

# Efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de rizósfera de Agave como promotores de crecimiento de papaya

## Effectiveness of native arbuscular mycorrhizal fungi from Agave rhizosphere as growth promoters in papaya

Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar<sup>1</sup>, Laura Verónica Hernández Cuevas<sup>2</sup>, Luis López Pérez<sup>3</sup> y Gabriel Rincón Enríquez<sup>1‡</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Fitopatología, Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Camino Arenero 1227, El Bajío del Arenal. 45019 Zapopan, Jalisco, México.

<sup>‡</sup> Autor para correspondencia (grincon@ciatej.mx)

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Genética y Ambiente, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Carretera Federal San Martín-Tlaxcala 520, Agua Escondida. 90120 Villa Mariano Matamoros, Tlaxcala, México.

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro (Posta Zootécnica). 58880 Tarimbaro, Michoacán, México.

---

### RESUMEN

Los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) son simbioses benéficas de la mayoría de las plantas terrestres. La planta involucrada en la simbiosis es provisionada de nutrientes por parte del hongo que promueve el crecimiento vegetal, a cambio de energía para reproducción del HMA. Se evaluó la efectividad de inóculos multi-específicos de HMA provenientes de la rizósfera de *Agave cupreata* colectada en Michoacán México, en la promoción del crecimiento de plantas de papaya. Se realizó un experimento en diez bloques al azar con once tratamientos: ocho consorcios de HMA, un biofertilizante comercial a base de HMA (EndoMic<sup>®</sup>), una cepa de referencia (*Claroideoglomus claroideum*) y un testigo sin HMA. A 100 d posteriores al establecimiento del experimento, las variables evaluadas fueron altura de planta, diámetro del tallo, biomasa seca del follaje, de la raíz y total, área foliar, índice relativo de dependencia micorrízica, colonización micorrízica y densidad de esporas micorrízicas. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza y de correlación. Los resultados mostraron que dos de los consorcios promovieron eficientemente el crecimiento vegetal; las plantas inoculadas con los consorcios AD-MTu y CM-MT incrementaron significativamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ) su crecimiento en biomasa seca con respecto al testigo

sin HMA, en 240 y 225%, respectivamente, mientras que con el biofertilizante EndoMic<sup>®</sup> el aumento para la misma variable fue de solo 12%. Se concluye que el empleo de consorcios de HMA promueven el crecimiento de papaya; y por tanto, podrían emplearse en vivero o invernadero.

**Palabras clave:** Carica papaya L., *Agave cupreata*, simbiosis micorrízica, biofertilizantes.

### SUMMARY

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are beneficial symbionts of most terrestrial plants. This symbiosis brings benefits to both symbionts. The plant involved in the symbiosis is supplied with nutrients by the fungus that promotes plant growth, in exchange for energy for reproduction of the AMF. In this context, the effectiveness of multi-specific AMF inocula from the rhizosphere of *Agave cupreata* from Michoacán, Mexico, in promoting the growth of papaya plants was evaluated. An experiment was carried out in ten random blocks with eleven treatments: eight consortiums of AMF, a commercial biofertilizer based on AMF (EndoMic<sup>®</sup>), a reference strain (*Claroideoglomus claroideum*) and a control without AMF. One hundred days after establishing the experiment, we evaluated the variables plant height, stem diameter, dry biomass

---

#### Cita recomendada:

Quiñones-Aguilar, E. E., L. Hernández Cuevas, L. López Pérez y G. Rincón Enríquez. 2019. Efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de rizósfera de Agave como promotores de crecimiento de papaya. Terra Latinoamericana 37: 163-174.

DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v37i2.397>

---

Recibido: 01 de marzo de 2018.

Aceptado: 20 de diciembre de 2018.

Publicado en Terra Latinoamericana 37: 163-174.

of foliage, root and total, foliar area, relative index of mycorrhizal dependence, mycorrhizal colonization and density of mycorrhizal spores. The data were analyzed through an analysis of variance and correlation. The results showed that two of the consortiums promoted plant growth efficiently; the plants inoculated with the consortiums AD-MTu and CM-MT significantly increased (Tukey,  $P \leq 0.05$ ) dry biomass by 240 and 225%, respectively, relative to the control without AMF, while with the biofertilizer EndoMic® the increase for the same variable was only 12%. It is concluded that the use of consortiums of AMF promotes the growth of papaya and therefore could be used in nurseries or greenhouses.

**Index words:** *Carica papaya L.*, *Agave cupreata*, mycorrhizal symbiosis, biofertilizers.

## INTRODUCCIÓN

El suelo es el medio natural para el crecimiento de las plantas, y es el hábitat de numerosos microorganismos que desarrollan procesos biológicos vitales en los agroecosistemas y ecosistemas (González *et al.*, 1990; Ruiz-Font, 2008). El suelo influenciado por las raíces de las plantas es la rizósfera, una zona de interacciones únicas y dinámicas entre las raíces y los microorganismos atraídos hacia ellas por los exudados radicales (Hinsinger y Marschner, 2006; Hartmann *et al.*, 2009). Las interacciones entre microorganismos y plantas ocurren en esta zona, donde las plantas influyen directamente la estructura y función de las poblaciones microbianas, lo que tiene implicaciones ecológicas para las funciones del suelo (Eisenhauer *et al.*, 2010) así como para la salud y productividad vegetal (Bloemberg y Lugtenberg, 2001).

Los microorganismos benéficos son parte del manejo sostenible de los ecosistemas a través de diversas estrategias, y se utilizan para beneficio de los seres humanos. En México, hay un creciente interés en los biofertilizantes o inoculantes microbianos para el beneficio de la producción agrícola y forestal, como una herramienta biotecnológica para promover el crecimiento, el desarrollo y la productividad de los cultivos, reducir los niveles de fertilización química y consecuentemente la contaminación ambiental (Padilla-Ramírez y Hernández-Mendoza, 2007).

La inoculación con bacterias no simbióticas y asociativas, como la fijadora de nitrógeno

*Azotobacter* spp. o la solubilizadora de fosfatos *Bacillus megaterium*, se utiliza en Rusia y Europa del Este, mientras que en México y Argentina se usa la inoculación semi-comercial con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y bacterias promotoras de crecimiento del género *Azospirillum* (Bashan, 2007). Los HMA del Phylum Glomeromycota, habitan en los suelos y establecen una simbiosis mutualista con cerca del 80% de las plantas terrestres (Smith y Read, 2008). Esta biota microbiana contribuye fundamentalmente con la nutrición de las plantas al proporcionar una buena absorción de minerales, principalmente los poco móviles como el fósforo. También las plantas micorrizadas son más tolerantes a factores abióticos adversos como salinidad, sequía y contaminación (Rabie, 2005; Maiquetía *et al.*, 2009; Camprubi *et al.*, 2011), y bióticos como patógenos y depredadores vegetales (Ozgonen y Erkilic, 2007; Currie *et al.*, 2011; Trinidad-Cruz *et al.*, 2017a).

