

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



FACULTAD DE BIOLOGÍA

**Programa Institucional de
Maestría en Ciencias Biológicas**



Área temática: Interacción Planta-Microorganismo-Insecto

**Caracterización de comunidades de hongos micorrízicos arbusculares
en diferentes agroecosistemas de maíz (*Zea mays* L.)**

Tesis

Que como requisito para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Presenta:

Biol. Mónica Alvarado Herrejón

Directores de Tesis:

DraC. Yazmín Carreón Abud

PhD. John Larsen

Morelia, Michoacán, México, Agosto de 2015

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL **LABORATORIO DE GENÉTICA Y MICROBIOLOGÍA** DE LA FACULTAD DE BIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO Y EL **LABORATORIO DE AGROECOLOGÍA** DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD DE LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MÉXICO CAMPUS MORELIA, BAJO LA ASESORÍA DE **LA DRA. YAZMÍN CARREÓN ABUD Y EL DR. JOHN LARSEN**

EL PRESENTE TRABAJO ES UNA CONTRIBUCIÓN AL **PROYECTO “IMPORTANCIA DE LOS MICROBIOS BENÉFICOS DE LA RIZÓSFERA EN LA PRODUCCIÓN SUSTENTABLE DE MAÍZ”** FINANCIADO POR EL **CONACYT**, A TRAVÉS DE LA PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN BÁSICA (SEP-CONACYT2012-179319).

AGRADECIMIENTOS

En este documento les ofrezco mi gratitud y amistad a mis asesores de TESIS: Dra. Yazmín Carreón Abud y Dr. John Larsen, por el tiempo, dedicación y apoyo otorgado en todo el desarrollo de este proyecto.

Al la Dra. Mayra E. Gavito Pardo por compartir sus conocimientos en la identificación de hongos micorrizícos arbusculares y por sus valiosas sugerencias para el trabajo.

A Dr. Mauritz Vestberg por aceptar impartir el taller “Characterization and identification of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) “en Agrifood Research Finland MTT unidad Laukaa, Finlandia.

A Dra. Helena Kahiluoto de Agrifood Research Finland MTT por su conocimiento sobre agroecología.

A la mesa de sinodales Dr. Miguel Martínez Trujillo, Dr. Carlos Alberto Ramírez Mandujano, Dr. John Larsen, Dra. Mayra Elena Gavito Pardo y Dra. Yazmín Carreón Abud.

A los integrantes del laboratorio de Genética y Microbiología de UMSNH que hacían cada día de trabajo agradable.

A los integrantes del laboratorio de Agroecología de IIES que me hicieron sentir bienvenida en su grupo de trabajo.

A la M.C María Gloria Solís Guzmán y M.C María de los Ángeles Beltrán Nambo por compartir sus conocimientos y amistad.

Al Biol. Luis Felipe Ayala Pérez por su ayuda y apoyo incondicional.

A la Biol. Guadalupe Zitlalpopoca Hernández por su apoyo y amistad.

A la M.C. Teresita del Carmen Ávila Val y M.C. Silvia Margarita Carrillo Saucedo por su ayuda y amistad.

A todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron para lograr la culminación de este trabajo.

Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibido de mi familia y amigos.

Al proyecto Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca de manutención otorgada, lo que coadyuvó a realizar este proyecto.

Además al proyecto de redes temáticas de colaboración 2013 por la ayuda financiera para tomar el taller "Characterization and identification of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) impartido por Dr. Mauritz Vestberg en el MTT unidad Laukaa, Finlandia.

Dedicatoria

A mis padres por su amor y apoyo incondicional.

Índice

Índice de figuras.....	<i>i</i>
Índice de cuadros.....	<i>ii</i>
Resumen.....	<i>iii</i>
Abstrac.....	<i>iv</i>
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	3
2.1. El cultivo del maíz.....	3
2.1.1. Características generales e importancia del cultivo.....	3
2.2. Uso de microorganismos en la fertilidad del suelo.....	5
2.3. Simbiosis micorrízica.....	6
2.3.1. Características generales de los HMA.....	6
2.3.2. Taxonomía de los HMA.....	7
2.4. Importancia de los HMA en los agroecosistemas.....	8
3. Hipótesis.....	14
3.1. Objetivo general.....	14
3.2. Objetivos particulares.....	14
4. Materiales y métodos.....	15
4.1. Área de estudio.....	15
4.2. Toma de muestras.....	15
4.3. Determinación de porcentaje de colonización micorrízica.....	16
4.3.1. Tinción de raíces.....	16
4.4. Aislamiento y selección de esporas	18
4.5. Identificación de HMA	19
4.6. Cultivo de maíz en condiciones de invernadero.....	20
5. Resultados.....	22

5.1. Evaluación de la colonización micorrízica.....	22
5.2. Análisis del suelo.....	26
5.3. Correlación entre las características del suelo y HMA.....	28
5.4. Identificación taxonómica.....	30
5.5. Índice de similitud de especies.....	32
5.6 Evaluación de la colonización HMA en condiciones de suelo bajo en fósforo.....	34
5.7. Evaluación del rendimiento vegetal.....	36
6. Discusión.....	38
7. Conclusiones.....	43
8. Literatura citada.....	44

Índice de figuras

Figura.1. Técnica de tinción con azul de Tripano para determinación de porcentajes de colonización.....	18
Figura 2. Diseño de las macetas trampa con plántulas de maíz con suelo bajo en fósforo.....	21
Figura 3. a) Huevos de nematodos y b) nematodos observados en raíces en agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.....	23
Figura 4. Porcentajes de colonización encontrados en agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.	25
Figura 5. Graficas de correlación de porcentajes de colonización total y características del suelo de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.....	29
Figura 6. Distribución de las familias encontradas en los diferentes manejos de agroecosistemas.....	32
Figura 7. Índice de similitud de especies entre los diferentes manejos de los agroecosistemas de maíz.....	33
Figura 8. Porcentajes de colonización total a) encontrados en cada una de las parcelas de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio b) porcentaje de colonización por estado.....	34
Figura 9. Porcentajes de colonización de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio en cada una de las parcelas.....	35
Figura 10. a) Peso seco por parcela, b) Peso seco por estado, c) Diámetro de los tallos por parcela y d) Diámetro del tallo por estado.....	36
Figura 11. Alturas de las plantas en invernadero con inoculo nativo y en suelo estéril durante las 15 semanas.....	37
Figura 12. Altura parte aérea de las macetas trampa semana 15.....	37

Índice de cuadros

Cuadro 1. Estructuras observadas en raíces teñidas con azul de tripano en agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.....	22
Cuadro 2. Valores de p del análisis de varianza para la colonización de raíces con HMA de tres Sitios de producción de maíz y tres etapas de desarrollo vegetativo.....	24
Cuadro 3. Características físicas del suelo en agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio parte 1.....	26
Cuadro 4. Características físicas del suelo en agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio parte 2.....	26
Cuadro 5. Reacción del suelo de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.....	27
Cuadro 6. Extracto de saturación (salinidad-sodicidad) en suelo de manejo intensivo, medio y tradicional	27
Cuadro 7. Fertilidad en suelos de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.....	28
Cuadro 8. Reacciones bases de cambio en suelo de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.....	28
Cuadro 9. Valores de p y r^2 del análisis de correlación entre la colonización de raíces con HMA de tres sitios de producción de maíz y características del suelo de cada uno de los sitios.....	29
Cuadro 10. Morfotipos encontrados en cada una de las parcelas de los diferentes tipos de manejos de agroecosistemas.....	30

Resumen

El tipo de manejo del cultivo de maíz (*Zea mays* L.) tiene una influencia sobre las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) la cual está poco estudiada, a pesar que los HMA pueden proveer beneficios tanto a la planta como al ecosistema. La diversidad y abundancia de HMA en agroecosistemas de maíz responden a las características del suelo y a las diferentes prácticas agrícolas. En este trabajo se evaluó la colonización con HMA de las raíces del maíz provenientes de tres agroecosistemas con diferente manejo (tradicional, medio e intensivo). Las plantas fueron muestreadas junto con suelo rizosférico en tres etapas fenológicas (V6, floración y senescencia). Se aislaron esporas de cada uno de los suelos con diferente manejo para determinar la riqueza de HMA, basada en la identificación morfológica. Además se sembró maíz en macetas usando suelo rizosférico como inóculo de cada uno de los manejos y suelo bajo en fósforo en condiciones de invernadero. Los resultados mostraron que las características del suelo (P, pH, Mg/K, Ca/Mg, % carbonatos, CO₃, Ca) tuvieron una correlación significativa con el porcentaje de colonización en cada uno de los diferentes manejos de los agroecosistemas. Se lograron identificar 34 especies de HMA. La riqueza fue similar entre los manejos no así la composición. Se encontraron cuatro especies en común para los tres diferentes manejos: *Paraglomus ocutum*, *Funneliformis mosse*, *Gigaspora albida* y *Acaulospora splendida* así como especies únicas para cada uno de los diferentes agroecosistemas. Los resultados muestran que las comunidades naturales de HMA son comunes y diversas en un amplio rango de agroecosistemas de maíz con diferentes tipos de manejo y características físico-químicas del suelo. El maíz creciendo en suelo bajo en fósforo, al parecer depende mucho de las comunidades naturales de HMA.

Palabras clave: Hongos micorrízicos arbusculares, maíz, agroecosistemas, manejo agrícola, riqueza.

Abstract

The type of crop management of maize (*Zea mays* L.) affects natural communities of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), but which is still unclear, although AMF may provide benefits for both plant and ecosystem. Diversity and abundance of AMF in maize agroecosystems respond to soil characteristics and farming practice. In this work we evaluated AMF colonization of maize roots from three different agroecosystems management (traditional, medium, and intensive). Plants were sampled along with rhizosphere soil in three phenological stages (V6, flowering and senescence). Spores of each soil with different farm management system were isolated to determine AMF richness, based on morphological spore identification. Also maize was planted in pots using rhizosphere soil as inoculum with a low-phosphorus soil and maize under greenhouse conditions. The results showed that soil characteristics (P, pH, Mg/K, Ca/Mg, %carbonates, CO₃, Ca) correlated significantly with percent AMF root colonization in all of the different management systems. We identified 34 species of AMF. Richness of AMF was similar between management systems but the composition was different. We found four common species for the three different managements: *Paraglomus oculum*, *Funneliformis mosseae*, *Gigaspora albida* and *Acaulospora splendid* as the only AMF species shared in the three management systems. The results show that natural communities of AMF are common and diverse in a broad range of maize agroecosystems differing in management practice and soil physico-chemical characteristics. Maize grown in low P soil seems to be strongly dependent on these AMF communities.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, maize, agroecosystems, farm management, richness.

1. Introducción

El maíz es un cultivo de gran importancia económica, para la alimentación además de su uso como combustible (Hallauer *et al.*, 2010). En México el maíz ha formado parte de la base de la alimentación a través de la historia, es así que gracias a la fuerte demanda de maíz existe suelo destinado para uso agrícola para el cultivo de maíz bajo diferentes sistemas de producción.

En los agroecosistemas uno de los puntos clave dentro de las prácticas agrícolas es mantener la fertilidad del suelo para que los cultivos se desarrollen ciclo tras ciclo del cultivo logrando una mayor producción de buena calidad, lo cual se reflejara en ganancias monetarias para los agricultores. Es para una parte de agricultores el uso de fertilizantes químicos una necesidad imperante para lograrlo debido a las características naturales del suelo.

Sin embargo en el suelo de forma natural se encuentran hongos micorrízicos arbusculares (HMA) que se asocian a las raíces del maíz. Esta simbiosis entre planta y hongo es crucial para la agricultura ya que le provee a la planta P, N, Zn, Cu, Ni, S, Mn, B, Fe, Ca que son necesarios para su nutrición (Allen *et al.*, 2003). Estos beneficios dados a las plantas podrían verse afectados ante una reducción de la diversidad de HMA causada por la selección sobre estos hongos que ejerce el monocultivo en los agroecosistemas (Barrer, 2009).

Los hongos HMA están presentes en el 80% de las plantas terrestres (Lovera *et al.*, 2007). Los HMA son organismos del suelo que viven simbióticamente facilitándole a la planta la toma de nutrientes de baja disponibilidad o de poca movilidad en el suelo dándole ventajas con respecto a las plantas no micorrizadas, como por ejemplo la protección contra factores bióticos y abióticos.

En la actualidad el estudio de los microorganismos del suelo en su propio medio se ha incrementado puesto que la diversidad microbiana está estrechamente relacionada con la estructura y función del suelo (Arias, 2005).

Conocer los integrantes de la comunidad microbiana asociada al cultivo de interés es un aspecto importante para el desarrollo de la agricultura ya que favorece la aplicación de inoculantes sin perjudicar el equilibrio biológico de los suelos (Sora *et al.*, 2009). Lo cual es parte de lograr un manejo integral de la fertilidad de suelo, combinando la acción de los fertilizantes orgánicos o químicos con los microorganismos nativos en el suelo logrando una captación más eficaz de los nutrientes por parte de las plantas de interés (Vanlauwe *et al.*, 2010).

La clasificación taxonómica de los hongos micorrízicos se ha basado primordialmente en las diferencias fisiológicas y morfológicas observables. Los estudios basados en secuencias de rDNA con frecuencia han confirmado especies morfológicamente definidas y los datos moleculares han erigido nuevos géneros y familias, revelando una diversidad considerable de HMA desconocidos (Maistro *et al.*, 2012).

La abundancia relativa y la estacionalidad de HMA en muchas especies de plantas sigue siendo indeterminada (Peterson *et al.*, 2004) siendo esta información relevante para lograr sistemas de producción sostenibles y competitivos al asegurar que los HMA puedan llevar sus funciones benéficas para el cultivo. El papel ecológico de los HMA dentro de los agroecosistemas es información relevante para una agricultura sostenible de menor impacto ecológico.

En este trabajo de tesis se presenta la caracterización de los HMA que se encuentran asociados con las raíces del maíz en sistemas de producción con diferente manejo agrícola, así como el porcentaje de colonización en tres etapas fenológicas del maíz en campo, además de la respuesta del inóculo nativo de cada uno de los diferentes agroecosistemas en condiciones de invernadero ante un suelo bajo en fósforo.

2. Antecedentes

2.1. El cultivo del Maíz

El maíz, *Zea mays* L., es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen. Pertenece a la familia de las Poáceas (Gramineas), tribu Maydeas y es la única especie cultivada de este género. Es una especie única: por la gran diversidad genética de la planta, de la mazorca y del grano; por su adaptación a gran rango de ambientes; por su resistencia a enfermedades e insectos; por su tolerancia a distintos estreses ambientales; por sus múltiples usos como alimento humano o animal y por la gran variedad de productos que se obtienen de esta especie (Paliwal *et al.*, 2001).

México es un país con tradición milenaria del cultivo de maíz y hasta hoy sigue teniendo a dicha gramínea como base alimentaria de la mayoría de su población (Espinosa, 1999). El maíz apareció entre los años 8 000 y 5 000 A.C aunque hay discrepancias respecto a los detalles de su origen. Generalmente se considera que el maíz fue una de las primeras plantas cultivadas por los agricultores que ha evolucionado por selección natural, la selección dirigida por los agricultores-mejoradores durante miles de años y por los mejoradores profesionales en los últimos 150 años (Paliwal *et al.*, 2001).

El maíz es usado en más formas distintas que cualquier otro cereal; las formas principales en que se utiliza es como alimento humano, ya sea doméstico o industrial; alimento para animales y fermentado para varios productos industriales. (Paliwal *et al.*, 2001).

2.1.1. Características generales e importancia del cultivo

El maíz tiene una gran variabilidad en el color del grano, la textura, la composición y la apariencia. Puede ser clasificado en distintos tipos según: a) la constitución del endosperma y del grano; b) el color del grano; c) el ambiente en que es cultivado; d) la madurez, y e) su uso. Los tipos de maíz, más importantes son duro, dentado, reventón, dulce, harinoso, ceroso y tunicado. Económicamente,

los tipos más importantes de maíz cultivados para grano o forraje y ensilaje caen dentro de las tres categorías más importantes (Paliwal *et al.*, 2001).

