



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL
ESTADO DE JALISCO, A.C.

**VARIACIÓN DE LA POBLACIÓN DE HONGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN UN SUELO
AGRÍCOLA POR EFECTO DE LA APLICACIÓN DE
VINAZAS DE LA INDUSTRIA DEL TEQUILA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA EN LA
ESPECIALIDAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

PRESENTA

IBT. ANA LORENA SÁNCHEZ LIZÁRRAGA

GUADALAJARA, JAL. DICIEMBRE 2015



Dedicatoria

A mi familia, por estar presente aún en la distancia y siempre creer en mí:

A mi hermano, Roberto, un gran ser humano, uno que ha sabido brindarme su apoyo con su carisma y amor, logrando sacar sonrisas en mí.

A mis papás, Dina y Roberto. Una parte fuerte de mí, que con sus consejos y ejemplo he sabido convertirme en una persona fuerte y perseverante y gracias a su amor y apoyo incondicional he podido seguir adelante y llegar a donde me encuentro ahora.

A mi abuelita Nicha, ella que siempre creyó en mí y que aún en el cielo la siento tan cerquita.

A JC, que con amor y paciencia ha sabido sacar lo mejor de mí, convirtiéndome en un mejor ser humano.

Agradecimientos

Expreso mi agradecimiento

A Dios, porque cuando no podía más, Él me daba fuerzas para seguir,

A la Dra. Silvia Maribel Contreras Ramos, por su paciencia, dedicación y apoyo en la culminación de éste trabajo; por motivarme a ser mejor estudiante, por brindarme conocimientos tanto académicos como personales y por su amistad,

A la M.C. Laura Hernández Cuevas, por su apoyo en la identificación taxonómica de esporas de HMA, por su tiempo en la revisión de este trabajo y por brindarme su amistad,

A mis sinodales, Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar, Dra. Dioselina Alvarez Bernal y Dra. Erika Nahomy Marino Marmolejo, por su apoyo académico y por darse el tiempo de revisar éste trabajo,

Al Dr. Gustavo Dávila Vázquez por su apoyo académico y por el tiempo dedicado a la revisión de éste trabajo,

Al Dr. Jacobo Rodríguez Campos, por su apoyo en los análisis estadísticos de éste trabajo,

Al M.C. Leonel Hernández Mena, por su paciencia y apoyo en cromatografía de iones,

A René Guadalupe Morán Salazar, mi compañero de maestría, por su apoyo en el trabajo de laboratorio y campo y por su amistad incondicional,

A mis amigos, Ana Karen, Lupita, Lucy, Priscila, Teresita, Valeria, Diego, Sonia, Marce y Arantxa, por su apoyo en lo académico y personal,

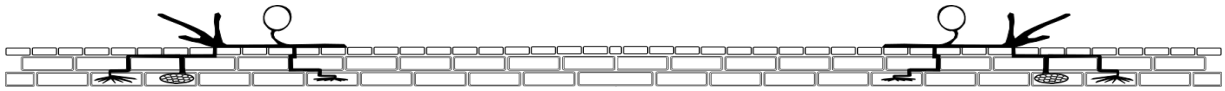
Al proyecto 181070 del “*Fondo sectorial de Investigación para la Educación SEP*” por el financiamiento de éste proyecto.



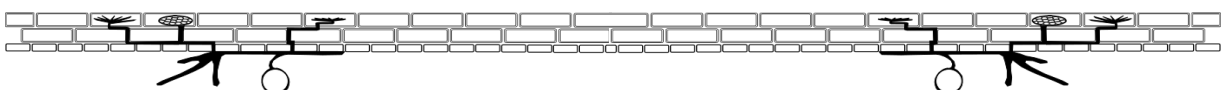
Índice de contenido

	Página
<i>Índice de Tablas</i>	IV
<i>Índice de Figuras</i>	VI
Resumen	IX
1 Antecedentes	3
1.1 Simbiosis	3
1.2 Las micorrizas	3
1.3 Clasificación de las micorrizas.....	4
1.4 Micorriza arbuscular	6
1.5 Desarrollo de la simbiosis.....	7
1.6 Asociación de HMA con plantas.....	9
1.7 Importancia de las micorrizas	10
1.8 Factores bióticos y abióticos que afectan a los HMA	10
1.9 Vinazas tequileras.....	15
2 Justificación	21
3 Hipótesis y objetivos	25
3.1 Hipótesis	25
3.2 Objetivo general	25
3.3 Objetivos específicos	25
4 Metodología	29
4.1 Etapa I.....	29
4.1.1 Selección del sitio de estudio	29
4.1.2 Caracterización de suelos y vinazas	31
4.1.3 Análisis fisicoquímicos de suelos y vinazas	31
• pH	31
• Humedad	31
• Conductividad eléctrica.....	32





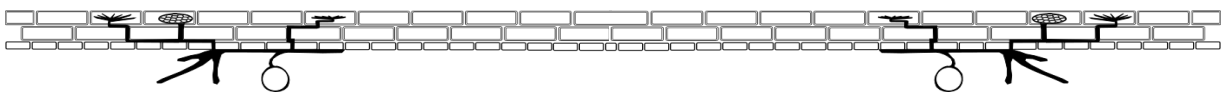
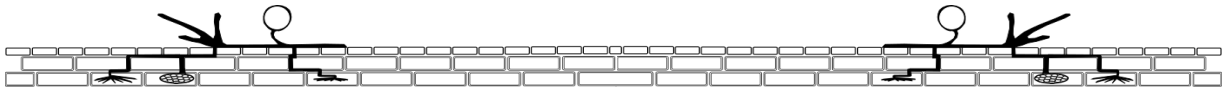
- Carbono orgánico total 32
- Textura 33
- Capacidad de intercambio catiónico 33
- Nitrógeno inorgánico 33
- Nitritos..... 34
- Nitratos..... 34
- Nitrógeno amoniacal..... 34
- Metales pesados 34
- Nitrógeno total..... 35
- Capacidad de retención de agua 35
- Fósforo disponible..... 35
- Fósforo total..... 36
- Demanda Química de Oxígeno..... 36
- Demanda Biológica de Oxígeno 36
- 4.1.4 Aislamiento, cuantificación e identificación de esporas de HMA..... 37
- 4.1.5 Identificación taxonómica de los HMA 37
- 4.1.6 Índice de diversidad, número de esporas y riqueza de especies..... 38
- 4.2 Etapa II 39**
 - 4.2.1 Propagación de esporas de HMA 39
 - 4.2.1 Evaluación del efecto de la adición de diferentes concentraciones de vinazas tequileras sobre las poblaciones de esporas de HMA..... 40
 - 4.2.2 Colonización de raíces de *Chlorophytum comosum* 42
 - 4.2.3 Determinación de cationes en el suelo 43
- 4.3 Análisis estadístico..... 44**
- 5 Resultados y Discusión..... 48**
 - 5.1 Etapa I 48**
 - 5.1.1 Caracterización de suelos..... 48
 - 5.1.1 Caracterización de vinazas 48
 - 5.1.2 Aislamiento, cuantificación e identificación de HMA 52
 - 5.1.3 Diversidad de HMA..... 56





5.2	Etapa II	57
5.2.1	Identificación de HMA del cultivo de propagación	57
5.2.2	Evaluación del efecto de la adición de diferentes concentraciones de vinazas tequileras sobre las poblaciones de HMA	59
6	Conclusiones.....	88
7	Recomendaciones.....	92
8	Bibliografía	94
9	ANEXOS	105
9.1	Imágenes de especies de HMA a lo largo del experimento (D0-M4)	105
9.2	Especies de HMA encontradas en éste trabajo	109





IV

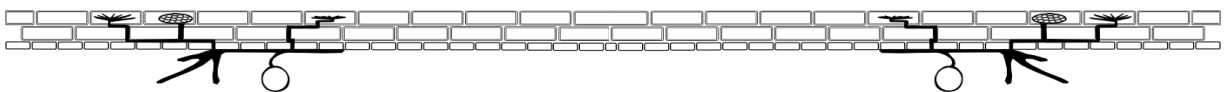
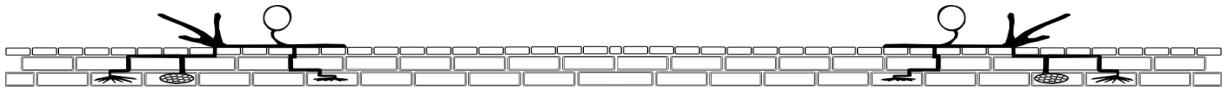


Índice de tablas

Página

Tabla 1. Comparación de características fisicoquímicas de diferentes vinazas y regulación ambiental americana y mexicana para su riego.	13
Tabla 2. Respuesta a factores bióticos y abióticos de <i>Chlorophytum comosum</i>	41
Tabla 3. Caracterización de suelo control (SC) y suelo irrigado con vinazas (SV) y su comparación con la regulaciones mexicana y americana.	49
Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de las vinazas tequileras y su comparación con la regulación mexicana y americana.	51
Tabla 5. Número de esporas por especie de HMA en SC y SV.	56
Tabla 6. Comparación de la AR (%) entre especies de HMA encontradas en SC y SP.	59
Tabla 7. Abundancia relativa (AR) de las especies de HMA encontradas en SC en el experimento al inicio (D0) y del M1 al M4 de riego con vinazas.	64
Tabla 8. Abundancia relativa de las especies de HMA encontradas en suelo biótico (SB) en el experimento al inicio (D0) y del M1 al M4 de riego con vinazas.	65
Tabla 9. Valores de pH semanales antes y después del riego con vinazas en SC durante el experimento.	67
Tabla 10. Valores de pH semanales antes y después del riego con vinazas en SB durante el experimento.	68
Tabla 11. Efecto del suelo, concentración, tiempo y sus interacciones en la disminución del pH semanalmente. Análisis de varianza de una vía usando PROC GLM (SAS, 1989) para evaluar las diferencias entre tratamientos y prueba de Tukey (HSD) (Tipo I).	69
Tabla 12. Estimación de cationes (Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺² , Mg ⁺²) en SC.	73
Tabla 13. Estimación de cationes (Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺² , Mg ⁺²) en SB.	74
Tabla 14. Efecto del suelo, concentración, tiempo y sus interacciones en el aumento de Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺² , Mg ⁺² cada mes durante los 4 meses de la experimentación. Análisis de varianza de una vía usando PROC GLM (SAS, 1989) para evaluar las diferencias entre tratamientos y Prueba de Tukey (HSD) (Tipo I).	74
Tabla 15. Efecto del suelo, concentración, tiempo y sus interacciones en las variables analizadas. Análisis de varianza de una vía usando PROC GLM (SAS, 1989) para evaluar las diferencias entre tratamientos y prueba de Tukey (HSD) (Tipo I).	84
Tabla 16. Especies de HMA encontradas en éste experimento, autores de sus nombres y año en asignación de nombre.	109



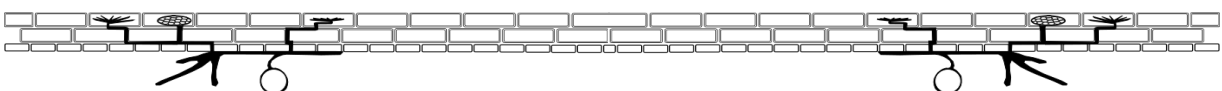


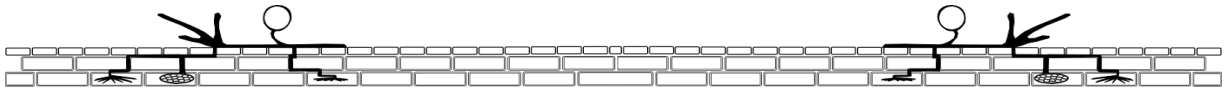


Índice de figuras

Página

Figura 1. Interacciones que envuelve la asociación micorrízica (Modificado de Brundrett et al., (1996)).	4
Figura 2. Desarrollo de la simbiosis (Modificado de Parniske (2008)).	9
Figura 3. Representación esquemática de algunos procesos que pueden verse afectados por la adición de vinazas al suelo (Comunicación personal: Sanchez-Lizarraga et al., 2015).	14
Figura 4. Diagrama general de las etapas del proyecto y sus principales actividades.	29
Figura 5. a) Mapa del municipio del Arenal, Jalisco en la Región Valles. b) Área del sitio muestreado. Los números encerrados en círculo ilustran las parcelas que fueron muestreadas. La línea indica el perímetro del predio del sitio de muestreo.	30
Figura 6. Esquema del aislamiento, cuantificación e identificación de esporas de HMA.	38
Figura 7. Relación de contenido de arena y suelo en el cultivo de propagación.	40
Figura 8. Cultivo de propagación de HMA de SC con sorgo y alfalfa (5 meses).	40
Figura 9. Cultivo de propagación de <i>Chlorophytum comosum</i> .	42
Figura 10. HMA aislados e identificados en suelo SC y SV. a) <i>Acaulospora delicata</i> ; b) <i>A. foveata</i> ; c) <i>A. laevis</i> ; d) <i>A. mellea</i> ; e) <i>A. morrowiae</i> ; f) <i>A. scrobiculata</i> ; g) <i>Acaulospora</i> sp.; h) <i>A. spinosa</i> ; i) <i>Claroideoglosum etunicatum</i> ; j) <i>Funnelformis geosporum</i> ; k) <i>F. mosseae</i> ; l) <i>G. margarita</i> ; m) <i>Paraglosum occultum</i> ; n) <i>Racocetra gregaria</i> ; o) <i>Scutellospora reticulata</i> y p) <i>Funnelformis constrictum</i> .	53
Figura 11. Abundancia (barras) y riqueza de especies (línea) de esporas de HMA. Letras iguales significa que no hay diferencias significativas entre los dos suelos (Tukey $P < 0.05$) ($n = 9$).	54
Figura 12. Abundancia relativa (% total de esporas) de los HMA presentes en los suelos SC y SV. Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa entre especies y letras mayúsculas entre suelos ($P < 0.05$) ($n = 9$).	55
Figura 13. Identificación de las especies HMA propagadas. a) <i>Funnelformis mosseae</i> , b) <i>Acaulospora mellea</i> , c) <i>Paraglosum occultum</i> , d) <i>A. spinosa</i> , e) <i>A. foveata</i> , f) <i>A. scrobiculata</i> , g) <i>F. geosporum</i> , h) <i>A. delicata</i> y i) <i>Gigaspora margarita</i> .	57
Figura 14. Abundancia relativa de especies de HMA encontradas en suelo propagado. Letras mayúsculas en negrita diferentes indican diferencia significativa entre especies ($P < 0.05$) ($n = 9$). ...	58
Figura 15. Identificación de especies de HMA propagados en arena con <i>Chlorophytum comosum</i> presentes en la planta inicialmente. a) <i>Funnelformis geosporum</i> , b) <i>Glomus</i> sp. 1, c) <i>Rhizophagus intraradices</i> , d) <i>Glomus</i> sp. 2 y e) <i>R. fasciculatum</i> .	60
Figura 16. AR de especies de HMA encontradas en el cultivo de propagación con la plántula <i>Chlorophytum comosum</i> . Letras mayúsculas en negrita diferentes indican diferencia significativa entre especies ($P < 0.05$) ($n = 3$).	61
Figura 17. Valores de la abundancia de esporas en diferentes unidades experimentales con diferentes concentraciones de riego con vinazas durante 4 meses. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre concentraciones, letras minúsculas diferentes entre tiempo en una misma concentración y * entre suelos ($P < 0.05$) ($n = 9$).	62
Figura 18. Valores de pH en diferentes unidades experimentales con diferentes concentraciones de riego con vinazas durante cuatro meses. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa	





entre concentraciones, letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa entre tiempo en una misma concentración ($P < 0.05$) ($n = 9$)..... 66

Figura 19. Valores de CE en diferentes unidades experimentales con diferentes concentraciones de riego con vinazas durante cuatro meses. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre concentraciones, letras minúsculas diferentes entre tiempo en una misma concentración y * entre suelos ($P < 0.05$) ($n = 9$). 70

Figura 20. Número de tubérculos de *C. comosum* a los cuatro meses de riego semanal con vinazas. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre suelos, letras minúsculas diferentes entre concentraciones ($P < 0.05$) ($n = 9$). 75

Figura 21. *Chlorophytum comosum* a diferentes concentraciones de vinazas (5 meses)..... 76

Figura 22. Peso seco de raíz y parte aérea de *Chlorophytum comosum* a los 4 meses de riego semanal con vinaza. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre suelos, letras minúsculas diferentes entre concentraciones ($P < 0.05$) ($n = 9$). 77

Figura 23. Valores de fósforo disponible en diferentes unidades experimentales con diferentes concentraciones de riego con vinazas durante cuatro meses. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre concentraciones, letras minúsculas diferentes entre tiempo y * entre suelos ($P < 0.05$) ($n = 9$)..... 78

Figura 24. Planta de *Chlorophytum comosum* donde había muerte de las hojas. 79

Figura 25. Valores de NO_3 , NO_2 y NH_4 en las diferentes unidades experimentales con diferentes concentraciones de riego con vinazas durante cuatro meses. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre concentraciones, letras minúsculas diferentes entre tiempo y * entre suelos ($P < 0.05$) ($n = 9$)..... 81

Figura 26. Análisis de componentes principales (ACP) para a) scores y b) loadings 83

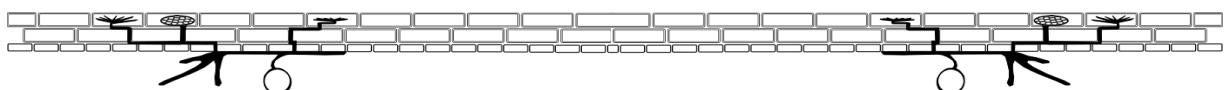
Figura 27. Identificación de las especies de HMA encontradas en el D0. a) *A. mellea*, b) *A. mosseae*, c) *A. scrobiculata*, d) *P. occultum*, e) *F. geosporum*, f) *A. delicata*, g) *G. margarita*, h) *A. foveata*, i) *A. spinosa*, j) *R. intraradices* y k) *R. fasciculatum*. 105

Figura 28. Identificación de las especies de HMA encontradas en el M1. a) *A. mellea*, b) *A. mosseae*, c) *A. scrobiculata*, d) *P. occultum*, e) *F. geosporum*, f) *A. delicata*, g) *G. margarita*, h) *A. foveata*, i) *R. intraradices* y j) *R. fasciculatum*. 106

Figura 29. Identificación de las especies de HMA encontradas en el M2. a) *A. mellea*, b) *A. mosseae*, c) *A. scrobiculata*, d) *P. occultum*, e) *F. geosporum*, f) *A. delicata*, g) *G. margarita*, h) *A. foveata*, i) *R. intraradices* y j) *R. fasciculatum*. 107

Figura 30. Identificación de las especies de HMA encontradas en el M3. a) *A. mellea*, b) *A. mosseae*, c) *A. scrobiculata*, d) *P. occultum*, e) *F. geosporum*, f) *R. intraradices* y g) *R. fasciculatum*..... 108

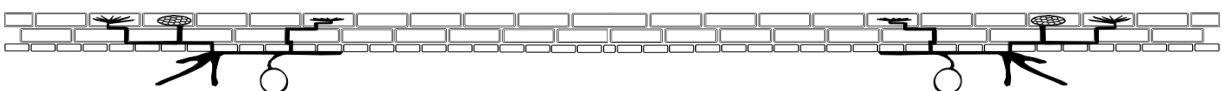
Figura 31. Identificación de las especies de HMA encontradas en el M4. a) *A. mellea*, b) *A. mosseae*, c) *A. scrobiculata*, d) *P. occultum*, e) *F. geosporum*. 108

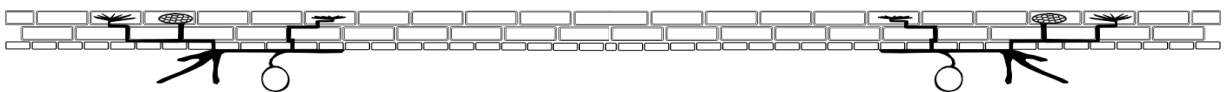
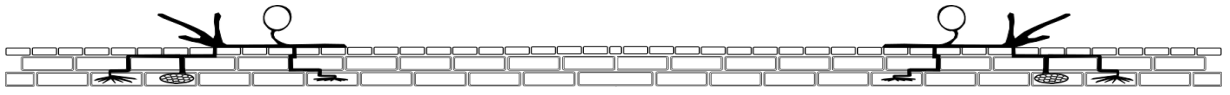




Resumen

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son organismos simbióticos de plantas superiores que proporcionan un vínculo entre el suelo y las raíces de las plantas. Esta asociación mejora la productividad de la planta y la resistencia al estrés por nutrientes. En algunas zonas del país, como el estado de Jalisco, existe la práctica común de aplicar vinazas tequileras a suelos agrícolas. Estas vinazas se caracterizan por tener elevada concentración de materia orgánica como DBO y DQO, un pH ácido, altas concentraciones de sólidos suspendidos y disueltos así como iones de potasio, calcio y magnesio. Se considera que la aplicación de vinazas al suelo puede ser benéfica al ser aprovechada su elevada concentración de materia orgánica. Sin embargo, es nulo el conocimiento que se tiene sobre los efectos que las vinazas tequileras tienen sobre las poblaciones de HMA. El objetivo fue evaluar si existen HMA en suelos donde se aplican vinazas y los efectos que tienen en las poblaciones de HMA por la aplicación de diferentes dosis. Se seleccionaron dos suelos agrícolas: con (SV) y presuntivamente sin (SC) la adición de vinazas tequileras. Adicionalmente se tomaron muestras de vinazas tequileras. Los suelos presentaron un pH neutro, una alta conductividad eléctrica (CE), alta % de materia orgánica (MO), elevada cantidad de nitrógeno total (NT) pero bajas concentraciones de N-inorgánico. Las vinazas presentaron un pH ácido, elevadas concentraciones de MO (como DBO y DQO), una alta CE y alto contenido de iones (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2}). Se encontró que sí existen poblaciones de HMA en suelos irrigados con vinazas tequileras. Las especies más abundantes fueron: *Funneliformis mosseae* (32%) y *Acaulospora mellea* (27%) seguidas por *A. scrobiculata* (13%), *F. geosporum* (10%), *Gigaspora margarita* (5%), *Paraglomus occultum* (4%), *A. laevis* (3%), *Acaulospora delicata* (1%), *A. foveata* (1%), *A. morrowiae* (1%), *A. spinosa* (1%), *Clareidoglomus etunicatum* (1%), *Racocetra gregaria* (0.5%) y *Septoglomus constrictum* (0.5%). Al finalizar el experimento se observó que las vinazas tequileras afectaron negativamente las poblaciones de HMA en concentraciones de vinaza superiores a 50%. Esto debido a las altas concentraciones de cationes (Ca^+ , K^+ , Mg^{+2} y Na^+) que se adicionan con cada riego de vinazas produciendo una acumulación de estos iones en el suelo y un incremento en la CE de éste. El efecto negativo de las vinazas tequileras también se relacionó con las altas concentraciones de P_{disp} y N en donde se observó una acumulación del P y una inmovilización del N en el suelo. El suelo presentó un efecto buffer después del riego con vinazas ya que se mantuvo un pH cercano a la neutralidad, posiblemente debido a las interacciones de PO_4 con los cationes Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} en la formación de sales de amortiguamiento. Las especies de HMA que fueron más afectadas bajo las condiciones de experimentación y todas las concentraciones de vinazas evaluadas en éste trabajo fueron *F. geosporum*, *A. delicata*, *G. margarita*, *A. foveata*, *A. spinosa* y otras especies de HMA como *A. mellea*, *F. mosseae*, *A. scrobiculata* y *P. occultum* fueron aparentemente más tolerantes a riego con vinaza (desde 25% hasta 100%) durante cuatro meses. Sin embargo, el riego con vinazas sí disminuye su abundancia relativa.

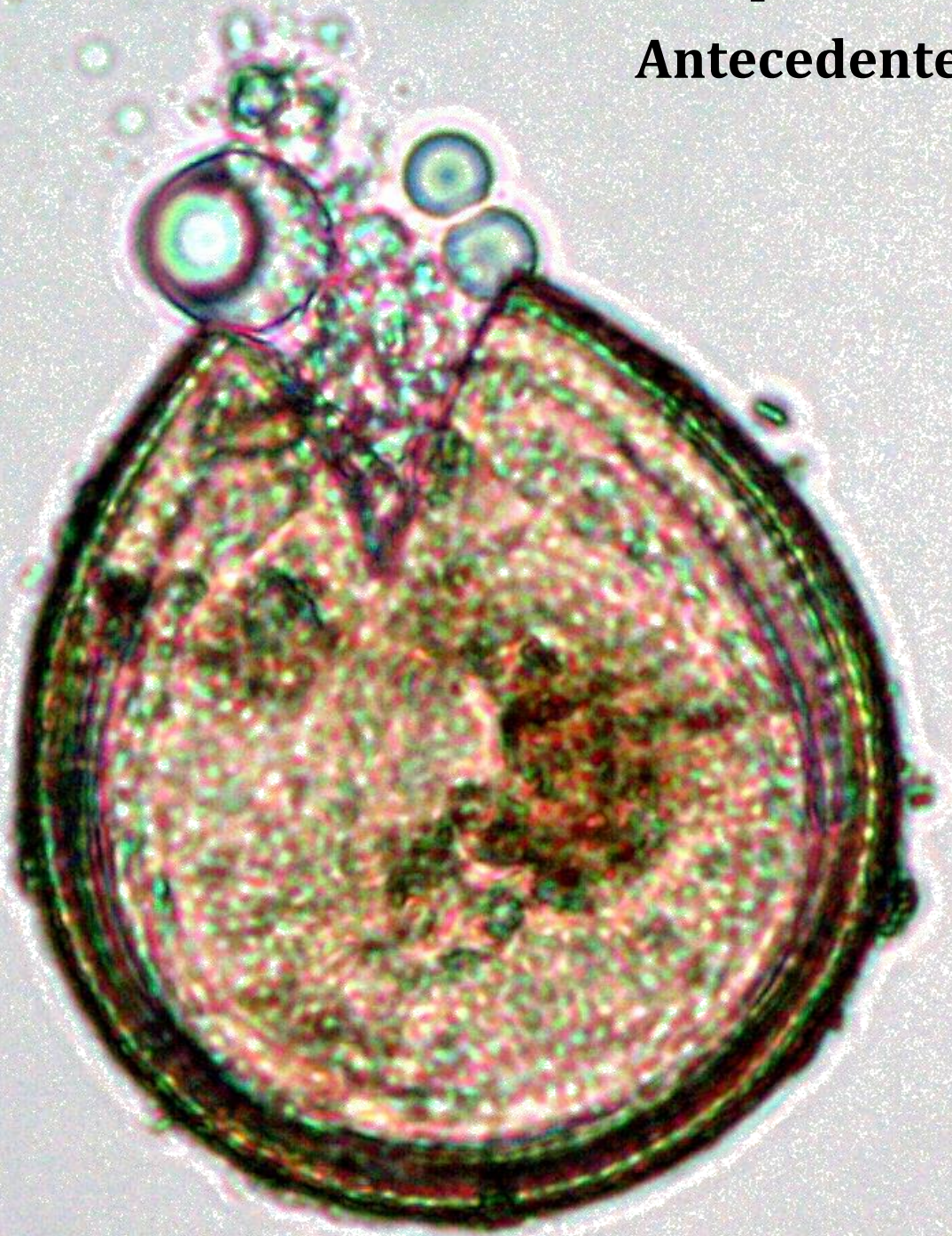




x

Capítulo 1

Antecedentes



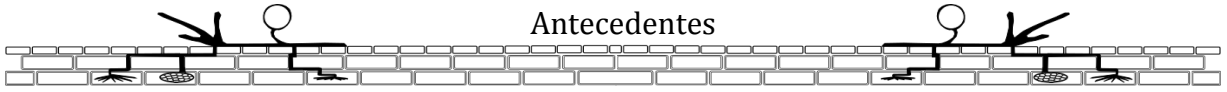
100 μm

Acaulospora scrobiculata

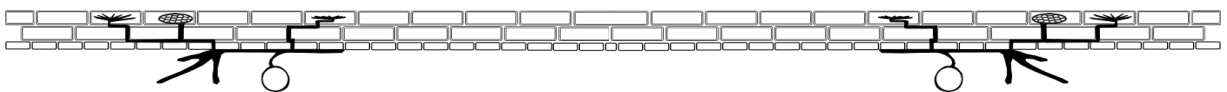
(objetivo 10x)

James M. Trappe

1977



Antecedentes





1 Antecedentes

1.1 Simbiosis

El término *simbiosis* fue probablemente usado por primera vez por Frank (1887) como un término neutral que no implicaba parasitismo, pero sí se basaba simplemente en la coexistencia de organismos diferentes. Al autor De Bary (1879) se le atribuye la introducción de los términos parasitismo y simbiosis, utilizados para referirse a la vida común entre el parásito y el hospedero, así como de las asociaciones en la que los organismos se ayudan respectivamente (Capistrán, 2003). Con el tiempo, los términos de simbiosis y parasitismo cambiaron: *simbiosis* comenzó a utilizarse para referirse a una asociación benéfica entre dos organismos distintos, mientras que *parásito* y *parasitismo* se convirtieron casi en sinónimos con patógeno y patogénesis (Allen et al., 2003).

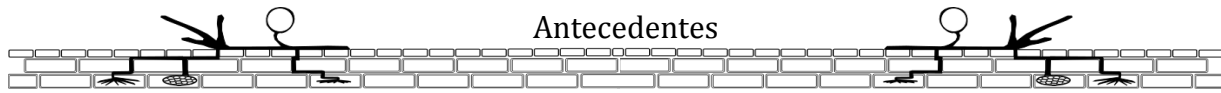
Así se creó la definición de *simbiosis mutualista*: es aquella en donde ambos organismos, durante su asociación, pueden beneficiarse.

El interés por la simbiosis no ha dejado de expandirse y abarcar una mayor gama de disciplinas. La importancia de la simbiosis entre diferentes células procariontas y eucariotas es firmemente establecida y ha incrementado el reconocimiento de que la simbiosis al nivel de organismos más complejos es la regla, no la excepción (Carreón-Abud et al., 2013). Un ejemplo de ella es la simbiosis entre plantas y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) ó micorrizas. La mayoría de las simbiosis micorrízicas ahora están claramente reconocidas (Daft y El-Giahmi, 1974) y se explicarán en mayor detalle en temas posteriores.

1.2 Las micorrizas

Micorrizas, del griego “myces”, hongo y “rhiza”, raíz, se refiere a la asociación entre micobiontes y fitobiontes. Trappe (1994) define a las micorrizas como órganos de absorción dobles que se forman cuando los hongos simbiotes viven dentro de los órganos de absorción sanos (raíces, rizomas o tallos) de las plantas terrestres, acuáticas o epífitas” en donde la planta le proporciona al hongo carbohidratos como azúcares y un micro hábitat para completar su ciclo de vida. A su vez el hongo ayuda a la planta a tener una mayor captación de agua y nutrimentos minerales con muy poca disponibilidad en el suelo (Camargo-Ricalde et al., 2012). Es por esto que la presencia de micorrizas en el suelo es habitual; de hecho, están muy extendidas en condiciones naturales.





Antecedentes

Los hongos micorrizógenos son considerados organismos inusuales debido a su estilo de vida, edad y fenotipo. Han existido por más de 400 millones de años sin alteraciones morfológicas por lo que pueden ser consideradas como fósiles vivos (Bonfante y Anca, 2009; Parniske, 2008).

Así, la micorrización es una simbiosis mutualista que se establece entre ciertos hongos del suelo y las raíces de muchas plantas. Los organismos asociados pertenecen al reino Fungi (Basidiomicetos, Ascomicetos y Zigomicetos). Los hongos micorrizícos arbusculares pertenecen al pequeño orden Glomales dentro del grupo Glomeromycota (Parniske, 2008).

La asociación micorrizica envuelve tres medios de interacción, el hongo, la planta hospedera y las condiciones ambientales (Figura 1) (Brundrett et al., 1996).

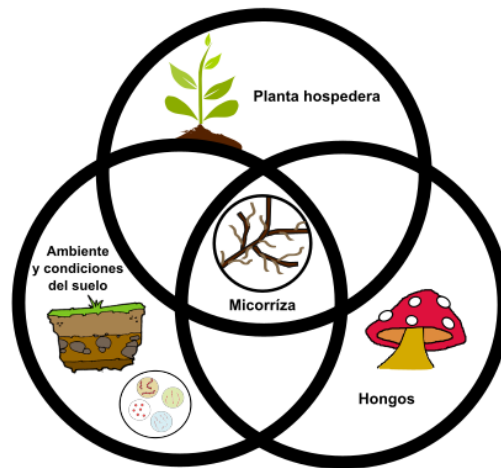
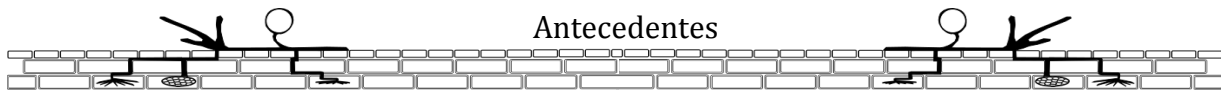


Figura 1. Interacciones que envuelve la asociación micorrizica (Modificado de Brundrett et al., (1996)).

1.3 Clasificación de las micorrizas

Se pueden distinguir tres grupos fundamentales según la estructura de la micorriza formada: **ectomicorrizas** o formadoras de manto; **ectendomicorrizas**, que incluye micorrizas arbutoides y monotropoides; y las **endomicorrizas**, caracterizadas por la colonización intracelular del hongo, y que a su vez se subdividen en ericoides, orquidoides y arbusculares (Read, 1999). Las endomicorrizas arbusculares son las más abundantes (Smith y Read, 2008); las micorrizas que se forman con plantas de las familias Ericaceae y Orchideaceae son de importancia limitada para absorción de nutrientes por las plantas. Sin embargo cada una de las diferentes micorrizas se caracteriza por realizar funciones específicas en la asociación simbiótica con las plantas.

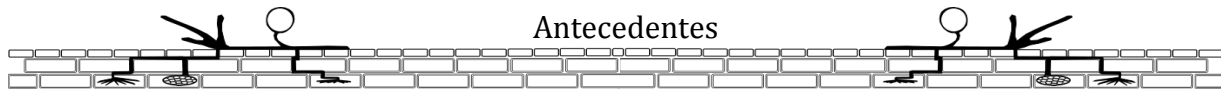




Antecedentes

- ❖ **Ectomicorrizas:** Se caracterizan porque desarrollan una espesa capa de micelio sobre la zona cortical de las raíces absorbentes de la planta, las hifas del hongo no penetran en el interior de las células de la raíz, si no que se ubican sobre y entre éstas (Malloch et al., 1980). Se pueden observar a simple vista. Este tipo de micorrización predomina entre los árboles de zonas templadas, se producen principalmente sobre especies forestales y leñosas, siendo especialmente característico en hayas, robles, eucaliptus y pinos. Los hongos que la forman pertenecen tanto a Basidiomycota como a Ascomycota (Vacacela Quizhpe, 2012; Wilcox, 1991).
- ❖ **Endomicorrizas:** Los hongos que las producen se caracterizan por colonizar intracelularmente el córtex radical o sea que no hay manto externo que pueda verse a simple vista. Las hifas se introducen inicialmente entre las células de la raíz, pero luego penetran en el interior de éstas, formando vesículas alimenticias y arbusculos. Dentro de de éste grupo, los más abundantes son los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales constituyen la simbiosis más extendida sobre el planeta. Los hongos que la forman pertenecen a la división Glomeromycota y se dan en todo tipo de plantas, aunque predominan en gramíneas y leguminosas. Abundan en suelos pobres como los de las praderas y estepas, la alta montaña y las selvas tropicales (Vacacela Quizhpe, 2012).
- **Orquidoídes o micorrizas de ovillo:** Son micorrizas de orquídeas, los cuales son imprescindibles para su desarrollo y vida juvenil. Estos hongos contribuyen en mutualismo a transferir carbono orgánico y nutrimentos minerales a esta planta. Una vez que la planta crece, fotosintetiza, y alcanza la fase adulta generalmente se independiza del hongo (Camargo-Ricalde et al., 2012; Sieverding, 1991).
- **Ericoídes:** Los hongos formadores de este tipo de micorriza corresponden al grupo de los Ascomicetos. Son de tipo más sencillo y simple que las micorrizas arbusculares en donde la asociación se lleva a cabo con raíces muy simples y sus hifas penetran en las células para formar ovillos. Estos hongos son responsables de manera importante de la movilización de nutrimentos, ya que muchas ericáceas crecen en hábitats donde la mayoría de los nutrimentos del suelo se encuentran en forma orgánica (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2007). Es un tipo de micorriza que predomina en suelos localizados en altas latitudes y elevadas altitudes, de clima frío (Camargo-Ricalde et al., 2012).



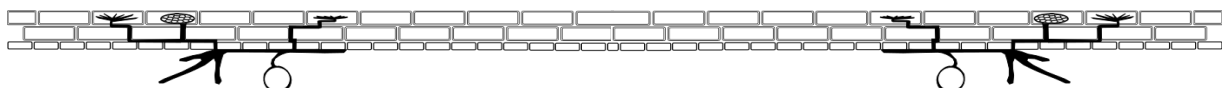


- ❖ **Ectendomicorrizas:** Presentan características intermedias entre las Ectomicorrizas y las Endomicorrizas, pues presentan manto externo, como las ectomicorrizas, pero también penetran en el interior de las células, como las endomicorrizas y no existen vesículas ni arbusculos. Este grupo se presenta tanto en Basidiomycota como Ascomycota y son más abundantes en angiospermas que en gimnospermas, pero su distribución es restringida (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2007; Vacacela Quizhpe, 2012).
- **Arbutoides:** Presenta un manto externo junto con hifas que penetran a las células para formar rulos. Se caracteriza por formar manto fúngico, hifas externas y, usualmente una red de Hartig bien desarrollada, la cual es una red densa de hifas intracelulares (Beeckman, 2010). Además, se presenta un desarrollo extensivo de hifas intercelularmente. Los hongos formadores de esta simbiosis pertenecen al grupo Basidiomiceto (Smith y Read, 2008).
- **Monotropoides:** La forma de penetración en las células es algo diferente, diferenciada apenas por la forma de penetración de las hifas a las células radicales. Este tipo de micorriza se forma también en plantas sin clorofila, aunque sus estructuras son similares a las formadas por las ectomicorrizas y micorriza arbutoide ya que forman manto fúngico y red de Hartig. Además, forman estructuras altamente especializadas del tipo haustorios llamados clavos fúngicos las cuales penetran las células epidérmicas de forma que se generan diversos hábitos de desarrollo de acuerdo con el crecimiento y floración de la planta (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2007).

1.4 Micorriza arbuscular

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son probablemente los organismos simbióticos con más presencia en el subsuelo y pertenecen al grupo monofilético Glomeromycota (Hibbett et al., 2007). Una gran cantidad de la vegetación mundial tiene raíces asociadas con HMA: el 83% de las dicotiledóneas, el 79% de las monocotiledóneas y todas las gimnospermas forman asociaciones micorrízicas regularmente (Wilcox, 1991).

Los HMA están formados por hifas, las cuales son filamentos tubulares y el micelio es el conjunto de hifas que forman el cuerpo del hongo. La principal característica morfológica de estos hongos son los arbusculos, estructuras típicas de la colonización que el hongo desarrolla en el interior de las células de la corteza de la raíz por ramificación dicotómica repetida de sus hifas (Sánchez-Viveros et al., 2004). En cuanto a las estructuras formadas, al tipo de colonización y a la cantidad de especies vegetales y fúngicas implicadas, se puede decir que la MA son las de mayor importancia.





Las plantas presentan una adquisición directa de minerales a través de las raíces, pero es importante remarcar que éste proceso puede ser modificado por la asociación de HMA con el sistema radical (Taiz y Zeiger, 2006b). Los HMA proporcionan un vínculo entre el suelo y las raíces de las plantas (AL-Zalzaleh et al., 2009) permitiendo un intercambio de nutrientes, principalmente fosfato y absorción de agua para la planta (Schußler et al., 2001). A su vez, los HMA obtienen carbohidratos de la planta (Hibbett et al., 2007).

Esta simbiosis mutualista trae como consecuencia la mejora en la productividad de la planta y la resistencia al estrés, lleva a cabo una transferencia bidireccional de nutrientes y genera una absorción de iones del suelo relativamente inmóviles como P, K, Ca, S, Fe, Zn, Cu y Mn, así como un incremento de la absorción y transporte de N (Hernández, 2000).

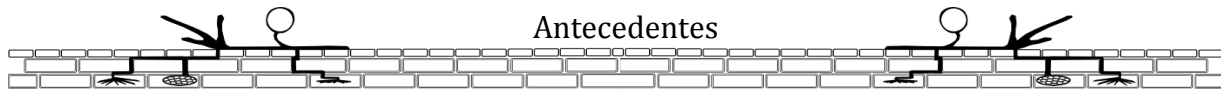
1.5 Desarrollo de la simbiosis

De acuerdo con Guerrero et al., (1996) y en concordancia con Peterson et al., (2004), en el proceso de la formación de la simbiosis se pueden distinguir diferentes fases: pre-colonización, penetración inicial del hongo, colonización extra radical y desarrollo del micelio externo y de las estructuras reproductivas. Aparentemente los modelos de penetración y colonización del hongo son independientes no sólo del hospedero sino también del tejido a colonizar.

Para que se llegue a formar la micorriza arbuscular implica que se lleven a cabo una serie de pasos a partir de un reconocimiento de la superficie de la raíz por el hongo hasta la formación de una protuberancia llamada apresorio, de donde surge la hifa que inicia la infección de la raíz. Posteriormente se lleva a cabo la penetración de las células epidérmicas, el desarrollo de hifas intrarradicales y arbusculares, y algunas veces, la formación de vesículas (Figura 2) (Peterson et al., 2004). Ésta fase es independiente del crecimiento de la raíz del hospedero.

La colonización puede determinarse por ciertos factores edáficos, de manera que se favorezca el desarrollo del micelio, y se ha considerado que el inicio de la colonización no es un proceso totalmente dependiente de la presencia de la planta (Smith y Read, 2008). El retraso de la germinación de las esporas y la reducción de la colonización están determinados por la presencia de algunos exudados de plantas no micotróficas (Schereiner y Koide, 1993), esta fase es denominada asimbiótica en donde se presentan señales bioquímicas (compuestos volátiles) que forman parte de los exudados de las raíces. El CO₂ es fundamental para la germinación de las esporas y el crecimiento de la hifa germinativa (Ramírez Gómez y Rodríguez Villate, 2010) así como otros exudados radicales como los flavonoides los cuales favorecen la ramificación de hifas (Vierheilig y Piche, 2002) y la estrigolactona



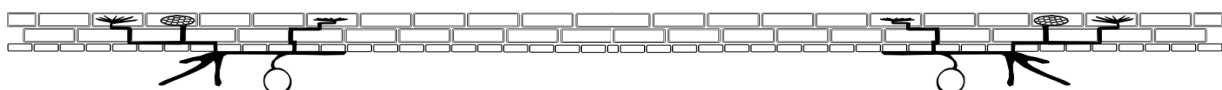


(factor de ramificación), la cual induce una amplia ramificación de las hifas además de ser una señal de fundamental importancia en el desarrollo de la simbiosis (Akiyama et al., 2002).