Los beneficios que la simbiosis micorrízica da a las plantas, son la promoción de crecimiento vegetal y la protección contra enfermedades. En el mercado hay diferentes marcas de inoculantes micorrízicos comercializados como biofertilizantes. Un grupo de estos biofertilizantes contienen propágulos del HMA *Rhizophagus intraradices*, aislados desde agroecosistemas principalmente de EE. UU. y Canadá, por lo que las respuestas obtenidas en las plantas sean menores a las esperadas dada la baja compatibilidad entre los simbiosistas (Alarcón *et al.*, 2012). El origen de los HMA usados como biofertilizantes es de interés, ya que las condiciones de suelo y clima del sitio donde la cepa se aísla, son determinantes para pronosticar las respuestas en las plantas. Los HMA nativos de plantas o condiciones edafo-climáticas regionales particulares, están adaptados a ellas y podrán adecuarse mejor y más rápidamente que los no nativos al ser usados como inoculantes. Por tanto, resulta de interés biotecnológico buscar cepas de HMA nativos de campos agrícolas o ecosistemas naturales adaptados a diversos factores y se puedan utilizar para elaborar biofertilizantes para el campo agrícola mexicano. La papaya (*Carica papaya* L.) responde positivamente y en corto tiempo a la inoculación con HMA (Khade y Rodrigues, 2009; Quiñones-Aguilar *et al.*, 2012; 2014), por lo que se usó como especie vegetal modelo con el objetivo de evaluar la efectividad de distintos inóculos de HMA nativos aislados de rizósfera de *A. cupreata* en el crecimiento vegetal de plantas de papaya.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material Biológico y Condiciones del Experimento

El experimento en bloques al azar permaneció 100 días en condiciones de invernadero después del trasplante e inoculación de las plántulas de papaya. Se utilizaron ocho consorcios micorrízicos descritos por Trinidad-Cruz *et al.* (2017b), previamente propagados en invernadero por medio de cultivos trampa empleando arena y semillas de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), cebolla (*Allium cepa* L.) y poro (*Allium porrum* L.). Los propágulos micorrízicos iniciales se obtuvieron a partir de suelo rizosférico de *A. cupreata* no cultivado y cultivado en distintas plantaciones ubicadas en la zona de Denominación de Origen del Mezcal (DOM) del estado de Michoacán (Cuadro 1). Como inóculos de HMA de contraste se usaron el biofertilizante comercial a base de HMA EndoMic<sup>®</sup>, que contiene esporas de *Glomus hoi* like de origen cubano (comunicación personal con el empresario) y una cepa de *Claroideoglomus claroideum* (Schenk & Smith), aislada de un suelo volcánico endurecido (tepetate café) de la localidad de Tlalpan, municipio de Hueyotlipan, Tlaxcala; su efectividad como promotora de crecimiento de esta última cepa fue evaluada en

*Amelanchier denticulata* y *Eysendhartia polystachya* (Hernández-Cuevas *et al.*, 2011).

El material vegetal consistió en semillas de papaya “Maradol Roja” (Semillas del Caribe<sup>®</sup>), cuya germinación se realizó en charolas de plástico, con arena estéril como sustrato. Las semillas emergieron 17 d después de la siembra. Para el trasplante e inoculación se seleccionaron plántulas con dos hojas verdaderas. Como sustrato de crecimiento se empleó una mezcla de arena (70%) y suelo mineral de la región agavera de Michoacán (30%). Ambos componentes se tamizaron para eliminar piedras y basura. Con el fin de eliminar interferencias por la presencia de otros microorganismos, los sustratos para germinación y la mezcla para crecimiento se esterilizaron en autoclave durante ocho horas a 120 °C y 1.055 kg cm<sup>-2</sup> de presión. La mezcla esterilizada presentó una textura arena migajosa, pH neutro en agua (7.09), contenido de materia orgánica bajo (1.1%), conductividad eléctrica tipo no salino (0.288 ds m<sup>-1</sup>), contenido de N, P, K, Ca y Mg de 5, 13, 38, 218 y 147 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente, estos análisis fueron realizados por el Laboratorio de Análisis Agrícola de la empresa Servicios Analíticos Agroindustriales (SEANA), ubicado en la ciudad de Tarímbaro, Michoacán.

**Cuadro 1. Origen de los consorcios de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) de plantas de agave mezcalero (*A. cupreata*) del estado de Michoacán, México.**

**Table 1. Origin of the fungus consortia forming arbuscular mycorrhiza (AMF) of mezcalero agave plants (*A. cupreata*) from the state of Michoacán, Mexico.**

| Municipio (localidad) | Sitio de muestreo      | <i>A. cupreata</i> | Clave <sup>†</sup> | HMA exclusivo del consorcio <sup>‡</sup>                                      |
|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|---|
| Madero (Etúcuaro)     | El Huizachal           | Cultivado          | EH-ME              | <i>Scutellospora dipurpurescens</i> ,<br><i>Scutellospora</i> sp. 1           |
|                       | Las Campesinas         | Cultivado          | LC-ME              | <i>Pacispora</i> sp. 1  |
|                       | Rancho Carlos Rojas    | Silvestre          | CR-ME              | <i>Sclerocystis rubiformis</i>  |
| Morelia (Tumbisca)    | El Limón               | Cultivado          | EL-MTu             | <i>Glomus</i> sp. 2, <i>Racocetra gregaria</i>                                |
|                       | Agua Dulce             | Cultivado          | AD-MTu             | <i>Rhizophagus clarus</i>   |
| Tzitzio (Tzitzio)     | Paso Ancho             | Cultivado          | PA-MT              | <i>Glomus</i> sp. 3, <i>Sclerocystis sinuosa</i>                              |
|                       | Barranca de las Nueces | Cultivado          | BN-MT              | <i>Ambispora appendicula</i> ,<br><i>Acaulospora</i> sp.3, <i>Glomus</i> sp.1 |
|                       | Cerro del Metate       | Silvestre          | CM-MT              | <i>Dentiscutata erythropus</i>  |

<sup>†</sup> Clave consorcio indica las iniciales del sitio (dos letras) y el estado (M = Michoacán) del muestreo seguido de iniciales (una o dos letras) de la localidad de colecta. <sup>‡</sup> Según Trinidad-Cruz *et al.* (2017b).

<sup>†</sup> Consortium code indicates the initials of the site (two letters) and the state (M = Michoacán) of the sampling followed by initials (one or two letters) of the collection location. <sup>‡</sup> According to Trinidad-Cruz *et al.* (2017b).

## Condiciones de Trasplante e Inoculación de Plántulas de Papaya con HMA

Plántulas de papaya con dos hojas verdaderas y crecimiento similar, se trasplantaron a recipientes (bolsas negras de polietileno calibre 400, 30 × 30 cm) con 3 kg de mezcla previamente humedecida. En tratamientos sin inoculación, el trasplante se realizó sembrando una plántula en el centro de la maceta. En tratamientos con inoculación, ésta se realizó espolvoreando la raíz de la plántula al momento del trasplante con 80 esporas de HMA contenidas en arena. Durante el experimento los riegos se hicieron de acuerdo con las necesidades hídricas de las papayas de acuerdo al tamaño de la planta durante el desarrollo del experimento.

