

DOCTORADO EN CIENCIAS Y BIOTECNOLOGÍA DE PLANTAS

**Ecofisiología de la simbiosis micorrícica en la
palmera nativa de la península de Yucatán
Desmoncus orthacanthos Martius.**

Tesis que para obtener el grado de Doctor en Ciencias
presenta:

M. en C. José Alberto Ramos Zapata

Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

**Mérida, Yucatán, México
2005**



A Daniel y Abril con cariño, por compartir conmigo sus vidas, gracias por enseñarme a disfrutar las cosas sencillas y a sorprenderme con las cosas comunes.

***Patricia, mi mitad perdida, inspiración constante, te dedico esta tesis con amor...
... por ser mar donde mi cuerpo naufraga,
aire que me envuelve
fuego que me consume
y tierra donde reposaré eternamente.***

Omnes vulnerat, postuma necat.

Contenido

Lista de cuadros	i
Lista de figuras	ii
RESUMEN	3
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	7
Literatura citada	8
CAPÍTULO 1. Antecedentes y objetivos	9
Literatura citada	25
CAPÍTULO 2. Mycorrhizal Dynamics and dependence of <i>Desmoncus orthacanthos</i> Martius (Arecaceae)	29
Introduction	29
Methods	30
Results	32
Discussion	37
References	41
CAPÍTULO 3. Dinámica del potencial de inóculo micorrícico del suelo en dos sitios contrastantes en el Ejido Noh-Bec, estado de Quintana Roo, México.	45
Resumen	45
Introducción	45
Materiales y métodos	46
Resultados	49
Discusión	52
Conclusiones	58
Literatura citada	59
CAPÍTULO 4. The role of Mycorrhizae in phosphorus uptake and growth on seedlings of a Neotropical palm species.	61
Abstract	61
Introduction	61
Materials and Methods	62
Results and discussion	63
References	70
CAPÍTULO 5. Establishment of <i>Desmoncus orthacanthos</i> Martius (Arecaceae): effect of inoculation with arbuscular mycorrhizae.	73
Abstract	73
Introduction	73
Materials and Methods	74
Results	76
Discussion	81
References	84
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES	87

Lista de cuadros

Cuadro 1.1. Tipos de micorrizas y su distribución entre las plantas	11
Cuadro 1.2. Clasificación taxonómica de los hongos micorrizógenos arbusculares	12
Table 2.1. Average (\pm S.E.) of total dry weight of <i>D. orthacanthos</i> growing at three P levels in nutrient solution (n = 6)	37
Table 4.1. Analysis of variance on various parameters (M= inoculated, P= level of P added)	65
Table 5.1. Chemical and biological characteristics of the soils from the study areas	76
Table 5.2. F values of the ANOVA of the parameters evaluated	77
Table 5.3. Odds ratio calculated for the effect of the sites and treatments on survival	78

Lista de figuras

Figura 1.1. <i>Desmoncus orthacanthos</i> Martius	18
Figura 1.2. Distribución de <i>D. orthacanthos</i> en la península de Yucatán	19
Figura 1.3. Localización de ejido Noh Bec en el estado de Quintana Roo	20
Figura 1.4. Diagrama ombrotérmico	21
Figura 1.5. Localización de los sitios de muestreo	22
Figure 2.1. Average (+S.E.) of root colonization in <i>D. orthacanthos</i> from mature forest.	33
Figure 2.2. Average (+S.E.) of root colonization in <i>D. orthacanthos</i> from abandoned cornfield.....	34
Figure 2.3. Average (+S.E.) of spores per gram of soil from rhizosphere of <i>D.</i> <i>orthacanthos</i> from mature forest	35
Figure 2.4. Average (+S.E.) of spores per gram of soil from rhizosphere of <i>D.</i> <i>orthacanthos</i> from abandoned cornfield	36
Figura 3.1. Dinámica del NMP de propágulos de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en las diferentes épocas de muestreo	50
Figura 3.2. Relación entre los valores de humedad del suelo, densidad de esporas por gramo de suelo y el valor estimado de NMP de propágulos de HMA	51
Figura 3.3. Valores de los límites inferiores y superiores de λ calculado en las diferentes épocas de muestreo para el sitio conservado (Selva)	52
Figura 3.4. Valores de los límites inferiores y superiores de λ calculado en las diferentes épocas de muestreo para el sitio perturbado (Acahual)	53
Figura 3.5. Comparación de los valores de λ en ambos sitios para la época de lluvias de verano. Valores calculados con el programa <i>DILUTION</i>	54
Figura 3.6 Comparación de los valores de λ en ambos sitios para la época de lluvias de invierno. Valores calculados con el programa <i>DILUTION</i>	55
Figura 3.7. Comparación de los valores de λ en ambos sitios para la época de lluvias de invierno. Valores calculados con el programa <i>DILUTION</i>	56
Figura 3.8. Sucesión diacrónica teórica pronosticada de los propágulos en el suelo de	

