



## DIVERSIDAD Y PROPAGACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NATIVOS DE UN CAFETAL ORGÁNICO EN CHIAPAS, MÉXICO

## DIVERSITY AND PROPAGATION OF NATIVE ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI FROM AN ORGANIC COFFEE PLANTATION IN CHIAPAS, MEXICO

Kristell K. Robles-González<sup>1</sup>, José D. Álvarez-Solís<sup>1\*</sup>,  
Vincenzo Bertolini<sup>2</sup> y Yolanda C. Pérez-Luna<sup>3</sup>

<sup>1</sup>El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. <sup>2</sup>ECOSUR, Unidad Tapachula, Tapachula, Chiapas, México.

<sup>3</sup>Universidad Politécnica de Chiapas, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

\* Autor de correspondencia (dalvarez@ecosur.mx)

### RESUMEN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) viven en una simbiosis mutualista con la mayoría de las plantas terrestres, mediante la cual pueden incrementar la absorción de minerales y el crecimiento de las plantas. El objetivo del presente estudio fue determinar la diversidad de HMA nativos asociados con un cafetal orgánico, y evaluar el efecto de la planta hospedera y la composición del sustrato sobre la propagación del consorcio de HMA nativos. Se recolectó una muestra compuesta de suelo en la rizosfera de arbustos de café (*Coffea arabica* L.) y se realizó la identificación morfológica de especies, la abundancia y la diversidad de HMA. En invernadero, se realizó la propagación del consorcio micorrízico en plantas trampa de café, frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), maíz (*Zea mays* L.) y pasto Insurgente (*Brachiaria brizantha* Trin. Griseb). Para cada especie de planta trampa dos tipos de sustrato, con y sin abono orgánico, fueron inoculados con 200 g de suelo que contenía 556 esporas del consorcio micorrízico procedente del cafetal. En el suelo del cafetal se identificaron 18 especies de HMA, siendo *Acaulospora* el género predominante. La abundancia fue de  $139 \pm 3.7$  esporas/50 g de suelo y las raíces finas de café presentaron 86 % de colonización. En la propagación del consorcio de HMA se encontró mayor esporulación en maíz en sustrato con abono ( $134 \pm 2.9$  esporas/50 g de suelo) en relación con las otras plantas, mientras que la diversidad de HMA fue más alta en frijol con abono (nueve especies, con índice de Shannon-Wiener de 2.03). De las especies encontradas, *Glomus multicaule* y *Funneliformis monosporus* constituyen nuevos registros para Chiapas. En conclusión, el cafetal orgánico tuvo alta diversidad de HMA, y maíz y frijol son plantas hospederas con potencial para la propagación de HMA nativos provenientes de cafetos.

**Palabras clave:** *Acaulospora*, *Coffea arabica*, biofertilizantes, plantas trampa, rizosfera.

### SUMMARY

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) live in mutualistic symbiosis with most terrestrial plants, through which they can increase mineral uptake and plant growth. The objective of this study was to determine the diversity of native AMF associated to an organic coffee plantation, and to evaluate the effect of the host plant and the composition of the substrate on the propagation of the native AMF consortium. A composite soil sample was collected in the rhizosphere of coffee bushes (*Coffea arabica* L.), and morphological identification of species, abundance and diversity of AMF was performed. In the greenhouse, the mycorrhizal consortium was propagated in trap plants of

coffee, beans (*Phaseolus vulgaris* L.), maize (*Zea mays* L.) and Insurgent grass (*Brachiaria brizantha* Trin. Griseb). For each species of the trap plant, two types of substrate, with and without organic compost, were inoculated with 200 g of soil containing 556 spores of the mycorrhizal consortium from the coffee plantation. In soil of the coffee plantation, 18 species of AMF were identified, with *Acaulospora* being the predominant genus. The abundance was  $139 \pm 3.7$  spores/50 g of soil and fine coffee roots showed 86 % colonization. In the propagation of the AMF consortium, greater sporulation was found in maize in composted substrate ( $134 \pm 2.9$  spores/50 g of soil) in relation to the other plants, while the diversity of AMF was higher in beans with compost (nine species, with Shannon-Wiener index of 2.03). Of the species found, *Glomus multicaule* and *Funneliformis monosporus* constitute new records for Chiapas. In conclusion, the organic coffee plantation had high diversity of AMF, and maize and beans are host plants with potential for the propagation of native AMF from coffee bushes.

**Index words:** *Acaulospora*, *Coffea arabica* L., biofertilizers, rhizosphere, trap plants.

### INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son habitantes naturales del suelo que viven comúnmente en una simbiosis mutualista con la mayoría de las plantas terrestres, mediante la cual pueden favorecer la absorción de agua y nutrimentos por las plantas (Smith y Read, 2008). Otros beneficios para las plantas incluyen una mayor tolerancia al estrés por trasplante, por déficit hídrico, por la presencia de metales pesados y protección frente a fitopatógenos del suelo (Smith y Read, 2008). Esto ha despertado el interés de conocer la diversidad de especies de HMA en cultivos de importancia en México, como el café (Bertolini *et al.*, 2018; 2020; Posada *et al.*, 2016); asimismo, la inoculación de consorcios nativos de HMA del cafetal ha mostrado efectos positivos en el crecimiento de plántulas de algunas variedades de café y su sobrevivencia al trasplante en campo (Hernández-Acosta *et al.*, 2020; Trejo *et al.*, 2011).

