñeiro G., Oyonarte C., Alcaraz-Segura D., Cabello J., Escibano P. 2005. Temporal and spatial patterns of ecosystem functioning in protected arid areas of Southeastern Spain. *Applied Vegetation Science*. 8:93-102.

**Ramírez** M. R. 2002. Producción en la calidad de inoculantes bacterianos. 67-86 pp. En Pérez-Moreno J., J. Alvarado-López y R. Ferrera-Cerrato (Eds.). 2002. *Producción y calidad de inoculantes agrícolas y forestales*. Comité Mexicano de Inoculantes Agrícolas y Forestales; Colegio de Posgraduados; Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias y Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Texcoco, Estado de México.

**Reyes-Alemán** J.C., Alarcón A. y Ferrera Cerrato R. 1997. Aspectos relacionados sobre el uso de la endomicorriza arbuscular en aguacate (*Persea americana* Mill). Pp. 83-94. *In: Memoria*. Fundación Salvador Sánchez Colín . CICTAMEX. Coatepec Harinas, México.

**Schalamuk S.**, Chidichimo H. y Cabello M. 2007. Variaciones en la composición de especies de Glomeromycota (Fungi) en un cultivo de trigo bajo distintos sistemas de labranza. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica. 42 (1-2): 45 - 53.

**Schüßler A.**, Schwaarzott D. y Walker C. 2001. .A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycological Research 105:1413-1421

**Sieverding E.** 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae management in tropical agrosystems. Technical Cooperation Federal Republic of Germany. Eschborn.

**Smith S. E.**, Read D. J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. London, UK: Academic Press.

**Tchabi A.**, Coyne D., Hountondji F., Lawouin L. y Wiemken A. y Oehl F. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in sub-Saharan Savannas of Benin, West Africa, as affected by agricultural use intensity and ecological zone. Mycorrhiza 18:161-195

**Van der Heijden M. G. A.**, Klironomos J.N., Ursic M., Moutoglis P., Streitwolf-Engel R., Boller T., Wiemken A., Sanders I. R. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. Nature 396:69-72.

**Vassilev N.**, Nikolaeva I. y Vassileva M. 2007. An improved technique for preparation of gel-entrapped fungal spores. Minerva Biotechnologica. 19(2):51-55.

**Wang Y.**, Vestberg M., Walker C., Hurme T., Zhang X. y Lindström K. 2008. Diversity and infectivity of arbuscular soils of the Sichuan Province of mainland China. Mycorrhiza 18:59-68

**Yeasmin T.**, Zaman P., Rahman A., Absar N. y Saba K.N. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungus inoculum production in rice plants. African Journal of Agricultural Research Vol. 2 (9):463-467.

From: "Fungal Ecology" <c.newman@elsevier.com>  
To: mgavito@oikos.unam.mx  
Sent: 31 Dec 2010 22:00:44 +0000  
Subject: Submission Confirmation

Dear Mayra,

We have received your article "Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico" for consideration for publication in Fungal Ecology.

Your manuscript will be given a reference number once an editor has been assigned.

To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <http://ees.elsevier.com/funeco/>
2. Enter these login details:  
Your username is: mgavito

If you need to retrieve password details, please go to:  
[http://ees.elsevier.com/funeco/automail\\_query.asp](http://ees.elsevier.com/funeco/automail_query.asp)

3. Click [Author Login]  
This takes you to the Author Main Menu.
4. Click [Submissions Being Processed]

Thank you for submitting your work to this journal.

For further assistance, please visit our customer support site at <http://epsupport.elsevier.com>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

Kind regards,  
Elsevier Editorial System  
Fungal Ecology

Elsevier Editorial System(tm) for Fungal Ecology  
Manuscript Draft

Manuscript Number: FUNECO-D-11-00009

Title: Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico

Article Type: SI: Fungi and Global Change

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi; avocado; diversity; land use change; maize; soil; temperate forest; richness

Corresponding Author: Mrs Mayra Elena Gavito, Ph D

Corresponding Author's Institution: Universidad Nacional Autonoma de Mexico

First Author: Juan C González-Cortés, M Sc

Order of Authors: Juan C González-Cortés, M Sc; Manuel Vega-Fraga, B Sc; Lucía Y Varela-Fregoso, D Sc; Miguel Martínez-Trujillo, D Sc; Yazmín Carreón-Abud, D Sc; Mayra Elena Gavito, Ph D

Abstract: Increasing habitat degradation and land use change may impact arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) diversity. Temperate forests are being rapidly transformed to avocado plantations in the state of Michoacan, Mexico, the largest producer of avocado in the world. This new pressure adds to traditional conversions to establish low-input maize fields and to the adverse predictions of climate change suggesting high threatening of the temperate forests of this area. We explored the response of species richness and composition of the AMF communities to land use change from temperate forests to avocado plantations and maize fields and examined its relation to management practices. Our results suggest the impact of land use change is greater on the composition than on the richness of AMF. The most important factor altering AMF communities seems to be the geographical region and the change from forest to avocado plantation had minor impacts compared to conversion to maize fields.

