

**Centro de Investigación Científica y de Educación  
Superior de Ensenada, Baja California**



---

**Maestría en Ciencias  
en Ciencias de la Vida con orientación en Biología  
Ambiental**

---

**Hongos micorrízicos asociados a *Solanum hindsianum***

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias

Presenta:

Rodrigo Montana Torres Chávez

Ensenada, Baja California, México

2018

Tesis defendida por

**Rodrigo Montana Torres Chávez**

y aprobada por el siguiente Comité

---

**Dra. Rufina Hernández Martínez**  
Directora de tesis

Miembros del comité

**Dr. Stephen Bullock Runquist**

**Dra. Carmen Paniagua Chávez**



---

**Dr. Clara Elizabeth Galindo Sánchez**  
Coordinador del Posgrado en Ciencias de la Vida

---

**Dra. Rufina Hernández Martínez**  
Directora de Estudios de Posgrado

Rodrigo Montana Torres Chávez, 2018

*Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis.*

Resumen de la tesis que presenta **Rodrigo Montana Torres Chávez** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ciencias de la Vida con orientación en Biología Ambiental.

### **Hongos micorrizicos asociados a *Solanum hindsianum***

Resumen aprobado por:

---

Dra. Rufina Hernández Martínez  
**Directora de tesis**

Los hongos son integrantes fundamentales en la biota de los suelos; algunos forman relaciones simbióticas con las plantas, denominadas micorrizas, presentes en 90% de las plantas vasculares y cultivadas. En esta simbiosis, las plantas mejoran su capacidad para obtener agua y nutrientes, así como su tolerancia a condiciones ambientales de estrés u agentes patógenos. Baja California alberga una diversidad de climas, con una alta proporción de regiones áridas. Estudios anteriores reportan la presencia de hongos micorrízicos en algunas plantas de la región, entre ellas el arbusto *Solanum hindsianum*. Este arbusto de la familia de las solanáceas, presenta potencial de albergar especies novedosas de hongos micorrízicos (HM), posiblemente adaptadas al clima extremo en donde se desarrollan. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar hongos asociados a las raíces de *S. hindsianum* y evaluar su capacidad para colonizar plantas comerciales de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en condiciones de invernadero. Se encontraron hongos micorrízicos colonizando las raíces de *S. hindsianum* en todos los sitios de muestreo; del suelo se aislaron e identificaron 10 especies de HM, y algunos morfotipos pertenecientes a los géneros *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora*, siendo *Glomus* el género con mayor cantidad de especies representadas en el muestreo. Las plantas trampa de tomate fueron colonizadas por los HM presentes en el suelo de muestreo; de estas fue posible re aislar morfotipos de HM del género *Glomus*, así como un grupo inusual de hongos presentes en las raíces, con esporas hialinas de características morfológicas distintas a las del grupo de Glomeromycota.

**Palabras clave:** ecología microbiana, micorrizas arbusculares, simbiosis.

Abstract of the thesis presented by **Rodrigo Montana Torres Chávez** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Life Sciences with orientation in Environmental Biology.

***Mycorrhizal fungi associated with *Solanum hindsianum****

Abstract approved by:

---

Dra. Rufina Hernández Martínez  
Thesis Director

Fungi are a fundamental component to the soil biota; some form symbiotic relationships with plants, called mycorrhizae, present in 90% of vascular and cultivated plants. In this symbiosis, the plants improve their capacity to obtain water and nutrients, as well as their tolerance to harsh growing conditions and plant pathogens. Baja California hosts a diversity of climates, with a high proportion of arid regions. Previous studies reported the presence of mycorrhizal fungi in some plants of the region, among them the shrub *Solanum hindsianum*. This shrub, of the Solanaceae family, potentially hosts new species of mycorrhizal fungi (HM), possibly adapted to the extreme climate in which it grows. The objective of this work was to isolate and to identify fungi associated with the roots of *S. hindsianum* and to evaluate their capacity to colonize commercial tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) under greenhouse conditions. HM were found colonizing the roots of *S. hindsianum* in the twenty selected sampling sites. Ten HM species were isolated and identified from the soil, from morphotypes belonging to the genera *Glomus*, *Acaulospora* and *Scutellospora*. *Glomus* was the genus with the highest number of species found in the samples. Tomato trap plants were colonized by few HM present in the soil collected from the rhizosphere of *S. hindsianum*; from them, it was possible to re-isolate HM morphotypes of the *Glomus* genus, as well as a group of fungi present in the roots, with morphological characteristics different from those of the Glomeromycota. This work contributes to the search for microorganisms that may be useful in agriculture in semi-arid regions.

**Key words:** microbial ecology, arbuscular mycorrhiza, symbiosis.

## Dedicatoria

A mis padres, por ser una fuente de inspiración, apoyo y empuje durante toda mi vida.

A la memoria de mi padre Alfonso Torres Badillo

A mi novia Cristina, que me ha acompañado, inspirado y dado fuerza y amor durante el transcurso de la maestría.

A las mentes curiosas y apasionadas, que con sus granos de arena van construyendo una mejor visión del mundo para las generaciones venideras. Por inspirarme y para seguir inspirando.

A el reino Fungi, por cautivar mi atención desde niño con su efímera y misteriosa vida; por su grandeza e infinitud; por su gran potencial.

## Agradecimientos

Agradezco al CICESE y al Departamento de Ciencias de la Vida, por la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado; a los Departamento de Microbiología Experimental y Biología Ambiental, donde curse mis asignaturas, gracias por su enseñanza y apoyo.

Agradezco al CONACyT, por el financiamiento otorgado a través de una beca de manutención.

A mis padres, por apoyarme y buscar mi superación a lo largo de mi vida; por mostrarme el camino del conocimiento y la dedicación.

A mi comité de tesis formado por el Dr. Steve Bullock Runquist y la Dra. Carmen Paniagua Chávez, por sus valiosas observaciones y apoyo durante el transcurso de la maestría.

A la Dra. Rufina Hernández Martínez, por abrirme las puertas de su laboratorio y brindarme todo su apoyo desde mi tesis de licenciatura (2012) a la fecha; por su crítica constructiva, su consejo y su inagotable paciencia.

A Mario Salazar Eulogio López, por ayudarme en el proceso del muestreo; A Eulogio, por mostrarme otra cara de la península de Baja California.

## Tabla de contenido

Resumen.....	ii
Abstract.....	iii
<b>Dedicatoria.....</b>	<b>iv</b>
<b>Agradecimientos.....</b>	<b>v</b>
<b>Tabla de contenido.....</b>	<b>vi</b>
<b>Lista de figuras.....</b>	<b>viii</b>
<b>Lista de tablas.....</b>	<b>xi</b>
<b>Capítulo 1. Introducción.....</b>	<b>1</b>
1.1 Antecedentes.....	2
1.1.1 Funciones ecológicas de los hongos micorrízicos.....	3
1.1.2. Hongos micorrízicos en la agricultura.....	3
1.1.3 Hongos micorrízicos y salinidad.....	4
1.1.4 Hongos micorrízicos y plantas colonizadas bajo condiciones de estrés.....	5
1.1.5 Hongos micorrízicos y enfermedades de plantas.....	7
1.1.6 Antecedentes de hongos micorrízicos en zonas áridas.....	8
1.1.7 Antecedentes de hongos micorrízicos en Baja California.....	10
1.2 Justificación.....	11
1.3 Objetivos.....	11
1.3.1 Objetivo general.....	11
1.3.2 Objetivos específicos.....	11
<b>Capítulo 2. Metodología.....</b>	<b>12</b>
2.1 Área de estudio.....	12
2.2 Planta de estudio.....	13
2.3 Toma de muestras.....	15
2.3.1 Muestras de rizósfera.....	15
2.3.2 Muestra de raíces.....	15
2.3.3 Análisis de suelo.....	15
2.3.4 Extracción e identificación de esporas.....	15
2.4 Determinación de colonización de raíces por HM.....	16
2.5 Plantas trampa.....	16

<b>Capítulo 3. Resultados</b> .....	17
3.1 Asociación micorrízica .....	17
3.2 Aislamiento e identificación de esporas de rizósfera de <i>S. hindsianum</i> .....	19
3.3 Plantas trampa .....	31
<b>Capítulo 4. Discusión</b> .....	35
4.1 Colonización de raíces .....	35
4.2 Aislamiento de esporas .....	36
4.3 Plantas trampa .....	38
<b>Capítulo 5. Conclusiones</b> .....	39
<b>Literatura citada</b> .....	40

## Lista de figuras

Figura	Página	
1	Imagen satelital tomada de Google Maps mostrando los 20 sitios de muestreo realizados en la península de Baja California y Baja California Sur, México. Los números indican el sitio de muestreo.....	12
2	Un ejemplar de la especie <i>Solanum hindsianum</i> muestreada cerca de Bahía Asunción, BCS, en estado de floración.....	13
3	<i>Solanum hindsianum</i> Benth. A Rama en floración, B Rama en floración mostrando los tricomas estelados, C Yemas, D Corona, E Anteras, F Gineceo, G Rama en floración de un individuo con espinas anchas en el tallo, H Rama en floración con frutos maduros, I Frutos maduros con dehiscencia irregular, J Semilla. Ilustración de Bobbi Angell .....	14
4	Microfotografías de los hongos micorrízicos encontrados dentro de raíces teñidas de <i>S. hindsianum</i> en las muestras colectadas en los sitios Arroyo El Rosario (sitio 1) y Arroyo San Luis (sitio 5) de Baja California.....	17
5	Microfotografías de hongos micorrízicos encontrados en las raíces teñidas de <i>S. hindsianum</i> . <b>A</b> , primer plano de la raíz, mostrando las esporas distribuidas uniformemente en esta sección de la raíz. <b>B</b> , acercamiento de un grupo de esporas intraradicales. <b>C</b> , detalle de espора mostrando su pared y la hifa de germinación recta y en forma de embudo. <b>D</b> , detalle de una espора no identificada, mostrando 3 capas que forman la pared.....	18
6	Hongos de la especie <i>Glomus intraradices</i> presentes en la rizósfera en <i>S. hindsianum</i> . <b>A</b> , cúmulo de esporas. <b>B</b> , espора entera mostrando la hifa de sostén (hs) con el tubo de germinación (tg) en su interior; se aprecian la capa laminar (C1-2) y la capa más interna (C3). <b>C</b> , espора mostrando la hifa de germinación (hs) curva y rodeada de micelio interesporocarpico (mi). <b>D</b> , espора rota mostrando un acercamiento de la hifa de sostén, se aprecia el poro (po) del tubo germinal (tg), así como las capas (C1) mucilaginosa y (C2) laminar. ....	22
7	Morfotipos de <i>Glomus</i> spp. presentes en la rizósfera en <i>S. hindsianum</i> no identificadas a nivel de especie y por ello nombrados como: <b>A</b> . <i>Glomus</i> sp1, <b>B</b> . <i>Glomus</i> sp2, <b>C</b> . <i>Glomus</i> sp3 y <b>D</b> . <i>Glomus</i> sp4.	23

8	Morfotipos de <i>Glomus</i> spp. presentes en la rizósfera en <i>S. hindsianum</i> no identificadas a nivel de especie y por ello nombradas como: <b>A.</b> <i>Glomus</i> sp5, <b>B.</b> <i>Glomus</i> sp6, <b>C.</b> <i>Glomus</i> sp7 y <b>D.</b> <i>Glomus</i> sp8. .....	24
9	Morfotipos de <i>Glomus</i> spp. presentes en la rizósfera en <i>S. hindsianum</i> no identificadas a nivel de especie y por ello nombradas como: <b>A.</b> <i>Glomus</i> sp9, <b>B.</b> <i>Glomus</i> sp10, <b>C.</b> <i>Glomus</i> sp11 y <b>D.</b> <i>Glomus</i> sp12. ....	25
10	Morfotipos de <i>Glomus</i> spp. presentes en la rizósfera en <i>S. hindsianum</i> no identificados a nivel de especie y por ello nombradas como: <b>A.</b> <i>Glomus</i> sp13, <b>B.</b> <i>Glomus</i> sp14.....	26
11	Hongos micorrízicos presentes en la rizósfera en <i>S. hindsianum</i> . Espora de <i>Glomus chimonobambusae</i> , único ejemplar encontrado en el sitio Salorio ubicado en B.C. La espora tiene forma globosa a subglobosa a ovoide; color semihialino a amarillo pálido, con notable ornamentación en la pared externa; tamaño de 80-100 de diámetro y 100-180 µm de largo. ....	26
12	Esporas de <i>Glomus rubiforme</i> . <b>A.</b> <i>G. rubiforme</i> mostrando la hifa de sostén (hs) formada por dos capas (Chs 1-2) y los grupos de capas laminares de la espora (C1-2 y C3-4), <b>B.</b> <i>G. rubiforme</i> mostrando las capas laminares (C1-2 y C3-4) y la hifa de sostén, formada por dos capas (Chs 1-2) provenientes de C1-2, con notable poro de oclusión (po) en la parte inicial de la hifa.....	27
13	<b>A.</b> Detalles de <i>Glomus hoi</i> . Se aprecia la hifa de sostén, formada por 2 capas (Chs1-2). <b>B</b> <i>G. hoi</i> , mostrando la hifa de sostén en forma de embudo (hs); en su interior el tubo germinal (tg) y el poro de la oclusión (po). .....	27
14	Esporas identificadas hasta nivel de género, del grupo <i>Glomus</i> sp. A <i>G.sp.4</i> , espora Esporas de <i>Acaulospora</i> spp. <b>A.</b> <i>Acaulospora</i> leavis like. <b>B.</b> <i>A. bireticulata</i> . <b>C.</b> <i>Acaulospora</i> sp2- <i>delicata</i> like. <b>D.</b> espora semi-rotta de <i>Acaulospora</i> sp3 mostrando notable ornamentación en toda la capa exterior. C1-2, capas laminares; C 3-4, capas hialinas internas; hs, hifa de sostén.....	28
15	Esporas de <i>Acaulospora</i> sp. 1 <b>A.</b> espora completa mostrando la capa laminar (C1-2), y las capas semiflexibles (C 3-4). <b>B.</b> espora rota al aplicar presión, mostrando las capas laminares (C1-2) y las capas hialinas internas (C 3-4).....	29
16	Esporas de <i>Scutellospora</i> . <b>A.</b> Espora de <i>Scutellospora</i> sp.1 mostrando capa 1 con restos mucilaginosos (C1) y una capa laminar (C2). <b>B.</b> Espora de <i>Scutellospora</i> sp.2, mostrando hifa de sostén (hs) y el primer grupo capas de la espora (C1-2)	29

- dispuestos de forma laminar, y el grupo más interno se puede observar la presencia de 2 a 4 capas, (C3-4)  
 .....
- 17 **A**, Múltiples esporas intraradicales contenidas en un esporocarpio con características del género *Glomus*, rodeadas por un peridio (similar a *G. Aggregatum* - like). **B** esporocarpio con caracteres similares a los encontrados en especies de *Glomus* sp., ligeramente roto, con 8-10 esporas (es) en su interior, rodeadas por la pared del esporocarpio (pe), formada por una capa gruesa y laminar..... 30
- 18 Espora aislada no identificada, presentando una capa externa mucilaginoso color ámbar y una segunda capa C2 de apariencia laminar, rojiza..... 30
- 19 **A** Macetas cuadradas con las plantas trampa de tomate en crecimiento, **B** revisión de las raíces en fresco de tomate *Lycopersicon esculentum* observadas con un estereoscopio para el aislamiento y montaje de esporas. .... 31
- 20 Esporas de hongos micorrízicos asociados a plantas de tomate. **A**, esporocarpos encontrados adheridos en la periferia de raíces frescas y muertas. **B**, acercamiento de una espora obtenida del esporocarpio. .... 32
- 21 Esporas de hongos del género *Acaulospora* asociadas a plantas de tomate después de 6 meses de haber crecido sobre suelo colectado de la rizófera de *S. hindsianum*. Las esporas fueron aisladas en fresco y montadas en alcohol polivinílico. .... 32
- 22 Esporas de hongos del género *Glomus* aisladas en fresco asociadas a plantas de tomate después de 6 meses de haber crecido sobre suelo colectado de la rizófera de *S. hindsianum*. Las esporas fueron aisladas en fresco y montadas en alcohol polivinílico..... 33
- 23 **A** Grupo de esporas hialinas no identificadas; nótese los distintos caracteres morfológicos al comparar con esporas del género *Glomus*, como falta de paredes bien definidas, generalmente 2-4 en el grupo Glomeromycota, con grosores de 0.2 a 5  $\mu\text{m}$ , ausentes en estas esporas aisladas, **B** agrupación de esporas terminales unidas por micelio cenocítico, así como una posible espora en formación (flecha), **C** detalle del cuello de la espora (flecha), en forma de embudo circular, formada por 2 secciones, disminuyendo su tamaño hacia la base de la espora, **D** plano horizontal de la espora no identificada mostrando detalle de la hifa de sostén formado por una capa delgada. .... 34

## Lista de tablas

Tabla	Página
1 Esporas en 100 g de suelo, colonización de raíz (%) y análisis del suelo. N= Nitrógeno K/ha, P= Fósforo (ppm), M.O= Materia orgánica, E.C= Conductividad eléctrica de muestras de rizósfera de <i>S. hindsianum</i> . .....	20
2 Lista especies de hongos micorrízicos aislados de la rizósfera de <i>S. hindsianum</i> , su frecuencia de aislamiento (F.A) y distribución. .....	21

## Capítulo 1. Introducción

---

Los hongos son el principal componente de la flora del suelo, encontrándose en todos los ecosistemas terrestres. El filo Glomeromycota, está ubicado dentro del reino Fungi y se caracteriza por que sus integrantes forman relaciones simbióticas con las plantas, conocidas como micorrizas. Se ha calculado que aproximadamente el 90% de las plantas vasculares presenta algún tipo de esta asociación (Brundrett, 2002). En esta relación los hongos colonizan las raíces de las plantas, incrementando la superficie de absorción de agua y nutrientes. Además las plantas son más tolerantes a distintos tipos de estrés, como salinidad, sequía o patógenos; a cambio el hongo recibe carbohidratos que provienen de la planta (Kumar et al., 2015). Existen diversos grupos de micorrizas; sin embargo, la forma versículo-arbuscular constituye el 80% del grupo (Al-Whaibi, 2009).

Los esquemas actuales de agricultura se basan en el aporte constante de nutrientes mediante fertilización, además de controlar las enfermedades de las plantas con agentes químicos. El resultado de tales esquemas ha permitido incrementar la producción, intentando cumplir con la demanda de alimento; sin embargo son altamente contaminantes para el suelo, agua y aire (Beauregard et al., 2008). Es por eso que en las últimas décadas se ha intentado optar por una agricultura más sustentable, aprovechando una antigua relación simbiótica entre plantas y hongos: las micorrizas. Los hongos micorrízicos han sido reportados como buenos candidatos para esquemas de agricultura, donde se intenta evitar o disminuir el uso de fertilizantes ya que su uso reporta mejores rendimientos en algunos cultivos (Lekberg Y Koide, 2005). Además, los hongos micorrízicos (HM) presentan efectos protectores contra algunos agentes patógenos de plantas y ante condiciones de estrés, como sequía, suelos compactados o suelos salinos (Harrier y Watson, 2004; Kumar et al., 2014).

En Baja California (B. C) existe poca información sobre los Hongos formadores de micorrizas. Los principales estudios en la región han reportado su presencia en las raíces de plantas nativas y de algunas endémicas (Rose, 1981; Sigüenza et al., 1996; Bashan et al., 2000; Bashan et al., 2007; Carillo- García et al., 1999), pero aún existe un gran número de plantas nativas que no han sido estudiadas bajo este enfoque.