En la región Altos de Chiapas, México se presenta una zona cafetalera que alberga una gran riqueza biocultural para la producción agrícola, llevada a cabo por campesinos indígenas; por ejemplo, el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) orgánico. El cultivo de café orgánico en esta región se realiza en parcelas pequeñas, con sombra de árboles nativos y prácticas de manejo bajo los estándares de la certificación orgánica. Las parcelas de café se encuentran generalmente en colindancia con la milpa, el frijol y el huerto familiar (Soto-Pinto *et al.*, 2022). Los sistemas agrícolas orgánicos albergan mayor riqueza de HMA que los sistemas agrícolas convencionales, e incluso, más alta que los pastizales (Oehl *et al.*, 2009). La aplicación de abonos orgánicos permite mantener la fertilidad del suelo, promover el manejo sustentable de la tierra (Contreras *et al.*, 2019), mejorar la esporulación y no alterar la riqueza y composición de la comunidad de HMA (Yang *et al.*, 2018). Algunos estudios han mostrado que en los cafetales habita una rica comunidad de HMA. Posada *et al.* (2016) encontraron 85 especies de HMA en ocho plantaciones de café en Colombia y México. Estos autores indicaron que cafetales con policultivo de árboles de sombra albergan más diversidad de HMA que bosques nativos. Bertolini *et al.* (2018; 2020) encontraron 20 y 27 especies de HMA en cafetales de la región del Soconusco, Chiapas, México. Trejo *et al.* (2011) reportaron 10 especies de HMA en plantaciones de café en Veracruz; sin embargo, se desconoce acerca de la diversidad de especies de HMA que es posible encontrar en algún cafetal con manejo orgánico en la región Altos de Chiapas. Este conocimiento, junto con la generación de tecnología que favorezca la propagación de consorcios nativos de HMA, podría ayudar a mejorar la nutrición y el crecimiento de las plantas de café.

Los HMA son simbioses obligados que requieren la presencia de una planta hospedera para completar su ciclo de vida (Berruti *et al.*, 2016; Ijdo *et al.*, 2011), esto implica que no pueden ser propagados en medios de cultivo artificiales en laboratorio. Algunos estudios han evaluado la respuesta de plantas hospederas a la inoculación con diferentes especies de HMA, a fin de identificar aquellas que favorecen la esporulación y desarrollan altos niveles de colonización de HMA en sus raíces (Esquivel-Quispe, 2020; Yao *et al.*, 2010). Las plantas hospederas que han mostrado cualidades favorables de esporulación y colonización micorrízica han sido utilizadas como cultivos trampa en estudios de biodiversidad y para la propagación de HMA nativos (Moreira *et al.*, 2007; Oehl *et al.*, 2009). El sistema de propagación que ha sido más empleado debido a la facilidad de su establecimiento se basa en el uso de sustratos, tales como suelo, mezclas de suelo con arena o con abono orgánico (Esquivel-Quispe, 2020; Moreira *et al.*, 2007); no obstante, la propagación de consorcios nativos de HMA es motivo de análisis, ya

que factores relacionados con la composición del sustrato y la especie hospedera podrían influir en la propagación de las especies presentes en el inóculo inicial (Aguilar-Ulloa *et al.*, 2016; Berruti *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2018). El presente estudio tuvo como objetivo determinar la diversidad de HMA nativos procedentes de un cafetal de Chiapas, México con manejo orgánico, y evaluar el efecto de la planta hospedera y la composición del sustrato sobre la propagación del consorcio nativo de HMA en condiciones de invernadero. Como hipótesis, se espera que el cafetal orgánico albergue alta diversidad de HMA y que ésta sea eficazmente propagada en el sustrato y la planta hospedera con características favorables para la colonización y esporulación de HMA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diversidad de HMA

El muestreo de HMA se realizó en un cafetal (*Coffea arabica* L.) orgánico con asociación de árboles de chalum (*Inga* sp.), naranja (*Citrus × sinensis* L.), aguacate (*Persea americana* Mill.) y plátano (*Musa* sp.), ubicado en la localidad de Chimtí, municipio de Chenalhó, Chiapas, México (16° 56' 05" N, 92° 35' 40" O), a una altitud media de 1402 m. El clima es semicálido húmedo con abundantes lluvias en verano, con precipitación media anual de 1740 mm y temperatura media anual entre 18 y 22 °C (Díaz *et al.*, 2000). El tipo de suelo corresponde a Luvisol crómico, con vegetación circundante de bosque mesófilo de montaña y vegetación secundaria arbustiva y herbácea (Plascencia-Vargas *et al.*, 2014). Las prácticas de manejo del cafetal se realizan de acuerdo con los estándares de la producción orgánica y sin aplicación de agroquímicos (SAGARPA, 2013). La parcela pertenece a un productor de la etnia Maya-Tsotsil asociado a la Unión de Productores Orgánicos Beneficio Majomut de S. de P. R. de R. L. El café orgánico está certificado por CERTIMEX.

En febrero de 2021 se realizó un muestreo de suelo y raíces finas mediante la recolecta de 15 submuestras obtenidas en la zona de goteo de la copa de los cafetos, aproximadamente a 90 cm de la base del tallo principal y con una profundidad de 20 cm; posteriormente, las submuestras se mezclaron para formar una muestra compuesta. Las esporas de HMA se extrajeron con la técnica de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963), en combinación con la técnica de gradiente de sacarosa. Se utilizaron cuatro réplicas de 50 g de suelo y se realizó una agitación mecánica para separar las esporas del suelo; posteriormente, se realizó una centrifugación a 2500 rpm en agua, seguida de otra centrifugación a 1200 rpm en solución de sacarosa 60 %. Las esporas se extrajeron y se observaron en un

microscopio estereoscópico (Stereove-S5, Velab, McAllen, Texas, EUA) y se agruparon de acuerdo con caracteres morfológicos similares como el color, forma y tamaño. La abundancia de las esporas de HMA se determinó mediante conteo directo y se colocaron en portaobjetos utilizando alcohol polivinílico lactoglicerol (PVLG) para el montaje y tinción con reactivo de Melzer (INVAM, 2021; Schenck y Pérez, 1990). Las muestras fueron observadas con un microscopio óptico compuesto (Motic, BA310, Bogotá, Colombia) con objetivo 100X, con la finalidad de observar los tipos de esporas con base en el color, tamaño, tipo de hifa, ornamentación de la superficie y composición de la pared.