Posterior a la germinación, una vez llegando el tubo germinal a la epidermis de la raíz, espera la señal de la raíz para que pueda dirigirse hacia ella y a partir de ahí diferenciar y formar el apresorio. A partir del apresorio se inicia la penetración en la epidermis e inicia la colonización del tejido parenquimático de la raíz (Bécard y Fortin, 1988).

Eventualmente se forman hifas inter- e intracelularmente en las células corticales, que se van ramificando paulatinamente para introducir los carbohidratos procedentes de la planta y dan el aspecto de diminutos árboles llamados arbusculos. La formación de arbusculos supone una profunda alteración de la célula vegetal en donde se deforma el plasmalema y el protoplasto para acomodar el arbusculo, el cual nunca penetra al citoplasma. La vida media de los arbusculos es breve, aproximadamente de siete días (Alexander et al., 1989), transcurrido ése tiempo los arbusculos se degeneran. En algunos casos las hifas se hinchan y forman vesículas ovoides que contienen lípidos o sustancias de reserva (en el orden Glomerales). Estos hongos se han especializado en introducirse en las células corticales de la planta y en formar estructuras singulares para poder llevar a cabo su metabolismo; pero también fuera de la planta, otras hifas se ramifican en el interior del suelo (fase extra radical), explorando y adquiriendo nutrimentos como fósforo y nitrógeno principalmente, así como algunos micro nutrimentos que son llevados como un tributo a la planta huésped, para su nutrición mineral (Reyes, 2002). Con esto, la planta aumenta considerablemente su superficie de absorción, de 100 a 1000 veces, y por tanto su capacidad de captación de nutrientes y de agua (Figura 2) (Bürkett y Robson, 1994; Sieverding, 1991).

El establecimiento de la simbiosis micorrízica, como ya se mencionó anteriormente, va a depender de las interacciones entre los tres componentes más importantes del sistema: el hongo, las plantas y las condiciones ambientales (Figura 2). Su presencia puede implicar que ocurran procesos de reconocimiento entre los simbiosites, de compatibilidad y de especificidad, los cuales condicionan su expresión y conducen a la integración morfológica y funcional de las asociaciones (Mandal y Nandi, 2012; Smith y Read, 2008).



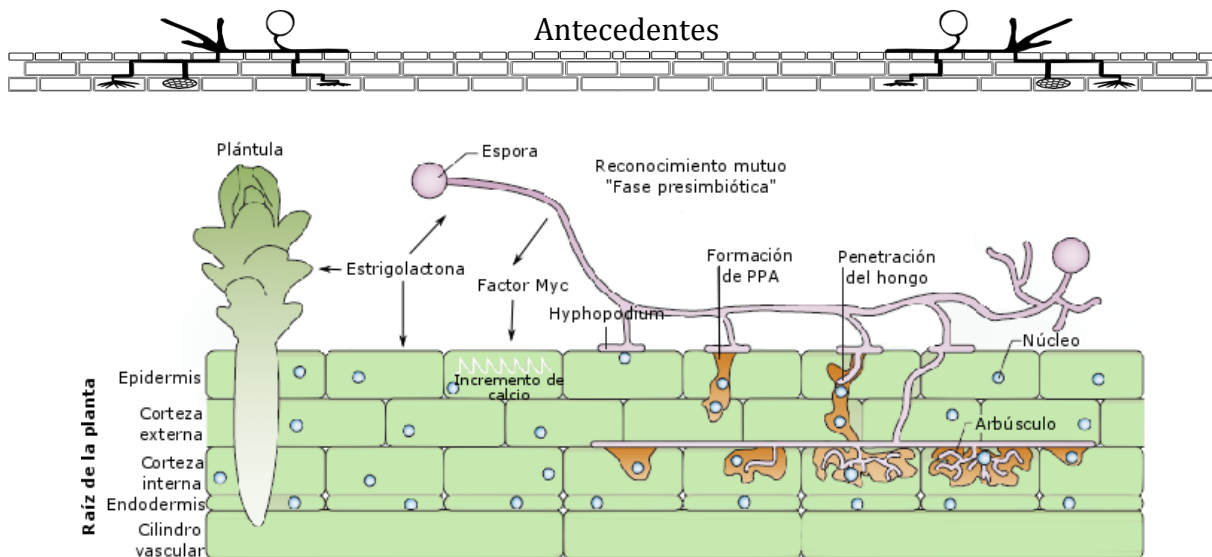


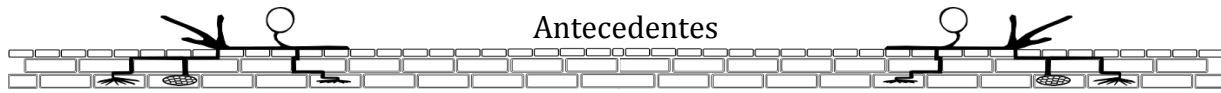
Figura 2. Desarrollo de la simbiosis (Modificado de Parniske (2008)).

1.6 Asociación de HMA con plantas

Los HMA se encuentran en condiciones naturales en la mayoría de los cultivos tropicales y subtropicales de interés agronómico (Sieverding, 1991) y están presente en la mayoría de las Angiospermas; siendo las familias Chenopodiaceae y Cruciferae, las excepciones de mayor importancia. La asociación simbiótica micorrízica arbuscular se forma en muchas especies perennes leñosas, incluyendo muchas gimnospermas aparte de las pináceas (Harley y Smith, 1983). Los HMA están presentes en familias de plantas que tienen miembros de gran importancia económica como son las Poaceae, Fabaceae, Solanaceae y Rosaceae. Las plantas asociadas con los mismos se benefician por el incremento en la toma de nutrientes como, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre, cobre, molibdeno, hierro y manganeso, pues el hongo funciona como una extensión del sistema radical de la planta, facilitando a través de su red de hifas una mayor absorción de éstos en el suelo (Read, 1999) En esta asociación el componente fúngico de la simbiosis se nutre de los carbohidratos almacenados en las células mesodérmicas en formas sencillas de fructosa, glucosa y sacarosa y de los exudados radicuales de las plantas.

El establecimiento de la asociación simbiótica entre plantas y HMA implica un complejo intercambio de señales (Gadkar et al., 2001). Existen moléculas específicas presentes en exudados radicuales del hospedero, las cuales de alguna manera indican que ocurre un reconocimiento en las etapas tempranas de formación de HMA (Gianinazzi-Pearson y Azcón-Aguilar, 1991). Los flavonoides son algunas de las moléculas que se ha identificado en las señales entre los simbiosites, con respuestas en la germinación y crecimiento de hifas (Morandi, 1996). Como ya se mencionó brevemente en el apartado anterior, los flavonoides son compuestos claves en la señalización de una serie de





interacciones entre planta-microorganismo. Sin embargo, este no es el único compuesto involucrado en la germinación de la espora y su ramificación, existen otros exudados de la raíz como las estrigolactonas, apocarotenoides derivados del metabolismo secundario de la planta y que junto con los flavonoides, terpenoides y reguladores de crecimiento están implicados en el diálogo molecular entre los HMA y plantas, por lo que los metabolitos secundarios de las plantas tienen un papel muy importante en la regulación y desarrollo de la micorrización (Akiyama, 2007).

1.7 Importancia de las micorrizas

Su importancia en los ecosistemas naturales y seminaturales es comúnmente aceptada y materializada por mejorar la productividad de las plantas y la diversidad, así como una mayor resistencia de las plantas frente a estreses bióticos y abióticos. El estrés ambiental constituye el principal obstáculo para su supervivencia y reproducción. Este estrés involucra baja disponibilidad de agua, patrones de lluvia altamente impredecibles, suelos pobres en nutrientes (nitrógeno y fósforo) con alta variación espacial y temporal (Zak et al., 1995) y suelos con alta salinidad (Al-Karaki, 2000). Actualmente, las micorrizas se consideran cada vez más en la agricultura, en los programas de horticultura y silvicultura, así como para la recuperación del medio ambiente, para aumentar el rendimiento del cultivo y para limitar la aplicación de agroquímicos (Taiz y Zeiger, 2006b).

Desde el punto de vista ecológico, la presencia, la utilización y/o aplicación de los HMA permite reducir el uso de energía, la degradación del ecosistema y las pérdidas de nutrientes de los suelos agrícolas. Además, se mantiene la capacidad productiva del sistema, se preserva la biodiversidad y se contribuye con una producción más estable y sostenida a largo plazo en equilibrio con el entorno (Hernández, 2000). Debido a esto, la presencia de los HMA en un suelo de cultivos es importante y favorece el sistema agrícola.

1.8 Factores bióticos y abióticos que afectan a los HMA

Múltiples factores pueden afectar a la comunidad de HMA y su diversidad en los ecosistemas (Horan y Chilvers, 1990). Existen los factores bióticos, por ejemplo las comunidades de plantas y sus exudados, que son compuestos que permiten el reconocimiento planta-hongo y estimulan la germinación de esporas y el crecimiento y ramificación de las hifas, incluyendo flavonoides (Vierheilg y Piché, 2002), estrigolactonas (Akiyama et al., 2005) y auxinas. Dichos compuestos son exudados por las raíces de las plantas, y de alguna manera pueden controlar la preferencia planta-hongo, tal como ya se mencionó en secciones previas (Horan y Chilvers, 1990).





Entre los factores abióticos, las condiciones del suelo han mostrado ejercer un control en las comunidades de los HMA (Johnson et al., 1992a). Los cambios permanentes en el ambiente edáfico son un reflejo del dinamismo existente y se observa en parámetros como humedad, temperatura y disponibilidad de nutrientes, debido a condiciones naturales o al efecto de las prácticas culturales para mejorar la productividad de los cultivos. Adicionalmente el suelo puede sufrir procesos de degradación y contaminación con sustancias químicas tóxicas para las plantas y los organismos presentes en él, entre ellos los HMA (Entry et al., 2002).

Los cambios antropogénicos inducidos por la aplicación de diferentes enmiendas como fertilizantes, agroquímicos, pesticidas y agua residual pueden cambiar las condiciones del suelo causando toxicidad y un desequilibrio de nutrientes en las plantas (Taiz y Zeiger, 2006a). Tal es el caso de la irrigación de agua residual al suelo, la cual es una práctica común que busca incrementar el contenido de materia orgánica, nutrientes y la población de microorganismos en el suelo. Sin embargo, en la práctica se ha visto que afecta negativamente la colonización de los HMA y producen cambios severos en la estructura del suelo, reduciendo la aeración del suelo e infiltración del agua, generando una resistencia en la expansión de las raíces de las plantas, incrementando la salinidad del suelo e induciendo condiciones anaeróbicas en el suelo liberando sustancias fitotóxicas como el amoníaco o diversos ácidos como ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, etc. (Goldberg et al., 1988). Otras enmiendas, como la aplicación de lodos composteados al suelo reduce la abundancia relativa y el desarrollo de los HMA (Jacquot-Plumey et al., 1996). Contrariamente, la aplicación de efluentes de pulpa de papel al suelo mejora la micorrización de las plantas e incrementa la cantidad de esporas de HMA (Thangavelu y Sivalingam, 2010).

Con otras aguas residuales de otro tipo, como son las vinazas (caña de azúcar, alcohol, remolacha), se ha reportado que causan efectos severos en el suelo como la promoción de los mecanismos en el suelo por medio de la acidificación para el intercambio catiónico como K^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} y lixiviación de algunos metales (Fe, Zn, Cr, Ni) en condiciones aerobias, lo cual no es benéfico para el suelo, para las poblaciones de microorganismos y para los mantos acuíferos (Renault et al., 2009). Además, se incrementa potencialmente la microbiota de bacterias y hongos y consecuentemente cambia la diversidad del suelo (Santos et al., 2008). También se disminuye la estabilidad estructural del suelo (25%) y la biomasa total (49%) de bacterias y hongos basidiomicetos (Tejada et al., 2007); o la reducción de la longitud del micelio externo vivo y activo de los HMA (Kabir et al., 1998).





Aun así, la aplicación de vinazas al suelo es muy común en diferentes países debido al alto contenido de materia orgánica y como método de disposición final. Todos los tipos de vinaza (caña de azúcar, remolacha, alcohol, mezcal, tequila) comparten características similares como son un pH ácido (3.4-3.5), alto contenido de materia orgánica (31.5-75 g L⁻¹ como DBO y 55.2-123 g L⁻¹ como DQO), altas concentraciones de sólidos suspendidos y disueltos (2 y 11 g L⁻¹ respectivamente) y gran cantidad de cationes como K⁺, Ca⁺² and Mg⁺² (Tabla 1) (Jiménez et al., 2003; López-López et al., 2010; Robles-González et al., 2012).

La vinaza de caña de azúcar se ha utilizado como fertilizante para cultivos de caña debido a su riqueza en materia orgánica y nutrientes vegetales como K⁺, N y P. Moraes et al. (2014) mencionaron que el impacto ambiental que tienen las vinazas de caña de azúcar en el suelo no ha sido determinado adecuadamente. Se ha demostrado que la adición de vinaza de caña de azúcar incrementa el contenido de NO₃⁻ en el suelo el cual puede lixiviarse a los mantos acuíferos. Otros autores mencionan que los posibles efectos de las vinazas de caña de azúcar depende de la cantidad y composición de la vinaza aplicada, tipo de suelo, tipo de cultivo y ciertas condiciones envueltas en el proceso (Aparecida-Christofolletti et al., 2013).

Estudios realizados por Laime et al. (2011a) encontraron que la disposición de caña de azúcar al suelo puede generar efectos benéficos en los cultivos y algunas características fisicoquímicas como un incremento de la retención de humedad, porosidad, K⁺, CE y la actividad biológica. Madejon et al. (2001) reportaron altas concentraciones de sal en el suelo, después de aplicaciones prolongadas de vinaza de caña de azúcar éstas pueden representar un riesgo y reducir el crecimiento de los cultivos. Ribeiro et al. (2010) detectaron un incremento en la lixiviación del plomo cuando la vinaza de caña de azúcar fue aplicada al suelo, particularmente los compuestos orgánicos solubles.

Parnaudeau et al. (2008) sugirieron que la irrigación de cultivos de caña de azúcar con vinazas indujeron la inmovilización del nitrógeno en el inicio de un experimento en incubación en el laboratorio. Sin embargo, no mencionaron cómo esto puede afectar la mineralización del nitrógeno en un experimento en campo. En general, existe poca información sobre cómo afecta la aplicación de vinazas de caña de azúcar en el proceso de la mineralización del nitrógeno o la disponibilidad de nitrógeno para las plantas, pero los resultados en la literatura indican que algunos procesos del suelo y de los ciclos biogeoquímicos se pueden afectar, esto se ejemplifica en la Figura 3.



Antecedentes

Tabla 1. Comparación de características fisicoquímicas de diferentes vinazas y regulación ambiental americana y mexicana para su riego.

Parámetro	Vinazas				USEPA 2004 ⁿ	NOM-001-SEMARNA T-1996 ^o
	Caña de azúcar	Remolacha	Mezcal	Tequila		
pH	3.8 - 4.7 ^a	4.3 - 5.35 ^b	3.6 - 3.8 ^a	3.4 - 4.5 ^{b,l}	6	N.R
Conductividad eléctrica (CE) (mS cm ⁻¹)	16 ^c	35- 40 ^{d,g}	2.6 - 4.2 ^a	0.00195 ^f	N.R	N.R
Fósforo disponible (PO ₄ ³⁻) (mg L ⁻¹)	20 - 233 ^a	120 ^g	290 - 1705 ^a	100- 700 ^l	N.R	N.R
Fósforo total (FT) (mg L ⁻¹)	1 - 190 ^b	160 - 163 ^b	N.R.	41 ^b	N.R	30
Carbono orgánico total (COT) (g L ⁻¹)	26 - 32 ^a	196 - 592 ^{d,h}	N.R.	16.8 ^m	N.R	N.R
Nitrógeno total (NT) (mg L ⁻¹)	975 ^a	1800 - 4750 ^b	660 ^a	20 - 50 ^l	N.R	60
Demanda química de oxígeno (DQO) (g L ⁻¹)	59 - 80.5 ^a	55.5 - 91.1 ^b	56.2 - 123 ^a	55.2 - 66.3 ^b	N.R	N.R
Demanda biológica de oxígeno (DBO) (g L ⁻¹)	31.5 - 75 ^a	27.5 - 44.9 ^b	N.R.	20.6 ^b	45	200
Sólidos totales (g L ⁻¹)	63 - 69 ^a	109 ^g	26 - 95 ^a	25 - 50 ^j	N.R	N.R
Sólidos suspendidos totales (g L ⁻¹)	3 - 11 ^a	3.6 ^g	3.1 - 8.4 ^a	2 - 8 ^l	45	200
Sólidos suspendidos volátiles (g L ⁻¹)	2.5 - 9 ^a	2.5 ^g	1.1 - 6.8 ^a	1.9 - 7.5 ^l	N.R	N.R
Sólidos volátiles totales (g L ⁻¹)	82	N.R.	N.R.	N.R.	N.R	N.R
Cadmio (Cd) (mg L ⁻¹)	0.04 - 1.36 ^b	< 0.1 ^h	N.R.	0.01 - 0.2 ^b	0.01-0.05	0.4
Cobre (Cu) (mg L ⁻¹)	N.R.	2.1 - 5 ^b	N.R.	0.36 - 4 ^b	0.2-5	6
Cromo (Cr) (mg L ⁻¹)	N.R.	< 0.01 ^h	N.R.	N.R.	0.1-1	1.5
Mercurio (Hg) (mg L ⁻¹)	N.R.	<0.001 ⁱ	N.R.	N.R.	0.002	0.02
Plomo (Pb) (mg L ⁻¹)	0.02 - 0.48 ^b	< 5 ^b	N.R.	0.065 - 0.5 ^b	5-10	1.0
Níquel (Ni) (mg L ⁻¹)	N.R.	<0.1 ^h	N.R.	<0.02 ^l	0.2-2.0	4
Zinc (Zn) (mg L ⁻¹)	15 ^a	11 ^h	N.R.	<1 ^l	2-10	20
Hierro (Fe) (mg L ⁻¹)	12.8 - 203 ^{b,a}	203 - 226 ^b	N.R.	35.2 - 45 ^b	5-20	N.R
Fenoles (mg L ⁻¹)	34 ^b	450 ^b	478 - 542 ^a	44 - 81 ^b	N.R	N.R
Potasio (K) (g L ⁻¹)	30 ^a	10-10.03 ^b	N.R.	240 - 345 ^b	N.R	N.R
Densidad (g cm ⁻¹)	N.R.	1.26 ^h	N.R.	N.R.	N.R.	N.R

^lLímites permisibles para aplicación al suelo; ^a Robles-González et al. (2012); ^b España-Gamboa et al. (2011); ^c Bautista-Zúñiga et al. (1998); ^d Niñez-Zofío et al. (2013); ^e Conde-Bueno et al. (2009); ^f Iñiguez et al. (2005); ^g Jiménez et al. (2003); ^h Tejada et al. (2009); ⁱ Tejada et al. (2007); ^j Santos et al. (2014); ^k Vlyssides et al. (2010); ^l López-López et al. (2010); ^m Comunicación personal de Moran-Salazar et al., 2015; ⁿ USEPA (2004); ^o NOM-001-SEMARNAT-1996; N. R. no reportado.

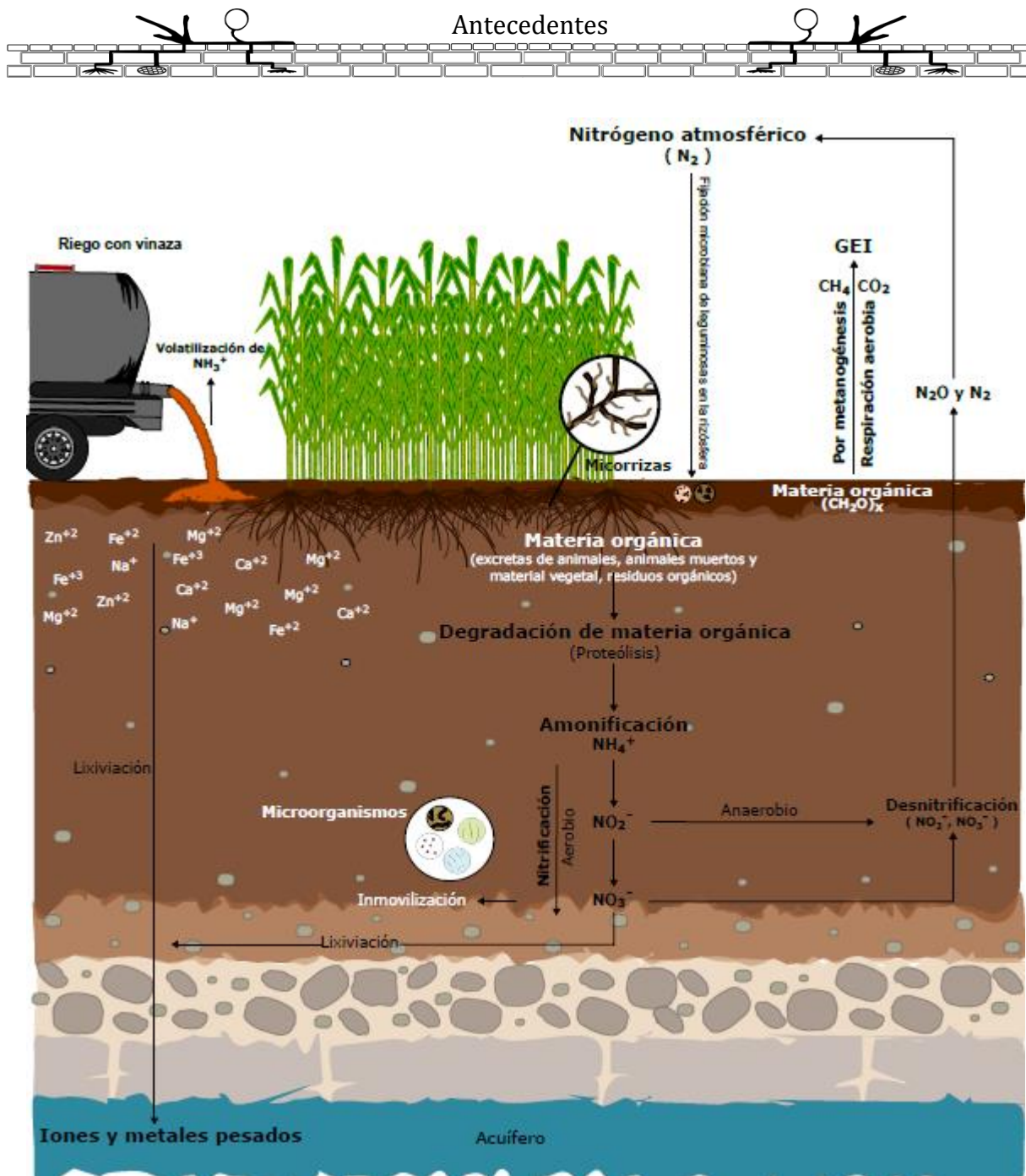


Figura 3. Representación esquemática de algunos procesos que pueden verse afectados por la adición de vinazas al suelo (Comunicación personal: Sanchez-Lizarraga et al., 2015).

Por otra parte, la aplicación de vinazas de remolacha ha dado como resultado una reducción de la estabilidad estructural del suelo, reducción de la biomasa microbiana, de la respiración del suelo y la actividad de la deshidrogenasa, ureasas y fosfatasas. En adición a esto, se ha reportado un





incremento de los cationes monovalentes y contenido de ácidos fúlvicos, lo cual indica una mineralización de la materia orgánica (Tejeda et al., 2007).

Martin-Olmedo et al. (1999) observaron que la aplicación de vinazas de remolacha al suelo durante tres años incrementó el potencial de mineralización del nitrógeno en donde afirmaron que el nitrógeno mineral (NO_3^- y NH_4^+) puede mineralizarse lentamente en forma inorgánica disponible para las plantas. Sin embargo, un exceso de NO_3^- puede filtrarse a través del suelo y contaminar los acuíferos.

1.9 Vinazas tequileras

En algunas zonas del país, como es el caso de Jalisco existe la práctica común de agregar vinazas tequileras a suelos agrícolas. El tequila es una bebida representativa de México a nivel internacional proveniente principalmente de la región de Jalisco (Iñiguez et al., 2005a). Se obtiene a partir de una planta endémica de la región del volcán de Tequila, conocida como *Agave tequilana* Weber var. Azul (Lamas-Robles, 2004). Los productores de tequila y agave se ubican principalmente en la región de denominación de origen en México, que incluye a 180 municipios, 124 de los cuales pertenecen al estado de Jalisco y 56 están distribuidos entre los estados de Michoacán, Guanajuato, Nayarit y Tamaulipas. Tan sólo en el 2014 se tuvo una producción de tequila de 242.4 millones de litros y 788 miles de toneladas de consumo de agave (CRT, 2014).

Durante la producción de tequila se generan dos principales residuos, el bagazo y las vinazas, además de las emisiones provenientes de la oxidación de combustibles fósiles de las calderas. Las vinazas tequileras son residuos líquidos generados durante la producción del tequila, después de la destilación del mosto de agave. Por cada litro de tequila producido se generan en promedio 10 litros de vinazas (López-López et al., 2010). Bajo estas dos bases de cálculo se estima que la producción de tequila en el 2014 generó 324 miles de toneladas de bagazo (40% peso húmedo de la piña de agave) y 1.8×10^9 L de vinazas (en total al 55% Alc. Vol.).

En la mayoría de las empresas tequileras, el bagazo se convierte en composta y en algunas otras sus compostas se aprovecha en sus plantaciones de agave; y sólo una mínima cantidad de vinazas se utiliza en el riego de las pilas de compostas.

Las vinazas tequileras, o efluentes líquidos son resultado de la elaboración de tequila, y se definen como el residuo que componen sustancias no volátiles que se generan y permanecen en el fondo del alambique después de la destilación del mosto de agave fermentado. Se caracterizan por su concentración de materia orgánica elevada de 35,000 a 60,000 mg/L como DBO; (60,000-100,000





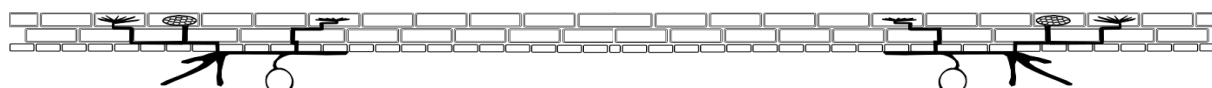
como DQO) y un pH de 3 a 4, una alta concentración de sólidos suspendidos y disueltos, así como iones de potasio, calcio y magnesio (López-López et al., 2010). Al tener una elevada carga orgánica, se considera que la aplicación de vinazas al suelo puede ser benéfica para aprovechar esa materia orgánica, sin embargo, estudios a nivel de procesos que ocurren en el suelo y los cambios en la ecología microbiana (bacterias, hongos y entre ellos los HMA, etc.) no han sido bien documentados.

Además, una gran cantidad de vinazas no recibe tratamiento adecuado o completo para el cumplimiento de la normatividad vigente (NOM-001-SEMARNAT-1996) antes de ser descargadas en cuerpos de agua (ríos, arroyos, lagos, presas) y alcantarillado municipal o en suelos agrícolas (Iñiguez et al., 2005a). Sobre todo las vinazas generadas en pequeñas y medianas empresas, las cuales no tienen el recurso financiero para el tratamiento de sus efluentes y terminan descargando clandestinamente o aplicando las vinazas en suelos. Las vinazas no son residuos peligrosos pero se catalogan dentro del tipo de aguas residuales complejas (Linerio-Gil y Guzmán-Carrillo, 2004).

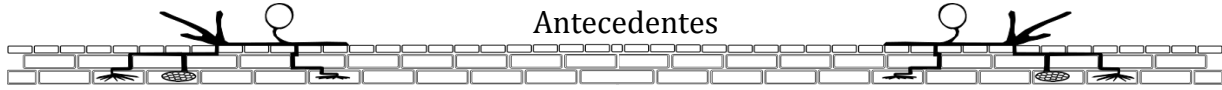
La aplicación de las vinazas tequileras en suelos sin tratamiento alguno puede favorecer la presencia de organismos patógenos para algunos cultivos. Amador (2002) reportó que el uso de vinazas tequileras en riego de plantas de agave (*Agave tequilana* Weber var. Azul) facilitó la presencia de microorganismos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* en las plantas. Sin embargo, son muy pocos los trabajos encontrados en la literatura sobre el efecto de las vinazas tequileras en suelos, y es nula la información sobre su efecto sobre las poblaciones de HMA.

Se desconoce si existen o no poblaciones o especies de HMA que habiten suelos irrigados con vinazas tequileras. Mientras que el poco conocimiento que se tiene es sobre vinazas alcoholeras o de la industria vinícola. Y aun cuando las vinazas comparten ciertas características como elevada carga orgánica, en la forma de ácidos orgánicos y cationes tales como K^+ , Ca^+ y Mg^+ , pH ácido y color (Gianchini y Ferraz, 2009; Laime et al., 2011b), presentan otras diferentes y muy particulares como son el contenido de sales, la dureza, el fósforo total y el contenido de sólidos sedimentables y disueltos; las cuales les confieren propiedades diferentes a cada tipo de vinaza. Estas características de las vinazas dependen de la materia prima (biomasa) que se utiliza para la producción de etanol o bebida destilada como es el caso del tequila o mezcal.

Pocos estudios han evaluado algún efecto de las vinazas sobre los HMA cuando éstas son adicionadas al suelo. Tal es el caso de Velásquez-Pomar y Sánchez de Prager (2011) que reportaron que la adición de vinazas alcoholeras al suelo incrementó la actividad biológica relacionada con el micelio de hongos micorrízicos y la cantidad de glomalina fue afectada por un gradiente de concentración de las vinazas en el suelo.

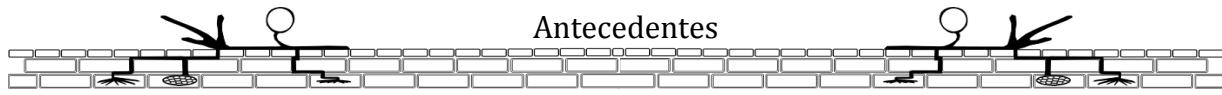


Antecedentes



Todos estos estudios son sólo algunos trabajos con vinazas principalmente de la industria alcoholera, mezcalera, remolacha y caña de azúcar. Sin embargo, con vinazas tequileras los efectos sobre poblaciones microbianas no han sido evaluados, siendo importante tener conocimientos de los cambios de las poblaciones de HMA, debido a la importancia que tienen en el suelo. Derivado de todo esto, surge la justificación del presente trabajo.





Antecedentes



A light micrograph showing a cross-section of a large, spherical, multi-layered structure, likely a spore or fruiting body of a fungus. The structure has a thick, multi-layered outer wall and a central region containing various internal structures, including what appears to be a developing spore or a specialized cell. The overall appearance is that of a complex, multi-layered biological structure.

Capítulo 2
Justificación

Gigaspora margarita
(objetivo 10x)
W. N. Becker y I. R. Hall
1976

100 μm



Justificación





2 Justificación

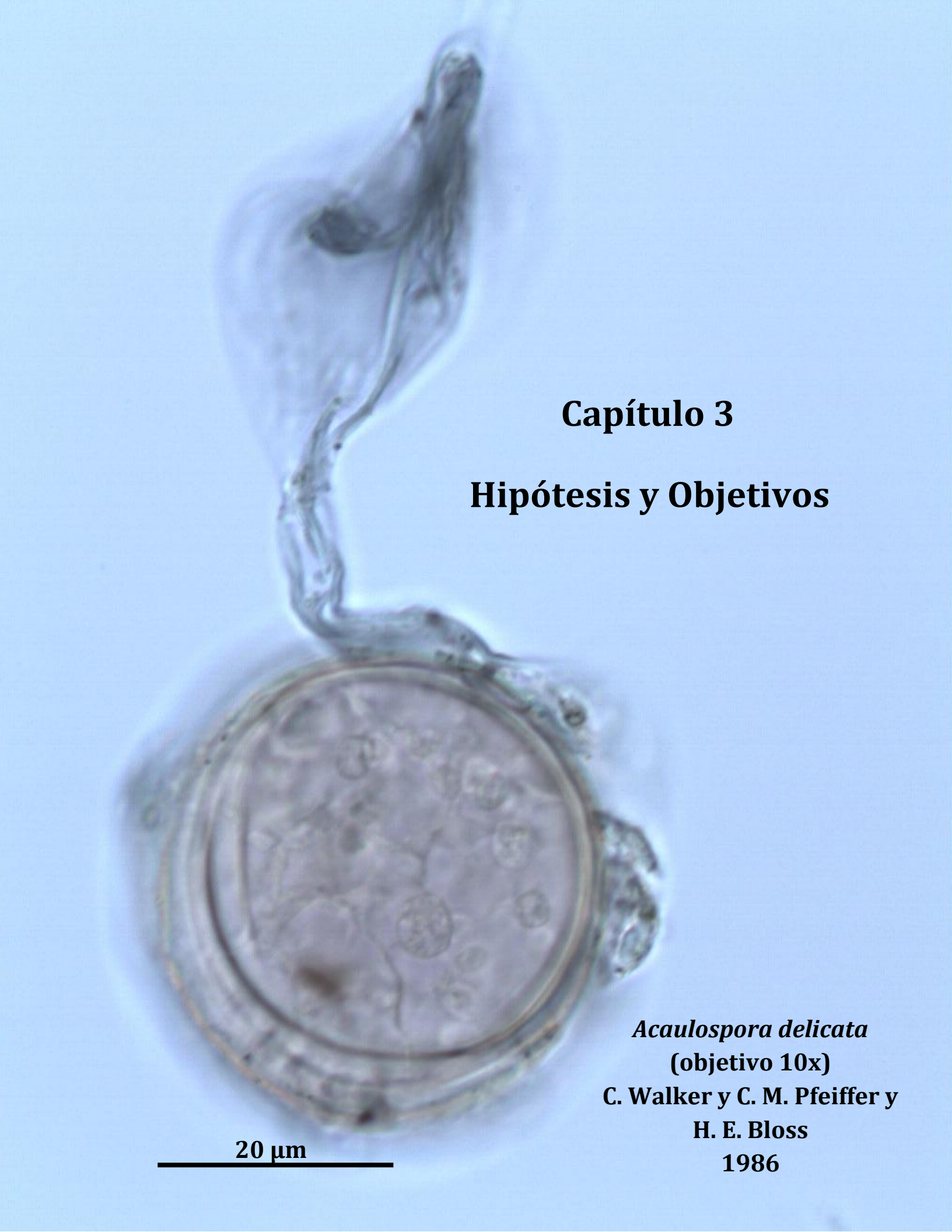
Las descargas de vinazas tequileras en suelos (comúnmente agrícolas) y cuerpos de aguas es una práctica común de las zonas donde se produce el tequila. Los conocimientos de los efectos que ocasionan las vinazas sobre los procesos del suelo o los cambios que producen en las poblaciones de microorganismos, entre ellos los benéficos como los HMA para las plantas, son pocos o nulos. Los HMA son organismos benéficos comúnmente encontrados en cultivos agrícolas y de suma importancia para el crecimiento y rendimiento de cultivos. Por tal motivo es necesario generar conocimiento de si existen o no poblaciones de HMA en suelos donde han aplicado vinazas tequileras; y de los cambios que ocurren en las poblaciones de HMA en el suelo cuando las vinazas tequileras son aplicadas al suelo, para establecer si las vinazas afectan o no la presencia de estos organismos benéficos del suelo.





Justificación



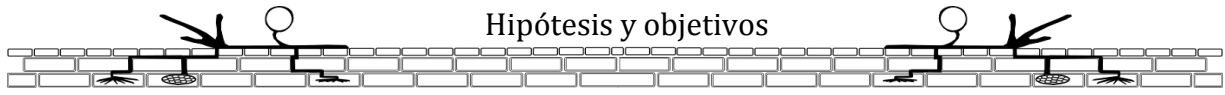
A light micrograph of a single, large, oval-shaped spore of Acaulospora delicata. The spore has a thick, multi-layered wall and a granular internal structure. A long, thin, and slightly curved pedicel (stalk) extends from the top of the spore. The background is a light, uniform color.

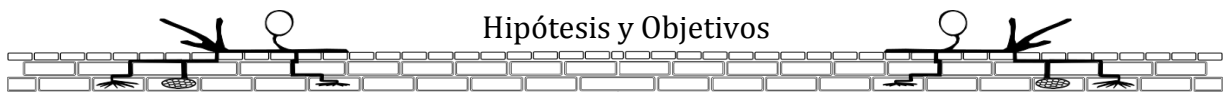
Capítulo 3
Hipótesis y Objetivos

Acaulospora delicata
(objetivo 10x)
C. Walker y C. M. Pfeiffer y
H. E. Bloss
1986

20 μm

Hipótesis y objetivos





3 Hipótesis y objetivos

3.1 Hipótesis

La aplicación de vinazas tequileras en suelos agrícolas afecta negativamente las poblaciones de hongos micorrízicos arbusculares.

3.2 Objetivo general

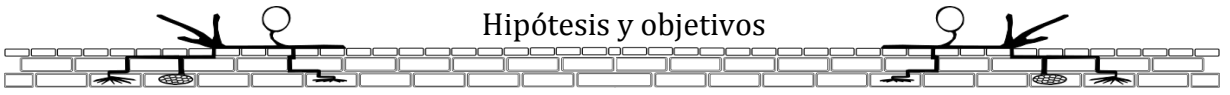
Determinar si existen hongos micorrízicos arbusculares en un suelo agrícola regado con vinazas tequileras y las variaciones que tienen sus poblaciones por efecto de la adición de diferentes concentraciones de vinazas tequileras.

3.3 Objetivos específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente un suelo agrícola con y sin la adición de vinazas tequileras para determinar si las vinazas ocasionan algún cambio en las características de un suelo agrícola.
- Evaluar si existen o no HMA y su identificación taxonómica en un suelo donde se aplican vinazas tequileras regularmente, para generar información de la presencia de HMA en suelos irrigados con vinazas.
- Evaluar el efecto de la adición de diferentes concentraciones de vinazas tequileras sobre las poblaciones de HMA, para determinar a qué concentración se tiene mayor o menor efecto sobre los HMA.




Hipótesis y objetivos



Capítulo 5
Metodología

50 μm

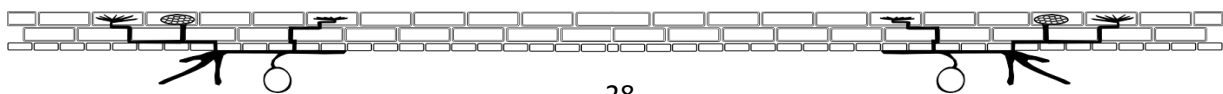


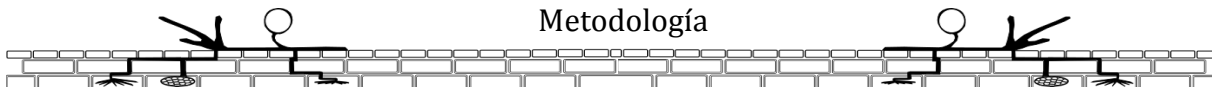
Acaulospora mellea

(objetivo 40x)

Spain & Schenck

1977





4 Metodología

Este trabajo está dividido en dos etapas para alcanzar los objetivos planteados. La etapa (I) consiste en la caracterización de suelos y vinazas, así como la evaluación de la existencia de HMA en suelos con la adición de vinazas. Y la etapa (II) está integrada por la propagación de esporas de HMA y evaluación del efecto de diferentes concentraciones de vinazas sobre las poblaciones de HMA. Se incluye un diagrama general de las etapas y las principales actividades en la Figura 4.

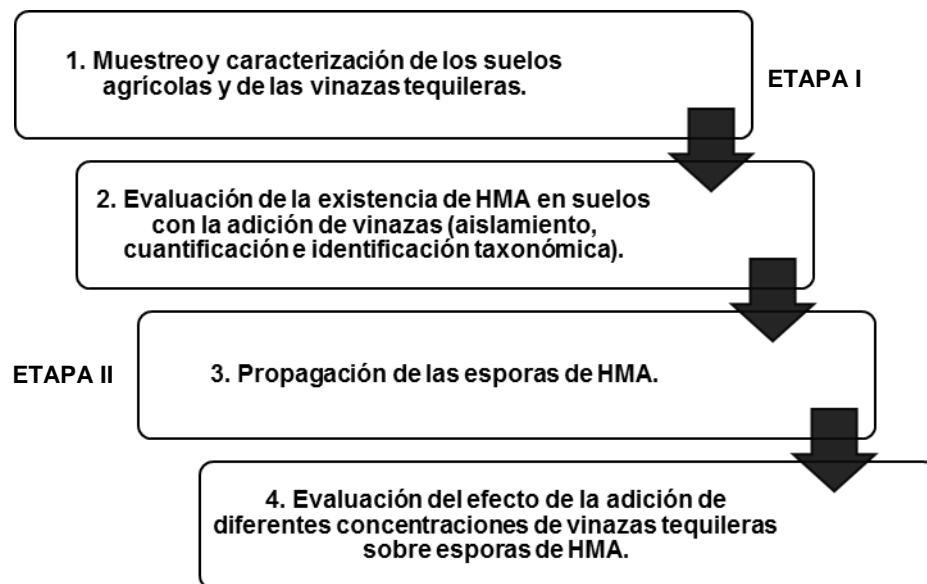


Figura 4. Diagrama general de las etapas del proyecto y sus principales actividades.

4.1 Etapa I

4.1.1 Selección del sitio de estudio

Se seleccionó un sitio de estudio debido al antecedente de que se irriga con vinazas tequileras frecuentemente desde hace un período de al menos 5 años, además de ser un suelo agrícola. Dentro de este sitio, se seleccionaron dos diferentes suelos agrícolas: con y sin la adición de vinazas tequileras. El sitio está localizado en el municipio “El Arenal” (20° 46’ 7”N y 103° 41’ 18” O), el cual se encuentra al noreste del estado de Jalisco en la Región Valles (Figura 3). El clima del municipio es semiseco con invierno y primavera secos, la temperatura media anual es de 20 °C. Se realizaron muestreos aleatorios siguiendo la NMX-AA-132-SCFI-2006 en diferentes parcelas del sitio de muestreo de los suelos agrícolas: parcelas 1, 2, 11 y 12 con la adición de vinazas (2.4 ha) y parcelas 5, 6 y 7 sin adición de vinazas (1.8 ha) (Figura 5). El suelo fue clasificado como Feozem,





con vegetación predominante de caña (*Saccharum officinarum*) por ser un cultivo aproximadamente de 30 años (INEGI, 2014). El suelo sin vinaza fue denominado “suelo control” (SC) y el suelo con vinaza “suelo vinaza” (SV).