## Diseño de Tratamientos y Experimental, Análisis Estadístico de Datos

Se establecieron once tratamientos, del uno al ocho correspondieron a la inoculación micorrízica con los consorcios micorrízicos: 1) EH-ME, 2) LC ME, 3) CR-ME, 4) EL-MTu, 5) AD-MTu, 6) PA-MT, 7) BN-MT, 8) CM-MT (Cuadro 1); 9) cepa de referencia *C. claroideum*; 10) biofertilizante comercial (EndoMic®); 11) control sin HMA. Para determinar la efectividad de los inóculos de HMA nativos de agave como promotores de crecimiento vegetal en papaya, 100 días después del trasplante (DDT) se evaluaron seis variables de crecimiento: altura de planta (AP), determinada en mm; diámetro del tallo (DT), determinado con un vernier digital (Surtek, Grupo Urrea®); biomasa seca de follaje (BSF) y de raíz (BSR), para su determinación las plantas se secaron en estufa a 65 °C, hasta peso constante; biomasa seca total (BST), calculada con la sumatoria de la BSF y BSR; área foliar (AF), en cm<sup>2</sup>, de forma manual, con un integrador automático del área foliar (LI-3100-LI-COR). El Índice Relativo de Dependencia Micorrízica (IRDM), basado en el método propuesto por Plenchette *et al.* (1983) se usó para determinar el nivel de necesidad de las plantas hacia los HMA. Como variables de respuesta de los HMA a la planta se consideraron el porcentaje de colonización micorrízica (PCM) mediante la técnica propuesta por McGonigle *et al.* (1990) modificada, para lo cual las raíces fueron clareadas y teñidas (Phillips y Hayman, 1970), así como la densidad de esporas en 100 g de suelo seco (DE), cuya extracción se realizó por el método de tamizado

húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963); el conteo de esporas se realizó de manera visual y con un contador manual, colocando bajo el estereomicroscopio (VE-S5C, Velab<sup>MR</sup>); el tamizado con agua en una caja de Petri (90 mm) cuadrada. Por último, se determinó el porcentaje de incremento de plantas micorrizadas con respecto a plantas sin micorrizar (PIPM) para las variables AP y BST, mediante la ecuación  $PIPM = [((AP \text{ o } BST \text{ de planta micorrizada} / AP \text{ o } BST \text{ de planta no micorrizada}) (100)) - 100]$ .

El diseño experimental fue bloques al azar, con 11 tratamientos y 10 bloques, la unidad experimental (UE) fue una maceta con una planta de papaya y se tuvieron 10 UE por tratamiento. Se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias Tukey ( $P \leq 0.05$ ) para cada variable de respuesta y se hizo un análisis de correlación de las variables de crecimiento con la variable DE mediante el programa Statgraphics (StatPoint Inc., 2005). Las variables BSF, BSR y BST fueron transformadas con  $\text{Log}_{10}$ , AF con su inverso y DE con raíz cuadrada previo a su análisis estadístico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Los HMA Nativos Promueven el Crecimiento Vegetal en Plantas de Papaya

El efecto de los inóculos de los consorcios de los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) como promotores de crecimiento vegetal en papaya, fue estadísticamente diferente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ) en la mayoría de las variables de crecimiento evaluadas (Cuadro 2); los inóculos de HMA: CM-MT y EL-MTu promovieron el crecimiento de las plantas en algunas variables de crecimiento evaluadas en comparación con los otros seis inóculos y testigos (Figura 1 y Cuadro 2). Sin embargo; otros consorcios, como BN-MT y AD-MTu también mostraron en AP, DT y PSF diferencias significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ) con respecto al tratamiento sin inoculación de HMA. Estos cuatro inóculos nativos de agave provienen de los municipios de Morelia y Tzitzio, uno de ellos (CM-MT) fue aislado de rizósfera de agave silvestre, el resto se aislaron de agaves cultivados. Con respecto a los porcentajes de incremento en el crecimiento de las plantas para AP fue de 60% con CM-MT y para BST de 240% con AD-MTu. De los inóculos nativos, el tratamiento menos efectivo fue CR-ME, con incrementos con respecto

**Cuadro 2. Efecto de los consorcios micorrízicos en el crecimiento de plantas de papaya en condiciones de invernadero a 100 días después del trasplante.**

**Table 2. Effect of mycorrhizal consortia on the growth of papaya plants under greenhouse conditions 100 days after transplantation.**

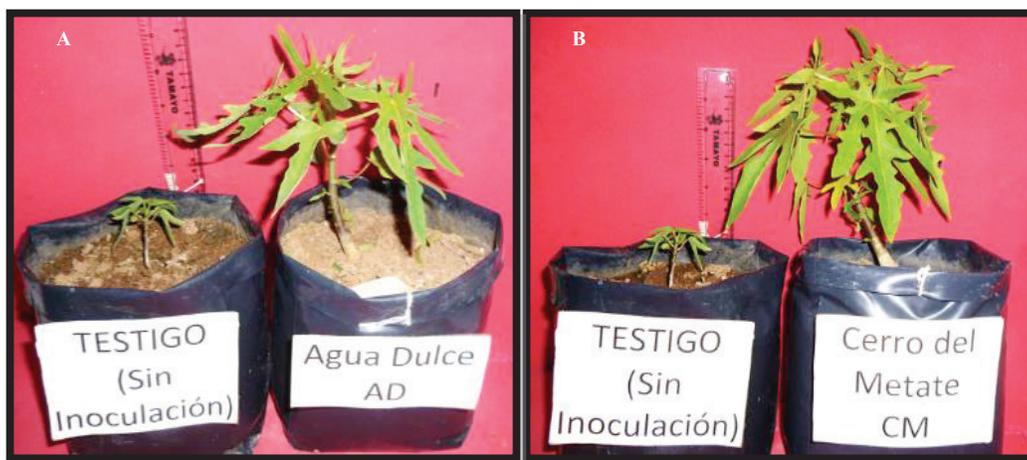
| Tratamiento <sup>†</sup><br>(inoculo HMA) | Altura de planta      | Diámetro de tallo | Biomasa seca de follaje | Biomasa seca de raíz | Área foliar     |
|---|-----------------------|-------------------|-------------------------|----------------------|-----------------|
|   | ----- cm -----        |                   | ----- g -----           |                      | cm <sup>2</sup> |
| EH-ME                                     | 11.5 abc <sup>‡</sup> | 0.694 bc          | 0.67 b                  | 1.95 abcd            | 119.7 ab        |
| LC-ME                                     | 11.6 abc              | 0.755 abc         | 1.53 ab                 | 2.30 abc             | 169.0 a         |
| CR-ME                                     | 9.8 abc               | 0.636 bc          | 0.76 ab                 | 1.15 bcd             | 74.8 ab         |
| EL-MTu                                    | 12.1 ab               | 0.843 ab          | 1.34 ab                 | 2.40 ab              | 125.0 ab        |
| AD-MTu                                    | 10.9 abc              | 0.942 ab          | 1.89 ab                 | 3.17 a               | 181.7 a         |
| PA-MT                                     | 11.6 abc              | 0.791 abc         | 1.56 ab                 | 2.44 ab              | 154.3 ab        |
| BN-MT                                     | 11.8 ab               | 0.851 ab          | 1.19 ab                 | 1.71 abcd            | 111.6 ab        |
| CM-MT                                     | 13.3 a                | 1.064 a           | 2.02 a                  | 3.13 a               | 152.8 ab        |
| <i>C. claroideum</i>                      | 10.0 abc              | 0.651 bc          | 1.09 ab                 | 1.54 abcd            | 119.6 ab        |
| EndoMic®                                  | 7.7 c                 | 0.497 c           | 0.81 ab                 | 0.91 cd              | 67.7 ab         |
| Sin HMA                                   | 8.3 bc                | 0.517 c           | 0.68 ab                 | 0.87 d               | 56.3 b          |