La orografía de la península de Baja California permite una variedad de ecosistemas y se considera que en la región domina un clima seco con lluvias en invierno. Esto se refleja en formas vegetales cuyo éxito va más allá de sus adaptaciones fisiológicas. Se asume que parte del éxito de las plantas que se crecen

ahí, se debe a las íntimas relaciones con los microorganismos abundantes del suelo, en especial con los HM presentes en la zona de las raíces. Estas zonas conocidas como islas de recursos, son comunes en zonas áridas y se caracterizan por presentar mayor disponibilidad de nutrientes como nitrógeno, fósforo y carbono (Finlay, 2008). En las islas de recursos, existen grupos de hongos y bacterias que descomponen constantemente la materia orgánica, mineralizando y reciclando los nutrientes. En otras zonas áridas del mundo se han aislado cepas HM de dichas islas. Algunos aislados de micorrizas se han probado como biofertilizantes en esquemas de agricultura sostenible y programas de reintroducción de flora nativa, obteniendo resultados positivos (Rowe et al., 2007; Roy-Bolduc y Hijiri, 2011).

Se han descrito pocos HM asociadas a plantas del desierto de Baja California; esto permite la exploración y posible descripción de especies novedosas en la región. Una planta interesante es el arbusto *Solanum hindsianum*, por su parentesco con plantas económicamente importantes como tomate y papa y por su ubicación en el desierto central de (B. C), donde predominan condiciones ambientales extremas, como lluvia escasa y altas temperaturas. Carrillo-García y colaboradores (1999) describieron las relaciones micorrízicas de algunas plantas del desierto Sonorense, en la zona de Baja California Sur (B. C. S). Entre las plantas estudiadas reportaron a *S. hindsianum* con presencia de hifas en las raíces; sin embargo, no profundizaron en la descripción taxonómica de los hongos observados.

Partiendo del conocimiento de que el 80% de las plantas tienen una relación simbiótica con hongos, de que las plantas en zonas áridas están adaptadas al estrés ambiental y del conocimiento limitado de los HM asociados a la flora de (B. C), en el presente trabajo se estudiaron las micorrizas asociadas a *Solanum hindsianum*. Esta planta crece bajo condiciones de aridez, altas temperaturas, y poca agua, por lo que es probable que los HM asociados estén adaptadas a dichas condiciones y pueden ser usados como herramientas biotecnológicas. De esta manera se aislaron y describieron los hongos micorrízicos asociados a la rizósfera de *S. hindsianum* y posteriormente se intentó usarlos en la colonización de plantas de tomate.

## **1.1 Antecedentes**

Todos los suelos, cultivados o en su estado natural contienen una flora microbiana. Los hongos forman un enlace entre las plantas y los nutrientes minerales del suelo y cumplen diversas funciones en los ecosistemas terrestres (Berruti et al., 2016). Entre algunas de las más importantes está la de influenciar la fertilidad del suelo mediante el reciclaje de materia orgánica y minerales. De los diversos grupos de hongos que interactúan con las plantas, algunos forman relaciones simbióticas, denominadas "micorrizas". Este grupo de los hongos micorrízicos arbusculares (HM), pertenecen a la división

Glomeromycota y según datos paleobotánicos y moleculares, se estima que la relación simbiótica se remonta a 2500-1000 millones de años (Retallack, 2015). Esta simbiosis se presenta en la mayoría de las plantas y se caracteriza por la presencia de estructuras fúngicas dentro y fuera de las raíces, extendiéndose por el suelo como una red interconectada, funcionando de interface entre el suelo y la planta, aumentando la superficie de contacto de las raíces en el suelo, mejorando la absorción de agua y nutrientes. Además, el micelio extra radical del hongo es capaz de penetrar micro sitios del suelo, inaccesibles para las plantas. En recompensa el hongo obtiene carbohidratos provenientes de la planta (Finlay et al., 2008).

### **1.1.1 Funciones ecológicas de los hongos micorrízicos**

En ocasiones las plantas se localizan en suelos ricos en nutrientes, pero éstos se encuentran en formas no asimilables. Se conoce que los HM tienen la capacidad de secretar ácidos orgánicos y de esta manera solubilizar minerales de la roca madre; así los nutrientes se vuelven disponibles para las plantas, favoreciendo su nutrición (Li et al., 2016).

La movilización de nutrientes es un aspecto mejor estudiado. Moreno y colaboradores (2001) demostraron la capacidad de los hongos para movilizar nutrientes como N y P a partir de distintos sustratos biológicos como polen, nematodos muertos, colémbolos y micelio de otros hongos. Estos procesos son realizados por grupos de hongos, resultando en ciclos de movilización-inmovilización de N y P a partir de micro y meso fauna y de material vegetal, favoreciendo el reciclaje de nutrientes y su disponibilidad para las plantas. La absorción de fosfato a través de HM da lugar a un incremento en la absorción total de fósforo y en el crecimiento de plantas (Pérez-Moreno y Read, 2001; Smith et al., 2011).

### **1.1.2. Hongos micorrízicos en la agricultura**

El aumento de la población humana, las tendencias en las dietas y el aumento del uso de biodiesel pone gran presión sobre los sistemas de producción agrícolas. Dichos sistemas se basan en la aplicación de fertilizantes nitrogenados y fosforados, que eventualmente son lixiviados hacia el suelo. Se ha calculado que en los últimos 50 años el uso de fertilizantes aumentó globalmente en un 500% el uso de fertilizantes (Davis et al., 2014). Estos residuos contaminan los suelos y se convierten en una amenaza importante para los sistemas acuáticos superficiales y subterráneos. Los efectos adversos son conocidos desde hace algunas décadas. La eutrofización o zonas muertas de sistemas acuáticos como lagos o bahías son ejemplo de ello (Beauregard et al., 2008); además de modificar los ciclos globales del fósforo y nitrógeno afectando la calidad del agua, ecosistemas acuáticos y las pesquerías (Foley et al., 2011).

Los hongos micorrízicos son una alternativa efectiva para sistemas de producción donde se requiere evitar una mayor contaminación de los sistemas. Gran número de las plantas cultivadas son susceptibles a ser micorrizadas. Algunos reportes han demostrado la capacidad de los hongos para mejorar la obtención de nutrientes de suelo, así como aliviar condiciones de estrés y el ataque de organismos patógenos (Siddiqui y Futai, 2008; Fortin et al., 2002; Harrier y Watson, 2004;). El uso de hongos micorrízicos en algunos cultivos agrícolas pueden reducir substancialmente la adición de fertilizantes y agentes de control químico, evitando la contaminación ambiental, sin afectar la productividad (Gosling et al., 2006).

También se han demostrado mejoras en diversos cultivos. Por ejemplo, en cítricos se ha reportado una mayor tolerancia a sequía y un aumento en la extensión de las raíces (Fidelibus et al., 2001; Wu and Xia, 2006); en cereales, mayor rendimiento del maíz en suelos compactados y pobres en fósforo (Bagayoko et al., 2000); en legumbres, se ha reportado un aumento en el crecimiento y cosecha del cacahuete y una disminución en enfermedades causantes de pudrición en plantas de la familia Cucurbitaceae (Thygesen et al., 2004; Quilambo et al., 2005).

Al aumentar la extensión de las hifas, aumenta la cantidad de microorganismos en la rizósfera así como los exudados de las raíces. Esto permite mayor estabilidad del agua en el suelo debido a un mayor porcentaje de agregados húmedos. La disponibilidad de agua permite soportar condiciones de estrés en algunos cereales, como arroz, papa, trigo y maíz (Beauregard et al., 2008). Esto es de gran importancia para regiones agrícolas de clima seco como California y el norte de México, que enfrentan una escasez de agua, y en ocasiones problemas con suelos salinos (Porcel et al., 2012).

### **1.1.3 Hongos micorrízicos y salinidad**

La salinidad o sodificación del suelo es un exceso en la concentración de sales solubles en suelo. Este proceso sucede de manera natural, siendo la evaporación y la precipitación los principales factores que determinan un aumento o disminución en la concentración de sales respectivamente (Mahajan y Tuteja, 2005). Altas concentraciones de sal ( $\text{Na}^+ \text{Cl}^-$ ) pueden alterar la textura básica del suelo, disminuyendo su porosidad, aireación, la conductancia del agua, así como sus procesos microbiológicos; de esta manera no solo se ven afectadas las propiedades fisicoquímicas del suelo, sino también el crecimiento y la productividad de las plantas (Ruiz-Lozano et al., 2016).

La salinización de los suelos es uno de los problemas agrícolas más severos, especialmente notable en

zonas áridas y semiáridas; esta degradación afecta aproximadamente el 20% de los cultivos en el mundo (Al-Karaki, 2006). En el año 2012 se calculó que mil millones de hectáreas se encontraban afectadas y se estimó que durante los siguientes 25 y 40 años se perdería respectivamente un 30% y 50% de la tierra arable a causa de la salinización (Porcel et al., 2012). La salinidad afecta diversos procesos de las plantas, los cuales se traducen en pérdidas en la productividad de los cultivos. Una concentración alta en suelos provoca un estrés hiperiónico e hiperosmótico, dificultando la toma de agua y nutrientes en las plantas (Porcel et al., 2012). De esta manera, el estrés por salinidad se suma al estrés hídrico, resultando en una sequía fisiológica para la planta, afectando de manera general los procesos de establecimiento, crecimiento y desarrollo vegetal (Evelin et al., 2009).

Los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , prevalentes en suelos salinos, interrumpen procesos básicos como la fotosíntesis, la respiración y la síntesis proteica; esto se debe a un desbalance iónico que, además de modificar la estructura de enzimas, macromoléculas y organelos (Juniper y Abott, 1993; Kumar et al., 2014). Adicionalmente la salinidad genera especies reactivas de oxígeno ROS (por sus siglas en inglés) en las plantas, causando mayor estrés oxidativo a nivel celular; distintas moléculas como el superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) y peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) causan daño oxidativo a través de radicales hidroxilo, afectando indiscriminadamente lípidos, proteínas y causando mutaciones en el ADN (Bowler et al., 1992; Porcel et al., 2015).

Existen varios reportes que indican que la simbiosis micorrízica puede mitigar el estrés causado por la salinidad; experimentalmente se ha observado un aumento en la resistencia en distintas plantas cultivadas como maíz, clavo, pepino y lechuga (Al-Karaki et al., 2001; Feng et al., 2002). Esto es resultado de una combinación de los efectos nutricionales, bioquímicos, fisiológicos y moleculares causados por la colonización de los HM (Wu et al., 2007), los cuales se describen a continuación.

#### **1.1.4 Hongos micorrízicos y plantas colonizadas bajo condiciones de estrés**

Las plantas presentan diversas estrategias bioquímicas y moleculares para mejorar su tolerancia hacia el estrés, incluyendo el inducido por salinidad; algunas estrategias importantes son la síntesis y acumulación de ciertas moléculas antioxidantes, así como la capacidad de mantener un estado fisiológico ideal mediante diversos mecanismos (Porcel et al., 2012). Algunos de estos mecanismos se han relacionado con la presencia de HM en las plantas.

Una observación general es que la simbiosis resulta en mayor toma de nutrientes, acumulación de compuestos osmoreguladores, aumento de la tasa fotosintética y en la eficiencia del uso de agua (Porcel

et al., 2012), sugiriendo una combinación de efectos fisiológicos, moleculares y bioquímicos para mejorar el estado fisiológico de las plantas (Alguacil et al., 2003; Al-Garni, 2006; Sheng et al., 2008). Estos resultados suelen variar según las especies de plantas y HM involucrados (Wu et al., 2007).

Uno de los mecanismos de regulación del estrés en plantas es la osmoregulación; este proceso les permite mantener la turgencia celular, así como procesos celulares como el control de los estomas y la fotosíntesis. Para lograrlo, las plantas sintetizan solutos orgánicos como prolina, pinitol o el manitol entre otros (Colmer y Flowers, 2008); estos funcionan como osmoprotectores, expulsando radicales libres y protegiendo estructuras sub-celulares del daño por salinidad. La colonización por hongos micorrízicos ha demostrado que puede prevenir la translocación de iones  $\text{Na}^+$  hacia las partes aéreas, además de aumentar la absorción radicular de iones K, manteniendo así un ratio alto  $\text{K}^+:\text{Na}^+$  y el equilibrio osmótico, protegiendo los procesos enzimáticos (Talaat y Shawky, 2011; Alguacil et al., 2003).

Otro mecanismo es la regulación de la toma de agua y su distribución en la planta mediante la familia de proteínas acuaporinas. Estas proteínas funcionan como canales selectivos y son uno de los mecanismos de control ante una situación de estrés por sequía o salinidad; estas permiten el paso de agua de las raíces a las partes aéreas. Recientemente se ha demostrado que la simbiosis micorrízica puede influir en la regulación de algunas acuaporinas (Ruiz-Lozano y Aroca, 2016) y se ha observado un mayor flujo de agua a través de las raíces, que se correlaciona con un aumento en la expresión de genes de acuaporinas (Aroca et al., 2007).

La salinidad afecta el proceso de fotosíntesis, propiciando una disminución en las cosechas (Pitman y Lauchli, 2002). Principalmente en las enzimas relacionadas con la síntesis de pigmentos fotosintéticos, así como con la toma de nutrientes esenciales para la clorofila. Algunos estudios han observado que al inocular plantas con cepas de HM, se aprecian algunas mejoras en procesos fisiológicos como la actividad fotosintética y un mejor uso del agua. Dichas plantas mostraron mayor contenido de clorofila (Hajiboland et al., 2010). Un estudio sobre el efecto de los HM en la tolerancia a salinidad en maíz mostró una mejora en la actividad fotosintética de las hojas; esto debido a una mejor capacidad de intercambio de gases (Sheng et al., 2008). Resultados similares fueron reportados por Zuccarini y Okurowska, (2008) en plantas de albahaca.

Las plantas con HM generalmente muestran una mejor habilidad para la toma de nutrientes y la tolerancia a estrés biótico y abiótico (Pozo et al., 2015). La mayoría de los casos estudiados, la simbiosis fúngica alivia el estrés hídrico y el causado por salinidad, aumentando la tolerancia de las plantas a la sequía (Bárzana et al., 2014; Augé et al., 2015; Abbaspour et al., 2012).

### 1.1.5 Hongos micorrízicos y enfermedades de plantas

Los agentes causales de enfermedades de plantas pueden afectar y destruir partes o toda la planta, evitando su crecimiento óptimo y provocando una reducción de la producción. Se estima que en conjunto, las enfermedades de plantas causan pérdidas anuales en el orden de millones de dólares. Los agentes causales de enfermedades en plantas son virus, bacterias, hongos patógenos, protozoarios y nematodos (Agrios, 2005).

El control biológico de enfermedades de plantas se basa en el uso de cierto grupo de microorganismos o sus derivados, para proteger a las plantas mediante diversos mecanismos. Entre estos organismos, los HM son excelentes candidatos por su ubicuidad en la mayoría de los ecosistemas terrestres (Azcón-Aguilar et al., 2002), encontrándose en ecosistemas mega diversos vegetales, así como en sistemas agrícolas con prácticas sustentables (Sidiqi y Pichtel, 2008), y por su papel como biofertilizantes, al proveer a su hospedero agua y nutrientes, mejorando su estado fisiológico. También funcionan como agentes de control biológico, al proteger las plantas contra diversos agentes patógenos (Berruti et al., 2016). Los hongos micorrízicos pueden formar simbiosis con la mayoría de las plantas cultivadas, incluyendo familias como Amaryllaceae, Apoceae, Asteraceae, Cucurbitáceae, Fabaceae, y Solanaceae, lo que facilita su uso y aplicación (Baum et al., 2015).

Algunos reportes han demostrado como los HM proteger a las plantas de hongos patógenos (Harrier y Watson, 2004; Pozo et al., 2002; Ozgonen y Erkilic, 2007), nematodos patógenos (Waceke et al., 2001; Talavera et al., 2001; Jain, 2003; Siddiqui y Akhtar, 2006), y otros agentes patógenos como bacterias, virus y fitoplasmas (Jayaraman y Kumar, 1995; Lingua et al., 2002; Rufo et al., 2017).

La asociación de los HM con las plantas resulta en una combinación de mecanismos que conjuntamente disminuyen o evitan el ataque de agentes patógenos. Uno de los principales efectos de esta simbiosis es el aumento en la nutrición vegetal. Después de colonizar las raíces, las hifas extra radicales de los HM forman una matriz en el suelo, llegando a los micrositos donde las raíces no pueden, aumentando así, la cantidad de recursos y agua que las plantas pueden obtener (Smith, 2010; Allen, 2011). La colonización resulta en un incremento en la toma P y N, además de otros elementos como Ca, Cu, Mn, Zn (Harrier y Watson, 2004), así como sulfuro (Berruti et al., 2016). Este mecanismo se considera como uno de compensación, donde los beneficios nutricionales obtenidos por la simbiosis equivalen a la pérdida de función producida en las raíces afectadas por los patógenos (Pozo et al., 2002).

La colonización de las raíces por HM puede alterar la arquitectura de la raíz. Las plantas colonizadas presentan raíces altamente ramificadas y mayor lignificación de la pared celular, aumentando su protección contra la penetración de patógenos (Vigo et al., 2000; Harrier y Watson, 2004). Esto se ha correlacionado con un elevado metabolismo de fenoles en la planta. Benhamou y colaboradores (1994) observaron bajo condiciones in vitro que, al inocular raíces con el hongo patógeno *Fusarium oxysporum* se produjo una acumulación de compuestos fenólicos en las raíces. Al proceso de secreción de sustancias a la rizósfera se le conoce como rizo-deposición, y sucede de forma natural en los suelos.

La exudación de estos compuestos puede modificar el pH de la rizósfera (Harrier y Watson, 2004). Un análisis de las concentraciones de aminoácidos de los exudados de la raíz de tomate demostró una disminución de glicina y treonina, y un aumento en el ácido aspártico y glutámico. Esto puede tener un efecto sobre algunos agentes patógenos como *Phytophthora* sp. y algunos nematodos que son atraídos por ciertos aminoácidos secretados por la raíz. Norman y Hooker, (2000), demostraron que las raíces de fresa colonizadas por HM redujeron la esporulación de *Phytophthora Fragariae*. Esos exudados también pueden tener un efecto sobre las poblaciones microbianas de la rizósfera, pudiendo afectar el establecimiento o densidad de agentes patógenos (Pozo et al., 2002).

La colonización de HM provoca una activación de respuestas de defensa sistémicas y localizadas, incluyendo genes y sus productos como fitoalexinas, compuestos fenólicos, peroxidases, quitinasas, glucanasas y proteínas relacionadas con patogénesis; la simbiosis micorrízica puede inducir la producción de enzimas hidrolíticas involucradas en la defensa de plantas, como quitinasas, quitosanasas y 1-3 glucanasas, pudiendo disminuir los síntomas de *Phytophthora parasítica* en plantas de tomate, incluso en partes no micorrizadas de la raíz. (Harrier y Watson, 2004).

### **1.1.6 Antecedentes de hongos micorrízicos en zonas áridas**

Los hongos micorrízicos son de los organismos más abundantes en el suelo. Se asocian con la mayoría de las plantas terrestres y pueden encontrarse en la mayoría de los sistemas vegetales, desde regiones subpolares hasta los bosques tropicales (Rosendahl, 2007). Algunas estimaciones sugieren que el 74% de todas las plantas vasculares forman una simbiosis con hongos del tipo arbuscular, del clado Glomeromycota (Brundrett, 2009). Adicionalmente existen asociaciones similares entre otros grupos de plantas y hongos micorrízicos no arbusculares (Finlay, 2008). Esta simbiosis ha sido estudiada en zonas áridas, donde se ha reportado un gran número de plantas en asociación micorrízica. Por ejemplo, en el desierto del Sahel en África (Redhead, 1977), en el desierto de Sonorense (Bethlenfalvay et al., 1984;

Rose, 1981; Carrillo-García et al., 1999), en el desierto del Negev en Israel (Dodd y Krikun, 1984), en India (Mukerji y Kapoor, 1986), en los pastizales áridos de Namibia y zonas áridas de Sudáfrica (Jacobson, 1997; Uhlmann et al., 2006), en el desierto de Mojave (Titus et al., 2002) y en los desiertos de la península Árabe (Symanczik et al., 2014).