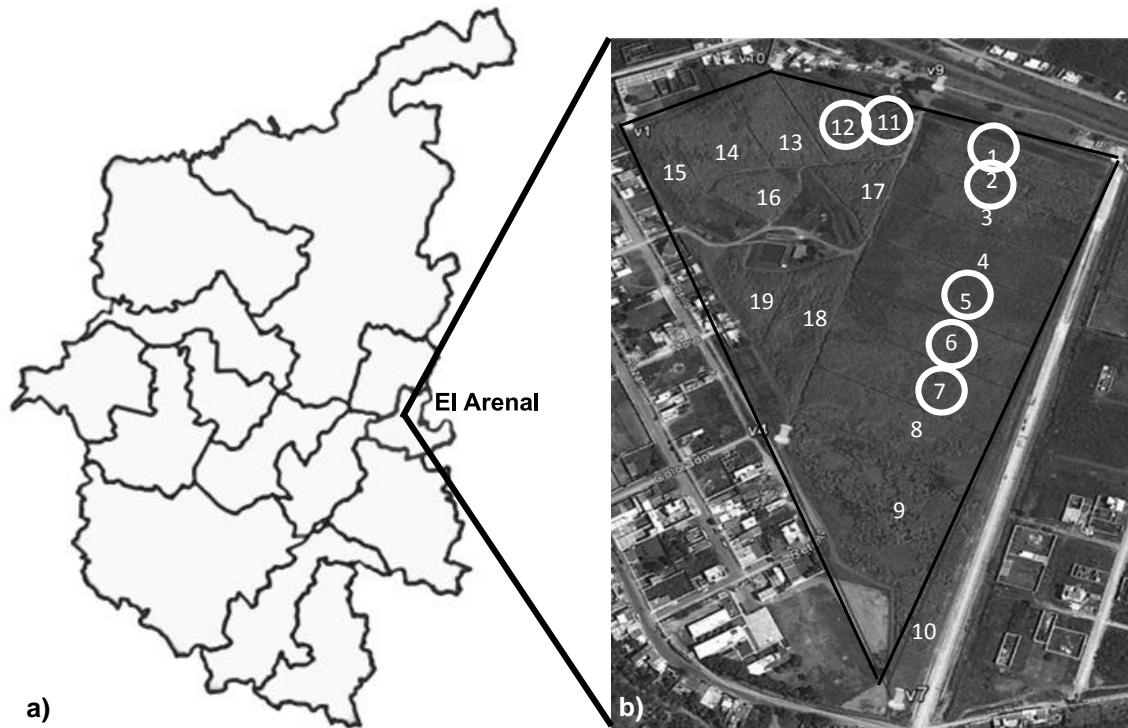


Figura 5. a) Mapa del municipio del Arenal, Jalisco en la Región Valles. **b)** Área del sitio muestreado. Los números encerrados en círculo ilustran las parcelas que fueron muestreadas. La línea indica el perímetro del predio del sitio de muestreo.

Un total de 70 puntos fueron muestreados en los dos suelos: 21 de ellos corresponden al SC y 49 al SV. Los suelos se dividieron en tres campos para manejar muestras independientes y por triplicado de cada suelo ($n = 9$). El suelo fue trasladado al laboratorio y se le realizó un pre-acondicionamiento que consistió en homogenizar y tamizar el suelo por malla de 5 mm, con el fin de remover material que no era de interés como hojas o piedras. Todas las muestras fueron colectadas en Enero de 2014 antes de la zafra de la caña de azúcar.

Adicionalmente se tomaron muestras de vinazas de un proceso de destilado tradicional de tequila de la fábrica “El Cascahuín” en el municipio “El Arenal”, Jalisco. La muestra fue tomada inmediatamente después de la destilación y por triplicado ($n = 3$).





4.1.2 Caracterización de suelos y vinazas

Los suelos fueron caracterizados fisicoquímicamente para parámetros de suelo como son: pH, capacidad de retención de agua (CRA), capacidad de intercambio catiónico (CIC), conductividad eléctrica (CE), carbono orgánico, nitrógeno total, fósforo total y disponible y textura por medio de las metodologías descritas por Dane y Top (2002) y Sparks (1996) para parámetros físicos y químicos respectivamente, los cuales se describen en el siguiente apartado. Simultáneamente se caracterizaron fisicoquímicamente las vinazas tequileras por parámetros como: pH, CE, DBO, DQO, metales pesados, sólidos sedimentables volátiles (SSV), sólidos sedimentables disueltos (SSD), fósforo total y disponible, nitrógeno total, calcio, potasio, sodio y magnesio (Eaton et al., 1999), siguiendo las metodologías de la American Public Health Association (APHA) (1992), las cuales se describen brevemente a continuación.

4.1.3 Análisis fisicoquímicos de suelos y vinazas

- **pH**

El pH fue medido en una mezcla del suelo con agua en una relación 1:2 (p/v), la cual se agitó en un tiempo de 3 a 5 minutos para después sumergir el electrodo del potenciómetro (Oakton pH/conductivity 300 meter, Singapore) durante un minuto en la muestra hasta que la lectura se estabilizó (NOM-021-SEMARNAT-2000); para las vinazas el pH se midió directamente de la muestra.

- **Humedad**

La humedad se determinó por el método gravimétrico, utilizando 10 g de suelo y colocándolos en una charola de aluminio previamente pesada, se secaron en una estufa a 120 °C durante 3 horas (NMX-FF-109-SCFI-2007; NOM-021-SEMARNAT-2000). Posteriormente fueron pesados y se calculó la humedad por diferencia de peso mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{material húmedo} - \text{material seco}}{\text{material húmedo}} * 100$$



- **Cenizas**

Las cenizas se determinaron mediante el siguiente procedimiento: después de ser calculada la humedad, la muestra de suelo se colocó en una cápsula de porcelana previamente seca y tarada, la cápsula se colocó en una mufla a 550 °C durante 3 horas. Posteriormente las cenizas remanentes se pesaron y se calculó el porcentaje de ceniza mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{peso crisol con cenizas} - \text{peso crisol}}{\text{g muestra}}$$

- **Conductividad eléctrica**

La conductividad eléctrica (CE) se determinó en una mezcla de suelo y agua desionizada en una relación 1:5 (p/v), ésta fue filtrada al vacío y al extracto obtenido se le determinó la CE al introducir el electrodo del conductímetro (Oakton pH/conductivity 300 meter, Singapore) registrando la lectura una vez que el registro se estabilizó (NOM-021-SEMARNAT-2000). En el caso de las vinazas la lectura fue directamente sobre la muestra líquida.

- **Carbono orgánico total**

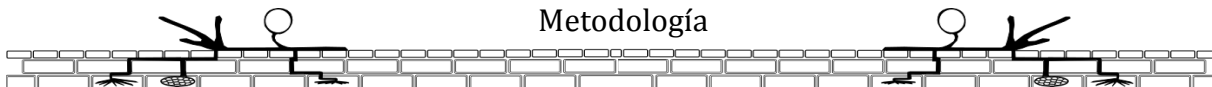
El carbono orgánico total (COT), los sólidos volátiles (Svol) y la materia orgánica (MO) fueron determinados por el método de calcinación a 550-600 °C, en el cual el suelo (5 g) en base seca o la vinaza (10 mL) se colocó en una cápsula de porcelana y posteriormente se calcinó durante 3 horas. El porcentaje de carbono orgánico y sólidos volátiles fueron determinados mediante las siguientes formulas: (APHA, 1992):

$$\% \text{ Sólidos volátiles} = \frac{\text{gramos de la muestra} - \text{gramos de ceniza}}{\text{gramos de la muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ Carbón Orgánico Total} = \frac{\% \text{ sólidos volátiles}}{1.8} \times 100$$

$$\% \text{ Materia Orgánica} = 100\% - \% \text{ Ceniza}$$

El COT de la vinaza se calculó mediante la técnica de HACH® COT HR *Test N'tube*, la cual involucra la oxidación del carbono de la muestra a CO₂ mediante la digestión con persulfato de amonio. El CO₂ se mezcla en una solución indicadora de pH donde ésta es convertida a ácido



carbónico. El color resultante es directamente proporcional a la concentración de carbono presente en la muestra, el cual se mide su absorbancia a 430 nm de absorbancia.

- **Textura**

La textura del suelo se define como la proporción relativa de grupos dimensionales de partículas, proporcionando una idea general de las propiedades físicas del suelo y fue determinada mediante el método de Bouyoucos. Se pesaron 100 g de suelo, a la muestra se le adicionó agua destilada hasta cubrir la superficie, posterior a esto se adicionaron 5 mL de hexametáfosfato de sodio mezclándolo en un agitador mecánico para homogenizar la muestra. La muestra ya mezclada se colocó en una probeta de 1 L en donde el hidrómetro fue introducido. La primera medición se realizó a los 40 segundos, para medir partículas de diámetro mayor a 0.05 mm. Después de 2 horas se realizó otra medición con el hidrómetro para medir partículas de diámetro mayor de 0.002 mm (NOM-021-SEMARNAT-2000). La textura fue clasificada de acuerdo al triángulo textural.

- **Capacidad de intercambio catiónico**

La determinación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el suelo consistió en pesar 2 g de suelo a los cuales se le agregaron 25 mL de Cl_2Ba . Se centrifugó para separar la parte sólida de la parte acuosa. Se eliminó el sobrenadante y al sedimento se le añadieron 25 mL de solución de sulfato de magnesio (MgSO_4) 0.1 N y se centrifugó nuevamente. Una vez centrifugado se tomaron 10 mL del sobrenadante y se realizó una dilución a 100 mL con H_2O destilada. Finalmente se adicionó una solución tampón (solución de cloruro amónico 1 N con cinco partes de solución de hidróxido de amonio 1 N) y 6 gotas de negro de ericromo T (0.2%) y se valora el Mg^{+2} hasta la aparición de un color azul, con la solución acomplejante (EDTA 0.05 N) (Uehara y Gillman, 1981).

- **Nitrógeno inorgánico**

Para determinar el nitrógeno inorgánico (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+) en el suelo se preparó un extracto con 5 g de suelo con 20 mL de K_2SO_4 0.5 M en una relación 1:4 (p/v). La mezcla fue agitada en un agitador orbital (Orbital shaker, Modelo: TS-100, Nacional) durante 5 minutos para disgregar el material y después se centrifugó a 4000 rpm durante 15 min, al sobrenadante se le determinó NO_3^- , NO_2^- y NH_4^+ . Para medir el nitrógeno inorgánico en la vinaza se tomó la muestra líquida para realizar el análisis de nitritos, nitratos y amonio por espectrofotometría. El N-inorgánico de la etapa (II) fue determinado colorimétricamente en un analizador automático (San Plus System SKALAR automatic analyzer) (Mulvaney, 1996).





- **Nitritos**

Para las vinazas y suelo de la etapa (I), la concentración de nitritos (NO_2^-) se midió mediante el método colorimétrico de FeSO_4 de las pruebas de HANNA® método HI 93708-01. De la vinaza o el extracto de suelo se tomaron 10 mL y se les adicionó el reactivo HI 93708 [Sulfanilamida y N-(1-naftil) etilendiamina]. Ésta reacción produce un color café verdoso del cual fue leída su absorbancia en un espectrofotómetro HANNA® (HI 83200, RUMANIA) a 575 nm.

- **Nitratos**

La concentración de nitratos tanto para las vinazas como para el suelo de la etapa (I) se midió mediante el método espectrofotométrico HANNA® adaptado del método de reducción de cadmio. Los nitratos se reducen a nitritos en presencia del cadmio. Los nitritos producidos de este modo reaccionan con el reactivo ácido fenildisulfónico (0.02 N) hasta producir un compuesto naranja. La cantidad de color desarrollado es proporcional a la concentración de nitrato presente en la muestra acuosa. Del extracto de la muestra se tomaron 6 mL y se adicionó el reactivo HI 93728-0® (Ácido fenil disulfónico 0.02 N) se agitó y se dejó reposar por 5 min. La reacción entre el nitrato y el reactivo causa un color ámbar en la muestra del cual se midió su absorbancia a 410 nm en un espectrofotómetro HANNA® (HI 83200, RUMANIA) para determinar la concentración de NO_3^- .

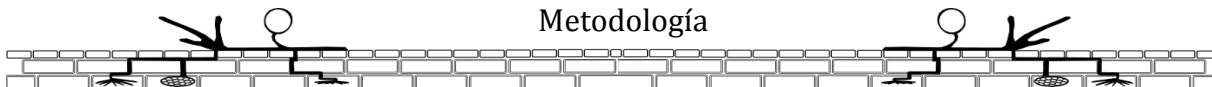
- **Nitrógeno amoniacal**

El amoníaco reacciona con el reactivo de Nessler en solución básica hasta formar un compuesto amarillo. La absorbancia de este producto coloreado es proporcional a la concentración de nitrógeno amoniacal presente en la muestra acuosa. La reacción entre los 10 mL, tanto de suelos como vinazas, y los reactivos HI 93715A-0 (reactivo de dispersión alcohol polivinílico) y HI 93715B-0 (reactivo de Nessler) causan una coloración amarilla en la muestra, de la cual se leyó su absorbancia a 420 nm en el espectrofotómetro HANNA® (HI 83200, RUMANIA).

- **Metales pesados**

Los metales como cadmio, arsénico, mercurio, cromo, cobre, plomo, hierro, níquel y zinc fueron analizados de acuerdo a la NOM-117-SSA1-1994 la cual señala que las muestras deben someterse a una digestión en un sistema de reflujo y agregar poco a poco la cantidad necesaria de ácido nítrico concentrado y calentar durante 30 minutos o hasta que no se observen cambios en la digestión. Una vez realizada la digestión se dejó enfriar y se agregó una mezcla de ácido nítrico y ácido sulfúrico concentrados (1:1 v/v), posteriormente se calentó y se agregó más ácido nítrico gota a gota sobre las paredes del recipiente, hasta que el color oscuro de la solución desapareció. Las





muestras se dejaron enfriar y se leyeron por espectrometría de emisión atómica acoplado a inducción de plasma (ICP-AES por sus siglas en inglés Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry). Las muestras se enviaron a la unidad de servicios analíticos y metrológicos (USAM) de CIATEJ para su determinación con la técnica antes descrita.

- **Nitrógeno total**

La determinación de nitrógeno total por digestión involucró dos pasos: a) digestión de la muestra de suelo (1 g) y vinaza (5 mL) para convertir el N a NH_4^+ y b) la determinación de NH_4^+ en la digestión realizada del N. La digestión de la muestra se desarrolló por calentamiento de la muestra con ácido sulfúrico concentrado y K_2SO_4 que promovió la oxidación de la materia orgánica y la conversión del nitrógeno orgánico a amonio. Después de la digestión, el amonio es determinado por la titulación del amonio liberado por destilación de la digestión con un álcali ($\text{NaOH-Na}_2\text{SO}_4$ 0.05 N). Las muestras para el análisis de nitrógeno total se enviaron a la unidad de servicios analíticos y metrológicos (USAM) del CIATEJ para su determinación con la técnica antes descrita.

- **Capacidad de retención de agua**

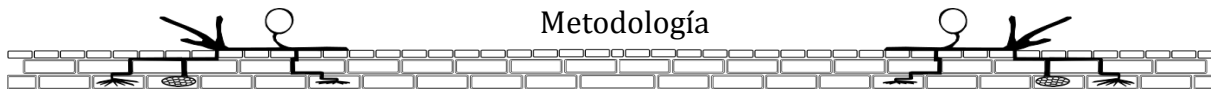
La capacidad de retención de agua (CRA) se determinó mediante la técnica descrita por Dane y Top (2002) en la cual se pesaron 20 g de suelo seco en un cono de papel filtro registrando ambos pesos, posteriormente el cono con el suelo se colocó en embudos y se le adicionó 100 mL de H_2O hasta saturación, dejándolos tapados durante 24 horas. Pasado el tiempo se pesó el cono con el suelo húmedo, también se utilizó un blanco de papel sin suelo. Los pesos se utilizaron en la siguiente fórmula para determinar la CRA:

$$\% \text{ CRA} = \frac{(\text{peso final} - (\text{peso papel} * 1.23)) - (g \text{ muestra} + \left(\frac{100 - \% \text{ Humedad}}{100}\right))}{g \text{ muestra} + \% \text{ Humedad}} * 100$$

- **Fósforo disponible**

La concentración de fósforo disponible se cuantificó mediante el método de ácido ascórbico-molibdato de amonio. Se pesó 2.5 g de suelo y se le agregaron 47.5 mL de solución extractora NaHCO_3 0.5 M (1:20 p/v). La muestra se agitó en un agitador orbital (Orbital shaker, Modelo: TS-100, Nacional) durante 30 minutos. Una vez agitadas se filtraron en embudos con papel filtro (11 μm). Se tomaron 10 mL de la muestra filtrada, se le adicionó 1.6 mL del reactivo combinado (H_2SO_4 5 N, Tartrato de Sb y K^+ 0.005 M, Molibdato de NH_4^+ 0.03 M y ácido ascórbico 0.1 M). Se





leyó la absorbancia de la muestra a 880 nm después de 10 minutos y antes de 30 minutos (Olsen et al., 1954). La concentración de fósforo disponible fue calculada mediante la ecuación de la recta de una curva estándar con KH_2PO_4 a diferentes concentraciones de fósforo (0, 2, 4, 8, 12, 16, 20 $\mu\text{g P mL}^{-1}$).

- **Fósforo total**

El fósforo total se cuantificó mediante el método por digestión con agua regia (HCl concentrado y HNO_3 0.5 N). En el cual a 500 mg de suelo se le agregó 10 mL de agua regia y se llevó a una digestión hasta sequedad. Al digestado se le agregó 10 mL de HCl 0.5 N, se calentó en baño maría a 80 °C por 30 minutos, se dejó enfriar y se filtró. El filtrado se aforó a 25 mL con H_2O destilada. De esta solución se tomaron 10 mL y se le agregaron 1.6 mL del reactivo combinado, se dejó desarrollar el color y finalmente se leyó su absorbancia a 880 nm. La concentración de fósforo disponible fue calculada mediante la ecuación de la recta de una curva estándar con KH_2PO_4 a diferentes concentraciones de fósforo (0, 2, 4, 6, 8, 10 $\mu\text{g P mL}^{-1}$).

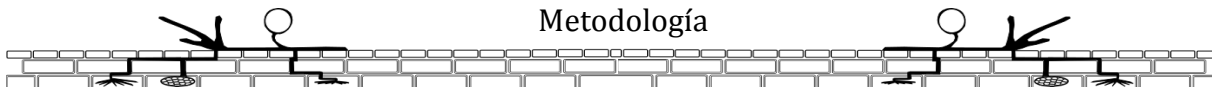
- **Demanda Química de Oxígeno**

La demanda química de oxígeno (DQO) fue determinada en la muestra de vinazas mediante el método de digestión de reactor de las pruebas de HACH® donde la muestra de vinaza (1 mL) se calienta dos horas con dicromato de potasio (0.004 M) para su digestión. Los compuestos orgánicos oxidables reaccionan, reduciendo el ion de dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) a un ion crómico verde (Cr^{3+}) del cual se lee la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro HACH®. El reactivo DQO contiene iones de plata y de mercurio en donde la plata actúa como catalizador y el mercurio se utiliza para formar complejos de las interferencias de cloruros.

- **Demanda Biológica de Oxígeno**

La demanda biológica de oxígeno (DBO) se calculó mediante el método de dilución 8043 de las pruebas de HACH®. La DBO se realizó incubando una muestra de vinazas (100 mL) en un período estándar de cinco días y se determinó el cambio en el contenido de oxígeno disuelto mediante un respirómetro DBO Trak II de HACH®. El método se basa en medir la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para efectuar la oxidación de la materia orgánica presente en aguas naturales y residuales, y se determina por la diferencia entre el oxígeno disuelto inicial y el oxígeno disuelto al cabo de cinco días de incubación a 20 °C.





4.1.4 Aislamiento, cuantificación e identificación de esporas de HMA

Para el aislamiento de esporas de HMA se utilizó una muestra compuesta de 100 g de cada suelo agrícola (con (SV) y sin (SC) la adición de vinazas tequileras) y se realizó por triplicado con una $n = 9$. El método utilizado fue el de tamizado húmedo, decantación y centrifugación en agua y sacarosa al 50% (p/v) (Brundrett et al., 1996). El método consistió en homogenizar 100 g de suelo en 1 L de agua, dejando reposar la mezcla por 10-15 segundos y realizando el tamizado en cuatro tamices: 600, 150, 75 y 45 μm de apertura de malla. El material retenido en todos los tamices fue transferido a tubos tipo Falcon de 50 mL con agua destilada y centrifugados a 1800 rpm durante 5 min. Una vez centrifugados, el líquido fue decantado y el sobrenadante re-suspendido en una solución de sacarosa al 50% (p/v), homogenizados y centrifugados nuevamente (2000 rpm, 5 min.) El sobrenadante fue eliminado y el sedimento fue re-suspendido en una solución de sacarosa al 50% (p/v), homogenizado y centrifugado nuevamente (1800 rpm, 1 min). El sobrenadante fue pasado por un tamiz de malla muy fina (45 μm) y se enjuagó con abundante agua destilada (Brundrett et al., 1996). El material obtenido fue colocado en cajas Petri y analizado bajo un estereomicroscopio (NIKON SMZ745T, Beijing, China) en donde se realizó la separación y cuantificación de esporas. Las esporas fueron montadas en preparaciones fijas de alcohol polivinílico-lactoglicerol (PVLG) y reactivo de Melzer mezclado con PVLG (1:1, v/v) (Figura 6) (Brundrett et al., 1996).

4.1.5 Identificación taxonómica de los HMA

La identificación taxonómica de las especies se realizó con base en la morfología de las esporas (diámetro, color y agrupamiento) y de sus estratos de pared (color, presencia de ornamentaciones, número y tipo de estratos, reacción con Melzer y grosor). Las esporas aisladas se observaron con un microscopio óptico con contraste de interferencia de Nomarski (AxioLab A1 Carl Zeiss, Jena, Germany) y se compararon con las descripciones del *International vesicular arbuscular culture collection* (INVAM) (<http://invam.caf.wvu.edu>) y descripciones especializadas publicadas en diversas revistas (Figura 6). Las especies se fotografiaron con una cámara digital (Axio Cam ERc 5s, Jena, Germany) y se digitalizaron mediante el software AxionVision® SE64, Release 4.9. La nomenclatura de las especies fue siguiendo la clasificación del grupo propuesta por Schußler et al. (2001) e incluyendo la nomenclatura propuesta por Schußler y Walker (2010).



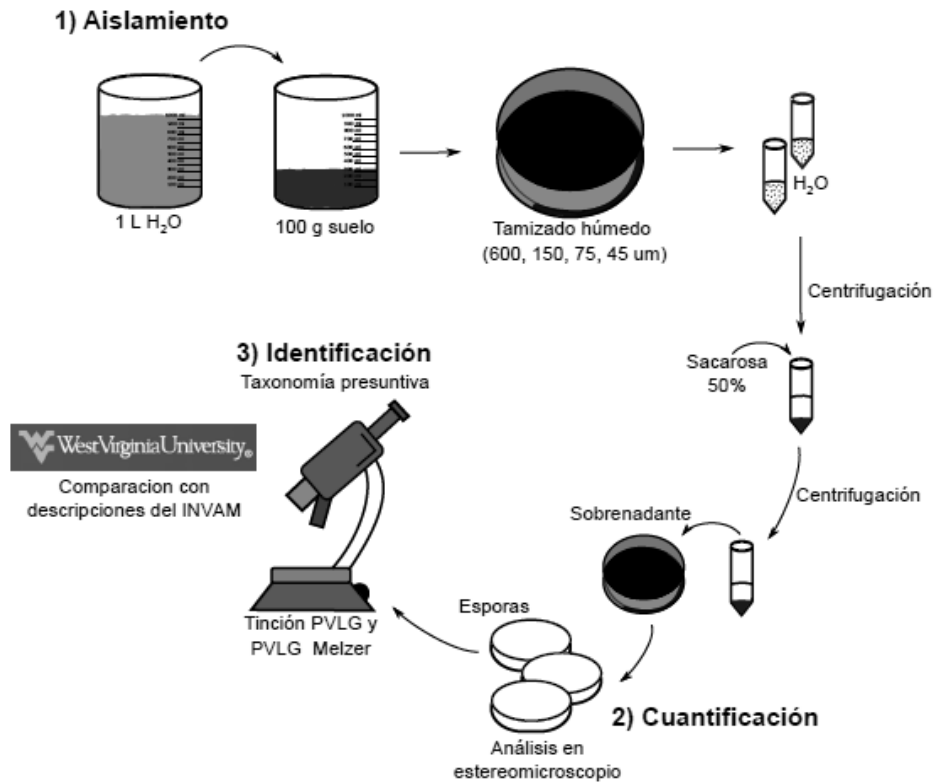


Figura 6. Esquema del aislamiento, cuantificación e identificación de esporas de HMA.

4.1.6 Índice de diversidad, número de esporas y riqueza de especies

Se determinó el número de esporas (abundancia), riqueza (número de especies) e índices de diversidad Shannon-Wiener (H') para cada suelo. El índice de Shannon-Wiener (H') se calculó para indicar que tan uniformes estaban representadas las especies (en abundancia) y el índice de Shannon-Wiener ponderado (H_p) se calculó para probar la hipótesis nula de que las vinazas tequileras tenían un efecto negativo (reducción) en la población de HMA.

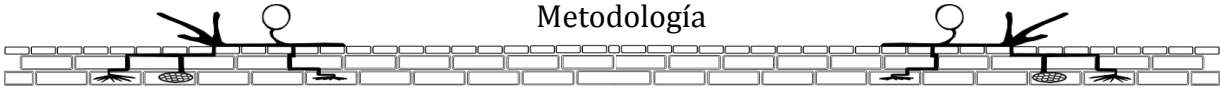
$$H' = -\sum pi \ln pi$$

Donde:

H' = índice de Shannon-Wiener

pi = proporción relativa (área) de cada comunidad

$\ln pi$ = logaritmo natural de pi



El H' expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra. Mide el grado promedio de incertidumbre en predecir a que especie pertenecerá un individuo escogido al azar de una colección (Baev y Penev, 1995; Maguran, 1988; Peet, 1974). Asume que los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la muestra. Adquiere valores de cero, cuando hay una sola especie, y el logaritmo de S (número total de especies), cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos (Maguran, 1988). Para cada muestra se calculó el índice de diversidad ponderado (H_p) en función de la frecuencia de cada especie:

$$H_p = \frac{(N \log N) - (\sum f_i \log f_i)}{N}$$

Donde:

H_p = índice de Shannon-Wiener ponderado

N = Número total de individuos

f_i = frecuencia (número de individuos) registrada para cada especie

$\log N$ = logaritmo natural de N

$\log f_i$ = logaritmo natural de f_i

4.2 Etapa II

Para poder evaluar el efecto de la adición de diferentes concentraciones de vinazas tequileras sobre las poblaciones de HMA, se requirió tener un inóculo de HMA con especies conocidas y en la cantidad conocida. Por tal motivo se realizó primero una propagación de las esporas encontradas en los suelos de estudio, el cual se describe a continuación.

4.2.1 Propagación de esporas de HMA

El suelo muestreado y denominado como control (SC) fue utilizado para la propagación de esporas de HMA, para evitar tener alguna interferencia por el riego de las vinazas que no pudiera ser evaluado y que causara algún sesgo. Se utilizó una mezcla de semillas de sorgo (*Sorghum vulgare*) y alfalfa (*Medicago sativa*) para plantarlas por cada unidad ($n = 9$) conteniendo arena de río, SC y arena de río en una relación 1:1:2 (Figura 7) para promover una mayor diversidad de asociación de las esporas con las plantas. Esto con el fin de eliminar posibles sesgos que pudiera haber en la preferencia de los HMA con la planta (Brundrett et al., 1996).



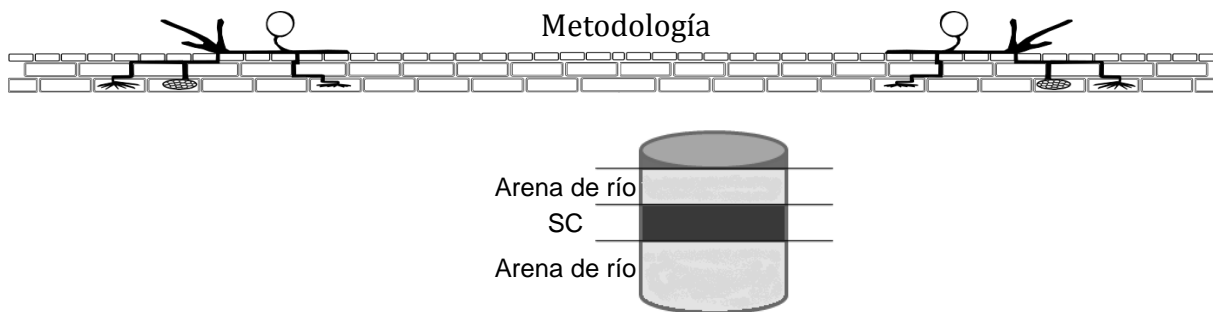


Figura 7. Relación de contenido de arena y suelo en el cultivo de propagación.

La arena fue previamente esterilizada con periodos de 24 horas de reposo y ciclos de esterilidad (3 veces). Se llevó a cabo un riego de una a dos veces por semana con agua destilada para promover periodos de sequedad lo cual esta reportado por promover la esporulación de los HMA (Jarstfer y Sylvia, 1992). El cultivo de propagación tuvo una duración de cinco meses (Figura 8). Después de esto, se realizó el aislamiento, cuantificación de la abundancia total de esporas. Finalmente, la identificación de las especies de HMA se realizó con el método descrito anteriormente, para cuantificar la densidad por especie. Todo el material seco de cada unidad fue tamizado (600 μm) y almacenado en frascos de vidrio a temperatura ambiente. De la unidad experimental del sistema de propagación con mayor abundancia de esporas se tomó el inóculo para la experimentación siguiente. El inóculo (5 g) con una densidad de 271 esporas de HMA 10 g^{-1} fue tomado del material tamizado seco y fue colocado en pequeñas bolsas de papel.

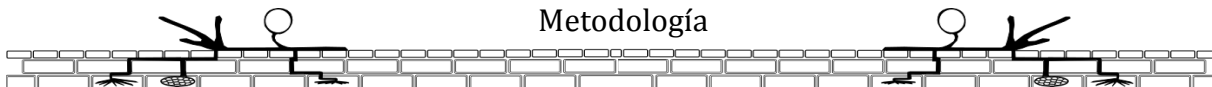


Figura 8. Cultivo de propagación de HMA de SC con sorgo y alfalfa (5 meses).

4.2.1 Evaluación del efecto de la adición de diferentes concentraciones de vinazas tequileras sobre las poblaciones de esporas de HMA

Para estudiar las variaciones de poblaciones de HMA de los suelos por la aplicación de vinazas, se estableció un experimento en macetas de polietileno con un volumen de suelo de 1.5 Kg ($n = 75$). Del total de las unidades experimentales, a treinta macetas se les colocó suelo estéril con el fin de tener un suelo libre de microorganismos y que funcionara como suelo biótico (SB). Cinco gramos del cultivo de propagación (271 esporas de HMA) fueron adicionadas a todas las unidades experimentales como inóculo inicial además de otras especies de HMA no esporuladas en éste





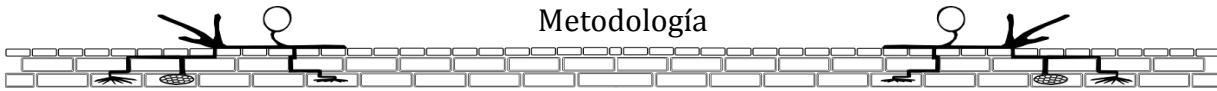
cultivo de propagación ya que éstas venían con la planta utilizada en la experimentación. Una planta adulta de *Chlorophytum comosum* (C. P. Thunberg (H.A. Jacques)) fue trasplantada a cada maceta. La planta de *C. comosum* fue obtenida de un vivero de la ciudad y se seleccionaron plantas aproximadamente del mismo tamaño (aprox. 35 cm de altura). Se seleccionó a *C. comosum* debido a su alta tolerancia a estres abiótico como alta tolerancia a sequías, tolerancia a suelos arcillosos, francos, levemente alcalinos y/o ácidos y por la asociación reportada del género *Chlorophytum* con los HMA como *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus intraradices* y *R. fasciculatum* (Dave y Tarafdar, 2011) (Tabla 2). Además por ser micorrizable y por su accesibilidad en viveros.

Tabla 2. Respuesta a factores bióticos y abióticos de *Chlorophytum comosum*.

Especie	Respuesta a factores bióticos	Respuesta a factores abióticos	Referencia
<i>Chlorophytum comosum</i> (C. P. Thunberg) H.A. Jacques	Lesiones de tipo necrótico sobre nervadura principal y tejidos adyacentes de forma romboidal y coloración pardo rojizas, con extremos de hoja aguzados y aspecto húmedo. Esta sintomatología la provoca el patógeno <i>Colletrichum dematium</i> (Pers. Ex Fr.).	Tolerancia a suelos arcillosos, francos, ácidos o levemente alcalinos.	Edward (1999) Chase (1997)
		La raíz es susceptible a pudrición en suelos mal drenados o un exceso de irrigación.	
		Alta tolerancia a sequía aunque una sequía severa puede provocar quemadura de las hojas.	Arnold (2009)
		Poca tolerancia a las sales del suelo. Exceso de sales provoca necrosis foliar y en áreas donde se lleva a cabo la irrigación.	Braria et al. (2014)
		Susceptible a pérdida foliar debido al exceso de fluoruros en el agua de irrigación por lo que se retarda su crecimiento	

Todas las unidades experimentales fueron regadas con diferentes concentraciones de vinazas (con un volumen de 300 mL): 0% (irrigación con agua destilada), 25%, 50%, 75% y 100% para iniciar el experimento y riegos semanales durante cuatro meses. Simultáneamente, el pH de cada unidad experimental fue medido directamente, antes y después de la aplicación de las diferentes





concentraciones de vinazas, con un potenciómetro portátil (4-in-1 Soil Survey Instrument, ZD-07 (pH, °F/°C, moisture, sunlight), Gain Express, Hong Kong).

Cada mes, 100 g de suelo fueron tomados después del día de irrigación, para determinar abundancia total de esporas, riqueza de especies e identificación taxonómica de las esporas de HMA por los métodos descritos anteriormente. El porcentaje de colonización en la raíz de la planta fue determinado al final del experimento. Además, se determinaron parámetros del suelo como pH, CE, fósforo disponible (P_{disp}) medido como PO_4^- , y N-inorgánico (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+) por los métodos descritos anteriormente. Adicionalmente se estimó la cantidad de cationes (Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ y Na^+) adicionada con cada riego y mensualmente con los datos que se obtuvieron mediante el análisis de cationes en las muestras del SC y las vinazas por cromatografía de iones.

Al iniciar el experimento, simultáneamente se realizó la propagación de esporas de la planta *C. comosum* ($n = 3$) (Figura 9), trasplantando las planta en macetas con arena estéril (2 Kg) y se regó con agua durante los 4 meses de experimentación y se mantuvo en las mismas condiciones que la experimentación con vinazas. Esto se realizó para conocer si la planta venía con esporas de HMA e identificar las especies de HMA que posiblemente se estaban adicionado a la experimentación por el trasplante de la planta *C. comosum*.

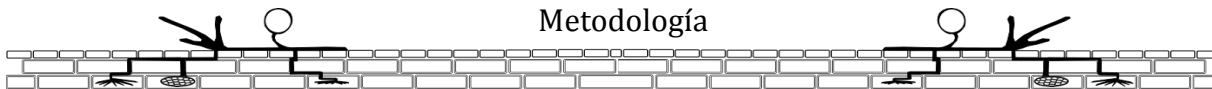


Figura 9. Cultivo de propagación de *Chlorophytum comosum*.

4.2.2 Colonización de raíces de *Chlorophytum comosum*

La colonización de las raíces de las plantas se realizó tomando las raíces de las plantas al final del experimento. Las raíces fueron lavadas con agua corriente hasta eliminar los residuos del suelo. Una vez limpias éstas fueron almacenadas en solución de formaldehído, alcohol, acético (FAA 100 mL formaldehído, 500 mL alcohol, 50 mL ácido acético, 350 mL H_2O). Para realizar el clareo y tinción de raíces se siguió la metodología descrita por Koffi et al. (2013) en donde se colocaban las raíces en KOH al 10% durante 24 horas a temperatura ambiente, posterior a esto siguiendo las raíces en KOH al 10% se colocaron durante 30 minutos a 60 °C en baño maría,





después del tiempo transcurrido se lavaron con agua corriente 3 veces, se agregó H_2O_2 al 5% durante 30 minutos a 70°C en baño maría, fueron lavadas con agua corriente nuevamente, y se agregó HCl 0.1 N durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se removió el HCl (sin lavar con agua corriente) y se le agregó azul de tripano al 0.05% durante 30 minutos a 70°C a baño maría. Finalmente las raíces se lavaron con agua destilada y lactoglicerol al 30%. Una vez teñidas las raíces fueron colocadas en preparaciones con PVLG para ser vistas en el microscopio óptico.

4.2.3 Determinación de cationes en el suelo

Para determinar los cationes (Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ y Na^+) se preparó un extracto con 0.5 g de suelo con 30 mL de H_2O destilada en una relación 1:60 (p/v). La mezcla fue agitada en un agitador orbital (Orbital shaker, Modelo: TS-100, Nacional) durante 15 minutos a 180 rpm para disgregar el material y después se centrifugó a 4000 rpm durante 8 minutos. El sobrenadante se filtró en un filtro con membranas de nylon de $0.45\ \mu\text{m}$ de diámetro de poro previamente lavadas con agua destilada filtrada evitando así la presencia de partículas suspendidas. Los extractos filtrados se colocaron en tubos de inyección de polipropileno, quedando listos para su análisis por cromatografía de iones. La determinación de cationes presentes en los extractos de suelo y muestras de vinaza se realizó en un equipo de cromatografía de iones con supresión electrónica para cationes (Advanced Compact IC 861, Metrohm) con detector de conductividad y automuestreador (Advanced Sample Processor 838, Metrohm). El análisis de cationes requirió de una columna Metrosep C2_150 (Metrohm) y como fase móvil una solución de ácido tartárico y ácido dipicolínico (4:1:0.8 mM) a un flujo de $0.9\ \text{ml}\ \text{min}^{-1}$, presión de 14.1 MPa, temperatura de 35°C y análisis de muestra de 20 minutos. Los cationes analizados fueron Li^+ , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} . La identificación de estos cationes en los extractos de suelo y en las muestras de vinaza se llevó a cabo mediante la coincidencia con los tiempos de retención de estándares individuales puros (de alta pureza al 99.999%), sin superar un intervalo de variación del $\pm 5\%$ (min).

Para conocer la concentración de cada uno de los cationes se correlacionó el área bajo la curva de cada pico con curvas estándar de cada catión en las siguientes concentraciones 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78125, 0.390625 $\mu\text{g}\ \text{mL}^{-1}$. Los resultados de la curva de calibración mediante el empleo de un análisis de regresión lineal ponderado demostraron la existencia de relaciones lineales significativas entre la concentración ($\mu\text{g}\ \text{mL}^{-1}$) y el incremento en la conductividad ($\mu\text{S}\ \text{cm}^{-1} * \text{s}$) de cada analito ($r > 0.992$ con $p < 0.00001$ en todos los casos), permitiendo estimar con confiabilidad las concentraciones de cationes. A partir de los parámetros de la regresión lineal se estimaron los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC) del equipo para cada analito oscilando los primeros entre 0.34, 0.47, 0.24 y 0.22 ppm para Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} respectivamente, mientras que los segundos lo hicieron entre 0.68, 0.94, 0.48 y 0.45 ppm (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} respectivamente). Todos los extractos de suelo y muestras de vinaza fueron





inyectados por duplicado. Los cromatogramas fueron analizados en el software Metrodata IC Net 2.3 (Metrohm, Herisau, Switzerland).

4.3 Análisis estadístico

Los datos de abundancia, riqueza e índice de Shannon-Wiener ponderado fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar diferencias de las abundancias y diversidad entre los dos tipos de suelos los cuales fueron transformados logarítmicamente $\log(x+1)$ antes de ser analizados en el ANOVA. Los datos de los parámetros de suelo para las diferentes concentraciones de vinazas fueron sometidos a un análisis de varianza de dos vías para probar diferencias significativas en el tiempo, en las diferentes concentraciones y en los dos suelos (SC y SB). Los datos de pH semanal y cationes fueron sometidos a un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) basado en la diferencia mínima significativa (DMS) usando el procedimiento del Modelo Lineal General (PROC GLM, SAS Institute, 1989). También se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con los datos de pH, CE, densidad de esporas, fósforo disponible, cationes, nitritos, nitratos y amonio. Se utilizó Statgraphic Centurion XVI.I.





200 μm

Capítulo 5
Resultados y
discusión

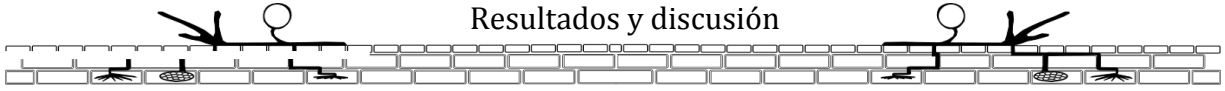
Acaulospora foveata

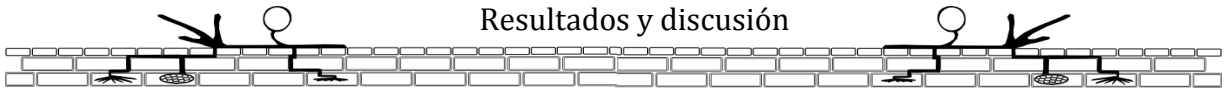
(objetivo 10x)

David P. Janos y James M. Trappe

1982

Resultados y discusión





5 Resultados y Discusión

5.1 Etapa I

5.1.1 Caracterización de suelos

Los suelos SC y SV presentaron una clasificación textural franco arenosa, clasificado como suelo Feozem por la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), el cual se caracteriza por ser rico en materia orgánica y en nutrientes (FAO, 2014). Ambos suelos tuvieron un pH neutro (6.5 ± 0.2 para SC y 7.0 ± 0.3 para SV) por lo que la irrigación con vinazas no acidificó el suelo, indicando una capacidad amortiguadora en éste (Mechri et al., 2008). El contenido de materia orgánica fue muy alto en ambos suelos ($9.37 \pm 0.15\%$ para SC y $7.44 \pm 1.41\%$ para SV), el valor de la CE en SC fue clasificado como fuertemente salino ($83.8 \pm 31.2 \text{ mS cm}^{-1}$) y para SV fue moderadamente salino ($80.4 \pm 35.4 \text{ mS cm}^{-1}$) con una alta CIC alta en ambos suelos ($27.3 \pm 5.9 \text{ Cmol kg}^{-1}$ para SC y $25.5 \pm 6.8 \text{ Cmol kg}^{-1}$ para SV), seguramente por el porcentaje de arcilla presente en ambos suelos. El contenido de nitrógeno inorgánico fue bajo (NO_2^- para SC fue de $0.01 \pm 0.0 \text{ mg Kg}^{-1}$ y para SV $0.03 \pm 0.01 \text{ mg Kg}^{-1}$; NO_3^- para SC $0.45 \pm 0.07 \text{ mg Kg}^{-1}$ y para SV $0.7 \pm 0.03 \text{ mg Kg}^{-1}$; NH_4^+ para SC $0.04 \pm 0.03 \text{ mg Kg}^{-1}$ y SV $0.05 \pm 0.04 \text{ mg Kg}^{-1}$), sin embargo el contenido de N total fue alto (971 ± 147 para SC y 1259 ± 284 para SV). Esto sugiere que el N mineralizado no se encontraba disponible o estaba inmovilizado en el suelo. El contenido de P total fue bajo ($1.7 \pm 0.08 \text{ mg Kg}^{-1}$ para SC y $3.1 \pm 1.7 \text{ mg Kg}^{-1}$ para SV) (USDA, 2014) y la cantidad de metales pesados también fue baja no excediendo los límites establecidos por las normas nacionales e internacionales para suelos (Tabla 3).