<sup>†</sup> Clave: El Huizachal (EH-ME), Las Campesinas (LC-ME); Rancho Carlos Rojas (CR-ME), El Limón (EL-MTu), Agua Dulce (AD-MTu), Paso Ancho (PA-MT), Barranca de las Nueces (BN-MT), Cerro del Metate (CM-MT). <sup>‡</sup> Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey;  $P \leq 0.05$ ). <sup>†</sup> Key: El Huizachal (EH-ME), Las Campesinas (LC-ME); Rancho Carlos Rojas (CR-ME), El Limón (EL-MTu), Agua Dulce (AD-MTu), Paso Ancho (PA-MT), Barranca de las Nueces (BN-MT), Cerro del Metate (CM-MT). <sup>‡</sup> Different letters in the same column indicate significant differences (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

al testigo sin HMA para AP y BST de solo 18 y 20% respectivamente (Figura 2). Los resultados indican que los inóculos CM-MT, EL-MTu, BN-MT y AD-MTu fueron eficientes como promotores de crecimiento de las plantas de papaya, algunos de ellos promovieron crecimiento en altura (inóculo CM-MT) y otros en

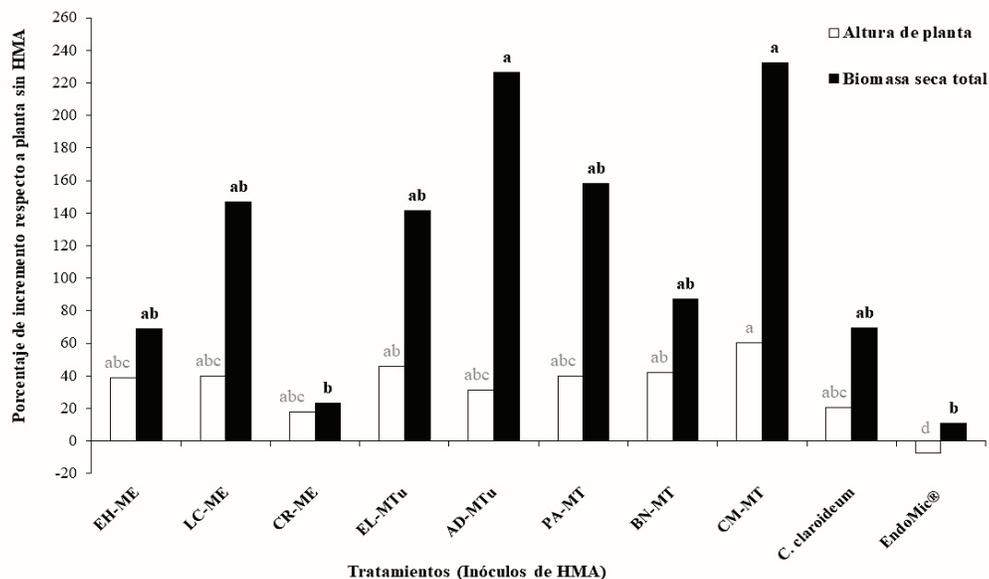
acumulación de biomasa seca (inóculos AD-MTu y CM-MT) (Figura 2).

La cepa de referencia *C. claroideum* mostró significativamente los menores valores de crecimiento y junto con el biofertilizante comercial EndoMic® y el testigo sin HMA fueron los tratamientos que produjeron



**Figura 1. Plantas de papaya inoculadas con los HMA AD-MTu (A) y CM-MT (B) a 100 días después del trasplante comparadas con plantas testigo sin HMA en invernadero.**

**Figure 1. Papaya plants inoculated with the AMF AD-MTu (A) and CM-MT (B) at 100 days after transplantation compared to control plants without AMF in the greenhouse.**



**Figura 2. Incrementos en crecimiento de plantas de papaya micorrizadas con respecto a plantas sin hongo micorrizico arbuscular (HMA) en condiciones de invernadero.** Letras distintas en el mismo tipo de variable de respuesta (color de rectángulo) indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

**Figure 2. Growth increments of mycorrhized papaya plants with respect to plants without arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) under greenhouse conditions.** Different letters in the same type of response variable (rectangle color) indicate significant differences, according to the Tukey test ( $P \leq 0.05$ ).

la menor respuesta al crecimiento en papaya. No obstante que el biofertilizante comercial (EndoMic®) se recomienda para gramíneas, leguminosas, frutales (entre ellos papaya), hortalizas, ornamentales, etc., los resultados evidencian que no sólo no funcionó eficientemente, si no que, fue perjudicial para la papaya ya que ocasionó un decremento de -7.2% en el crecimiento de las plantas (AP) con respecto al testigo sin inocular (Figura 2). Estos resultados ponen de manifiesto que el empleo de consorcios de HMA de origen regional muestran mayor efecto en el crecimiento y por tanto, podrían ser adecuados para la elaboración de bioinoculantes con potencial para su comercialización como biofertilizantes, debido que a partir de ellos podrán esperarse mejores respuestas de crecimiento vegetal que las producidas por biofertilizantes con HMA de un origen lejano al lugar donde se empleará.

Actualmente existen en el mercado variedad de biofertilizantes a base de HMA (por ejemplo, la micorriza-INIFAP®, la micorriza de Biosustenta®, etc.); sin embargo, la mayoría de éstos contienen propágulos (esporas, hifas y fragmentos de raíz) del HMA *Rhizophagus intraradices* (sinónimo *G.*

*intraradices*) que muchas veces suele ser recomendada como cepa universal para todo tipo de plantas y condiciones, por lo que *R. intraradices* es introducida cada vez más en los campos agrícolas mexicanos, sin la certeza de que los resultados obtenidos serán los mejores y del impacto que se ocasionará en los agroecosistemas por la introducción de cepas exóticas (Alarcón *et al.*, 2012). Al respecto Armenta *et al.* (2010) indican que para México “la utilización de cepas nativas de microorganismos en la elaboración de biofertilizantes, presentan mayores posibilidades de efectividad en el campo, por estar adaptados a las condiciones del suelo de cada región”.