Las observaciones de HM en zonas áridas han puesto de manifiesto la importancia de estos hongos en esos ecosistemas. En los sistemas áridos, la vegetación suele tener una distribución en parches, donde coexisten varias especies vegetales; con el tiempo, estas zonas se convierten en islas de recursos, pues suelen albergar una mayor cantidad de nutrientes, materia orgánica, humedad y microorganismos, comparadas con el suelo desnudo (Martínez-García et al., 2011). Los HM son componentes funcionales en las islas de recursos, pues brindan servicios ecosistémicos al ser fuente de inóculo para otras islas, participar en el reciclaje de nutrientes, contribuir a la productividad de las plantas al mejorar la adquisición de nitrógeno y fósforo, aumentar la supervivencia de las plántulas y estimular la diversidad vegetal (Caravaca et al., 2003). Además reducen la pérdidas de nutrientes por lixiviado y mejoran la agregación al suelo por efecto de la proteína “glomalina” que secretan, la cual funciona como agente cementante (Rilling Y Mummey, 2002). De esta manera se estabiliza el suelo que llega a las islas de recursos, evitando la erosión (Symanczik et al., 2014).

Las plantas de zonas áridas suelen tener relación con HM y existe gran diversidad en estos micosimbiontes (Uhlmann et al., 2006; Verma et al., 2008). Bethlenfalvay y colaboradores (1984) analizaron las raíces de 38 especies perenes en “Borrego Desert State Park” USA, encontrando que todas estaban colonizadas por HM. De igual manera, Titus y colaboradores (2002) observaron que las 15 especies estudiadas en el desierto de Mojave USA, estaban micorrizadas. Carrillo-García et al. (1999) trabajaron con plantas del desierto de Sonora en B.C, registrando la colonización de las 46 especies de plantas analizadas. La abundancia de los HM en estos ecosistemas resalta la importancia de esta simbiosis para las plantas, pues los hongos brindan ventajas para la supervivencia de su hospedero, además de mejorar la tolerancia a distintos tipos de estrés, como sequía y salinidad (Smith y Read, 2010).

Algunos programas de recuperación de flora en zonas áridas se han enfocado en el uso de los HM como herramientas biotecnológicas, logrando mejorar la reintroducción de las plantas en ambientes degradados. Se ha observado que la inoculación de semillas con HM alóctonos o nativos estimula la producción de biomasa en varias plantas de zonas áridas y algunos arbustos como *Olea europea*, reflejándose en el aumento del contenido de nitrógeno y fósforo de las plantas (Caravaca et al., 2003). En el mismo estudio, cada arbusto inoculado respondió de manera distinta, pero produjeron mayor cantidad de biomasa comparados con las plantas no micorrizadas; esto concuerda con otros trabajos

donde se ha observado la poca especificidad de los HM hacia sus hospederos y donde se ha descrito que diversas especies de HM pueden tener efectos diferentes según la planta hospedera (Ravnskov y Jakobsen, 1995; Porras-Soriano et al., 2008). El efecto puede ser tal, que los HM pueden llegar a influir en la supervivencia de las plantas en etapas tempranas (Monroy-Ata et al., 2007), en la diversidad de las comunidades vegetales y en su productividad (Van der Heijden et al., 1998; Martínez -García et al., 2011).

Es común encontrar las mismas especies de HM en distintos ambientes; sin embargo, se ha propuesto la existencia de una diferenciación eco-típica, explicada por la historia natural de los aislados; es decir, los HM aislados en condiciones de aridez suelen desarrollarse mejor bajo condiciones similares a su sitio de origen (Caravaca et al., 2008). Esto resalta la importancia de caracterizar los HM de plantas que crecen en zonas poco exploradas; las que se encuentran en climas poco favorables suelen ser buenos candidatos como biofertilizantes, debido a su historia de vida bajo condiciones de estrés, como puede ser suelos salinos y escasez de agua (Symanczik et al., 2014).

### **1.1.7 Antecedentes de hongos micorrízicos en Baja California**

La península de Baja California se ubica dentro de la región xerófila mexicana, la cual presenta un clima seco, con algunas regiones desérticas, donde el régimen de lluvia predomina en invierno (García de Miranda, 2004). El desierto central y el de Vizcaíno están ubicados en la parte central de la península de Baja California, donde los vientos y neblina del Pacífico penetran tierra adentro, creando un clima nuboso y ventoso; existen zonas montañosas de moderada elevación, extensiones de llanuras desérticas, zonas de dunas y suelos salinos. La vegetación se ve dominada por especies de la familia *Cactaceae*, *Asteraceae*, *Leguminosae* y otras plantas adaptadas a dichas condiciones climáticas (Rose, 1981).

En Baja California, la investigación en hongos micorrízicos asociados a la flora nativa ha sido limitada. El trabajo de Rose en 1981, fue un primer acercamiento en la búsqueda de hongos micorrízicos en la región, donde se abordaron diez especies de plantas nativas, ubicadas en regiones áridas de la península, observando que la mayoría estaban colonizados por HM. Posteriormente, Sigüenza y colaboradores (1996) estudiaron los HM asociados a plantas de las dunas costeras de San Quintín, reportando un grado de colonización variado en siete especies de plantas, encontrando a los géneros *Glomus* y *Acaulospora* como los más representativos. Carrillo-García y colaboradores (1999) determinaron el estatus micorrízico de 46 especies de plantas perenes en el desierto sonorense de B. C, encontrando colonización de las raíces de entre 10 al 70 % en todas las plantas. Bashan y colaboradores (2007), caracterizaron los HM

presentes en la rizósfera del árbol endémico, *Fouquieria columnaris* “Cirio”, ubicado en suelos volcánicos y graníticos de Baja California, reportando 23 morfotipos diferentes de esporas; más de la mitad perteneciente al género *Glomus*. Estos hallazgos indican la posible existencia de hongos no descritos.

## **1.2 Justificación**

Los hongos micorrízicos son ubicuos en la mayoría de los suelos, incluyendo los cultivados. Su aplicación en la agricultura puede mejorar el uso del agua y disminuir el uso de fertilizantes y agentes químicos que contaminan suelos, agua y aire; además de presentar servicios ecológicos, como formación de islas de recursos, promoción de diversidad vegetal y agregación del suelo, evitando la erosión en zonas áridas.

El estudio de los hongos micorrízicos en Baja California, México es bastante limitado; existen numerosas plantas de las cuales se desconoce su diversidad de hongos micorrízicos. En este estudio se escogió a la planta *Solanum hindsianum*, por varias razones: crece bajo condiciones de aridez, altas temperaturas, y poca agua, pudiendo significar que las especies de HM presentes en esta planta estén adaptadas a dichas condiciones y pueden ser importantes herramientas biotecnológicas; y por su cercanía a la planta de tomate, con la idea de que los hongos micorrízicos encontrados en la zona pudiesen colonizar plantas comerciales de tomate y otros cultivos importantes pertenecientes a la familia *Solanum*, contribuyendo a la seguridad alimenticia del país y a la salud de los agroecosistemas.

Conocer los hongos micorrízicos presentes en la vegetación de las zonas áridas de la zona es un primer paso para un posible uso y explotación en la agricultura regional, nacional o en programas de reforestación.

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo general**

Aislar e identificar hongos formadores de micorrizas asociados al arbusto *S. hindsianum* en el desierto central de Baja California y evaluar su potencial para colonizar plantas comerciales de tomate.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

Aislar e identificar especies de hongos micorrízicos mediante la descripción de morfo-tipos de esporas colectadas en la rizósfera de *S. hindsianum*.

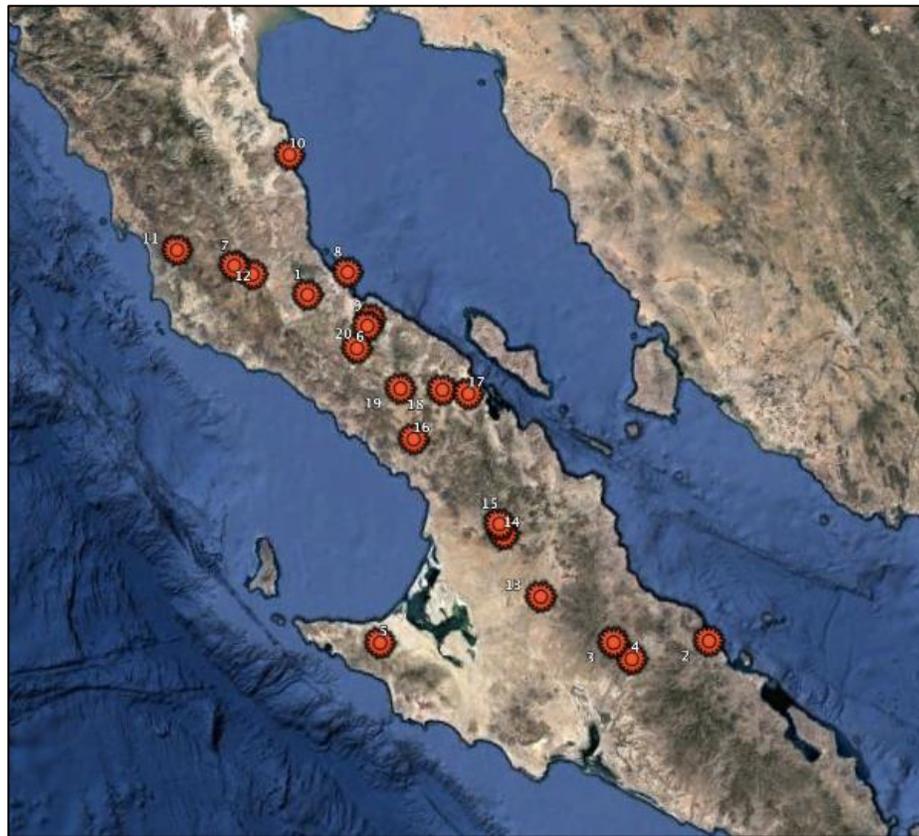
Identificar hongos micorrízicos capaces de colonizar plantas de tomate comercial en condiciones de invernadero.

## Capítulo 2. Metodología

---

### 2.1 Área de estudio

El muestreo se realizó en septiembre de 2016, dentro de los estados de Baja California (B. C.) y Baja California Sur (B. C. S.), México. Se eligieron 20 sitios de muestreo según la distribución de la planta *S. hindsianum*, partiendo de listados florísticos realizados por el grupo del Dr. Stephen Bullock del Departamento de Biología de la Conservación de la División de Biología Experimental y Aplicada del CICESE, e intentando abarcar zonas costeras e intermedias. El muestreo se limitó al noroeste justo al sur de la región templada de BC, en “El Rosario” (30° 7'23.70"N, 115°36'45.68"O); donde inicia la región denominada “Desierto Sonorense”, debido al cambio en la composición de las comunidades vegetales; al noreste de BC en la zona costera comprendida entre San Felipe (30°37'26.62"N - 114°43'23.45"O) y Bahía San Luis Gonzaga (29°49'39.79"N- 114°24'52.20" O) y al sur en Santa Águeda (Sta. Rosalía, B. C. S) (27°15'16.31"N - 112°19'12.29"O) (Figura 1, Tabla 1).



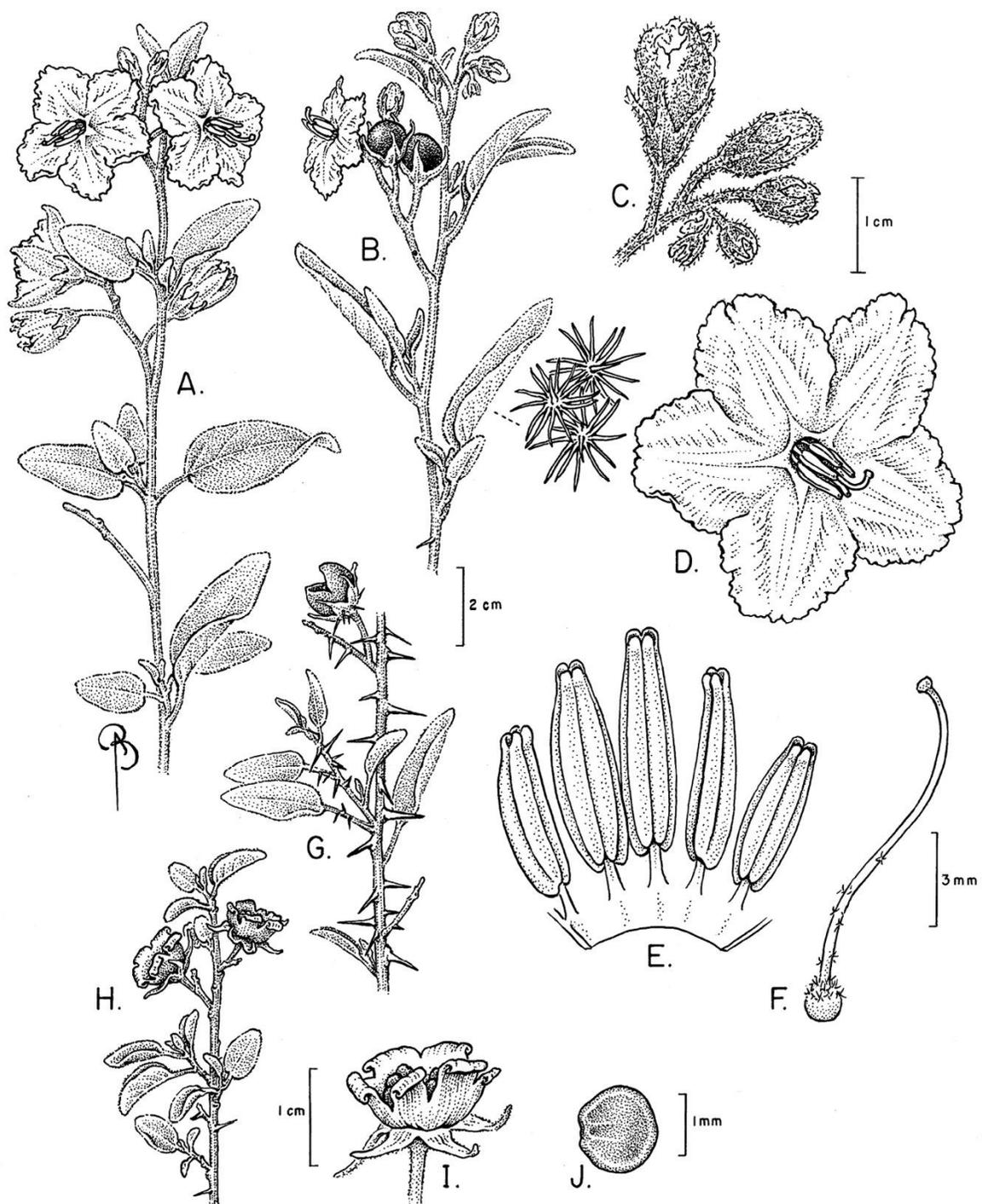
**Figura 1.** Imagen satelital tomada de Google Maps mostrando los 20 sitios de muestreo realizados en la península de Baja California y Baja California Sur, México. Los números indican el sitio de muestreo.

## 2.2 Planta de estudio

*Solanum hindsianum* es endémica a la región del sur de Arizona, norte de México, incluyendo los estados de Baja California y Baja California Sur; se encuentra en el matorral xerófilo, bosque tropical caducifolio y bosque espinoso, desde el nivel del mar hasta los 400 m (Rzedowski, 1978). Es un arbusto erecto, de 0.3-1.5 m de alto, con brazos ramificados; los tallos jóvenes están cubierto de tricomas, color amarillo oro; la corteza de plantas aduras es lisa, de color café a amarillo café. Hojas simples, de 3-8 cm de largo, 1-3.1 cm de ancho, elíptica, 4-5 veces más larga que ancha, de color amarillento verde a verde, cubiertas de densos tricomas. Inflorescencias terminales o laterales, de 5cm de largo, con hasta 10 flores que nacen cerca del tallo principal. Yemas elipsoides y frutos en forma de bayas, de 1.2-3.5 de diámetro, con un pericarpio delgado, liso, de color grisáceo cuando inmaduro y de color verde claro con rayas negras cuando jóvenes. Presenta de 10-30 semillas por fruto, de 5-6 mm de largo y 2.5 mm de ancho, planas, redondas, de color café rojizo, con la superficie con verrugas diminutas (Peralta et al., 2017) (Figura 2 y Figura 3).



**Figura 2.** Un ejemplar de la especie *Solanum hindsianum* muestreada cerca de Bahía Asunción, (B. C. S), en estado de floración.



**Figura 3.** *Solanum hindsianum* Benth. A Rama en floración, B Rama en floración mostrando los tricomas estelados, C Yemas, D Corona, E Anteras, F Gineceo, G Rama en floración de un individuo con espinas anchas en el tallo, H Rama en floración con frutos maduros, I Frutos maduros con dehiscencia irregular, J Semilla. Ilustración de Bobbi Angell

## **2.3 Toma de muestras**

### **2.3.1 Muestras de rizósfera**

En cada sitio se localizaron cinco ejemplares de *S. hindsianum* (Figura 2). Evitando aquellos con otras especies vegetales adyacentes; con una pala de metal, se tomó suelo a 20-30 cm de profundidad de cada planta, formando una muestra compuesta de 2 kg. En sitios con sustratos muy rocosos fue necesario escavar más profundo para lograr extraer el suelo. Cada muestra se dividió en 3 partes para realizar un análisis fisicoquímico, sembrar plantas trampa y realizar una colecta de esporas mediante tamizado en húmedo del suelo.

### **2.3.2 Muestra de raíces**

En cada ejemplar vegetal de *S. hindsianum* se excavó por lo menos 20-30 cm, hasta localizar las raíces, procurando coleccionar las más finas y evitando aquellas que estuviesen engrosadas. En algunos sitios con suelos muy rocosos no fue posible obtener raíces abundantes. Las raíces se sacudieron y se colocaron en tubos de 50 ml con alcohol etílico al 70% hasta ser procesadas como se describe posteriormente.

### **2.3.3 Análisis de suelo**

Las muestras de suelo colectadas se secaron al aire libre por una semana; después se tamizaron en seco usando un tamiz de malla de 500  $\mu\text{m}$  para separar la materia orgánica y rocas más grandes. Las muestras fueron referidas al laboratorio del CIRNO de INIFAP, donde se realizó un análisis fisicoquímico básico de suelo para determinar el pH, materia orgánica, conductividad eléctrica, nitrógeno y fósforo asimilable.

### **2.3.4 Extracción e identificación de esporas**

Para la extracción de las esporas de hongos, el suelo se homogenizó en un recipiente limpio de 20 L y se tomó una submuestra de 100 g de suelo y se tamizó en húmedo según Gerdemann y Nicolson (1963). La muestra se colocó en un matraz con un litro de agua corriente, se agitó durante 5 min y se dejó reposar por 1 min, para después pasar la suspensión de suelo a través de un juego de tamices de 325, 100 y 50  $\mu\text{m}$  repitiendo el procedimiento tres veces. El contenido retenido en cada tamiz se colocó en una caja Petri para su examinación bajo el microscopio estéreoscopio con un ocular de 10X y se realizó la colecta de esporas y esporocarpos. Estos se agruparon según sus características macroscópicas como tamaño, color y forma, formando así grupos de morfotipos. Las esporas de cada morfotipo se contaron y fueron montadas en laminillas permanentes bajo polyvinyl-lacto-glycerol (PVLG) y selladas con barniz transparente.

La identificación se realizó bajo microscopio compuesto (Nikon, modelo 6200), observando y fotografiando los caracteres morfológicos de las esporas, utilizando los aumentos de 400X-600X-1000X y siguiendo las descripciones de Schenck y Pérez (1990), complementando con descripciones morfológicas de literatura científica y apoyándonos en el sitio del INVAM a (por sus siglas en inglés: Internacional culture collection of VA mycorrhizal fungi, recuperado de: <http://invam.caf.wvu.edu>), y el sitio comparativo recuperado de: <http://www.amf-phylogeny.com> y la colección del Departamento de Agricultura de la Universidad de Polonia, recuperada de: <http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/index.html>.