Ha sido reportado que suelos cultivados con caña de azúcar presentan un pH fuertemente ácido (4.71), un contenido de materia orgánica alto (2.6%), bajo contenido de nitrógeno total (1.84 g Kg^{-1}) y una concentración demasiado alta de fósforo total ($1552.75 \text{ mg Kg}^{-1}$) (Zhang et al., 2014). En este trabajo, ambos suelos, tanto SC como SV, tuvieron valores similares en los parámetros fisicoquímicos evaluados sin diferencia estadística significativa. Esto pudo indicar que la aplicación de vinazas no hace una diferencia aparente en sus características, sin embargo es importante considerar el efecto de arrastre de compuestos por la pendiente que presenta el terreno donde se muestreó el suelo, por lo que podría considerarse como un suelo que no es 100% control.

5.1.1 Caracterización de vinazas

Ninguna norma actual como la USEPA (2004a) o la NOM-001-SEMARNAT-1996 (1996) establecen los límites máximos permitidos para DBO, DQO, CE o nitratos para descarga de aguas residuales en suelos agrícolas, las cuales pueden ser lixiviadas y afectar los mantos acuíferos. En



Resultados y discusión

Brasil, la irrigación de vinazas al suelo es permitida por la regulación P4.231, la cual establece los criterios y procedimientos para almacenaje, transportación e irrigación de vinazas de caña de azúcar a los suelos (CETESB, 2006).

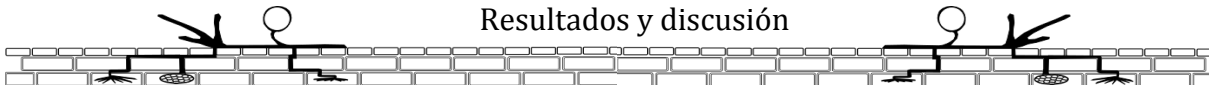
Tabla 3. Caracterización de suelo control (SC) y suelo irrigado con vinazas (SV) y su comparación con la regulaciones mexicana y americana.

Parámetros	SC	SV	NOM-021-SEMARNAT-2000 (México)	USDA 2014 (USA)
Clasificación textural	Franco arenoso	Franco arenoso	N.R.	N.R.
Tipo de suelo	Feozem	Feozem	N.R.	N.R.
pH	6.5 ± 0.2 ^A	7.0 ± 0.3 ^A	Neutro	Neutro
Conductividad eléctrica (CE) (mS cm ⁻¹)	83.8 ± 31.2 ^A	80.4 ± 35.4 ^A	Fuertemente salino	Moderadamente salino
Capacidad de retención de agua (CRA) (%)	10 ± 4.2 ^A	17.9 ± 5.3 ^B	N.R.	N.R.
Humedad (%)	9.4 ± 1.3 ^A	12.4 ± 2.0 ^B	N.R.	N.R.
Capacidad de intercambio catiónico (CIC) (Cmol kg ⁻¹)	27.3 ± 5.9 ^A	25.5 ± 6.8 ^A	Alto	N.R.
Ceniza (%)	92.6 ± 1.4 ^A	92.3 ± 3.1 ^A	N.R.	N.R.
Arena (%)	70.0 ± 3.0 ^A	68.7 ± 1.8 ^A	N.R.	N.R.
Arcilla (%)	16.9 ± 4.1 ^A	16.7 ± 1.5 ^A	N.R.	N.R.
Limo (%)	13.1 ± 3.3 ^A	14.7 ± 2.4 ^A	N.R.	N.R.
Fósforo disponible (PO ₄ ³⁻) (mg kg ⁻¹)	0.1 ± 0.03 ^A	0.1 ± 0.02 ^A	Bajo	Muy bajo
Fósforo total (FT) (mg kg ⁻¹)	1.7 ± 0.08 ^A	3.1 ± 1.7 ^A	Bajo	Muy bajo
Carbono orgánico Total (COT) (g C kg ⁻¹)	54.3 ± 1.3 ^A	43.2 ± 1.9 ^A	N.R.	N.R.
Materia orgánica (MO) (%)	9.37 ± 0.15 ^A	7.44 ± 1.41 ^A	Alto	N.R.
Nitritos (NO ₂ ⁻) (mg kg ⁻¹)	0.01 ± 0.0 ^A	0.03 ± 0.01 ^B	Muy bajo	N.R.
Nitratos (NO ₃ ⁻) (mg kg ⁻¹)	0.45 ± 0.07 ^A	0.7 ± 0.3 ^B	Muy bajo	N.R.
Amonio (NH ₄ ⁺) (mg kg ⁻¹)	0.04 ± 0.03 ^A	0.05 ± 0.04 ^A	Muy bajo	N.R.
Nitrógeno Total (NT) (mg kg ⁻¹)	971 ± 147 ^A	1259 ± 284 ^A	Alto	N.R.
Plomo (Pb) (mg kg ⁻¹)	12.0 ± 0.2 ^A	12.1 ± 3.2 ^A	Normal	N.R.
Cadmio (Cd) (mg kg ⁻¹)	<0.2 ± 0 ^A	<0.2 ± 0 ^A	Normal	N.R.
Níquel (Ni) (mg kg ⁻¹)	3.2 ± 0.5 ^A	2.9 ± 0.2 ^A	Normal	N.R.
Hierro (Fe) (g kg ⁻¹)	18.4 ± 5.3 ^A	14.4 ± 7 ^A	Apropiado	N.R.
Manganeso (Mn) (mg kg ⁻¹)	369 ± 115 ^A	309 ± 2.7 ^A	Apropiado	N.R.
Zinc (Zn) (mg kg ⁻¹)	34.8 ± 2.6 ^A	34.0 ± 5.3 ^A	Apropiado	N.R.
Cobre (Cu) (mg kg ⁻¹)	10.1 ± 10.6 ^A	10.6 ± 2.5 ^A	Apropiado	N.R.

Diferente letra indica diferencias significativas entre columnas ($P < 0.05$) ($n = 3$). N.R. significa no reportado.

Sin embargo, sólo regula el contenido de K₂O (185 Kg de K₂O ha⁻¹ año⁻¹) pero no regula otros parámetros como DBO, DQO, nitrógeno y fósforo, estos últimos puede causar otros efectos en el suelo y mantos acuíferos cuando se acumulan o lixivian.





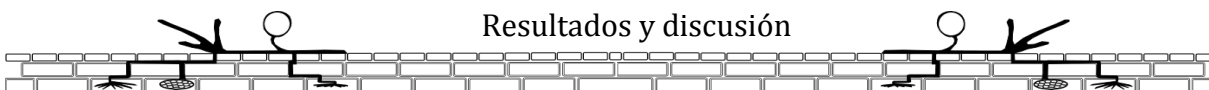
Las vinazas tequileras fueron caracterizadas con un pH muy ácido y con una alta cantidad de materia orgánica (DBO, DQO), alto contenido de PO_4^{3-} , baja CE y alto contenido de sólidos sedimentables y suspendidos (Tabla 4). El contenido de metales pesados en las vinazas (As, Cd, Cu, Cr, Hg, Pb, Ni y Zn) estuvo por debajo de los límites de las normas antes citadas (USEPA, 2004b).

Las características de las vinazas dependen principalmente de la materia prima que se use, pero todas comparten ciertas propiedades, como un pH ácido (de 3.9 a 5.1), una DQO alta (50,000 a 95,000 mg L^{-1}) y un alto contenido de DBO (18,900 a 78,300 mg L^{-1}). La vinaza de mezcal y la vinaza tequileras tienen un contenido alto de sólidos totales (79,000 y 37,000 mg L^{-1} respectivamente) y el contenido de sólidos volátiles totales en la vinaza de remolacha y caña de azúcar también es alto (79,000 y 82,222 mg L^{-1} respectivamente).

Además, el contenido de nitrógeno total de las vinazas alcanza desde 974 a 4,750 mg L^{-1} , este contenido es normalmente más alto en vinazas de caña de azúcar, remolacha y mezcal que en las vinazas tequileras. La mineralización de N orgánico depende de varios factores, tal como la composición y la relación carbono: nitrógeno (C/N). Los suelos en donde se aplica una alta relación C/N (>19) se pueden caracterizar por una rápida inmovilización del N y suelos con una baja proporción C/N (≤ 14) por una inmovilización lenta del N (Bengtsson et al., 2003). El contenido de N en las vinazas es bajo, de modo que la relación C/N es alta. La aplicación de vinazas al suelo puede estimular la actividad microbiana, ya que los microorganismos utilizan la materia orgánica aplicada como sustrato de carbono y el nitrógeno lo incorporan a su tejido y material celular (Bengtsson et al., 2003) lo que induce la inmovilización del nitrógeno.

El contenido de fósforo total en las vinazas de caña de azúcar y de remolacha (1-190 y 160-163 mg L^{-1} respectivamente) es alto sólo en vinazas de caña de azúcar comparado con las vinazas de tequila (41 mg L^{-1}). La mineralización orgánica del fósforo puede saturar el suelo con fósforo inorgánico, el cual puede filtrarse a los mantos acuíferos y un exceso de éste puede reducir la densidad de esporas de HMA en el suelo (Xu et al., 2014). Además, el contenido de K^+ ha sido reportado como alto ($> 10,000 \text{ mg L}^{-1}$) en vinazas de caña de azúcar, remolacha y mezcal, mientras que en vinazas de tequila el contenido de K^+ es mucho mayor, oscilando en el intervalo de 240,000-345,000 mg L^{-1} (España-Gamboa et al., 2011). Qiu et al. (2014) reportaron que una tasa de aplicación de K^+ alta (186.7 $\text{Kg K}^+ \text{ ha}^{-1}$) en maíz con fertilizante de K^+ redujo el crecimiento del grano y en consecuencia los rendimientos de la planta fueron reducidos por lo que puede relacionarse con los bajos rendimientos que presentó *C. comosum* en éste experimento.





El potasio es un microelemento que puede influir en el patrón de colonización de HMA, ya que un alto contenido de K^+ inhibe la colonización de HMA y bajos contenidos de K^+ propician una alta colonización de HMA en las plantas (Smith y Read, 2008).

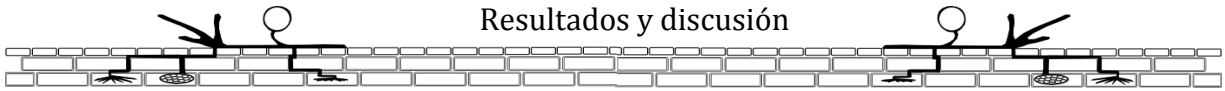
Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de las vinazas tequileras y su comparación con la regulación mexicana y americana.

Parámetros	Vinazas tequileras	Límites permisibles para aplicación al suelo	
		NOM-001-SEMARNAT-1996	USEPA 2004
pH	3.5 ± 0.1	N.R.	9
CE (mS cm ⁻¹)	3.3 ± 0.1	N.R.	N.R.
Fósforo disponible (PO ₄ ⁻³) (mg L ⁻¹)	22.4 ± 1	N.R.	N.R.
PT (mg L ⁻¹)	26.4 ± 1	N.R.	N.R.
COT (g L ⁻¹)	16.8 ± 1	N.R.	N.R.
MO (%)	4.6 ± 0.6	N.R.	N.R.
Nitritos (NO ₂ ⁻) (mg L ⁻¹)	2.2 ± 0.2	N.R.	N.R.
Nitratos (NO ₃ ⁻) (mg L ⁻¹)	580 ± 88	N.R.	N.R.
Amonio (NH ₄ ⁺) (mg L ⁻¹)	1.4 ± 1.0	N.R.	N.R.
NT (g L ⁻¹)	4.2 ± 0.1	N.R.	N.R.
Demanda química de oxígeno total (DQO) (g L ⁻¹)	57.8 ± 1.9	N.R.	N.R.
Demanda química de oxígeno soluble (DQO) (g L ⁻¹)	53.7 ± 3.6	N.R.	N.R.
Demanda biológica de oxígeno total (DBO) (g L ⁻¹)	25.4 ± 1.7	N.R.	45
Demanda química de oxígeno soluble (DBO) (g L ⁻¹)	12.7 ± 1.6	N.R.	N.R.
Sólidos totales (mg L ⁻¹)	40.8 ± 3.0	N.R.	N.R.
Sólidos suspendidos totales (mg L ⁻¹)	11.2 ± 2.0	N.R.	45
Sólidos suspendidos volátiles (mg L ⁻¹)	12.5 ± 3.0	N.R.	N.R.
Sólidos volátiles totales (mg L ⁻¹)	37.3 ± 3.0	N.R.	N.R.
Sólidos disueltos totales (mg L ⁻¹)	29.6 ± 3.0	N.R.	N.R.
Sólidos sedimentables (mL L ⁻¹)	120 ± 5.0	N.R.	N.R.
Sodio (Na ⁺) (mg L ⁻¹)	0.03-0.5 ± 0.03-0.14	N.R.	N.R.
Potasio (K ⁺) (mg L ⁻¹)	3.7-3.9 ± 0.11-0.15	N.R.	N.R.
Calcio (Ca ⁺²) (mg L ⁻¹)	1.83-2.93 ± 0.02-0.2	N.R.	N.R.
Magnesio (Mg ⁺²) (mg L ⁻¹)	2.13-3.32 ± 0.06-0.35	N.R.	N.R.
Arsenico (As) (mg L ⁻¹)	<1.0 ± 0.0	0.4	0.005
Cadmio (Cd) (mg L ⁻¹)	<0.2 ± 0.0	0.1	0.001
Cobre (Cu) (mg L ⁻¹)	<1.0 ± 0.0	6	1.5
Cromo (Cr) (mg L ⁻¹)	<1.0 ± 0.0	1	0.1
Mercurio (Hg) (mg L ⁻¹)	<1.0 ± 0.0	0.01	0.002
Plomo (Pb) (mg L ⁻¹)	<1.0 ± 0.0	10	0.632
Níquel (Ni) (mg L ⁻¹)	<1.0 ± 0.0	4	0.0015
Zinc (Zn) (mg L ⁻¹)	2.3 ± 0.0	20	5
Hierro (Fe) (mg L ⁻¹)	24 ± 0.9	N.R.	N.R.

N.R. significa no reportado.

Por otro lado, uno de los principales problemas de las vinazas es el color café oscuro que las caracteriza y la presencia de altas cantidades de compuestos fenólicos (34-542 mg L⁻¹) en vinazas de caña de azúcar, remolacha, mezcal y tequila, como el ácido tánico, el ácido húmico, los hidratos de carbono y furfurala a partir de la hidrólisis ácida (Pant y Adholeya, 2007). Los compuestos fenólicos pueden tener un efecto fitotóxico en el tejido de las plantas durante la germinación y el desarrollo de las plántulas (Casa et al., 2003). Los compuestos fenólicos también son metabolitos





secundarios de las plantas que se liberan al suelo como lixiviados, exudados o son generados por la descomposición de los residuos vegetales (Siqueira et al., 1991a). Algunos actúan como moléculas señal o mediando rutas de transducción en el sistema simbiote (Lynn y Chang, 1990). Existe mucha evidencia en donde se muestra que estos compuestos son capaces de influir en el crecimiento de la planta y la colonización de raíces por HMA (Siqueira et al., 1991b). En gran medida, las concentraciones de estos compuestos son influidas por la vegetación nativa, el tipo de suelo y la historia del cultivo (Pederson et al., 1991). Sin embargo, Johnson et al. (1992b) reportaron que en rotaciones en barbecho, así como en algunos sistemas perennes o monocultivos, se puede reducir la colonización de los HMA por lo que se verían afectados los cultivos de las siguientes estaciones o pueden causar un efecto negativo en el crecimiento de la planta.

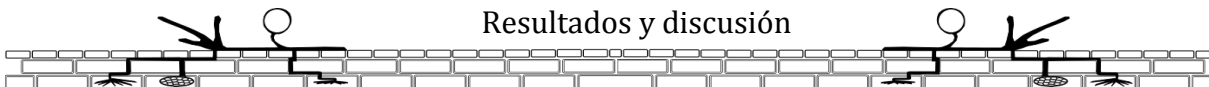
Existe poca información sobre los efectos negativos que los compuestos fenólicos pueden tener en los HMA, sin embargo se ha observado que los fenólicos alelopáticos pueden afectar la diversidad de los HMA y su efectividad en los ecosistemas (Fries et al., 1997). Dependiendo de la concentración, los flavonoides pueden incrementar o disminuir la germinación de las esporas y el crecimiento de las hifas (Becard et al., 1992; Tsai y Phillips, 1991), los isoflavonoides, formononetina y biochanina A, y en menor medida la crisina flavona estimulan la colonización de las raíces y crecimiento vegetal (Siqueira et al., 1991b). La formación de formononetina se ha visto que mejora la colonización por HMA y reduce los efectos de arrastre cuando se han aplicado herbicidas en maíz y sorgo (Siqueira et al., 1991c) y el ácido ferulico, un aleloquímico encontrado en raíces de espárragos (*Asparagus officinalis*), disminuye la colonización por HMA (Wacker et al., 1990).

En general, los valores obtenidos en los diferentes parámetros para las vinazas tequileras fueron similares a lo reportado por otros autores en la literatura para vinazas de tequila (España-Gamboa et al., 2011; Iñiguez et al., 2005b). Sin embargo, en la literatura se pueden encontrar pequeñas variaciones.

5.1.2 Aislamiento, cuantificación e identificación de HMA

Actualmente, la irrigación de vinazas al suelo es una práctica común; sin embargo, no existen reportes acerca del efecto que tiene en los suelos y en las poblaciones de HMA. En la etapa (I), se determinó que sí existen HMA en suelos irrigados con vinazas tequileras, 16 especies de HMA fueron encontradas en conjunto en los suelos SC y SV, 12 especies en SC y 14 en SV, las cuales fueron identificadas de acuerdo con sus características taxonómicas.





Los HMA fueron identificados como: *Acaulospora delicata*, *A. foveata*, *A. laevis*, *A. mellea*, *A. morrowiae*, *A. scrobiculata*, *A. spinosa*, *Acaulospora* sp, *Clareidoglomus etunicatum*, *Funnelformis constrictum*, *F. geosporum*, *F. mosseae*, *Gigaspora margarita*, *Paraglomus occultum*, *Racocetra gregaria*, *Scutellospora reticulata* (Figura 10).

El contenido de esporas de HMA encontrado en SC (248 ± 37 esporas 100 g^{-1} en suelo seco) y SV (209 ± 12 esporas 100 g^{-1} de suelo) no fue diferente significativo ($P = 0.1528$) (Figura 11). Estos valores fueron bajos en comparación con los reportados por Datta y Kulkarni (2012) ($135\text{-}395$ esporas 100 g^{-1} en suelo seco) en un suelo cultivado con caña de azúcar. En este trabajo, la baja abundancia de esporas de HMA en ambos suelos puede ser debido a la CE ($83.8 \pm 31.2 \text{ mS cm}^{-1}$) que presenta el suelo. Esto es soportado por otros estudios que reportan una baja densidad de esporas de HMA no adaptados en suelos salinos (marisma) (Carvalho et al., 2004). Sin embargo, en otros trabajos los HMA han sido sometidos a estrés salino inducido con CE muy altas ($741\text{-}1387 \text{ mS cm}^{-1}$) y se observa una gran habilidad de los HMA de vivir en esas condiciones en donde los HMA absorben grandes cantidades de P, K^+ y Zn además, ayudan a producir un alto contenido de raíces, y a mayor estrés más C es asignado por la planta a los HMA a través de las raíces (Mardukhi et al., 2011).

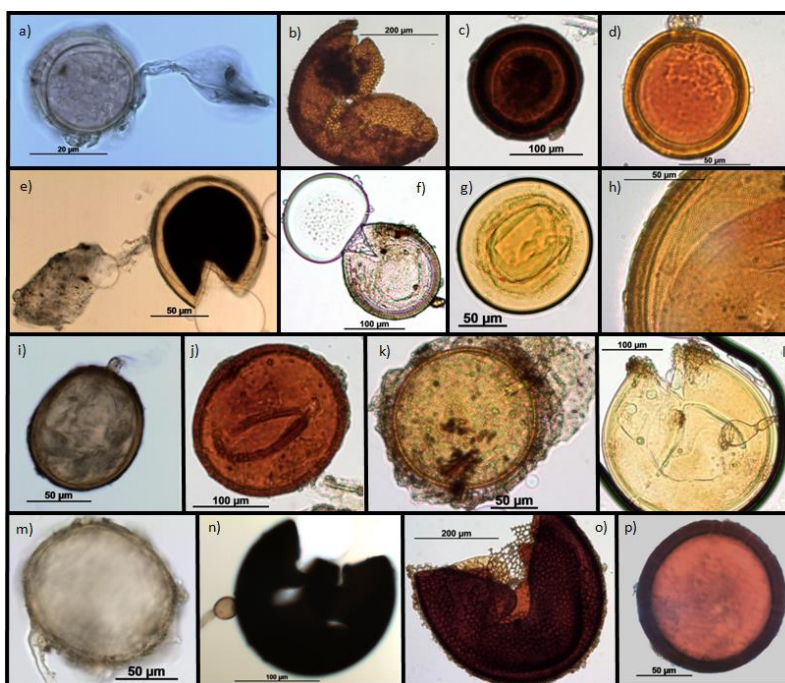
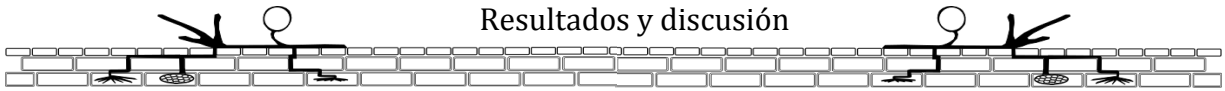


Figura 10. HMA aislados e identificados en suelo SC y SV. a) *Acaulospora delicata*; b) *A. foveata*; c) *A. laevis*; d) *A. mellea*; e) *A. morrowiae*; f) *A. scrobiculata*; g) *Acaulospora* sp.; h) *A. spinosa*; i) *Clareidoglomus etunicatum*; j) *Funnelformis geosporum*; k) *F. mosseae*; l) *G. margarita*; m) *Paraglomus occultum*; n) *Racocetra gregaria*; o) *Scutellospora reticulata* y p) *Funnelformis constrictum*.





El SC y SV tienen casi la misma riqueza de especies (S) de HMA (Figura 11), sin encontrar diferencia significativa en este parámetro ($P = 0.8797$).

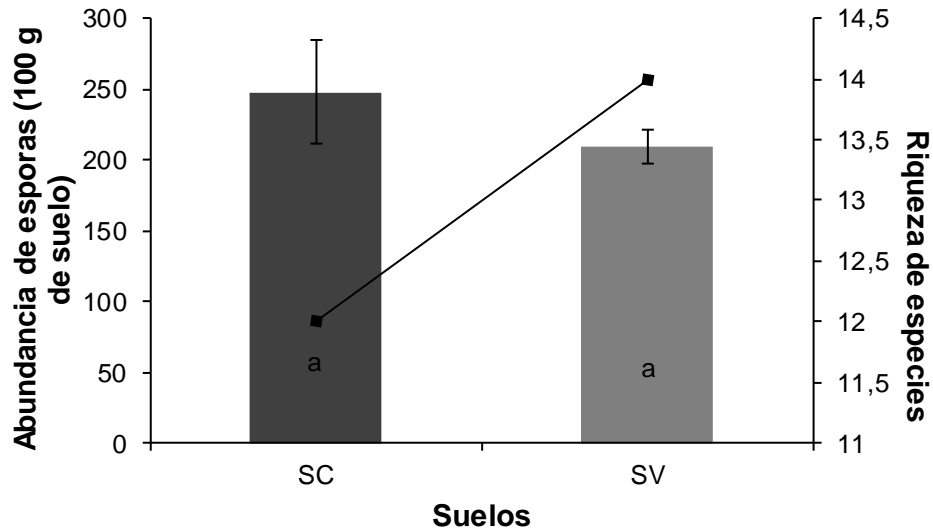


Figura 11. Abundancia (barras) y riqueza de especies (línea) de esporas de HMA. Letras iguales significa que no hay diferencias significativas entre los dos suelos (Tukey $P < 0.05$) ($n = 9$).

En el suelo SC el hongo HMA de *Acaulospora mellea* (27%), *F. mosseae* (25%) presentaron una abundancia relativa (AR) significativamente mayor ($P < 0.05$) a la de las demás especies de HMA encontrados en éste suelo las cuales son y *A. scrobiculata* (18%), *Paraglomus occultum* (14%), *Funnelformis geosporum* (7%) y *Gigaspora margarita* (4%). Mientras tanto, en el suelo SV las especies que presentaron una AR significativamente mayor ($P < 0.05$) fueron *F. mosseae* (32%) y *A. mellea* (27%) a las demás especies encontradas en SV las cuales son *A. scrobiculata* (13%), *F. geosporum* (10%), *P. occultum* (4%) y *G. margarita* (5%) (Figura 12).

En ambos suelos *F. geosporum* (SC 7%, y SV 10%), *P. occultum* (SC 14% y SV 4%) y *G. margarita* (SC 4% y SV 5%) presentaron una AR menor significativa que los otros HMA ($P < 0.05$) (Figura 12). Las especies de HMA que presentaron diferencias significativas entre suelos en su AR fueron las especies de *A. scrobiculara* y *P. occultum* en donde la AR de ambas especies fue mayor estadísticamente significativa en SC ($P < 0.05$). Aun cuando no hubo diferencias y esto sugiere que aparentemente las vinazas no tienen un efecto sobre las poblaciones de HMA, si se observó un menor número de esporas en el suelo vinaza sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa.



Resultados y discusión

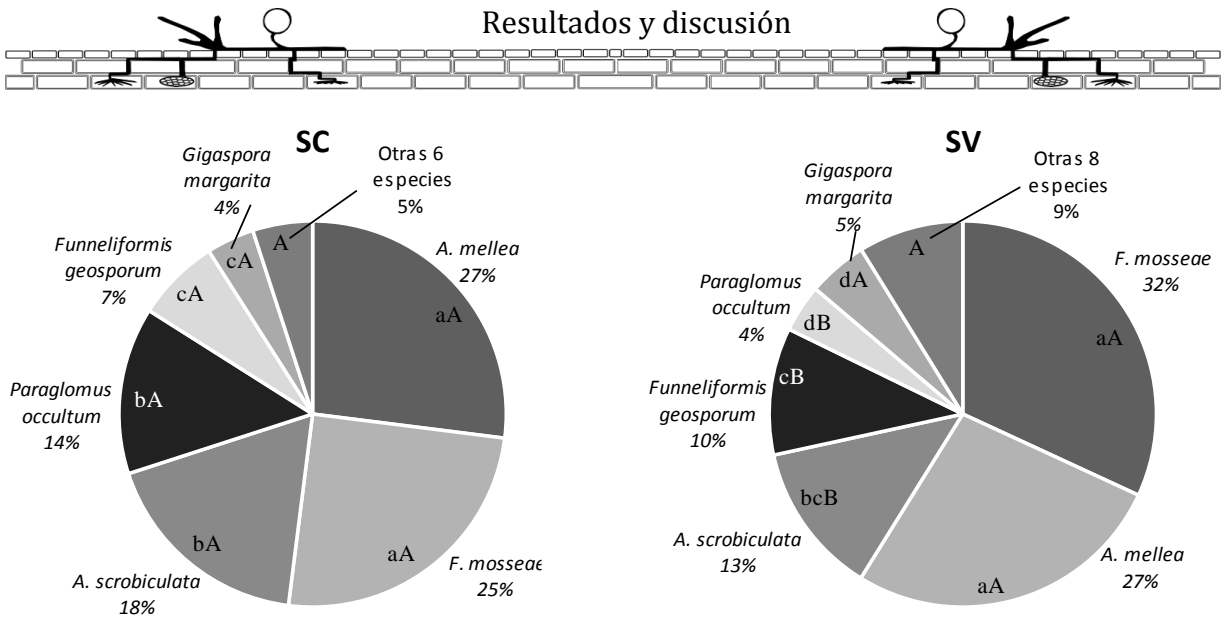


Figura 12. Abundancia relativa (% total de esporas) de los HMA presentes en los suelos SC y SV. Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa entre especies y letras mayúsculas entre suelos ($P < 0.05$) ($n = 9$).

Por otra parte, algunos HMA se encontraron en SV pero no en SC, como *C. etunicatum*, *F. constrictum* y *Racocetra gregaria* con baja cantidad de individuos por especie. Contrario a esto, *A. morrowiae*, *Acaulospora* sp. y *S. reticulata* fueron encontradas en SC pero no en SV (Tabla 5). Estas diferencias en la presencia de las especies pueden ser debidas a la variación de las condiciones en el suelo cuando se agregan o no vinazas tequileras, ya que parámetros como el pH del suelo determinan la distribución o cantidad de HMA además de regular su ciclo de vida. Por ejemplo, *G. margarita* se encuentra en suelos con $pH < 5.5$ y *A. scrobiculata*, *A. spinosa* y *C. etunicatum* sólo se encuentran en suelos tropicales con $pH 3.8-8.0$ (Schenck y Siqueira, 1987).

Por otra parte, ha sido reportado que el género *Funneliformis* es común en suelos neutros y ligeramente salinos (Mukerji et al., 2002), mientras que Morton (1986) y Abbot y Robson (1991) encontraron una mejor asociación del género *Acaulospora* en suelos ácidos. Contrariamente, el género predominante en este trabajo fue *Acaulospora* a pesar de que el suelo fue neutro. Esto podría sugerir que aun cuando las vinazas son fuertemente ácidas después de su aplicación al suelo, éste tiene un efecto amortiguador y tiende a neutralizar los cambios que producen las vinazas y por ende el pH. Las especies soportan intervalos de pH que van desde ácidos a neutros, como es el caso del género *Acaulospora*, lo cual soporta esta posibilidad.



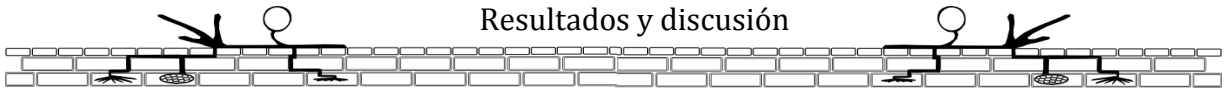


Tabla 5. Número de esporas por especie de HMA en SC y SV.

Especies de HMA	Número de esporas (100 g en suelo seco)	
	SC	SV
<i>Acaulospora delicata</i>	16 ± 4	8 ± 1
<i>Acaulospora foveata</i>	6 ± 1	3 ± 1
<i>Acaulospora laevis</i>	N. D.	21 ± 2
<i>Acaulospora mellea</i>	165 ± 10	117 ± 7
<i>Acaulospora morrowiae</i>	2 ± 1	1 ± 1
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	112 ± 6	61 ± 5
<i>Acaulospora spinosa</i>	5 ± 1	3 ± 1
<i>Acaulospora</i> sp.	2 ± 1	N. D.
<i>Clareidoglomus etunicatum</i>	N. D.	3 ± 1
<i>Funneliformis constrictum</i>	N. D.	2 ± 1
<i>Funneliformis geosporum</i>	37 ± 3	51 ± 5
<i>Funneliformis mosseae</i>	160 ± 11	173 ± 14
<i>Gigaspora margarita</i>	17 ± 2	11 ± 1
<i>Paraglomus occultum</i>	76 ± 5	22 ± 3
<i>Racocetra gregaria</i>	N. D.	1 ± 1
<i>Scutellospora reticulata</i>	3 ± 1	N.D.

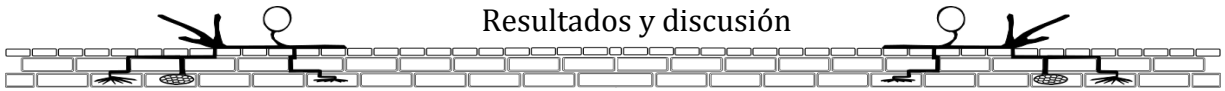
N.D. No detectada

5.1.3 Diversidad de HMA

El índice de diversidad de Shannon-Wiener para SC fue de 1.98 ± 0.28 y SV 1.88 ± 0.40 , este parámetro no fue significativamente diferente con SV ($F=0.35$, $P=0.56$). Sin embargo, son necesarios más experimentos con variantes espacio-temporales para demostrar que la biodiversidad de los HMA no es afectada por las vinazas tequileras. Es necesario resaltar que la población de los HMA es altamente influenciada por distintos factores ambientales (pH, salinidad, condiciones húmedas o secas, etc.) y prácticas agrícolas, las cuales pueden ser promovidas o suprimidas por la irrigación de vinazas.

Por tal motivo, en la etapa II de este trabajo se evaluaron los cambios en las poblaciones de HMA controlando diferentes factores para poder determinar el efecto de las vinazas tequileras sobre los HMA con mayor certeza, al conocer las especies iniciales en la experimentación y las condiciones de riego, así como un monitoreo del pH antes y después del riego para corroborar la hipótesis de que el suelo tiene un efecto amortiguador después del riego de las vinazas.





5.2 Etapa II

5.2.1 Identificación de HMA del cultivo de propagación

En el cultivo de propagación de SC previo al experimento, se encontró que la abundancia de esporas en el suelo propagado fue de 260 esporas 10 g^{-1} ($n = 9$), de donde se seleccionó la réplica con mayor abundancia de esporas (542 esporas 10 g^{-1}) sobre las otras réplicas (317 y 311 10 g^{-1}) en un suelo de los tres muestreados para utilizarla como inóculo inicial. Estadísticamente los tres suelos propagados no presentaron diferencias significativas en la abundancia de esporas ($P > 0.05$). En el cultivo de propagación del cual se tomó el inóculo, se encontraron nueve especies identificadas como: *Acaulospora delicata*, *A. foveata*, *A. mellea*, *A. scrobiculata*, *A. spinosa*, *Funneliformis geosporum*, *F. mosseae*, *Gigaspora margarita* y *Paraglomus occultum* (Figura 13).



Figura 13. Identificación de las especies HMA propagadas. a) *Funneliformis mosseae*, b) *Acaulospora mellea*, c) *Paraglomus occultum*, d) *A. spinosa*, e) *A. foveata*, f) *A. scrobiculata*, g) *F. geosporum*, h) *A. delicata* y i) *Gigaspora margarita*.



Funneliformis mosseae (52%) y *A. mellea* (34%) presentaron una AR mayor estadísticamente significativa que la de las demás especies de HMA encontradas en el cultivo de propagación. *Paraglomus occultum* (4%), *A. spinosa* (2%), *A. scrobiculata* (2%), *F. geosporum* (2%), *A. delicata* (2%), *A. foveata* (1%) y *G. margarita* (1%), no presentaron diferencia significativa entre ellas (Figura 14).

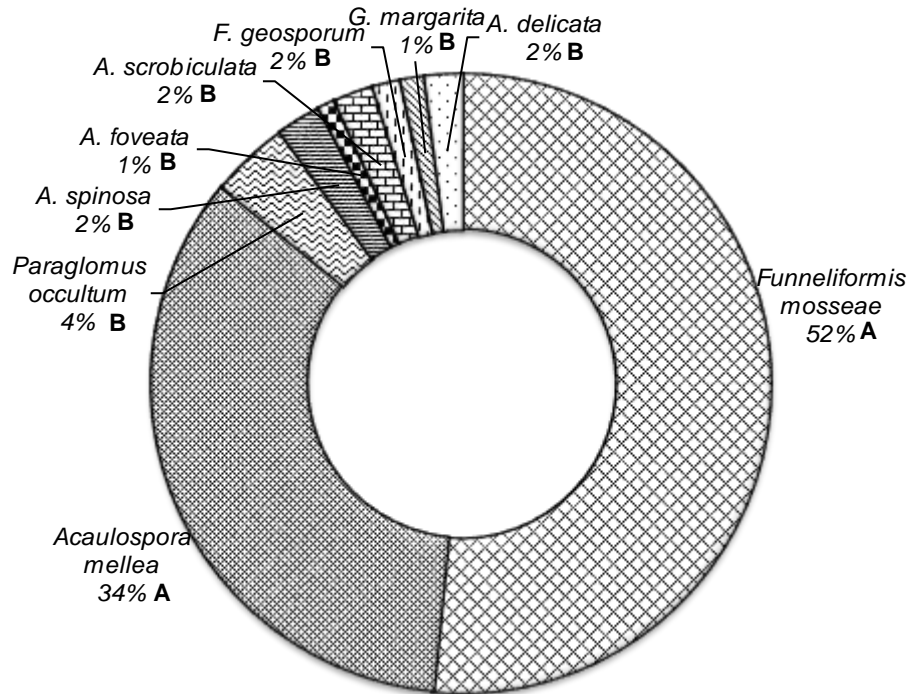


Figura 14. Abundancia relativa de especies de HMA encontradas en suelo propagado. Letras mayúsculas en negrita diferentes indican diferencia significativa entre especies ($P < 0.05$) ($n = 9$).

Es importante mencionar que de las doce especies de HMA que estaban presentes en SC, se lograron propagar sólo nueve, esto debido a que el cultivo de propagación se realizó con plántulas de *Sorghum vulgare* y *Medicago sativa* las cuales son muy específicas y presentan una gran asociación principalmente con las especies de HMA de *Funnelformis mosseae*, *Acaulospora mellea*, *Gigaspora margarita* y *Paraglomus occultum* (Schenck y Siqueira, 1987).

Siguiendo con la comparación entre SC y suelo propagado (SP) se observó que las especies con mayor AR en SC fueron las mismas que en el SP (Tabla 6).

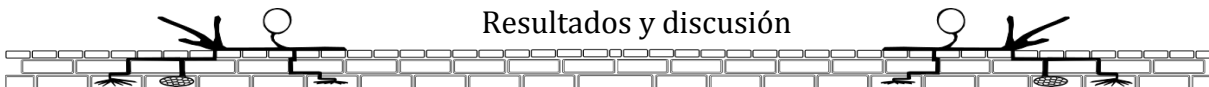


Tabla 6. Comparación de la AR (%) entre especies de HMA encontradas en SC y SP.

Especies	SC (%) inicial (100 g en suelo seco)	SP (%) a los 5 meses (10 g en suelo seco)
<i>Acaulospora delicata</i>	2 ± 1 ^{Aa}	2 ± 1 ^{Aa}
<i>Acaulospora foveata</i>	1 ± 0 ^{Aa}	1 ± 0 ^{Aa}
<i>Acaulospora mellea</i>	27 ± 10 ^{Ab}	34 ± 9 ^{Ab}
<i>Acaulospora morrowiae</i>	1 ± 0 ^{Aa}	N. D.
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	18 ± 4 ^{Ac}	2 ± 1 ^{Ba}
<i>Acaulospora spinosa</i>	1 ± 0 ^{Aa}	2 ± 1 ^{Aa}
<i>Acaulospora</i> sp.	1 ± 0 ^{Aa}	N. D.
<i>Funneliformis geosporum</i>	7 ± 5 ^{Aa}	2 ± 1 ^{Ba}
<i>Funneliformis mosseae</i>	25 ± 7 ^{Ab}	52 ± 8 ^{Bc}
<i>Gigaspora margarita</i>	4 ± 3 ^{Aa}	1 ± 0 ^{Aa}
<i>Paraglomus occultum</i>	14 ± 7 ^{Ac}	4 ± 2 ^{Ba}
<i>Scutelospora reticulata</i>	1 ± 1 ^{Aa}	N. D.

Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre suelos y letras minúsculas entre especies ($P < 0.05$) ($n = 9$).

5.2.2 Evaluación del efecto de la adición de diferentes concentraciones de vinazas tequileras sobre las poblaciones de HMA

5.2.2.1 Cambios de las especies de HMA después de la irrigación con vinazas

Existen pocos reportes en donde se evalúe el efecto de parámetros físicos, químicos y biológicos con relación a la calidad del ecosistema suelo debido a la complejidad del análisis. Sin embargo, se ha determinado que los parámetros físicos y químicos del suelo como pH, contenido de fósforo, temperatura, textura y contenido de materia orgánica, así como ciertas condiciones climáticas como humedad y sequía determinan la presencia y establecimiento de los HMA en el suelo (Sánchez 1999). Siendo el pH y el fósforo disponible los parámetros que mejor explican el fenómeno de esporulación de los HMA. Debido a esto se realizó la evaluación del efecto de la adición de distintas concentraciones de vinazas tequileras sobre la producción de esporas de HMA.

En el cultivo de propagación de las plantas de *C. comosum*, el cual se llevó a la par del experimento para conocer si la planta trampa traía esporas de HMA, se lograron propagar cinco especies de HMA. Las especies se identificaron como: *Funneliformis geosporum*, *Glomus* sp. 1, *Glomus* sp. 2 y dos nuevas especies, las cuales fueron identificadas como *Rhizophagus intraradices* y *R. fasciculatum* (Figura 15).



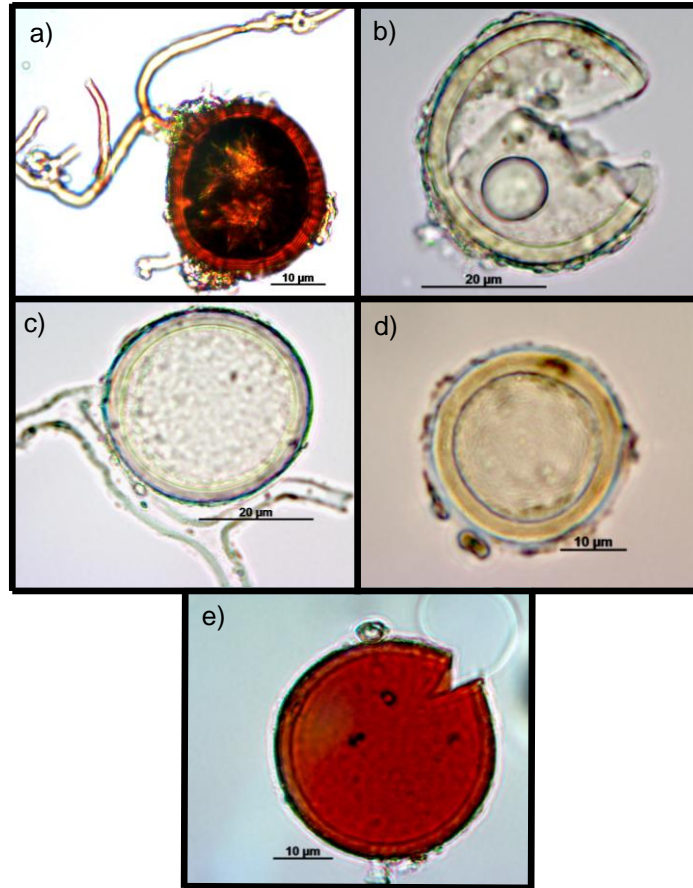
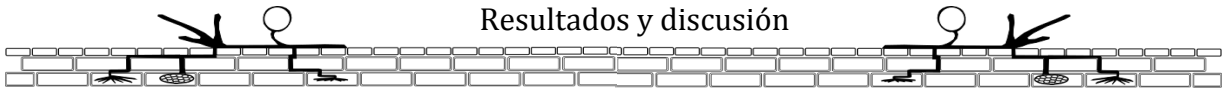


Figura 15. Identificación de especies de HMA propagados en arena con *Chlorophytum comosum* presentes en la planta inicialmente. a) *Funneliformis geosporum*, b) *Glomus* sp. 1, c) *Rhizophagus intraradices*, d) *Glomus* sp. 2 y e) *R. fasciculatum*.