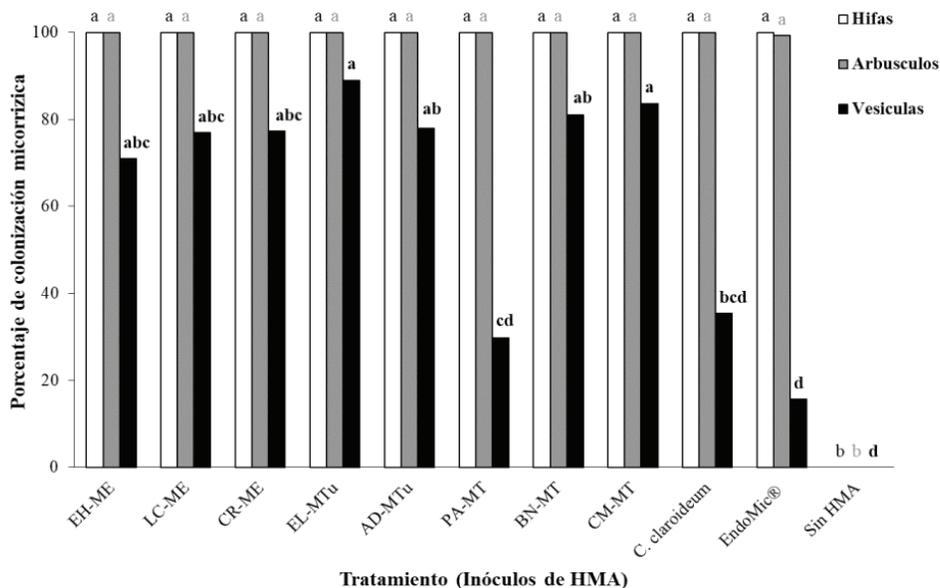
Los consorcios de HMA provenientes de suelos rizosféricos de *A. cupreata* utilizados en el presente estudio, fueron probados en otros cultivos de importancia económica, en los que también mostraron su eficiencia. En chile serrano (*Capsicum annum* L.) el inóculo CR-ME promovió significativamente el crecimiento en AP, mientras que en maíz fue el CM-MT y en frijol el AD-MTu (Reyes-Tena *et al.*, 2015). Asimismo, los datos de la presente investigación, indican una preferencia de los consorcios hacia ciertas especies vegetales, según la respuesta de las plantas en

términos de crecimiento, ya que mientras los inóculos CM-MT y AD-MTu fueron eficientes para dos especies vegetales, el primero para papaya y maíz (Reyes-Tena *et al.*, 2015), y el segundo para papaya y frijol (Reyes-Tena *et al.*, 2015); el inóculo CR-ME solo fue adecuado para chile (Reyes-Tena *et al.*, 2015). Por otra parte, los consorcios provenientes de agave, al estar integrados por una mezcla de especies de HMA, tienen la posibilidad de complementar los requerimientos de su planta hospedera, dado que ésta tiene varias posibilidades para elegir al HMA más afín a ella (Ochoa y Montoya, 2010). Los resultados del presente estudio indican un efecto positivo en el crecimiento vegetal por los consorcios, éste efecto es similar al reportado en cultivos tropicales inoculados con HMA; por ejemplo, en un trabajo en condiciones de vivero con *C. papaya* (cinco meses) y *Ananas comosus* L. (siete meses), Rodríguez-Romero *et al.* (2011) informaron un mayor crecimiento en plantas inoculadas con *Funneliformis mosseae* (sinónimo *G. mosseae*) y fertilizadas con  $18.3 \text{ mg kg}^{-1}$  de P, que en plantas únicamente fertilizadas con  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  de P, lo que muestra que la micorrización ayuda a promover el crecimiento de las plantas sin aplicación de altos niveles de fertilización fosfatada en vivero.

### La Papaya es Fuertemente Colonizada por los HMA Nativos

Como un indicador de la eficiencia y funcionalidad de los inóculos en las plantas de papaya, se determinó la colonización micorrízica (PCM) por estructura fúngica a los 100 días después del trasplante (Figura 3). Los resultados muestran que todos los inóculos de HMA colonizaron abundantemente las raíces de las plantas; sin embargo, aunque los PCM por hifas y arbusculos fueron de 100%, no todos los inóculos estimularon eficientemente el crecimiento vegetal. La papaya es una especie vegetal que alcanza altos porcentajes de colonización, cuando es inoculada expresamente, además hay evidencias que su cultivo en ausencia de HMA y en suelos pobres, presentan crecimiento nulo (Quiñones-Aguilar *et al.*, 2012; 2014). Esta situación coloca a *C. papaya* como una especie sumamente dependiente de asociarse con los HMA.

Con respecto a la colonización por vesículas las diferencias entre tratamientos fueron significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Este aspecto es normal ya que las vesículas no son producidas por todas las especies de HMA, además de que al tratarse de estructuras de reserva, su presencia puede estar sujeta a cambios



**Figura 3. Colonización micorrízica en raíces de papaya inoculada con HMA a 100 días después del trasplante en condiciones de invernadero.** Letras distintas en el mismo tipo de rectángulo indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

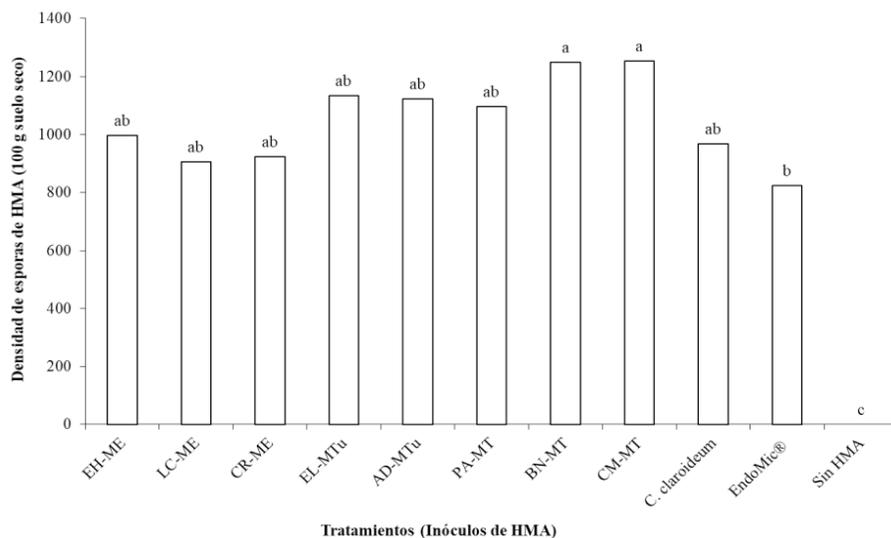
**Figure 3. Mycorrhizal colonization in roots of papaya inoculated with AMF 100 days after transplant under greenhouse conditions.** Different letters in the same type of rectangle indicate significant differences, according to the Tukey test ( $P \leq 0.05$ ).

constantes en el interior de la raíz. Aun así, éstas estuvieron presentes en todos los casos, incluso en plantas inoculadas con EndoMic®. Los resultados del presente trabajo muestran cierta selectividad, debido a que algunos HMA evaluados promovieron el crecimiento vegetal de las plantas, a pesar de haber logrado colonizar la raíz de papaya en su totalidad.