Suggested Reviewers: Fritz Oehl Ph D  
Researcher, Agroscope ART-Zurich, Switzerland  
fritz.oehl@art.admin.ch  
Specialist in taxonomy, diversity of AMF with experience in tropical countries

Sidney Sturmer Ph D  
Researcher, Universidade Regional de Blumenau, Brazil  
sturmer@furb.br  
Specialist in taxonomy of AMF and with experience in tropical/subtropical regions

Gisela Cuenca Ph D  
Senior researcher, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Venezuela  
gcuenca@ivic.ve  
Ecologist with experience in diversity and abundance of AMF in tropical regions



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
Centro de Investigaciones en Ecosistemas

**December 30, 2010**

**The Editorial Office  
Fungal Ecology**

Please consider the manuscript entitled “Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico” which was invited to contribute to the special issue Fungi and Global Change. The work presented in the manuscript is original work that is not being considered for publication elsewhere.

Here we report mainly the strong effect of the region and the low influence of land use or soil properties in shaping the AMF communities in the ongoing land use change scenario of the study area in Central Mexico, which has accelerated the conversion of temperate forests to avocado plantations in addition to traditional conversion to maize fields. The fact that the geographical region had such strong effects on AMF communities suggests that climate change effects may potentially have a stronger impact than land use change to avocado plantations on AMF diversity, given that local climatic changes are expected for the study area. These results draw new lines and research issues and raise several new hypotheses to be tested. They are also potentially relevant to other regions of the world with similar dynamics of recent deforestation and land use change, especially in

---

**CAMPUS MORELIA**

Apartado Postal 27-3 (Santa Ma. De Guido), 58090, Morelia, Michoacán  
Antigua Carretera a Pátzcuaro N° 8701, Col. Ex Hacienda de San José de la Huerta  
58190, Morelia, Michoacán, México. Tel: (443)322.27.04 y (55)56.23.27.04, Fax: (443)322.27.19 y (55)56.23.27.19  
[www.oikos.unam.mx](http://www.oikos.unam.mx)

tropical regions, in which diversity conservation is currently becoming a high priority to maintain ecosystem services.

We have followed the instructions and hope this contribution fits and is well presented but you are welcome to contact me if any other information or materials were necessary.

Sincerely,

The corresponding author: Mayra Elena Gavito

Centro de Investigaciones en Ecosistemas,

Universidad Nacional Autónoma de México.

Apartado Postal 27-3. Santa María de Guido. CP 58090.

Morelia, Michoacán, Mexico.

Tel. +52 443 322 3822, Fax +52 443 322 2719,

E-mail [mgavito@oikos.unam.mx](mailto:mgavito@oikos.unam.mx)

---

**CAMPUS MORELIA**

Apartado Postal 27-3 (Santa Ma. De Guido), 58090, Morelia, Michoacán  
Antigua Carretera a Pátzcuaro N° 8701, Col. Ex Hacienda de San José de la Huerta  
58190, Morelia, Michoacán, México. Tel: (443)322.27.04 y (55)56.23.27.04, Fax: (443)322.27.19 y (55)56.23.27.19  
[www.oikos.unam.mx](http://www.oikos.unam.mx)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7 **Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) communities and land use change: the conversion of**  
8  
9 **temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico**  
10

11  
12  
13 **<sup>1</sup>Cortés-González J.C., <sup>1</sup>Vega-Fraga Manuel, <sup>2</sup>Varela-Fregoso L., <sup>1</sup>Martínez-Trujillo M ,**  
14  
15 **<sup>1</sup>Carreón-Abud Y., Gavito M. E. <sup>3\*</sup>**  
16  
17  
18  
19  
20

21 **<sup>1</sup> Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.**  
22

23 **<sup>2</sup> Hongos y Derivados A.C.**  
24

25  
26 **<sup>3</sup> Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México.**  
27

28 **Apartado postal 27-3. Santa María de Guido. CP 58090. Morelia, Michoacán, México**  
29  
30  
31  
32  
33  
34

35  
36 **\* Corresponding author: Mayra E. Gavito. Centro de Investigaciones en Ecosistemas,**  
37  
38 **Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado postal 27-3. Santa María de Guido.**  
39  
40 **CP 58090. Morelia, Michoacán, México. E-mail: [mgavito@oikos.unam.mx](mailto:mgavito@oikos.unam.mx).**  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

**Abstract**

Increasing habitat degradation and land use change may impact arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) diversity. Temperate forests are being rapidly transformed to avocado plantations in the state of Michoacan, Mexico, the largest producer of avocado in the world. This new pressure adds to traditional conversions to establish low-input maize fields and to the adverse predictions of climate change suggesting high threatening of the temperate forests of this area. We explored the response of species richness and composition of the AMF communities to land use change from temperate forests to avocado plantations and maize fields and examined its relation to management practices. Our results suggest the impact of land use change is greater on the composition than on the richness of AMF. The most important factor altering AMF communities seems to be the geographical region and the change from forest to avocado plantation had minor impacts compared to conversion to maize fields.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi, avocado, diversity, land use change, maize, soil, temperate forest, richness.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7 **Introduction**  
8  
9

10  
11 Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are important contributors to plant diversity and ecosystem  
12 functioning (van der Heijden *et al.* 1998). AMF diversity and distribution can be affected by plant  
13 species composition, soil properties, agricultural practices, environmental conditions and soil  
14 microbiota, but the relative importance of each factor in AMF species composition and  
15 distribution is unknown (Clapp *et al.* 1998) and likely varies depending on the context. Some soil  
16 properties like soil fertility, and especially N and P availability, are well known to influence the  
17 development of mycorrhizal fungi in roots and soil under field conditions (Treseder 2004).  
18 Increasing soil acidity or alkalinity were also found to be detrimental for AMF sporulation in  
19 field soils in Japan (Isobe *et al.* 2007). Soil properties are a result of a combination of the  
20 interactions between plants, microbes, weather conditions, soil parent material and, if applicable,  
21 also human management. However, the actual relation between soil properties and the  
22 distribution of AMF species in field sites is still poorly understood and it is possible to find both  
23 low relation (Hijri *et al.* 2006) or high relation (Carvalho *et al.* 2003) between AMF distribution  
24 and some soil properties.  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44