El grano de maíz, sobre todo el blanco, es un cereal importante para el consumo humano, especialmente en África y América Latina. Es evidente que la demanda de este cereal continuará aumentando en el futuro. La FAO estima que serán necesarias 60 millones de toneladas adicionales en el año 2030. Por otro lado, dado que se espera que el nivel de vida continúe aumentando, sobre todo en muchos países asiáticos, la demanda de maíz como alimento animal también presentará una alta tasa de crecimiento. En este aspecto, la FAO estima que la demanda de maíz para alimentación animal aumentará de los 165 millones de toneladas actuales a 400 millones en 2030, o sea un aumento de 235 millones de toneladas (240%) (Ripusudan *et al.*, 2001). SFA SAGARPA (2011) estima que el aumento del comercio mundial se dará como respuesta a los altos precios y al incremento de la demanda (principalmente pecuaria), las exportaciones y en menor medida, a la producción de etanol.

Para que los productores de maíz obtengan una buena producción es necesario tomar en cuenta el potencial genético de la semilla sembrada y la aplicación de adecuadas prácticas culturales que se deben realizar durante su ciclo vegetativo. Existen agroecosistemas bajo diferentes tipos de manejo, todos con la meta de obtener una mayor producción que se vea reflejado en ganancias económicas. La intensificación, usando aportaciones externas (energías, sustancias químicas que protegen el cultivo, fertilizantes, mejoradores del suelo, incorporación de residuos orgánicos, etc.), ha sido el factor crítico en el agricultura para alcanzar el éxito en la producción de alimentos (Fortis *et al.*, 2003).

El impacto de la tecnología de producción agrícola basada en los principios de la denominada revolución verde, se pueden ver especialmente a nivel ecológico: contaminación de aguas y de alimentos, degradación de suelos y pérdida de flora y fauna, como consecuencia de la sustitución de complejos y variados ecosistemas por extensos monocultivos, a lo que se suman una serie de

graves afecciones en la salud de los productores y técnicos del sector agrícola, como de los consumidores finales de productos procedentes del campo (Yee *et al.*, 2003).

2.2. Uso de microorganismo en la fertilidad del suelo

Un suelo naturalmente fértil es aquel en el que los organismos edáficos van liberando nutrientes inorgánicos, a partir de las reservas orgánicas o minerales, con velocidad suficiente para mantener un crecimiento rápido en las plantas (Wild, 1992).

La actividad microbiana es afectada por variables ecológicas primarias, tales como la densidad y composición de la flora, etapa sucesional y variables secundarias, como las estaciones del año. Dentro de las actividades biológicas del suelo las más importantes están relacionadas con la materia orgánica (MO) y el ciclo de nutrientes, las que permiten detectar, junto con otros parámetros físicos del suelo, cambios tempranos en su bioquímica, grado de compactación de suelos y actividades biológicas producidas por el impacto antrópico (Alvear *et al.*, 2007).

Los organismos del suelo que establecen simbiosis con las plantas son de gran importancia debido a su papel de facilitadores de nutrientes. Estos organismos son usados como biofertilizantes, los cuales constituyen una alternativa a la aplicación de fertilizantes químicos (De Felipe, 2004). Se utilizan diferentes microorganismos con funciones específicas en la agricultura para mejorar la productividad de las plantas. Todos son una fuente facilitadora del manejo de los nutrientes que benefician el funcionamiento de los cultivos, y forman parte de una tecnología que garantiza una productividad biológica, económica y ecológica más exitosa y sin contaminación del ambiente y de inocuidad reconocida para el hombre (Aguirre *et al.*, 2009).

Los microorganismos con efecto benéfico en la planta pueden tener un potencial considerable como agentes de biocontrol y biofertilizantes. Se distinguen tres grandes grupos (a) microorganismos fijadores de nitrógeno, (b) hongos

micorrízicos, (c) bacterias promotoras del crecimiento de plantas (Jiménez *et al.*, 2001).

2.3. Simbiosis micorrízica

La mayoría de las plantas forman asociaciones simbióticas con hongos del suelo. La más común de estas asociaciones es la micorriza del tipo arbuscular, la cual forma simbiosis endotróficas con las raíces de Angiospermas, Gimnospermas, Pteridofitas y Talofitas (Guerrero *et al.*, 1996).

La absorción de nutrientes del suelo por parte de la mayoría de las plantas superiores aumenta notablemente por la presencia natural de hongos micorrizógenos asociados a sus sistemas radiculares (Raven *et al.*, 1992). La importancia de las micorrizas con ciertas especies de vegetales, influye en la economía del fósforo en suelos de baja fertilidad (Orozco, 1980).

La micorriza arbuscular es una simbiosis mutualista que está caracterizada por el movimiento hacia la planta, de nutrimentos minerales adquiridos por el hongo y el flujo hacia el hongo de compuestos carbonados producidos por la planta (Varela *et al.*, 2001). El 80% de las plantas terrestres son capaces de formar micorrizas. Los efectos beneficiosos de las micorrizas arbusculares son bien conocidos, especialmente en la nutrición mineral de las plantas y en la protección contra agentes patógenos del suelo (Lovera *et al.*, 2007).

2.3.1. Características generales de los hongos micorrízicos arbusculares

La interdependencia con las plantas es tan grande que los HMA son organismos biotrofos obligados. Para que se forme una micorriza se requiere que en el suelo exista inoculo del hongo formador de esta asociación (esporas, micelio o trozos de raíz previamente micorrizada); el inoculo puede ser nativo, ya que el hongo es un habitante natural del suelo, o bien producido por el hombre su diversidad y función responde rápidamente a los cambios provocados por el manejo del suelo y rotaciones de cultivos (Douds y Millner, 1999; Jansa *et al.*,

2002; Gosling et al., 2005; plenchette et al., 2005; Mathimaran et al., 2007; Bolaños & Luna, 2007). Sobre los mecanismos de esta simbiosis, se sabe que algunos compuestos secundarios tienen un papel en esta interacción entre la planta y el hongo (Parniskie, 2008; Franken *et al.*, 2012). Los HMA utilizan estrategias similares a los oomicetos para modular la inmunidad innata y reprogramación metabólica de los tejidos del huésped (Doehlemann *et al.*, 2014). Hay evidencias de que algunos exudados y extractos de plantas favorecen la germinación de las esporas de los hongos de micorriza arbuscular (Heredia *et al.*, 2008).

2.3.2. Taxonomía de los HMA

La taxonomía de los HMA hasta finales del siglo pasado se basó solamente en las características morfológicas. Todos los hongos Glomeromycota, excepto un género, son conocidos por formar micorriza arbuscular. Su identificación fue basada en la morfología de las esporas, formación de la espora, y la estructura de la pared de las de las esporas (Shenck & Pérez 1990). Sin embargo, en cuanto las herramientas moleculares se convirtieron en una opción para la construcción de la filogenia, se realizaron análisis taxonómicos que establecieron una nueva taxonomía (Schübler et al 2001). En 1990, sin el beneficio de los aspectos moleculares, los HMA fueron organizados en tres familias (Acaulosporaceae, Gigasporaceae, y Glomeraceae) y seis géneros (Acaulospora, Entrophospora, Gigaspora, Glomus, Sclerocystis, y Scutellospora) dentro del orden Glomerales (Morton & Benny 1990) del phylum Zygomycota. Esta clasificación fue basada en la morfología de las esporas.

Actualmente, se aceptan tres clases (Archaeosporomycetes, Glomeromycetes, and Paraglomeromycetes), cinco órdenes (Archaeosporales, Diversisporales, Gigasporales, Glomerales y Paraglomerales) 14 familias, 29 géneros y aproximadamente 230 especies (Schübler *et al.*, 2001, Oehl *et a.*, 2011).

2.4. Importancia de los HMA en los agroecosistemas

La fertilización, la labranza y la rotación de cultivos alteran las características del suelo que a su vez son los principales factores que afectan los HMA. Existen especies de HMA que responden a los cambios de manejo en los agroecosistemas (Verbruggen y Kiers, 2010). La relación simbiótica entre HMA y la planta puede variar de positiva, neutra o negativa dependiendo de la identidad del hongo, planta huésped y el contexto del medio ambiente tales como la disponibilidad de nutrientes y las prácticas agrícolas (Bever, 2002; Klironomos, 2003; Reynolds et al., 2005; Reynolds et al., 2006; Hoeksema et al., 2010). La respuesta de esta relación simbiótica ante los factores bióticos y abióticos son difíciles de predecir.

Las demandas de maíz para el consumo humano han aumentado gracias al incremento poblacional, a su uso como biocombustible llevando tal demanda a la intensificación de los cultivos. La agricultura convencional implica la entrada de grandes cantidades de fertilizantes que generan excedentes de nitrógeno y fósforo (Beauregard *et al.*, 2008). Además, el fitomejoramiento está presente en el maíz como respuesta a la búsqueda de seleccionar genotipos con altas tasas de producción en campo.

El uso de HMA se ha convertido en una opción para ayudar a la fertilidad de los suelos donde crecen plantas de interés agrícola. Para tal motivo existen inoculantes comerciales. Antunes *et al.*, (2008) estudió la introducción de un inoculante comercial en suelo agrícola donde no se observó efecto en la estructura de la comunidad de los HMA nativos, pero sí un efecto positivo en la nutrición del maíz. Se ha reportado que el nivel de la colonización de los HMA en las plantas de maíz varía en gran medida y continuamente entre los genotipos (An *et al.*, 2009).

El número total de esporas de HMA y la diversidad de especies se ve afectada por, las prácticas comunes en los agroecosistemas que ocasiona, la acumulación de P en el suelo por la fertilización, una baja cantidad de materia orgánica, como resultado de la labranza frecuente a lo largo del tiempo y la falta de cultivos de

rotación (Bhadalung *et al.*, 2005; Gavito & Miller, 1998). Aunque por otro lado se reporta que a pesar del manejo intenso se han encontrado cantidades altas de HMA así como una alta diversidad (Wang *et al.*, 2008) por lo que se ve la necesidad de realizar más estudios.

Se ha encontrado que diferentes especies de HMA originarias del mismo suelo pueden tener diferentes efectos en el crecimiento de la planta hospedera. Como consecuencia es importante evaluar el efecto de los manejos del suelo en la estructura de la comunidad de los HMA y su diversidad (Jansa *et al.*, 2002). Las diferentes prácticas agrícolas como el periodo de barbecho, labranza, rotación de cultivos y aplicaciones de fertilizantes pueden influir en la abundancia de los HMA (Lekberg *et al.*, 2008). La investigación adicional en esta área es necesaria para comprender cómo influyen estas prácticas en el cultivo del maíz (White & Weil, 2009)

Se han realizado estudios de campo para examinar los efectos de las características del suelo y la distancia en las comunidades de HMA en maíz en suelos arcillosos y arenosos. Sus resultados mostraron que la familia Gigasporaceae dominó en los suelos arenosos y la familia Glomeraceae dominó en suelos arcillosos además se dividió aun mas por los niveles de carbono orgánico del suelo y nitrógeno (Lekberg *et al.*, 2007)

Son muchos los factores bióticos y abióticos que pueden intervenir entre esta relación simbiótica. Por ejemplo, las plantas de maíz en simbiosis con HMA sufren un menor estrés en condiciones ácidas del suelo que se refleja en menor reducción de su crecimiento (Gupta & Rautaray, 2005) además de proteger al maíz a bajas temperaturas a través de el mejoramiento de la capacidad fotosintética (Zhu *et al.*, 2009). Las plantas consideradas malezas tienen un papel importante en los cultivos por la relación de competencia entre los HMA nativos del maíz y las malezas para la obtención de nutrientes. Los HMA son capaces de alterar las relaciones de competencia, crecimiento, y el uso de nutrientes. (Daisog *et al.*, 2011). El aumento de la riqueza de especies de plantas en una comunidad

vegetal provoca cambios en la composición de la comunidad asociada de HMA (Burrows & Pflieger, 2002).

La textura de los suelos se ha mencionado como un factor importante a tomar en cuenta, ya que es probable que el alto contenido de arcilla sea un factor determinante de la composición de la comunidad de HMA seleccionando especies tales como *G. intraradices* (Mathimaran *et al.*, 2005). Liu, (2009) investigó la correlación entre la longitud específica de las raíces finas y la colonización de las raíces del maíz con seis HMA en tres tipos de suelo; sus resultados mostraron que los seis HMA asociados al maíz presentan diferentes habilidades en la colonización y el efecto en la longitud de las raíces finas decrece con la colonización pero el tipo de suelo es determinante para esta interacción.

Existen investigaciones para la fitorremediación de suelos contaminados por medio de la utilización de plantas de maíz y las micorrizas asociadas a ellas (Martínez & Carreón., 2015; Chen *et al.*, 2004), así como el efecto de los HMA en la acumulación y el transporte de metales pesados (Sudová & Vosátka, 2007). Sin embargo, a altas concentraciones de Pb, Zn, y Cd en los brotes y Pb en las raíces de maíz inoculadas se reduce la fitoacumulación como una estrategia de protección a la toxicidad de estos metales por parte de los HMA (Liang *et al.*, 2009).

En México como en otras regiones del planeta los suelos para uso agrícola han sido destinados a un solo tipo de cultivo, lo cual tiene un impacto ecológico. Sin embargo no se sabe si la pérdida de agrobiodiversidad en las últimas décadas ha afectado la población de HMA. Negrete *et al.*, (2013) evaluaron el potencial de inoculación de HMA calculando el número más probable (NMP) de propágulos y el nivel de colonización en policultivos de maíz en México; llegaron a la conclusión de que la disminución de la agrobiodiversidad no afecta significativamente el NMP de propágulos, pero puede tener impacto negativo en la capacidad de HMA para colonizar las raíces del maíz.

Ingleby *et al.*, (2007) evaluaron la difusión de los HMA de las raíces de los árboles a las raíces de los cultivos por medio de métodos microscópicos y moleculares en condiciones de invernadero. Este estudio mostró que los árboles pueden actuar como un reservorio de cualquier HMA, pero que las tasas de propagación son lentas.

González *et al.*, (2012) examinaron la influencia del cambio de uso de suelo sobre las comunidades de HMA determinando la riqueza y composición en bosque, huertas de aguacate y parcelas de maíz; la región geográfica obtuvo un mayor impacto sobre las comunidades y el cambio de bosque a huerta de aguacate tuvo un menor impacto en la riqueza de especies comparada con la conversión a parcelas de maíz.

Por medio de las herramientas moleculares es posible ahora determinar la identidad de los HMA como lo hizo Sasvári *et al.*, (2011) donde evaluaron la diversidad de HMA que colonizan las raíces del maíz en un monocultivo con 50 años. Las muestras obtenidas de la colonización de las raíces fueron analizadas mediante la amplificación por PCR y la secuenciación de ADN. De las 257 secuencias que encontraron 203 pertenecían a Glomeromycota. *Glomus* predominó en el monocultivo de maíz, pero la diversidad de HMA dentro de este grupo fue bastante alta, incluso a pesar del tiempo que el suelo ha sido destinado a un monocultivo.

Sánchez *et al.*, (2011) analizaron el gen 18S rDNA, de la comunidad de HMA en las raíces de especies arbustivas representativas en un ecosistema semiárido en el mediterráneo; por medio de PCR-SSCP, secuenciaron y realizaron un análisis filogenético y encontraron 16 filotipos: 14 pertenecientes a la Glomeraceae y 2 a la Diversisporaceae.

Beauregard *et al.*, (2012) estudiaron varias formas de fertilizantes de fósforo orgánico e inorgánicos sobre HMA en un sistema de rotación de maíz y soja. Extrajeron el ADN de la raíz y muestras de suelo de diferentes etapas de

crecimiento de las plantas. Un fragmento de gen ARNr 18S se amplificó y encontraron que las comunidades de HMA son muy estables en el tiempo.