### La Densidad de Esporas de los HMA se Relaciona con el Crecimiento de Papaya

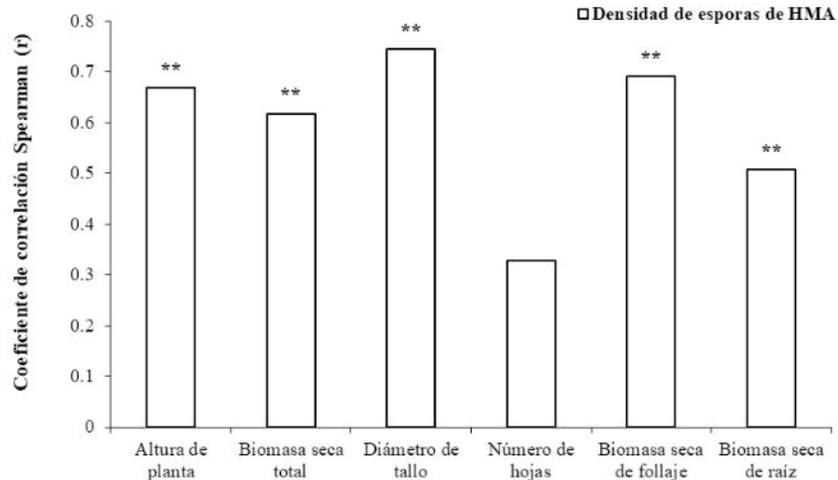
Las esporas formadas por los HMA contienen lípidos de reserva y carbohidratos, sus paredes son gruesas, resistentes y contienen quitina, son la fuente más definida de inóculo y los únicos propágulos empleados para la identificación de especies, siendo además de vital importancia para el aislamiento y establecimiento de cultivos de HMA con fines experimentales (Smith y Read, 2008). En la Figura 4 se muestra la densidad de esporas (DE) generada en la rizósfera de las plantas de papaya inoculadas con los consorcios micorrízicos, presentándose diferencias estadísticas entre los distintos tratamientos (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Los consorcios CM-MT, BN-MT y AD-MTu (1253, 1248 y 1123 esporas en 100 g de suelo seco, respectivamente) presentaron la mayor DE de HMA; por el contrario,

los valores más bajos de esporas estuvieron en plantas inoculadas con *C. claroideum* y EndoMic® (967 y 823 esporas 100 g de suelo seco respectivamente). Estos resultados sugieren que la respuesta en crecimiento de las plantas estuvo correlacionada positivamente con el grado de proliferación de esporas en la rizósfera (Figura 5), ya que el mayor crecimiento de las plantas se presentó cuando hubo mayor DE, esto puede relacionarse con el crecimiento de la planta, a mayor sistema de raíces hay mayor área de colonización y esporulación, y al haber un follaje más abundante el área fotosintética aumenta, lo que conlleva a un mayor abastecimiento de fotosintatos, necesarios para los HMA. Sylvia y Schenck (1983) indican que la esporulación puede estar relacionada con un incremento en la longitud del sistema de raíces, lo cual permite un mejor desarrollo de las esporas, en este sentido las plantas de papaya que respondieron a la micorrización, también incrementaron su sistema radical (Cuadro 2) y aumentaron su esporulación (Figura 4). Se observó que a pesar de que los consorcios de HMA colonizaron las raíces de las plantas en 100% (Figura 3), no todos promovieron su crecimiento (Cuadro 2); la colonización tampoco estuvo relacionada con la DE, lo cual coincide con numerosas evidencias que señalan que no existe una relación directa entre los niveles de colonización y



**Figura 4. Densidad de esporas de distintos consorcios de HMA producidos en plantas de papaya a 100 días después del trasplante en condiciones de invernadero.** Letras distintas indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

**Figure 4. Density of spores from different AMF consortia produced in papaya plants 100 days after transplant under greenhouse conditions.** Different letters indicate significant differences, according to the Tukey test ( $P \leq 0.05$ ).



**Figura 5. Relación de los variables de crecimiento con la densidad de esporas de HMA en plantas de papaya a 100 días después del trasplante en condiciones de invernadero. \*\* indican que  $r \neq 0$  ( $P \leq 0.01$ ).**

**Figure 5. Relationship of the growth variables with the density of AMF spores in papaya plants at 100 days after transplant under greenhouse conditions. \*\* indicate that  $r \neq 0$  ( $P \leq 0.01$ ).**

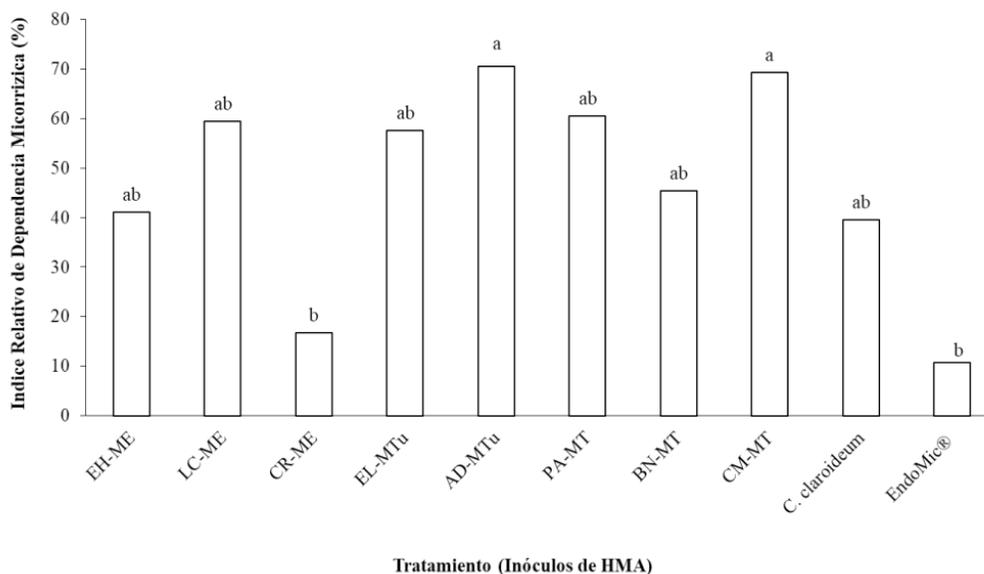
de esporulación. La diferencia en la DE también pudo deberse a las condiciones experimentales (sustrato de baja fertilidad), dado que no todas las especies de HMA presentes en los distintos inóculos, tienen los mismos requerimientos para cumplir con eficiencia su ciclo de vida. Al respecto, Moreira *et al.* (2007) mencionan que factores como temperatura, luminosidad, tipo de suelo, exudados radicales e interacción con otros microorganismos podrían influir sobre las especies de HMA y su esporulación. Por su lado Sieverding (1991) menciona que las características del suelo suelen ser determinantes en el desarrollo de los HMA.