45 In contrast with developed countries where agricultural land was established hundreds of  
46 years ago and has been in continuous use ever since, developing countries like Mexico still have  
47 a high rate of land conversion from forest to cultivated land (Masera *et al.* 1997). The loss of  
48 biodiversity and soil quality associated to conversion from diverse forests to monoculture  
49 agriculture/horticulture/grassland is well documented (Thompson *et al.* 2009). In the State of  
50 Michoacan, in Central Mexico, avocado plantations began to establish successfully in the  
51 temperate forest regions since the 1950s but, after a sanitary ban to export avocado was removed  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 a few years ago, the avocado region began to expand rapidly and in the past five years it has  
5  
6 encouraged farmers to convert more temperate forest land into more profitable avocado  
7  
8 plantations (INIFAP 2009). Avocado plantations are usually based on monoculture, rarely  
9  
10 intercropped with coffee or grass for cattle grazing, high input of fertilizers and chemicals to  
11  
12 control weeds and pests, and irrigation. This is in contrast with the large diversity found in the  
13  
14 neighboring natural forests that rely on natural soil fertility and rainfall.  
15  
16  
17

18  
19 Land conversion may also accelerate land erosion and degradation as many of the new  
20  
21 plantations are established on steep slopes and the loss of plant diversity may difficult the  
22  
23 encounter of compatible plant-fungus combinations (Sanders *et al.* 1998). In addition to the  
24  
25 current human land use change pressure, modelling exercises of climate change have predicted  
26  
27 that the area covered by temperate conifer-oak forests in Central Mexico, where these new  
28  
29 plantations are continuously spreading, will be substantially reduced by the middle of this century  
30  
31 and is likely to disappear completely later on (Villers & Trejo 1997). The dominant trees of pine-  
32  
33 oak forests in this region are ectomycorrhizal but many of the understory bushes and herbs  
34  
35 belong to families forming arbuscular mycorrhizas (Brundrett 2009). In order to suggest  
36  
37 conservation, restoration and sustainable management practices that preserve ecosystem  
38  
39 functions through a combination of preserved and better managed areas, and awareness of  
40  
41 climate change risks, one of the first important steps is to identify the factors that have the  
42  
43 strongest impact on AMF communities.  
44  
45  
46  
47  
48  
49

50  
51 This study was designed to evaluate the long-term effects of forest conversion to  
52  
53 monoculture plantations and maize fields and the changes originated by management that might  
54  
55 be associated to the richness and distribution of AMF species. We hypothesized that land use  
56  
57 change to monoculture would reduce species richness and that soil organic matter, pH and  
58  
59 available P might be some of the soil properties influencing AMF communities because of the  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 high fertilizer inputs in managed sites and the potential retention of available P in the andosol  
5  
6  
7 soils prevailing in the region.  
8  
9

## 10 11 **Materials and methods**

### 12 13 14 15 16 *Study sites*

17  
18  
19 The study was conducted in two locations (Salvador Escalante and Los Reyes) enclosed in  
20  
21 the avocado growing region in the state of Michoacan in Central Mexico (Fig. 1). Although the  
22  
23 area is located in the tropics, the main original vegetation is temperate *Pinus*, *Pinus-Quercus*, and  
24  
25 *Quercus* forest, because of its altitude and landscape consisting mainly of mountain regions with  
26  
27 valleys. The predominant soils in the region are humic andosols (WRB), sandy loams with low P  
28  
29 availability and high aluminum content (Bárcenas 2002). The main climate in Salvador Escalante  
30  
31 is (A)C(w1)(w), semiwarm subhumid with <5% winter rainfall, intermediate humid, and in Los  
32  
33 Reyes is C(w2)(w) temperate subhumid with <5% winter rainfall, the most humid, both with  
34  
35 mean annual temperatures between 16 and 18°C and 1000-12000 mm rainfall, considered ideal  
36  
37 for avocado production (Gutiérrez-Contreras *et al.* 2010).  
38  
39  
40  
41  
42