La determinación taxonómica se realizó mediante las descripciones de las especies reportadas en INVAM (2021). La nomenclatura taxonómica que se utilizó fue la propuesta por Schüßler y Walker (2010). Con los datos del número de esporas de las cuatro réplicas de 50 g de suelo de la muestra compuesta y la identidad taxonómica de HMA se obtuvo el índice de diversidad de Shannon-Wiener ( $H'$ ) mediante la siguiente fórmula:  $H' = -\sum p_i \ln p_i$ , siendo  $p_i$  el número de esporas de un morfotipo dividido entre el total de esporas aisladas (Shannon y Wiener, 1949). Las laminillas de referencia fueron depositadas en el Laboratorio de Microbiología Agrícola, El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Unidad San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. La abundancia se determinó con el total de esporas de HMA en 50 g de suelo y la riqueza con el número de especies de HMA observadas. Para determinar la colonización micorrízica, las raíces fueron aclaradas con KOH y  $H_2O_2$  10 %, y teñidas con azul tripano en lactoglicerol 0.05 % (Phillips y Hayman, 1970); posteriormente, se observaron en un microscopio óptico compuesto (Motic, BA310, Bogotá, Colombia) con objetivo 100X. El porcentaje de colonización micorrízica se determinó en tres campos visuales equidistantes sobre cada segmento de raíz, y se registró la presencia o ausencia de estructuras micorrízicas como hifas cenocíticas, vesículas, arbuscúlos y esporas (Giovannetti y Mosse, 1980). Para obtener el porcentaje de colonización micorrízica se utilizó la fórmula de Sieverding (1983).

### Propagación del consorcio de HMA

La evaluación del efecto de la planta trampa y la composición del sustrato sobre la propagación del consorcio de HMA se realizó en condiciones de invernadero en las instalaciones de ECOSUR en San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. Los sustratos utilizados fueron esterilizados tres veces, en días consecutivos, en autoclave eléctrica vertical (Evar, EV-30, México) durante 1 h a 121 °C y presión de 1.05 kg cm<sup>-2</sup>. La propagación de los consorcios de HMA se realizó utilizando vasos de

unicel de 1 L de capacidad, previamente perforados para garantizar el drenaje, y desinfectados con hipoclorito de sodio 3 %; en seguida, el sustrato esterilizado se colocó hasta la altura del tercio superior del vaso; después, 200 g de la muestra compuesta de suelo obtenida del cafetal que contenía raíces finas del café y esporas del consorcio de HMA se añadieron al sustrato; finalmente, una capa de sustrato esterilizado se colocó como cubierta. Se aplicó riego con agua destilada estéril y se procedió a la siembra de las semillas a 2 cm de profundidad. Las plantas trampa evaluadas fueron café (*C. arabica* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), maíz (*Zea mays* L.) y pasto insurgente (*Brachiaria brizantha* Trin. Griseb). Antes de la siembra las semillas fueron tratadas con hipoclorito de sodio 0.5 % durante 15 min y lavadas con agua destilada estéril.

Dos tipos de sustratos se utilizaron, sin y con abono orgánico, y se mezclaron con arena de río previamente lavada. El sustrato sin abono consistió en la mezcla de suelo (50 %) y arena de río (50 %), mientras que el sustrato con abono consistió en la mezcla de suelo (25 %), arena de río (50 %) y abono orgánico (25 %). El abono orgánico que se utilizó se obtuvo de una pila de composta con lombrices rojas californianas (*Eisenia foetida* Sav.). La caracterización física y química de los sustratos y el suelo del cafetal fue realizada de acuerdo con la NOM-012-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2002). Se determinó la densidad aparente (método de probeta), textura con hidrómetro de Bouyoucos (Gilson, SA-2, Middleton, Wisconsin, EUA), pH con potenciómetro equipado con electrodo (Orion, Star A215, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA) en una suspensión de suelo y agua destilada 1:2 (p/v), materia orgánica por el método de combustión húmeda de Walkley y Black (1934), nitrógeno total mediante microKjeldahl, fósforo disponible por extracción con NaHCO<sub>3</sub> 0.5 M, pH 8.5 (espectrofotómetro Genesys 180, Thermofisher, Waltham, Massachusetts, EUA); capacidad de intercambio catiónico (CIC) y potasio intercambiable (K) con acetato de amonio 1N a pH 7 (Cuadro 1).

### Tratamientos, diseño experimental y análisis estadístico

Se establecieron un total de ocho tratamientos, producto de la combinación de cuatro especies de plantas (café, frijol, maíz y pasto) y dos sustratos (sin y con abono orgánico), en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones.

Al final del experimento, 93 días después de la siembra (dds), se evaluó el porcentaje de colonización micorrízica mediante la técnica de Phillips y Hayman (1970) y el número de esporas mediante la técnica de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson 1963). Con el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 23 se comprobó que los

Cuadro 1. Propiedades físicas y químicas del suelo del cafetal y de los sustratos utilizados para la propagación.

Tipos de sustrato	P (mg kg <sup>-1</sup> )	MO (%)	pH	NT (%)	K (cmol kg <sup>-1</sup> )	CIC (cmol kg <sup>-1</sup> )	Textura	DA (g mL <sup>-1</sup> )
SDC	31.78	3.53	6.40	0.54	0.55	43.14	Arc	0.91
SAO	3.98	2.48	8.30	0.27	0.30	18.48	Fra-Arc	1.41
SCO	67.60	11.26	7.81	0.53	0.94	39.64	Fra-Arc	1.14

SDC: suelo del cafetal, SAO: sustrato sin abono orgánico, SCO: sustrato con abono orgánico, P: fósforo disponible (Olsen), MO: materia orgánica (Walkley y Black, 1934), NT: nitrógeno total (microKjeldahl), K: potasio intercambiable, CIC: capacidad de intercambio catiónico (acetato de amonio 1N, pH 7), DA: densidad aparente (probeta), Arc: arcilloso, Fra-Arc: franco-arcilloso (SEMARNAT, 2002).