Verbruggen *et al.*, (2012) examinaron si las diferencias en la productividad y la pérdida de nutrientes estaban relacionados con la abundancia y composición de las especies de HMA. Sus resultados indicaron que las comunidades del suelo pueden tener efecto contrastante en la prestación de los servicios del ecosistema pertinentes a los sistemas agrícolas. La densidad y composición de las comunidades de HMA pueden jugar un papel importante en la explicación de la lixiviación de nutrientes y la productividad del maíz.

Bedini *et al.*, (2013) compararon tres formas de manejo de cultivo de maíz: convencional, orgánico y la conversión de manejo convencional a orgánico. Evaluaron el potencial de inoculación de HMA, el porcentaje de colonización de las raíces de los cultivos de campo de maíz y glomalina en el que el manejo orgánico obtuvo valores más altos. El análisis de esporas de los HMA mostró diferencias entre las comunidades de los tres microagroecosistemas en término de riqueza y composición de especies.

El impacto de las diferentes comunidades de HMA en la productividad de la planta y la prestación de los servicios del ecosistema del suelo son sin embargo no de todo claros (Verbruggen *et al.*, 2012). Schipanski *et al.*, (2015) demostró que cuando se mide los servicios del ecosistema y las evaluaciones acumulativas pueden ser engañosas debido a la naturaleza episódica de algunos servicios y la sensibilidad de tiempo.

Jemo *et al.*, 2014 estudió cómo la duración del barbecho afecta la composición de la comunidad de hongos HMA y su contribución para la nutrición y crecimiento, en suelos bajos en fósforo y ácidos encontrando que las comunidades nativas de los campos de maíz con una duración de barbecho más corta estimulaban el crecimiento del maíz y la obtención de fósforo más que las comunidades provenientes de suelo forestal.

Sangabriel-Conde *et al.*, (2015) evaluaron la comunidad fúngica de HMA en cuatro variedades locales de maíz mexicano y un híbrido en condiciones de invernadero y observaron que son influenciadas por el nivel de fertilización con fósforo. Sugieren que la alta diversidad de HMA en milpas se relaciona con la presencia de varias razas criollas de maíz que ante la sustitución por un maíz híbrido, la riqueza de HMA puede disminuir.

3. Hipótesis

La diversidad y abundancia de los HMA en agroecosistemas de maíz responde a las características del suelo y las prácticas agrícolas.

3.1. Objetivo general

Caracterizar los HMA que se encuentran asociados con las raíces del maíz en diferentes etapas fenológicas y sistemas de producción.

3.2. Objetivos particulares

- 1 Evaluar la colonización micorrizica en tres etapas fenológicas en campo de plantas de maíz de los diferentes manejos de agroecosistemas.
- 2 Determinar la influencia de las propiedades físicas y químicas del suelo, sobre la colonización de HMA en campo.
- 3 Identificar las especies presentes y comparar la riqueza en los diferentes agroecosistemas
- 4 Examinar los efectos de inoculo nativo de HMA en un suelo bajo en fósforo sobre la colonización de las raíces con HMA y el rendimiento vegetal del maíz en condiciones de invernadero.

4. Materiales y métodos

4.1. Área de estudio

Las áreas de estudio se encuentran en los estados de Guanajuato, Estado de México y Michoacán. En cada uno de los estados se buscó un área donde se llevara el cultivo de maíz bajo diferente manejo. En el estado de Guanajuato se encontró un área donde el cultivo de maíz es cultivado bajo un manejo intensivo. En el estado de Michoacán se encontró que los sistemas de producción tienen un sistema medio ya que no es 100% orgánico pero tampoco se usa agroquímicos en cada una de las prácticas. En el estado de México se encontró un área donde los agricultores no hacen uso de agroquímicos y tienen prácticas de conservación del suelo; las prácticas que hacen se han conservado a través del tiempo por lo cual le denominamos un manejo tradicional. En cada uno de estos sitios se seleccionaron tres parcelas que fueron representativas del manejo de cada sitio así, como tener homogeneidad en características de tipo de suelo. En el estado de Michoacán se llevó la toma de muestras en tres parcelas en la comunidad de Napizaro, Mich. La parcela 1 con las coordenadas $19^{\circ} 35.926'N$, $101^{\circ}41.303'O$, con 2040 msnm. La parcela 2 con las coordenadas $19^{\circ} 35.906'N$, $101^{\circ}41.313'O$ con 2040 msnm. La parcela 3 con las coordenadas $19^{\circ} 35.988'N$, $101^{\circ}41.807'O$ con 2020 msnm.

4.2. Toma de muestras

Para el muestreo de plantas se seleccionaron tres parcelas de cultivo de maíz de cada sitio, bajo sistemas de producción intensivo (Guanajuato), medio (Michoacán) y tradicional (Estado de México). Los muestreos de las plantas se realizaron durante tres etapas fenológicas del cultivo (V6, floración y senescencia). El primer muestro fue en V6 el cual corresponde al estadio de las seis hojas. El segundo muestreo fue en estadio reproductivo de la planta en la floración. El último muestreo fue en el fin del ciclo de vida de la planta en la senescencia.

Se seleccionaron cinco plantas siguiendo un esquema en forma de cinco de oro en cada una de las parcelas. Las plantas fueron extraídas completas junto con el suelo rizosférico con ayuda de una pala de 20 cm por 20 cm. Las plantas fueron puestas en bolsas de plástico junto con el suelo para su procesamiento en el laboratorio.

Una vez que las muestras estuvieron en el laboratorio se cortaron las raíces de cada planta y se almacenaron a una temperatura de -4°C para su procesamiento. Del suelo rizosférico se tomó una muestra de 50 g que se puso en bolsas de plástico y se almacenaron en refrigeración. El resto del suelo se llevó a secar en condiciones de invernadero, una vez seco se guardó en condiciones de refrigeración para la conservación de las esporas en el suelo.

Para la determinación de las características físicas y químicas del suelo se enviaron muestras de suelo provenientes de cada una de las parcelas al Laboratorio Nacional de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal del INIFAP.

4.3. Determinación de porcentaje de colonización micorrízica

4.3.1. Tinción de raíces

Para la evaluación de colonización micorrízica se utilizaron las raíces de las plantas colectadas en tres diferentes etapas del ciclo del maíz en campo y las raíces de las plantas que crecieron en condiciones de invernadero en suelo bajo en fósforo. Se tomó una muestra de las raíces más delgadas para la observación de la colonización micorrízica mediante la tinción con azul de Tripano (Phillips & Hayman 1970) (Figura.1) después se observaron al microscopio electrónico las estructuras características de esta asociación (Hifas, vesículas, arbusculo, micelio externo y coils) dentro de las raíces.

El procedimiento consistió en obtener las plantas de los distintos sitios procurando el sistema radicular completo. Se lavaron perfectamente las raíces con agua corriente y se eliminó el resto de la planta. Después se cortaron

especialmente las raíces más delgadas. Las raíces fueron colocadas en tubos falcón y conservadas en congelación hasta su tinción.

Para la tinción se cubrieron las raíces con una solución de KOH al 10% en baño maría a una temperatura de media de 90 °C por 25 min o hasta que se aclararon. Posteriormente se lavaron con agua, se colocó agua H₂O₂ hasta cubrir las raíces las cuales se movieron cada 10 min por 30 min o hasta que terminaron de aclararse. Una vez aclaradas se tiñeron con azul de tripano al 0.05% en lactoglicerol a 90 °C en baño maría por 3 min. Se retiró el colorante, se lavó y se colocaron en tubos de 20 ml colonizadores con glicerina para su conservación y posterior montaje.

Se colocaron las raíces clareadas y teñidas en cajas de petri. En un portaobjetos y con pinzas, se colocaron 20 segmentos de aproximadamente 1 cm, en forma paralela y se colocó un cubreobjetos. Se montaron dos laminillas por muestra. Finalmente se determinó el porcentaje de colonización mediante la técnica de McGonigle *et al.* (1990). Para realizar la evaluación se observó al microscopio, donde se efectuaron pasajes equidistantes a cada una de las laminillas. A partir de 100 intersecciones, al revisar un campo óptico donde se encontraba un segmento que contenía hifas, vesículas, arbusculos, micelio externo, independientemente de la intensidad de micorrización se le daba el valor de 1 para un total de 100%.

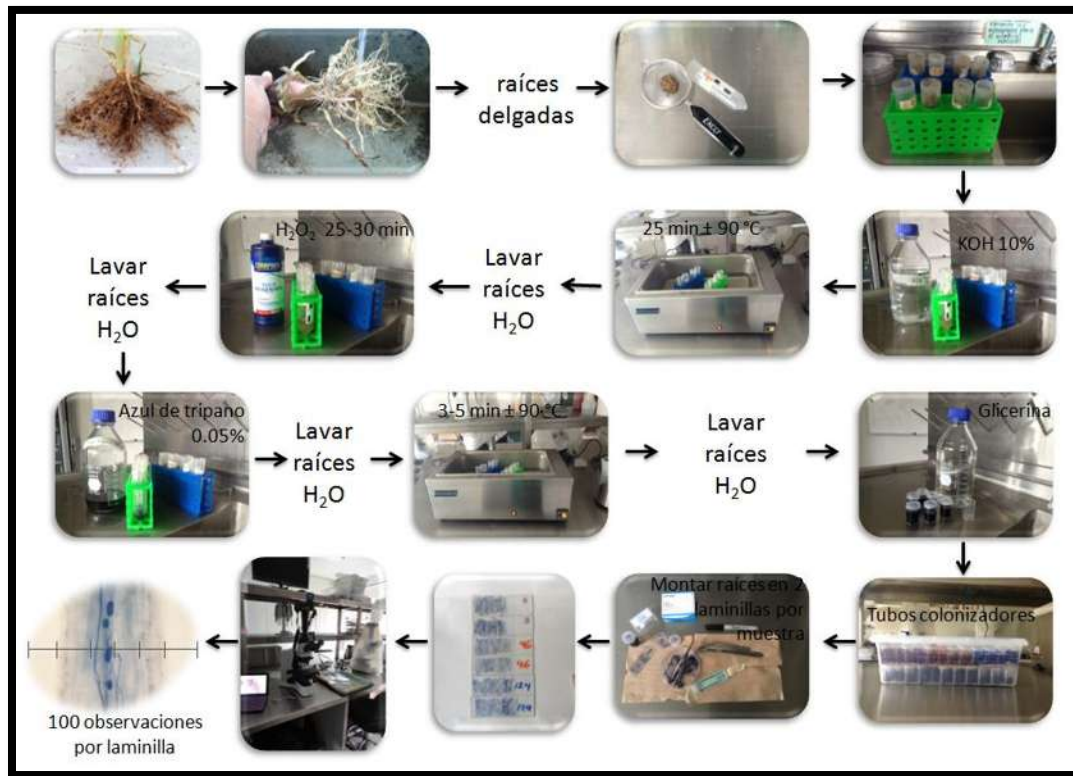


Figura.1. Técnica de tinción con azul de Tripaño para determinación de porcentajes de colonización.

Los resultados fueron reportados como valores promedios y se sometieron a pruebas estadísticas de ANOVA utilizando el programa STATGRAPHICS Plus versión 5.1.

4.4. Aislamiento y selección de esporas

Para el análisis de las poblaciones HMA se aislaron esporas de las muestras de suelo rizosférico extraído de las parcelas de maíz además con la finalidad de obtener esporas en un mejor estado en cantidades suficientes para la identificación se procedió a la elaboración de cultivos trampa mediante el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963), con modificaciones, seguido por centrifugación en gradiente de sacarosa al 40% (Walker 1997). En términos generales, se trata de un método basado en la suspensión de una muestra de suelo en agua corriente pasándola más de dos

ocasiones a través de varios tamices de diámetro descendiente. Se utilizaran tamices con abertura de malla de 1mm, 400 μm y 40 μm para aislar esporas de diversos tamaños. El método de tamizado húmedo y decantación permite la extracción de esporas en alto porcentaje y el método de centrifugación en gradiente de sacarosa mejora la separación de las esporas del suelo y del material orgánico para facilitar el aislamiento e identificación.

Una vez aisladas las esporas con ayuda de un microscopio estereoscópico, las esporas se separaron por morfotipos, en base a tamaño, color, forma y presencia/ausencia de hifas de sostén en tubos ependorff con solución de azida de sodio al 0.05% y mantenidas en refrigeración.

Una vez que las esporas fueron extraídas del suelo directo y de cultivos trampa, se procedió al montaje de las esporas. De cada morfotipo extraído se realizó montaje en reactivos PLVG y PLVG más Melzer para su caracterización morfológica.

4.5. Identificación de HMA

Las esporas fueron utilizadas para la Identificación taxonómica de las especies de HMA que se encontraron en cada una de las parcelas. La identificación se hizo por comparación con la descripción original de las especies basadas en características morfológicas, usando como referencia al Manual para la identificación de HMA (Schenck y Pérez. 1990) además del manual de identificación de INVAM (2015) y Glomeromycota AMF PHYLOGENY (2015). Para la observación de los montajes se utilizó un microscopio compuesto Carl Zeiss, fueron observadas características taxonómicas como: color, tamaño, tipo de pared, número y medidas de la pared, unión de hifa, escudos, ornamentación, reacción al Melzer.

Se realizó toma de fotografías de cada ejemplar identificado. La identificación se realizó con esporas extraídas del suelo rizosférico colectado así

como de esporas extraídas de las macetas de repropagación con lo que se corroboró la identidad de las especies.

Se obtuvo una tabla con las riquezas de especies de cada una de las parcelas de los diferentes manejos. Después se evaluó la semejanza entre especies de HMA en los diferentes agroecosistemas por medio del índice de Sorensen, el cual compara la similitud de dos muestras, este índice varía entre 0 y, entidades sin ningún atributo en común y 1, entidades idénticas (Moreno, 2000). Se define por la expresión:

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

Donde: S= índice de sorencens

a= es el número de especies en comunes

b= el número de especies no compartidas en un sitio

c= el número de especies no compartidas en un sitio

4.6. Cultivo de maíz en condiciones de invernadero

Se llevó a cabo una propagación con el uso de cultivo trampa con plantas de maíz además para observar la eficacia de los HMA en un suelo bajo en fósforo. Para el sustrato se mezcló arena de río y suelo agrícola (proporción 1:1) el cual se esterilizó en dos ocasiones. Se utilizaron macetas de 3 kilos en las cuales se agregaron 2700 g del sustrato estéril más 300 g de suelo proveniente de cada uno de los sitios. La semilla de maíz que se utilizó fue DK2042. Además se fertilizó el suelo con la adición de una fuente de potasio y micronutrientes: solución 1(K_2SO_4), solución 2 ($CaCl_2 \times 2H_2O$) y solución 3($CuSO_4 \times 5H_2O$, $ZnSO_4 \times 7H_2O$, $MnSO_4 \times H_2O$, $CoSO_4 \times 7H_2O$, $MgSO_4 \times 7H_2O$, $Na_2MoO_4 \times 2H_2O$) aplicando 9ml de cada una de las soluciones por maceta, solo durante el establecimiento del experimento antes de sembrar tres semillas de maíz por cada maceta.

Después de la germinación se eligió una planta por maceta con características físicas similares para homogenizar en todas las macetas. El diseño de las macetas consistió en tres macetas por cada parcela de los diferentes manejos de los agroecosistemas del campo además de tres macetas como testigos (Figura.2).El sistema se mantuvo por 15 semanas hasta que la planta llegó a su fase de floración. El sistema se regó cada tercer día a 80% de capacidad de campo y se adicionó NH_4NO_3 a los 22 días, al 2° mes y al 3° mes. No se adicionó ninguna fuente de fósforo en ninguna fase del experimento. Después de la cosecha de las plantas se utilizaron las raíces de las plantas para obtener el porcentaje de colonización, y el suelo rizosférico para recuperar esporas en mejor estado para comprobar la identidad de los HMA.