Estas últimas dos especies son las que mayormente se asocian a *C. comosum* (Braria et al., 2014; Dave y Tarafdar, 2011). Entonces en el cultivo de la planta, *Rhizophagus intraradices* (44%) y *R. fasciculatum* (28%) fueron las que presentaron una mayor AR estadísticamente significativa sobre las demás especies, seguidas por *F. geosporum* (15%), *Glomus* sp. 1 (7%) y *Glomus* sp. 2 (6%) en donde éstas dos últimas presentaron una AR menor significativa sobre las otras tres especies ($P < 0.05$) (Figura 16).



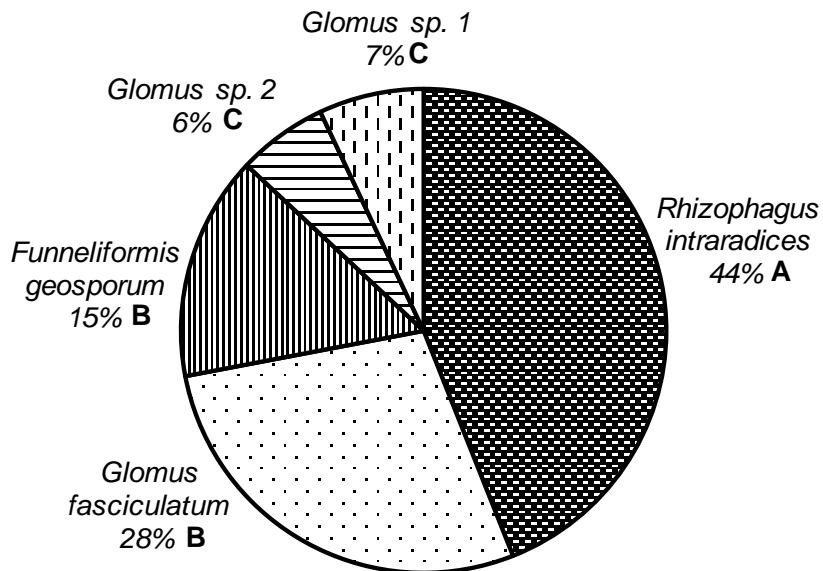
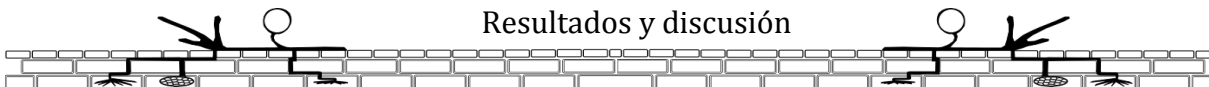


Figura 16. AR de especies de HMA encontradas en el cultivo de propagación con la plántula *Chlorophytum comosum*. Letras mayúsculas en negrita diferentes indican diferencia significativa entre especies ($P < 0.05$) ($n = 3$).

La abundancia del número de esporas que se tuvo en el día inicial (D0) fue de 259 ± 25 y 265 ± 33 de esporas 10 g^{-1} en SC y SB respectivamente. La abundancia de esporas en los D0 en las diferentes concentraciones de vinaza se mantuvo, en donde no se observó diferencia significativa entre ellas tanto en SC como en SB (Figura 17).

En la concentración de 0% en los tiempos de D0 al cuarto mes (M4), la abundancia de esporas fue significativamente mayor a las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% desde el primer mes (M1) al M4 en cada concentración en ambos suelos. Tanto en SC como en SB a partir de la concentración de 25%, en el M1 la abundancia de esporas disminuyó significativamente en el tiempo en cada una de las concentraciones (Figura 17).

A mayor concentración de vinaza (100%) y a mayor tiempo de aplicación M4, la abundancia de esporas fue significativamente menor que la del D0 (Figura 17).



Resultados y discusión

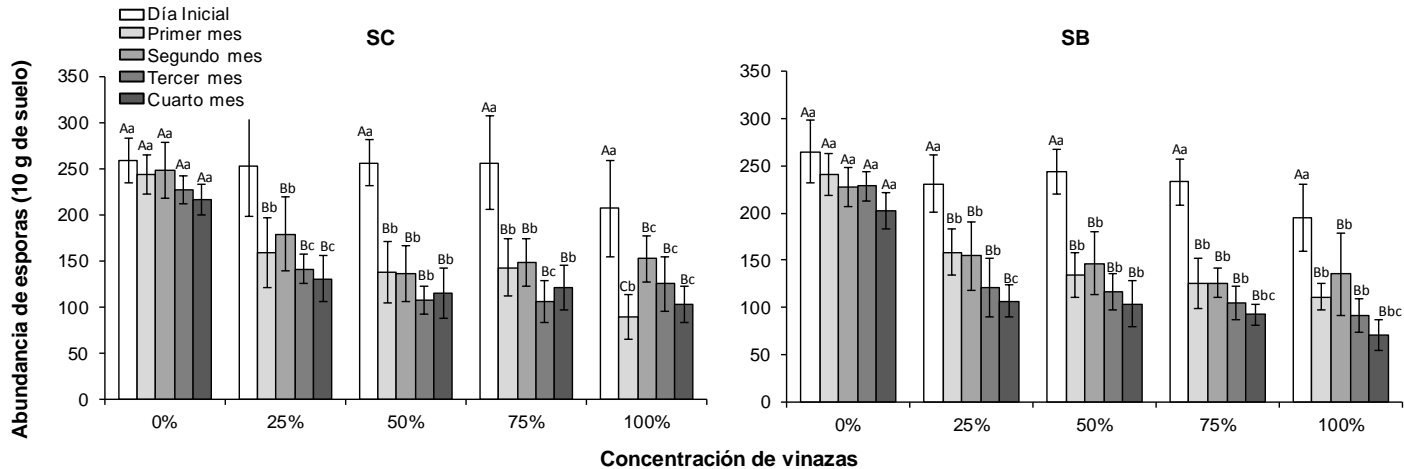
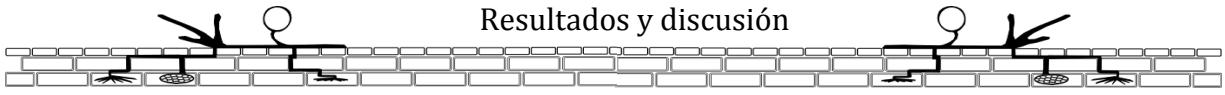


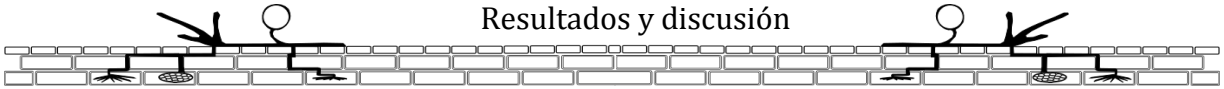
Figura 17. Valores de la abundancia de esporas en diferentes unidades experimentales con diferentes concentraciones de riego con vinazas durante 4 meses. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre concentraciones, letras minúsculas diferentes entre tiempo en una misma concentración y * entre suelos ($P < 0.05$) ($n = 9$).

En las tablas 7 y 8 se presenta la AR de las especies encontradas en los 4 meses a las distintas concentraciones. En el D0 del experimento, se encontraron once especies en SC y SB, las nueve que se encontraron en el cultivo de propagación (*Acaulospora delicata*, *A. foveata*, *A. mellea*, *A. scrobiculata*, *A. spinosa*, *Funneliformis geosporum*, *F. mosseae*, *Gigaspora margarita* y *Paraglomus occultum*) y dos del cultivo de propagación con *C. comosum* (como *Rhizophagus intraradices* y *R. fasciculatum*) en donde las especies de *A. mellea*, *R. intraradices* y *R. fasciculatum* presentaron una AR significativamente mayor que las demás especies. Las especies *P. occultum*, *F. geosporum*, *A. delicata*, *G. margarita*, *A. foveata* y *A. spinosa* presentaron una AR significativamente menor a las demás.

Las AR de cada especie en las diferentes concentraciones del D0 no mostraron diferencia significativa ($P > 0.05$) en ambos suelos. A partir del M1 y de la concentración de 25% se observa una disminución estadísticamente significativa en la AR de cada especie. En SC y SB se observa el mismo comportamiento (Tabla 7 y 8).

Al realizar la comparación de las especies que se encontraron en ambos suelos en el D0 con las que se encontraron en el M4, se observó que en el M4 ya no se encontraban presentes especies como: *F. geosporum*, *A. delicata*, *G. margarita*, *A. foveata*, *A. spinosa*, las cuales si se encontraban en el D0 en todas las concentraciones. *Scutellospora reticulata*, *A. morrowiae* y *Acaulospora* sp. se encontraron en el SC de origen, es decir antes de dar inicio el experimento,





pero en una baja abundancia de esporas (1 espora por individuo). Estas especies ya no se encontraron en el D0.

Es importante mencionar que las especies de HMA que estuvieron en ambos suelos y en todas las concentraciones a lo largo del experimento fueron: *A. mellea*, *F. mosseae*, *A. scrobiculata*, *P. occultum*, *R. intraradices* y *R. fasciculatum* en donde a partir del M1 en la concentración de 25% se observó una disminución significativa en la AR de cada una de las especies mencionadas. Las especies que presentaron una AR significativamente mayor en M4 en la concentración de 100% fueron *A. mellea* seguida de *A. scrobiculata*, *F. mosseae*, *R. intraradices* y *R. fasciculatum*.

El género *Acaulospora* se presenta en suelos ácidos y/o ligeramente neutros, como *A. scrobiculata* la cual es una especie altamente asociada a caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en México por lo que se encontró en mayor AR desde un inicio, además de estar presente en suelos con pH de 3.8-8.0 (Schenck y Siqueira, 1987). *Paraglomus occultum* es uno de los hongos HMA invasores más agresivos en suelos ácidos (Morton, 1986) además de ser una especie que se encuentra en casi todos los tipos de suelos y se asocia con una gran cantidad de plantas superiores (Sánchez-Viveros et al., 2004).



Resultados y discusión

Tabla 7. Abundancia relativa (AR) de las especies de HMA encontradas en SC en el experimento al inicio (D0) y del M1 al M4 de riego con vinazas.

T	[%]	Especies (AR %)										SPP	
		SC										Ri	Rf
		Am	Fm	As	Po	Fg	Ad	Gm	Af	Aspi			
D0	0	36 ± 11 ^{Aa}	61 ± 12 ^{Ba}	21 ± 15 ^{Ca}	9 ± 5 ^{Da}	12 ± 5 ^{Da}	6 ± 3 ^{Da}	5 ± 2 ^{Da}	5 ± 2 ^{Da}	2 ± 1 ^{Ea}	31 ± 12 ^{Aa}	33 ± 12 ^{Aa}	
	25	32 ± 8 ^{Aa}	58 ± 19 ^{Ba}	24 ± 12 ^{Ca}	5 ± 3 ± 2 ^{Da}	11 ± 6 ^{Da}	5 ± 2 ^{Da}	4 ± 3 ^{Da}	4 ± 2 ^{Da}	1 ± 0 ^{Ea}	21 ± 8 ^{Ca}	31 ± 10 ^{Aa}	
	50	31 ± 14 ^{Aa}	51 ± 22 ^{Ba}	23 ± 14 ^{Ca}	7 ± 4 ^{Da}	9 ± 3 ^{Ea}	4 ± 2 ^{Da}	4 ± 1 ^{Da}	3 ± 1 ^{Da}	3 ± 1 ^{Da}	27 ± 6 ^{Ca}	28 ± 13 ^{Ca}	
	75	28 ± 16 ^{Aa}	49 ± 15 ^{Ba}	18 ± 7 ^{Ca}	8 ± 6 ^{Da}	14 ± 4 ^{Ca}	3 ± 1 ^{Ea}	4 ± 2 ^{Ea}	3 ± 2 ^{Ea}	1 ± 0 ^{Ea}	26 ± 11 ^{Aa}	30 ± 9 ^{Aa}	
	100	33 ± 12 ^{Aa}	53 ± 24 ^{Ba}	16 ± 9 ^{Ca}	10 ± 4 ^{Ca}	13 ± 8 ^{Ca}	3 ± 2 ^{Da}	3 ± 2 ^{Da}	3 ± 2 ^{Da}	1 ± 0 ^{Da}	25 ± 17 ^{Aa}	31 ± 14 ^{Aa}	
M1	0	31 ± 9 ^{Aa}	58 ± 20 ^{Ba}	25 ± 13 ^{Ca}	7 ± 3 ^{Da}	11 ± 6 ^{Da}	4 ± 1 ^{Da}	2 ± 1 ^{Ea}	3 ± 1 ^{Ea}	N.D.	28 ± 16 ^{Ca}	30 ± 7 ^{Aa}	
	25	27 ± 7 ^{Aab}	48 ± 13 ^{Ba}	20 ± 7 ^{Aa}	6 ± 4 ^{Ca}	9 ± 4 ^{Ca}	3 ± 1 ^{Da}	3 ± 1 ^{Da}	3 ± 2 ^{Da}	N.D.	18 ± 9 ^{Ab}	28 ± 6 ^{Aa}	
	50	25 ± 11 ^{Ab}	44 ± 17 ^{Ba}	23 ± 12 ^{Aa}	4 ± 3 ^{Ca}	10 ± 6 ^{Da}	3 ± 2 ^{Ca}	1 ± 0 ^{Cb}	1 ± 0 ^{Cb}	N.D.	16 ± 6 ^{Db}	22 ± 9 ^{Ab}	
	75	29 ± 10 ^{Aa}	33 ± 11 ^{Bb}	14 ± 5 ^{Cb}	5 ± 2 ^{Da}	5 ± 3 ^{Db}	1 ± 0 ^{Eb}	1 ± 0 ^{Eb}	1 ± 0 ^{Eb}	N.D.	11 ± 6 ^{Cc}	26 ± 11 ^{Ab}	
	100	27 ± 8 ^{Ab}	54 ± 23 ^{Ba}	15 ± 6 ^{Cb}	8 ± 4 ^{Da}	5 ± 3 ^{Cb}	1 ± 0 ^{Eb}	1 ± 0 ^{Eb}	1 ± 0 ^{Eb}	N.D.	18 ± 4 ^{Cb}	15 ± 6 ^{Cc}	
M2	0	34 ± 8 ^{Aa}	54 ± 12 ^{Ba}	24 ± 8 ^{Ca}	10 ± 6 ^{Da}	15 ± 5 ^{Da}	2 ± 1 ^{Ea}	1 ± 0 ^{Ea}	1 ± 0 ^{Ea}	N.D.	24 ± 14 ^{Ca}	28 ± 14 ^{Ca}	
	25	24 ± 6 ^{Ab}	47 ± 12 ^{Bab}	18 ± 3 ^{Cb}	4 ± 2 ^{Db}	7 ± 4 ^{Eb}	3 ± 2 ^{Da}	1 ± 0 ^{Da}	1 ± 0 ^{Da}	N.D.	19 ± 7 ^{Cb}	18 ± 9 ^{Cb}	
	50	20 ± 6 ^{Ab}	38 ± 11 ^{Bb}	27 ± 14 ^{Ba}	3 ± 2 ^{Cb}	13 ± 9 ^{Da}	1 ± 0 ^{Cb}	1 ± 0 ^{Ca}	1 ± 0 ^{Ca}	N.D.	22 ± 12 ^{Aa}	19 ± 4 ^{Ab}	
	75	23 ± 5 ^{Ab}	28 ± 8 ^{Ab}	11 ± 6 ^{Bb}	3 ± 1 ^{Cb}	7 ± 5 ^{Bb}	1 ± 0 ^{Cb}	0.50 ± 0 ^{Ca}	1 ± 0 ^{Ca}	N.D.	9 ± 3 ^{Bc}	23 ± 7 ^{Ab}	
	100	21 ± 4 ^{Ab}	48 ± 16 ^{Bab}	18 ± 7 ^{Ab}	6 ± 4 ^{Cb}	6 ± 3 ^{Cb}	1 ± 0 ^{Db}	0.50 ± 0 ^{Da}	1 ± 0 ^{Da}	N.D.	10 ± 4 ^{Cc}	15 ± 3 ^{Ab}	
M3	0	28 ± 8 ^{Aa}	50 ± 25 ^{Ba}	19 ± 6 ^{Ca}	8 ± 4 ^{Da}	14 ± 5 ^{Ca}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	23 ± 6 ^{Aa}	29 ± 5 ^{Aa}	
	25	24 ± 12 ^{Aab}	41 ± 15 ^{Bab}	15 ± 8 ^{Ca}	4 ± 2 ^{Db}	8 ± 4 ^{Db}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	14 ± 8 ^{Cb}	19 ± 8 ^{Cb}	
	50	20 ± 14 ^{Ab}	36 ± 9 ^{Bb}	18 ± 7 ^{Ca}	1 ± 0 ^{Db}	9 ± 5 ^{Eb}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	17 ± 9 ^{Cb}	15 ± 4 ^{Cb}	
	75	18 ± 5 ^{Ab}	21 ± 5 ^{Ab}	17 ± 4 ^{Aa}	3 ± 2 ^{Bb}	5 ± 3 ^{Bb}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	6 ± 2 ^{Bc}	20 ± 6 ^{Ab}	
	100	20 ± 4 ^{Ab}	18 ± 8 ^{Ab}	12 ± 9 ^{Bb}	5 ± 1 ^{Bb}	8 ± 4 ^{Bb}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	8 ± 5 ^{Bb}	11 ± 7 ^{Bc}	
M4	0	34 ± 14 ^{Aa}	52 ± 27 ^{Ba}	28 ± 15 ^{Ca}	11 ± 4 ^{Da}	18 ± 7 ^{Da}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	29 ± 12 ^{Ca}	32 ± 14 ^{Aa}	
	25	18 ± 6 ^{Ab}	42 ± 19 ^{Ba}	12 ± 7 ^{Cb}	5 ± 2 ^{Db}	11 ± 7 ^{Ca}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	13 ± 4 ^{Cb}	17 ± 6 ^{Ab}	
	50	23 ± 9 ^{Ab}	38 ± 11 ^{Bb}	11 ± 6 ^{Cb}	3 ± 2 ^{Db}	7 ± 5 ^{Cb}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	11 ± 6 ^{Cb}	16 ± 4 ^{Cb}	
	75	20 ± 4 ^{Ab}	18 ± 6 ^{Bc}	8 ± 3 ^{Cb}	5 ± 2 ^{Cb}	2 ± 1 ^{Db}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	8 ± 3 ^{Cc}	15 ± 8 ^{Bb}	
	100	21 ± 7 ^{Ab}	12 ± 3 ^{Bc}	13 ± 5 ^{Bb}	2 ± 1 ^{Cb}	0.30 ± 0 ^{Cc}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	8 ± 4 ^{Bc}	7 ± 2 ^{Bc}	

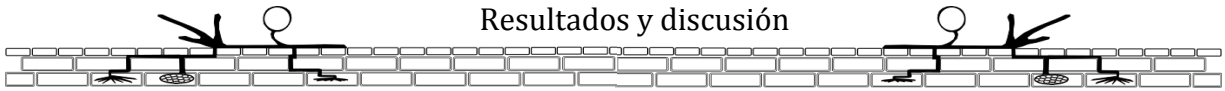
[%]: Concentración de vinazas; SPP: Suelo ropagado con planta *C. comosum*; T: Tiempo; D0: Día 0; M1: Primer mes, M2: Segundo mes; M3: Tercer mes; M4: Cuarto mes; Am: *Acaulospora mellea*; Fm: *Funneliformis mosseae*; As: *Acaulospora scrobiculata*; Po: *Paraglomus occultum*; Fg: *Funneliformis geosporum*; Ad: *Acaulospora delicata*; Gm: *Gigaspora margarita*; Af: *Acaulospora foveata*; Aspi: *Acaulospora spinosa*; Sr: *Scutellospora reticulata*; Amo: *Acaulospora morrowiae*; Asp.: *Acaulospora* sp.; Ri: *Rhizophagus intraradices*; Rf: *Rhizophagus fasciculatum*. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre especies en una misma concentración en los diferentes tiempos, letras minúsculas entre diferentes concentraciones de un tiempo y una misma especie ($P < 0.05$) ($n = 9$). Especies >1% son especies con 1 espora por individuo. N.D. significa no detectado.

Resultados y discusión

Tabla 8. Abundancia relativa de las especies de HMA encontradas en suelo biótico (SB) en el experimento al inicio (D0) y del M1 al M4 de riego con vinazas.

T	[%]	Especies AR (%)									SPP	
		SB									Ri	Rf
		Am	Fm	As	Po	Fg	Ad	Gm	Af	Aspi		
D0	0	28 ± 8 ^{Aa}	51 ± 23 ^{Ba}	21 ± 12 ^{Aa}	7 ± 2 ^{Ca}	17 ± 8 ^{Da}	7 ± 2 ^{Ca}	3 ± 2 ^{Ea}	3 ± 1 ^{Ea}	1 ± 0 ^{Ea}	27 ± 12 ^{Aa}	29 ± 12 ^{Aa}
	25	23 ± 11 ^{Aa}	48 ± 15 ^{Ba}	22 ± 11 ^{Aa}	8 ± 3 ^{Ca}	18 ± 6 ^{Da}	5 ± 2 ^{Ca}	3 ± 1 ^{Ca}	3 ± 1 ^{Ca}	3 ± 2 ^{Ca}	28 ± 13 ^{Aa}	28 ± 14 ^{Aa}
	50	26 ± 14 ^{Aa}	50 ± 24 ^{Ba}	19 ± 6 ^{Ca}	6 ± 2 ^{Da}	15 ± 4 ^{Ca}	4 ± 3 ^{Da}	2 ± 1 ^{Ea}	1 ± 0 ^{Ea}	2 ± 1 ^{Ea}	25 ± 15 ^{Aa}	24 ± 5 ^{Aa}
	75	24 ± 6 ^{Aa}	46 ± 13 ^{Ba}	23 ± 4 ^{Aa}	6 ± 1 ^{Ca}	11 ± 6 ^{Ca}	6 ± 1 ^{Ca}	2 ± 1 ^{Da}	3 ± 2 ^{Da}	1 ± 0 ^{Da}	26 ± 8 ^{Aa}	26 ± 19 ^{Aa}
	100	29 ± 4 ^{Aa}	43 ± 14 ^{Ba}	20 ± 5 ^{Ca}	6 ± 4 ^{Da}	9 ± 4 ^{Da}	5 ± 2 ^{Da}	2 ± 1 ^{Ea}	2 ± 1 ^{Ea}	1 ± 0 ^{Ea}	27 ± 18 ^{Aa}	28 ± 14 ^{Aa}
M1	0	29 ± 11 ^{Aa}	49 ± 16 ^{Ba}	22 ± 11 ^{Ca}	8 ± 3 ^{Da}	16 ± 9 ^{Ca}	8 ± 2 ^{Da}	1 ± 0 ^{Ea}	3 ± 2 ^{Ea}	N.D.	26 ± 14 ^{Aa}	25 ± 15 ^{Aa}
	25	22 ± 9 ^{Aa}	46 ± 13 ^{Ba}	19 ± 3 ^{Ca}	6 ± 2 ^{Da}	11 ± 5 ^{Cb}	4 ± 1 ^{Db}	1 ± 0 ^{Ea}	2 ± 1 ^{Ea}	N.D.	25 ± 16 ^{Aa}	22 ± 18 ^{Aa}
	50	23 ± 13 ^{Aa}	43 ± 19 ^{Ba}	21 ± 14 ^{Aa}	3 ± 1 ^{Cb}	8 ± 4 ^{Db}	2 ± 1 ^{Cb}	1 ± ^{Ca}	1 ± 0 ^{Ca}	N.D.	21 ± 9 ^{Aa}	21 ± 9 ^{Aa}
	75	19 ± 7 ^{Ab}	41 ± 24 ^{Bb}	18 ± 2 ^{Aa}	2 ± 1 ^{Db}	6 ± 3 ^{Eb}	1 ± 0 ^{Db}	1 ± 0 ^{Da}	1 ± 0 ^{Da}	N.D.	24 ± 11 ^{Aa}	23 ± 10 ^{Aa}
	100	15 ± 4 ^{Ab}	39 ± 26 ^{Bb}	15 ± 6 ^{Ca}	3 ± 1 ^{Db}	12 ± 4 ^{Cb}	5 ± 3 ^{Db}	1 ± 0 ^{Ea}	1 ± 0 ^{Ea}	N.D.	22 ± 15 ^{Aa}	21 ± 9 ^{Aa}
M2	0	24 ± 6 ^{Aa}	50 ± 27 ^{Ba}	21 ± 15 ^{Ca}	7 ± 5 ^{Da}	14 ± 2 ^{Ea}	8 ± 2 ^{Da}	N.D.	N.D.	N.D.	27 ± 12 ^{Aa}	27 ± 14 ^{Aa}
	25	19 ± 8 ^{Ab}	44 ± 32 ^{Ba}	18 ± 6 ^{Aa}	4 ± 3 ^{Cb}	4 ± 2 ^{Cb}	3 ± 2 ^{Cb}	N.D.	N.D.	N.D.	23 ± 13 ^{Aa}	20 ± 15 ^{Aa}
	50	17 ± 7 ^{Ab}	39 ± 12 ^{Bb}	19 ± 4 ^{Aa}	4 ± 1 ^{Cb}	6 ± 2 ^{Cb}	3 ± 1 ^{Cb}	N.D.	N.D.	N.D.	18 ± 14 ^{Ab}	16 ± 6 ^{Ab}
	75	16 ± 8 ^{Ab}	38 ± 16 ^{Bb}	14 ± 6 ^{Ab}	4 ± 2 ^{Cb}	3 ± 1 ^{Cb}	1 ± 0 ^{Cb}	N.D.	N.D.	N.D.	21 ± 11 ^{Aa}	15 ± 4 ^{Ab}
	100	17 ± 5 ^{Ab}	25 ± 5 ^{Ab}	13 ± 4 ^{Bb}	3 ± 1 ^{Cb}	5 ± 2 ^{Cb}	2 ± 1 ^{Cb}	N.D.	N.D.	N.D.	18 ± 5 ^{Ab}	19 ± 6 ^{Ab}
M3	0	27 ± 8 ^{Aa}	48 ± 16 ^{Ba}	22 ± 8 ^{Aa}	8 ± 5 ^{Ca}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	25 ± 13 ^{Aa}	28 ± 15 ^{Aa}
	25	15 ± 9 ^{Ab}	41 ± 12 ^{Ba}	14 ± 5 ^{Ab}	4 ± 2 ^{Cb}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	20 ± 8 ^{Ab}	17 ± 2 ^{Ab}
	50	17 ± 5 ^{Ab}	35 ± 23 ^{Ba}	14 ± 7 ^{Ab}	3 ± 2 ^{Cb}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	19 ± 4 ^b	12 ± 9 ^{Ab}
	75	14 ± 5 ^{Ab}	30 ± 18 ^{Bb}	16 ± 6 ^{Ab}	2 ± 1 ^{Cb}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	20 ± 13 ^{Ab}	13 ± 7 ^{Ab}
	100	18 ± 6 ^{Ab}	26 ± 16 ^{Bb}	11 ± 4 ^{Ab}	2 ± 1 ^{Cb}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	19 ± 5 ^{Ab}	16 ± 4 ^{Ab}
M4	0	25 ± 12 ^{Aa}	52 ± 19 ^{Ba}	23 ± 6 ^{Aa}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	23 ± 4 ^{Aa}	26 ± 6 ^{Aa}
	25	14 ± 6 ^{Ab}	38 ± 21 ^{Bb}	14 ± 7 ^{Ab}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	20 ± 11 ^{Ab}	17 ± 8 ^{Ab}
	50	15 ± 4 ^{Ab}	29 ± 17 ^{Bc}	11 ± 5 ^{Ab}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	15 ± 10 ^{Ab}	14 ± 4 ^{Ab}
	75	16 ± 7 ^{Ab}	22 ± 16 ^{Bc}	13 ± 3 ^{Ab}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	17 ± 5 ^{Ab}	13 ± 6 ^{Ab}
	100	12 ± 9 ^{Ab}	23 ± 18 ^{Bc}	10 ± 6 ^{Ab}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	12 ± 4 ^{Ab}	15 ± 8 ^{Ab}

[%]: Concentración de vinazas; SPP: Suelo ropagado con planta *C. comosum*; T: Tiempo; D0: Día 0; M1: Primer mes, M2: Segundo mes; M3: Tercer mes; M4: Cuarto mes; Am: *Acaulospora mellea*; Fm: *Funnelliformis mosseae*; As: *Acaulospora scrobiculata*; Po: *Paraglomus occultum*; Fg: *Funnelliformis geosporum*; Ad: *Acaulospora delicata*; Gm: *Gigaspora margarita*; Af: *Acaulospora foveata*; Aspi: *Acaulospora spinosa*; Sr: *Scutellospora reticulata*; Amo: *Acaulospora morrowiae*; Asp.: *Acaulospora* sp.; Ri: *Rhizophagus intraradices*; Rf: *Rhizophagus fasciculatum*. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre especies en una misma concentración en los diferentes tiempos, letras minúsculas entre diferentes concentraciones en un tiempo y una misma especie ($P < 0.05$) ($n = 9$). Especies >1% son especies con 1 espora por individuo. N.D. significa no detectado.



5.2.2.2 Cambios en los parámetros del suelo

Al adicionar vinazas a diferentes concentraciones al suelo experimental, se observó una disminución significativa del pH a partir de la concentración de 50% desde el M1 tanto en SC como en SB.

Esta disminución no fue diferente significativa entre las concentraciones de 50%, 75% y 100% y los tiempos M1, M2, M3 y M4 en ambos suelos a excepción del pH en M4 en la concentración de 100% el cual fue significativamente menor que los de las otras cocentraciones en los distintos tiempos. Esto indicó que a mayor concentración de vinaza y a mayor tiempo de riego el suelo va acidificándose ligeramente cada vez más (Figura 18).

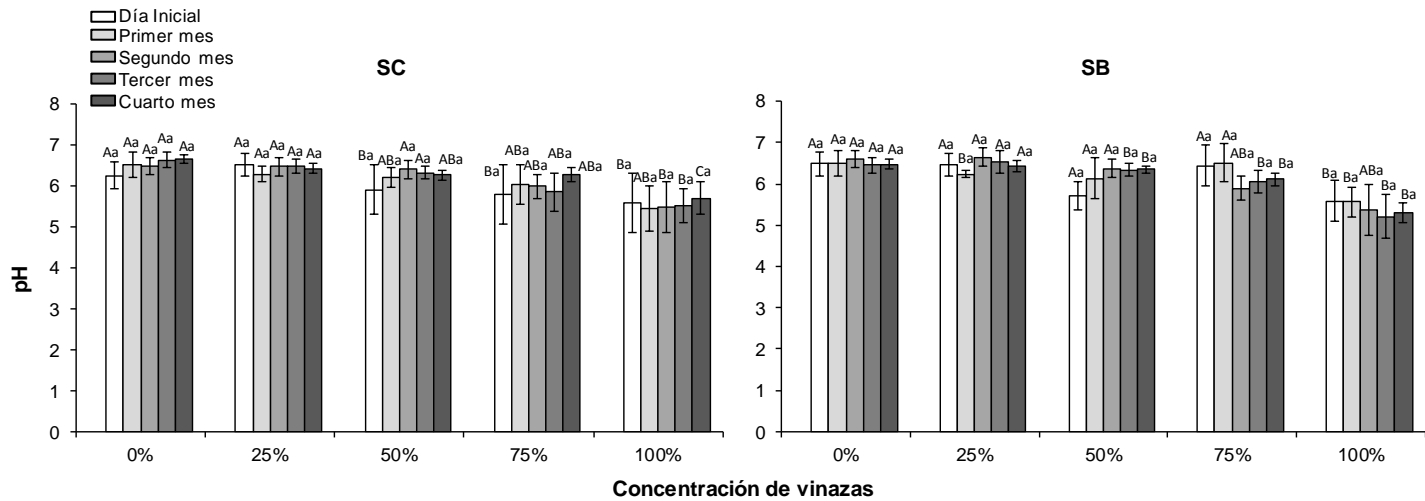


Figura 18. Valores de pH en diferentes unidades experimentales con diferentes concentraciones de riego con vinazas durante cuatro meses. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre concentraciones, letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa entre tiempo en una misma concentración ($P < 0.05$) ($n = 9$).

Sin embargo, es importante mencionar que los valores de pH se convierten en ligeramente ácidos, es decir, el cambio no es drástico entre 0% y 100% de vinazas, esto sugiere que el suelo presentó un efecto amortiguador. Esto lo sustentan los resultados de las mediciones de pH semanal, antes y después del riego con vinazas, en donde se observó una acidificación del suelo (hasta 3.50) inmediatamente después del riego con vinazas, sin embargo, una semana después el pH del suelo se recuperaba y presentaba un pH ligeramente ácido entre 5.00 y 5.11 (Tabla 9 y 10).



Resultados y discusión

Tabla 9. Valores de pH semanales antes y después del riego con vinazas en SC durante el experimento.

Semana	Concentraciones de vinaza					DMS
	0%	25%	50%	75%	100%	
AR						
0	5.11 ± 0.07 ^{BCa}	5.00 ± 0.00 ^{BAa}	5.05 ± 0.05 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^{BAa}	5.00 ± 0.00 ^{Ba}	0.16
1	5.11 ± 0.07 ^{BCa}	5.11 ± 0.07 ^{Aa}	5.05 ± 0.05 ^{Ab}	5.00 ± 0.00 ^{BAa}	5.05 ± 0.05 ^{Ba}	0.23
2	5.38 ± 0.07 ^{BAa}	5.33 ± 0.08 ^{Aba}	5.00 ± 0.00 ^{Abc*}	5.27 ± 0.08 ^{Abac}	4.94 ± 0.13 ^{Bc}	0.34
3	5.00 ± 0.00 ^{Ca}	5.00 ± 0.00 ^{BAa}	5.11 ± 0.07 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^{BAa}	5.00 ± 0.00 ^{Ba}	0.13
4	5.00 ± 0.00 ^{Ca}	5.05 ± 0.05 ^{BAa}	5.00 ± 0.14 ^{Aa}	4.94 ± 0.13 ^{BAa}	5.16 ± 0.08 ^{Ba}	0.39
5	5.33 ± 0.08 ^{BACa}	4.66 ± 0.16 ^{Bb}	4.88 ± 0.11 ^{Aba}	5.00 ± 0.00 ^{Baba}	5.05 ± 0.05 ^{Bba}	0.40
6	5.11 ± 0.07 ^{BCa}	5.00 ± 0.00 ^{BAa}	4.88 ± 0.11 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^{BAa}	5.00 ± 0.00 ^{Ba}	0.24
7	5.11 ± 0.07 ^{BCa}	5.00 ± 0.00 ^{BAa}	4.88 ± 0.11 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^{BAa}	5.00 ± 0.00 ^{Ba}	0.24
8	5.11 ± 0.07 ^{BCa}	5.11 ± 0.07 ^{Aa}	4.77 ± 0.14 ^{Aa}	4.88 ± 0.11 ^{BAa}	5.00 ± 0.00 ^{Ba}	0.38
9	5.16 ± 0.08 ^{BACa}	5.00 ± 0.00 ^{Baba}	5.00 ± 0.00 ^{Ab}	4.77 ± 0.14 ^{Bb}	5.05 ± 0.05 ^{Bba}	0.32
10	5.27 ± 0.08 ^{BACa}	5.38 ± 0.11 ^{Aa}	5.16 ± 0.08 ^{Aa}	5.22 ± 0.08 ^{BAa}	5.05 ± 0.05 ^{Ba}	0.35
11	5.16 ± 0.08 ^{BACa}	5.16 ± 0.08 ^{Aa}	5.11 ± 0.07 ^{Aba}	5.00 ± 0.00 ^{BAa}	5.11 ± 0.07 ^{Ba}	0.28
12	5.38 ± 0.07 ^{Baa}	5.27 ± 0.08 ^{Aa}	5.16 ± 0.08 ^{Aa}	5.11 ± 0.07 ^{BAa}	5.11 ± 0.07 ^{Ba}	0.31
13	5.33 ± 0.08 ^{BACa}	5.27 ± 0.08 ^{Aa}	5.16 ± 0.08 ^{Aba*}	5.11 ± 0.07 ^{BAa}	5.16 ± 0.08 ^{BAa}	0.33
14	5.44 ± 0.05 ^{BAa}	5.27 ± 0.08 ^{Aba}	5.05 ± 0.05 ^{Aa}	5.11 ± 0.07 ^{BAb}	5.11 ± 0.07 ^{Bb}	0.28
15	5.27 ± 0.08 ^{BACa}	5.27 ± 0.08 ^{Aa}	5.05 ± 0.05 ^{Aa}	5.16 ± 0.08 ^{BAa}	5.00 ± 0.00 ^{Ba}	0.28
16	5.22 ± 0.08 ^{BACa}	5.27 ± 0.08 ^{Aa}	5.22 ± 0.12 ^{Ab}	5.00 ± 0.25 ^{BAa}	5.44 ± 0.05 ^{Aa}	0.55
17	5.50 ± 0.00 ^{Aa}	5.16 ± 0.08 ^{Ab}	5.11 ± 0.07 ^{Aa*}	5.16 ± 0.08 ^{Bab}	5.16 ± 0.08 ^{BAa}	0.29
DMS	0.35	0.39	0.44	0.47	0.31	
DR						
0	3.88 ± 0.07 ^{Cba}	3.83 ± 0.08 ^{DCbc}	4.22 ± 0.14 ^{BCDa}	3.50 ± 0.00 ^{Gc}	3.72 ± 0.08 ^{DCbc}	0.36
1	4.88 ± 0.11 ^{Aa}	4.22 ± 0.14 ^{BADCb}	3.66 ± 0.08 ^{CDc}	3.88 ± 0.21 ^{EDGCFbc}	3.61 ± 0.07 ^{DCc}	0.55
2	4.00 ± 0.00 ^{Bcba}	3.94 ± 0.05 ^{DCba}	3.94 ± 0.15 ^{BCDba}	3.72 ± 0.08 ^{EDGFba}	3.61 ± 0.07 ^{DCb}	0.36
3	3.94 ± 0.05 ^{Ca}	4.00 ± 0.00 ^{BDCa}	3.77 ± 0.08 ^{BCDb}	3.50 ± 0.00 ^{Gc}	3.50 ± 0.00 ^{Dc}	0.18
4	3.94 ± 0.05 ^{Ca}	4.00 ± 0.00 ^{BDCa}	3.83 ± 0.08 ^{BCDa}	3.55 ± 0.05 ^{GFb}	3.50 ± 0.00 ^{Db}	0.20
5	4.00 ± 0.00 ^{Bca}	3.77 ± 0.08 ^{Dba}	3.61 ± 0.07 ^{Dbbc*}	3.61 ± 0.07 ^{EGFbc}	3.50 ± 0.00 ^{Dc}	0.24
6	4.00 ± 0.00 ^{Bca}	3.72 ± 0.08 ^{Db}	3.66 ± 0.08 ^{CDb}	3.66 ± 0.08 ^{EDGFb}	3.50 ± 0.00 ^{Db}	0.26
7	4.00 ± 0.00 ^{Bca}	3.72 ± 0.08 ^{Db}	3.66 ± 0.08 ^{CDb}	3.66 ± 0.08 ^{EDGFb}	3.50 ± 0.00 ^{Db}	0.26
8	4.00 ± 0.00 ^{Bca}	3.83 ± 0.08 ^{DCa}	3.77 ± 0.08 ^{BCDba}	3.55 ± 0.05 ^{GFbc}	3.50 ± 0.00 ^{Dc}	0.24
9	4.00 ± 0.00 ^{Bca}	3.83 ± 0.08 ^{DCba}	3.77 ± 0.08 ^{BCDb}	3.50 ± 0.00 ^{Gc}	3.50 ± 0.00 ^{Dc}	0.21
10	4.66 ± 0.16 ^{Aa}	4.66 ± 0.16 ^{Aa}	4.33 ± 0.16 ^{BCDa}	4.38 ± 0.20 ^{BDACa*}	4.00 ± 0.20 ^{DCa}	0.73
11	4.77 ± 0.14 ^{Aa}	4.44 ± 0.17 ^{BACba}	4.44 ± 0.17 ^{BACba}	4.55 ± 0.17 ^{BACba}	3.94 ± 0.21 ^{DCb}	0.72
12	4.55 ± 0.17 ^{BAa}	4.44 ± 0.17 ^{BACa}	4.33 ± 0.16 ^{BCa}	4.11 ± 0.18 ^{EBDGCfA}	4.22 ± 0.20 ^{BCa}	0.73
13	4.77 ± 0.14 ^{Aa}	4.66 ± 0.16 ^{Aa}	4.44 ± 0.17 ^{BAa}	4.33 ± 0.22 ^{EBDACa}	4.05 ± 0.19 ^{DCa}	0.73
14	4.66 ± 0.16 ^{Aa}	4.66 ± 0.16 ^{Aa}	4.44 ± 0.17 ^{BAa}	4.27 ± 0.23 ^{EBDACfA}	4.22 ± 0.20 ^{BCa}	0.77
15	4.44 ± 0.17 ^{BACa}	4.61 ± 0.20 ^{BAa}	4.16 ± 0.16 ^{BCDa}	4.66 ± 0.16 ^{BAa*}	4.22 ± 0.20 ^{BCa}	0.74
16	4.88 ± 0.18 ^{Aa}	4.83 ± 0.16 ^{Aa}	5.11 ± 0.16 ^{Aa}	4.88 ± 0.18 ^{Aa}	5.33 ± 0.08 ^{Aa}	0.64
17	4.55 ± 0.17 ^{BAb}	4.44 ± 0.17 ^{BACb}	3.94 ± 0.15 ^{BCDb}	4.05 ± 0.19 ^{EBDGCfB}	4.77 ± 0.14 ^{BAa}	0.68
DMS	0.59	0.66	0.67	0.73	0.64	

AR: Antes del riego; DR: Después del riego; DMS: Diferencia mínima significativa. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa en el mismo tiempo entre diferentes concentraciones, letras minúsculas entre el tiempo en una misma concentración y * entre SC y SB en diferentes tiempos ($P < 0.0001$) ($n = 9$).

Resultados y discusión

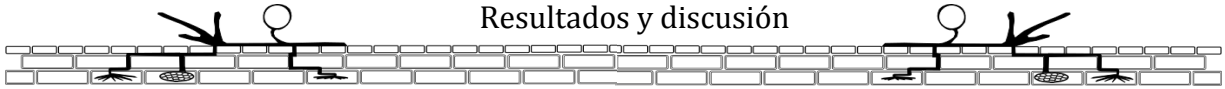
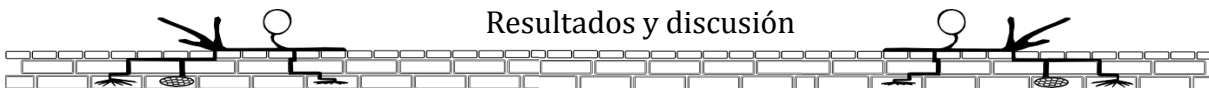


Tabla 10. Valores de pH semanales antes y después del riego con vinazas en SB durante el experimento.