datos cumplieran los supuestos de distribución normal y homogeneidad de varianzas; después, se realizó análisis de varianza (ANOVA) y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversidad de HMA en un cafetal con manejo orgánico

Se registró un valor medio de  $139 \pm 3.7$  esporas/50 g de suelo seco ( $n = 4$ ), a partir de las cuales se identificaron 18 especies de HMA (Figura 1). Las especies correspondieron a los géneros *Acaulospora*, *Claroideoglossum*, *Diversispora*, *Funneliformis*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Rhizophagus* y *Scutellospora*. El número de especies identificadas fue similar al que ha sido encontrado en otros cafetales de Chiapas (Bertolini *et al.*, 2018; 2020) y Veracruz, México (Trejo *et al.*, 2011), aunque inferior al encontrado por Posada *et al.* (2016) en diversos cafetales de Colombia y México, con 81 y 79 especies respectivamente. La riqueza de especies de HMA varía entre cafetales debido a la influencia que tienen la época de muestreo, las condiciones edáficas y las prácticas de manejo en el ciclo de vida, la dinámica de colonización y la esporulación de HMA (Oehl *et al.*, 2009; Ontivero *et al.*, 2020).

Con respecto a la diversidad de especies de HMA del cafetal, se encontró un índice de Shannon-Wiener de 2.33, que lo ubica en un nivel alto de biodiversidad. Lo anterior puede estar relacionado con el manejo orgánico de la fertilidad del suelo y la diversidad de árboles de sombra del cafetal, debido a que ambos influyen de manera positiva en la comunidad de HMA (Hernández-Acosta *et al.*, 2021; Posada *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2018). De las especies que fueron identificadas, se encontró que *Acaulospora lacunosa* y *Claroideoglossum luteum* fueron frecuentes en las esporas extraídas de la muestra compuesta, mientras que *A. scrobiculata*, *A. aff. excavata*, *A. alpina*, *Scutellospora calospora*, *Diversispora eburnea* y *Gigaspora* sp. fueron menos frecuentes. Los géneros

*Acaulospora* y *Claroideoglossum* han sido observados con mayor frecuencia en las plantaciones de café (Hernández-Acosta *et al.*, 2021). Las especies del género *Acaulospora* se han encontrado en suelos ácidos y neutros, con pH entre 5.4 y 7.0 (Oehl *et al.*, 2010).

En este estudio el suelo del cafetal presentó pH de 6.4 y textura arcillosa, que son condiciones favorables para el cultivo de café (Posada *et al.*, 2016), por lo que posiblemente la combinación de características edáficas y prácticas de manejo promovió la diversidad de HMA (Stevens *et al.*, 2020).

Propagación del consorcio de HMA nativos del cafetal

Los tratamientos que contenían la planta de frijol, con y sin abono orgánico, presentaron consorcios de HMA con nueve especies cada uno e índice de diversidad de Shannon-Wiener de 2.03 y 1.89, respectivamente, mientras que en la planta de maíz con y sin abono orgánico, se registraron en cada una siete especies de HMA y un valor Shannon-Wiener de 1.13 y 1.49 (Cuadro 2). En otros estudios también se han encontrado diferencias en la riqueza y diversidad de especies de HMA que son propagadas por plantas trampa, tales como las obtenidas por Moreira *et al.* (2007) con maíz + cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) y *Araucaria angustifolia* (Bert.) como plantas trampa en suelo de un bosque de *A. angustifolia* (Bert.) en Brasil, y por Yao *et al.* (2010) con trébol (*Trifolium repens* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) y maíz en suelo de una huerta de cítricos en China.

Del consorcio nativo de 18 especies de HMA que fueron identificadas en la muestra originalmente recolectada del cafetal se logró la propagación de 13 de ellas. *Acaulospora* sp., *F. geosporum* y *R. intraradices* fueron comunes en todas las plantas trampa, mientras que *Scutellospora* sp., *A. alpina*, *A. aff. rehmanii*, *C. luteum* y *C. claroideum* se encontraron sólo en alguna de ellas, de manera que *A. aff. denticulata*, *A. aff. excavata*, *S. calospora* y *Gigaspora* sp. no fueron propagadas en alguna planta trampa (Cuadro 3). La presencia o ausencia de algunas especies