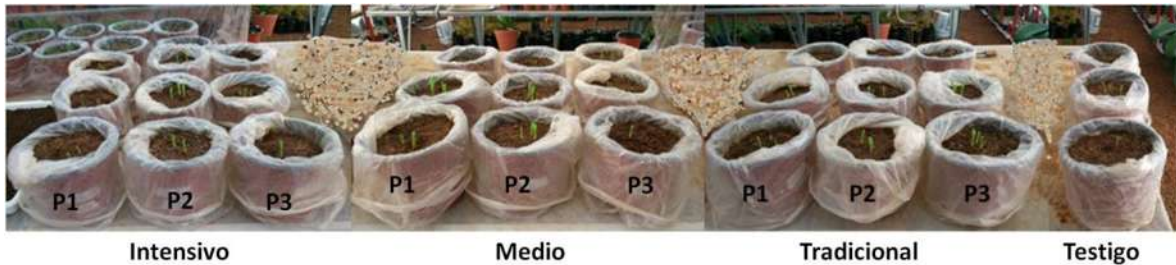


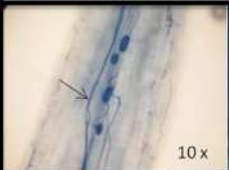
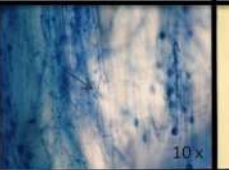
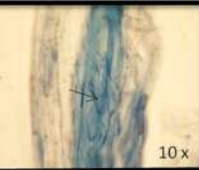
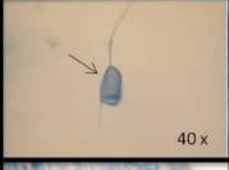
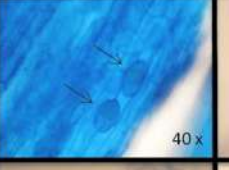
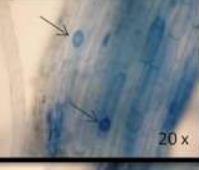
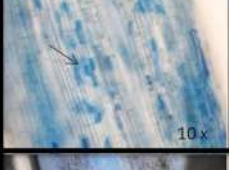

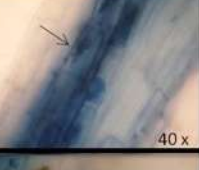

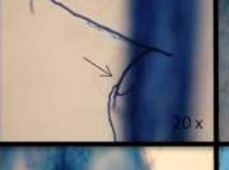

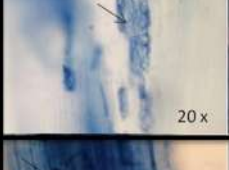
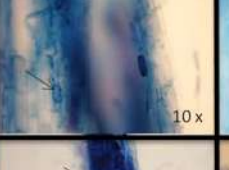
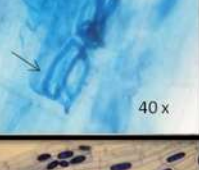
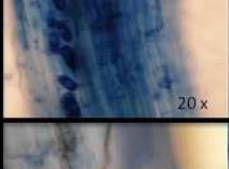
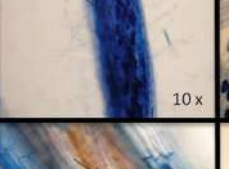
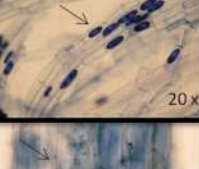



Figura. 2 Diseño de las macetas trampa con plántulas de maíz en suelo bajo en fósforo.

5. Resultados

5.1. Evaluación de la colonización micorrízica

Se realizó la evaluación del porcentaje de colonización micorrízica, por medio de la observación de las estructuras fúngicas en las diferentes etapas fenológicas de la planta en los tres sitios (Cuadro.1).

Cuadro 1. Estructuras observadas en raíces teñidas con azul de tripano en agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.

Estructura	Tradicional	Intensivo	Medio
Hifa			
Vesícula			
Arbúsculo			
Micelio externo			
Coils			
Huevo de nematodo			
Otros hongos			

Se decidió obtener el porcentaje de huevos de nematodos por la frecuencia con que aparecieron en las primeras observaciones de las muestras de la etapa V6. Además se llegó a observar nematodos dentro de las raíces en diferentes muestras de los sitios (Figura. 3 a) y b)).

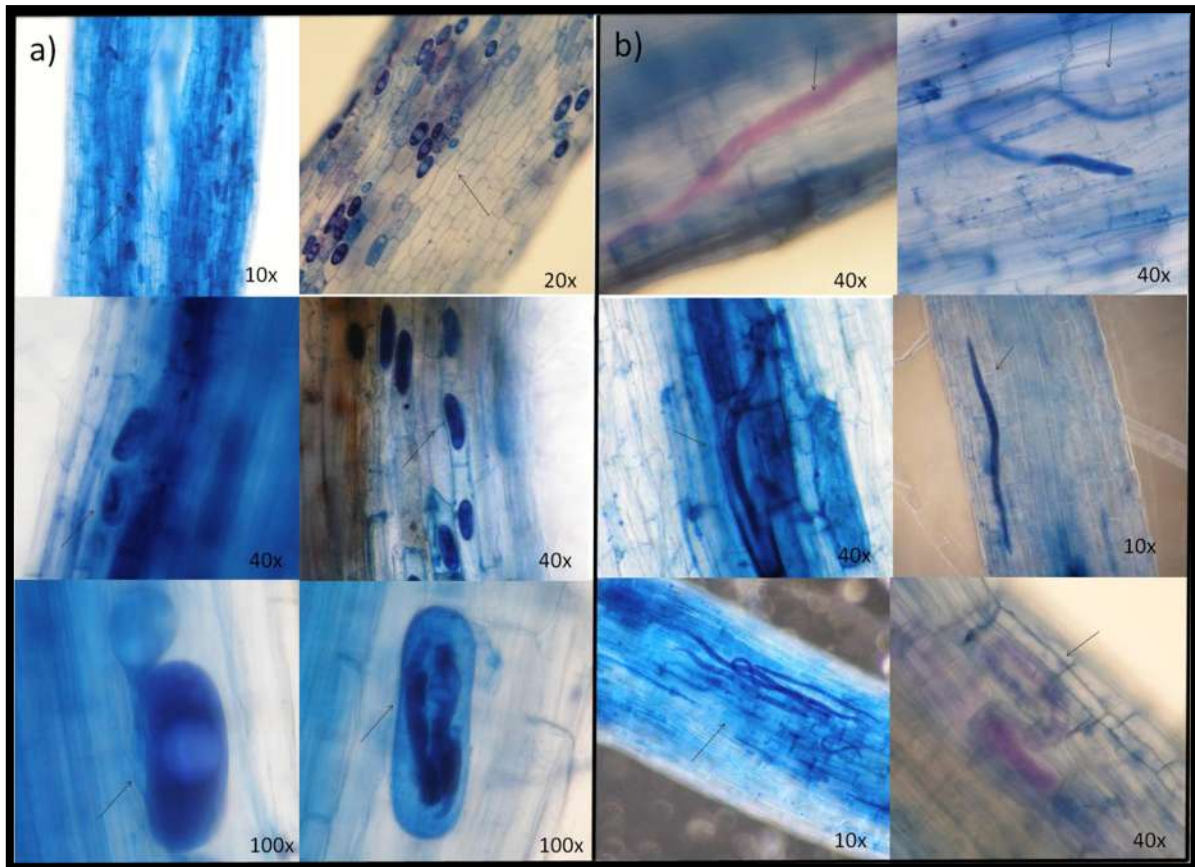


Figura 3. a) Huevos de nematodos y b) nematodos observados en raíces en agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.

Los datos obtenidos se analizaron mediante el paquete estadístico STATGRAPHICS Plus versión 5.1. De acuerdo con los valores presentados en el cuadro 2 se encontraron diferencias significativas para la interacción sitio con etapa en arbusculos, micelio externo, coils, huevos de nematodos y otros hongos. Se encontraron diferencias significativas en sitio en todas las estructuras cuantificadas.

Cuadro 2. Valores de p del análisis de varianza para la colonización de raíces con HMA de tres Sitios de producción de maíz y tres etapas de desarrollo vegetativo. * p ≤0.05.

Variable	Sitio(S)	Etapas (E)	S x E
Colonización total	*	*	0.2703
Hifa	*	*	0.1378
Vesícula	*	*	0.1258
Arbúsculo	*	*	*
Micelio externo	*	0.1107	*
Coils	*	*	*
Huevos de nematodos	*	*	*
Otros Hongos	*	*	*

Se evidenció que los valores más altos de colonización de HMA pertenecieron a muestras de plantas en etapa de floración. El porcentaje de colonización total (55.0%), hifas (40.1%), Vesículas (4.4%), arbúsculos (4.1%) y micelio externo (3.6%) en las muestras pertenecientes al manejo intensivo en etapa de floración siendo estos los valores más altos respecto a los otros sitios y etapas (Figura.4 a, b, c, d, e). En cuanto al porcentaje de coils el valor más alto se presentó en muestras de floración pertenecientes al manejo tradicional (10.6%) (Figura.4 f).

También se observó la presencia de huevos de nematodos (Cuadro 2 y Figura. 2 a) en las muestras de los tres sitios siendo el manejo intensivo el que presento un mayor porcentaje en muestras de etapa V6 (4.0%) (Figura.4g). Además se observó la presencia de otros hongos (18.0 %) (Figura.4 h).

El manejo medio presentó los valores más bajos en varias de las etapas y estructuras observadas como lo fue en colonización total (%), hifas (4.0%), vesículas (0.4 %), arbúsculos (0.0%), micelio externo (0.5%) y coils (2.2%) (Figura.4 a, b, c, d, e y f).

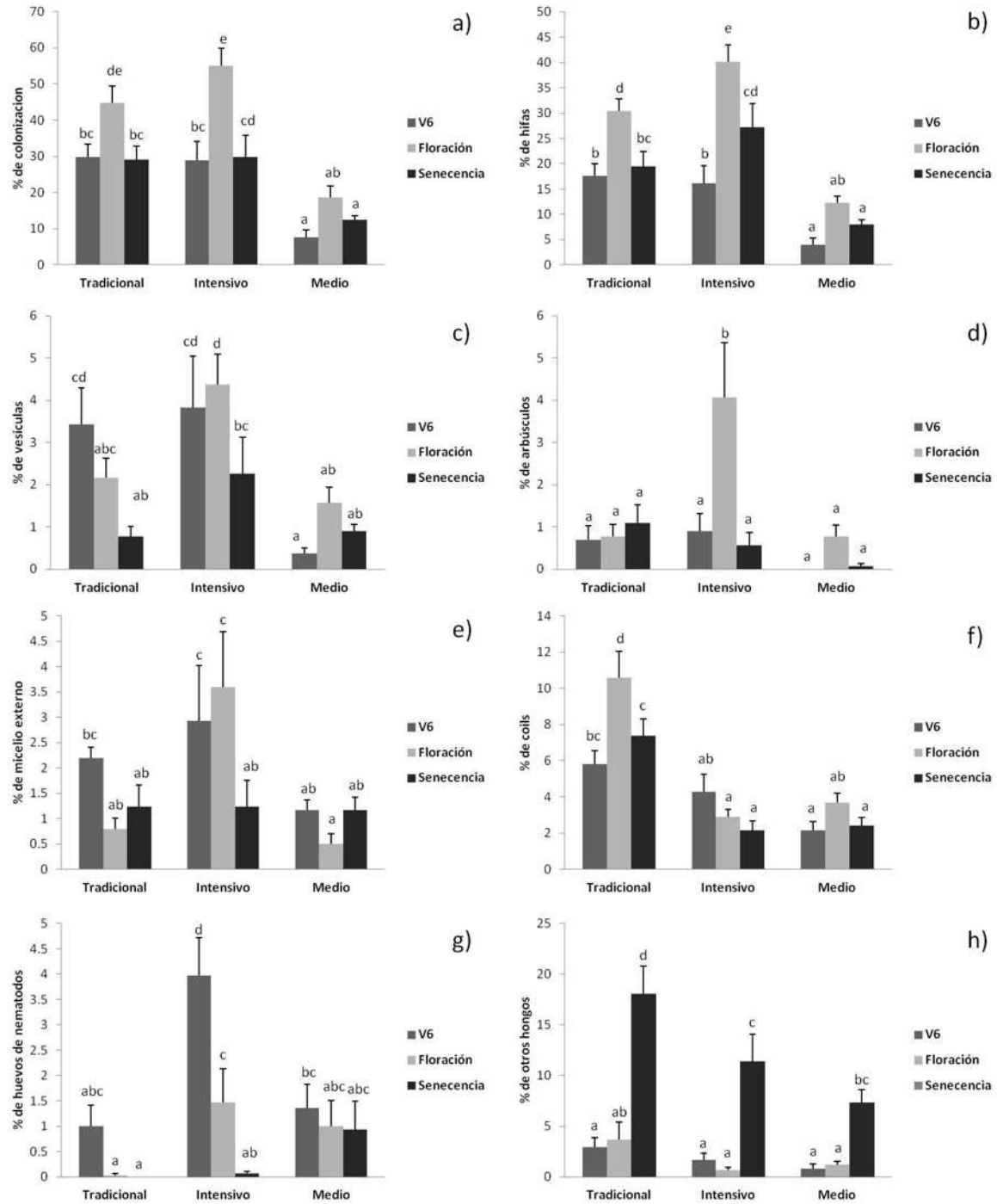


Figura 4. Porcentajes de colonización encontrados en agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio de las diferentes etapas fenológicas del maíz. Letras diferentes indican diferencia significativa entre sitios y etapas fenológicas ANOVA ($p \leq 0.05$)

5.2. Análisis del suelo

Los análisis del suelo mostraron que existen diferencias entre los diferentes sitios en la variedad de parámetros medidos (Cuadro. 3, 4, 5, 6, 7, 8). El tipo de suelo en las parcelas de manejo medio (Michoacán) fueron homogéneos no siendo así entre las parcelas de los manejos intensivo (Guanajuato) y tradicional (Estado de México) (Cuadro. 3 y 4). Los resultados de pH muestran que las parcelas del manejo medio y tradicional presentan pH ácidos (Cuadro 5).

Cuadro 3. Características físicas del suelo de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio parte 1.

Manejo	Parcela	Características físicas del suelo						
		Tipo de suelo	Punto de saturación	Capacidad de campo	Punto de march perm	Capacidad de campo	Cond Hidráulica	Densidad aparente
Intensivo	1	Franco arcillo arenoso	29 %	22%	11%	22%	N/D	1.19 g/cm ³
	2	Franco arcillo arenoso	64%	48%	25%	48%	ND	1.20 g/cm ³
	3	Arcilla	48%	36%	19%	36%	N/D	1.26 g/cm ³
Medio	1	Franco	54%	41%	21%	41%	ND	1.13 g/cm ³
	2	Franco	56%	42%	22%	42%	ND	1.06 g/cm ³
	3	Franco	48%	36%	19%	36%	ND	1.10 g/cm ³
Tradicional	1	Franco arenoso	50%	38%	20%	38%	ND	1.18 g/cm ³
	2	Franco arenoso	51%	38%	20%	38%	ND	1.15 g/cm ³
	3	Franco arcillo arenoso	47%	35%	19%	35%	ND	1.17 g/cm ³

Cuadro 4. Características físicas del suelo de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio parte 2.

Sitio	Parcela	Características del suelo			
		% Arena	% Arcilla	% Limo	Punto de saturación
Intensivo	1	0.5676	0.239	0.1928	0.29
	2	0.6476	0.299	0.528	0.64
	3	0.3476	0.459	0.1928	0.48
Medio	1	0.618	0.249	0.3528	0.54
	2	0.578	0.229	0.3528	0.56
	3	0.498	0.269	0.3328	0.48
Tradicional	1	0.398	0.1092	0.2728	0.5
	2	0.418	0.08	0.3328	0.51
	3	0.398	0.289	0.2128	0.47

Cuadro 5. Reacción del suelo de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.

SITIO	PARCELA	REACCIÓN DEL SUELO			
		pH (1:2 agua)	pH (1:2 CaCl ₂)	% Carbonatos totales	Requerimientos de cal
Intensivo	1	6.79	ND	0.12	No req
	2	7.1	ND	3.05	No req
	3	7.04	N/D	0.85	No req
Medio	1	5.44	ND	0.01	1.5 ton/Ha
	2	4.96	ND	0.01	1.5 ton/Ha
	3	5.08	ND	0.01	1.5 ton/Ha
Tradicional	1	5.91	ND	0.01	No req
	2	5.92	ND	0.01	No req
	3	6.16	ND	0.01	No req

Cuadro 6. Extracto de saturación (salinidad-sodicidad) de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.