Los consorcios de HMA Agua Dulce (AD-MTu), Cerro del Metate (CM-MT), Paso Ancho (PA-MT) y Las Campesinas (LC-ME) promovieron el crecimiento vegetal, este resultado también se apoya por la correlación positiva encontrada entre la respuesta en crecimiento de las plantas con el número de esporas. Los coeficientes de correlación ( $r$ ) más altos fueron con DT, AP y BSF (Figura 5). Los pocos nutrientes, según la Norma Oficial Mexicana (NOM-021-RECNAT-2000, 2002), presentes en el sustrato empleado (N, P y K de 5, 13 y 38 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente), estuvieron disponibles para las plantas vía la simbiosis micorrízica, por lo que las plantas de papaya necesitan asociarse con HMA en suelos pobres para crecer. Se puede remarcar que las plantas de papaya sin HMA su crecimiento fue mínimo (Figura 1), mientras que las plantas que

tuvieron consorcios las variables de crecimiento se incrementaron significativamente, esto pudiera deberse en parte, a la adaptación de los consorcios de HMA a las condiciones ambientales de la región, lo cual no sucedió ni con el biofertilizante ni con la cepa *C. claroideum* que provenían de lugares muy lejanos al sitio de la experimentación.

### Índice Relativo de Dependencia Micorrízica (IRDM) de Papaya hacia los HMA Nativos

En 1975, Menge definió dependencia micorrízica como el grado al cual una planta depende de la micorrización para producir su máximo crecimiento o rendimiento a un nivel dado de fertilidad en el suelo. Aunque en la naturaleza cerca de 80% de las plantas forman micorriza arbuscular (Smith y Read, 2008), la necesidad de las especies vegetales a ésta puede depender del nivel de fertilidad que tenga el suelo (Plenchette *et al.*, 1983). En el presente estudio se determinó la dependencia micorrízica (DM) mediante el IRDM de la papaya Maradol a los inóculos de HMA provenientes de campos agaveros, en un suelo pobre en nitrógeno y fósforo (5 y 13 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente) de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-021-RECNAT-2000, 2002). Los resultados de DM mostraron niveles variables, esto dependió del consorcio de HMA (Figura 6). Los grados de DM dados en porcentaje del



**Figura 6. Índice relativo de dependencia micorrízica (IRDM) en papaya inoculada con distintos consorcios y especies de HMA a 100 días después del trasplante en condiciones de invernadero.** Letras distintas indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

**Figure 6. Relative index of mycorrhizal dependence (IRDM) in papaya inoculated with different consortia and AMF species 100 days after transplant under greenhouse conditions.** Different letters indicate significant differences, according to the Tukey test ( $P \leq 0.05$ ).

IRDM estuvieron entre 10 y 70%. Los consorcios AD-MTu y CM-MT exhibieron los IRDM más altos, mientras que los inóculos CR-ME y EndoMic® presentaron los menores valores de dependencia. Esto sugiere que además del nivel de fertilidad en el suelo, los niveles de DM pueden ser afectados por la cepa o consorcio de HMA inoculado independientemente del porcentaje de colonización micorrízica, dado que todos los inóculos de HMA tuvieron una colonización por arbuscúlos de 100% (Figura 3). No obstante, la DM está relacionada con los inóculos que promovieron el crecimiento de la planta (AD-MTu y CM-MT), por lo que el inóculo más deficiente en la promoción de crecimiento (EndoMic®) solo tuvo una DM de 10%. Al respecto, existen estudios que indican que a pesar de que el genoma de la papaya determina la dependencia micorrízica, ya que distintas variedades inoculadas con los mismos HMA y dosis de P responden diferencialmente a la micorrización (Trindade *et al.*, 2001), también la especie de HMA es importante para inducir esta respuesta (Khade y Rodrigues, 2009). Quiñones-Aguilar *et al.* (2016) mostraron que los inóculos CM y AD tuvieron una dependencia micorrízica alta empleando como planta hospedera a *Agave inaequidens*. Estos últimos datos en conjunto con los obtenidos en el presente estudio

apuntan hacia la existencia de diferentes niveles de afinidad entre la especie vegetal y las especies o consorcios de HMA.

## CONCLUSIONES

Las plantas de papaya respondieron positivamente a la inoculación con los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA). Los consorcios de HMA provenientes de la rizósfera de *A. cupreata* del estado de Michoacán, manifestaron un efecto significativo en crecimiento vegetal de papaya, en comparación con el biofertilizante comercial EndoMic® (*Glomus hoi* like) o la cepa de referencia *Claroideoglomus claroideum*. Los consorcios de HMA CM-MT, AD-MTu, BN-MT y EL-MTu mostraron el mayor efecto significativo en el crecimiento en plantas de papaya.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo de los proyectos MICH-2010-03-148208 (FOMIX-Michoacán CONACyT) y 293362 del CONACyT a través del Laboratorio Nacional PLANTECC.