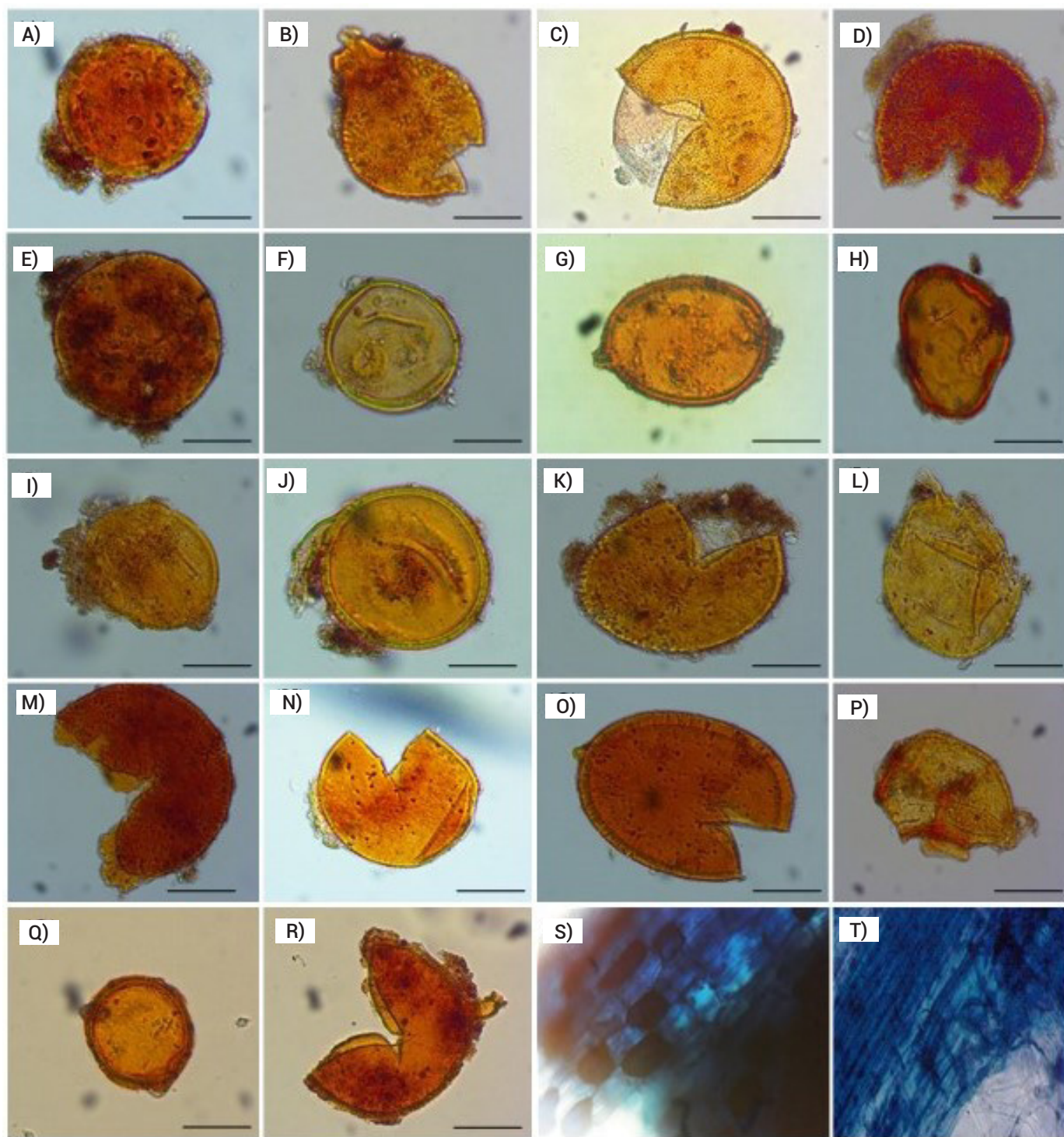


Figura 1. Imágenes de esporas de hongos micorrízicos arbusculares aisladas de la rizósfera de café (*Coffea arabica* L.) orgánico. A) *Acaulospora lacunosa* J. B. Morton, B) *A. aff. denticulata* Sieverd. & S. Toro, C) *A. scrobiculata* Trappe, D) *A. aff. excavata* Ingleby & C. Walker, E) *A. aff. rehmsii* Sieverd. & S. Toro, F) *A. alpina* Oehl & Sieverd., G) *Acaulospora* sp., H) *Glomus* sp., I) *Claroideoglomus etunicatum* C. Walker & Schuessler, J) *C. luteum* L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton, K) *Claroideoglomus* sp., L) *C. claroideum* C. Walker & Schuessler, M) *Scutellospora* sp., N) *S. calospora* C. Walker & F.E. Sanders, O) *Funneliformis geosporum* C. Walker & Schuessler, P) *Diversispora eburnea* C. Walker & Schuessler, Q) *Rhizophagus intraradices* N.C. Schenck & G.S. Sm., R) *Gigaspora* sp., S) vesículas, T) hifas en raíces de café. Escala: 50 µm.

Cuadro 2. Diversidad de especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en cada planta trampa.

HMA	Café		Frijol		Maíz		Pasto	
	SA	CA	SA	CA	SA	CA	SA	CA
Número de especies	8	7	9	9	7	7	6	9
H'	1.626	1.677	1.892	2.030	1.497	1.133	1.454	1.655

H': índice de diversidad de Shannon-Wiener (1949), SA: sustrato sin abono, CA: sustrato con abono.

de HMA en las diferentes plantas trampa evaluadas se relaciona posiblemente con la dinámica de esporulación de las especies presentes en la muestra del cafetal y con la retroalimentación de la planta hospedera a través de exudados de las raíces sobre la esporulación de la comunidad de HMA (Oehl *et al.*, 2009).

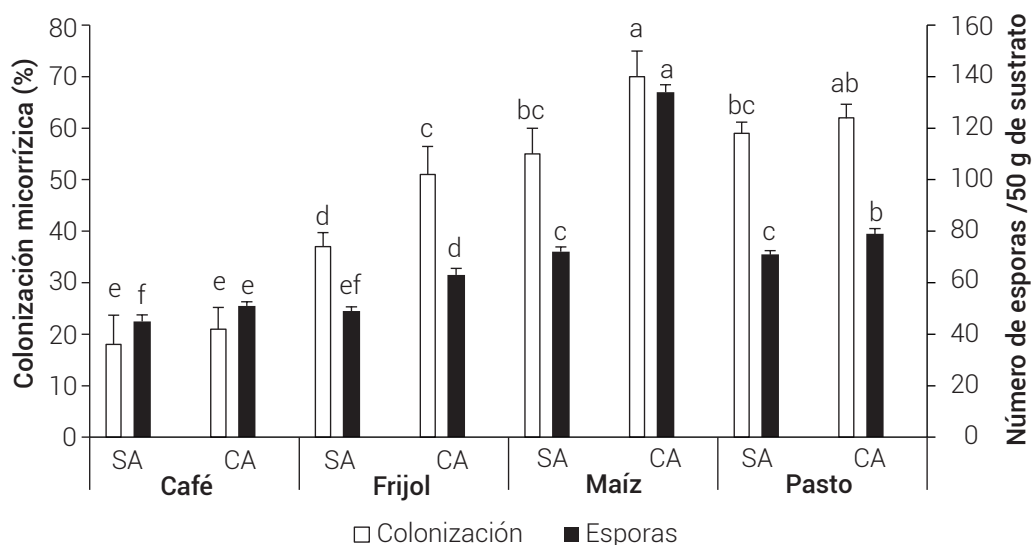
En relación con el número de esporas y la colonización micorrízica, se encontraron diferencias altamente significativas ( $F = 861.9$  y  $98.8$ ,  $N = 5$ ,  $P \leq 0.01$ ) entre tratamientos, con los valores más altos en maíz en sustrato

con abono ( $134 \pm 2.9$  esporas/50 g de suelo, 70 % de colonización) y los menores en café en sustrato sin abono ( $45 \pm 2.5$  esporas/50 g de suelo, 18 % de colonización) (Figura 2). La escasa colonización micorrízica que presentó el café posiblemente se debe al crecimiento lento ( $5.5 \pm 0.8$  cm de altura) y escaso volumen de la raíz ( $9.9 \pm 3.2$  cm<sup>3</sup>) que presentó al tiempo de fin del experimento. Este resultado coincide con Adriano *et al.* (2011), quienes encontraron valores de colonización micorrízica en café de 6.6 % al inocular con *R. intraradices* en etapa de vivero.