Sitio	Parcela	Extracto de saturación (Salinidad-sodicidad)									
		Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺	K ⁺	PO ₄	CO ₃	HCO ₃	Cl ⁻	SO ₄	N-NO ₃
Intensivo	1	23.3	16.2	6.52	2.3	0	0.8	3.67	17.5	26.5	0
	2	3.78	2.99	1.78	0.4	0	1.08	1.24	1.58	6.81	0
	3	0.9	0.7	0.6	0.07	0	1	0.26	1.06	0.77	0
Medio	1	1.04	0.6	0.52	0.02	0	0.32	0.2	0.7	1.04	0
	2	1.24	1.11	0.56	0.01	0	0.01	0.42	0.35	2.41	0
	3	1.3	1.25	0.52	0.01	0	0.28	0.22	0.7	1.41	0
Tradicional	1	0.7	0.74	0.52	0.01	0	0.32	0.18	0.67	0.57	0
	2	0.44	0.32	0.56	0.01	0	0.28	0.02	0.72	1.02	0
	3	1	1.95	0.82	0.02	0	0.36	0.24	0.68	1.01	0

Los resultados en los diferentes indicadores principales en la fertilidad como lo son N, P y K en los diferentes sitios nos deja ver que en las parcelas de manejo intensivo se concentraron los valores más altos esto sugiere que el manejo intensivo se preocupa por la aplicación de agroquímicos para cuidar la fertilidad del suelo. La materia orgánica es mayor en el Estado de México como se esperaba al tener un manejo tradicional ya que es común la incorporación de materia orgánica como fuente de nutrientes para los suelos de las parcelas y así aumentar su fertilidad (Cuadro.7).

Cuadro 7. Fertilidad en suelos de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.

Sitio	Parcela	Fertilidad										
		MO %	N-inorg ppm	P-Bray ppm	K ppm	Ca ppm	Mg ppm	Na ppm	Fe ppm	Zn ppm	Mn ppm	Cu ppm
Intensivo	1	1.96	22.5	124	1254	2388	628	201	54.2	2.13	107	2.15
	2	2.45	23.9	4.81	687	8751	510	192	3.00	0.24	7.74	0.76
	3	1.51	14.8	9.35	772	3162	785	72.6	17.8	0.43	35.6	1.60
Medio	1	2.21	9.15	13.9	105	1630	491	34.8	15.6	0.48	5.89	0.67
	2	2.04	14.8	32.2	66.7	1346	383	27.7	106	1.39	37.2	1.68
	3	2.15	12	34.8	102	1264	273	32	110	1.85	33.6	1.95
Tradicional	1	2.82	13.4	7.08	140	1307	134	32.2	66.9	1.02	3.26	0.50
	2	2.73	12.7	2.21	211	1338	221	31.7	67.7	1.27	3.54	0.48
	3	2.02	12.0	7.69	313	1043	457	29.6	73.9	1.26	14.8	1.57

Cuadro 8. Reacciones bases de cambio en suelo de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio.

Sitio	Parcela	Relaciones bases de cambio			
		Ca/Mg	Mg/K	Ca+Mg/K	Ca/K
Intensivo	1	2.31	1.6	5.31	4
	2	10.5	2.38	27.3	25
	3	2.46	3.26	11.3	8
Medio	1	2.03	14.9	45.1	30
	2	2.14	18.5	58.1	40
	3	2.82	8.62	32.9	24
Tradicional	1	5.95	3.06	21.2	18
	2	3.7	3.35	15.7	12
	3	1.39	4.69	11.2	7

5.3. Correlación entre las características del suelo y HMA

Se buscó si se encontraba correlación entre la colonización total y las diferentes características del suelo en los diferentes sitios. El resultado de las correlaciones mostró una correlación negativa entre el porcentaje de colonización y la cantidad de P y Mg/K, donde a mayor cantidad de P y Mg/K en el suelo disminuyó la colonización. Además, se encontró una correlación positiva entre el porcentaje de colonización y carbonatos totales, pH, Ca, CO₃, Ca/Mg (Cuadro 9, Figura 5).

Cuadro 9. Valores de p y r^2 del análisis de correlación entre la colonización de raíces con HMA de tres Sitios de producción de maíz y características del suelo de cada uno de los sitios. * $p \leq 0.05$.

	pH	P	Ca	CO ₃	Mg/K	Ca/Mg	Carbonatos totales
R²	0.5721	0.667	0.4405	0.042	0.4855	0.5575	0.4711
p	0.0183	0.0134	0.0513	0.0591	0.037	0.0208	0.0412

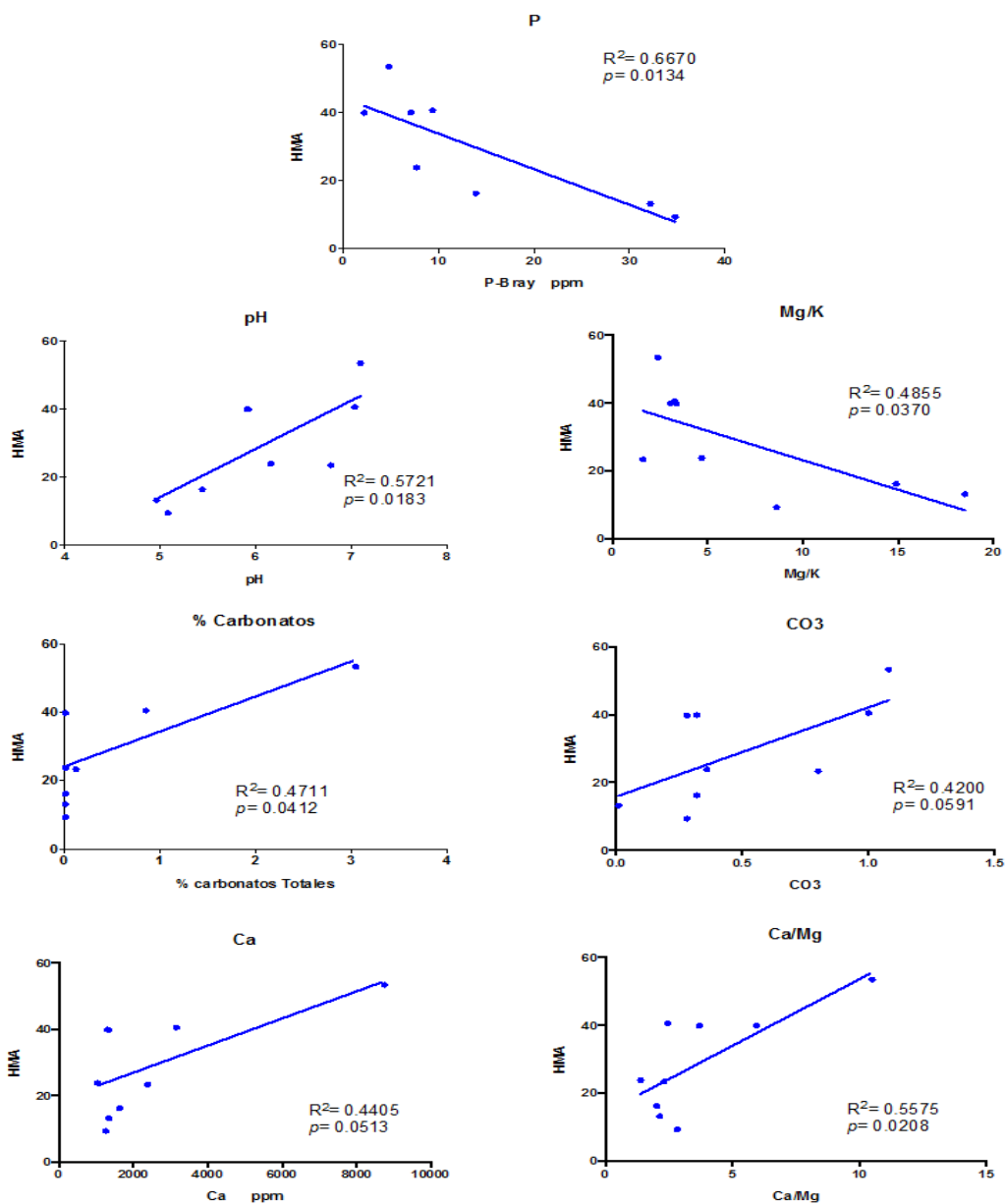


Figura 5. Graficas de correlación de porcentaje de colonización total y características del suelo de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio $p \leq 0.05$.

5.4. Identificación taxonómica

Como resultado de la extracción de esporas, se identificaron 27 morfotipos a nivel de género y especie, además de 7 solo a nivel de género para hacer un total de 34 especies diferentes en las siguientes familias: *Gigasporaceae* con 10 especies, *Glomeraceae* con 9 especies, *Acaulosporaceae* con 7 especies, *Diversisporaceae* con 3 especies, *Claroideoglomeraceae* con 2 especies, *Pacisporaceae* con 1 especie, *Paraglomeraceae* con 1 especie, *Ambisporaceae* con 1 especie, haciendo un total de 34 especies encontradas en todos los sitios (Cuadro 10).

Cuadro 10. Morfotipos encontrados en cada una de las parcelas de los diferentes tipos de manejos de agroecosistemas.

No.	Nombre	Tradicional			Intensivo			Medio		
		Parcela 1	Parcela 2	Parcela 3	Parcela 1	Parcela 2	Parcela 3	Parcela 1	Parcela 2	Parcela 3
1	<i>Acaulospora laevis</i>	X		X						
2	<i>Paraglomerus oculatum</i>	X	X	X	X			X		
3	<i>Funnelformis mosse</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X
4	<i>Glomus sp.1</i>	X	X							
5	<i>Clareidoglomerus aff. claroideum</i>	X	X	X						
6	<i>Acaulospora delicata</i>	X		X			X			
7	<i>Acaulospora spinosa</i>	X						X	X	X
8	<i>Acaulospora scrobiculata</i>		X					X	X	X
9	<i>Gigaspora albida</i>		X	X	X				X	
10	<i>Gigaspora aff. albida</i>								X	X
11	<i>Acaulospora splendida</i>		X	X	X				X	
12	<i>Funnelformis geosporum</i>		X		X					
13	<i>Scutellospora cerradensis</i>			X						
14	<i>Scutellospora dipurpurences</i>			X				X	X	
15	<i>Ambispora leptoticha</i>			X						
16	<i>Clareidoglomerus lamellosum</i>			X						
17	<i>Acaulospora remmi</i>			X					X	
18	<i>Diversispora aff. tortuosa</i>				X					
19	<i>Rhizofagus irregularis</i>				X	X	X	X	X	X
20	<i>Rhizofagus clarus</i>				X					
21	<i>Diversispora spurca</i>				X			X	X	
22	<i>Gigaspora margarita</i>				X	X	X			
23	<i>Gigaspora decipiens</i>					X	X		X	X
24	<i>Gigaspora aff. decipiens</i>							X	X	X
25	<i>Diversispora sp.1</i>					X				
26	<i>Gigaspora sp.1</i>						X			
27	<i>Scutellospora calospora</i>						X	X	X	X
28	<i>Racocetra gregaria</i>						X			
29	<i>Funnelformis sp.1</i>							X		
30	<i>Pacispora aff. franciscana</i>							X	X	X
31	<i>Rhizofagus amarillo</i>							X		
32	<i>Funnelformis aff. coronatum</i>							X		
33	<i>Acaulospora amarilla</i>									X
34	<i>Glomus hifa recta</i>									X
No. De especies		7	8	12	10	5	8	13	14	11
		16			16			20		

La riqueza de especies fue igual para los agroecosistemas de manejo tradicional e intensivo con 16 especies en cada uno de los agroecosistemas. Para el manejo medio, la riqueza fue superior con 20 especies. Sin embargo por parcelas la riqueza mínima encontrada fue de 5 especies en la parcela 2 del manejo intensivo y la riqueza mayor se encontró en la parcela 2 de manejo medio con 14 especies (Cuadro 10)

Se encontraron 4 especies en común para los tres diferentes manejos que fueron; *Paraglomus oculum*, *Funneliformis mosse*, *Gigaspora albida* y *Acaulospora splendida*. La especies encontradas en el agroecosistema con manejo tradicional de las 16 especies 6 son únicas 4 son compartidas con el manejo medio, 2 con el manejo intensivo. En el agroecosistema de manejo intensivo 6 son especies únicas, 4 son compartidas con el manejo medio y 2 con el manejo tradicional. El manejo tradicional tiene 8 especies únicas, 4 compartidas con manejo tradicional y 4 con manejo intensivo (Cuadro 10).

En la distribución de las familias (Figura 6), se encontró que la familia con mayor número de especies en los tres tipos de agroecosistemas es *Gigasporaceae* seguido por *Glomeraceae* y *Acaulosporaceae*, siendo estas tres familias las más importantes en los tres tipos de manejo de los agroecosistemas encontradas. En el manejo tradicional la familia dominante fue *Acaulosporaceae*, en el manejo medio existió un empate entre las familias dominantes siendo *Glomeraceae* y *Gigasporaceae* las dominantes, en el manejo intensivo la familia dominante fue *Gigasporaceae*.

También se encontraron representantes de las familias *Diversisporaceae*, *Claroideoglomeraceae*, *Paraglomeraceae*, *Pacisporaceae* y *Ambisporaceae*. Es de notarse que no se encontraron especies de las familias *Geosphonaceae* y *Archaesporaceae*.

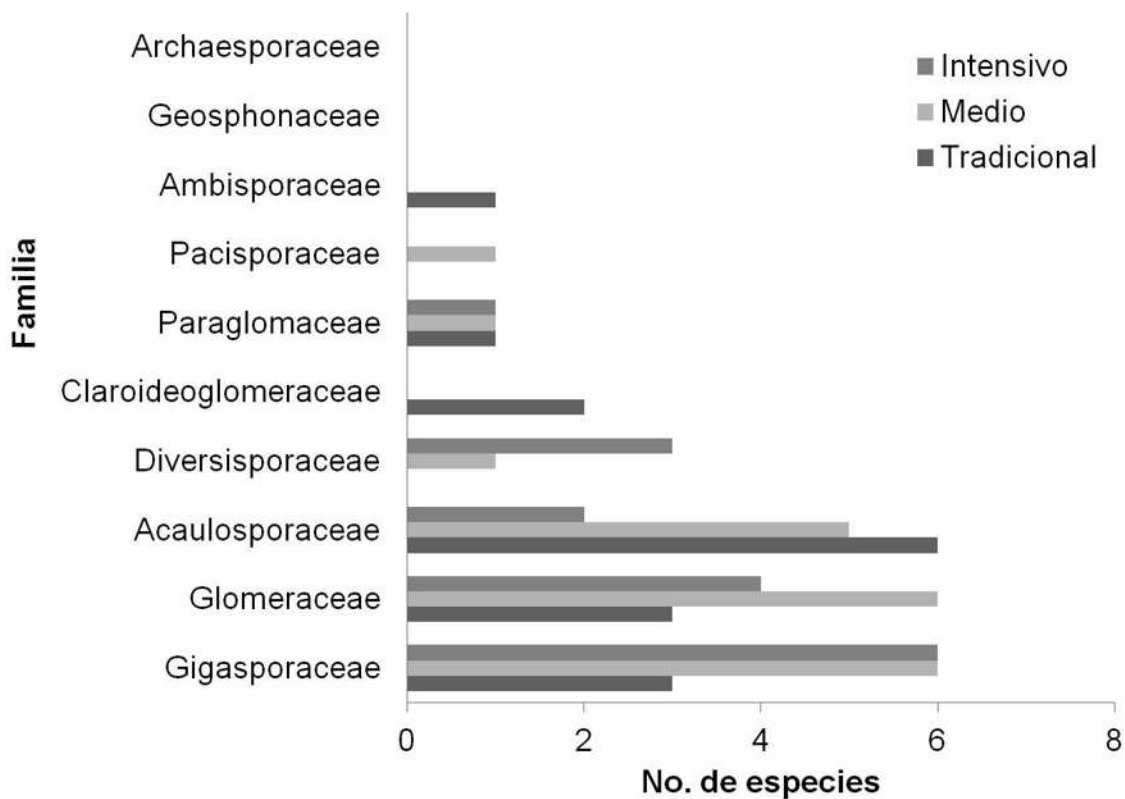


Figura 6. Distribución de las familias encontradas en los diferentes manejos de agroecosistemas.