43 Los Reyes. Six sites are located in the area of Zacan in the municipality of Los Reyes. All sites in  
44  
45 this area received over 1 m ash deposition from the birth of the Paricutín Volcano in 1943 until it  
46  
47 stopped its activity in 1952. Two *Pinus-Quercus* forests were selected, site A between 19°  
48  
49 33'59.1'' N, 102° 17'43.0'' W, and 19° 34'01.3'' N, 102 ° 17' 45.9'' W, 2219-2235 meters  
50  
51 above sea level (m.a.s.l.) altitude and site B between 19° 34' 25.1'' N, 102° 18' 17.0'' W and 19°  
52  
53 34' 28.9'' N, 102° 18' 21.3'' W, 2237-2250 m.a.s.l. altitude. Both forest sites are small remaining  
54  
55 islands of the original vegetation and show evidence of disturbances such as extraction of wood  
56  
57 for fuel, pine resin and grazing. The two avocado plantations were located A) between 19° 33'  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 20.2'' N, 102° 17' 50.2''W and 19° 33' 17.3'' N, 102° 17' 51.5'' W, 2182- 2198 m.a.s. l. altitude  
5  
6  
7 and B) between 19° 34' 20.9'' N, 102° 18' 17.1'' W, and 19° 34' 16.6'' N, 102° 18' 24.1''W,  
8  
9 2198-2223 m.a.s.l. altitude. The avocado plantation A originated from conversion of forest to  
10  
11 pasture after the volcanic eruption and subsequent use for cattle grazing until 20 years ago when  
12  
13 it was planted with avocado. Avocado plantation B originated from forest conversion to  
14  
15 agricultural field, approximately 40 years ago, mainly for low-input maize cultivation and 25  
16  
17 years ago it was planted with avocado. Both avocado plantations are fertilized with “Triple 16”  
18  
19 (N, P, K) up to five times per year and treated regularly with bordeaux broth (copper sulphate,  
20  
21 lime and water), Mancozep, Benlate, Cypermethrine, Dimethoate and Parathion. Maize site A is  
22  
23 located 19° 34' 09.3'' N, 102°15' 24.66''W, 2386 m.a.s.l. altitude. This plot was originally  
24  
25 covered by forest, which was removed approximately 40 years ago and has been under low-input  
26  
27 agriculture ever since, mainly with maize, and following a common traditional practice of  
28  
29 allowing one year of fallow after each cropping year for soil recovery. Maize site B is located  
30  
31 19° 34' 27.2''N, 102° 14' 09.5'' W, 2394 m.a.s.l. altitude. This site was also originally covered by  
32  
33 forest and was converted to agricultural field approximately 50 years ago, and has been under  
34  
35 similar management as maize site 1, but this site has been cropped more regularly and shows  
36  
37 evidence of soil extraction (which is usually sold to avocado nurseries). Maize fields are fertilized  
38  
39 with 18, 46, 0 (N, P, K), and treated with Cypermethrine, Dimethoate and Parathion, both on  
40  
41 irregular basis depending on the farmers budget. A 30 m x 60 m plot was established within each  
42  
43 site and three parallel 50 m transects with 7-8 m spacing between them were marked. Fifteen soil  
44  
45 samples were taken every 10 m on the transect at 30 cm depth. The 15 samples were kept  
46  
47 separate.  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56

57 Soil pH was measured in a 1:5 soil:water solution. Organic matter content was measured by wet  
58  
59 combustion (Walkley & Black 1946) and P concentration determined as in Bray & Kurtz (1945).  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 Spore propagation pots to assist and confirm species identification were established by mixing  
5  
6 900 g fresh soil and 300 g sterile sand in plastic pots. A mixture of maize, grass, clover and bean  
7  
8 (*Phaseolus vulgaris* L), seeds was sown in the pots as trap plants. Pots were placed in a  
9  
10 greenhouse and watered regularly to field capacity. Additionally pots received 250 ml of a Long-  
11  
12 Ashton nutrient solution every two weeks. Watering was suspended three and a half months later  
13  
14 to induce water stress and stimulate spore production. Soils from propagation pots were stored at  
15  
16 4°C until they were used for spore extraction and identification. Spores were extracted by wet  
17  
18 sieving and decanting (Gerdeman & Nicolson 1963) followed by sucrose centrifugation (Walker  
19  
20 1997). Spores were separated under the stereomicroscope by size and color and mounted on  
21  
22 slides with polyvynillactoglycerol with and without Meltzer reagent, as described by Schenck &  
23  
24 Pérez (1990), for morphological identification. Low abundance species that were not possible to  
25  
26 identify were separated as morphospecies without a name and the rest were identified following  
27  
28 the taxonomical arrangement by Schußler *et al.* (2001). Spores extracted directly from field  
29  
30 samples and from propagation pots were used to complete the AMF species list. The list was used  
31  
32 to calculate Sørensen's similarity index (Magurran 1988), based on presence/absence criteria: the  
33  
34 number of s shared by sites a and b was multiplied by two and divided by the sum of  
35  
36 morphospeciess present in site a and site b. No attempt was made to count the number of spores  
37  
38 per morphotype because it was difficult to ensure species identity from field, usually deteriorated  
39  
40 material and many morphotypes were very similar and could be easily confused with each other  
41  
42 leading to erroneous interpretations on their abundance.  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51

52 **Salvador Escalante.** This study site is located between 19° 24' 48.9" and 19° 24' 52.6" N, 101°  
53  
54 49' 5.0" y 101° 49' 8.9" W, 1850 m.a.s.l., in the municipality of Salvador Escalante in the State  
55  
56 of Michoacán in Central Mexico (Fig. 1). The sampling area was established on the east slope of  
57  
58 the mountain Cerro Las Cortinas, in an area with the original *Pinus-Quercus* forest cover and  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 neighboring 15 year-old avocado (*Persea americana* cv. Hass) plantations derived from  
5  
6 conversion of this forest. Avocado plantations are irrigated and have a density of approximately  
7  
8 100 trees ha<sup>-1</sup>. Plantations older than 10 years are considered mature since trees are fully  
9  
10 productive usually after the first five years, and trees are large enough to form a canopy. Soils are  
11  
12 fertilized in July with 2-4 kg tree<sup>-1</sup> tricalcium phosphate (46% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) and cow manure (80 kg ha<sup>-1</sup>  
13  
14 every two years) and leaves with foliar fertilizer containing 11.5% N, 81% P and 6% K, with  
15  
16 variable dosis depending on tree size. Pesticides (Cypermethrine and copper-based fungicides  
17  
18 mainly) are added routinely to control arthropod and fungal diseases and tillage is used to control  
19  
20 the development of herbaceous weeds and grass. Fifteen 10 x 10 m plots were marked randomly  
21  
22 within 1 ha area located in the forest and in the avocado plantation. One tree was selected and  
23  
24 marked in each plot and a sample was taken from the top 30 cm with a soil borer at 1.5 m from  
25  
26 the stem. Soil samples were processed in the same way as explained for the Los Reyes study site.  
27  
28  
29  
30  
31  
32