## 2.4 Determinación de colonización de raíces por HM

Las raíces colectadas, mantenidas en alcohol al 70%, se enjuagaron con agua corriente y se clarearon con KOH al 10%, a 90°C por 5 min. Después se enjuagaron con agua corriente durante unos minutos. Las raíces se tiñeron exponiéndolas a una solución al 5% de tinta china color negro, marca Pelikan y ácido acético al 5% durante 5 min, según Vierheiling y colaboradores (1998). Finalmente, se destiñeron dejándolas reposar en agua corriente acidificada con unas gotas de ácido acético por 20 min.

El porcentaje de colonización de las raíces se determinó mediante la observación de 70 intersecciones bajo un microscopio compuesto, con un aumento de 100X. Las raíces que presentaron estructuras fúngicas como arbuscúlos, micelio, vesículas o hifas se consideraron como micorrizadas. Para considerar el micelio como micorrízico este debió estar asociado a vesículas, arbuscúlos o esporas (Echeverría et al., 2008).

## 2.5 Plantas trampa

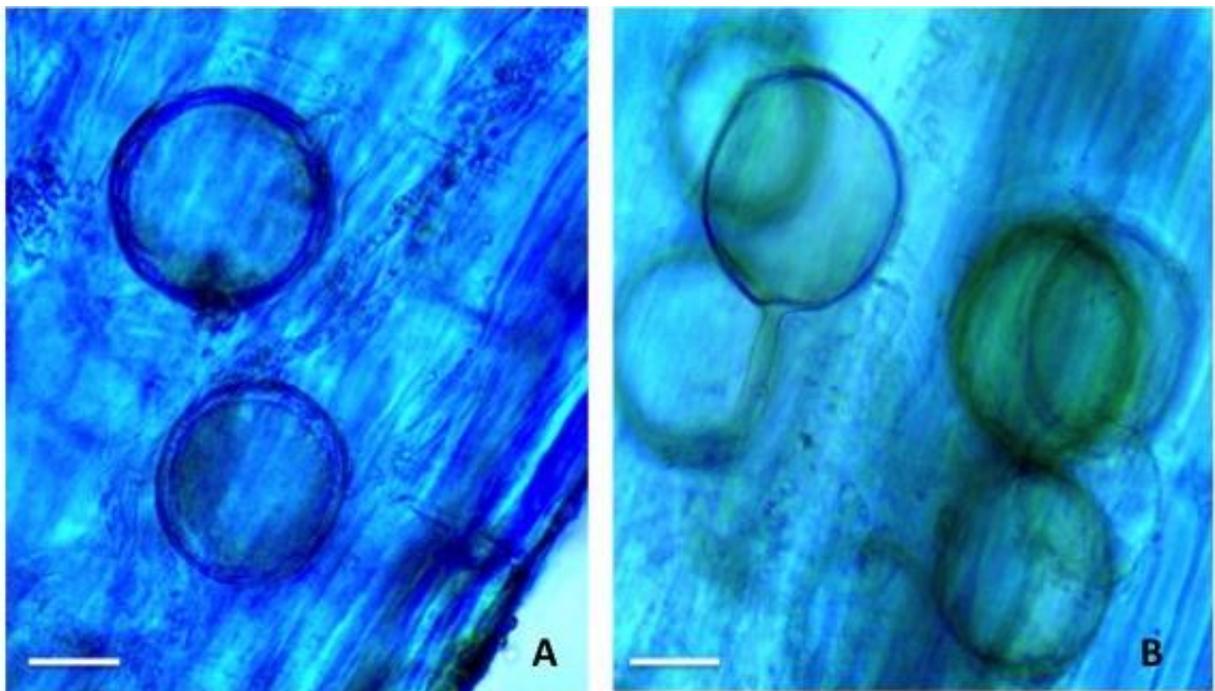
Para evaluar la capacidad de colonización de las micorrizas presentes en las muestras de suelo, se utilizaron plantas comerciales tomate cherry Heirloom variety (Valley Greene). Para ello, 500 g del suelo de colecta se mezcló (1:1) con arena previamente esterilizada (90 min a 120 psi) y la mezcla se colocó en macetas de un litro. Diez semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) previamente esterilizadas superficialmente con detergente e hipoclorito de sodio al 1 %, se colocaron sobre el sustrato humedecido; se mantuvieron bajo condiciones de invernadero durante 4 meses. Al final del periodo se eliminó el riego, dejando secar las plantas por 2 semanas. Posteriormente el contenido intacto de raíz y suelo se colocó en una bolsa plástica y se mantuvo a 4° C hasta su análisis (Stutz y Morton, 1996). Las raíces de las plantas se analizaron en fresco y se examinaron bajo un estereomicroscopio. De esta manera se lograron aislar esporas que se agruparon según sus caracteres taxonómicos. Las esporas se montaron en laminillas fijas con PVLG y se analizaron bajo el microscopio.

## Capítulo 3. Resultados

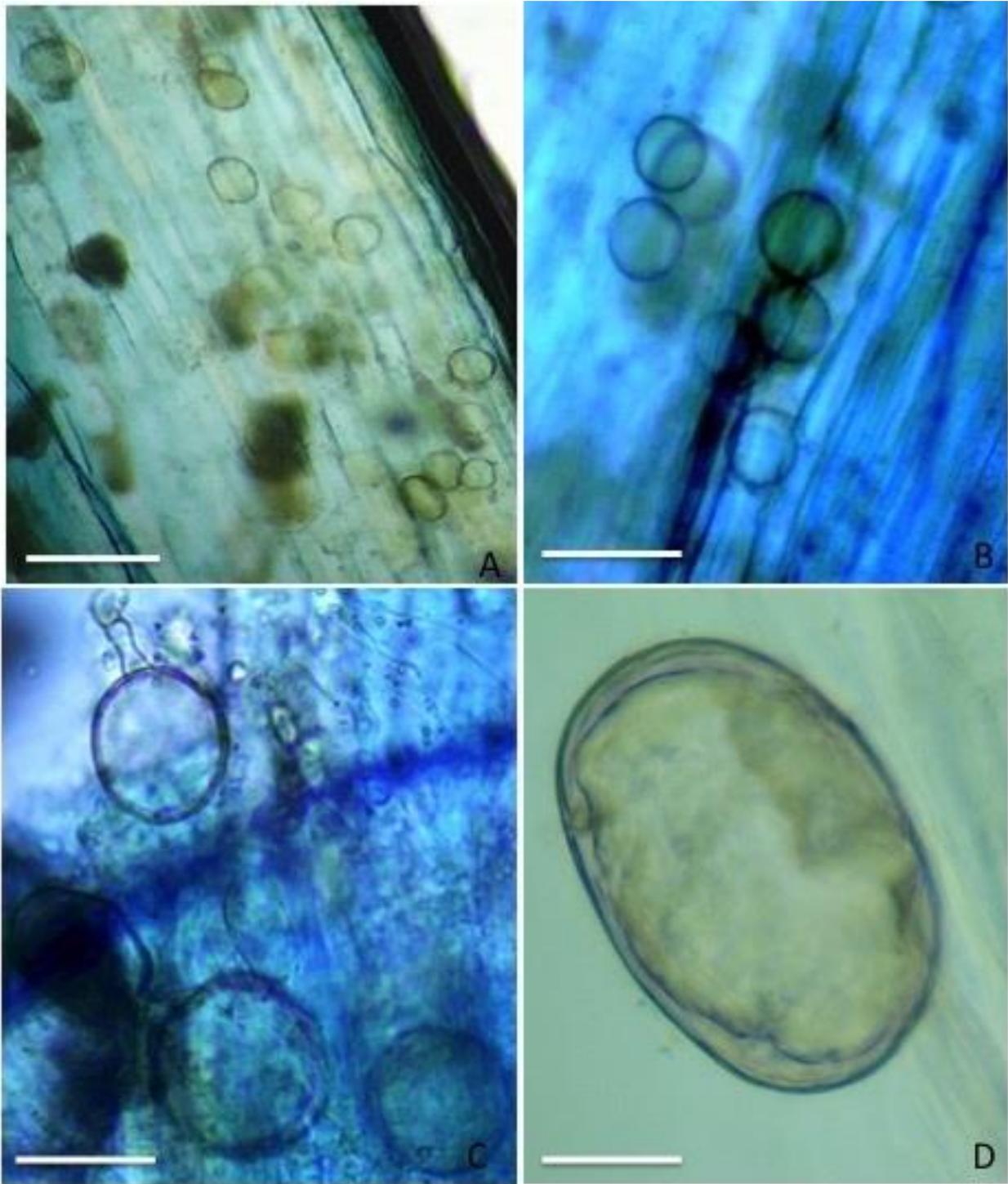
---

### 3.1 Asociación micorrízica

Las raíces de *S. hindsianum* presentaron distintos grados de colonización micorrízica en los 20 sitios de muestreo (Tabla 1). El menor porcentaje de colonización se encontró en la muestra 12, en la zona de Lavas con un 2%; y el mayor porcentaje en la zona del desierto de Vizcaíno con 52%; el promedio de colonización fue de 21.4% (Figura 3). La colonización se observó por la presencia de estructuras fúngicas en las raíces, principalmente hifas aseptadas, hifas extra radiculares y esporas dentro de las raíces. No se detectaron arbusculos (Figura 4 y Figura 5).



**Figura 4.** Microfotografías de los hongos micorrízicos encontrados dentro de raíces teñidas de *S. hindsianum* en las muestras colectadas en los sitios Arroyo El Rosario (sitio 1) y Arroyo San Luis (sitio 5) de Baja California. **A-B**, esporas intraradicales del género *Glomus*, donde se aprecian dos capas o laminas que forman la pared de las esporas. **B**, hifa de sostén de la espora, así como y otras esporas aledañas. Barra 50µm.



**Figura 5.** Microfotografías de hongos micorrízicos encontrados en las raíces teñidas de *S. hindsianum*. **A**, primer plano de la raíz, mostrando las esporas distribuidas uniformemente en esta sección de la raíz. **B**, acercamiento de un grupo de esporas intraradicales. **C**, detalle de espora mostrando su pared y la hifa de germinación recta y en forma de embudo. **D**, detalle de una espora no identificada, mostrando 3 capas que forman la pared. Barras: En A 30  $\mu$ m, en B 40  $\mu$ m, en C 50  $\mu$ m y en D 100  $\mu$ m.

### **3.2 Aislamiento e identificación de esporas de rizósfera de *S. hindsianum***

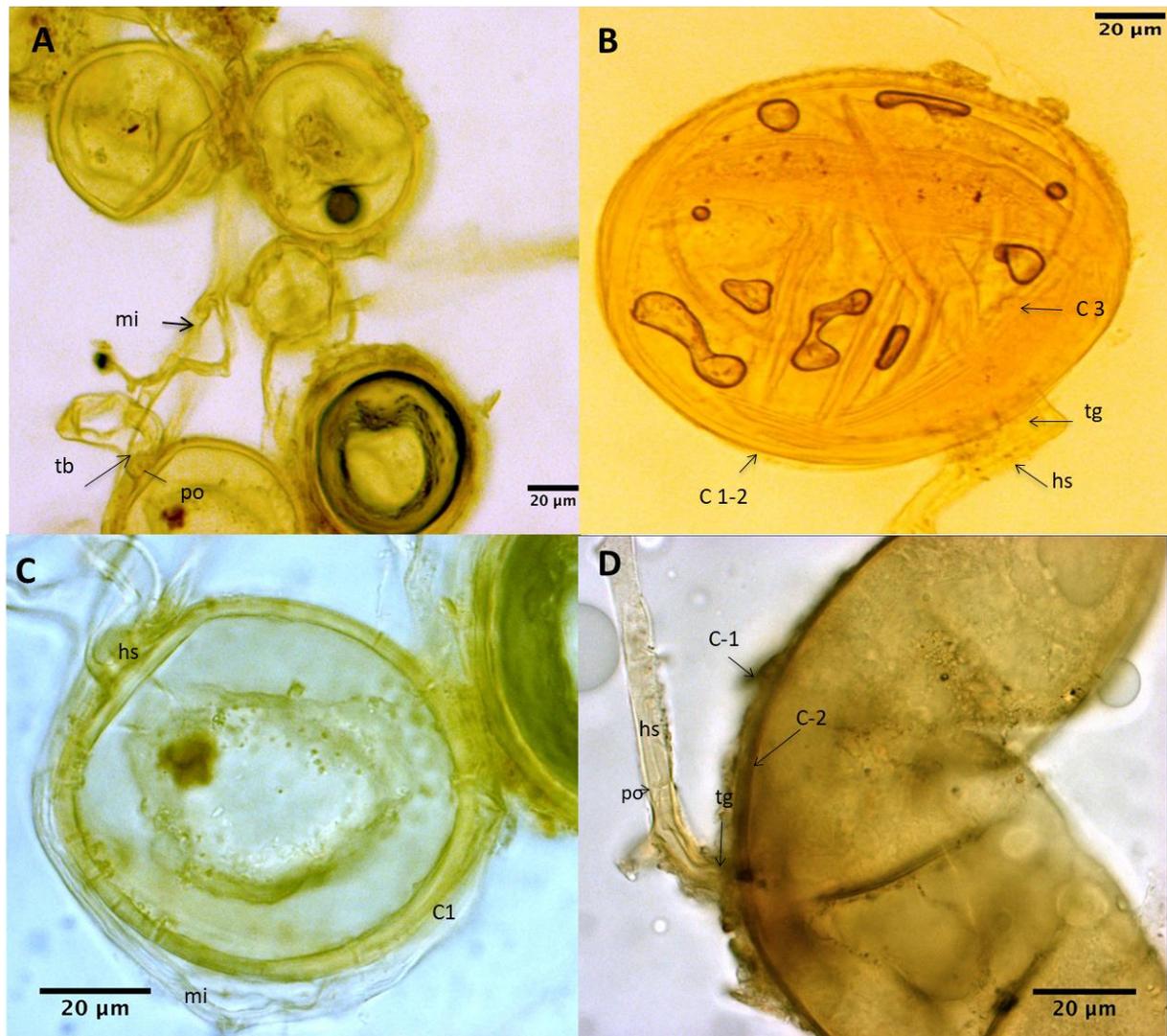
Un total de 27 morfotipos pertenecientes a los géneros *Glomus*, *Acaulospora* y *Scutellospora* fueron aislados de las muestras de suelo tomadas de la rizósfera de *S. hindsianum* (Figuras 6-18). Con base en los caracteres morfológicos como tamaño, forma, color y ornamentación, se lograron identificar 10 morfotipos a nivel especie, y el resto a nivel de género. El mayor número de esporas se registró en el sitio San Andrés, de 28 esporas. La menor cantidad de esporas de cuatro y seis se encontró en los sitios Berrendo y Santa Águeda, respectivamente (Tabla 1). El género de HM dominante en la mayoría de las muestras corresponde a *Glomus* sp. siendo *G. intraradices* la especie más representativa (Tabla 2).

**Tabla 1.** Esporas en 100 g de suelo, colonización de raíz (%) y análisis del suelo. N= Nitrógeno K/ha, P= Fósforo (ppm), M.O= Materia orgánica, E.C= Conductividad eléctrica de muestras de rizósfera de *S. hindsianum*.

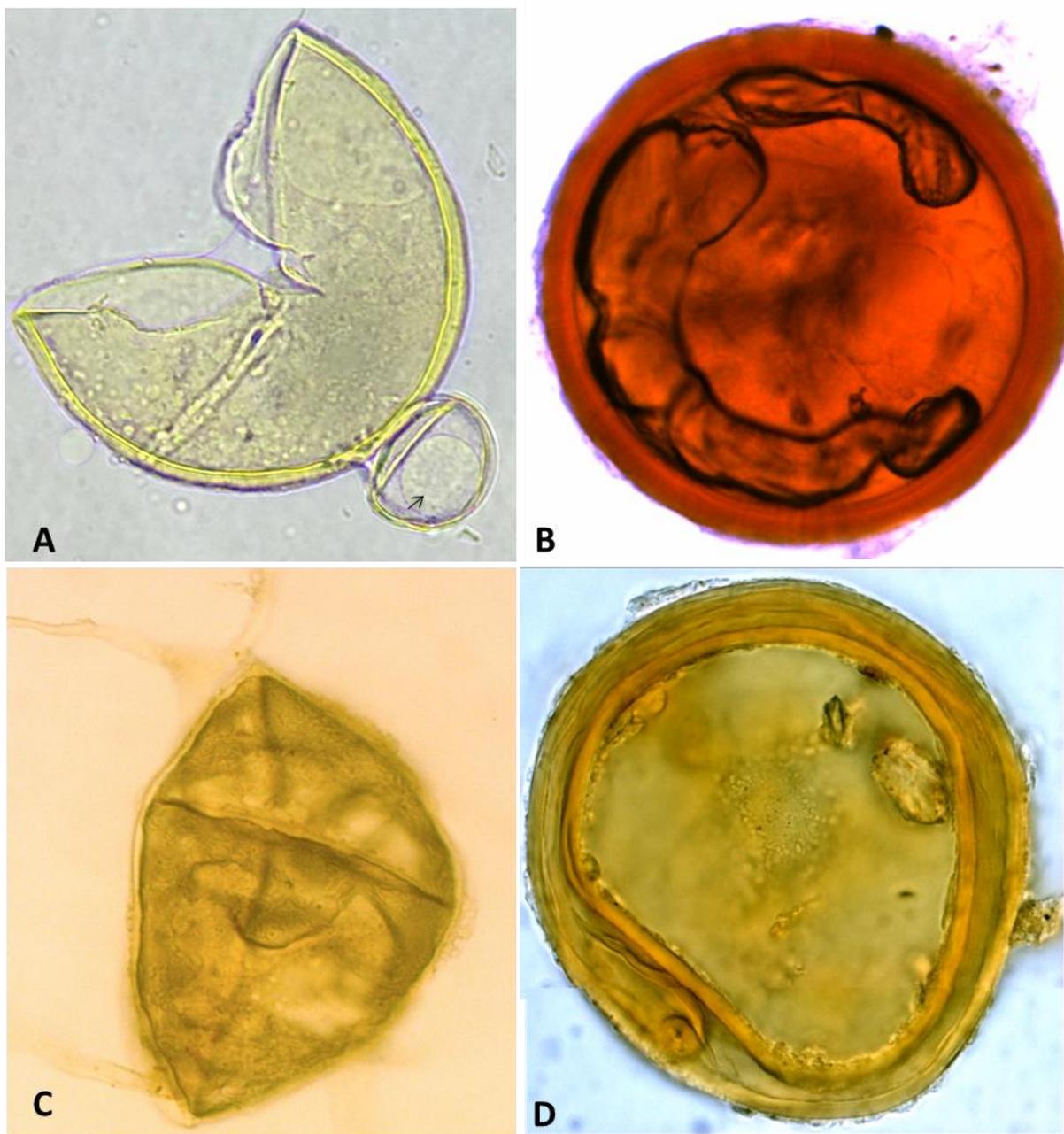
	Ubicación	Latitud	Esporas en 100 g	Colonización raíz %	pH	ANÁLISIS DE SUELO			
						M.O	E.C	P	N
1	Arroyo El Rosario	29°43'26.76"N 114°43'6.35"W	26	12	8.48	2.22	1.26	27.7	158
2	El Progreso	27°15'16.31"N, 112°19'12.29"W	13	24	8.37	1.38	0.9	64.1	40
3	Lomas Buenos Aires	29°54'6.12"N, 115° 5'25.22"W	10	6	8.37	1.36	1.41	2.8	58
4	Arroyo San Luis	29°43'26.76"N, 114°43'6.35"W	19	8	7.83	1.26	1.04	1	49
5	Laguna Escondida	29°20'49.09"N, 114°25'10.06"W	21	38	8.39	4.24	1.04	75.8	29
6	Valle Santa Ana	29° 3'33.12"N, 114° 9'16.81"W	9	22	7.64	0.91	0.64	46.5	21
7	Llano San Julián	29° 0'48.35"N, 113°51'50.15"W	13	12	8.78	0.55	0.89	36.1	2
8	Salorio	28°57'55.26"N, 113°41'21.12"W	19	46	7.86	0.79	0.87	38.7	34
9	San Andrés	28°44'21.59"N, 114° 6'38.12"W	28	36	8.42	1.14	1.1	23.3	33
10	Miramar	28° 8'55.00"N, 113°36'24.62"W	10	28	7.44	3.29	1.04	4.6	2
11	Berrendo	28° 5'7.87"N, 113°35'16.40"W	4	16	8.62	0.91	0.79	67.1	20
12	Lavas	27°20'11.47"N, 112°57'37.69"W	11	2	7.74	2.69	2.45	61.7	3
13	Anciano	27°13'19.63"N, 112°51'22.39"W	15	32	8.97	0.55	0.78	1.4	185
14	Santa Agueda	27°15'16.31"N, 112°19'12.29"W	6	26	8.14	1.86	6.81	1.1	39
15	Vizcaíno	27°40'34.68"N, 113°24'6.41"W	10	52	7.95	0.91	0.77	46.1	298
16	Santa Mónica	27°32'34.66"N, 114°31'51.46"W	14	20	8.14	0.7	1.34	0.8	18
17	Cuesta Grosso	29°28'28.02"N, 114°19'30.94"W	24	16	7.95	2.45	0.83	0.8	28
18	Cocos	29°30'55.80"N, 114°17'47.29"W	16	4	8.29	0.91	0.83	18.1	35
19	Papas	29°49'39.79"N, 114°24'52.20"W	11	10	8.3	0.91	1	58.1	12
20	Costañera	30°37'26.62"N, 114°43'23.45"W	9	18	8.59	1.5	0.65	42.4	41