5.5. Índice de similitud de especies

Respecto al índice de similitud de especies obtenido entre los diferentes manejos de los agroecosistemas (Figura 7), se encontró que los agroecosistemas son diferentes entre ellos, el manejo intensivo comparándolo con el intensivo obtuvo 0.37 lo cual muestra que estos agroecosistemas son los más diferentes.

El manejo medio en cambio aunque es diferente a los otros dos manejos de los agroecosistemas tiene la misma diferencia, como resultado de que comparte la misma cantidad de especies pero no las mismas con los otros dos manejos de agroecosistemas.

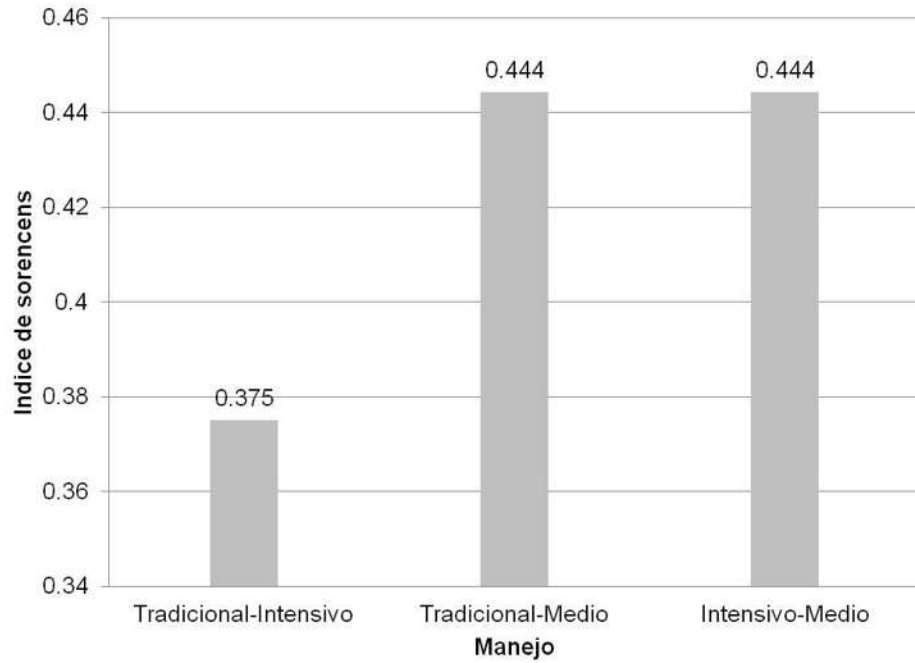


Figura 7. Índice de similitud de especies entre los diferentes manejos de los agroecosistemas de maíz.

5.6. Evaluación de la colonización HMA en condiciones de suelo bajo en fósforo

Se consideró la obtención del porcentaje de colonización de las macetas trampa que se utilizaron para la repropagación de esporas tomando en cuenta que el suelo que se utilizó era bajo en fósforo. La Figura 8 muestra que el testigo no tenía colonización HMA. El manejo tradicional fue el sitio con menor porcentaje de colonización total (49%).

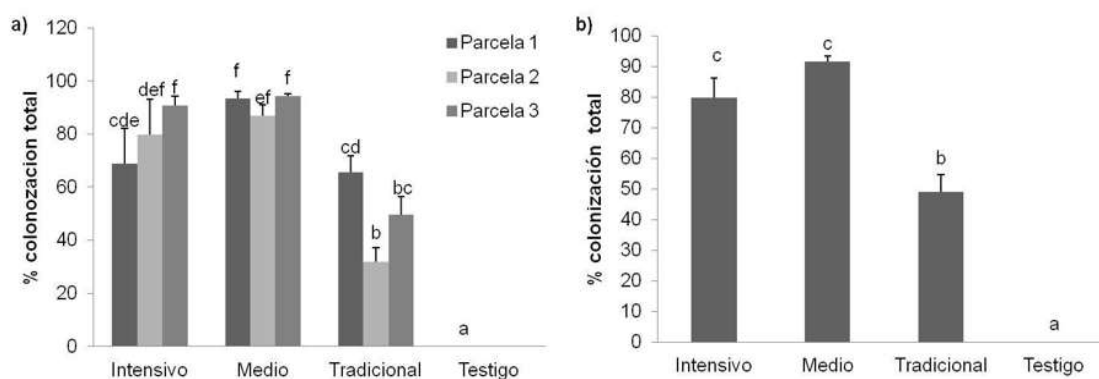


Figura 8. Porcentajes de colonización total a) encontrados en cada una de las parcelas de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio. b) porcentaje de colonización por estado. Letras diferentes indican diferencia significativa entre sitios y etapas fenológicas ANOVA ($p \leq 0.05$).

En las raíces de los diferentes sitios se pudo observar menor cantidad de hifas (14%) y vesículas (5%) en la parcela 3 del manejo tradicional (Figura 9 a, b). Se observaron muy pocos arbusculos (Figura 7 c). La parcela 2 del manejo tradicional fue donde se obtuvo el valor más alto de coils (11.5%) (Figura 9 d). El micelio externo se observó más en las muestras provenientes del manejo medio (6.1%) mientras que el manejo intensivo y tradicional obtuvieron valores de (0.3 % - 0.6 %) (Figura 9 e). La observación de otros hongos fue también registrada, se encontró que la parcela 3 de manejo tradicional presentó 5.8 % en contraste en la parcela 3 de manejo medio no se observaron otros hongos (Figura 9 f).

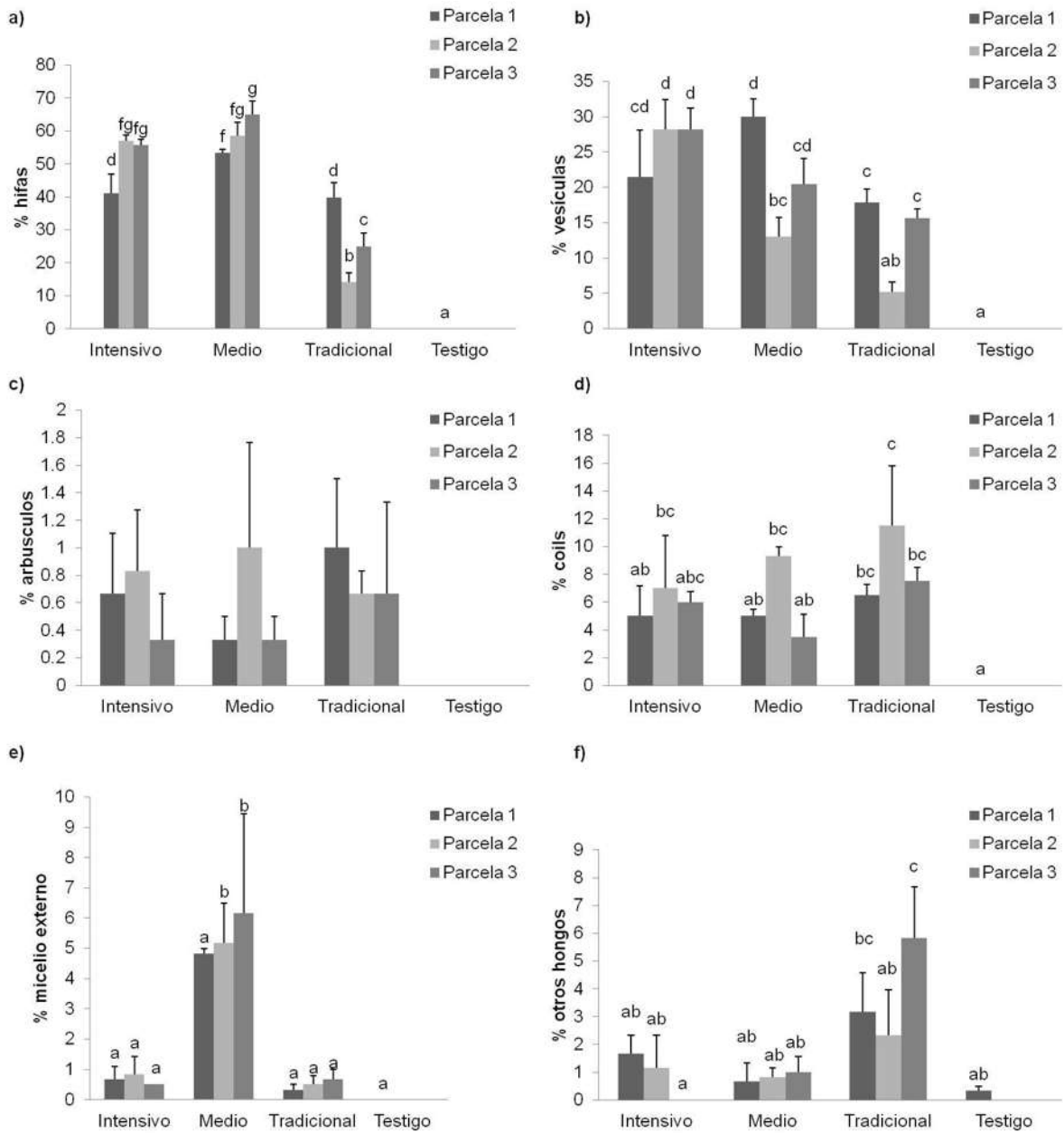


Figura 9. Porcentajes de colonización de agroecosistemas con manejo tradicional, intensivo y medio en cada una de las parcelas. Letras diferentes indican diferencia significativa entre sitios y etapas fenológicas ANOVA ($p \leq 0.05$).

5.7. Evaluación del rendimiento vegetal

Se evaluó la altura y peso seco de las plantas que crecieron en un suelo bajo en fósforo. En la Figura 10 a, b, c, d se muestra el peso seco de las plantas después de ser secadas 3 días en el horno 70 °C donde se observa claramente que el testigo obtuvo el valor más bajo (3.4 g) y el manejo medio el valor más alto (57 g) respecto al diámetro del tallo de las plantas solo se observa diferencia entre el testigo con el menor diámetro (0.5 cm) y los tres estados tienen valores similares (1.3 cm).

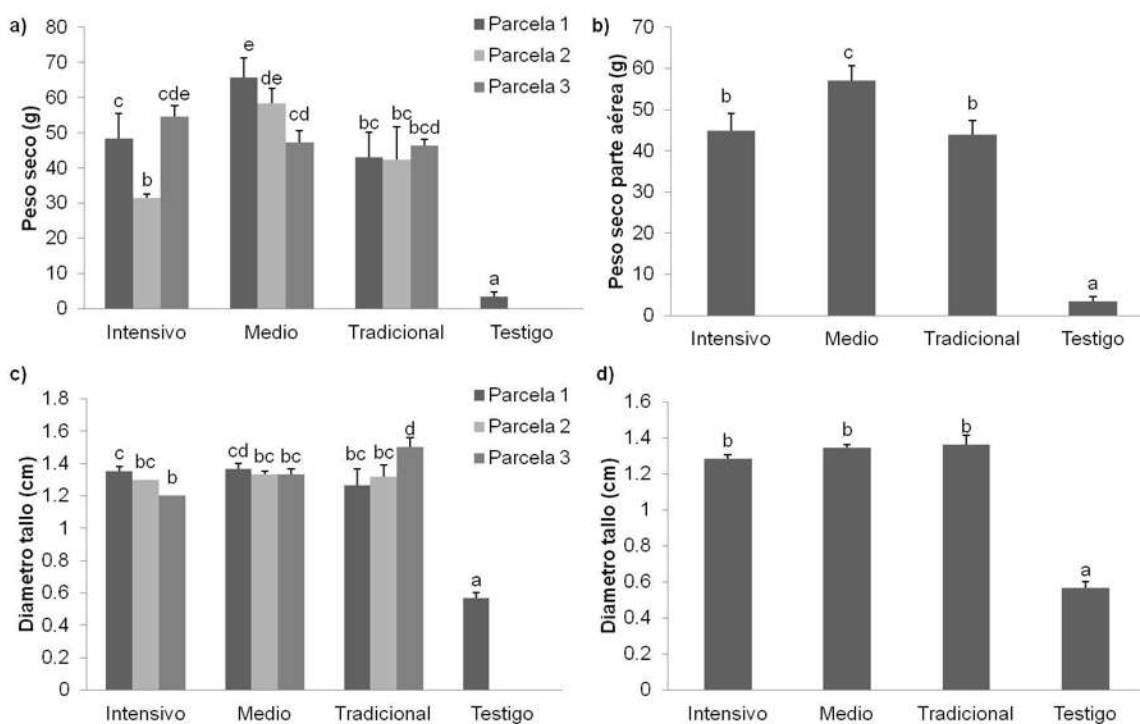


Figura 10. a) Peso seco por parcela, b) Peso seco por estado, c) Diámetro de los tallos por parcela y d) Diámetro del tallo por estado. Letras diferentes indican diferencia significativa entre sitios y etapas fenológicas ANOVA ($p \leq 0.05$).

La altura de las plantas fue registrada a partir de la tercera semana dándole un seguimiento hasta el momento de la cosecha. Las diferencias en el crecimiento entre el testigo y las planta con inoculo de cada uno de los sitios es de 83.24 cm al final del experimento. A partir de la sexta semana el testigo se fue quedando por debajo del manejo tradicional, intensivo y medio (Figura 11,12).

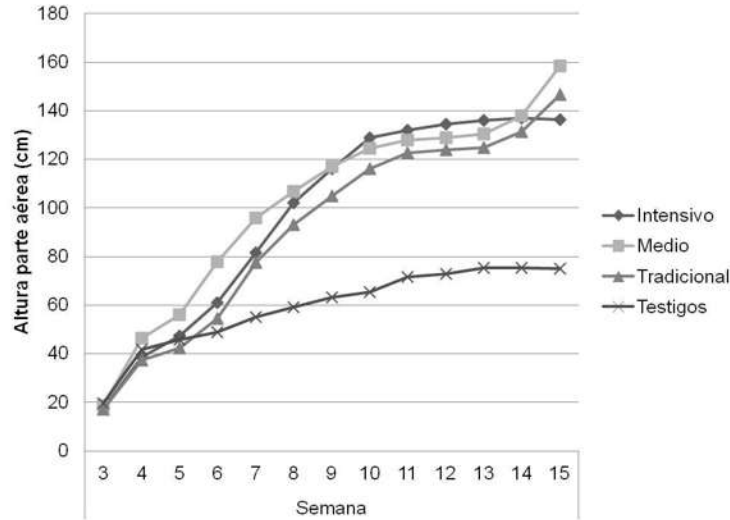


Figura 11. Altura de las plantas en invernadero con inoculo nativo y en suelo estéril durante las 15 semanas.

Las plantas del manejo medio presentaron una altura promedio de 158.4 cm siendo este el valor más alto frente al testigo de 75.16 cm como el valor más bajo al momento de la cosecha de las plantas (Figura 12 a, b, c).