33  
34  
35 Salvador Escalante was sampled in the dry and rainy season during one year. Los Reyes was  
36  
37 sampled the dry and rainy season during two years. The species list contains the records from all  
38  
39 sampling dates and propagation pots for each site. The analysis to relate the presence/absence of  
40  
41 species point by point to soil variables was performed using the data for the dry season (the peak  
42  
43 of spore production) of one year for both regions.  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52

### 53 *Statistical analysis*

54  
55 One way ANOVA was used to test for the effects of land use on the soil variables measured with  
56  
57 JMP software version 3.2.2 (SAS, Institute Inc. 1997). Multivariate analyses (Correspondence  
58  
59 Analysis and Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMS)) were used to explore the relationship  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 between the soil properties measured and AMF distribution with presence/absence of the species  
5  
6 using Multivariate Statistical Package (MVSP) version 3.01 (Kovach Computing Services,1998)  
7  
8 and PC-ORD WIN.  
9

## 10 11 12 13 14 **Results and Discussion**

15  
16 The most remarkable result from our study, as confirmed by correspondence and NMS  
17  
18 tests, was the strong effect of the region in shaping the AMF communities. The AMF  
19  
20 communities of Los Reyes (sites A and B within the land use) and Salvador Escalante (site C)  
21  
22 were completely separated in both multivariate tests and the land uses within each region  
23  
24 overlapped (Figure 2 shows grouping by Correspondence Analysis). Also, the soil properties  
25  
26 measured, showed low relation to the distribution of AMF, as observed in avocado orchards from  
27  
28 Israel and U.S.A. by Haas & Menge (1990).  
29  
30  
31

32  
33 We found 39 species based on spore morphotypes (Table 1), with predominance of  
34  
35 species of the genus *Acaulospora* in all sites and *Glomus* species were the second most abundant.  
36  
37 Haas & Menge (1990) and Bárcenas *et al.* (2007) found *Glomus* predominating in the avocado  
38  
39 orchards they examined. Three *Acaulospora* species were also the most ubiquitous species: *A.*  
40  
41 *laevis*, *A. scrobiculata* and *A. spinosa* were found in all sites.  
42  
43  
44

45  
46 Temperate forest sites had the highest species richness but avocado plantations were very  
47  
48 close to them although avocado plantations have been established for more than 15 years in the  
49  
50 three sites sampled. There was still high similarity between the AMF communities of temperate  
51  
52 forest and plantation sites, especially when they were in the same region (Table 2). This might be  
53  
54 explained by the resemblance of the microclimate when plantations have formed a canopy and by  
55  
56 the presence of many herbaceous plants in the understory of plantations, which provides many  
57  
58 alternative hosts for AMF. We have found the same number of understory species per m<sup>2</sup> in  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 temperate forests and plantations (10-12), but the main difference between them is that woody  
5  
6 species, even when small, are not allowed to grow in plantations (Gavito et al. unpublished).  
7  
8 Herbs are allowed in most plantations but are trimmed at the time of harvest to facilitate the  
9  
10 entrance of trucks and the harvest, thereby favouring the presence of annual, fast-cycle weeds,  
11  
12 and highly resistant resprouting species. On the other hand, there are numerous small patches  
13  
14 with forest cover forming part of the avocado plantations as all steep slopes and drainage paths of  
15  
16 the watersheds are usually left with their original forest cover because of the difficulty to access  
17  
18 avocado trees for harvest. These patches and herbaceous plants are likely important sources of  
19  
20 propagules to maintain local diversity. As we have observed in other regions of Mexico, when  
21  
22 land use change to agriculture or pasture still allows the presence of many plant species, species  
23  
24 richness is not so reduced and managed areas with secondary vegetation growth may even have  
25  
26 higher species richness than primary vegetation (Guadarrama *et al.* 2007). The main changes can  
27  
28 be seen in species composition (Gavito *et al.* 2008; Aguilar-Fernández *et al.* 2009).  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35

36 Land use change from forest to maize fields reduced species richness by 50% when  
37  
38 considering all sites of this land use but when comparing between sites of the same region the  
39  
40 similarity of forests and maize fields was high (Table 3). Land use change to maize altered  
41  
42 species composition more than the change to avocado plantation. Weed control is much more  
43  
44 intense in maize fields, there is no irrigation or canopy, and maize soils were the most  
45  
46 impoverished in organic matter and available P, making this land use a larger contrast to natural  
47  
48 vegetation than the one seen in avocado plantations.  
49  
50  
51  
52