Cuadro 3. Morfoespecies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) identificadas en los cultivos trampa.

Morfoespecies de HMA	Café		Frijol		Maíz		Pasto	
	SA	CA	SA	CA	SA	CA	SA	CA
1. <i>A. lacunosa</i> J.B. Morton	X	X	X	X				
2. <i>A. scrobiculata</i> Trappe	X		X					X
3. <i>A. aff. rehmlii</i> Sieverd. & S. Toro				X				
4. <i>A. alpina</i> Oehl & Sieverd.			X					
5. <i>A. spinosa</i> C. Walker & Trappe						X		
6. <i>Acaulospora</i> sp.	X	X	X	X	X	X	X	X
7. <i>Glomus</i> sp.	X	X	X	X	X			X
8. <i>G. multicaule</i> Gerd. & B.K. Bakshi					X			X
9. <i>C. etunicatum</i> C. Walker & Schuessler			X	X		X	X	X
10. <i>C. luteum</i> L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton	X							
11. <i>Claroideoglomus</i> sp.			X	X	X	X	X	X
12. <i>C. claroideum</i> C. Walker & Schuessler		X						
13. <i>Scutellospora</i> sp.		X						
14. <i>F. geosporum</i> C.Walker & Schuessler	X	X	X	X	X	X	X	X
15. <i>F. monosporus</i> Gerd. & Trappe						X		
16. <i>D. eburnea</i> C. Walker & Schuessler	X							
17. <i>R. intraradices</i> N.C. Schenck & G.S. Sm.	X	X	X	X	X	X	X	X
18. <i>R. fasciculatus</i> C. Walker & Schuessler								X
19. <i>Rhizophagus</i> sp.				X	X		X	

SA: sustrato sin abono orgánico, CA: sustrato con abono orgánico.



**Figura 2. Colonización micorrízica y número de esporas de los cultivos trampa. Letras diferentes en las barras para cada estructura micorrízica indican diferencias estadísticas significativas (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). SA: sustrato sin abono orgánico, CA: sustrato con abono orgánico.**

Por otro lado, los valores altos de porcentaje de colonización y número de esporas obtenido en maíz con abono orgánico se relacionan posiblemente con características propias que le confieren la capacidad de liberar abundantes exudados radicales que son necesarios para sostener la simbiosis micorrízica (Yao *et al.*, 2010), mientras que el efecto positivo de la adición de abono orgánico se debe probablemente al aporte de nutrimentos que son necesarios para el desarrollo de la planta, y de ácidos húmicos que permiten estimular el crecimiento hifal y la esporulación de los HMA (Yang *et al.*, 2018). Estos resultados muestran el potencial de maíz en sustrato con abono orgánico para la propagación de HMA nativos provenientes de cafetos.

En estudios sobre diversidad de HMA se pueden detectar especies dominantes o generalistas que se presentan con mayor frecuencia en los campos de cultivo (Pérez-Luna *et al.*, 2012); de esta manera, los resultados obtenidos indican que *Acaulospora* sp., *F. geosporum* y *R. intraradices* son especies que esporulan tempranamente y se manifiestan como generalistas, ya que fueron encontradas en todas las plantas trampa evaluadas. Hernández-Acosta *et al.* (2021) mencionaron que *Rhizophagus* ha sido registrado con mayor frecuencia en la rizosfera de café en seis países de América Latina, y es ecológicamente conocido como generalista. De acuerdo con estos autores, la alta capacidad reproductiva de las especies generalistas favorece su establecimiento y podrían desplazar algunas especies nativas más eficientes; ésto permite destacar que, si bien el maíz con abono orgánico tuvo un mayor número de esporas y colonización micorrízica, el frijol con abono orgánico

presentó valores altos de riqueza y diversidad de especies (Cuadro 2), por lo que el frijol se ubica como una planta hospedera con potencial para propagar la diversidad de HMA proveniente de cafetos. Estudios adicionales son necesarios para conocer si la complementación de recursos a través de la asociación de cultivos maíz-frijol podría favorecer la propagación de la diversidad de especies y la intensidad de esporulación del consorcio de HMA nativos del cafetal.

Entre los consorcios de HMA que fueron propagados en las plantas de maíz, frijol y pasto insurgente se detectaron especies que no se encontraban en la muestra inicial del cafetal, tales como *A. spinosa* C. Walker & Trappe, *G. multicaule* Gerd. & B.K. Bakshi, *F. monosporus* Gerd. & Trappe, *Rhizophagus* sp. y *R. fasciculatus* C. Walker & Schuessler (Cuadro 3) porque probablemente algunas esporas de la muestra original no presentaron la calidad necesaria para su identificación morfológica, también porque algunas especies de HMA presentes en la muestra de origen se encuentran en su fase somática colonizando raíces del cafeto, con el micelio como fuente de propágulos micorrízicos y, por lo tanto, no se detectan durante el muestreo del suelo, pero al ser propagadas en plantas trampa es posible su detección (Oehl *et al.*, 2009), lo que también depende de las condiciones ambientales, ya que las comunidades de HMA pueden experimentar variación debido a efectos estacionales, dinámica de esporulación y manejo agronómico, con influencia directa en las poblaciones de HMA (Stevens *et al.*, 2020; Trejo *et al.*, 2011). Las especies *G. multicaule* y *F. monosporus* han sido reportadas para México (Furrazola *et al.*, 2017), pero no se habían reportado para el estado de Chiapas (Polo-Marcial