Especies de HM	F.A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>Glomus intraradices</i>	55%	p	p	p	p	p	p	p	p				p	p-2				p			p
<i>Glomus hoi</i>	5%					p															
<i>G. chimonobambusae</i>	5%								p												
<i>Glomus</i> sp1	10%			p	p																
<i>Glomus</i> sp2	15%	p									p										P
<i>Glomus</i> sp3	5%				p																
<i>Glomus</i> sp4	5%				p																
<i>Glomus</i> sp5	25%				p		p			P		p								p	
<i>Glomus</i> sp7	5%				p																
<i>Glomus</i> sp8	25%	P				p				P					p					p	
<i>Glomus</i> sp9	10%		p			p				P											
<i>Glomus</i> sp10	5%					p															
<i>Glomus</i> sp11	10%				p						p										
<i>Glomus</i> .sp12	35%	P				P				p		p		p-2	p					p	p
<i>Glomus</i> sp13	25%	P								P			P	p							p
<i>Glomus</i> sp14	15%	p				p				P											
<i>Glomus rubiforme</i>	5 %								p												
<i>Acaulospora leavis</i>	5%								p												
<i>Acaulospora</i> sp1	15%		p		p																p
<i>Acaulospora</i> sp2 <i>delicata</i> like	10%				p			p													
<i>Acaulospora</i> sp3 <i>birreticulata delicata</i> like	5%													p							
<i>Scutellospora</i> sp1	15%				p	p						p									
<i>Scutellospora</i> sp2	5%								p												
<i>Funneliformis coronatum</i>	10%									p											p
<i>Esporocarpo Acaulospora</i>	5%								p												

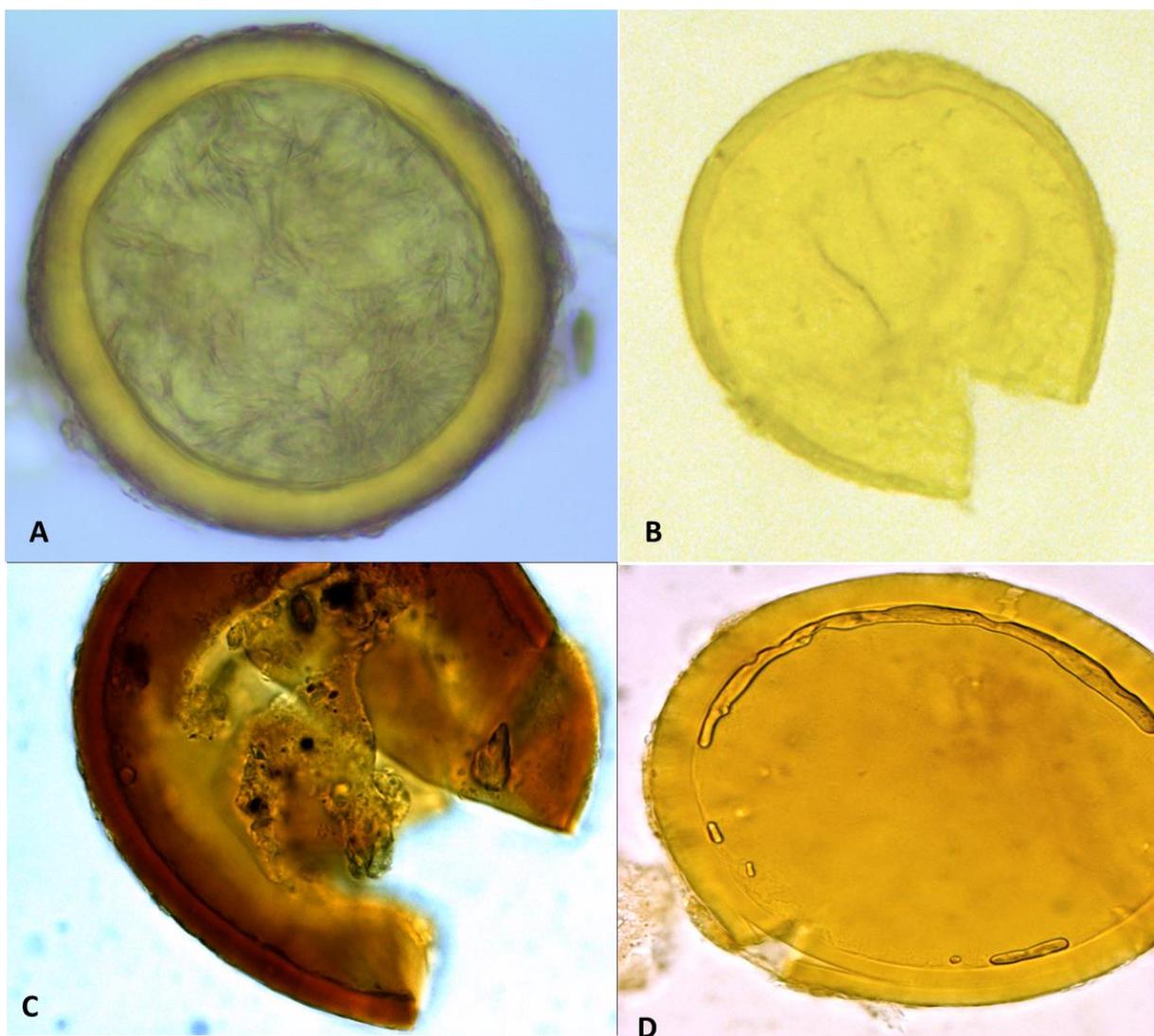
**Tabla 2.** Lista especies de hongos micorrízicos aislados de la rizósfera de *S. hindsianum*, su frecuencia de aislamiento (F.A) y distribución. Los números del 1 al 20 indican los sitios de muestreo. P=presencia, P-2= dos veces aislado



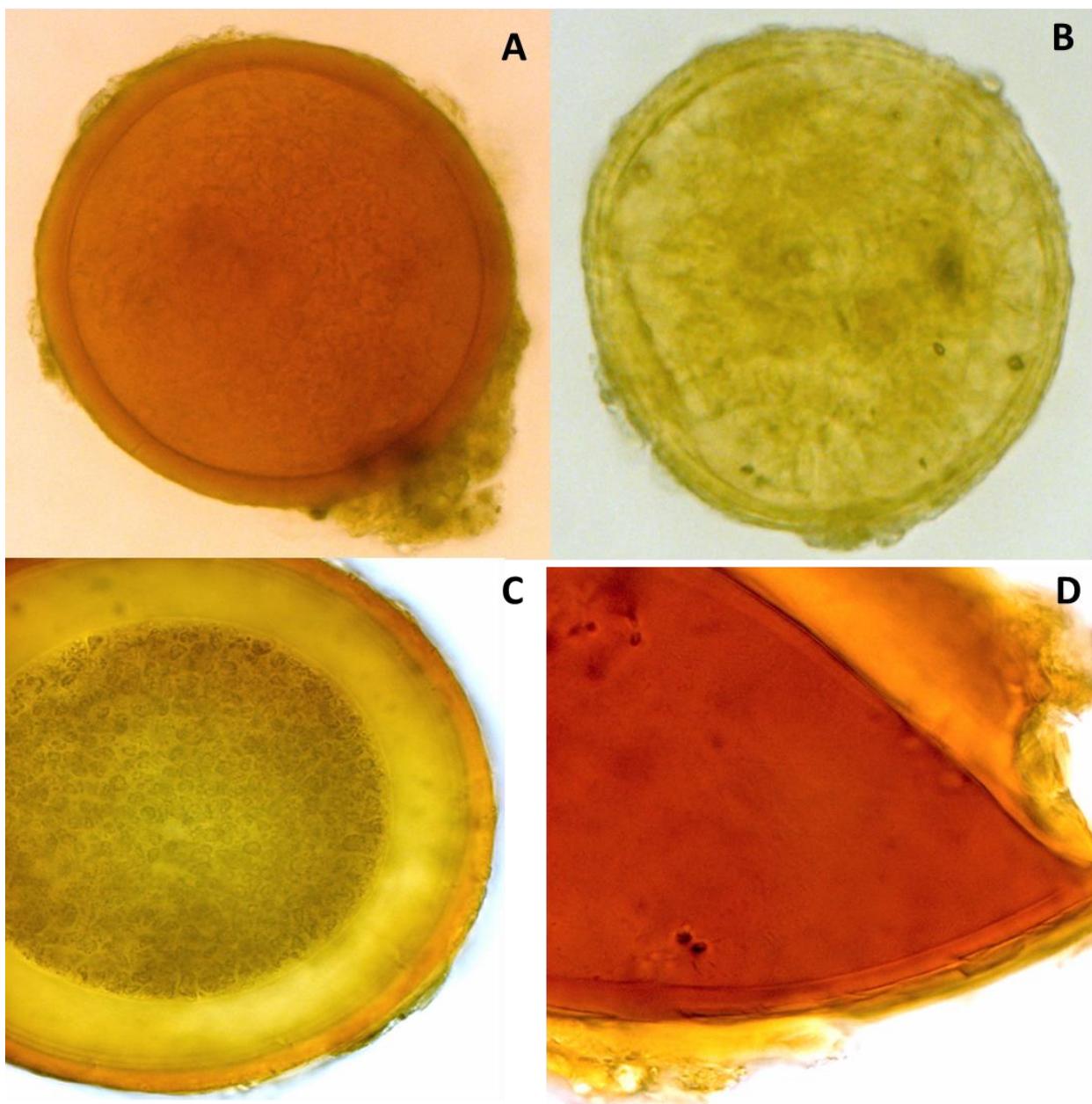
**Figura 6.** Hongos de la especie *Glomus intraradices* presentes en la rizósfera en *S. hindsianum*. **A**, cúmulo de esporas. **B**, espora entera mostrando la hifa de sostén (hs) con el tubo de germinación (tg) en su interior; se aprecian la capa laminar (C1-2) y la capa más interna (C3). **C**, espora mostrando la hifa de germinación (hs) curva y rodeada de micelio interesporocarpico (mi). **D**, espora rota mostrando un acercamiento de la hifa de sostén, se aprecia el poro (po) del tubo germinal (tg), así como las capas (C1) mucilaginosa y (C2) laminar.



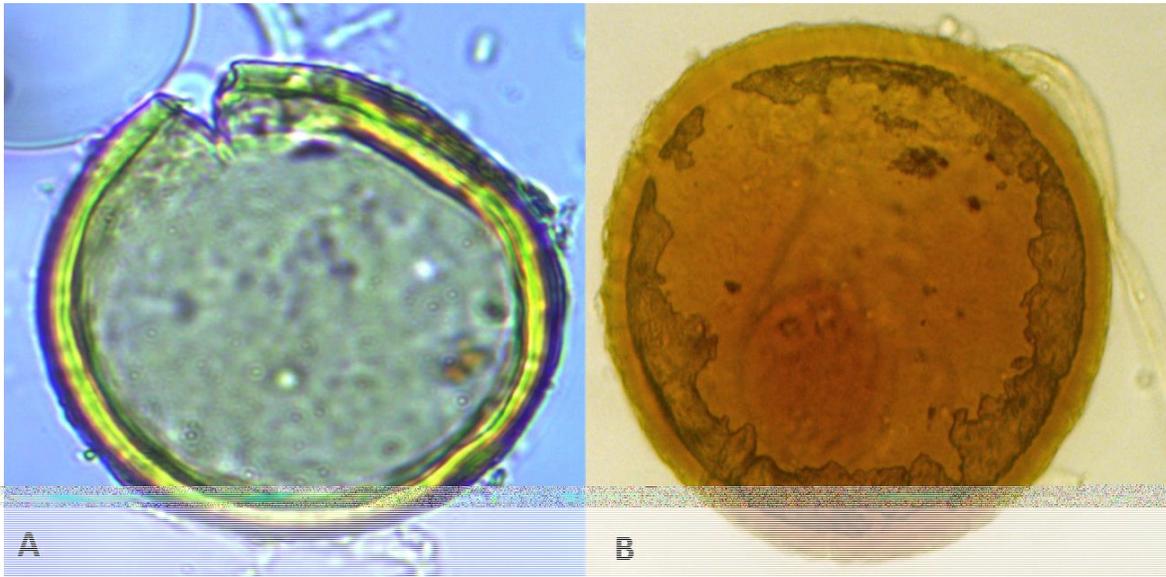
**Figura 7.** Morfotipos de *Glomus* spp. presentes en la rizósfera en *S. hindsianum* no identificadas a nivel de especie y por ello nombrados como: **A**, *Glomus* sp1, **B**, *Glomus* sp2, **C**, *Glomus* sp3, y **D**, *Glomus* sp4.



**Figura 8.** Morfotipos de *Glomus* spp. presentes en la rizósfera en *S. hindsianum* no identificadas a nivel de especie y por ello nombradas como: **A**, *Glomus* sp5, **B**, *Glomus* sp6, **C**, *Glomus* sp7 y **D**, *Glomus* sp8.



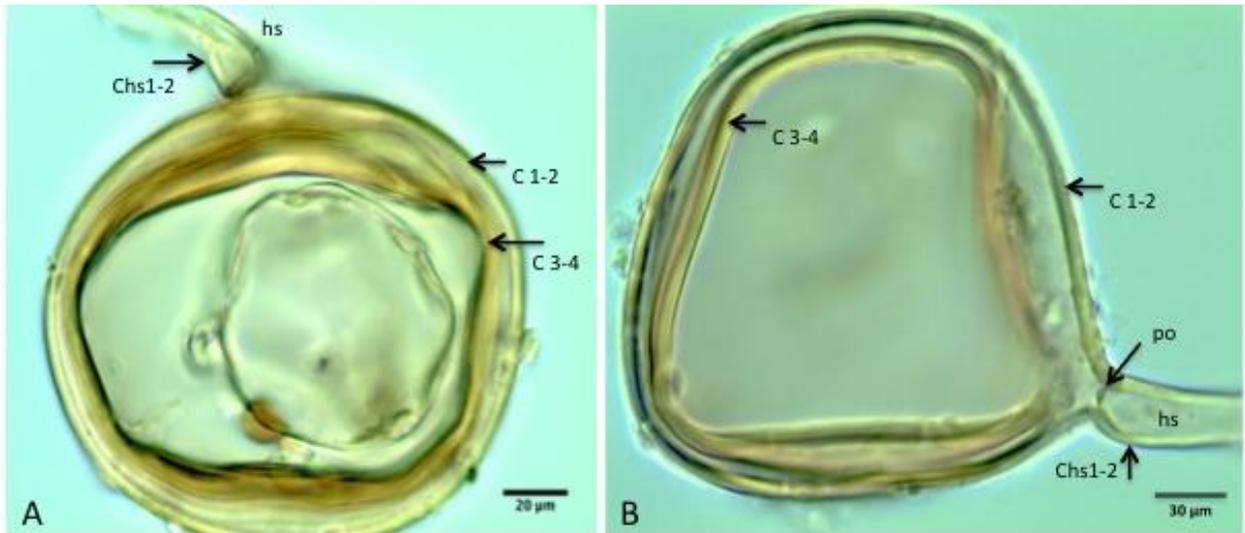
**Figura 9.** Morfotipos de *Glomus* spp. presentes en la rizósfera en *S. hindsianum* no identificadas a nivel de especie y por ello nombradas como: **A**, *Glomus* sp9, **B**, *Glomus* sp10, **C**, *Glomus* sp11 y **D**, *Glomus* sp12.



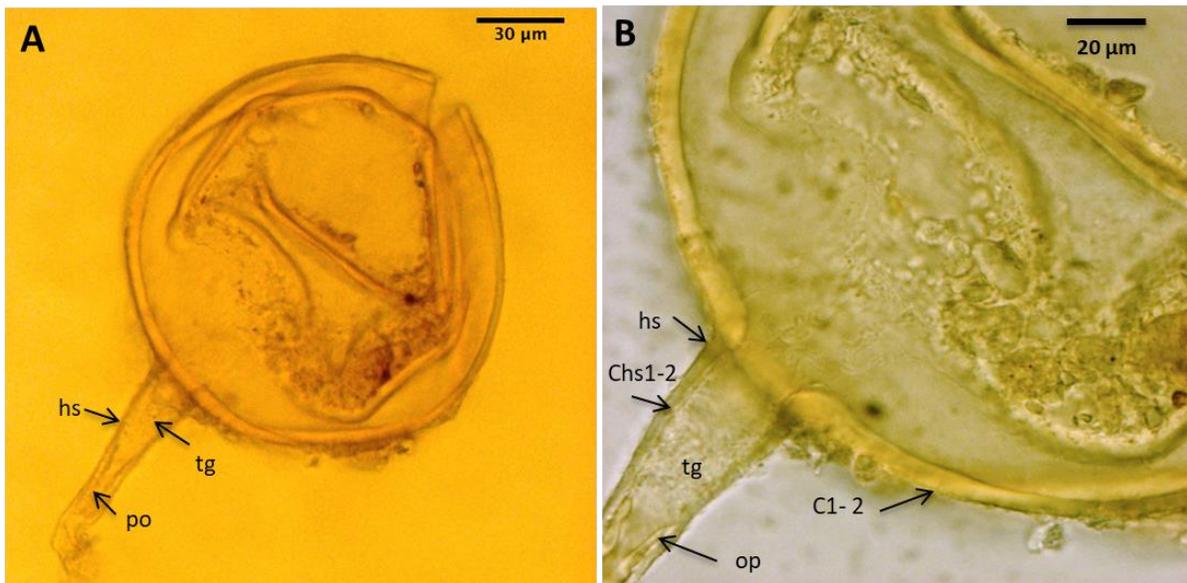
**Figura 10.** Morfotipos de *Glomus* spp. presentes en la rizósfera en *S. hindsianum* no identificados a nivel de especie y por ello nombradas como: **A**, *Glomus* sp13, **B**, *Glomus* sp14.