53 Both regions are located at least 50 km away from each other, but the sites within each  
54  
55 region were less than 1 km from each other, except for maize fields that were 3 and 7.5 km from  
56  
57 the forests and plantations in the region of Los Reyes. Maize fields were not considered in the  
58  
59 multivariate analysis since we had no maize fields in the Salvador Escalante region to compare  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 against. The climate, although slightly colder in Los Reyes, is not so different and the soils  
5  
6 reported for both regions are andosols. The only information available for soil types is  
7  
8 nevertheless at a very large scale and there are likely local differences in the soils that were not  
9  
10 covered by the few variables we measured. Salvador Escalante forest soils had predominantly  
11  
12 higher soil organic matter and lower pH and available P values than Los Reyes soils but the  
13  
14 spatial variation was so high that many values overlapped and our predictions were not sustained  
15  
16 by our results. P fertilization in particular, which resulted in very high available P values in some  
17  
18 samples of the avocado plantations, had surprisingly low effects on AMF communities. Maize  
19  
20 fields having the lowest available P values, despite being fertilized, had the lowest species  
21  
22 richness. Also, we found less species in both sites C in Salvador Escalante, likely because these  
23  
24 sites were sampled during only one year whereas sites in Los Reyes were sampled for two years.  
25  
26 Our results are in accordance with other studies showing that natural vegetation sites have higher  
27  
28 species richness than managed sites (Cuenca *et al.* 1998; Oehl *et al.* 2003; Lovera & Cuenca  
29  
30 2007; Tchabi *et al.* 2008), but avocado plantations were unexpectedly close to forest sites as other  
31  
32 studies have found that monoculture plantations do not necessarily lead to lower AMF diversity  
33  
34 (Lovelock & Ewel 2005).  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42

43 In the ongoing land use change scenario of the study area, it seems that conversion of  
44  
45 forests to avocado plantation has minimal consequences on the AMF communities but conversion  
46  
47 to maize fields reduced species richness. The fact that the geographical region had such strong  
48  
49 effects on AMF communities suggests that climate change effects may potentially have a stronger  
50  
51 impact than land use change to avocado plantations on AMF diversity, given that local climatic  
52  
53 changes are expected for the study area. Since the geographical region encompasses a complex  
54  
55 set of variation sources, not only those related to climate, several new hypotheses to be tested  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 **Acknowledgements**  
5

6 Thanks to Maribel Nava and Celina Lemus for their technical assistance to perform soil analyses  
7  
8 and to Ilyas Siddique for help with multivariate statistical tests.  
9

10  
11  
12  
13 **References**  
14

- 15  
16  
17  
18 Aguilar-Fernández M, Jaramillo VJ, Varela-Fregoso L, Gavito ME, 2009. Short-term  
19 consequences of slash-and-burn practices on the arbuscular mycorrhizal fungi of a tropical dry  
20 forest. *Mycorrhiza* **19**: 179-186.  
21  
22  
23  
24 Bárcenas A, 2002. *Botánica y Ecología del Aguacate cv Hass en Michoacán*. Universidad  
25 Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Uruapan.  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65
- Bárcenas A, Almaraz C, Reyes L, Varela L, Lara B, Guillén A, Carreón Y, Aguirre S, Chávez A, 2007. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi on avocado orchards in Michoacán. *Proceedings VI World Avocado Congress*, Viña del Mar. ISBN 978-956-17-0413-8.
- Bray RH, Kurtz LT, 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science* **59**: 39-45.
- Brundrett MC, 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition in vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil* **320**: 37-77.
- Carvalho LM, Correia PM, Ryel RJ, Martins-Loucao A, 2003. Spatial variability of arbuscular mycorrhizal fungal spores in two natural plants communities. *Plant and Soil* **251**: 227-236.
- Clapp JP, Helgason T, Daniell TJ, Young JPW, 1998. Genetic Studies of Structure and Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities. In: A. Varma, A, Hock B(Eds.),