et al., 2021), por lo que constituyen nuevos registros para este estado. Entre los caracteres diagnósticos, *G. multicaule* Gerd. & B.K. Bakshi (Figura 3A) forma esporas elipsoides, subglobosas u ocasionalmente triangulares de 149-249 × 124-162 µm de diámetro, con pared de una sola capa (8.6 a 34 µm de espesor), e hifas subyacentes cuyo número varía de 1 a 4 (Gerdemann y Bakshi, 1976; INVAM, 2021); mientras que *F. monosporus* Gerd. & Trappe (Figura 3B) forma esporas globosas de 150-452 × 169-470 µm de diámetro, con hifas de 8-12 µm de diámetro (Schüßler y Walker, 2010).

### CONCLUSIONES

En el suelo rizosférico del cafetal con manejo orgánico se encontraron 18 especies de HMA, entre las cuales el género predominante fue *Acaulospora*. El número de especies se incrementó a 23 al considerar cinco especies que esporularon en las plantas trampa y que no se encontraron en la muestra inicial. En las plantas trampa se logró la propagación de 18 especies de las 23, entre las cuales *Acaulospora* sp., *F. geosporum* y *R. intraradices* fueron encontradas en todas las plantas trampa, mientras que *Scutellospora* sp., *A. alpina*, *A. aff. rehmi*, *C. luteum* y *C. claroideum* se encontraron solo en alguna de ellas. La propagación se vio favorecida con maíz como cultivo trampa, mientras que el frijol como cultivo trampa presentó mayor diversidad de HMA, ambos en sustrato con abono orgánico. Las especies *G. multicaule* y *F. monosporus* que se encontraron en la planta trampa de maíz, constituyen nuevos registros para el estado de Chiapas. El cafetal orgánico presentó alta diversidad de HMA, y las plantas trampa de maíz y frijol en sustrato con abono mostraron potencial para la propagación de HMA

nativos provenientes de cafetos.

### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero recibido a través del proyecto PRONACE 319068 y la beca otorgada a K. K. R.-G.; y al Editor(a) y Revisores(as) de Revista Fitotecnia Mexicana por sus observaciones para mejorar este artículo.

### BIBLIOGRAFÍA

- Adriano A. M. L., J. Jarquín G., C. Hernández R., M. Salvador F., y C. T. Monreal V. (2011) Biofertilización de café orgánico en etapa de vivero en Chiapas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2:417-431.
- Aguilar-Ulloa W., P. Arce-Acuña, F. Galiano-Murillo y T. J. Torres-Cruz (2016) Aislamiento de esporas y evaluación de métodos de inoculación en la producción de micorrizas en cultivos trampa. *Tecnología en Marcha Edición Especial Biocontrol* 5-14, <https://doi.org/10.18845/tm.v29i7.2700>
- Berruti A., E. Lumini, R. Balestrini and V. Bianciotto (2016) Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. *Frontiers in Microbiology* 6:1559, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01559>
- Bertolini V., N. M. Montaña, B. L. Salazar-Ortuño, E. Chimal-Sánchez y L. Varela (2020) Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en plantaciones de café (*Coffea arabica*) del volcán Tacaná, Chiapas, México. *Acta Botanica Mexicana* 127:1-16, <http://doi.org/10.21829/abm127.2020.1602>
- Bertolini V., N. M. Montaña, E. Chimal S., L. Varela F., J. Gómez R. y J. M. Martínez V. (2018) Abundancia y riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares en cafetales de Soconusco, Chiapas, México. *Revista de Biología Tropical* 66:91-105, <https://doi.org/10.15517/rbt.v66i1.27946>
- Contreras C. A., P. Sánchez M., O. Romero A., J. A. Rivera T., I. Ocampo F. y J. F. C. Parraguirre L. (2019) Prácticas agroecológicas y su influencia en la fertilidad del suelo en la región cafetalera de Xolotla, Puebla. *Acta Universitaria* 29:1-16, <https://doi.org/10.15174/au.2019.1864>
- Díaz H. B. M., H. Plascencia V., R. Arteaga R. y M. A. Vázquez P. (2000) Estudio y zonificación agroclimáticos en la región Los Altos de Chiapas,



Figura 3. A) esporas de *Glomus multicaule* Gerd. & B.K. Bakshi. en plantas de maíz y pasto, y B) esporas de *Funneliformis monosporus* Gerd. & Trappe en plantas de maíz. Escala: 50 µm.