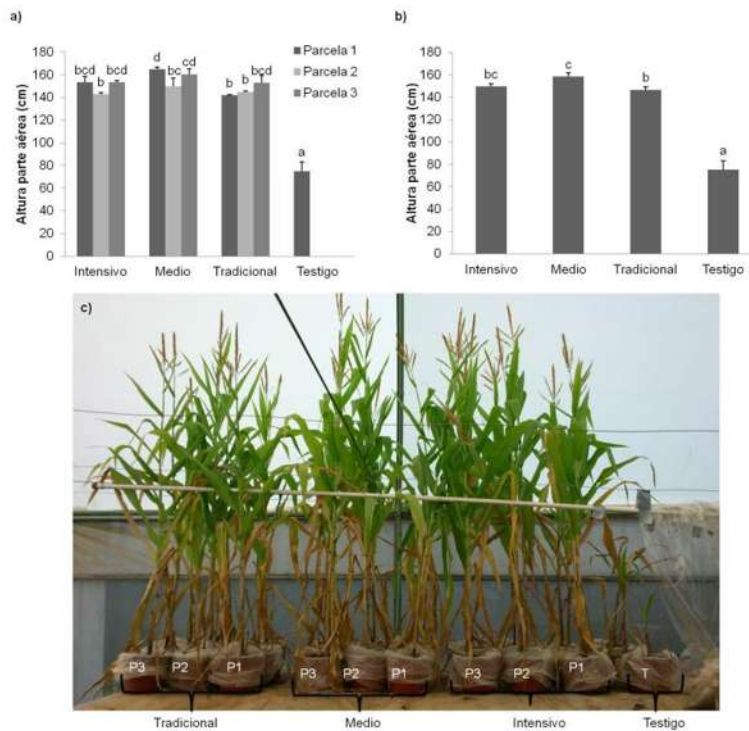


Figura 12. Altura parte aérea de las macetas trampa semana 15. Letras diferentes indican diferencia significativa entre sitios y etapas fenológicas ANOVA ($p \leq 0.05$).

6. Discusión

Este trabajo evaluó la colonización micorrízica de campo en tres diferentes tipos de agroecosistemas, intensivo, medio y tradicional. Se identificaron las especies de HMA presentes en cada uno de los diferentes tipos de agroecosistemas conociendo la riqueza y similitud entre ellos. Además de poner a prueba los inóculos de HMA nativos en condiciones de invernadero en un suelo bajo en fósforo.

La colonización de raíces de maíz (*Zea mays* L.) estuvo presente en todos los sitios con diferente manejo de los agroecosistemas. El porcentaje más alto de colonización total fue de 55% en la etapa de floración, después se observó una disminución en los porcentajes en la etapa de senescencia. Esto se explica a que a partir de la fase de antesis, solo se requiere traslocar los nutrimentos ya absorbidos hacia la inflorescencia para utilizarlos en la formación de fruto y semilla, lo cual tiene como consecuencia que el porcentaje de colonización por HMA disminuya, así como al suministrar a la planta el nutrimento mineral mediante fertilización (Hayman, 1982; Abbott y Robson 1991; Arias *et al.*, 2001).

Se ha observado que al existir en el medio nutrientes minerales suficientes para que la planta los adquiriera a un menor costo energético en comparación con la asociación con HMA hace que la simbiosis tenga una disminución por cuestiones de valor energético. Arias *et al.*, (2001) reporta que los genotipos de maíz más eficientes en la obtención de nutrientes como es el N y el P presenta una menor dependencia de las micorrizas arbusculares para obtención de los nutrimentos. Esto se debe a que el maíz presenta características que le permiten ser independientes de la asociación micorrízica (Baker *et al.*, 1970; 1971).

Se observó además la presencia de nematodos. Se sabe que los nematodos establecen una asociación de tipo parasita con la raíz de las plantas. Algunos autores señalan que la presencia de un hongo micorrízico eficaz reduce la invasión y reproducción de nematodos (Hussey & Roncadori, 1982; Lizaola *et*

al., 1999). En mis resultados no encontré una correlación entre la colonización total y los huevos de nematodos en las raíces.

El manejo medio presentó los valores más bajos en la colonización total, se ha cultivado año tras año solamente con maíz desde hace 50 años siendo un ejemplo claro de monocultivo. Esto podría influir en la baja colonización, sin embargo, los resultados de los análisis del suelo y los de la correlación entre el porcentaje de colonización y las diferentes características del suelo confirmaron que la correlación entre el pH y P son los principales limitantes de la colonización de HMA (Altomare y Tringovska, 2011; Varma, 2008; Oehl *et al.*, 2004; Kahiluoto *et al.*, 2001) Los suelos del manejo medio son considerados suelos ácidos por su origen volcánico, este tipo de suelo tienen problemas de fijación de fósforo, un alto contenido de aluminio, sin embargo, Cardoso *et al.*, (2006) han reportado que los HMA son buenos facilitadores de fósforo para las plantas de maíz en estas condiciones. Lo anterior corrobora que la colonización micorrízica de los HMA, se modifica por las características físicas del suelo pero sin que esta simbiosis se vea anulada (Pérez *et al.*, 2011).

Quin *et al.*, (2015) investigaron el impacto de diferentes fertilizantes orgánicos e inorgánicos sobre la colonización y la composición de los HMA en un experimento a largo plazo en agroecosistemas. Encontraron que la composición la comunidad de HMA colonizando las raíces así como las encontradas en el suelo fue afectada por el pH y K disponible del suelo pero la relación C/P solo afecto a la comunidad de HMA en el suelo. En nuestros resultados se observó una correlación con las mismas características del suelo.

La extracción de esporas en cada uno de los sitios fue exitosa pero se tomó la decisión de repropagar esporas en macetas trampa para tener material de mayor calidad para la identificación taxonómica. Además, se usó un dispersante al momento del tamizado para obtener esporas más limpias. Después de realizar la extracción de esporas de cada uno de los sitios y de las macetas trampa se obtuvieron 34 especies. Se encontraron 4 especies presentes en todos los

manejos: *Paraglomus oculum*, *Funneliformis mosse*, *Gigaspora albida* y *Acaulospora splendida* las cuales muestran una mejor adaptación tanto a las diferentes prácticas como a las características del suelo.

Se ha reportado a *F. mossea* como una especie frecuente sugiriendo que posee la habilidad de sobrevivir bajo condiciones que podrían ser desfavorables para la mayoría de HMA (Daniell *et al.*, 2001) *Rhizophagus irregularis* y *Claroideoglossum claroideo* fueron reportados como las especies dominantes en cultivos de maíz en Camerún, además de que lograron identificar la presencia de *Funneliformis mosseae*, *Gigaspora margarita*, *Cetranspora pellucida* por medio de identificación molecular (Jemo *et al.*, 2014)

La riqueza de las especies se vio favorecida ante un manejo medio, donde se encontró una riqueza promedio de 12 especies por parcela. Esto puede sugerir que las prácticas agrícolas como la labranza y el uso de productos químicos no tiene porque disminuir la riqueza de los HMA, si las prácticas son realizadas de una manera moderada se puede mantener en los suelos un reservorio de especies de HMA potencialmente infectivas si se son estimuladas con las prácticas agrícolas.

A pesar de las características del suelo que influyen en el porcentaje de colonización como lo es el P, el cual es modificado por las prácticas agrícolas de fertilización no tiene que afectar la abundancia y composición de HMA como lo reportaron Chen *et al.*, (2014), quienes examinaron el efecto de las prácticas de fertilización sobre la abundancia y composición de HMA en un pastizal en Mongolia. Los resultados indicaron que la fertilización de N alteraba significativamente las comunidades de HMA pero no así en la abundancia, sin embargo, la fertilización de P mostró no tener una significativa influencia en la estructura de la comunidad pero si inducía una reducción en el rango de colonización

Las macetas trampa confirman claramente que la relación mutualista entre los HMA y las plantas de maíz en suelo bajo en fósforo hace la diferencia para que

la planta pueda llegar a tener un crecimiento adecuado mejorando el desarrollo de la planta hospedante al incrementar la asimilación de nutrimentos, por medio de una mayor absorción (Arias, 2001; Barrer 2009; Bolaños *et al.*, 2007). Lo cual se vio reflejado en la altura de las plantas además del nivel de madurez de éstas ya que en las plantas del manejo medio al momento de la cosecha ya se podían observar las inflorescencias femeninas y masculinas en todas ellas en comparación con el testigo que aun no tenía ninguna inflorescencia. Esto queda claro en el peso seco, donde la diferencia entre las plantas de manejo medio con las plantas testigo fue de 53.6.g.

La comparación de los resultados de colonización de las plantas de campo con las de las macetas trampa tienen en común que el manejo intensivo obtuvo un valor alto del 80% de porcentaje de colonización, pero menor al que el manejo medio con el 91% de colonización. Lo anterior se explica porque las condiciones del invernadero, el suelo que se utilizó era muy parecido al del las parcelas de manejo medio. Esto confirma el porqué la utilización de HMA nativos dan mejores resultados, ya que no tienen que adaptarse a nuevas condiciones lo cual les da una ventaja clara frente a HMA introducidos (Barrer, 2009; Lekberg *et al.*, 2008), además que los HMA del manejo medio tenían condiciones del suelo favorables para aumentar la colonización como lo es el pH y el P.

Los *Glomeraceae* han mostrado tener la capacidad de colonizar las nuevas raíces y tener un mayor rango de esporulación que puede ser estimulado por los altos contenidos de N y P en el suelo, en comparación con las especies de *Acaulosporaceae* y *Gigasporaceae* (Hart & Reader, 2002; Quin *et al.*, 2015). En los cultivos trampa no se repropagan todas las especies presentes en el campo, ya que las condiciones de invernadero favorecen a unas especies más que a otras (Hijri *et al.*, 2006). En el campo los reservorios de inóculos en el suelo ayudan a mantener la diversidad de las especies.

Acaulosporaceae en el manejo tradicional fue más abundantes con un 37% de especies lo cual concuerda con lo reportado por Oeht *et al.*, 2004, quienes

encontraron más frecuencia a *Acaulospora* en un manejo orgánico. Se sugiere que *Paraglomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora* aparentemente son sensibles a las características del suelo y el manejo. Además se ha reportado que *Acaulospora* es efectivo en suelos donde los nutrientes son limitados debido a su mayor eficiencia para facilitar fósforo a las plantas en comparación con otros géneros a pesar de su lento crecimiento (Jackobsen *et al.*, 1992; Lovelock *et al.*, 2003;). Como resultado de su lento crecimiento se puede ver reflejado en los porcentajes de colonización de las macetas trampa donde el manejo tradicional obtuvo el porcentaje más bajo siendo significativamente diferente a los otros dos manejos donde el género *Acaulospora* no era el género dominante. Carreón-Abud *et al.*, 2014 evaluaron el desempeño de 12 inoculantes de HMA en el desarrollo de plantas de aguacate en etapa de vivero donde encontraron que *Acaulospora delicata* tuvo el mejor desempeño en la altura de las plantas. *Paraglomaceae* se encontró en 6% en el manejo tradicional e intensivo y 5% en manejo medio.

Los índices de similitud dejan ver que los manejos extremos como lo son el intensivo y tradicional si influyen para que la composición de las especies sean diferentes siendo estos manejos los que son más diferentes entre sí con un índice de Sorencens de 0.3, así como se puede observar que el manejo medio comparte el mismo índice de similitud de 0.4 tanto con el manejo intensivo como con el tradicional, sin embargo, el índice obtenido muestra que son también diferentes.

Nuestros resultados concuerdan con lo encontrado por Jemo *et al.*, (2014) quienes concluyeron que los inóculos de las comunidades nativas provenientes de agroecosistemas de maíz con un manejo menos intensivo en el pasado, proveen mayores beneficios al crecimiento del maíz y la obtención de fósforo. Sin embargo, es importante mencionar que el diseño que se utilizó para nuestro trabajo no hace posible separar el efecto del sitio de las prácticas agrícola.

7. Conclusiones

En los tres diferentes manejos se encontró la presencia de HMA asociada a las raíces de maíz. El porcentaje de colonización se vio afectado por las características del suelo principalmente la acidez y alto contenido de fósforo en el suelo, lo que no favoreció la simbiosis al tener la planta la capacidad de adquirir fósforo sin la necesidad de invertir energía en la simbiosis con HMA. Las características del suelo de cada uno de diferentes manejos afectaron el porcentaje de colonización de las raíces de plantas en campo así como en condiciones de invernadero. Además el porcentaje de colonización responde a las necesidades nutricionales de la planta, que puede verse afectada negativamente por los sistemas de producción de maíz y el ciclo del cultivo.

Las comunidades de los HMA son distintas en los tres diferentes agroecosistemas. Sin embargo se encuentran especies compartidas entre los agroecosistemas, las cuales pueden ser utilizadas potencialmente como parte de consorcios junto con un cuidadoso, uso de las prácticas agrícolas que estimulen la infectividad de los HMA para que las plantas puedan resistir mejor las diferentes condiciones de estrés a las cuales están sometidas en campo.

Los HMA nativos en condiciones de suelo bajo en fósforo aumentaron su eficiencia al colonizar a las raíces de maíz. Los inóculos de los HMA nativos pueden ser usados para favorecer la productividad en los agroecosistemas, con suelos con moderada y baja fertilidad. Es importante evaluar bajo otras condiciones la eficiencia de las interacciones con otros microorganismos rizosféricos obteniendo más información que pueda ser potencialmente probada en el campo.

Nuestros resultados sugieren que un manejo medio con el uso más racional de los insumos agrícolas preserva una mayor riqueza, sin embargo, para poder predecir la diversidad de los HMA, es necesario tener en cuenta las condiciones ambientales y el desarrollo histórico del manejo de los agroecosistemas. Además nuestros resultados apoyan parcialmente la hipótesis inicial; donde las características del suelo y las prácticas agrícolas afectarían la diversidad y la abundancia, ya que la riqueza es parecida pero no así la composición de las especies, al encontrar especies únicas en los diferentes manejos de los agroecosistemas.

8. Literatura citada

- Abbott**, L.K. & A.D. Robson. 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agric., Ecosystems and Environ.* 35: 124-150.
- Aguirre**, M. J. F., Irizar, G.M.B., Durán, P.A. Grajeda, C. O.A., Peña-del Rio, M.A., Loredó, O.C, & A.B. Gutiérrez . (2009). Los Biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, México. 86 pp.
- Alvear**, M., C. Urra, R. Huaiquilao, M. Astorga & F. Reyes. 2007. Actividades biológicas y estabilidad de agregados en un suelo del bosque templado chileno bajo dos etapas sucesionales y cambios estacionales. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal.* 7(3): 38-50.
- An**, G.-H., Kobayashi, S., Enoki, H., Sonobe, K., Muraki, M., Karasawa, T., & Ezawa, T. (2009). How does arbuscular mycorrhizal colonization vary with host plant genotype? An example based on maize (*Zea mays*) germplasms. *Plant and Soil*, 327(1-2), 441-453.
- Antunes**, P. M., Dunfield, K. E., Hart, M. M., Downing, A., Riling, M. C., & Kilronomos, J. N. (2008). Influence of commercial inoculation with *Glomus intraradices* on the structure and functioning of an AM fungal community from an agricultural site. *Plant and Soil*, 317(1-2), 257-266.
- Arias**, N. M. M., García, V. Q., & Cruz-Flores, G. (2001). Colonización micorrízica arbuscular y fertilización mineral de genotipos de maíz y trigo cultivados en un Andisol. *Terra*, 19(4), 337-344.
- Arias**, M. E., J. A. Gonzales-Pérez, F. J. Gonzales-Vila & A. Ball. (2005). Soil health- a new challenge for microbiologists and chemists. *International Microbiology* 8:13-21.
- Baker**, D. E., Jarrell, A. E., Marshall, L. E., & Thomas, W. I. (1970). Phosphorus uptake from soils by corn hybrids selected for high and low phosphorus accumulation. *Agronomy Journal*, 62(1), 103-106.
- Baker**, D. E., Wooding, F. J., & Johnson, M. W. (1971). Chemical element accumulation by populations of corn (*Zea mays* L.) selected for high and low accumulation of P. *Agronomy Journal*, 63(3), 404-405.
- Barrer**, B. S. (2009). El uso de hongos micorrizicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias.* 7(1): 123-132.
- Beauregard**, M.S., Gauthier, M. P & C. Hamel. (2012). Various forms of organic and inorganic P fertilizers did not negatively affect soil-and root-inhabiting AM fungi in maize-soybean rotation system. *Mycorrhizal.*

<http://link.springer.com/article/10.1007/s00572-012-0459-6> consultada en octubre 2012.