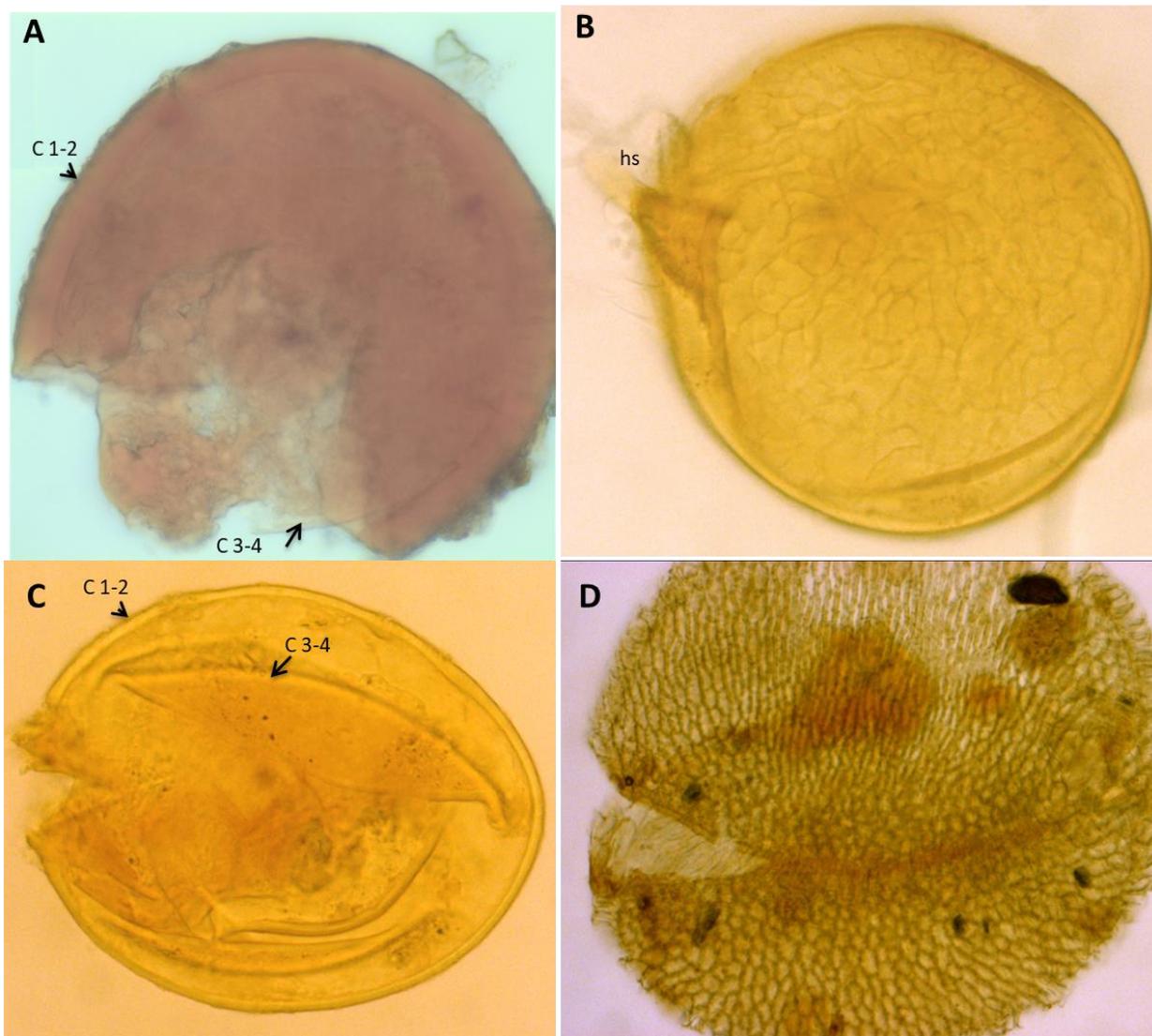
**Figura 11.** Hongos micorrízicos presentes en la rizósfera en *S. hindsianum*. Espora de *Glomus chimonobambusae*, único ejemplar encontrado en el sitio Salorio ubicado en B.C. La espora tiene forma globosa a subglobosa a ovoide; color semihialino a amarillo pálido, con notable ornamentación en la pared externa; tamaño de 80-100 de diámetro y 100-180 µm de largo. **A**, La capa 2, está adherida a capa 1 y tiene un espesor de 1-2 µm (C1-2); mientras que la capa 3 es delgada y está unida a la capa 4 formando una unidad de 1.5 µm de diámetro (C3-4). **B**, se puede observar una cubierta de proyecciones hialinas (ph), de forma cónica, engrosadas en la base y proyecciones menores con forma de verrugas (v) de 3.4-4.5 µm de ancho.



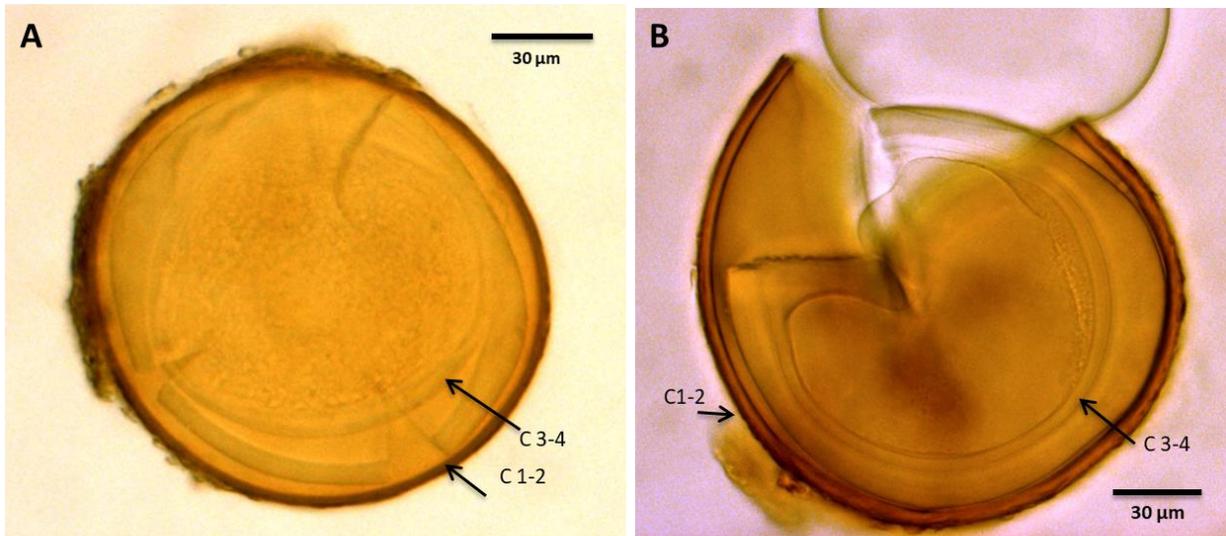
**Figura 12.** Esporas de *Glomus rubiforme*. **A**, *G. rubiforme* mostrando la hifa de sostén (hs) formada por dos capas (Chs 1-2) y los grupos de capas laminares de la espora (C1-2 y C3-4), **B**, *G. rubiforme* mostrando las capas laminares (C1-2 y C3-4) y la hifa de sostén, formada por dos capas (Chs 1-2) provenientes de C1-2, con notable poro de oclusión (po) en la parte inicial de la hifa.



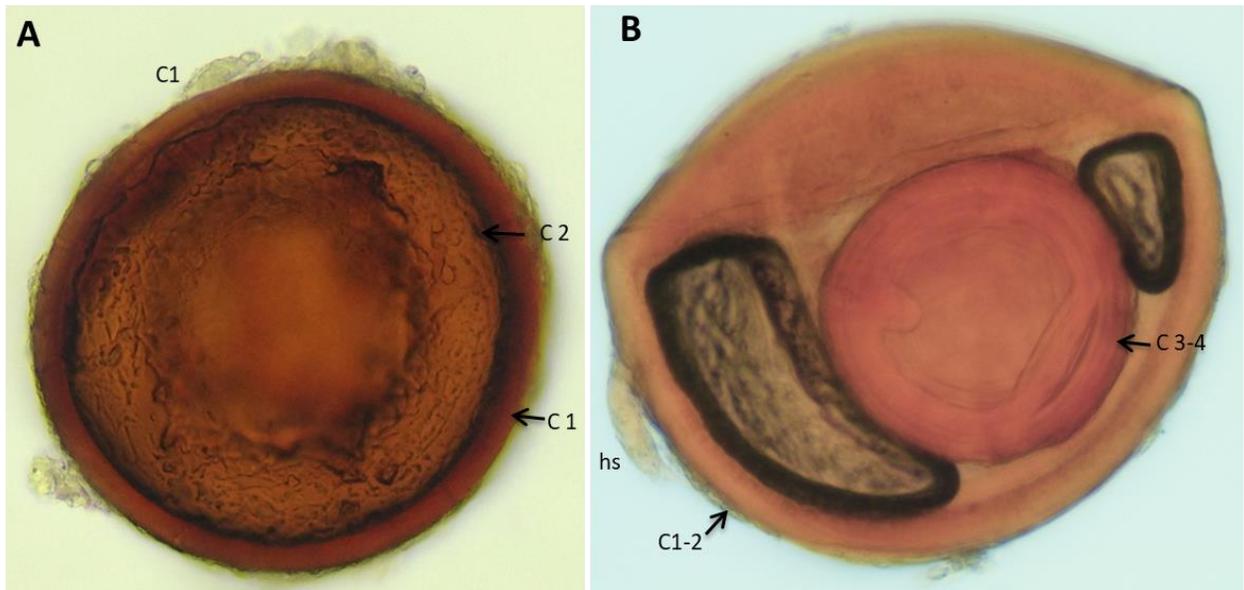
**Figura 13.** **A**, detalles de *Glomus hoi*. Se aprecia la hifa de sostén, formada por 2 capas (Chs1-2). **B**, *G. hoi*, mostrando la hifa de sostén en forma de embudo (hs); en su interior el tubo germinal (tg) y el poro de la oclusión (po).



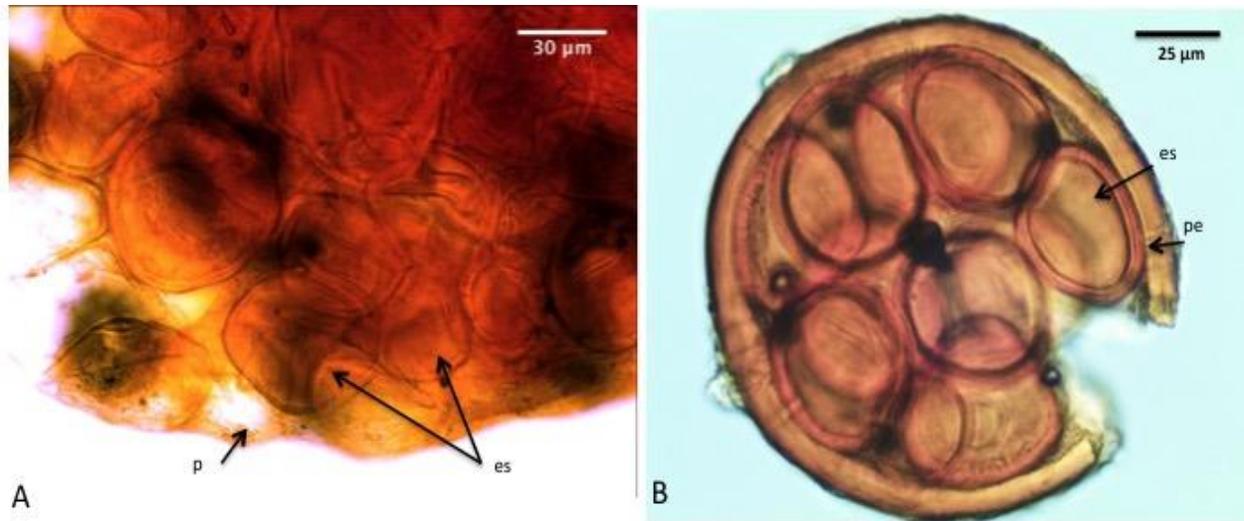
**Figura 14.** Esporas de *Acaulospora* spp. **A**, *Acaulospora leavis* like. **B**, *A. bireticulata*. **C**, *Acaulospora sp2-delicata* like. **D**, espora semi-rotta de *Acaulospora* sp3 mostrando notable ornamentación en toda la capa exterior. C1-2, capas laminares; C 3-4, capas hialinas internas; hs, hifa de sostén.



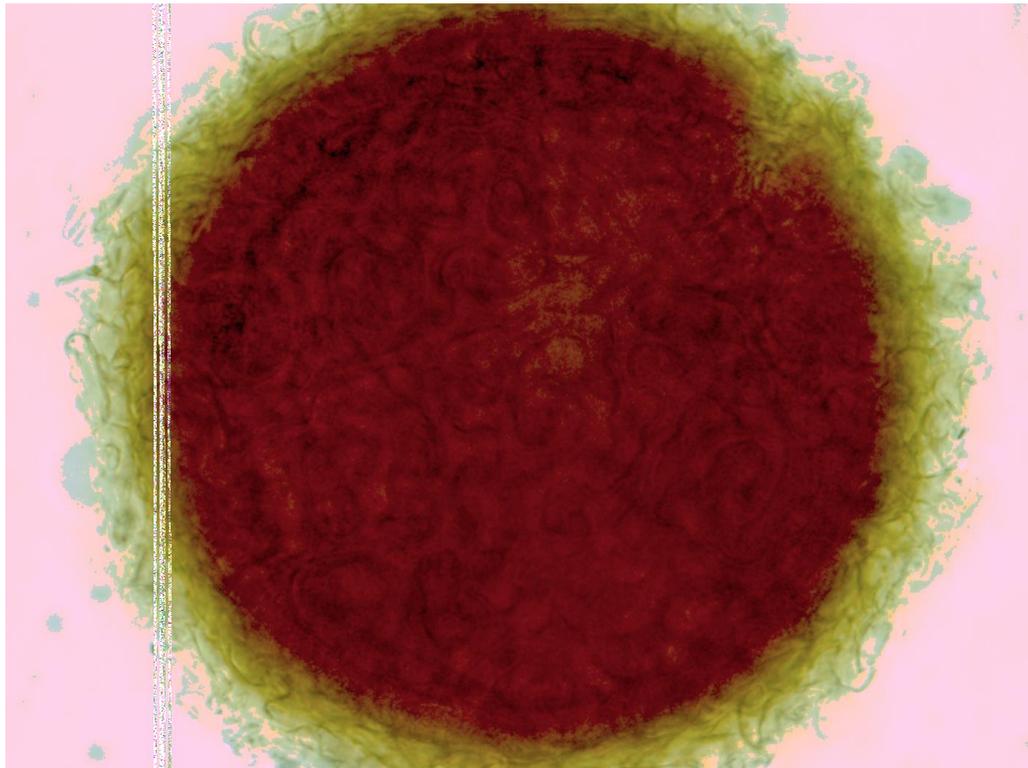
**Figura 15.** Esporas de *Acaulospora* sp. 1 **A**, espora completa mostrando la capa laminar (C1-2), y las capas semiflexibles (C 3-4). **B**, espora rota al aplicar presión, mostrando las capas laminares (C1-2) y las capas hialinas internas (C 3-4).



**Figura 16.** Esporas de *Scutellospora*. **A**, Espora de *Scutellospora* sp.1 mostrando capa 1 con restos mucilaginosos (C1) y una capa laminar (C2). **B**, Espora de *Scutellospora* sp.2, mostrando hifa de sostén (hs) y el primer grupo capas de la espora (C1-2) dispuestos de forma laminar, y el grupo más interno se puede observar la presencia de 2 a 4 capas, (C3-4).



**Figura 17. A,** Múltiples esporas intraradicales contenidas en un esporocarpio con características del género *Glomus*, rodeadas por un peridio (similar a *G. Aggregatum* - like). **B,** esporocarpio con caracteres similares a los encontrados en especies de *Glomus* sp., ligeramente roto, con 8-10 esporas (es) en su interior, rodeadas por la pared del esporocarpio (pe), formada por una capa gruesa y laminar.



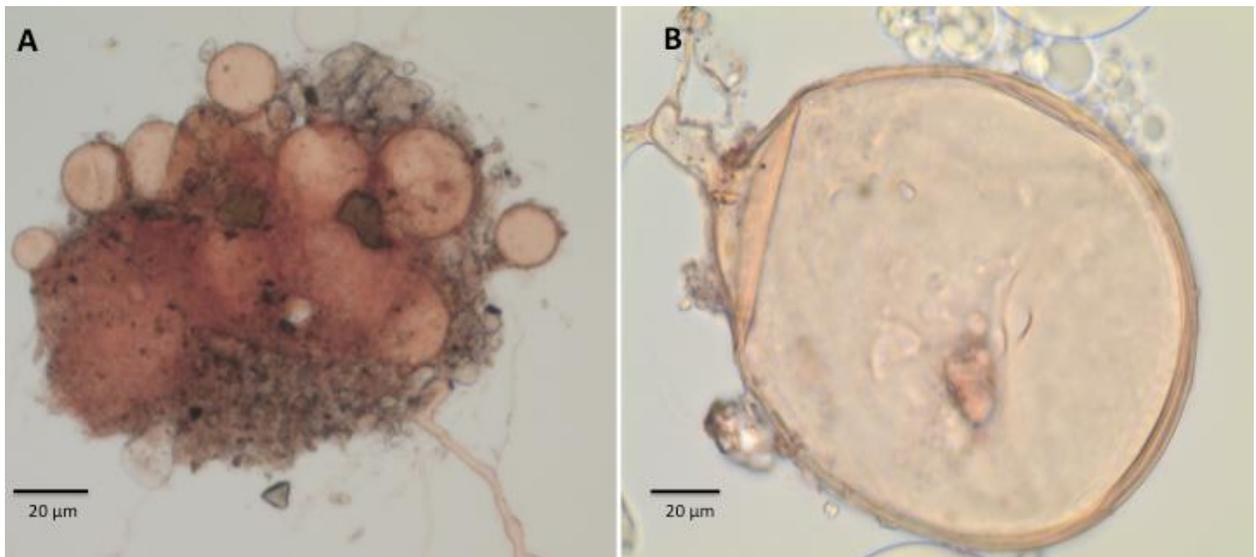
**Figura 18.** Espora aislada no identificada, presentando una capa externa mucilaginosa color ámbar y una segunda capa C2 de apariencia laminar, rojiza.

### 3.3 Plantas trampa

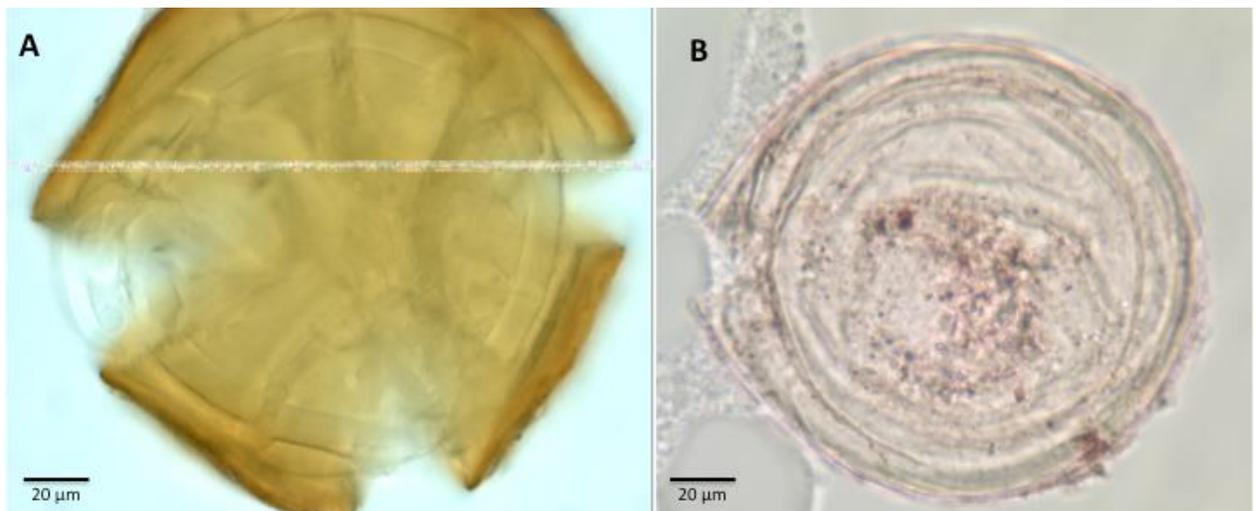
Las plantas trampa de *Lycopersicon esculentum* crecieron de manera irregular, presentando una alta mortandad y crecimiento reducido (Figura 19). Al hacer los aislamientos, se encontraron abundantes esporocarpos adheridos en la periferia de raíces frescas y muertas (Figura 20). Se logró aislar un total de 5 morfotipos de esporas, correspondientes al género *Glomus*. En concreto, se aisló *G. Intraradices*, *Rhizophagus fasciculatus*, y dos morfotipos correspondientes al género *Acaulospora*. De las raíces en fresco se logró aislar un grupo interesante de esporas color blanco-hialino, abundantes sobre la superficie externa de las raíces, formando agrupaciones; este morfotipo no fue observado en las muestras de suelo procesadas y probablemente, corresponden a otro grupo de hongos capaces de formar relación simbiote con las plantas de tomate (Figura 16).