1  
2  
3  
4 *Mycorrhiza Structure, Function Molecular Biology and Biotechnology*. 2a ed.). Springer, New  
5  
6  
7 York . pp 202-223  
8  
9 Cuenca G, De Andrade Z, Escalante G, 1998. Diversity of Glomalean spores from natural,  
10  
11 disturbed and revegetated communities growing on nutrient-poor tropical soils. *Soil Biology &*  
12  
13 *Biochemistry* **30**: 711-719.  
14  
15  
16 Gavito ME, Pérez-Castillo D, González-Monterrubio CF, Vieyra Hernández MT, Martínez-  
17  
18 Trujillo M, 2008. High compatibility between the arbuscular mycorrhizal fungi communities and  
19  
20 seedlings of different land use types in a tropical dry ecosystem. *Mycorrhiza* **19**: 47-60.  
21  
22  
23 Gerdemann JW, Nicolson HT, 1963. Spores of micorrhizal endogone species extracted from soil  
24  
25 by wet sieving and decanting. *Transactions of the British of Mycological Society* **46**: 235-244.  
26  
27  
28 Guadarrama-Chávez P, Camargo-Ricalde SL, Hernández-Cuevas L, Castillo-Argüero S, 2007.  
29  
30 Los hongos micorrizógenos arbusculares de la región de Nizanda, Oaxaca, Mexico. *Boletín de la*  
31  
32 *Sociedad Botánica de México* **81**: 133-139.  
33  
34  
35 Gutiérrez-Contreras M, Lara-Chávez MBN, Guillén-Andrade H, Chávez-Bárceñas AT, 2010.  
36  
37 Agroecología de la franja aguacatera en Michoacán, México. *Interciencia* **35**: 647-653.  
38  
39  
40 Haas JH, Menge JA, 1990. VA-mycorrhizal fungi and soil characteristics in avocado (*Persea*  
41  
42 *americana* Mill.) orchard soils. *Plant and Soil* **127**:207-212.  
43  
44  
45 Hijri I, Sýkorová Z, Oehl F, Ineichen K, Mäder P, Wiemken A, Redecker D, 2006. Communities  
46  
47 of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. *Molecular*  
48  
49 *Ecology* **15**: 2277-2289.  
50  
51  
52 INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias), 2009. *Impactos*  
53  
54 *ambientales y socioeconómicos del cambio de uso del suelo forestal a huertos de aguacate en*  
55  
56 *Michoacán*. Publicación especial No. 2. Impresos Luna Flores. México, DF.  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 Isobe K, Aizawa E, Iguchi Y, Ishii R, 2007. Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in  
5  
6 upland field soils of Japan. 1. Relationship between spore density and the soil environmental  
7  
8 factor. *Plant Production Science* **10**: 122-128.  
9  
10  
11 Lovelock C, Ewel JJ, 2005. Links between tree species, symbiotic fungal diversity and ecosystem  
12  
13 functioning in simplified tropical ecosystems. *New Phytologist* **167**:219-228.  
14  
15  
16 Lovera M, Cuenca G, 2007. Diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y  
17  
18 potencial micorrízico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de la gran sabana  
19  
20 Venezuela. *Interciencia* **32**: 108-114.  
21  
22  
23 Magurran A, 1988. *Ecological diversity and its measurements*. Princenton University Press,  
24  
25 Princeton.  
26  
27  
28 Masera O, Ordóñez MJ, Dirzo R, 1997. Carbon emissions from Mexican forests: current situation  
29  
30 and long-term scenarios. *Climatic Change* **35**: 265-295.  
31  
32  
33 Oehl F, Sieverding E, Ineichen K, Mader P, Boller T, Wiemken A, 2003. Impact of land use  
34  
35 intensity on species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystem of Central  
36  
37 Europe. *Applied and Ambient Microbiology*, May pp. 2816-2824.  
38  
39  
40 Sanders IR, Koide RT, Shumway DL, 1998. Diversity and Structure in Natural Communities:  
41  
42 The Role of Mycorrhizal symbiosis. In: Varma A, Hock B. (Eds.). *Mycorrhiza Structure,*  
43  
44 *Function, Molecular Biology and Biotechnology*. 2nd Ed. Springer, New York pp. 571- 593.  
45  
46  
47 Schenck NC, Pérez Y, 1990. Manual for the Identification of VA mycorrhizal fungi. Synergistic  
48  
49 Publications, USA.  
50  
51  
52 Schüßler A, Schwarzott S, Walker C, 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota:  
53  
54 phylogeny and evolution. *Mycological Research* **105**: 1413-1421.  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 Tchabi A, Coyne D, Hountondji F, Lawouin L, Wiemken A, Oehl F, 2008. Arbuscular  
5  
6 mycorrhizal fungal communities in sub-Saharan Savannas of Benin, west Africa, as affected by  
7  
8 agricultural land use intensity and ecological zone. *Mycorrhiza* **18**: 181-195.  
9  
10  
11 Thompson I, Mackey B, McNulty S, Mosseler A, 2009. *Forest Resilience, Biodiversity, and*  
12  
13 *Climate Change. A synthesis of the biodiversity/resilience/stability relationship in forest*  
14  
15 *ecosystems*. Technical Series no. 43, Secretariat of the Convention on Biological Diversity.  
16  
17  
18 Montreal.  
19  
20  
21 Treseder KK, 2004. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus and  
22  
23 atmospheric CO<sub>2</sub> in field studies. *New Phytologist* **164**: 347-365.  
24  
25  
26 Van der Heijden M, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T,  
27  
28 Wiemken A, Sanders IR, 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity,  
29  
30 ecosystem variability and productivity. *Nature* **396**: 69-72.  
31  
32  
33 Villers-Ruiz L, Trejo-Vázquez I, 1997. Assessment of the vulnerability of forest ecosystems to  
34  
35 climate change in Mexico. *Climate Research* **9**: 87-93.  
36  
37  
38 Walkley A, Black IA, 1946. A examination of the Degitjareff method for determining soil  
39  
40 organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*  
41  
42 **37**:29-38.  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

Figure legends

Figure 1. Location of the two study areas within the avocado region in the state of Michoacan in Central Mexico.

Figure 2. Correspondence Analysis plot showing the groupings of the 15 points from each of the pine forest sites A, B and C (PA, PB, PC) and avocado plantation sites (AA, AB, AC). Maize fields were not available in region C (Salvador Escalante) and data on maize were not included in the analyses. The group on the right side shows most point from PA,PB, AA and AB and the group on the left side shows most points from PC and AC. Circles around groupings were drawn by the authors to remark the separation of the regions. Pine and avocado points were not distinguished since they overlapped and did not group within the areas enclosed in the circles.

Table 1

Table 1. List of the species identified from spore morphotypes found in all field and propagation pot samples obtained from forest, avocado plantations and maize fields. X means the morphotype was present and blank means it was absent in the site.