Semana	Concentraciones de vinaza					DMS
	0%	25%	50%	75%	100%	
AR						
0	5.00 ± 0.00 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^A	5.00 ± 0.00 ^{Ca}	5.00 ± 0.00 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^{Ba}	0.00
1	5.00 ± 0.00 ^{Ab}	5.25 ± 0.11 ^{Baa}	5.00 ± 0.00 ^{Cb}	5.00 ± 0.00 ^{Ab}	5.00 ± 0.00 ^{Bba}	0.20
2	5.25 ± 0.11 ^{Abac}	5.50 ± 0.00 ^{BAa}	5.41 ± 0.08 ^{Baba*}	5.16 ± 0.10 ^{Abc}	5.00 ± 0.00 ^{Bca}	0.32
3	5.08 ± 0.08 ^{Aa}	5.08 ± 0.08 ^{BAa}	4.91 ± 0.20 ^{Ca}	5.00 ± 0.00 ^{Aa}	5.16 ± 0.10 ^{Ba}	0.47
4	5.16 ± 0.10 ^{Aa}	5.16 ± 0.10 ^{BAa}	5.28 ± 0.11 ^{BACa}	5.08 ± 0.08 ^{Aa}	5.33 ± 0.10 ^{Baa}	0.42
5	5.33 ± 0.10 ^{Aa}	4.83 ± 0.16 ^{Bba}	5.00 ± 0.27 ^{Cba}	5.00 ± 0.00 ^{Ab}	5.00 ± 0.00 ^{Bba}	0.36
6	5.00 ± 0.00 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^{Bba}	5.00 ± 0.00 ^{Ca}	5.00 ± 0.00 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^{Ba}	0.00
7	5.00 ± 0.00 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^{Bba}	5.00 ± 0.00 ^{Ca}	5.00 ± 0.00 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^{Ba}	0.00
8	5.16 ± 0.10 ^{Aa}	4.83 ± 0.16 ^{Ba}	5.00 ± 0.00 ^{CA}	5.00 ± 0.00 ^{Aa}	5.00 ± 0.00 ^{Ba}	0.36
9	5.41 ± 0.08 ^{Aa}	4.83 ± 0.16 ^{Ba}	5.00 ± 0.00 ^{Cba}	4.83 ± 0.16 ^{Ab}	5.00 ± 0.00 ^{Bba}	0.46
10	5.25 ± 0.11 ^{Aa}	5.16 ± 0.10 ^{BAa}	5.00 ± 0.00 ^{Ca}	5.00 ± 0.00 ^{Aa}	5.25 ± 0.11 ^{Baa}	0.35
11	5.41 ± 0.08 ^{Aa}	5.08 ± 0.08 ^{Bab}	5.00 ± 0.00 ^{Cb}	5.16 ± 0.10 ^{Ab}	5.00 ± 0.00 ^{Bba}	0.29
12	5.33 ± 0.10 ^{Aa}	5.16 ± 0.10 ^{BAa}	5.16 ± 0.10 ^{BACa}	5.08 ± 0.08 ^{Aa}	5.08 ± 0.08 ^{Ba}	0.40
13	5.33 ± 0.10 ^{Abac}	5.16 ± 0.10 ^{Bab}	5.50 ± 0.00 ^{Aa*}	5.16 ± 0.10 ^{Ab}	5.00 ± 0.00 ^{Bba}	0.33
14	5.33 ± 0.10 ^{Aa}	5.16 ± 0.10 ^{BAa}	5.08 ± 0.08 ^{Bca}	5.16 ± 0.10 ^{Aa}	5.16 ± 0.10 ^{Ba}	0.42
15	5.33 ± 0.10 ^{Aa}	5.16 ± 0.10 ^{BAa}	5.08 ± 0.08 ^{Bca}	5.08 ± 0.08 ^{Aa}	5.16 ± 0.10 ^{Ba}	0.40
16	5.33 ± 0.10 ^{Ab}	5.25 ± 0.11 ^{Baba}	5.41 ± 0.08 ^{Baba}	4.91 ± 0.20 ^{Ab}	5.58 ± 0.15 ^{Aa}	0.57
17	5.33 ± 0.10 ^A	5.25 ± 0.11 ^{BAa}	5.41 ± 0.08 ^{Baa*}	5.16 ± 0.10 ^{Aa}	5.16 ± 0.10 ^{Ba}	0.42
DMS	0.45	0.53	0.37	0.45	0.37	
DR						
0	3.66 ± 0.10 ^{Db}	3.75 ± 0.11 ^{DCba}	4.00 ± 0.00 ^{BACa}	3.50 ± 0.00 ^{Db}	3.58 ± 0.08 ^{Eb}	0.32
1	4.83 ± 0.16 ^{BAa}	4.33 ± 0.21 ^{BADCba}	3.58 ± 0.08 ^{BACa}	3.83 ± 0.10 ^{BDCbc}	3.50 ± 0.00 ^{Ec}	0.55
2	4.33 ± 0.21 ^{BDCa}	3.91 ± 0.23 ^{DCba}	4.16 ± 0.16 ^{Cc}	3.75 ± 0.11 ^{DCba}	3.50 ± 0.00 ^{Eb}	0.69
3	4.00 ± 0.00 ^{DCa}	3.91 ± 0.08 ^{BDCa}	3.75 ± 0.11 ^{BACba}	3.50 ± 0.00 ^{Db}	3.50 ± 0.00 ^{Eb}	0.25
4	3.91 ± 0.08 ^{DCba}	4.00 ± 0.00 ^{BDCa}	3.83 ± 0.10 ^{BCba}	3.66 ± 0.10 ^{Dbc}	3.50 ± 0.00 ^{Ec}	0.31
5	3.83 ± 0.10 ^{Da}	3.91 ± 0.08 ^{Db}	3.91 ± 0.08 ^{BCba}	3.50 ± 0.00 ^{Db}	3.50 ± 0.00 ^{Eb}	0.29
6	4.00 ± 0.00 ^{DCa}	3.58 ± 0.08 ^{Db}	3.75 ± 0.11 ^{BACa*}	3.50 ± 0.00 ^{Db}	3.50 ± 0.00 ^{Eb}	0.25
7	4.00 ± 0.00 ^{DCa}	3.58 ± 0.08 ^{Da}	3.75 ± 0.11 ^{BCba}	3.50 ± 0.00 ^{Db}	3.50 ± 0.00 ^{Eb}	0.25
8	4.00 ± 0.00 ^{DCa}	3.83 ± 0.08 ^{DCa}	3.83 ± 0.10 ^{BCa}	3.50 ± 0.00 ^{Db}	3.50 ± 0.00 ^{Eb}	0.27
9	4.00 ± 0.00 ^{DCa}	4.00 ± 0.10 ^{DCa}	3.58 ± 0.08 ^{Cb}	3.50 ± 0.00 ^{Db}	3.50 ± 0.00 ^{Eb}	0.15
10	4.66 ± 0.21 ^{BACa}	4.83 ± 0.00 ^{Aa}	4.25 ± 0.25 ^{BACba}	3.66 ± 0.10 ^{Db*}	4.16 ± 0.00 ^{BEDCba}	0.77
11	4.66 ± 0.21 ^{BACa}	4.66 ± 0.16 ^{BACa}	4.33 ± 0.21 ^{BACa}	4.41 ± 0.27 ^{BACa}	4.50 ± 0.16 ^{BACa}	0.94
12	4.66 ± 0.21 ^{BACa}	4.66 ± 0.21 ^{BACa}	4.50 ± 0.22 ^{Baba}	4.00 ± 0.22 ^{BDCba}	3.83 ± 0.22 ^{EDCb}	0.83
13	4.83 ± 0.16 ^{BAa}	4.66 ± 0.21 ^{Aa}	4.66 ± 0.21 ^{Aa}	3.75 ± 0.11 ^{DCb}	4.25 ± 0.10 ^{BDCba}	0.81
14	4.66 ± 0.21 ^{BACa}	4.50 ± 0.21 ^{Aa}	4.33 ± 0.21 ^{BACa}	4.50 ± 0.22 ^{BAa}	4.00 ± 0.25 ^{BEDCa}	0.90
15	4.66 ± 0.21 ^{BACa}	4.50 ± 0.22 ^{BAa}	4.08 ± 0.20 ^{BACa}	4.08 ± 0.20 ^{BcDa*}	4.66 ± 0.22 ^{BAa}	0.87
16	5.33 ± 0.16 ^{Aa}	5.16 ± 0.10 ^{Aa}	4.66 ± 0.21 ^{Aa}	4.91 ± 0.20 ^{Aa}	5.08 ± 0.21 ^{Aa}	0.82
17	4.66 ± 0.21 ^{BACa}	4.66 ± 0.21 ^{BACa}	4.33 ± 0.21 ^{BACa}	4.41 ± 0.27 ^{BACa}	4.50 ± 0.22 ^{BACa}	0.94
DMS	0.77	0.82	0.83	0.74	0.73	0.00

AR: Antes del riego; DR: Después del riego; DMS: Diferencia mínima significativa. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa en el mismo tiempo entre diferentes concentraciones, letras minúsculas entre el tiempo en una misma concentración y * entre SC y SB en diferentes tiempos ($P < 0.0001$) ($n = 9$).





Estadísticamente, se observó que de todas las variables, la concentración y el tiempo, así como su interacción tuvieron un efecto significativo sobre la disminución del pH (Tabla 11). No se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los valores de pH de antes y después de cada riego con vinaza tanto en SC como en SB.

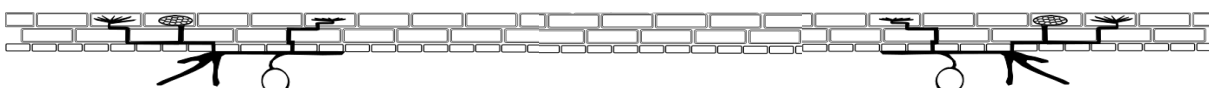
Tabla 11. Efecto del suelo, concentración, tiempo y sus interacciones en la disminución del pH semanalmente. Análisis de varianza de una vía usando PROC GLM (SAS, 1989) para evaluar las diferencias entre tratamientos y prueba de Tukey (HSD) (Tipo I).

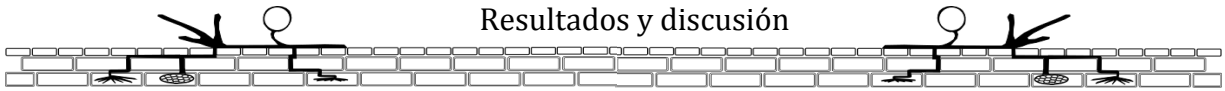
Tratamientos e interacciones	Valor de P para pH semanal (Tipo I)
Suelo	0.8642
Concentración de vinaza	<.0001
Tiempo	<.0001
Suelo x concentración	0.1552
Suelo x tiempo	0.9280
Concentración x tiempo	<.0001
Suelo x concentración x tiempo	0.1399

La materia orgánica, por su contribución a la capacidad de intercambio catiónico, sobre todo en suelos arenosos, es el componente que más contribuye a la capacidad amortiguadora de los suelos (Aitken y Moody, 1991). El incremento de la carga negativa cuando el pH aumenta, favorece el incremento de la CE, esto debido a la ionización de grupos fenólicos y carboxílicos presentes en la materia orgánica, y otros componentes de carga variable como hierro (Fe) y aluminio (Al).

Sin embargo, también los iones fosfatos (H_2PO_4) son capaces de unirse a las partículas del suelo que contienen aluminio y hierro, ya que los iones de aluminio y hierro positivamente cargados tienen grupos hidroxilo (OH^-) que pueden ser intercambiados con el fosfato. Como consecuencia de ello, el fosfato se puede unir fuertemente a éstos componentes y su movilidad y disponibilidad puede limitar el crecimiento vegetal (Koltai y Kapulnik, 2010). En el suelo del Arenal Jalisco, se encontró una alta concentración de hierro ($18.4 \pm 5.3 \text{ g Kg}^{-1}$) (Tabla 3), lo cual puede soportar esta teoría.

Otra explicación para el amortiguamiento del pH del suelo podría ser la presencia de sulfato (SO_4^{2-}) y de Ca^{+2} que puede formar yeso ($CaSO_4$). El yeso sólo es ligeramente soluble, pero puede liberar suficiente sulfato como para mantener el crecimiento vegetal. La mayoría de los suelos no ácidos contienen cantidades importantes de calcio; por ello, la movilidad del sulfato en estos suelos es baja, de manera que no es muy susceptible de ser eliminado por lixiviación (Quiroz y Rojas, 2009). Esta reacción libera protones (H^+) y reduce el pH del suelo por lo que la presencia de iones de Ca^{+2} no alcalinizará el suelo.





Además, la descomposición microbiana de material orgánico también produce amoníaco y sulfuro de hidrógeno que pueden ser oxidados en el suelo a las formas ácidas fuertes, tal como ácido nítrico (HNO_3) y ácido sulfúrico (H_2SO_4). Los protones también desplazan a los iones K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} y Mn^{2+} , en el suelo por intercambio catiónico. La lixiviación por exceso de agua puede eliminar estos iones de las capas superiores del suelo, lo que deja suelos aún más ácidos. Por el contrario, la erosión de la roca en regiones áridas libera los cationes antes mencionados al suelo, pero debido a las escasas lluvias, estos iones no son eliminados de las capas superiores del suelo por lo que el suelo continúa siendo neutro o ligeramente alcalino (Quiroz y Rojas, 2009).

Por otro lado, se observó un aumento de los valores de la CE presente en el suelo al adicionar vinazas a distintas concentraciones y a mayor tiempo de riego (Figura 19). En la Figura 19 se observa un aumento significativo a partir de la concentración de 50% tanto en SC como en SB, al igual que en el pH. También se observó que no hubo diferencias significativas en la CE entre las concentraciones de 50%, 75% y 100% ($P > 0.05$).

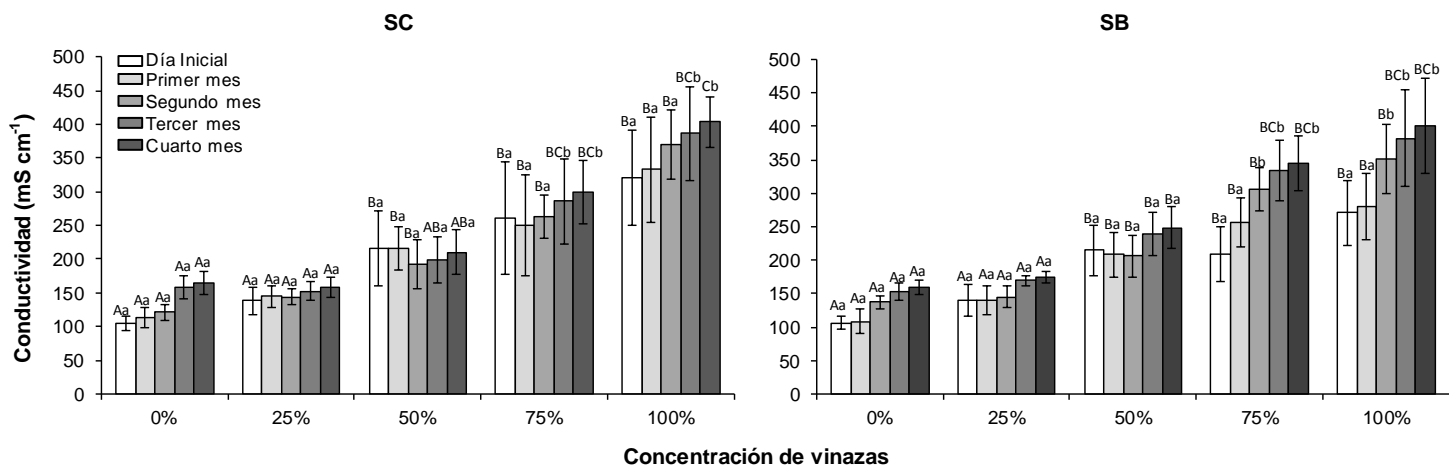
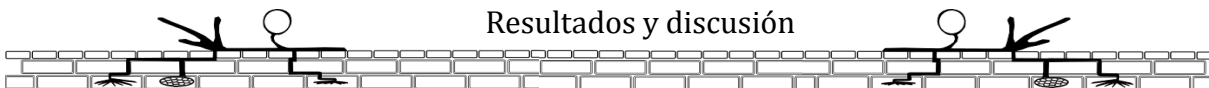


Figura 19. Valores de CE en diferentes unidades experimentales con diferentes concentraciones de riego con vinazas durante cuatro meses. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre concentraciones, letras minúsculas diferentes entre tiempo en una misma concentración y * entre suelos ($P < 0.05$) ($n = 9$).

Se ha reportado en diferentes tipos de vinazas (remolacha y caña de azúcar) que presentan altas concentraciones de K^+ (4,698 a 46,950 mg L^{-1} mínima, máxima respectivamente), Ca^{2+} (879-10,133 mg L^{-1} mínima, máxima respectivamente), Mg^{2+} (1,272 a 6,080 mg L^{-1} mínima, máxima respectivamente) y Na^+ (90.7 a 1,671 mg L^{-1} mínima, máxima respectivamente), los cuales al ser adicionados al suelo pueden aumentar el contenido de estos iones en el suelo. Además, éstos pueden ser lixiviados contaminando los mantos acuíferos (Páez Ortegón et al., 2016). En este





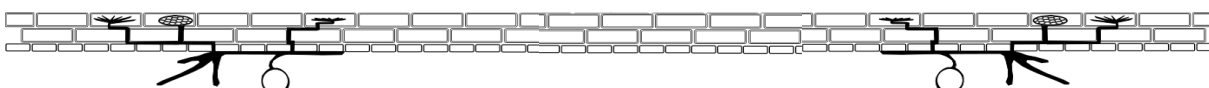
trabajo se encontró que las vinazas tequileras presentaron concentraciones bajas de K^+ ($3.7-3.9 \pm 0.11-0.15 \text{ mg L}^{-1}$), Mg^{2+} ($2.13-3.32 \pm 0.06-0.35 \text{ mg L}^{-1}$), Ca^{2+} ($1.83-2.93 \pm 0.02-0.2 \text{ mg L}^{-1}$) y Na^+ ($0.03-0.5 \pm 0.03-0.14 \text{ mg L}^{-1}$) (Tabla 4) en comparación con los datos que presentaron Páez Ortigón et al. (2016). El aporte de cationes por parte de las vinazas incrementan los problemas de salinidad, y esto se refleja en los altos valores de la CE, tal como ha sido reportado por otros autores como Quiroz y Rojas (2009). Un valor superior a 0.4 mS cm^{-1} indica un nivel crítico de salinidad suficiente para provocar una reducción del 50% en el desarrollo de las plantas (García, 2007) y por consecuencia poca colonización de HMA.

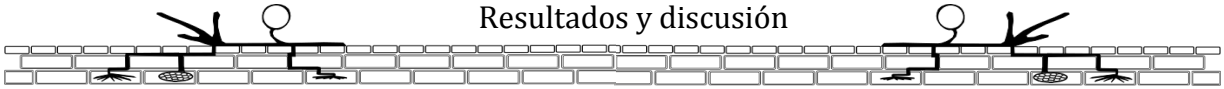
Algunos autores han reportado que al aplicar vinazas de remolacha al suelo, se incrementó la densidad aparente y por consiguiente el intercambio de Na^+ y lixiviación de algunos iones metálicos como zinc y cobre (Madrid y Díaz-Barrientos, 1998; Tejeda et al., 2007). Por otro lado, Madejon et al. (2001) indicaron que las vinazas de remolacha tienen gran potencial en la agricultura debido a su alta carga orgánica, y contenido de N y K^+ , sin embargo, éste potencial se reduce a causa de un alto contenido de Na^+ (21 g L^{-1}), el cual es responsable de incrementar la erosión del suelo y una disminución de la biomasa microbiana y de la productividad de la planta. El principal efecto negativo de las vinazas en el suelo es la acumulación de sales y cationes (K^+ , Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2}) lo que puede incrementar la salinidad y sodicidad del suelo (Tejeda et al., 2009).

Por otro lado, se ha observado que *C. comosum* puede reducir el potencial óxido-reducción por lo que se puede decir que *C. comosum* no sólo brinda beneficios económicos como una planta ornamental, sino que también puede usarse como una especie de planta utilizada para la fitoremediación (Wang et al., 2011). Esto explicaría por que *C. Comosum* sobrevivió en las concentraciones de vinazas de 0%, 25% y 50% sin problema, aún a pesar de la cantidad de cationes que se agregaron con las vinazas, los cuales se discutirán posteriormente.

No ha sido bien estudiado lo que pasa con las esporas de HMA a nivel celular cuando son enfrentadas a estreses abióticos como lo son grandes cantidades de sales en el suelo. Sin embargo, al ser una célula eucarionte se puede suponer lo que pasa dentro de ellas mediante el mecanismo llamado bomba sodio y potasio lo que podría producirse a nivel de las células hifales y limitar o detener por completo el crecimiento de los HMA.

La bomba de sodio y potasio es un mecanismo activo de transporte de iones de sodio, en donde el sodio va hacia fuera de la célula y el potasio hacia dentro de la misma. Por ósmosis, el sodio entra y sale de la célula en una cantidad muy pequeña el cual se encuentra por lo general en una mayor cantidad fuera de la célula (142 mEq L^{-1}) que dentro de ella (10 mEq L^{-1}) saliendo de la célula mediante el transporte activo (Zak et al., 1995).





La bomba sodio-potasio funciona de manera asimétrica, en donde la corriente sódica de salida es mayor (tres iones de sodio) que la corriente potásica de entrada (dos iones de potasio). El objetivo de la bomba sodio y potasio es eliminar sodio de la célula e introducir potasio en el citoplasma, éste intercambio permite mantener, a través de la membrana, las diferentes concentraciones entre ambos cationes. Con la bomba de sodio y potasio se controla el volumen de agua de todas las células.

A una mayor cantidad de sodio y potasio éste mecanismo deja de funcionar correctamente provocando una hinchazón de la célula hasta provocar su lisis (Guyton y Hall, 2006). Al ser observadas las esporas de HMA en el estereomicroscopio se observó que muchas esporas se encontraban rotas y en el microscopio óptico se observaron de igual forma rotas y el contenido citoplasmático se encontraba fuera de la espora. Probablemente la cantidad de cationes presentes en las vinazas provoca la turgencia de las esporas impidiendo la continuidad de su ciclo de vida y de colonización a la planta siendo también una evidencia indirecta de plasmólisis en la célula vegetal. De todos los cationes estimados, el Ca^{+2} presenta las mayores concentraciones al final del experimento tanto en SC como en SB, seguido por el K^+ , Mg^{+2} y Na^+ . Esto sugiere que la planta pudo tener una alta exposición de iones de Ca^{+2} , tal como se muestra en las tablas 12 y 13.

En los datos del sodio no se observan diferencias significativas ($P > 0.0001$) entre una misma concentración en diferentes tiempos ni entre concentraciones en un mismo tiempo en ambos suelos. Por otro lado, en los valores de potasio, calcio y magnesio tanto en SC como SB se observa que desde el D0 en la concentraciones de 25%, 50% 75% y 100% hasta el M4 en todas las concentraciones de vinazas, los valores de los cationes antes mencionados son significativamente mayores que las de 0% en todos los tiempos. Por lo que se observa que a una mayor concentración y a mayor tiempo de riego con vinazas tequileras existe una mayor acumulación de cationes en el suelo (Tabla 12 y 13).



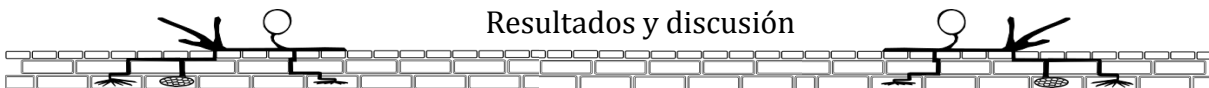
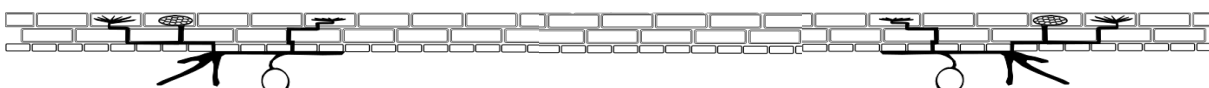


Tabla 12. Estimación de cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2}) en SC.

Tiempo	[]	Estimación de cationes (g kg^{-1})			
		Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
D0	0	98.06 ± 8.55 ^{Aa}	184.20 ± 22.36 ^{Aa}	206.79 ± 70.39 ^{Aa}	104.20 ± 22.36 ^{Cb}
	25	103.45 ± 8.54 ^{Aa}	184.42 ± 24.31 ^{Ca}	270.28 ± 55.45	120.85 ± 4.76 ^{Cb}
	50	109.52 ± 8.55 ^{Aa}	190.79 ± 24.31 ^{Ca}	329.45 ± 5.39 ^{Ca}	156.79 ± 20.54 ^{Da}
	75	109.85 ± 8.55 ^{Aa}	191.01 ± 24.28 ^{Ca}	635.82 ± 5.39 ^{Ea}	184.20 ± 22.36 ^{Ab}
	100	214.73 ± 8.55 ^{Aa}	331.15 ± 77.92 ^{Ba}	636.04 ± 5.33 ^{Ea}	393.55 ± 18.01 ^{Da}
M1	0	98.06 ± 8.55 ^{Aa}	184.20 ± 22.36 ^{Ab}	206.79 ± 70.39 ^{Aa}	104.20 ± 22.36 ^{Ab}
	25	106.39 ± 8.56 ^{Aa}	213.71 ± 24.31 ^{BCb}	247.43 ± 5.39 ^{Ca}	133.52 ± 4.76 ^{Cb}
	50	117.16 ± 8.55 ^{Aa}	265.63 ± 24.31 ^{BCba}	381.75 ± 5.39 ^{Da}	235.93 ± 17.95 ^{Baa}
	75	118.82 ± 8.55 ^{Aa}	278.86 ± 24.28 ^{CBba}	554.03 ± 70.39 ^{Aa}	243.56 ± 18.01 ^{DCa}
	100	222.59 ± 8.55 ^{Aa}	408.13 ± 77.92 ^{BAa}	689.96 ± 5.33 ^{Da}	404.60 ± 20.54 ^{DCa}
M2	0	98.06 ± 8.55 ^{Aa}	184.20 ± 22.36 ^{Ab}	206.79 ± 70.39 ^{Aa}	104.20 ± 22.36 ^{Ab}
	25	111.04 ± 9.15 ^{Aa}	257.87 ± 24.31 ^{BACb}	283.37 ± 5.39 ^{Ba}	166.85 ± 4.76 ^{Bb}
	50	123.14 ± 8.55 ^{Aa}	309.80 ± 24.31 ^{BAb}	308.86 ± 5.39 ^{Ca}	261.07 ± 17.95 ^{Baa}
	75	124.80 ± 8.55 ^{Aa}	343.01 ± 24.28 ^{Bb}	629.19 ± 70.39 ^{Aa}	280.08 ± 18.01 ^{BCa}
	100	228.57 ± 8.55 ^{Aa}	530.59 ± 77.92 ^{BAa}	729.33 ± 5.33 ^{Ca}	374.31 ± 20.54 ^{Ca}
M3	0	98.06 ± 8.55 ^{Aa}	184.20 ± 22.36 ^{Ac}	206.79 ± 70.39 ^{Aa}	104.20 ± 22.36 ^{Ac}
	25	112.71 ± 9.37 ^{Aa}	300.64 ± 24.31 ^{BACb}	296.29 ± 5.39 ^{Baba}	178.84 ± 4.76 ^{BAC}
	50	125.29 ± 8.55 ^{Aa}	352.56 ± 24.31 ^{BAb}	335.11 ± 5.39 ^{Ba}	204.42 ± 17.95 ^{Ab}
	75	126.94 ± 8.55 ^{Aa}	446.64 ± 24.28 ^{Ab}	626.47 ± 70.39 ^{Ab}	285.06 ± 18.01 ^{Baba}
	100	230.72 ± 8.55 ^{Aa}	689.08 ± 77.92 ^{Aa}	792.93 ± 5.33 ^{Ba}	464.52 ± 20.54 ^{Ba}
M4	0	98.06 ± 8.55 ^{Aa}	184.20 ± 22.36 ^{Ad}	206.79 ± 70.39 ^{Aa}	104.20 ± 22.36 ^{Ac}
	25	114.14 ± 9.56 ^{Aa}	337.05 ± 24.31 ^{Ac}	307.32 ± 5.39 ^{Ab}	189.06 ± 4.76 ^{Ac}
	50	127.12 ± 8.55 ^{Aa}	388.97 ± 24.31 ^{Ab}	457.45 ± 5.39 ^{Aa}	206.14 ± 17.95 ^{Ab}
	75	128.78 ± 8.55 ^{Aa}	511.82 ± 24.28 ^{Ab}	797.02 ± 70.39 ^{Aa}	376.16 ± 18.01 ^{Ab}
	100	227.76 ± 14.47 ^{Aa}	650.99 ± 41.04 ^{Aa}	832.94 ± 5.33 ^{Aa}	457.88 ± 20.54 ^{Aa}

[]: Concentración de vinazas; DMS: Diferencia mínima significativa; D0: Día 0; M1: Primer mes, M2: Segundo mes; M3: Tercer mes; M4: Cuarto mes. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre una misma concentración en diferentes tiempos, letras minúsculas entre concentraciones en un mismo tiempo ($P < 0.0001$) ($n = 9$).



Resultados y discusión

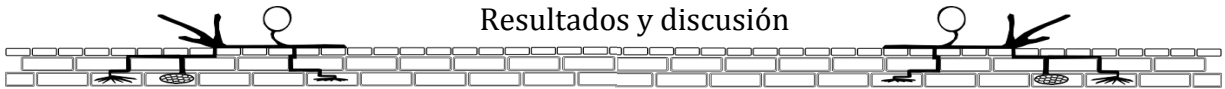


Tabla 13. Estimación de cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2}) en SB.

Tiempo	[]	Estimación de cationes (g kg^{-1})			
		Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
D0	0	112.27 ± 7.36 ^{Aa}	145.63 ± 77.92 ^{Aa}	213.63 ± 0.81 ^{Aa}	145.63 ± 27.16 ^{Bb}
	25	117.81 ± 7.16 ^{Aa}	150.72 ± 27.16 ^{Ca}	278.72 ± 0.81 ^{Ea}	193.36 ± 7.36 ^{Bb}
	50	123.73 ± 7.36 ^{Aa}	157.09 ± 27.16 ^{Ca}	325.09 ± 0.81 ^{Ea}	287.63 ± 27.16 ^{Ab}
	75	124.06 ± 7.36 ^{Aa}	157.42 ± 27.16 ^{Da}	525.42 ± 0.81 ^{Ea}	377.48 ± 29.07 ^{Cba}
	100	228.94 ± 7.36 ^{Aa}	365.03 ± 117.82 ^{Aa}	625.42 ± 90.87 ^{Ea}	429.24 ± 3.74 ^{Ea}
M1	0	112.27 ± 7.36 ^{Aa}	145.63 ± 77.92 ^{Ab}	213.63 ± 0.81 ^{Aba}	145.63 ± 27.16 ^{Abc}
	25	120.80 ± 7.16 ^{Aa}	180.01 ± 27.16 ^{BCb}	236.70 ± 0.81 ^{Db}	184.41 ± 8.19 ^{Bc}
	50	131.37 ± 7.36 ^{Aa}	231.93 ± 27.16 ^{BCba}	371.02 ± 0.81 ^{Da}	251.51 ± 3.74 ^{Da}
	75	133.03 ± 7.36 ^{Aa}	245.27 ± 27.16 ^{DCba}	579.34 ± 0.81 ^{Da}	334.03 ± 7.36 ^{Da}
	100	236.80 ± 7.36 ^{Aa}	442.01 ± 117.82 ^{Aa}	676.18 ± 90.87 ^{Ab}	479.25 ± 3.74 ^{Da}
M2	0	112.27 ± 7.36 ^{Ab}	145.63 ± 77.92 ^{Ab}	213.63 ± 0.81 ^{Aa}	145.63 ± 27.16 ^{Ab}
	25	126.78 ± 7.16 ^{Aba}	224.18 ± 27.16 ^{BACb}	272.65 ± 0.81 ^{Ca}	177.37 ± 7.36 ^{Ab}
	50	137.35 ± 7.36 ^{Aba}	276.10 ± 27.16 ^{Bab}	398.13 ± 0.81 ^{Ca}	296.65 ± 3.74 ^{Ca}
	75	139.01 ± 7.36 ^{Aba}	309.42 ± 27.16 ^{BCb}	518.71 ± 0.81 ^{Ca}	395.47 ± 3.74 ^{Ca}
	100	242.78 ± 7.36 ^{Aa}	564.47 ± 117.82 ^{Aa}	651.35 ± 90.87 ^{Aa}	415.76 ± 3.74 ^{Ca}
M3	0	112.27 ± 7.36 ^{Ab}	145.63 ± 77.92 ^{Ac}	213.63 ± 0.81 ^{Aa}	145.63 ± 27.16 ^{Ab}
	25	128.93 ± 7.16 ^{Aba}	266.94 ± 27.16 ^{BACb}	285.57 ± 0.81 ^{Ba}	179.35 ± 7.36 ^{Ab}
	50	139.50 ± 7.36 ^{Aba}	318.86 ± 27.16 ^{BACb}	324.38 ± 0.81 ^{Ba}	220.99 ± 3.74 ^{Ba}
	75	141.16 ± 7.36 ^{Aba}	413.05 ± 27.16 ^{Bab}	648.62 ± 0.81 ^{Ba}	374.74 ± 3.74 ^{Ba}
	100	244.93 ± 7.36 ^{Aa}	722.96 ± 117.82 ^{Aa}	782.31 ± 90.87 ^{Aa}	481.22 ± 29.07 ^{Ba}
M4	0	112.27 ± 7.36 ^{Ab}	145.63 ± 77.92 ^{Ac}	213.63 ± 0.81 ^{Ab}	145.63 ± 27.16 ^{Ad}
	25	130.76 ± 7.16 ^{Aba}	303.35 ± 27.16 ^{Ab}	396.59 ± 0.81 ^{Aba}	189.58 ± 7.36 ^{Ad}
	50	141.33 ± 7.36 ^{Aba}	355.27 ± 27.16 ^{Ab}	446.73 ± 0.81 ^{Aba}	341.72 ± 3.74 ^{Ac}
	75	142.99 ± 7.36 ^{Aba}	478.23 ± 27.16 ^{Aa}	746.73 ± 0.81 ^{Aa}	411.85 ± 3.74 ^{Ab}
	100	263.22 ± 0.00 ^{Aa}	566.89 ± 117.82 ^{Aa}	822.32 ± 90.87 ^{Aba}	426.94 ± .00 ^{Aa}

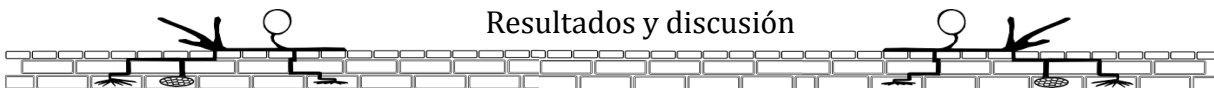
[]: Concentración de vinazas; DMS: Diferencia mínima significativa; D0: Día 0; M1: Primer mes, M2: Segundo mes; M3: Tercer mes; M4: Cuarto mes. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre una misma concentración en diferentes tiempos, letras minúsculas entre concentraciones en un mismo tiempo ($P < 0.0001$) ($n = 9$).

Estadísticamente, se observa que de todas las variables, la concentración de vinazas y el tiempo de riego son las variables que afectan el aumento de los cationes Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} . Al interactuar ambas variables se observa también un efecto en el aumento de cationes en el suelo ($P < 0.05$) (Tabla 14).

Tabla 14. Efecto del suelo, concentración, tiempo y sus interacciones en el aumento de Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} cada mes durante los 4 meses de la experimentación. Análisis de varianza de una vía usando PROC GLM (SAS, 1989) para evaluar las diferencias entre tratamientos y Prueba de Tukey (HSD) (Tipo I).

Tratamientos e interacciones	P value para cationes (Tipo I)
Suelo	0.2406
Concentración de vinaza	<.0001
Tiempo	<.0001
Suelo + concentración	0.0250
Suelo + tiempo	0.9987
Concentración + tiempo	0.0100
Suelo + concentración + tiempo	1.0000





El Ca^{2+} es acumulado por las plantas, especialmente en las hojas donde se deposita irreversiblemente (Aberoumand, 2009). Este es un elemento esencial para el crecimiento de meristemas y particularmente para el crecimiento y funcionamiento apropiado de los ápices radicales. La fracción principal de Ca^{2+} se encuentra presente en las paredes celulares o en vacuolas y organelos como sales de ácidos orgánicos (Dave y Tarafdar, 2011). El Ca^{2+} tiene la función de impedir daños a la membrana celular, evitando el escape de sustancias intracelulares y cumpliendo un papel estructural al mantener la integridad de la membrana. Por otro lado, el calcio parece actuar como modulador de las hormonas vegetales, regulando la germinación, el crecimiento y la senescencia de la planta. Además de tener un papel importante en la regulación metabólica de la misma, por lo que un aumento en la concentración del calcio a nivel citoplasmático da lugar a la formación de tubérculos y callosidades en las raíces de ciertas plantas (Schreiner y Koide, 1993).

Este fenómeno de formación de tubérculos se observó en la planta *C. comosum* después de 4 meses de riego con vinazas. Es importante destacar que en las concentraciones más elevadas de vinazas (75% y 100%) el número de tubérculos fue significativamente mayor que en las concentraciones de 0%, 25% y 50% en cada suelo, observándose un incremento directamente proporcional con el aumento en la concentración de vinazas (Figura 20). Esto sugiere que la planta presentó mayor cantidad de tubérculos en las concentraciones más elevadas debidas a una alta exposición de iones de Ca^{+} , tal como se muestra en la tabla 12 y 13.

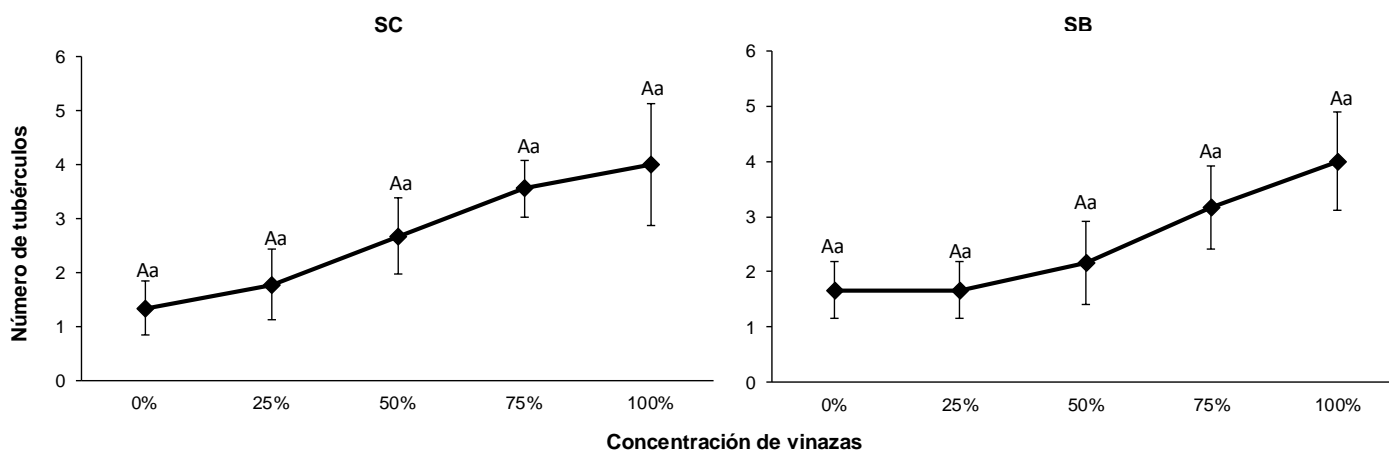
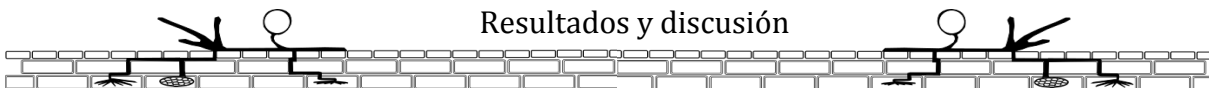


Figura 20. Número de tubérculos de *C. comosum* a los cuatro meses de riego semanal con vinazas. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre suelos, letras minúsculas diferentes entre concentraciones ($P < 0.05$) ($n = 9$).





Por el contrario, si existiera una deficiencia de calcio se provoca una atrofia del sistema radical, las hojas se muestran cloróticas, enrolladas y rizadas. *Chlorophytum comosum* es una planta que presenta poca tolerancia a las sales del suelo provocando una necrosis foliar (Arnold, 2009), sin embargo, sí presenta tolerancia a suelos arcillosos, francos, arenosos, ácidos y levemente alcalinos (Edward, 1999). Debido a esto, se logró ver bastante tolerancia de *C. comosum* a la adición constante de vinazas; el fenómeno de necrosis foliar sí se observó en las plantas de *C. comosum* con el riego de vinazas, pero partir del M2 (Figura 21)



Figura 21. *Chlorophytum comosum* a diferentes concentraciones de vinazas (5 meses).

El peso seco de la parte aérea de *C. comosum* no presentó diferencias significativas entre SC y SB en las distintas concentraciones. Tanto en SC y SB el peso seco de la parte aérea no presentó diferencias significativas en las concentraciones de 0% y 25%, sin embargo el peso seco de la parte aérea en las concentraciones de 50%, 75% y 100% fue significativamente menor comparado con el peso seco de las plantas en las concentraciones de 0 y 25%. En el caso del peso seco de la raíz en ambos suelos no se observaron diferencias significativas tanto entre suelos como en concentraciones de un mismo suelo (Figura 22).

De forma general la biomasa (medida como peso seco) de la planta disminuyó con un aumento de la concentración en el riego de las vinazas y con el aumento de los riegos, es decir con mayor tiempo de riego (efecto de acumulación).

Se ha demostrado que los HMA pueden conferir cierta tolerancia a las plantas frente a condiciones de estrés y por esta razón se cree que estos hongos pueden aliviar algunos efectos negativos de la salinidad (Mergulhao et al., 2001). Contrariamente, McMillen et al (1998) reportaron que en suelos donde hay incrementos de cloruro de sodio (NaCl) se inhibe la distribución de la colonización después de su inicio, debido a que la concentración alta de esta sal inhibe el crecimiento de la hifa e influye en el suministro de carbohidratos desde la planta hacia el hongo (Fries et al., 1997).