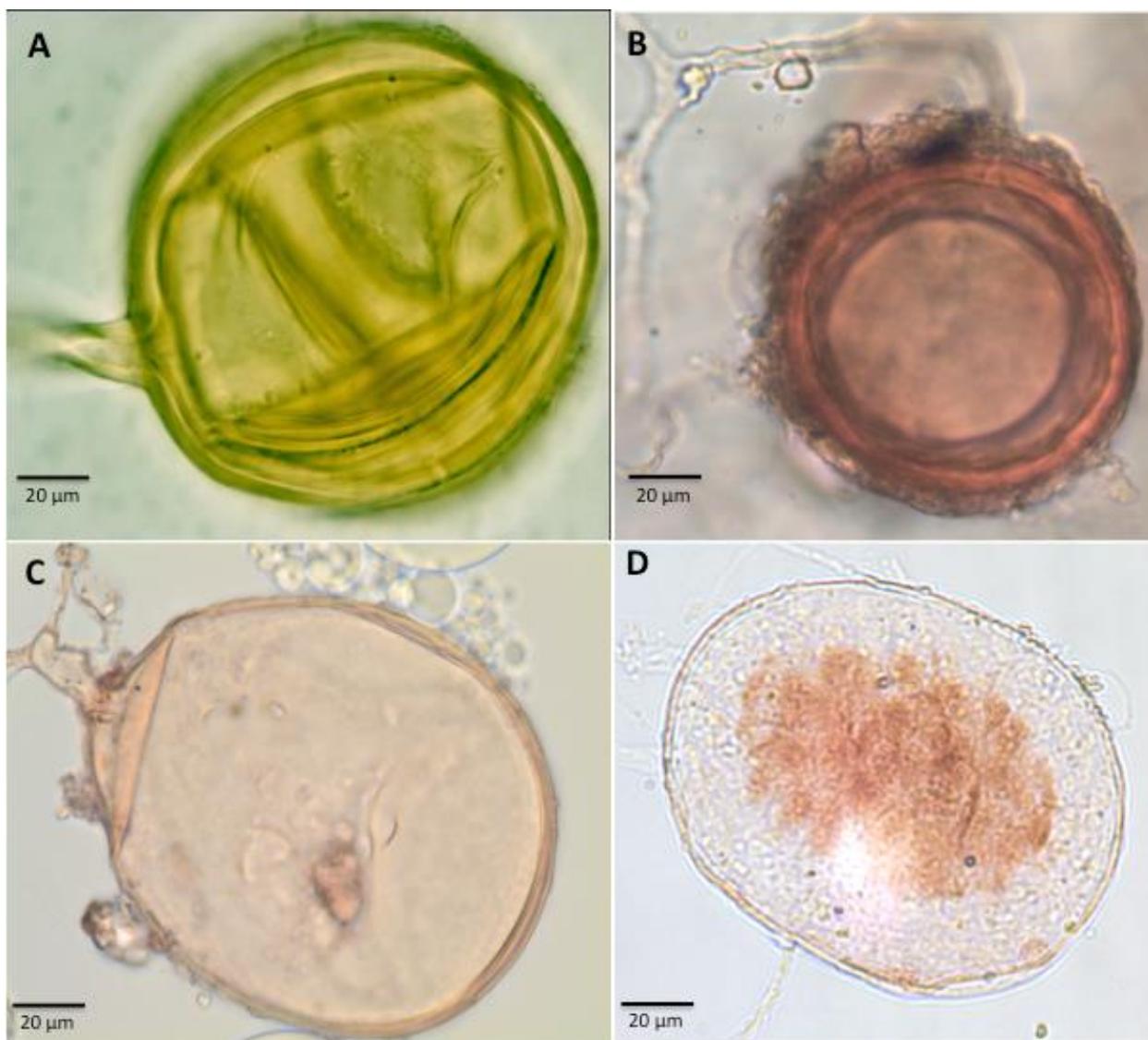
**Figura 19. A,** Macetas cuadradas con las plantas trampa de tomate en crecimiento, **B** revisión de las raíces en fresco de tomate *Lycopersicon esculentum* observadas con un estereoscopio para el aislamiento y montaje de esporas.



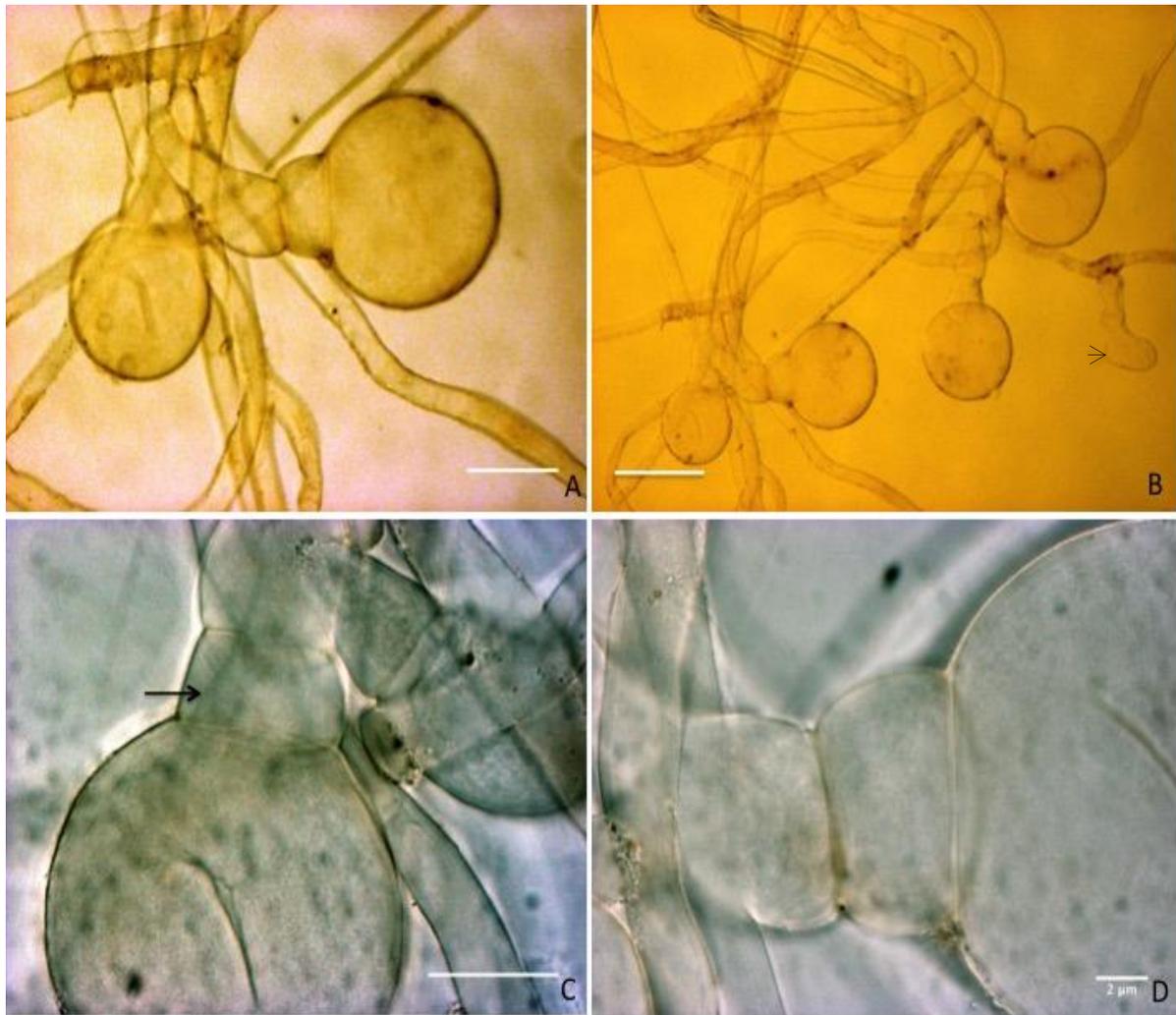
**Figura 20.** Esporas de hongos micorrízicos asociados a plantas de tomate. **A**, esporocarpos encontrados adheridos en la periferia de raíces frescas y muertas. **B**, acercamiento de una espora obtenida del esporocarpo.



**Figura 21.** Esporas de hongos del género *Acaulospora* asociadas a plantas de tomate después de 6 meses de haber crecido sobre suelo colectado de la rizófera de *S. hindsianum*. Las esporas fueron aisladas en fresco y montadas en alcohol polivinílico.



**Figura 22.** Esporas de hongos del género *Glomus* aisladas en fresco asociadas a plantas de tomate después de 6 meses de haber crecido sobre suelo colectado de la rizófera de *S. hindsianum* y montadas en alcohol polivinílico. **A**, *G. Intraradices*, **B**, *Rhizophagus fasciculatus*, **C-D**, morfotipos aislados no identificados.



**Figura 23.** **A**, Grupo de esporas hialinas no identificadas; nótese los distintos caracteres morfológicos al comparar con esporas del genero *Glomus*, como falta de paredes bien definidas, generalmente 2-4 en el grupo Glomeromycota, con grosores de 0.2 a 5  $\mu\text{m}$ , ausentes en estas esporas aisladas, **B**, agrupación de esporas terminales unidas por micelio cenocítico, así como una posible espora en formación (flecha), **C**, detalle del cuello de la espora (flecha), en forma de embudo circular, formada por 2 secciones, disminuyendo su tamaño hacia la base de la espora, **D**, plano horizontal de la espora no identificada mostrando detalle de la hifa de sostén formado por una capa delgada. Barra A= 50  $\mu\text{m}$  B=100  $\mu\text{m}$  C= 10  $\mu\text{m}$ , D=2  $\mu\text{m}$ .

## Capítulo 4. Discusión

---

### 4.1 Colonización de raíces

Los valores de colonización de las raíces son comparables a estudios de otras zonas áridas o semiáridas (Uhlmann et al., 2006) y con plantas del género *Solanum* (Songachan y Kayang, 2012; Akond et al., 2008). Esos estudios sugieren que las especies del género *Solanum* suelen presentar porcentajes bajos de colonización por HM (Nzanza et al., 2011). Aunque en este estudio, los valores reportados pueden también ser el resultado del método de extracción y por la profundidad a la que se tomaron las muestras (20-30 cm); ya que existen reportes de que la mayor densidad de esporas se encuentra en los primeros 10-20 cm de suelo (Ingebly et al., 1997; He et al., 2002). Por otro lado, las muestras se tomaron adyacentes al tallo y no se puede descartar que otras partes del sistema radicular estuviesen más colonizadas. Adicionalmente, la textura rocosa del suelo de algunos sitios evitó la recuperación de suficientes raíces, o raíces viables que se pudieran teñir para observar las estructuras fúngicas; esto puede tener relación con el estado fisiológico en que se encontraba la planta. La época de muestreo en el mes de agosto coincidió con la época de mayor temperatura y menor precipitación de la zona norte de muestreo; esta época de sequía puede significar menor cantidad de raíces, y a su vez explicar la poca presencia de hifas intraradicales y mayor cantidad de esporas dentro de las raíces. También se observaron diferencias entre las plantas recolectadas en los distintos sitios de muestreo, principalmente varió la presencia de hojas, flores y frutos, así como la cantidad de raíces viables colectables. Este hecho coincide con la descripción de la planta por Turner y colaboradores (2005), donde se menciona que la producción de hojas, flores y frutos puede variar a través del año en respuesta a los patrones de lluvia. Según la base de datos de plantas nativas de California ([theodorepayne.org](http://theodorepayne.org)), *S. hindsianum* florea del mes de agosto a abril, lo que no se observó en los sitios de muestreo 2 al 6, donde se encontraron plantas sin flores y con frutos secos, posiblemente por falta de eventos de lluvia, pero sí en los sitios de Baja California Sur, donde se encontraron plantas vigorosas con abundantes flores (sitios M14 al M16), así como en la zona costera (M18 y M19). A pesar de estas diferencias en el estado fenológico de las plantas, la colonización de las raíces fue similar con los sitios muestreados en la zona norte de la península.

Por otro lado, debemos considerar que la estacionalidad y el potencial de inóculo puede influir en los resultados. Por cuestiones logísticas y de tiempo, en este estudio solo fue posible realizar un muestreo;

esto nos brindó una imagen temporal de la asociación de hongos micorrízicos con *S. hindsianum*. Por lo anterior, es posible que nuestros resultados varíen en otra temporada del año. Otros factores como la composición físico-química del suelo, la cobertura y diversidad vegetal, disturbios y presencia de microclimas, han sido mencionados como factores que pueden influir en la abundancia, diversidad y distribución de los HM en zonas áridas (Stutz et al., 2000). Realizar muestreos a través del tiempo y en la rizósfera de más plantas; apoyados con el uso de cultivos trampa de diferentes especies de plantas, brindará mayor información sobre la diversidad de HM y su distribución en zonas áridas.

## 4.2 Aislamiento de esporas

En este estudio se encontraron números bajos de esporas por cada 100 g de suelo, con 14 esporas promedio. Esto coincide con algunos reportes de zonas áridas (Bashan et al., 2007; Rose, 1981; Jacobson et al., 1997; Uhlmann et al., 2006), y concuerda con la propuesta de que, al aumentar la aridez, disminuye la diversidad de especies de HM (Dhillon y Zak, 1993) y con reportes que sugieren que las especies solanáceas suelen presentar baja tasa de colonización (Songachan y Kayang, 2012; Nzanza et al., 2011)

Existen algunos factores que pueden afectar la presencia y distribución de los HM en zonas áridas; por ejemplo, el número de esporas y la micorrización de las raíces puede presentar gran variación año con año, independientemente de factores como la humedad del suelo (Songachan y Kayang, 2012). La época también puede afectar los resultados; es posible que el muestreo se realice en un momento donde las especies de HM no estén esporulando (Stutz, 2000). Muthukumar y colaboradores (2003) sugirieron que la producción de esporas de HM tiende a variar entre ecosistemas, siendo afectada por factores ambientales como tipo de hospedero, especie de HM y densidad de esporas en el suelo, la cuales tienden a disminuir con la senescencia de las raíces. Durante la época de este muestreo fue notoria la presencia de raíces secas y engrosadas en gran parte de los sitios de muestreo, principalmente en la zona muestreada de Baja California, probablemente por la época de escasos o nulos eventos de lluvia. Es posible que este hecho y el método de muestreo hayan influido en la cantidad de esporas viables en el suelo al momento del muestreo. En Baja California Sur fue notoria la presencia de plantas de *S. hindsianum* con hojas y flores abundantes (observación personal), sin embargo, también presentaron números bajos de esporas en suelo.

Aunque no es una tendencia establecida, se puede observar que los sitios con mayor materia orgánica en el suelo tuvo un efecto positivo en la cantidad de esporas en el suelo en los sitios (1, 5, 10, 12, 17).

Curiosamente el sitio # 9 de muestreo presento el mayor numero de esporas en suelo, pero la cantidad de materia orgánica en suelo era menor que en los sitios antes mencionados. Esto coincide con algunos reportes donde mencionan que las islas de recursos formadas bajo las plantas suelen presentar mayor cantidad de HM, debido a una mayor cantidad de raíces y la abundancia de recursos presentes como materia orgánica y humedad (Finlay et al., 2008). Este fue el caso de los sitios (M11 y M14, los cuales presentaron números bajos de esporas en suelo, a pesar de haber tomado muestras de plantas con flor.

Otros trabajos sugieren una mayor presencia de HM cuando el suelo presenta mayor cobertura vegetal (Bashan et al., 2000). En nuestro caso, *S. hindsianum* suele desarrollarse en arroyos, cuestas o cañadas rocosas, y suelos previamente perturbados, lo que disminuye la presencia de otras especies de plantas, posiblemente contribuyendo a los bajos números de esporas que encontramos; cabe mencionar que *S. hindsianum* también fue muestreada bajo sustratos arenosos, con parches de vegetación vecinos, sin embargo la cantidad de esporas fue similar a otros sitios.

En el trabajo de Bashan y colaboradores (2007), se reportaron 23 especies de HM, bajo la rizósfera de *Fouquieria columnaris*; esto nos habla del potencial fúngico que alberga cada planta. Es necesario recordar que la diversidad fúngica de HM está relacionada con múltiples factores como son las características físico-químicas del suelo, su profundidad, la cobertura vegetal, presencia de microclimas, disturbios naturales e incluso la comunidad vegetal hospedera ( Helgason et al. 2007; Oehl et al. 2005). A pesar de haber trabajado sólo con *S. hindsianum*, fue posible el aislamiento de alrededor de 30 morfotipos de esporas de hongos micorrízicos; esto nos habla de la importancia de seguir examinando la rizósfera de aquellas plantas que aún no se estudian. El conocer la diversidad fúngica de regiones áridas nos puede brindar herramientas biotecnológicas para eficientizar el uso de recursos ante los retos que enfrenta la agricultura, como es alimentar una población creciente que enfrenta cambios en los patrones del clima.

En algunos casos, el aislamiento y descripción de esporas solo fue posible hasta el nivel de género, debido a la naturaleza de las muestras ambientales. El trabajar con muestras de campo suele dificultar la identificación de las esporas usando caracteres morfológicos, debido a la degradación natural de componentes importantes como las láminas, su ornamentación y las hifas de germinación (Sanders, 2004). Durante el proceso de montaje de esporas en laminillas fijas, se montaron ejemplares que no estaban viables. Este hecho se hizo notorio durante la examinación con el microscopio compuesto. La identificación morfológica depende altamente de los caracteres que se puedan observar en esporas

viables, por lo que se repitió el proceso de aislamiento y montaje de esporas de algunas muestras para obtener imágenes con caracteres más claros.

### **4.3 Plantas trampa**

Los HM provenientes del suelo muestreado, colonizaron las plantas que lograron crecer. En el experimento de las plantas trampa se conjugaron varios factores que no permitieron su desarrollo; por lo que no se pudieron obtener suficientes raíces que nos permitieran observar el proceso de colonización por los HM, salvo los casos de las muestras 20, 11 y 7. En las macetas donde no se desarrollaron las plantas se observó compactación del sustrato, así como alta retención de humedad por periodos de hasta 8 días. Esto pudo propiciar un ambiente anóxico para las raíces, evitando su desarrollo y contribuyendo a su pudrición. Adicionalmente se observó el crecimiento de micro algas verdes en la periferia interior de las macetas, probablemente por la transparencia mismas; también se observó la presencia de cenicilla sobre las hojas de tomate, dificultando un crecimiento óptimo. La exposición de las raíces a la luz ultravioleta y altas temperaturas pudo afectar el crecimiento óptimo de las plantas de tomate.

El método de plantas trampa tiene la ventaja de proporcionar inóculo fresco, conteniendo una posible gama de especies representativas del hábitat muestreado; esto es importante en zonas áridas donde se ha reportado baja o nula esporulación de algunas especies de HM como un fenómeno común (Bashan et al., 2000); de esta manera se puede obtener mayor información sobre la morfología de las especies en estudio, facilitando su identificación y futuras pruebas de compatibilidad con plantas de interés. Además, esta fuente de inóculo permite separar morfotipos, debido a que las esporas son recientes y sus caracteres morfológicos son más claros y constantes; esto es una gran ventaja al comparar las esporas obtenidas en muestras ambientales, las cuales suelen tener cierto grado de degradación natural o parasitismo, dificultando su identificación por la confusión o falta de caracteres. La obtención de material puro también nos permite crear cultivos monoespóricos, permitiendo evaluar el posible potencial de cada especie o conglomerados de estas en alguna planta de interés; aunque no fue el objetivo de este trabajo, la creación de cultivos monoespóricos es un segundo paso en la investigación de los HM para su posible uso en la agricultura local.