- México. Investigaciones Geográficas 42:7-27, <https://doi.org/10.14350/ig.59111>
- Esquivel-Quispe R. (2020) Propagación de hongos micorrizógenos arbusculares nativos y su influencia en la producción de maíz Amiláceo en Paquecc-Ayacucho. Primera parte: propagación en cultivos asociados en invernadero. *Journal of the Selva Andina Biosphere* 8:42-52, <https://doi.org/10.36610/j.jstab.2020.080100042>
- Furrazola E., G. Heredia, G. Olvera y V. Sosa (2017) Efecto de comunidades nativas de hongos micorrizógenos arbusculares sobre el crecimiento de plántulas de maíz y sorgo. *Acta Botánica Cubana* 216:127-136.
- Gerdemann J. W. y T. H. Nicolson (1963) Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46:235-244, [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)
- Gerdemann J. W. and B. K. Bakshi (1976) Endogonaceae of India: two new species. *Transactions of the British Mycological Society* 66:340-343, [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(76\)80068-X](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(76)80068-X)
- Giovannetti M., y B. Mosse (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84:489-500, <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>
- Hernández-Acosta E., D. Trejo-Aguilar, A. Rivera-Fernández y R. Ferrera-Cerrato (2020) La micorriza arbuscular como biofertilizante en cultivo de café. *Terra Latinoamericana* 38:613-628, <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.659>
- Hernández-Acosta E., J. Banuelos y D. Trejo-Aguilar (2021) Distribución y efecto de los hongos micorrizicos en el agroecosistema de café. *Revista de Biología Tropical* 69:445-461, <https://doi.org/10.15517/rbt.v69i2.42256>
- Ijdo M., S. Cranenbrouck and S. Declerck (2011) Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. *Mycorrhiza* 21:1-16, <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0337-z>
- INVAM, International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (2021) International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi West Virginia University, Morgantown, West Virginia, USA. <http://invam.wvu.edu/> (November 2021).
- Moreira M., M. A. Nogueira, S. M. Tsai, S. M. Gomes-da-Costa and E. J. B. N. Cardoso (2007) Sporulation and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazil Pine in the field and in the greenhouse. *Mycorrhiza* 17:519-526, <https://doi.org/10.1007/s00572-007-0124-7>
- Oehl, F., E. Sieverding, K. Ineichen, P. Mäder, A. Wiemken and T. Boller (2009) Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 134:257-268, <https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.07.008>
- Oehl F., E. Laczko, A. Bogenrieder, K. Stahr, R. Bösch, M. van der Heijden and E. Sieverding (2010) Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry* 42:724-738, <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.01.006>
- Ontivero R. E., S. Voyron, L. V. Risio A., P. Bianco, V. Bianciotto, H. J. Iriarte, .../ and E. Lumini (2020) Impact of land use history on the arbuscular mycorrhizal fungal diversity in arid soils of Argentinean farming fields. *FEMS Microbiology Letters* 367:fnaa114, <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa114>
- Pérez-Luna Y. C., J. D. Álvarez-Solís, J. Mendoza-Vega, J. M. Pat-Fernández, R. Gómez-Álvarez y L. Cuevas (2012) Diversidad de hongos micorrizicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana Botánica* 69:46-56, <https://doi.org/10.4067/S0717-66432012000100006>
- Phillips J. M., and D. S. Hayman (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of the infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161, [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Plascencia-Vargas, J. H., M. González-Espinosa, N. Ramírez-Marcial, J. D. Álvarez-Solís y K. Musálem-Castillejos (2014) Características físico-bióticas de la cuenca del río Grijalva. In: Montañas, Pueblos y Agua. Dimensiones y Realidades de la Cuenca Grijalva. M. González-Espinosa y M. C. Brunel M. (coords.). El Colegio de la Frontera Sur y Juan Pablos Editor. México, D. F. pp:29-79.
- Polo-Marcial M. H., L. A. Lara-Pérez, B. Tomio G., X. Margarito-Vista and A. Andrade-Torres (2021) Glomeromycota in Mexico, a country with very high richness. *Sydowia* 74:33-63, <https://doi.org/10.12905/0380.sydowia74-2021-0033>
- Posada R. H., P. M. Sánchez, G. Heredia-Abarca and E. Sieverding (2016) Effects of soil physical and chemical parameters, and farm management practices on arbuscular mycorrhizal fungi communities and diversities in coffee plantations in Colombia and Mexico. *Agroforestry Systems* 92:555-574, <https://doi.org/10.1007/s10457-016-0030-0>
- SAGARPA, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2013) Acuerdo por el que se dan a conocer los Lineamientos para la Operación Orgánica de las actividades agropecuarias. Diario Oficial de la Federación, edición 29 de octubre 2013. México, D. F. 61 p.
- Schenck N. C., and Y. Pérez (1990) Manual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi. Synergistic Publications. Gainesville, Florida, USA. 286 p.
- Schüßler A. and C. Walker (2010) The Glomeromycota: a species list with new families and new genera. Royal Botanic Garden Edinburgh. Gloucester, UK. <http://amf-phylogeny.com/> (May 2021).
- SEMARNAT, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2002) Norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. Diario Oficial de la Federación, edición 31 de diciembre 2002. México, D. F.
- Shannon C. E., and W. Wiener (1949) The Mathematical Theory of Communication. University of Illinois Press, Urbana, Illinois, USA. 144 p.
- Sieverding E. (1983) Manual de Métodos para la Investigación de la Micorriza Vesículo-Arbuscular en el Laboratorio. CIAT. Cali, Colombia. 56 p.
- Smith S. E. and D. J. Read (2008) Mycorrhizal Symbiosis. 3rd edition. Academic Press. New York, USA. 800 p.
- Soto-Pinto L., S. Escobar C., M. Benítez K., A. López C., E. Estrada L, B. Herrera H. and E. Jiménez-Soto (2022) Contributions of agroforestry systems to food provisioning of peasant households: conflicts and synergies in Chiapas, Mexico. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 5:756611, <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.756611>
- Stevens B. M., J. R. Propster, M. Öpik, G. W. Wilson, S. L. Alloway, E. Mayemba and N. C. Johnson (2020) Arbuscular mycorrhizal fungi in roots and soil respond differently to biotic and abiotic factors in the Serengeti. *Mycorrhiza* 30:79-95, <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00931-5>
- Trejo A. D., R. Ferrera-Cerrato, R. García, L. Varela, L. Lara y A. Alarcón (2011) Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrizicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Revista Chilena de Historia Natural* 84:23-31, <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2011000100002>
- Walkley A. J. and I. A. Black (1934) Estimation of soil organic carbon by the chromic acid titration method. *Soil Science* 37:29-38.
- Yang W., S. Gu, Y. Xin, A. Bello, W. Sun and X. Xu (2018) Compost addition enhanced hyphal growth and sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi without affecting their community composition in the soil. *Frontiers in Microbiology* 9:169, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00169>
- Yao Q., J. L. Gao, H. H. Zhu, L. K. Long, Q. X. Xing and J. Z. Chen (2010) Evaluation of the potential of trap plants to detect arbuscular mycorrhizal fungi using polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Soil Science and Plant Nutrition* 56:205-211, <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2010.00444.x>