Resultados y discusión

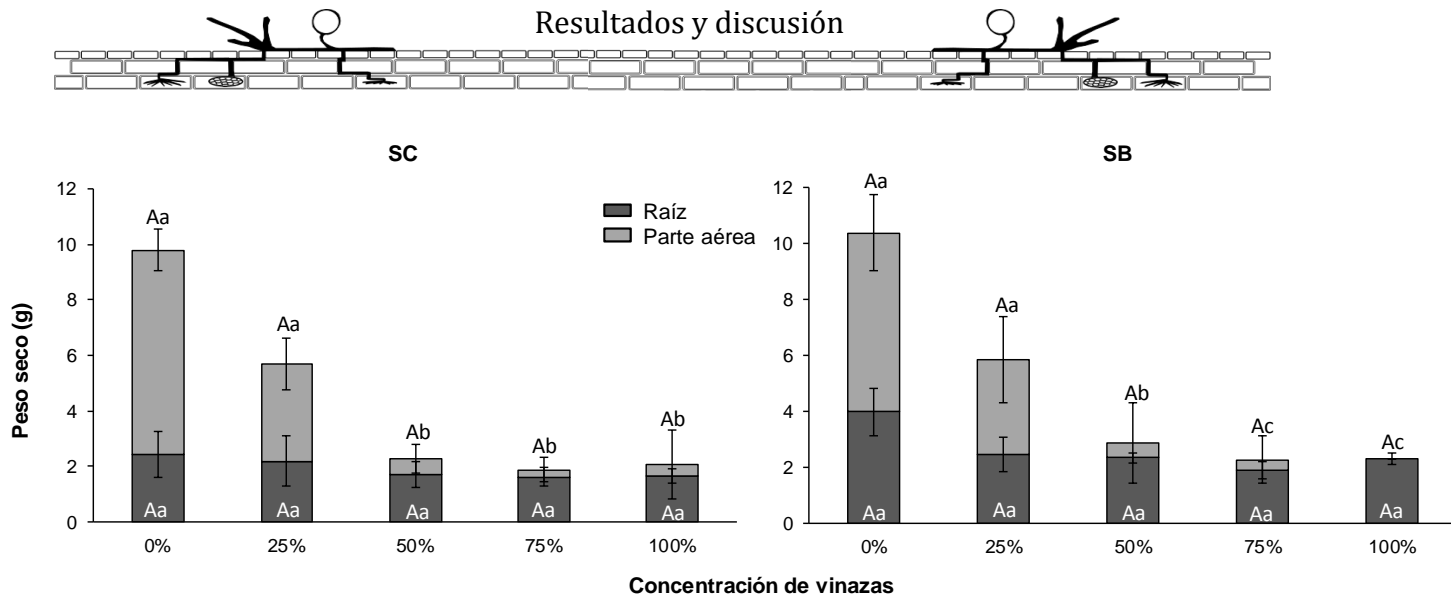


Figura 22. Peso seco de raíz y parte aérea de *Chlorophytum comosum* a los 4 meses de riego semanal con vinaza. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre suelos, letras minúsculas diferentes entre concentraciones ($P < 0.05$) ($n = 9$).

Por otro lado, los valores de fósforo disponible en los suelos SC y SB presentaron un incremento a partir del día 45 en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Se observó una diferencia significativamente mayor en la cantidad de fósforo desde el día inicial hasta el cuarto mes en las concentraciones de 75% y 100% contra las de 0%, 25% y 50%. El comportamiento fue similar en SC y SB. Sin embargo en la concentración de 50% en los días 15, 45, 60 y 75, y en la concentración de 100% en el día 105 del SB, se presentó mayor cantidad de fósforo con diferencias significativas comparado con el SC (Figura 23).

Este aumento se le puede atribuir al hecho de que a partir del día 60 las plantas en las concentraciones de 75% y 100% en ambos suelos comenzaron a morir por lo que el requerimiento de fósforo de la planta fue menor, sin embargo en los últimos días, después del día 105, ocurrió una ligera disminución del fósforo, y se observó que en las unidades experimentales donde se pensaba que había muerto la planta comenzó a retoñar (Figura 24) lo cual sugirió una adaptación de la planta.

La cantidad y forma del fósforo en el suelo y los factores que afectan su disponibilidad son importantes en la determinación de la forma en que las micorrizas influyen en el consumo de las plantas (Bolan, 1991; Nye y Tinker, 1977; Tinker, 1975). El fósforo es requerido en grandes cantidades por las plantas, el cual se absorbe del suelo en las formas de PO_4^- (H_2PO_4^-) que se encuentran en muy bajas concentraciones (poca disponibilidad). El fósforo es fácilmente disponible en pH de 6.5 aproximadamente. A bajos pH, la disminución de fosfatos de Fe y Al controlan la



Resultados y discusión

concentración, mientras que a altos valores de pH se disminuye la solubilidad de los fosfatos de Ca^{+2} por lo que los cambios de pH en la rizósfera alteran la disponibilidad de diferentes fuentes de fósforo (Grinsted et al., 1982).

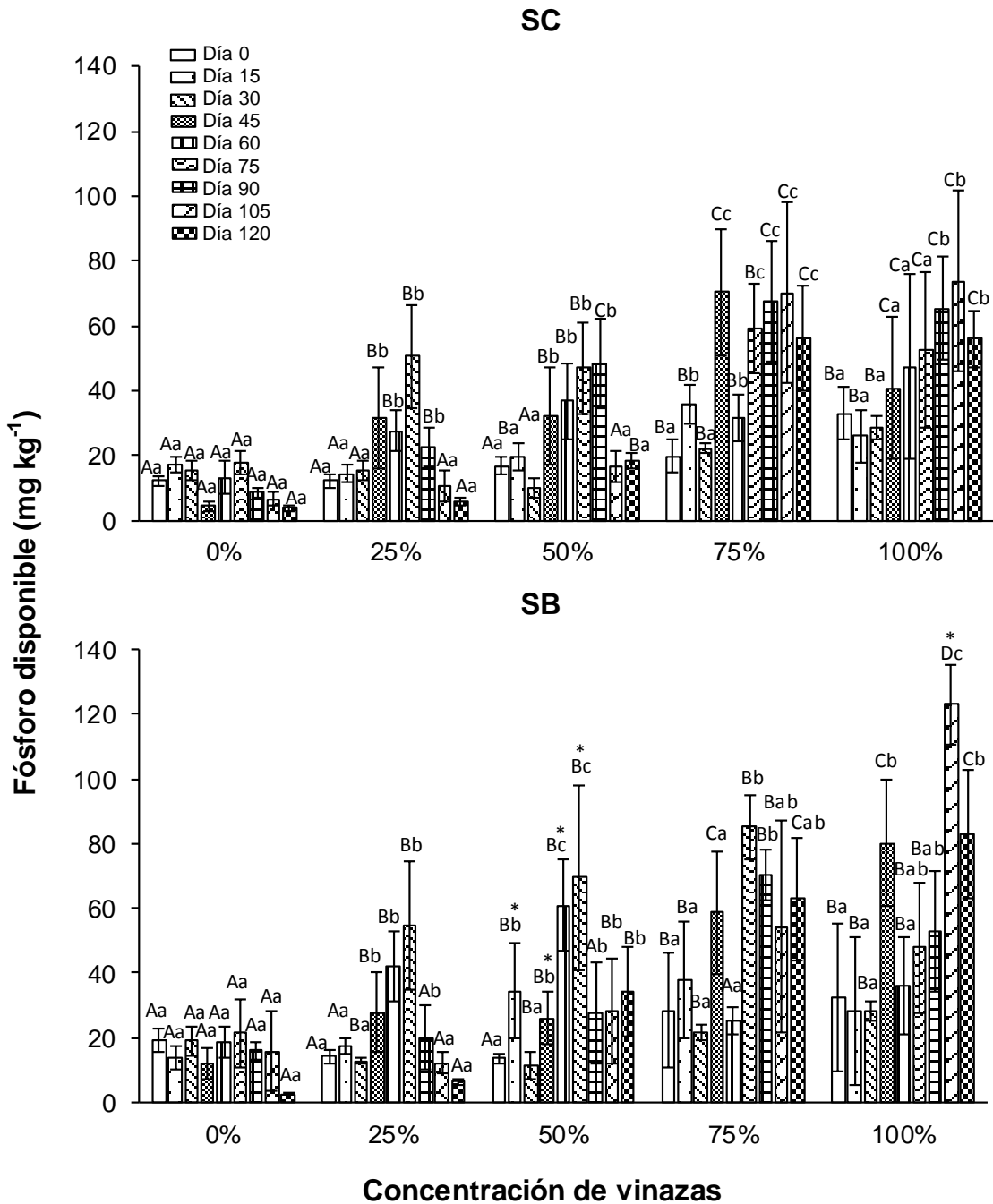


Figura 23. Valores de fósforo disponible en diferentes unidades experimentales con diferentes concentraciones de riego con vinazas durante cuatro meses. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre concentraciones, letras minúsculas diferentes entre tiempo y * entre suelos ($P < 0.05$) ($n = 9$).

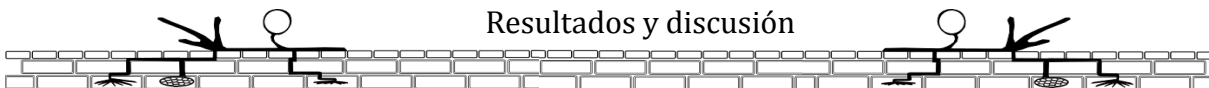


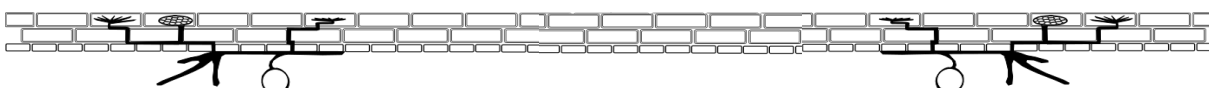
Figura 24. Planta de *Chlorophytum comosum* donde había muerte de las hojas.

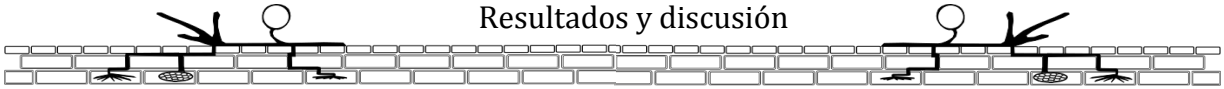
Según la CIMAP (Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants), el requerimiento de nutrientes para el crecimiento de la planta *Chlorophytum borivianum*, particularmente nitrógeno, fósforo y potasio es muy bajo ($25\text{-}75\text{ kg ha}^{-1}$ de N, $60\text{-}65\text{ kg ha}^{-1}$ de P_2O_5 y $2\text{-}30\text{ kg ha}^{-1}$ de K_2O) (Khanam et al., 2013) por lo que, con los resultados presentados en éste trabajo, se observa que la planta no está utilizando la gran cantidad de nutrientes presentes en el suelo.

El principal beneficio que aporta la simbiosis de los HMA es mejorar la absorción del fosfato. La extensa red de hifas de los HMA influye en las propiedades fisicoquímicas del suelo y directa o indirectamente contribuye a la liberación del fosfato de complejos inorgánicos con baja solubilidad (Finlay, 2008). Los efectos benéficos de los HMA son más aparentes en condiciones donde los nutrientes presentan disponibilidad limitada.

A pesar de que no se conocen los mecanismos reguladores subyacentes, la cantidad de colonización de raíces, típicamente se ve disminuida cuando los nutrientes se encuentran en abundancia (Parniske, 2008). Tal es el caso de los resultados obtenidos en la experimentación, en donde al aplicar vinazas que contienen nutrientes tales como fósforo inorgánico, nitrógeno inorgánico y iones (Na^+ , K^+ , Ca^{+2}) con irrigaciones frecuentes, estos elementos aumentaron su contenido en el suelo y la colonización de las raíces por HMA se vio afectada, e incluso la parte aérea de la planta murió al M2 en las concentraciones de 75% y 100 % quedando viva solamente la raíz.

El nitrógeno es el mayor nutriente que limita con frecuencia la productividad primaria en los ecosistemas terrestres (Veresoglou et al., 2012), como el crecimiento de las plantas (Chapin III et al., 2004) y la comunidad de organismos (Demoling et al., 2007) en ecosistemas con alta disponibilidad del carbono. Los microorganismos tienen una gran ventaja para tener acceso a los micronutrientes ya que tienen fácil acceso a micro poros del suelo, sin embargo la vida de los





microorganismos vida es más corta (Bardgett et al., 2005) por lo que la ecología microbiana del suelo se ha mantenido en el “lado oscuro” de la ecología de los ecosistemas debido a la capacidad limitada para estudiar los procesos en escala micro (Tiedje et al., 1999; Wall et al., 2005)

Sin embargo, es bien conocido que diferentes tipos de micorrizas tienen diferentes capacidades para acceder a los nutrientes del suelo en forma orgánica e inorgánica (Lambers et al., 2008; Smith y Read, 2008). Las ectomicorrizas y las micorrizas ericoides se caracterizan por crecer en suelos orgánicos, en donde movilizan el nitrógeno en el suelo y probablemente el fósforo también en formas orgánicas, alterando la fuente de nitrógeno para la planta (Read y Perez-Moreno, 2003). Por el contrario, los HMA se caracterizan por crecer en suelos minerales, en donde las fuentes de nitrógeno y fósforo inorgánico son frecuentes. Los HMA pueden reducir los niveles de NH_4^+ en el suelo (Johansen et al., 1992) y así limitar el potencial de la nitrificación o mediar el consumo de NO_3^- (Govindarajulu et al., 2005) y así frenar potencialmente la desnitrificación y la lixiviación del nitrógeno. Es importante mencionar que es bien conocido que la disponibilidad de los compuestos de nitrógeno es regulada por algunos factores abióticos, como el pH (Marschner, 1995) en donde pH menores a 5.5 son perjudiciales para la nitrificación (De Boer y Kowalchuk, 2001) y esto puede reducir la disponibilidad del NO_3^- .

Es bien sabido que los HMA mejoran los agregados del suelo en la micorrizósfera (Rillig y Mummey, 2006; Tisdall y Oades, 1982), afectando la aeración del suelo lo que incide en la nitrificación y desnitrificación, los dos procesos del ciclo del nitrógeno que son afectados por la concentración de oxígeno en el suelo. Tienen la habilidad de modificar la comunidad microbiana en la rizósfera (Marschner, 1995) y la hidrósfera (Toljander et al., 2007), específicamente ciertos microorganismos como las bacterias del género *Azospirillum* y algunas especies del género *Pseudomonas* (Vázquez et al., 2000) los cuales pueden relacionarse al ciclo del nitrógeno.

Los HMA asimilan el nitrógeno en la forma de NH_4^+ y tienen la habilidad de movilizar el nitrógeno de fuentes orgánicas (Hodge et al., 2010) la cual ocurre incluso cuando los HMA fallan en la estimulación de crecimiento y la colonización de raíces de las plantas (Fitter et al., 2011). Se ha encontrado que las esporas de la familia Glomeraceae facilitan la adquisición de nitrógeno, mientras que las de la familia Gigasporaceae tienen poca habilidad para aportar nitrógeno a la planta (Reynolds et al., 2005; Veresoglou et al., 2012). Además, el requerimiento de nitrógeno de los HMA es alto (Hodge et al., 2010). En este trabajo, algunas de las especies más encontradas pertenecen a la familia Glomeraceae como lo son *Funneliformis mosseae*, y *Glomus fasciculatum* por lo que se justifica la disminución de nitrógeno en el suelo ya que seguramente éstas lo están adquiriendo para proporcionárselo a la planta.



Resultados y discusión

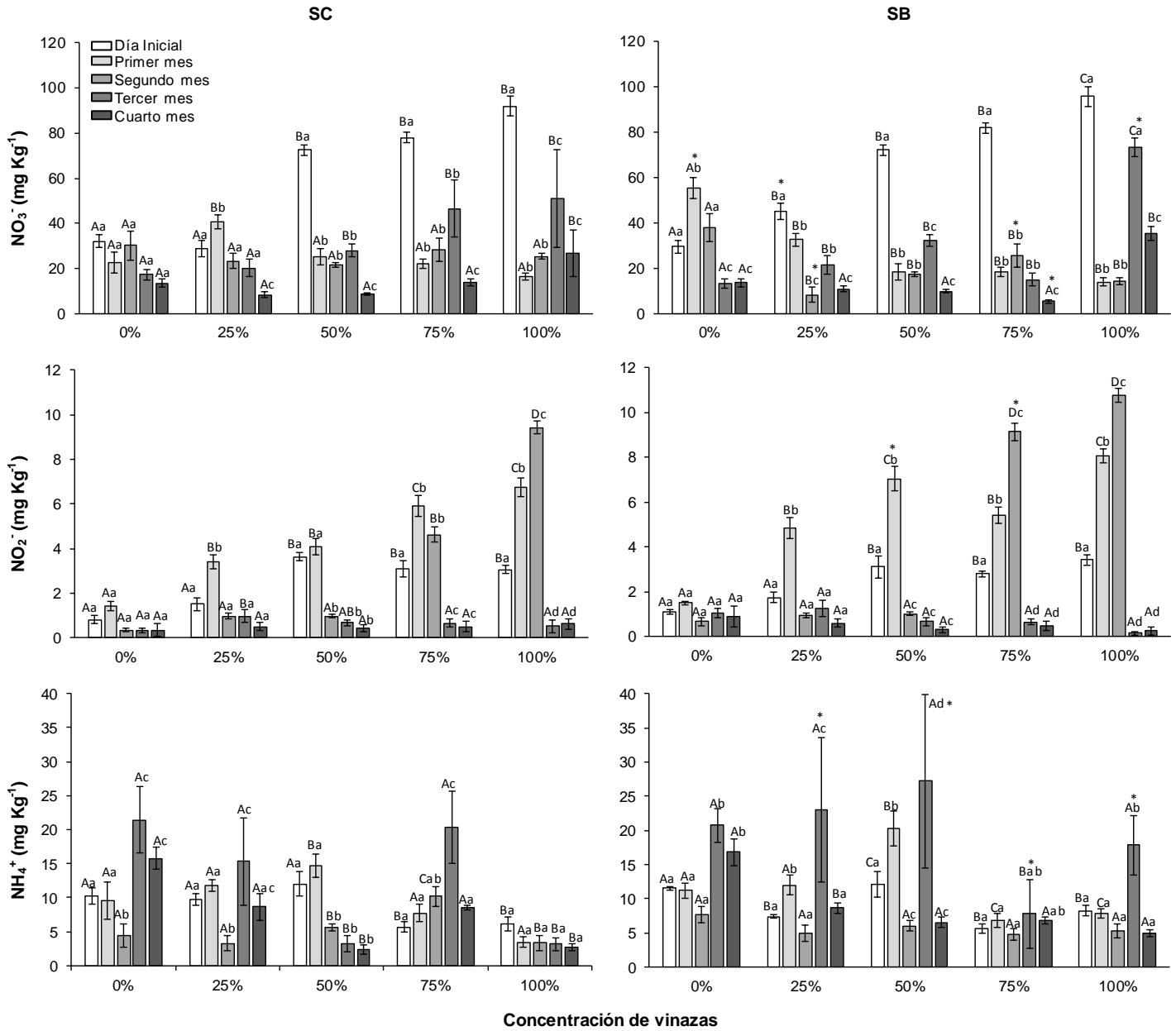
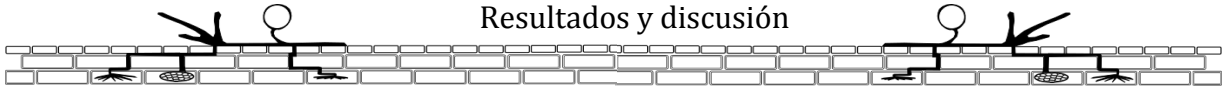


Figura 25. Valores de NO₃⁻, NO₂⁻ y NH₄⁺ en las diferentes unidades experimentales con diferentes concentraciones de riego con vinazas durante cuatro meses. Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre concentraciones, letras minúsculas diferentes entre tiempo y * entre suelos ($P < 0.05$) ($n = 9$).



5.2.2.3 Análisis de componentes principales (ACP)

El análisis de componentes principales (ACP) explicó con los primeros dos componentes (CP1 y CP2) el 45.3% de la variabilidad de los datos (Figura 26 a y b).

El componente 1 (CP1) separó a los tratamientos por concentración de vinaza y el componente 2 (CP2) por tiempo de riego (Figura 26 a).

El CP1 separó a las variables de esporas de HMA, NH_4^+ , y pH en su lado positivo, correlacionados con los tratamientos de menor concentración de vinaza (0% y 25%) y menor tiempo de riego de vinaza (D0, M1 y M2). Esos tratamientos tuvieron el mayor contenido de esporas de HMA, la mayor concentración de amonio y el mayor valor de pH, tal como se observa en las figuras 17, 18 y 25. El mismo componente (CP1) en el lado negativo separó a la conductividad eléctrica (EC), y los cationes de K^+ , Na^+ , Mg^{+2} , y fósforo disponible (P_{disp}), que se correlacionaron con los tratamientos de mayor concentración de vinaza (75% y 100%) y mayor tiempo de riego (M3 y M4) (Figura 26 a y b). Estos tratamientos fueron los que tuvieron mayor CE, y contenido de estos cationes principalmente K^+ , y seguidos de Ca^{+2} , Mg^{+2} , y Na^+ .

El CP2 en su lado positivo agrupó a NO_2^- y NO_3^- que se correlacionaron con los tratamientos de la mayor concentración de vinaza (100%) al tiempo cero (M0), los cuales tuvieron las mayores concentraciones de NO_2^- y NO_3^- , mientras que el lado negativo el CP2 agrupó al catión Ca^{+2} que se correlacionó con los tratamientos de 50%, 75% y 100% de vinaza (M2, M3 y M4); estos tratamientos tuvieron la mayor concentración de Ca^{+2} (Figura 26 a y b).

El análisis de componente principales permitió agrupar las variables que tuvieron mayor efecto sobre la disminución de esporas de HMA por el riego de las vinazas tequileras, indicando que a mayor riego de vinazas y en mayor concentración (a partir de 50%), la concentración de cationes K^+ , Na^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} y fósforo disponible (P_{disp}), aumentó en el suelo y esto repercute con un efecto negativo en el número de las esporas de HMA, lo cual no es deseable en suelos agrícolas y con cultivos micorrizables. Así el riego de vinazas en concentraciones de más del 50% por riegos frecuentes (aplicación semanal) afectó negativamente la presencia de esporas de HMA en el suelo.



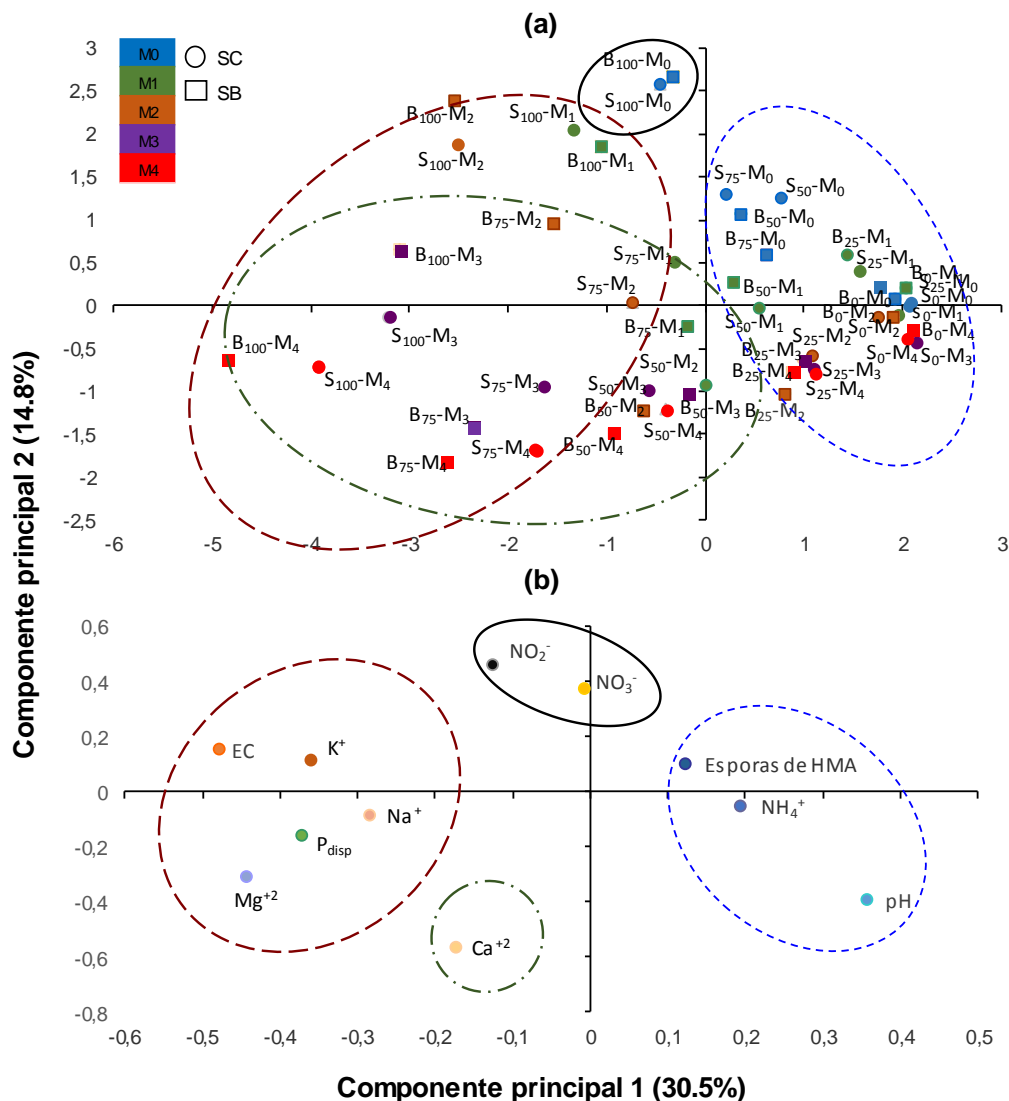
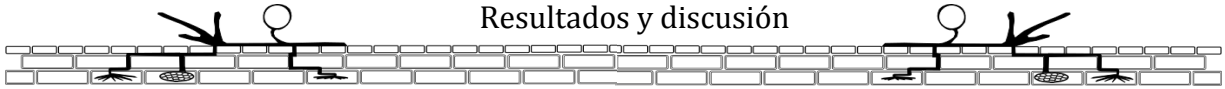


Figura 26. Análisis de componentes principales (ACP) para **a)** scores y **b)** loadings

Es importante finalizar con los análisis del efecto que tiene el suelo, la concentración de vinazas, el tiempo y sus interacciones en las variables analizadas en este trabajo. Referente al pH estadísticamente se observa que de todos los tratamientos e interacciones los que mayor efecto tienen en su disminución son la concentración de vinaza ($P < .0001$) y suelo \times concentración y concentración \times tiempo ($P < 0.05$). En el caso de la CE los que tienen mayor efecto en su aumento son la concentración de vinaza y tiempo de riego ($P < .0001$) y suelo \times tiempo, suelo \times concentración y concentración \times tiempo ($P < 0.05$). Para NO₂⁻ todos los tratamientos e interacciones tienen efecto, el suelo, la concentración de vinaza, el tiempo de riego, concentración \times tiempo y suelo \times concentración \times tiempo ($P < .0001$) además de suelo \times tiempo ($P < 0.05$). Para NO₃⁻ los tratamientos e interacciones que más efecto tienen son la concentración de vinaza, tiempo

Resultados y discusión



de riego, concentración x tiempo ($P < .0001$) y suelo x concentración x tiempo ($P < 0.05$). NH_4^+ se ve afectado por concentración de vinaza, tiempo de riego, concentración x tiempo ($P < .0001$) al igual que NO_3^- y suelo, suelo x concentración, suelo x tiempo y suelo x concentración x tiempo ($P < 0.05$). En el caso de P_{disp} éste se ve afectado por la concentración de vinaza, tiempo de riego, concentración x tiempo ($P < .0001$) y suelo x tiempo y suelo x concentración x tiempo ($P < 0.05$). La disminución de la abundancia de esporas se ve afectada por la concentración de vinazas y el tiempo ($P < 0.05$). Finalmente en el caso de K^+ , Ca^{+2} , Na^+ y Mg^{+2} comparten ciertos tratamientos e interacciones las cuales tienen que ver con su aumento tal como la concentración de vinaza, tiempo y concentración x tiempo y otras distintas para Na^+ el suelo y para Mg^{+2} suelo x concentración ($P < .0001$). Con un $P < 0.05$ las interacciones que afectan al aumento de K^+ es el suelo y para Ca^{+2} el suelo x concentración y concentración x tiempo (Tabla 15).

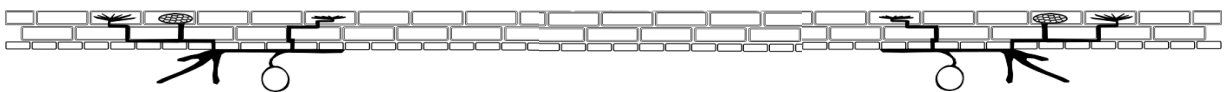
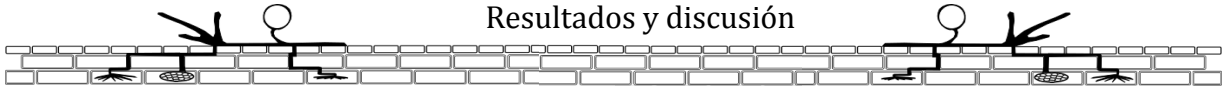
Tabla 15. Efecto del suelo, concentración, tiempo y sus interacciones en las variables analizadas. Análisis de varianza de una vía usando PROC GLM (SAS, 1989) para evaluar las diferencias entre tratamientos y prueba de Tukey (HSD) (Tipo I).

Tratamientos e interacciones	P value para todas las variables (Tipo I)										
	pH	CE	NO_2^-	NO_3^-	NH_4^+	P_{disp}	AE	K^+	Ca^{+2}	Na^+	Mg^{+2}
Suelo	0.9873	0.5919	<.0001	0.7870	0.0001	0.1014	0.7413	0.0403	0.2406	<.0001	0.1120
Concentración de vinaza	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0242	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Tiempo	0.1998	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0018	<.0001	<.0001	0.0043	<.0001
Suelo x concentración	0.0496	0.0144	0.8837	0.2078	0.0001	0.9663	0.3155	0.6607	0.0250	0.9990	<.0001
Suelo x tiempo	0.5280	0.0200	0.0001	0.8258	0.0345	0.0882	0.6870	0.9876	0.9987	0.9980	0.9999
Concentración x tiempo	0.0047	0.0036	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.9989	<.0001	0.0100	0.9967	<.0001
Suelo x concentración x tiempo	0.2831	0.8404	<.0001	0.0058	0.0005	0.0415	0.9998	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

AE: Abundancia de esporas.



Resultados y discusión



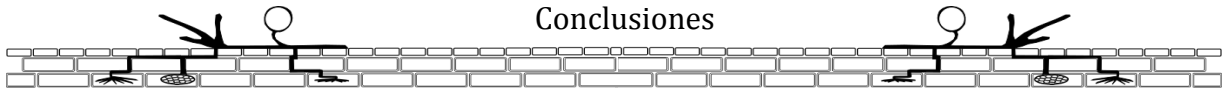


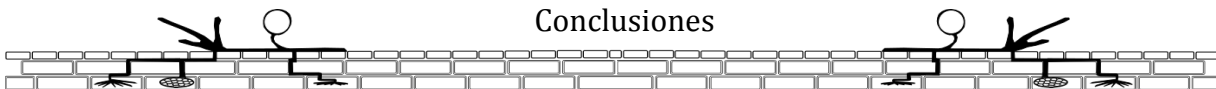
Capítulo 6
Conclusiones

100 μm

Funneliformis geosporum
(objetivo 10x)
Christopher Walker
1986

Conclusiones



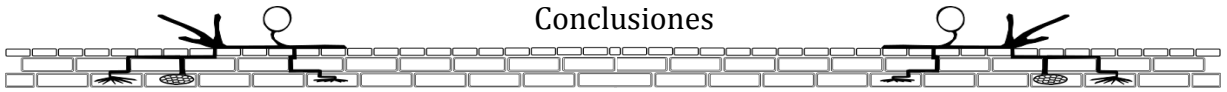


6 Conclusiones

- Sí existen poblaciones de HMA en suelos irrigados con vinazas tequileras, en donde las especies más abundantes son: *Funnelformis mosseae* (32%) y *Acaulospora mellea* (27%) seguidas por *A. scrobiculata* (13%), *F. geosporum* (10%), *Gigaspora margarita* (5%), *Paraglomus occultum* (4%), *A. laevis* (3%), *Acaulospora delicata* (1%), *A. foveata* (1%), *A. morrowiae* (1%), *A. spinosa* (1%), *Clareidoglomus etunicatum* (1%), *Racocetra gregaria* (0.5%) y *Septoglomus constrictum* (0.5%).
- Las vinazas tequileras tienen un efecto negativo en las poblaciones de HMA en concentraciones de vinaza superiores al 50%, ocasionando que no se lleve a cabo la colonización de la planta. Debido a las altas concentraciones de cationes de Ca^+ , K^+ , Mg^{+2} y Na^+ , que se adicionan con cada riego de vinazas produciendo una acumulación de estos iones en el suelo y un incremento en la conductividad eléctrica de éste. El efecto negativo de las vinazas tequileras también se relaciona con las altas concentraciones de P_{disp} y N provocando una acumulación de P y una inmovilización de N en el suelo los cuales no son asimilados por la planta *Chlorophytum comosum* en éste estudio.
- Un efecto buffer se produce en el suelo después del riego con vinazas ya que mantiene un pH cercano a la neutralidad, posiblemente debido a las interacciones de PO_4 con los cationes Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} en la formación de sales de amortiguamiento.
- Las especies de HMA que fueron más afectadas bajo las condiciones de experimentación y todas las concentraciones de vinazas evaluadas en éste trabajo fueron *Funnelformis geosporum*, *Acaulospora delicata*, *Gigaspora margarita*, *Acaulospora foveata*, *Acaulospora spinosa*. Otras especies de HMA como *Acaulospora mellea*, *Funnelformis mosseae*, *Acaulospora scrobiculata*, *Paraglomus occultum* fueron aparentemente más tolerantes a riego con vinaza (desde 25% hasta 100%) durante cuatro meses. Sin embargo, el riego con vinazas sí disminuye su abundancia relativa.



Conclusiones



A light micrograph showing a large, heart-shaped spore of Acaulospora morrowiae. The spore has a thick, multi-layered wall and a dark, dense interior. A scale bar indicates 50 micrometers. The spore is surrounded by several smaller, clear, circular structures, likely other spores or debris.

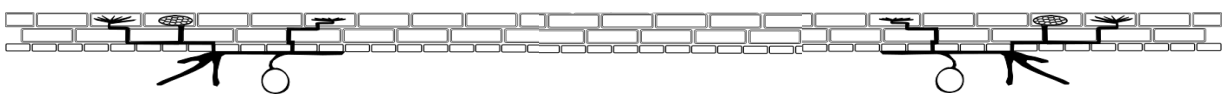
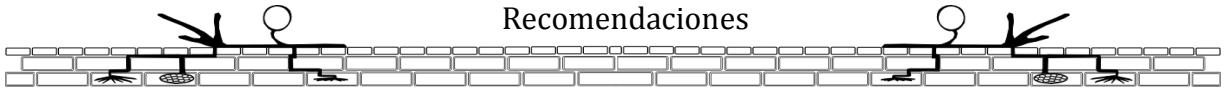
Capítulo 8

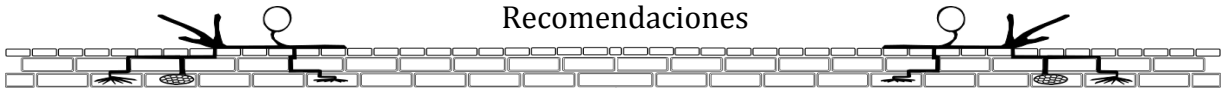
Recomendaciones

50 μm

Acaulospora morrowiae
(objetivo 10x)
Joyce L. Spain y N. C.
Schenck
1986

Recomendaciones



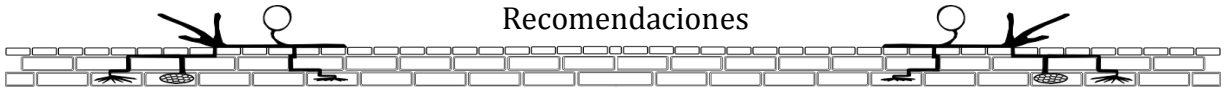


7 Recomendaciones

1. Es necesario tener regulaciones normativas nacionales e internacionales más estrictas para la descarga de aguas residuales a suelos agrícolas que establezcan máximos límites permisibles de parámetros como: DBO, DQO, Pdisp, sales (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} Mg^{+2}).
2. Realizar otro experimento con muestreos espacio-temporales en el mismo sitio de estudio para evaluar las poblaciones de HMA considerando todas las variables climatólogicas, de manejo de sitio y del ciclo de vida de las especies.
3. Realizar muestreos en otros sitios donde se riega frecuentemente vinazas tequileras para comparar la diversidad de especies de HMA y correlacionarlos con la variabilidad de los suelos y las vinazas.
4. Confirmar la identificación de los HMA mediante técnicas de biología molecular.



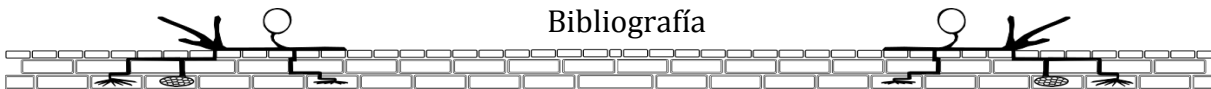
Recomendaciones



8 Bibliografía

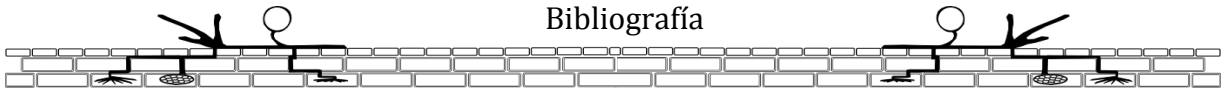
- Abbott, L.K., Robson, A.D., 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agr. Ecosyst. Environ.* 35, 121-150.
- Aberoumand, A., 2009. Preliminary assessment of nutritional value of plant based diets in relation to human nutrients. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 60, 155-162.
- Aitken, R.L., Moody, P.W., 1991. Interrelations between soil pH measurements in various electrolytes and soil solution pH in acidic soils. *Aust. J. Soil Res.* 30, 119-130.
- Akiyama, K., 2007. Chemical identification and functional analysis of apocarotenoids involved in the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Biosci. Biotechnol., Biochem.* 71, 1405-1414.
- Akiyama, K., Matsuoka, H., Hayashi, H., 2002. Isolation and identification of a phosphate deficiency-induced C-glycosylflavonoid that stimulates arbuscular mycorrhiza formation in melon roots. *Mol. Plant Microbe In.* 15, 334-340.
- Akiyama, K., Matsuzaki, K., Hayashi, H., 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 435-827.
- Al-Karaki, G.N., 2000. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza* 10, 51-54.
- AL-Zalzaleh, H.A., AL-Zalzaleh, M.A., Mathew, A.R., 2009. VAM inoculation for selected ornamental plants in bioremediated and agricultural soils. *Eur. J. Sci. Res.* 25, 559-566.
- Alexander, T., Meier, R., Toth, E., Weber, H., 1989. Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of *Triticum aestivum* L. and *Avena sativa* L. with reference to *Zea mays* L. *New. Phytol.* 110, 363-370.
- Allen, M.F., Swenson, W., Querejeta, J.I., Egerton-Warburton, L.M., Treseder, K.K., 2003. Ecology of mycorrhizae: A conceptual framework for complex interactions among plants and fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41, 271-303.
- Amador, M., 2002. Efecto de vinazas en agave tequilero en la nutrición y su relación con problemas fitosanitarios, Departamento de fitotecnia. Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo, Estado de México.
- Aparecida-Christofolletti, C., Pedro-Escher, J., Evangelista-Correia, J., Urbano-Marinho, J.F., Fontanetti, C.S., 2013. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. *Waste Manage.* 33, 2752-2761.
- APHA, 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th Edition ed, EE.UU.
- Arnold, M.A., 2009. *Chlorophytum comosum*, Landscape Plants for Texas and Environs, 4th ed.
- Baev, P.V., Penev, L.D., 1995. BIODIV: program for calculating biological diversity parameters, similarity, niche overlap, and cluster analysis, Pensoft, Sofia-Moscow.
- Bardgett, R.D., Bowman, D., Kaufmann, R., Schmidt, S.K., 2005. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends Ecol. Evolut.* 20.

- Beard, G., Douds, D.D., Pfeffer, P.E., 1992. Extensive *in vitro* hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of CO₂ and flavonols. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 821-825.
- Bécard, G., Fortin, J., 1988. Early events of arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed root. *New. Phytol.* 108, 211-218.
- Beekman, T., 2010. Arbuscular mycorrhizae, *Annual Plant Reviews. Root Development.* Wiley-Blackwell, Ghent, Belgium, pp. 20-221.
- Bengtsson, G., Bengtson, P., Mansson, K.F., 2003. Gross nitrogen mineralization-, immobilization-, and nitrification rates as a function of soil C/N ratio and microbial activity. *Soil Biol Biochem* 35, 143-154.
- Bolan, N.S., 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 134, 189-207.
- Bonfante, P., Anca, I.-A., 2009. Plants, Mycorrhizal Fungi, and Bacteria: A Network of Interactions. *Annu. Rev. Microbiol.* 63, 363-383.
- Braria, A., Ahmad, S., Harikumar, S.L., 2014. *Chlorophytum comosum* (Thunberg) Jacques: A review. *Int. J. Pharm.* 5, 546-549.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., Malajczuk, N., 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture, Canberra, Australia.
- Bürkett, B., Robson, A., 1994. Zn uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum*) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root-free sandy soil. *Soil. Biol. Biochem.* 26, 1117-1124.
- Camargo-Ricalde, S.L., Montaña, N.M., De la Rosa-Mera, C.J., Montaña Arias, S.A., 2012. Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. *Revista Digital Universitaria* 13, 1-19.
- Capistrán, L.L., 2003. Diversidad y actividad de hongos micorrízicos arbusculares, en agroecosistemas cafetaleros perturbados por la erosión., *Biotecnología.* Universidad de Colima, Tecmán, Colima.
- Carreón-Abud, Y., Jerónimo-Treviño, E., Beltrán-Nambo, M.A., Martínez-Trujillo, M., Trejo Aguilar, D., Gavito, M.E., 2013. Aislamiento y propagación de cultivos puros de hongos micorrízicos arbusculares provenientes de huertas de aguacate con diferente manejo agrícola por la técnica de minirizotróf. *Revista Mexicana de Micología* 37, 29-39.
- Carvalho, L.M., Correia, P.H., Martins-Loucao, A., 2004. Arbuscular mycorrhizal fungal propagules in a salt marsh. *Mycorrhiza* 14, 165-170.
- Casa, R., D'Annibale, A., Pieruccetti, F., Stazi, S.R., Giovannozzi-Sermanni, G., Lo-Cascio, B., 2003. Reduction of the phenolic components in olive-mill wastewater by an enzymatic treatment and its impact on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germinability. *Chemosphere* 50, 959-966.
- CETESB, 2006. P4.231. Vinhaça: critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola, Brazil.
- Conde-Bueno, P., Martín-Rubí, J.A., García-Giménez, R., Jiménez-Ballesta, R., 2009. Impacts



- caused by the addition of wine vinasse on some chemical and mineralogical properties of a Luvisol and a Vertisol in La Mancha (Central Spain). *J. Soils Sediments* 9, 121-128.
- CRM, 2015. Consejo Regulador del Mezcal. Informes, Oaxaca, Mexico.
- CRT, 2014. Estadísticas de economía.
- Chapin III, F.S., Mooney, H.A., Chapin, M.C., Matson, P., 2004. Principles of terrestrial ecosystem ecology. Springer.
- Chase, A.R., 1997. Foliage plant diseases. Diagnosis and control. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA.
- Daft, M.J., El-Giahmi, A.A., 1974. Effects of *Glomus* infection on three legumes, in: Sanders, M.y.T., eds. (Ed.), Endomycorrhizas, London, pp. 580-590.
- Dane, J.H., Top, C., 2002. Physical methods, Methods of soil analysis. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
- Datta, P., Kulkarni, M., 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in sugarcane rhizosphere in relation with soil properties. *Not. Sci. Biol.* 4, 66-74.
- Dave, S., Tarafdar, J.C., 2011. Stimulatory synthesis of saponin by mycorrhizal fungi in safed musli (*Chlorophytum borivillianum*) tubers. *Int. Res. J. Agr. Sci. Soil Sci.* 1, 137-141.
- De Bary, A., 1879. Die Erscheinung der Symbiose. Von Karl J. Trubner, Strassburg.
- De Boer, W., Kowalchuk, G.A., 2001. Nitrification in acid soils, microorganisms and mechanisms. *Soil. Biol. Biochem.* 33, 853-866.
- Demoling, F., Figueroa, D., Baath, E., 2007. Comparison of factors limiting bacterial growth in different soils. *Soil. Biol. Biochem.* 39, 2485-2495.
- Eaton, A., Rice, E., Baird, R., 1999. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Edward, F.G., 1999. *Chlorophytum comosum*, in: Department, E.H. (Ed.). Institute of Food and Agricultural Sciences, Gainesville, Florida.
- Entry, J., Rygiewicz, P., Watrud, L., Donnelly, P., 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. *Adv. Environ. Res.* 7, 123-138.
- España-Gamboa, E., Mijangos-Cortes, J., Barahona-Perez, L., Dominguez-Maldonado, J., Hernández-Zarate, G., Alzate-Gaviria, L., 2011. Vinasses: characterization and treatments. *Waste Manag. Res.* 29, 1235-1250.
- FAO, 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., 2007. Microbiología Agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico y planta-microorganismo. Editorial Trillas, San Diego, USA.
- Finlay, R.D., 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *J. Exp. Bot.* 59, 1115-1126.