Spore morphotypes	Forest			Avocado			Maize	
	A	B	C	A	B	C	A	B
<b>Acaulosporaceae</b>								
<i>Acaulospora delicata</i>	x	x		x	x			x
<i>Acaulospora denticulata</i>	x	x		x	x		x	x
<i>Acaulospora foveata</i>	x	x			x			
<i>Acaulospora koskei</i>				x				
<i>Acaulospora laevis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Acaulospora rehmsii</i>	x	x		x	x		x	x
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Acaulospora spinosa</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Acaulospora splendida</i>	x	x						
<i>Acaulospora sp 1 yellow</i>	x	x						
<i>Acaulospora sp 2 hialine</i>	x							
<b>Ambisporaceae</b>								
<i>Ambispora leptoticha</i>	x	x		x	x			
<b>Diversisporaceae</b>								
<i>Diversispora spurca</i>	x	x		x	x		x	x
<b>Entrophosporaceae</b>								
<i>Entrophospora infrequens</i>	x		x			x		
<b>Gigasporaceae</b>								
<i>Gigaspora albida</i>	x	x		x			x	x
<i>Gigaspora candida</i>			x			x		
<i>Gigaspora sp 1</i>			x			x		
<i>Racocetra fulgida</i>	x	x		x			x	x
<i>Racocetra gregaria</i>	x				x		x	x
<i>Racocetra verrucosa</i>			x			x		
<i>Scutellospora cerradensis</i>	x	x						
<i>Scutellospora reticulata</i>							x	
<i>Scutellospora scutata</i>			x			x		
<i>Scutellospora sp.1</i>			x			x		
<i>Scutellospora sp.2</i>			x			x		
<b>Glomeraceae</b>								
<i>Glomus clarum</i>			x			x		
<i>Glomus aff. fasciculatum</i>	x	x		x	x			x
<i>Glomus geosporum</i>	x		x	x	x	x		
<i>Glomus microaggregatum</i>	x				x		x	
<i>Glomus mosseae</i>	x	x		x	x		x	
<i>Glomus rubiforme</i>						x		
<i>Glomus sinuosum</i>				x	x			x
<i>Glomus tortuosum</i>	x	x						
<i>Glomus viscosum</i>	x	x	x	x	x	x		
<i>Glomus sp. 1 yellow</i>	x	x						

<i>Glomus</i> sp. 2			x			x		
Pacisporaceae								
<i>Pacispora coralloidea</i>				x	x			
<i>Pacispora scintillans</i>	x	x		x	x		x	
<b>Total species per site</b>	26	20	14	18	18	15	13	12
<b>Unique species to the site</b>	1	0	1	1	0	0	1	0
<b>Total species for the land use</b>	33			30			16	
<b>Unique species to the land use</b>	6			2			1	



Table 2. Similarity indexes based on species presence/absence and species shared between land uses, land uses within a region and between sites under the same land use.

<b>Between land uses all data</b>	<b>Similarity index</b>
Forest-Avocado	0.88
Forest-Maize	0.57
Avocado-Maize	0.65
<b>Between land uses region Los Reyes</b>	
Forest-Avocado	0.74
Forest-Maize	0.68
Avocado-Maize	0.76
<b>Between sites with same land use</b>	
Forest 1-Forest 2	0.86
Forest 1-Forest 3	0.25
Forest 2-Forest 3	0.24
Avocado 1-Avocado 2	0.83
Avocado 1-Avocado 3	0.32
Avocado 2-Avocado 3	0.32
Maize 1-Maize 2	0.72



Figure 1

[Click here to download high resolution image](#)

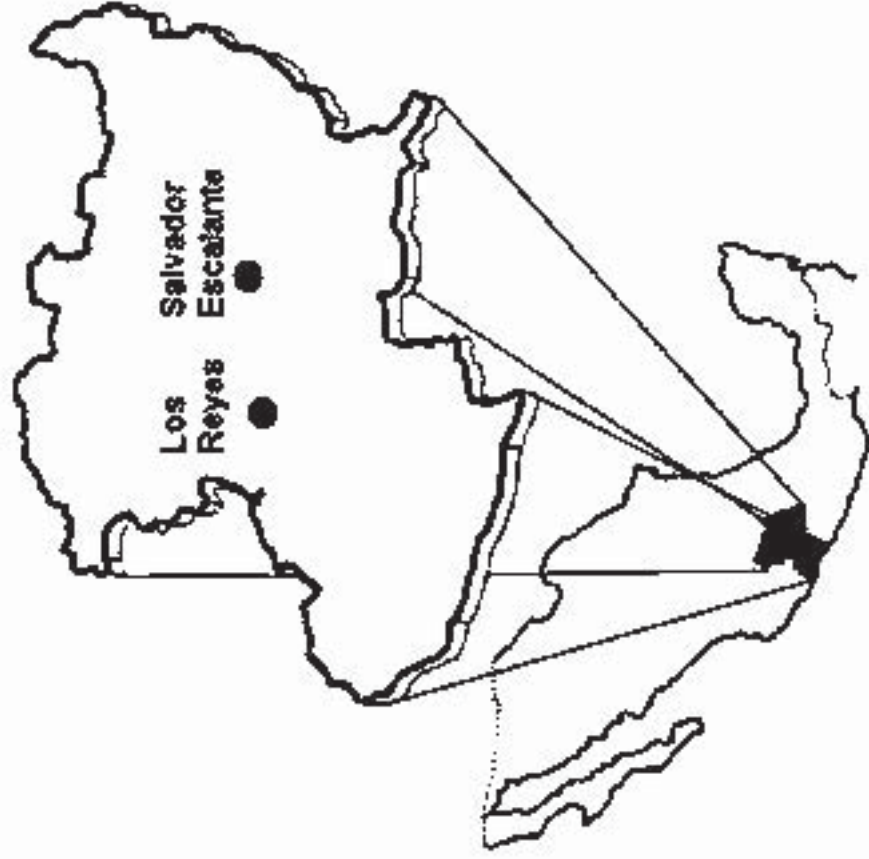


Figure 2  
Click here to download high resolution image