## LITERATURA CITADA

- Alarcón, A., L. V. Hernández-Cuevas, R. Ferrera-Cerrato, and A. Franco-Ramírez. 2012. Diversity and agricultural applications of arbuscular mycorrhizal fungi in México. *J. Biofert. Biopestici.* 3: 115-124. doi: 10.4172/2155-6202.1000115.
- Armenta B., A. D., C. García, J. R. Camacho, M. A. Apodaca, L. G. Montoya y E. Nava. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai* 6: 51-56.
- Bashan, Y. 2007. El uso de inoculantes microbianos como una importante contribución al futuro de la agricultura mexicana. pp. 17-24. *In*: A. Díaz-Franco y N. Mayek-Pérez. (eds.). La biofertilización como tecnología sostenible. Plaza y Valdés. México.
- Bloemberg, G. V. and B. J. Lugtenberg. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 343-350. doi: 10.1016/S1369-5266(00)00183-7.
- Camprubi, A., V. Estaun, and C. Calver. 2011. Greenhouse inoculation of psammophilic plant species with arbuscular mycorrhizal fungi to improve survival and early growth. *Eur. J. Soil Biol.* 47: 194-197. doi: 10.1016/j.ejsobi.2011.02.001.
- Currie, A. F., P. J. Murray, and A. C. Gange. 2011. Is a specialist root-feeding insect affected by arbuscular mycorrhizal fungi? *Appl. Soil Ecol.* 47: 77-83. doi: 10.1016/j.apsoil.2010.12.002.
- Eisenhauer, N., H. Beßler, C. Engels, G. Gleixner, M. Habekost, A. Milcu, S. Partsch, A. C. W. Sabais, C. Scherber, S. Steinbeiss, A. Weigelt, W. W. Weisser, and S. Scheu. 2010. Plant diversity effects on soil microorganisms support the singular hypothesis. *Ecology* 91: 485-496. doi: 10.1890/08-2338.1.
- Gerdemann, J. W. and T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46: 235-244. doi: 10.1016/S0007-1536(63)80079-0.
- González C., M. C., R. Ferrera-Cerrato, R. García y A. Martínez. 1990. La fijación biológica de nitrógeno en un agroecosistema de bajo ingreso externo de energía en Tamulté de las Sabanas, Tabasco. *Agrociencia* 24: 133-153.
- Hartmann, A., M. Schmid, D. van Tuinen, and G. Berg. 2009. Plant-driven selection of microbes. *Plant Soil* 321: 235-257. doi: 10.1007/s11104-008-9814-y.
- Hernández-Cuevas, L., V. Guerra de la Cruz, G. Santiago-Martínez, and P. Cuatlal-Cuahutencos. 2011. Propagation and mycorrhization of native plants with soil restoration potential. *Rev. Mex. Cienc. For.* 2: 87-96.
- Hinsinger, P. and P. Marschner. 2006. Rhizosphere conference 2004: perspectives and challenges, a tribute to Lorenz Hiltner. *Plant Soil* 283: VII-VIII. doi: 10.1007/s11104-006-0057-5.
- Khade, W. S. and B. F. Rodrigues. 2009. Studies on arbuscular mycorrhization of papaya. *Afr. Crop Sci. J.* 17: 155-165. doi: 10.4314/acsj.v17i3.54215.
- Maiquetía, M., A. Cáceres, and A. Herrera. 2009. Mycorrhization and phosphorus nutrition affect water relation and CAM induction by drought in seedlings of *Clusia minor*. *Ann. Bot.* 103: 525-532. doi: 10.1093/aob/mcn238.
- McGonigle, T. P., M. H. Miller, D. G. Evans, G. L. Fairchild, and J. A. Swan. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501. doi: 10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x.
- Moreira, M., M. A. Nogueira, S. M. Tsai, S. M. Gomes-da-Costa, and E. J. B. N. Cardoso. 2007. Sporulation and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazil pine in the field and in the greenhouse. *Mycorrhiza* 17: 519-526. doi: 10.1007/s00572-007-0124-7.
- NOM-021-RECNAT-2000 (Norma Oficial Mexicana). 2002. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. SEMARNAT. México, D. F.
- Ochoa C., D. C. y A. Montoya R. 2010. Consorcios microbianos: Una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. *Rev. Fac. Cienc. Econ.* 18: 55-74. doi: 10.18359/rfce.2272
- Ozgonen, H. and A. Erkilic. 2007. Growth enhancement and Phytophthora blight (*Phytophthora capsici* Leonian) control by arbuscular mycorrhizal fungal inoculation in pepper. *Crop Prot.* 26: 1682-1688. doi: 10.1016/j.cropro.2007.02.010
- Padilla-Ramírez, F. J. y J. L. Hernández-Mendoza. 2007. Presentación. pp. 15-16. *In*: A. Díaz-Franco y N. Mayek-Pérez. (eds.). La biofertilización como tecnología sostenible. Plaza y Valdés. México, D. F.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161. doi: 10.1016/S0007-1536(70)80110-3.
- Plenchette, C., J. A. Fortin, and V. Furlan. 1983. Growth response of several plant species to mycorrhiza in a soil of moderate P fertility. I: Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant Soil* 70: 199-209. doi: 10.1007/BF02374780.
- Quiñones-Aguilar, E. E., A. M. Montoya-Martínez, G. Rincón-Enríquez, P. Lobit, and L. López-Pérez. 2016. Effectiveness of native arbuscular mycorrhizal consortia on the growth of *Agave inaequidens*. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 16: 1052-1064. doi: 10.4067/S0718-95162016005000077.
- Quiñones-Aguilar, E. E., E. Hernández-Acosta, G. Rincón-Enríquez y R. Ferrera-Cerrato. 2012. Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya. *Terra Latinoamericana* 30: 165-176.
- Quiñones-Aguilar, E. E., L. López-Pérez, and G. Rincón-Enríquez. 2014. Growth dynamics of papaya due to mycorrhizal inoculation and phosphorous fertilization. *Rev. Chapingo Serie Hortic.* 20: 223-237. doi: 10.5154/r.rchsh.2013.05.018.
- Rabie, G. H. 2005. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of soil rhizosphere spiked with poly aromatic hydrocarbons. *Mycobiology* 33: 41-50. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2005.33.1.041>.
- Reyes-Tena, A., L. López-Pérez, E. E. Quiñones-Aguilar y G. Rincón-Enríquez. 2015. Evaluación de consorcios micorrízicos arbusculares en el crecimiento vegetal de plantas de maíz, chile y frijol. *Rev. Biol.* 17: 35-42.
- Rodríguez-Romero, A. S., R. Azcón, and M. C. Jaizme-Vega. 2011. Early mycorrhization of two tropical crops, papaya (*Carica papaya* L.) and pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.] reduces the necessity of P fertilization during the nursery stage. *Fruits* 66: 3-10. doi: 10.1051/fruits/2010036.
- Ruiz-Font, A. 2008. Biodiversidad del suelo, conservación de la naturaleza y sostenibilidad. *Tecnol. Marcha* 21: 184-190.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. *Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH*. Eschborn, Germany.

- Smith, S. E. and D. J. Read. 2008. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London. UK.
- StatPoint Inc. 2005. StatGraphics Centurion XV version 15.02.06. www.statgraphics.com. Warrenton, VA, USA.
- Sylvia, D. M. and N. C. Schenck. 1983. Germination of chlamydospores of three *Glomus* species as affected by soil matric potential and fungal contamination. *Mycologia* 75: 30-35. doi: 10.2307/3792920.
- Trindade, A. V., J. O. Siqueira e F. Pinto de Almeida. 2001. Dependência micorrízica de variedades comerciais de mamoeiro. *Pesq. Agropec. Bras.* 36: 1485-1494. doi: 10.1590/S0100-204X2001001200006.
- Trinidad-Cruz, J. R., E. E. Quiñones-Aguilar, G. Rincón-Enríques, L. López-Pérez, and L. V. Hernández-Cuevas. 2017a. Mycorrhization of *Agave cupreata*: Biocontrol of *Fusarium oxysporum* and plant growth promotion. *Rev. Mex. Fitopat.* 35: 151-169. doi: 10.18781/R.MEX.FIT.1607-5.
- Trinidad-Cruz, J. R., E. E. Quiñones-Aguilar, L. V. Hernández-Cuevas, L. López-Pérez y G. Rincón-Enríquez. 2017b. Hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizosfera de *Agave cupreata* Trel. & Berger en regiones mezcaleras del estado de Michoacán, México. *Sci. Fungorum* 45: 13-25.