Fitter, A.H., Helgason, T., Hodge, A., 2011. Nutritional exchanges in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: implications for sustainable agriculture. *Fungal Biol. Rev.* 25, 68-72.

Frank, A.B., 1887. Ueber neue Mykorrhiza-Formen. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 5, 395-409.

Fries, L.L.M., Pacovsky, R.S., Safir, G.R., Siqueira, J.O., 1997. Plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal colonization affected by exogenously applied phenolic compounds. *J. Chem. Ecol.* 23, 1755-1767.

Gadkar, V., David-Schwartz, R., Kunik, T., Kapulnik, Y., 2001. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization. Factors involved in host recognition. *Plant Physiology* 127, 1493-1499.

García, A., 2007. Experiencias en el uso de vinazas para la recuperación de suelos salinos sódicos en el Valle del Cauca, Seminario sobre Potasio y su importancia en el manejo de la Caña de azúcar. Asocaña, Cali, Colombia.

Gianchini, C.F., Ferraz, M.V., 2009. Benefícios da utilização de vinhaça em terras de plantio de cana-de-açúcar-Revisão de Literatura. *Revista Científica Eletrônica de Agronomia* 15.

Gianinazzi-Pearson, V., Azcón-Aguilar, C., 1991. Fisiología de las micorrizas vesículo-arbusculares, Fijación y movilización biológica de nutrientes, fijación de N y micorrizas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, España, pp. 175-202.

Goldberg, S., Suarez, D.L., Glaubig, R.A., 1988. Factors affecting clay dispersion and aggregate stability in arid zone soils. *Soil. Sci.* 146, 317-326.

Govindarajulu, M., Pfeffer, P.E., Jin, H.R., Abubaker, J., Douds, D.D., Allen, J.W., Bucking, H., Lammer, P.J., Shachar-Hill, Y., 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature* 435, 819-823.

Grinsted, M.J., Hedley, R.E., Nye, P.H., 1982. Plant induced changes in the rhizosphere of rape (*Brassica napus* var. emerald) seedlings I. pH changes and the increase in P concentration in the soil solution. *New Phytologist* 91, 19-29.

Guerrero, E., Rivillas, C., Rivera, E., 1996. Perspectivas de manejo de la micorriza arbuscular en ecosistemas tropicales, Micorrizas. *Recurso Biológico del suelo, Colombi, Bogotá*, pp. 181-201.

Guyton, A., Hall, J., 2006. *Textbook of medical physiology*. Elsevier, Barcelona, España.

Hernández, M.I., 2000. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como complemento de la nutrición mineral de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova". Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba.

Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J., Blackwell, M., Cannon, P., Eriksson, O., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P., Lücking, R., Thorsten Lumbsch, H., Lutzoni, F., Matheny, P., McLaughlin, D., Powell, M., Redhead, S., Schoch, C., Spatafora, J., Stalpers, J., Vilgalys, R., Aime, M., Aptroot, A., Bauer, R., Begerow, D., Benny, G., Castlebury, L., Crous, P., Dai, Y., Gams, W., Geiser, D., Griffith, G., Gueidan, C., Hawksworth, D., Hestmark, G., Hosaka, K., Humber, R., Hyde, K., Ironside, J., Kõljalg, U., Kurtzman, C., Larsson, K., Lichtwardt, R., Longcore, J., Miadlikowska, J., Miller, A., Moncalvo, J., Mozley-Standridge, S., Oberwinkler, F., Parmasto, E., Reeb, V.,



- Rogers, J., Roux, C., Ryvarde, L., Sampaio, J., Schüssler, A., Sugiyama, J., Thorn, R., Tibell, L., Untereiner, W., Walker, C., Wang, Z., Weir, A., Weiss, M., White, M., Winka, K., Yao, Y., Zhang, N., 2007. A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Mycol. Res.* 111, 509-547.
- Hodge, A., Helgason, T., Fitter, A.H., 2010. Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology* 3, 267-273.
- Horan, D.P., Chilvers, G.A., 1990. Chemotropism-the key to ectomycorrhizal formation? *New Phytol.* 116, 297-301.
- INEGI, 2014. Guía para la Interpretación de Cartografía Edafología.
- Iñiguez, G., Acosta, N., Liliana, M., Parra, J., González, O., 2005a. Utilización de subproductos de la industria tequilera. Parte 7. Compostaje de bagazo de agave y vinazas. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 21(1), 37-50.
- Iñiguez, G., Acosta, T.N., Martínez, C.L., Parra, J., González, Q., 2005b. Utilización de subproductos de la industria tequilera. Parte 7. Compostaje de bagazo de agave y vinazas tequileras. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 17, 37-50.
- Jacquot-Plumey, E., Van Tuinen, D., Chatagnier, O., Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V., 1996. 25S rDNA-based molecular monitoring of Glomalean fungi in sewage sludge treated field plots. *Environ. Int.* 3, 525-531.
- Jarstfer, A.G., Sylvia, D.M., 1992. The production and use of aeroponically growth inocula of VAM in the native plant nursery. Florida Sea Grant College.
- Jiménez, A.M., Borja, R., Martín, A., 2003. Aerobic/anaerobic biodegradation of beet molasses alcoholic fermentation wastewater. *Process Biochemistry* 38, 1275-1284.
- Johansen, A., Jakonsen, I., Jensen, E.S., 1992. Hyphal transport of ¹⁵N-labelled nitrogen by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. *New Phytol.* 122, 281-288.
- Johnson, N., Tilman, D., Wedin, D., 1992a. Plant and soil controls on mycorrhizal fungal communities. *Ecology* 73, 2034-2042.
- Johnson, N.C., Copeland, P.J., Crookston, R.K., Pflieger, F.L., 1992b. Mycorrhizae: Possible explanation for yield decline with continuous corn and soybean. *Agron. J.* 84, 387-390.
- Kabir, Z., O'Halloran, J., Hamel, C., 1998. Dynamics of the mycorrhizal symbiosis of corn (*Zea mays* L.): effects of host physiology, tillage practice and fertilization on spatial distribution of extraradical mycorrhizal hyphae in the field. *Agriculture Ecosystems Environment* 68, 151-163.
- Khanam, Z., Singh, O., Rampal, S., Haq Bath, I.U., 2013. Safed musli (*Chlorophytum borivilianum*): A review of its botany, ethnopharmacology and phytochemistry. *Journal of Ethnopharmacology* 150, 421-441.
- Koltai, H., Kapulnik, Y., 2010. Phosphate transporters in arbuscular mycorrhizal symbiosis, *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Springer, New York, USA, pp. 117-135.



- Laime, E.M.O., Fernandes, P.D., Oliveira, D.C.S., Freire, E.A., 2011a. Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. R. Trop. Ci. Agr. Biol. 5, 16-29.
- Laime, E.M.O., Fernandes, P.D., Oliveira, D.C.S., Freire, E.A., 2011b. Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas 5, 16-29.
- Lamas-Robles, R., 2004. Industria tequilera, visión y tecnología de su desarrollo, in: AC, G.-M. (Ed.), Ciencia y tecnología del tequila; Avances y perspectivas. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Guadalajara, México, pp. 258-284.
- Lambers, H., Raven, J.A., Shaver, G.R., Smith, S.E., 2008. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. Trends Ecol. Evolut. 23, 95-103.
- Linerio-Gil, J.E., Guzmán-Carrillo, A., 2004. Tratamiento de efluentes y aprovechamiento de residuos, in: AC, G.-M. (Ed.), Ciencia y tecnología del tequila; Avances y perspectivas. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Guadalajara, México.
- López-López, A., Davila-Vazquez, G., León-Becerril, E., Villegas-García, E., Gallardo-Valdez, J., 2010. Tequila vinasses: generation and full scale treatment processes. Rev. Environ. Sci. Biotechnol. 9, 109–116.
- Lynn, D.G., Chang, M., 1990. Phenolic signals in cohabitation: Implications for plant development. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 41, 497-526.
- Madejon, E., Lopez, R., Murillo, J.M., Cabrera, F., 2001. Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: effect on crops and chemical properties of a Cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain). Agric. Ecosyst. Environ. 84, 53-65.
- Madrid, L., Díaz-Barrientos, E., 1998. Release of metals from homogenous soil columns by wastewater from an agricultural industry. Environ Pollut 101, 43-48.
- Maguran, A.E., 1988. Ecological diversity and its measurement. Princeton University, New Jersey.
- Malloch, D.W., Pirozynski, K.A., Raven, P.H., 1980. Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (A review). PNAS 77, 2113-2118.
- Mandal, G.D., Nandi, A.K., 2012. Morphological and anatomical circumscription for the identification of two source plants of aphrodisiac medicine - *Chlorophytum borivilianum* Santapau & Fernandes and *Chlorophytum tuberosum* (Roxb.) Baker. Int. J. Med. Ar. Plants 2, 406-410.
- Mardukhi, B., Rejali, F., Daei, G., Ardakani, M.R., Malakouti, M.J., Miransari, M., 2011. Arbuscular mycorrhizas enhance nutrient uptake in different wheat genotypes at high salinity levels under field and greenhouse conditions. C. R. Biologies 334, 564-571.
- Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London.
- Martín-Olmedo, P., Murillo, J.M., Cabrera, F., López, R., 1999. Sugarbeet (*Beta vulgaris*) response to residual soil N under Mediterranean agronomic practices. Journal of Agricultural Science 132,



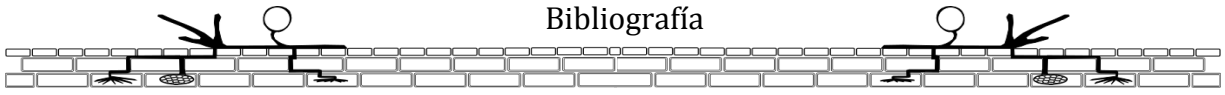
273-280.

- McMillen, B.G., Juniper, S., Abbott, L.K., 1998. Inhibition of hyphal growth of a vesicular arbuscular mycorrhizal containing sodium chloride of infection from fungus in soil limits the spread spores. *Soil. Biol. Biochem.* 30, 1639-1646.
- Mechri, B., Mariem, F.B., Baham, M., Elhadj, S.B., Hammami, M., 2008. Change in soil properties and the soil microbial community following land spreading of olive mill wastewater affects olive trees key physiological parameters and the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil. Biol. Biochem.* 40, 152–161.
- Mergulhao, A.C.E.S., Tabosa, H.A., Figueiredo, M.V.B., Maia, L.C., 2001. Salt stress response of *Brachiaria* plants with and without inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi. *Agrochimica* 45, 24-31.
- Moraes, S.B., Junqueira, T.L., Pavanello, L.G., Cavalett, O., Mantelatto, P.E., Bonomi, A., Zaiat, M., 2014. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy, environmental, and economic perspectives: Profit or expense? *Applied Energy* 113, 825-835.
- Morandi, D., 1996. Occurrence of phytoalexins and phenolic compounds in endomycorrhizal interactions, and their potential role in biological control. *Plant. Soil.* 185, 241-250.
- Morton, J.B., 1986. Three new species of *Acaulospora* (*Endogonaceae*) from high-aluminium, low pH soils in West Virginia. *Mycologia* 78, 641-648.
- Mukerji, K.G., Manoharachary, C., Chamola, B.P., 2002. *Techniques in mycorrhizal studies*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Mulvaney, R.L., 1996. Nitrogen inorganic forms, *Methods of soils analysis chemical methods*. Soil Science Society of America Inc. American Society of Agronomy Inc., Madison, WI, USA, pp. 1123-1184.
- NMX-FF-109-SCFI-2007, Humus de lombriz (lombricomposta). Especificaciones y métodos de pruebas.
- NOM-001-SEMARNAT-1996, Límites máximos permisibles de contaminación en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
- NOM-001-SEMARNAT-1996, 1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
- NOM-021-SEMARNAT-2000, Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.
- Nye, P., Tinker, P.B., 1977. *Solute movement in the soil-root system*. Blackwell Scientific, Oxford, UK.
- Olsen, S.R., Watanabe, F., Dean, L., 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *USDA Circular Nr 939*, Washinton, D.C.
- Páez Ortégón, G., Muñoz Arboleda, F., Candela, L., Tamoh, K., Valdes-Abellan, J., 2016. Vinasse application to sugar cane fields. Effect on the unsaturated zone and groundwater at Valle del Cauca (Colombia). *Sci. Total Environ.* 539, 410-419.



- Pant, D., Adholeya, A., 2007. Biological approaches for treatment of distillery wastewater: A review. *Bioresource Technol.* 98, 2321–2334.
- Parnaudeau, V., Condom, N., Oliver, R., Cazevielle, P., Recous, S., 2008. Vinasse organic matter quality and mineralization potential, as influenced by raw material, fermentation and concentration processes. *Bioresource Technol.* 99, 1553–1562.
- Parniske, M., 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat. Rev. Microbiol.* 6, 763-775.
- Pederson, C.T., Safir, G.R., Siqueira, J.O., Parent, S., 1991. Effect of phenolic compounds on asparagus mycorrhiza. *Soil. Biol. Biochem.* 5, 491-494.
- Peet, R.K., 1974. The measurement of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5, 285-307.
- Peterson, L.R., Hugues, B., Massicotte, Melville, H.L., 2004. *Mycorrhizas: Anatomy and cell biology.*
- Qiu, S., Xie, j., Zhao, S., Xu, X., Hou, Y., Wang, X., Zhou, W., He, P., Johnston, A.M., Christie, P., Jin, J., 2014. Long-term effects of potassium fertilization on yield, efficiency, and soil fertility status in a rain-fed maize system in northeast China. *Field Crops Research* 163, 1-9.
- Quiroz, M.T., Rojas, P.H., 2009. Cambios en la estabilidad estructural de un Molisol tratado con vinaza. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- Ramírez Gómez, M., Rodríguez Villate, A., 2010. Señales de reconocimiento entre plantas y hongos formadores de micorriza arbuscular. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 11, 53-60.
- Read, D.J., 1999. The state of the art, in: Hock, A.V.a.B. (Ed.), *Mycorrhiza* 2nd, Second ed. Springer-Verlag, Berling, Heidelberg, pp. 3-34.
- Read, D.J., Perez-Moreno, J., 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems - a journey towards relevance? *New. Phytol.* 157, 475-492.
- Renault, P., Cazevielle, P., Verdier, J., Lahlah, J., Clara, C., Favre, F., 2009. Variations in the cation exchange capacity of a ferralsol supplied with vinasse, under changing aeration conditions: Comparison between CEC measuring methods. *Geoderma* 154, 101-110.
- Reyes, J.I., 2002. Asociaciones biológicas en el suelo: la micorriza arbuscular (MA). *ContactoS* 44, 5-10.
- Reynolds, H.L., Hartley, A.E., Vogelsang, K.M., Bever, J.D., Schultz, P.A., 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi do not enhance nitrogen acquisition and growth of old-field perennials under low nitrogen supply in glasshouse culture. *New. Phytol.* 167, 869-880.
- Ribeiro, B.T., Lima, J.M., Guilherme, L.R.G., Julião, L.G.F., 2010. Lead sorption and leaching from an Inceptisol sample amended with sugarcane vinasse. *Scientia Agricola* 67, 441-447.
- Rillig, M.C., Mummey, D.L., 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New. Phytol.* 171, 41-53.
- Robles-González, V., Galíndez-Mayer, J., Rinderknecht-Seijas, N., Poggi-Varaldo, H., 2012. Treatment of mezcal vinasses: A review. *Journal of Biotechnology* 157, 521-546.

- Sánchez-Viveros, G., Carrillo-González, R., Martínez-Garza, A., González-Chávez, M.C., 2004. Tolerancia adaptativa de hongos micorrízicos arbusculares al crecer en sustratos contaminados con As Y Cu. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 20(4), 147-158.
- Sánchez, M., 1999. *Endomicorrizas, Agroecosistemas colombianos*. Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Bogotá.
- Santos, M., Diáñez, F., de Cara, M., Tello, J., 2008. Possibilities of the use of vinasses in the control of fungi phytopathogens. *Bioresour. Technol.* 99, 9040-9043.
- Schenck, N.C., Siqueira, J.O., 1987. Ecology of VA mycorrhizal fungi in temperate agroecosystems. In: Sylvia DM., Hung LL., Graham JH. *Mycorrhizae in the next decade. Practical applications and research priorities*, 7th North American Conference on Mycorrhizae, University of Florida, Gainesville, Fla, USA, pp. 2-4.
- Schreiner, R.P., Koide, R.T., 1993. Antifungal compounds from the root of mycotrophic and non-mycotrophic plant species. *New. Phytol.* 123, 99-105.
- Schubler, A., Schwarzott, D., Walker, C., 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution*. *Mycol. Res.* 105, 1413-1421.
- Schubler, A., Walker, C., 2010. *The Glomeromycota. A species list with new families and new genera*. The Royal Botanic Garden Kew, Munich and Oregon State University.
- Sieverding, E., 1991. Vesicular arbuscular mycorrhizae management in tropical agroecosystems, Federal Republic of Germany, Eschborn, p. 271.
- Siqueira, J.O., Safir, G.R., Nair, M.G., 1991a. Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. *Crit. Rev. Plant Sci.* 10, 63-121.
- Siqueira, J.O., Safir, G.R., Nair, M.G., 1991b. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhizae formation by flavonoid compounds. *New. Phytol.* 118, 87-93.
- Siqueira, J.O., Safir, G.R., Nair, M.G., 1991c. VA-mycorrhizae and mycorrhiza stimulating isoflavonoid compounds reduce plant herbicide injure. *Plant. Soil.* 134, 233-242.
- Smith, S.E., Read, D.J., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, Cambridge.
- Sparks, D.L., 1996. *Chemical Methods, Methods Of Soil Analysis*. Soil Science Society Of America, Madison, Wisconsin.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2006a. *Fisiología Vegetal*, Tercera ed, USA.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2006b. *Plant physiology*, USA.
- Tejada, M., Moreno, J.L., Hernandez, M.T., Garcia, C., 2007. Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in and environment in southern Spain. *Agric. Ecosyst. Environ.* 119, 289-298.
- Tejada, M., García-Martínez, A.M., Parrado, J., 2009. Effects of a vermicompost composted with beet vinasse on soil properties, soil losses and soil restoration. *Catena* 77, 238-247.
- Tejada, M., Moreno, J.L., Hernandez, M.T., Garcia, C., 2007. Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in an arid environment in southern Spain. *Agric. Ecosyst. Environ.* 119, 289-298.



Thangavelu, M., Sivalingam, V., 2010. Comparison of arbuscular mycorrhizal and dark septate endophyte fungal associations in soils irrigated with pulp and paper mill effluent and well-water. *European Journal of Soil Biology* 46, 157-167.

Tiedje, J.M., Asuming-Brempong, S., Nusslein, K., Marsh, T.L., Flynn, S.J., 1999. Opening the black box of soil microbial diversity. *Appl. Soil. Ecol.* 13, 109-122.

Tinker, P.B., 1975. Soil chemistry of phosphorus and mycorrhizal effects on plant growth, in: Sanders, F.E., Mosse, B., Tinker, P.B. (Eds.), *Endomycorrhizas*. Academic Press, London, UK, pp. 353-371.

Tisdall, J.M., Oades, J.M., 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil Sci.* 33, 141-163.

Toljander, J.F., Lindahl, B.D., Paul, L.R., Elfstrand, M., Finlay, R.D., 2007. Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure. *FEMS Microbiol. Ecol.* 61, 295-304.

Tsai, S.M., Phillips, D.A., 1991. Flavonoids released naturally from alfalfa promote development of symbiotic *Glomus* spores in vitro. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 1485-1488.

Uehara, G., Gillman, G.P., 1981. *The mineralogy, chemistry, and physics of tropical soils with variable charge clays*. Westview Press, Inc, Boulder, Colorado.

USDA, 2014. *Soil Survey Manual*, United States Department of Agriculture, Washington, DC.

USEPA, 2004a. *Guidelines for Water Reuse, Agricultural Reuse*, Washington, DC.

USEPA, 2004b. *Guidelines for water reuse, agricultural reuse*, Washington, DC.

Vacacela Quizhpe, V.M., 2012. *Micorrizas, Agronomía*. Universidad de Pinar del Río "Hnos Saíz Montes de Oca", Ecuador.

Vázquez, M.M., César, S., Azcón, R., Barea, J.M., 2000. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. *Appl. Soil. Ecol.* 15, 261-272.

Velásquez Pomar, D.C., Sánchez de Prager, M., 2011. Efecto de Vinazas sobre Hongos que Forman Micorriza Arbuscular en un Molisol del Valle del Cauca, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 64(1), 5755-5767.

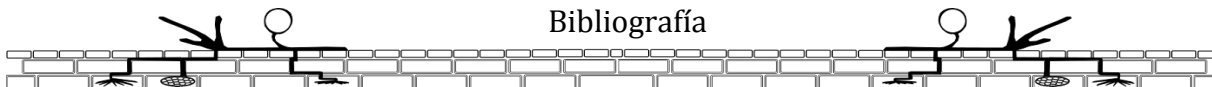
Veresoglou, S.D., Chen, B., Rillig, M.C., 2012. Arbuscular mycorrhiza and soil nitrogen cycling. *Soil. Biol. Biochem.* 46, 53-62.

Vierheilig, H., Piché, Y., 2002. Signalling in arbuscular mycorrhiza: facts and hypotheses. *Adv. Exp. Med. Biol.* 505, 23-39.

Vierheilig, H., Piché, Y., 2002. Signaling in arbuscular mycorrhiza: facts and hypotheses, in: Manthey J, B.B. (Ed.), *Flavonoids in the living system*, New York: Plenum Press.

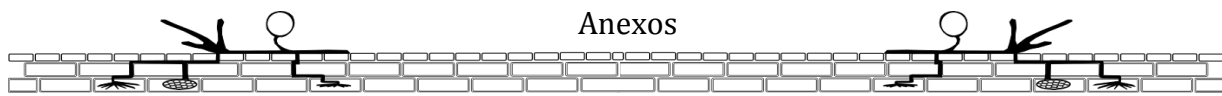
Wacker, T.L., Safir, G.R., Stephens, C.T., 1990. Effects of ferulic acid on *Glomus fasciculatum* and associated effects on phosphorus uptake and growth on asparagus (*Asparagus officinalis*). *J.*





- Chem. Ecol. 16, 901-909.
- Wall, D.H., Fitter, A.H., Paul, E.A., 2005. Developing new perspectives from advances in soil biodiversity research, Biological diversity and function in soils. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 3-27.
- Wang, Y., Wu, D., Wang, N., Hu, S., 2011. Effect of *Chlorophytum comosum* growth on soil enzymatic activities of lead-contaminated soil. Procedia Environmental Sciences 10, 709-714.
- Wilcox, H.E., 1991. Mycorrhizae, in: Dekker, M. (Ed.), Plant Roots: The Hidden Half, New York, pp. 731-765.
- Xu, P., Liang, L.-Z., Dong, X.-Y., Xu, J., Jiang, P.-K., Shen, R.-F., 2014. Response of Soil Phosphorus Required for Maximum Growth of *Asparagus officinalis* L. to Inoculation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Pedosphere 24, 776-782.
- Zak, J.C., Sinsabaugh, R., MacKay, W.P., 1995. Windows of opportunity in desert ecosystems: their implications to fungal development. Can. J. Bot. 1407-1414.
- Zhang, X., Zhu, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Liu, S., Guo, J., Li, R., Wu, S., Chen, B., 2014. Growth and metal uptake of energy sugarcane (*Saccharum* spp.) in different metal mine tailings with soil amendments. J. Environ. Sci. 26, 1080-1089.





9 ANEXOS

9.1 Imágenes de especies de HMA a lo largo del experimento (D0-M4)

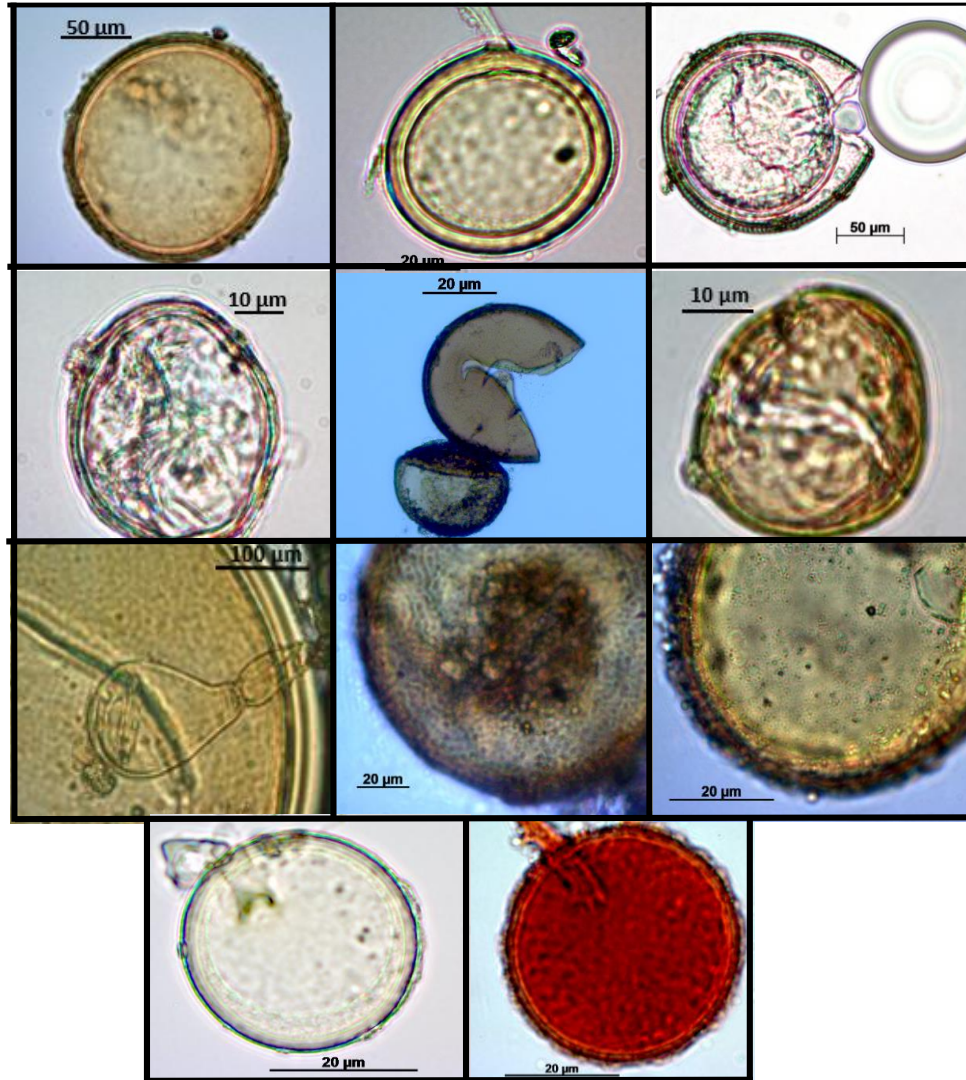


Figura 27. Identificación de las especies de HMA encontradas en el D0. a) *A. mellea*, b) *A. mosseae*, c) *A. scrobiculata*, d) *P. occultum*, e) *F. geosporum*, f) *A. delicata*, g) *G. margarita*, h) *A. foveata*, i) *A. spinosa*, j) *R. intraradices* y k) *R. fasciculatum*.



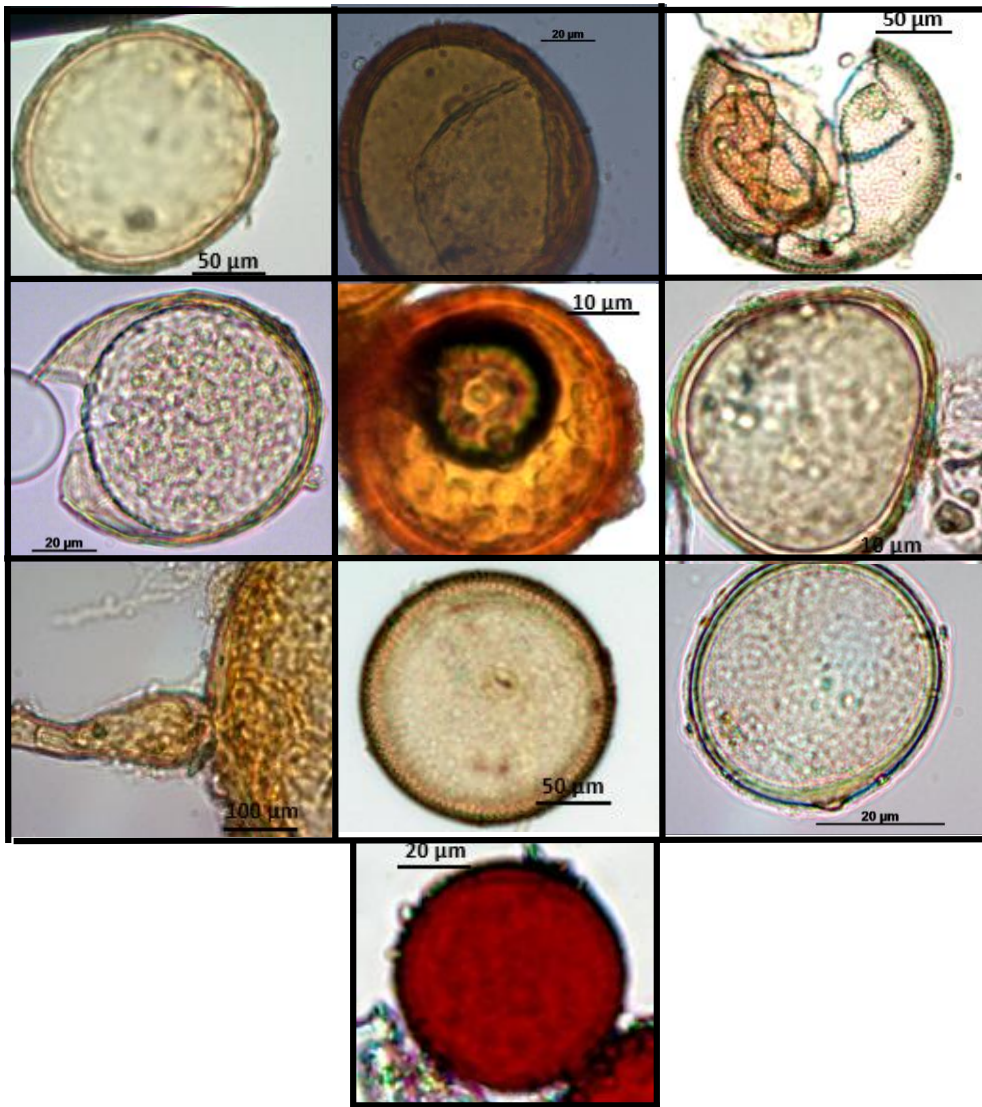


Figura 28. Identificación de las especies de HMA encontradas en el M1. a) *A. mellea*, b) *A. mosseae*, c) *A. scrobiculata*, d) *P. occultum*, e) *F. geosporum*, f) *A. delicata*, g) *G. margarita*, h) *A. foveata*, i) *R. intraradices* y j) *R. fasciculatum*.

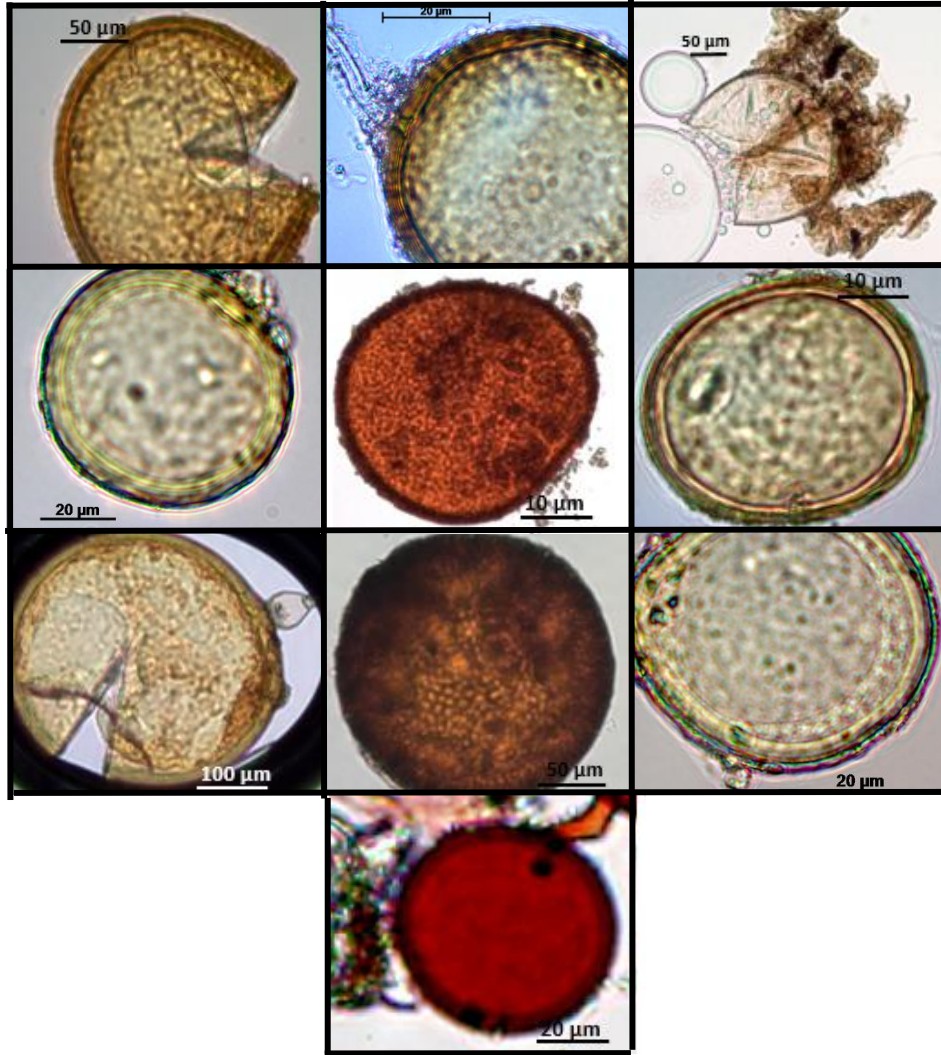
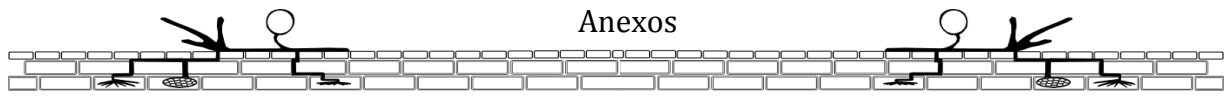


Figura 29. Identificación de las especies de HMA encontradas en el M2. a) *A. mellea*, b) *A. mosseae*, c) *A. scrobiculata*, d) *P. occultum*, e) *F. geosporum*, f) *A. delicata*, g) *G. margarita*, h) *A. foveata*, i) *R. intraradices* y j) *R. fasciculatum*.



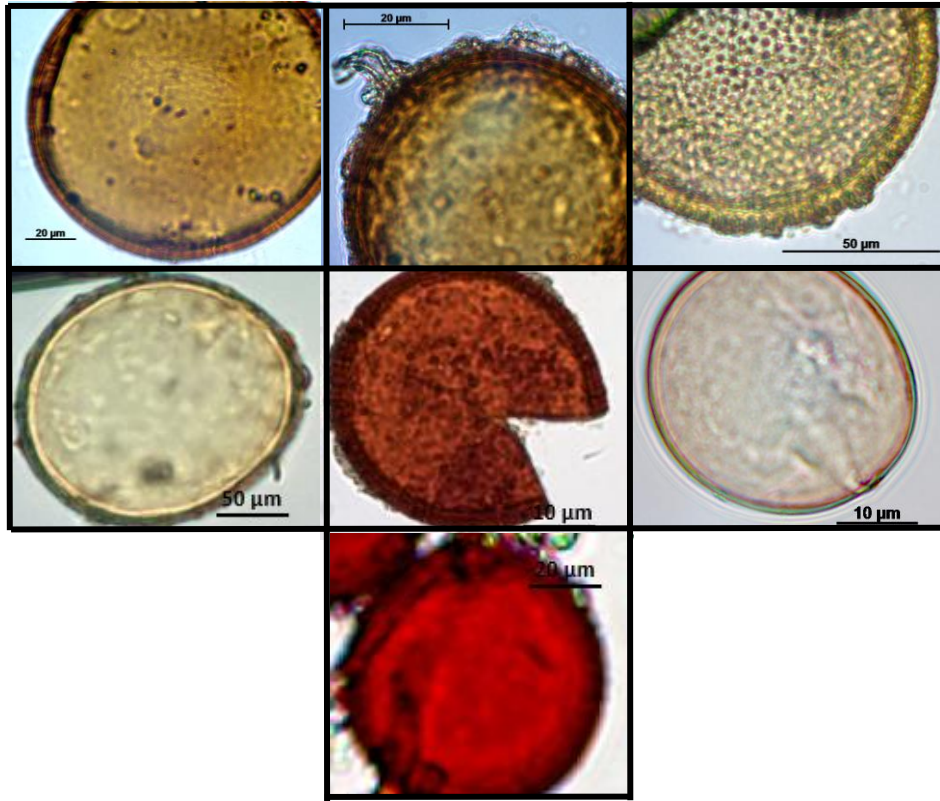
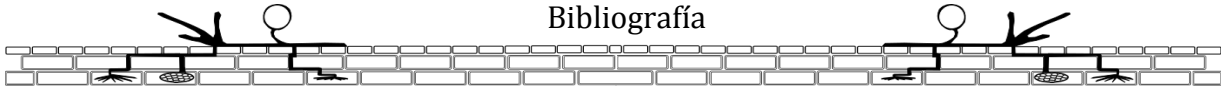


Figura 30. Identificación de las especies de HMA encontradas en el M3. a) *A. mellea*, b) *A. mosseae*, c) *A. scrobiculata*, d) *P. occultum*, e) *F. geosporum*, f) *R. intraradices* y g) *R. fasciculatum*.

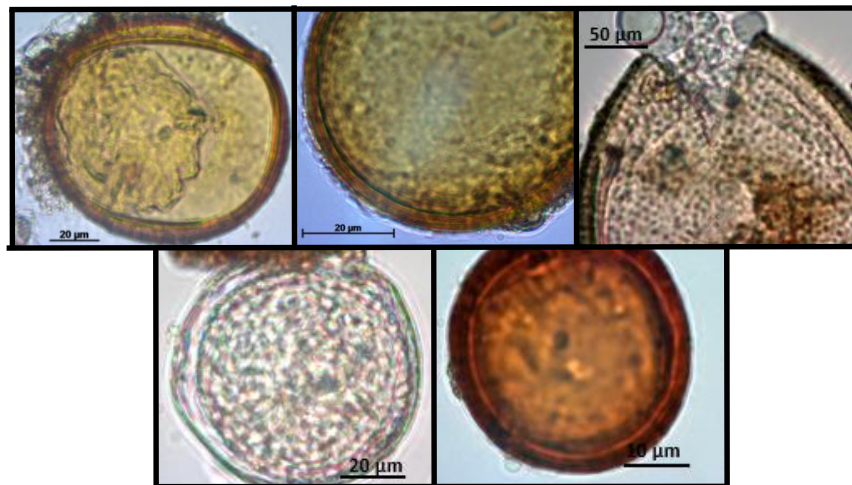
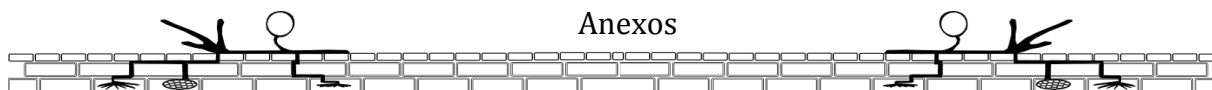


Figura 31. Identificación de las especies de HMA encontradas en el M4. a) *A. mellea*, b) *A. mosseae*, c) *A. scrobiculata*, d) *P. occultum*, e) *F. geosporum*.





9.2 Especies de HMA encontradas en éste trabajo

Tabla 16. Especies de HMA encontradas en éste experimento, autores de sus nombres y año en asignación de nombre.

Especie	Autor	Año
<i>Acaulospora delicata</i>	C. Walker, C. M. Pfeiffer & Bloss	1986
<i>Acaulospora foveata</i>	Trappe & Janos	1982
<i>Acaulospora laevis</i>	Gerd. % Trappe	1974
<i>Acaulospora mellea</i>	Spain & N. C. Schenck	1984
<i>Acaulospora morrowiae</i>	Spain & N. C. Schenck	1984
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	Trappe	1977
<i>Acaulospora spinosa</i>	C. Walker & Trappe	1981
<i>Acaulospora</i> sp.	-	-
<i>Clareidoglopus etunicatum</i>	Becker & Gerdemann	-
<i>Funneliformis constrictum</i>	(Trappe) C. Walker & A. Schußler	2010
<i>Funneliformis geosporum</i>	(T. H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schußler	2010
<i>Funneliformis mosseae</i>	(T. H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schußler	2010
<i>Gigaspora margarita</i>	W.N. Becker & I. R. Hall	1976
<i>Paraglopus occultum</i>	(C. Walker) J. B. Morton & D. Redecker	2001
<i>Racocetra gregaria</i>	(N. C. Schenck & t. H. Nicolson) Oehl, F. A, Souza & Sieverd.	2009
<i>Scutellospora reticulata</i>	Koske, D. D. Mill. & C. Walker) C. Walker & F. E. Senders	1986
<i>Rhisophagus intraradices</i>	(N. C. Schenck & G. S. Sm.) C. Walker & A. Schußler	2010
<i>Rhisophagus fasciculatum</i>	(Thaxt.) C. Walker & A. Schußler	2010