El experimento fue de gran ayuda, pues nos permitió detectar algunas especies de hongos con caracteres morfológicos distintos a los detectados en las muestras de suelo, así como algunas especies también encontradas en las muestras de suelo, ambas capaces colonizar las plantas de tomate comercial

## Capítulo 5. Conclusiones

---

En conclusión, nuestros resultados muestran que:

- El arbusto *S. hindsianum* alberga una gran diversidad de hongos micorrízicos en sus raíces y rizósfera, donde cohabitan por lo menos 3 géneros de HM con 30 morfotipos o posibles especies.
- Las plantas como *S. hindsianum*, representan reservorios de especies de HM, que pueden significar herramientas biotecnológicas con aplicaciones en agricultura; dichas especies de HM o conglomerados de estos, requieren de mayor investigación en distintos niveles; dado que pueden impactar positivamente el sector agrícola regional. Bajo un escenario de cambio climático, esto toma mayor importancia en regiones semi áridas como Baja California, donde se necesita eficientar los recursos como el agua.
- Las plantas trampa, cuando su manejo esta diseñado correctamente, representan una excelente herramienta para entender mejor el papel de los HM, y sus usos potenciales aplicados a cultivos regionales de importancia económica.
- Es necesaria hacer más investigación sobre la diversidad de HM que albergan las plantas de la región y evaluar los efectos potenciales de las aislados encontrados, haciendo énfasis en sus efectos sobre la posible mejoría del crecimiento de las plantas, en la resistencia a condiciones ambientales de estrés como puede ser la falta de agua y a agentes patógenos, los cuales representan un problema emergente ante el cambio climático.

## Literatura citada

---

- Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H., Abdel-Wahhab, M. A. (2012). Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *Journal of Plant Physiology*, 169(7), 704-709.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology*, Vol. 5. Elsevier Academic Press. USA.
- Akond, M. A., Mubassara, S., Rahman, M. M., Alam, S., Khan, Z. U. (2008). Status of vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizae in vegetable crop plants of Bangladesh. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(6), 704-708.
- Al-Garni, S. M. S. (2006). Increased heavy metal tolerance of cowpea plants by dual inoculation of an arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixer *Rhizobium* bacterium. *African Journal of Biotechnology*, 5(2), 133-142.
- Alguacil, M. M., Hernandez, J. A., Caravaca, F., Portillo, B., Roldan, A. (2003). Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil. *Physiologia Plantarum*, 118(4), 562-570.
- Al-Karaki, G. N. (2006). Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. *Scientia Horticulturae*, 109(1), 1-7.
- Allen, M. F. (2011). Linking water and nutrients through the vadose zone: a fungal interface between the soil and plant systems. *Journal of Arid Land*, 3(3), 155-163.
- Al-Whaibi, M. H. (2009). Desert Plants and Mycorrhizae (A mini-review). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 3(2), 457-466.
- Aroca, R., Porcel, R., Ruiz-Lozano, J. M. (2007). How does arbuscular mycorrhizal symbiosis regulate root hydraulic properties and plasma membrane aquaporins in *Phaseolus vulgaris* under drought, cold or salinity stresses?. *New Phytologist*, 173(4), 808-816.
- Augé, R. M., Toler, H. D., Saxton, A. M. (2015). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, 25(1), 13-24.
- Azcón-Aguilar, C., Jaizme-Vega, M. C., Calvet, C. (2002). The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. En: *Mycorrhizal technology in agriculture*. Birkhäuser, Basel. (pp. 187-197)
- Bagayoko, M., George, E., Römheld, V., Buerkert, A. (2000). Effects of mycorrhizae and phosphorus on growth and nutrient uptake of millet, cowpea and sorghum on a West African soil. *The Journal of Agricultural Science*, 135(4), 399-407.

- Bárzana, G., Aroca, R., Bienert, G. P., Chaumont, F., Ruiz-Lozano, J. M. (2014). New insights into the regulation of aquaporins by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize plants under drought stress and possible implications for plant performance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 27(4), 349-363.
- Bashan, Y., Davis, E. A., Carrillo-Garcia, A., Linderman, R. G. (2000). Assessment of VA mycorrhizal inoculum potential in relation to the establishment of cactus seedlings under mesquite nurse-trees in the Sonoran Desert. *Applied Soil Ecology*, 14(2), 165-175.
- Bashan, Y., Khaosaad, T., Salazar, B. G., Ocampo, J. A., Wiemken, A., Oehl, F., Vierheilig, H. (2007). Mycorrhizal characterization of the boojum tree, *Fouquieria columnaris*, an endemic ancient tree from the Baja California Peninsula, Mexico. *Trees*, 21(3), 329-335.
- Baum, C., El-Tohamy, W., Gruda, N. (2015). Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Scientia Horticulturae*, 187, 131-141.
- Beauregard M. S., C. Hamel, M. St.-Arnaud, (2008). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Communities in Major intensive North America grain productions. En: Siddiqui, Akhtar, Futai (eds.), *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. 1st Ed. Springer. (pp 135-150)
- Benhamou, N., Fortin, J. A., Hamel, C., St-Arnaud, M., Shatilla, A. (1994). Resistance responses of mycorrhizal Ri T-DNA-transformed carrot roots to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*. *Phytopathology*, 84(9), 958-968
- Berruti, A., Lumini, E., Balestrini, R., Bianciotto, V. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1559.
- Bowler, C., Montagu, M. V., Inzé, D. (1992). Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 43(1), 83-116.
- Brundrett, M. C. (2002). Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, 154(2), 275-304.
- Brundrett, M. C. (2009). Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*, 320(1-2), 37-77.
- Caravaca, F., Barea, J. M., Palenzuela, J., Figueroa, D., Alguacil, M. M., Roldán, A. (2003). Establishment of shrub species in a degraded semiarid site after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Soil Ecology*, 22(2), 103-111
- Carrillo-Garcia, Á., La Luz, D., León, J. L., Bashan, Y., Bethlenfalvay, G. J. (1999). Nurse plants, mycorrhizae, and plant establishment in a disturbed area of the Sonoran Desert. *Restoration Ecology*, 7(4), 321-335.
- Colmer, T. D., Flowers, T. J. (2008). Flooding tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 179(4), 964-974.
- Coughlan, A. P., Dalpé, Y., Lapointe, L., Piché, Y. (2000). Soil pH-induced changes in root colonization, diversity, and reproduction of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi from healthy and declining maple forests. *Canadian Journal of Forest Research*, 30(10), 1543-1554.

- Davis, K. F., D'Odorico, P., Rulli, M. C. (2014). Moderating diets to feed the future. *Earth's Future*, 2(10), 559-565
- Dhillon, S. S., Zak, J. C. (1993). Microbial dynamics in arid ecosystems: desertification and the potential role of mycorrhizas. *Revista chilena de historia natural*, 66, 253-270.
- Dodd, J. C., Krikun, J. (1984). Observations on endogonaceous spores in the Negev Desert. *Transactions of the British Mycological Society*, 82(3), 536-540.
- Echeverría, R., S., Hol, W. G., Freitas, H., Eason, W. R., Cook, R. (2008). Arbuscular mycorrhizal fungi of *Ammophila arenaria* (L.) Link: Spore abundance and root colonization in six locations of the European coast. *European journal of Soil Biology*, 44(1), 30-3
- Evelin, H., Kapoor, R., Giri, B. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of Botany*, 104(7), 1263-1280.
- Feng, G., Zhang, F., Li, X., Tian, C., Tang, C., Rengel, Z. (2002). Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza*, 12(4), 185-190.
- Fidelibus, M. W., Martin, C. A., Stutz, J. C. (2001). Geographic isolates of *Glomus* increase root growth and whole-plant transpiration of citrus seedlings grown with high phosphorus. *Mycorrhiza*, 10(5), 231-236
- Finlay, R. D. (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extra-radical mycelium. *Journal of experimental botany*, 59(5), 1115-1126
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., Balzer, C. (2011). Solutions for a cultivated planet. *Nature* 478, 337-342.
- Fortin, J. A., Bécard, G., Declerck, S., Dalpé, Y., St-Arnaud, M., Coughlan, A. P., Piché, Y. (2002). Arbuscular mycorrhiza on root-organ cultures. *Canadian journal of botany*, 80(1), 1-20.
- García de Miranda, E. (1973). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5ta Edición. Instituto de Geografía - UNAM. México.
- Gerdemann, J. W., Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46(2), 235-244
- Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G., Bending, G. D. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 113(1-4), 17-35.
- Hajiboland, R., Aliasgharzadeh, N., Laiegh, S. F., Poschenrieder, C. (2010). Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improves salinity tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Plant and Soil*, 331(1-2), 313-327.
- Harrier, L. A., Watson, C. A. (2004). The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Management Science*, 60(2), 149-157

- He, X., Mouratov, S., Steinberger, Y. (2002). Spatial distribution and colonization of arbuscular mycorrhizal fungi under the canopies of desert halophytes. *Arid Land Research and Management*, 16(2), 149-160.
- Helgason, T., Merryweather, J. W., Young, J. P. W., Fitter, A. H. (2007). Specificity and resilience in the arbuscular mycorrhizal fungi of a natural woodland community. *Journal of Ecology*, 95(4), 623-630.
- Ingleby, K., Diagne, O., Deans, J. D., Lindley, D. K., Neyra, M., Ducousso, M. (1997). Distribution of roots, arbuscular mycorrhizal colonization and spores around fast-growing tree species in Senegal. *Forest Ecology and Management*, 90(1), 19-27
- Jacobson, K. M. (1997). Moisture and substrate stability determine VA-mycorrhizal fungal community distribution and structure in an arid grassland. *Journal of Arid Environments*, 35(1), 59-75.
- Jain, R. K. (2003). Integrated pest management for plant parasitic nematodes. *Nematode management in plants*. Trivedi, PC (Ed.). Scientific Publishers, Jodhpur India (pp 293-304)
- Jayaraman, J, Kumar, D. (1995). Influence of mungbean yellow mosaic virus on mycorrhizal fungi associated with *Vigna radiata* var. PS16. *Indian Phytopathology*. India
- Juniper, S., Abbott, L. K. (2006). Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 16(5), 371-379.
- Kumar, A., Dames, J. F., Gupta, A., Sharma, S., Gilbert, J. A., Ahmad, P. (2015). Current developments in arbuscular mycorrhizal fungi research and its role in salinity stress alleviation: a biotechnological perspective. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(4), 461-474.
- Lekberg, Y., Koide, R. T. (2005). Is plant performance limited by abundance of arbuscular mycorrhizal fungi? A meta-analysis of studies published between 1988 and 2003. *New Phytologist*, 168(1), 189-204.
- Li, Z., Liu, L., Chen, J., Y Teng, H. H. (2016). Cellular dissolution at hypha-and spore-mineral interfaces revealing unrecognized mechanisms and scales of fungal weathering. *Geology*, 44(4), 319-322.
- Lingua, G., D'Agostino, G., Massa, N., Antosiano, M., Berta, G. (2002). Mycorrhiza-induced differential response to a yellows disease in tomato. *Mycorrhiza*, 12(4), 191-198.
- Mahajan, S., Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444(2), 139-158.
- Martínez-García, L. B., Pugnaire, F. I. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi host preference and site effects in two plant species in a semiarid environment. *Applied soil ecology*, 48(3), 313-317.
- Monroy-Ata, A., Estévez Torres, J., García Sánchez, R., Ríos Gómez, R. (2007). Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (80).
- Mukerji, K. G., Kapoor, A. (1986). Occurrence and importance of vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi in semiarid regions of India. *Forest Ecology and Management*, 16(1-4), 117-126.

- Muthukumar, T., Sha, L., Yang, X., Cao, M., Tang, J., Zheng, Z. (2003). Distribution of roots and arbuscular mycorrhizal associations in tropical forest types of Xishuangbanna, southwest China. *Applied Soil Ecology*, 22(3), 241-253.
- Nzanza, B., Marais, D., Soundy, P. (2011). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedling growth and development as influenced by *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi. *African Journal of Microbiology Research*, 5(4), 425-431.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Ris, E. A., Boller, T., Wiemken, A. (2005). Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. *New Phytologist*, 165(1), 273-283.
- Ozgonen, H., Erkilic, A. (2007). Growth enhancement and Phytophthora blight (*Phytophthora capsici* Leonian) control by arbuscular mycorrhizal fungal inoculation in pepper. *Crop Protection*, 26(11), 1682-1688.
- Peralta, I. E., Knapp, S., Spooner, D. M. (2005). New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Peru. *Systematic Botany*, 30(2), 424-434.
- Perez-Moreno, J., Read, D. J. (2001). Nutrient transfer from soil nematodes to plants: a direct pathway provided by the mycorrhizal mycelial network. *Plant, Cell, Environment*, 24(11), 1219-1226
- Pitman, M. G., Läuchli, A. (2002). Global impact of salinity and agricultural ecosystems. In *Salinity: environment-plants-molecules* Springer, Dordrecht. (pp. 3-20).
- Porcel, R., Aroca, R., Ruiz-Lozano, J. M. (2012). Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi, a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 181-200.
- Porras-Soriano, A., Soriano-Martín, M. L., Porras-Piedra, A., Azcón, R. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. *Journal of Plant Physiology*, 166(13), 1350-1359.
- Pozo, M. J., López-Ráez, J. A., Azcón-Aguilar, C., García-Garrido, J. M. (2015). Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 205(4), 1431-1436.
- Quilambo, O. A., Weissenhorn, I., Doddema, H., Kuiper, P. J. C., Stulen, I. (2005). Arbuscular mycorrhizal inoculation of peanut in low-fertile tropical soil. Alleviation of drought stress. *Journal of Plant Nutrition*, 28(9), 1645-1662
- Ravnskov, S., Jakobsen, I. (1995). Functional compatibility in arbuscular mycorrhizas measured as hyphal P transport to the plant. *New Phytologist*, 129(4), 611-618.
- Redhead, J. F. (1977). Endotrophic mycorrhizas in Nigeria: species of the Endogonaceae and their distribution. *Transactions of the British Mycological Society*, 69(2), 275-280.
- Retallack, G. J. (2015). Acritarch Evidence for an Ediacaran Adaptive Radiation of Fungi. *Botanica Pacifica: a Journal of Plant Science and Conservation*, 4(2), 19-33.
- Rillig, M. C., Mummey, D. L. (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171(1), 41-53.

- Rose, S. L. (1981). Vesicular–arbuscular endomycorrhizal associations of some desert plants of Baja California. *Canadian Journal of Botany*, 59(6), 1056-1060.
- Rosendahl, S. (2008). Communities, populations and individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 178(2), 253-266.
- Rowe, H. I., Brown, C. S., Claassen, V. P. (2007). Comparisons of mycorrhizal responsiveness with field soil and commercial inoculum for six native montane species and *Bromus tectorum*. *Restoration Ecology*, 15(1), 44-52.
- Roy-Bolduc, A., Hijri, M. (2011). The use of mycorrhizae to enhance phosphorus uptake: a way out the phosphorus crisis. *Journal Biofertilizers and Biopesticides*, 2, 104.
- Rufo, R., Batlle, A., Camprubi, A., Montesinos, E., Calvet, C. (2017). Control of rubus stunt and stolbur diseases in Madagascar periwinkle with mycorrhizae and a synthetic antibacterial peptide. *Plant Pathology*, 66(4), 551-558.
- Ruiz-Lozano, J. M., Aroca, R., Zamarreño, Á. M., Molina, S., Andreo-Jiménez, B., Porcel, R., López-Ráez, J. A. (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant, Cell & Environment*, 39(2), 441-452.
- Sanders, I. R. (2004). Plant and arbuscular mycorrhizal fungal diversity—are we looking at the relevant levels of diversity and are we using the right techniques?. *New Phytologist*, 164(3), 415-418
- Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., Huang, Y. (2008). Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*, 18(6-7), 287-296.
- Siddiqui, Z. A., Futai, K. (2008). *Micorrhizae: and overview*. En: Siddiqui, Akhtar Y Futai, (Eds.) *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. 1st Ed. Springer. Dordrecht. (pp1-35 )
- Sigüenza, C., Espejel, I., Allen, E. B. (1996). Seasonality of mycorrhizae in coastal sand dunes of Baja California. *Mycorrhiza*, 6(2), 151-157.
- Smith, F. A., Grace, E. J., Smith, S. E. (2009). More than a carbon economy: nutrient trade and ecological sustainability in facultative arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 182(2), 347-358
- Smith, S. E., Facelli, E., Pope, S., Smith, F. A. (2010). Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. *Plant and Soil*, 326(1-2), 3-20.
- Smith, S. E., Jakobsen, I., Grønlund, M., Smith, F. A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*, 156(3), 1050-1057.
- Songachan, L. S., Kayang, H. (2012). Diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in *Solanum* species growing in natural condition. *Agricultural Research*, 1(3), 258-264.

- Stutz, J. C., Copeman, R., Martin, C. A., Morton, J. B. (2000). Patterns of species composition and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in arid regions of southwestern North America and Namibia, Africa. *Canadian Journal of Botany*, 78(2), 237-245.
- Stutz, J. C., Morton, J. B. (1996). Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. *Canadian Journal of Botany*, 74(12), 1883-1889.
- Symanczik, S., Błaszowski, J., Koegel, S., Boller, T., Wiemken, A., Al-Yahya'ei, M. N. (2014). Isolation and identification of desert habituated arbuscular mycorrhizal fungi newly reported from the Arabian Peninsula. *Journal of Arid Land*, 6(4), 488-497
- Talaat, N. B., Shawky, B. T. (2011). Influence of arbuscular mycorrhizae on yield, nutrients, organic solutes, and antioxidant enzymes of two wheat cultivars under salt stress. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174(2), 283-291.
- Talavera, M., Itou, K., Mizukubo, T. (2001). Reduction of nematode damage by root colonization with arbuscular mycorrhiza (*Glomus* spp.) in tomato-*Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae) and carrot-*Pratylenchus penetrans* (Tylenchida: Pratylenchidae) pathosystems. *Applied Entomology and Zoology*, 36(3), 387-392.
- Thygesen, K., Larsen, J., Bødker, L. (2004). Arbuscular mycorrhizal fungi reduce development of pea root-rot caused by *Aphanomyces euteiches* using oospores as pathogen inoculum. *European Journal of Plant Pathology*, 110(4), 411-419
- Titus, J. H., Titus, P. J., Nowak, R. S., Smith, S. D. (2002). Arbuscular mycorrhizae of Mojave Desert plants. *Western North American Naturalist*, 327-334.
- Uhlmann, E., Görke, C., Petersen, A., Oberwinkler, F. (2006). Arbuscular mycorrhizae from arid parts of Namibia. *Journal of Arid Environments*, 64(2), 221-237.
- Van der Heijden, M. G., Klironomos, J. N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., ... Sanders, I. R. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396(6706), 69.
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U. R. S., Piche, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12), 5004-5007.
- Vigo, C., Norman, J. R., Hooker, J. E. (2000). Biocontrol of the pathogen *Phytophthora parasitica* by arbuscular mycorrhizal fungi is a consequence of effects on infection loci. *Plant pathology*, 49(4), 509-514.
- Waceke, J. W., Waudu, S. W., Sikora, R. (2001). Suppression of *Meloidogyne hapla* by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on pyrethrum in Kenya. *International Journal of Pest Management*, 47(2), 135-140.
- Wu, Q. S., Xia, R. X. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of plant Physiology*, 163(4), 417-425.
- Zuccarini, P., Okurowska, P. (2008). Effects of mycorrhizal colonization and fertilization on growth and photosynthesis of sweet basil under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 31(3), 497-513.