- Beauregard**, M. S., Hamel, C., & Arnaud, M. S. (2008). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Communities in Major Intensive North American Grain Productions. In *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry* (pp. 135-157). Springer Netherlands.
- Bedini**, S., Avion, L., Sbrana, C., Turrini, A., Migliorini, P., Vazzana, C. & Giovannetti, M. (2013). Mycorrhizal activity and diversity in a long-term organic Mediterranean agroecosystem. *Biology and Fertility of Soils*.
- Bhadalung**, N. N., Suwanarit, A., Dell, B., Nopamornbodi, O., Thamchaipenet, A., & Rungchuang, J. (2005). Effects of long-term NP-fertilization on abundance and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi under a maize cropping system. *Plant and Soil*, 270(1), 371-382.
- Bolaños Benavides**, M. M., & Luna Gueller, L. A. (2007). Las micorrizas: una opción sostenible de manejo de suelos y nutrición de plantas. *Boletín Técnico*.
- Burrows**, R. L., & Pflieger, F. L. (2002). Host responses to AMF from plots differing in plant diversity. *Plant and Soil*, 240(1), 169-180.
- Cardoso**, I. M., Boddington, C. L., Janssen, B. H., Oenema, O., & Kuyper, T. W. (2006). Differential access to phosphorus pools of an oxisol by mycorrhizal and nonmycorrhizal maize. *Communications in soil science and plant analysis*, 37(11-12), 1537-1551.
- Carreón Abud**, Y., Aguirre Paleo, S., Gavito, M. E., Mendoza Solís, D. J., Juárez Chávez, R., Martínez Trujillo, M., & Trejo Aguilar, D. (2014). Inoculación micorrízica arbuscular en portainjertos de plantas de aguacate cv'Hass' en viveros de Michoacán, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(5), 847-857.
- Chen**, B., Shen, H., Li, X., Feng, G., & Christie, P. (2004). Effects of DTA application and arbuscular mycorrhizal colonization on growth and zinc uptake by maize (*Zea mays* L.) in soil experimentally contaminated with zinc. *Plant and Soil*, 261(1-2), 219-229.
- Chen**, Y. L., Zhang, X., Ye, J. S., Han, H. Y., Wan, S. Q., & Chen, B. D. (2014). Six-year fertilization modifies the biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a temperate steppe in Inner Mongolia. *Soil Biology and Biochemistry*, 69, 371-381.
- Daisog**, H., Sbrana, ., Cristiani, C., Moonen, A-C., Giovannetti, M., & Bàrberi, P. (2011) Arbuscular mycorrhizal fungi shift competitive relationships among crop and weed species. *Plant and Soil*, 353(1-2), 395-408.

- Daniell**, T. J., Husband, R., Fitter, A. H., & Young, J. P. W. (2001). Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiology Ecology*, 36(2-3), 203-209.
- De Felipe**, M. (2004). Interacciones microorganismos-suelo-planta en la preservación del medio ambiente y la salud. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. 70: 743-776.
- Dodd** JC & Miller PD (1999) Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 74:77-93.
- Doehlemann**, G., Requena, N., Schaefer, P., Brunner, F., O'Connell, R., & Parker, J. E. (2014). Reprogramming of plant cells by filamentous plant colonizing microbes. *New Phytologist*, 204(4), 803-814.
- Espinosa**, C. L. (1999). Sector agropecuario y alternativas comunitarias de seguridad alimentaria y nutrición en México. Plaza y Valdés, S.A. de C.V. México. 313 pp
ISSBN: 968-856-693-4
- Franken**, P., Waschke, A., & Requena, N. (2012). 2 Molecular Approaches to Arbuscular Mycorrhiza Functioning. In *Fungal Associations* (pp. 23-37). Springer Berlin Heidelberg.
- Fortis**, H. M., J.A. L. Rodríguez, & E. S. Sosa. (2003). Normas de aplicación de residuos animales al suelo. En *Agricultura Orgánica*. Ed. Salazar. S. E., M. H. Fortis y C. V. Vázquez. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C.- Facultad de Agricultura y Zootecnia de la UJED. Mexico. 192 pp.
- Gavito**, M. E., & Miller, M. H. (1998). Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop management practices. *Plant and soil*, 198(2), 185-192.
- Gerdemann** J. W. & Nicolson, H.T. 1963. Spores of micorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transaction of the British of Mycological Society*. 46: 235-244.
- Gosling** P, Hodge A, Goodlass G & Bending GD (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 113:17-35
- Guerrero**, E., Azcon, C., Barea, J., Moyersen, B., Orozco, C., Cano, C., & Rivera, E. (1996). Micorriza: fundamentos biológicos y estado del arte. *Micorrizas: recurso biológico del suelo*. Fondo FEN Colombia, Bogotá.
- González**, J.C., Vega, M., Varela, L., Martínez, M., Carreón, Y. & M.E. Gavito. (2012). Arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal Ecology*. 5(1):16-23.

- Gupt, N., & Rautaray, S. (2005).** Growth and development of AM fungi and maize under salt and acid stress. *Acta Agriculturae Scandinavica, section B-Soil & Plant Science*, 55(2), 151-157.
- Hallauer, A. R., Carena, M. J., & Miranda Filho, J. D. (2010).** *Quantitative genetics in maize breeding*. Springer.
- Hart, M. M., & Reader, R. J. (2002).** Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 153(2), 335-344.
- Hayman, D.S. 1982.** Influence of soils and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72: 1119-1125.
- Heredia Abarca, G., & Heredia Abarca, G. (2008).** Tópicos sobre diversidad, ecología y usos de los hongos microscópicos en Iberoamérica.
- Hijri, I., Sýkorová, Z., Oehl, F., Ineichen, K., Mäder, P., Wiemken, A., & Redecker, D. (2006).** Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. *Molecular Ecology*, 15(8), 2277-2289.
- Hussey, R. S., & Roncadorl, R. W. (1982).** Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. *Plant Disease*, 66(1), 9-14.
- Ingleby, K., Wilson, J., Munro, R. C., & Cavers, S. (2007).** Mycorrhizas in agroforestry: spread and sharing of arbuscular mycorrhizal fungi between trees and crops: complementary use of molecular and microscopic approaches. *Plant and Soil*, 294(1-2), 125-136.
- Jakobsen, I., Abbott, L. K., & Robson, A. D. (1992).** External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 1. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. *New Phytologist*, 371-379.
- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I., & Frossard, E. (2002).** Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza*, 12(5), 225-234.
- Jemo, M., Souleymanou, A., Frossard, E., & Jansa, J. (2014).** Cropping enhances mycorrhizal benefits to maize in a tropical soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 79, 117-124.
- Jiménez, R., Virgen G., Tabares F. & V. Olalde. (2001).** Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: agro-biotecnología. *Avance y perspectiva*. 20:6-10.
- Kahiluoto, H., Ketoja, E., Vestberg, M., & Saarela, I. (2001).** Promotion of AM utilization through reduced P fertilization 2. Field studies. *Plant and soil*, 231(1), 65-79.

- Lekberg, Y., Koide, R. T., Rohr, J. R., Aldrich-Wolfe, L., & Morton, J. B. (2007).** Role of niche restrictions and dispersal in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities, *Journal of Ecology*, 95(1), 95-105.
- Lekberg, Y., Koide, R. T., & Twomlow, S. J. (2008).** Effect of agricultural management practices on arbuscular mycorrhizal fungal abundance in low-input cropping systems of southern Africa: a case study from Zimbabwe. *Biology and Fertility of Soils*, 44(7), 917-923.
- Liang C-C., Li, T., Xiao, Y.-P., Lui, M.-J., Zhang, H.-B., & Zhao, Z-W. (2009).** Effects of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus on maize grown in multi-metal contaminated soils. *International Journal of Phytomediation*, 11(8), 692-703.
- Lizaola, R. Q., Rincon, J. A. S., Botello, E. E., Cerrato, R. F., & Moss, C. S. (1999).** Interacción del nematodo *Meloidogyne chitwoodi* con tres especies de hongo *glomus* sp. en la producción y distribución de materia seca de plantas jóvenes de maíz. *Terra Latinoamericana*, 17(1), 17-25.
- Lovelock, C. E., Andersen, K., & Morton, J. B. (2003).** Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. *Oecologia*, 135(2), 268-279.
- Lovera, M & G. Cuenca. (2007).** Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (amf) and mycorrhizal potential of the soil from a natural and disturbed savannah from la gran sabana, Venezuela. *INCI [online]*. 32 (2):108-114.
- Lui, W. (2009).** Correlation between specific fine root length and mycorrhizal colonization of maize un different soils types. *Frontiers of Agriculture in China*, 3(1), 13-15.
- Maistro, P. C., Moreira, M & S. T. Mui. 2012.** Advances in Molecular Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Phylum Glomeromycota) in forest Ecosystems – More than just trees, Dr Juan Blanco (Ed.), ISBN: 978-953-51-0202-1, In Tech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/forest-ecosystems-more-than-just-trees/advances-in-molecular-diversity-of-arbuscular-mycorrhizal-fungi-phylum-glomeromycota-in-forest-ecosy> consultada en Octubre 2012.
- Mathimaran, N., Ruth, R., Vullioud, P., Frossard, E., & Jansa, J. (2005).** *Glomus* intraradices dominantes arbuscular mycorrhizal communities in heavy textured agricultural soils. *Mycorrhiza*, 16(1), 61-66
- Martínez-Trujillo, M., & Carreón-Abud, Y. (2015).** Effect of mineral nutrients on the uptake of Cr (VI) by maize plants. *New biotechnology*, 32(3), 396-402.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G., Farchild, G.L. & J.A. Swan. (1990).** A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 115:495-501.

- Moreno**, A. H. (2000). La clasificación numérica y su aplicación en la ecología. Intec. De santo Domingo. Santo Domingo, Republica Dominicana. 88 pp.
- Morton**, J. B., & Benny, G. L. (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*, 37(1), 471-491.
- Negrete-Yankelevich**, S., Maldonado-Mendoza, I. E., Lázaro-Castellanos, J. O., Sangabriel-Conde, W., & Martínez-Álvarez, J. C. (2013). Arbuscular mycorrhizal root colonization and soil P availability are positively related to agrodiversity in Mexican maize polycultures. *Biology and Fertility of Soils*, 49(2), 201-212.
- Oehl**, F., Sieverding, E., Mäder, P., Dubois, D., Ineichen, K., Boller, T., & Wiemken, A. (2004). Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia*, 138(4), 574-583.
- Oehl**, F., Sieverding, E., Palenzuela, J., Ineichen, K., & da Silva, G. A. (2011). Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA Fungus: The Global Mycological Journal*, 2(2), 191.
- Orozco P**, F. H. (1980). Los microorganismos y su relación con la fertilidad u fertilización del suelo. *En compendio – Instituto Colombiano Agropecuario (Colombia)* 38:61-118.
- Paliwal**, R. L., Granados, G., Lafitte, H. R., Violic, A. D., & Marathée, J. P. (2001). El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción (No. 28). FAO.
- Parniske**, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 763-775.
- Pérez**, A., Sierra, J. R., & Montes, V. D. (2011). Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe Colombiano. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 3(2), 366-385.
- Peterson**, R. L., Massicotte, H. B. y L. H. Melville. (2004). *Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology*. CABI. UK. 196pp.
- Phillips**, J. M. & D. S. Hayman. (1970). Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Transactions British Mycological Society*. 55:158-161.
- Plenchette** C, Clermont-Dauphin C, Meynard JM & Fortin JA (2005) Managing arbuscular mycorrhizae on soil aggregation depend on the intereaction between plant and fungal species. *New Phytologist* 164:365-373.

- Qin, H., Lu, K., Strong, P. J., Xu, Q., Wu, Q., Xu, Z., & Wang, H. (2015).** Long-term fertilizer application effects on the soil, root arbuscular mycorrhizal fungi and community composition in rotation agriculture. *Applied Soil Ecology*, 89, 35-43.
- Raven, P. H., Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (1992).** *Biología de las plantas: Vol. 2 (Vol. 2)*. Reverté.
- Ripusudan, L. P. (2001).** Cultivo en: maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. *El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción (No. 28)*. FAO.
- Sánchez, C. I., Ferrol, N., Cornejo, P. & Barea. J. M. (2011).** Temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing roots of representative shrub species in a semi-arid Mediterranean ecosystem. *Mycorrhiza*. 22:449-460.
- Sangabriel-Conde, W., Maldonado-Mendoza, I. E., Mancera-López, M. E., Cordero-Ramírez, J. D., Trejo-Aguilar, D., & Negrete-Yankelevich, S. (2015).** Glomeromycota associated with Mexican native maize landraces in Los Tuxtlas, Mexico. *Applied Soil Ecology*, 87, 63-71.
- Sasvári, Z., Hornok, L., & Posta, K. (2011).** The community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of maize grown in a 50-year monoculture. *Biology and Fertility of Soils*, 47(2), 167-176.
- Schenck, N. C., & Y. Perez. (1990).** *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*, 3rd ed. Synergistic Publications, Gainesville, Fla.
- Schipanski, M. E., Barbercheck, M., Douglas, M. R., Finney, D. M., Haider, K., Kaye, J. P., ... & White, C. (2014).** A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems. *Agricultural Systems*, 125, 12-22.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001).** A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological research*, 105(12), 1413-1421.
- SFA SAGARPA (2011).** *Perspectivas de largo para el sector agroecuario de México 2011-2020*. Consultado en julio 2015:
http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/estudios_economicos/escenariobase/perspectivalp_11-20.pdf
- Soroa-Bell, M. R., Hernández-Fernández, A., Soto-Carreño, F., & Terry-Alfonso, E. (2009).** Identificación de algunas especies de microorganismos benéficos en la rizosfera de gerbera y su efecto en la productividad. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 15(2), 41-48.
- Sudová, R., & Vosátka, M. (2007).** Differences in the effects of three arbuscular mycorrhizal fungal strains on P and Pb accumulation by maize plants. *Plant and Soil*, 296(1-2), 77-83.

- Vanlauwe**, B., Bationo, A., Chianu, J., Giller, K. E., Merckx, R., Mokwunye, U., ... & Sanginga, N. (2010). Integrated soil fertility management operational definition and consequences for implementation and dissemination. *Outlook on agriculture*, 39(1), 17-24.
- Varela**, L y D, Trejo. 2001. Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. *Acta Zoologica Mexicana*. (n.s) 1:39-51.
- Verbruggen**, E., Kiers, E. T (2010). Evolutionary ecology of mycorrhizal fungal diversity and species dominance in a temperate soil with long-term conventional and low-input cropping systems. *Mycorrhizal* 21:351-361.
- Verbruggen**, E., Kiers, E. T., Bakelaar, P. N. C., Rölíng, W. F. M., & Heijden, M. G. A. (2012). Provision of contrasting ecosystem services by soil communities from different agricultural fields. *Plant and Soil*, 350(1-2), 43-55
- Walker**, C. (1997). Spore extraction by centrifugación-sugar flotation. Biological Research and Imaging Laboratory.
- Wang**, Y. Y., Vertberg, M., Walker, C., Hume, T., Zhang, X., & Lindström, K. (2008). Diversity and infetivity of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils of the Sichuan Province of mainland China. *Micorrhizal*, 18(2), 59-68.
- White**, C. M., & Weil, R. R. (2009) Forage radish and cereal rye cover crop effects on mycorrhizal fungus colonization of maize roots. *Plant and Soil*, 328(1-2), 507-521.
- Wild**, A. 1992. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. Onceava edición. Mundi-Prensa. España. 1045 pp.
- Yee**, W. J. E., M. H. Fortis & E. S. Salazar. (2003). Desarrollo humano para una agricultura orgánica. En *Agricultura Orgánica*. Ed. Salazar. S. E., M. H. Fortis y C. V. Vázquez. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C.- Facultad de Agricultura y Zootecnia de la UJED. p. 14
- Zhu**, X.-C., Song, F.-B., & Xu, H.-W. (2009). Arbuscular mycorrhizae improves low temperature stress in maize via alterations in host water status and photosynthesis. *Plant and Soil*, 331(1-2), 129-137.