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis Dr. Roger Orellana y Dra. Edith Allen, un agradecimiento especial por su acertada dirección, sugerencias, correcciones y apoyo durante el trabajo. Además a Roger por estar en el campo tantas horas, a Edith por hacer comprensible todo lo que escribí en inglés.

A mis asesores por sus comentarios acertados para mejorar este documento, me encuentro muy agradecido con: Dr. José Luis Andrade, Dr. Alfonso Larqué, Dra. Lucia Varela, Dra. Enriqueta Amora Lazcano y Dr. Víctor Olalde. Un agradecimiento póstumo para el Dr. Armando Escamilla quien nos abandonó de manera prematura.

Agradezco a mis compañeros del doctorado y de la Unidad de Recursos Naturales, con algunos compartí el trabajo de campo y con otros el de laboratorio, pero con todos compartí la angustia y los deseos de hacer algo para mejorar nuestro país, no quisiera nombrarlos pues seguro mi memoria omitiría algún nombre y eso no me lo perdonaría, pero los que estuvimos sabemos quienes somos.

Un agradecimiento muy grande a las autoridades del Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la UADY, director M. en C. Fernando Herrera, secretario administrativo M. en C. Enrique Abreu Sierra y secretario académico Dr. José Williams, por el apoyo brindado para concluir este trabajo de tesis.

A mis jefes actuales y los pasados por el apoyo incondicional para que terminara este proceso de formación: MIA Víctor Cobos Gasca, Biol. Teresita Cid, Dr. Jorge Navarro y Dr. Víctor Parra.

A todas las personas que de manera desinteresada contribuyeron en elevar la calidad de los interminables borradores de tesis escritos, principalmente a Patricia Guadarrama, Víctor Parra y Sergio Guillén.

Un agradecimiento especial para Jorge Navarro quien comprendió mi angustia por comparar los valores del NMP, lo cual provocó muchas horas de discusión y concluyó con el diseño de un programa de cómputo.

A la comunidad del ejido Noh Bec por todo el apoyo recibido durante nuestras visitas a su comunidad.

Agradezco a mis hermanos, hermanos políticos y sobrinos por estar siempre cuando los necesite y por confiar en mí y en mis sueños.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca para estudios de doctorado (153737).

la selva y su relación con la humedad del suelo	58
Figure 4.1. Average relative growth rates (+1S.E.) at different P additions	64
Figure 4.2. Average dry weight (+1S.E.) of <i>D. orthacanthos</i> seedlings	66
Figure 4.3. Mean values (+1S.E.) of root/shoot ratios of <i>Desmoncus orthacanthos</i> seedlings with the different treatments.....	67
Figure 4.4. Mean values (+1S.E.) of leaf area of the <i>Desmoncus orthacanthos</i> seedlings with the different treatments	68
Figure 4.5. Mean value (+1S.E.) of phosphorus concentration in leaf tissue of the <i>Desmoncus orthacanthos</i> seedlings with different treatments	69
Figure 5.1. Average percentage (+1S.E.) of AMF colonization of the seedling roots six months after introduction in the different environments and treatments	77
Figure 5.2. Percentage of survival of the plants introduced in different sites and with different treatments	78
Figure 5.3. Average leaf area (+1S.E.) of the seedlings, one year after introduction in the different environments and with different treatments	79
Figure 5.4. Average total height (+1S.E.) of the seedlings one year after introduction in the different environments and with the different treatments	80
Figure 5.5. Average leaf content of phosphorous (+1S.E.) in the seedlings introduced in the different environments	80

RESUMEN

La micorriza arbuscular se encuentra presente en un alto porcentaje de la vegetación de los diferentes ecosistemas; sin embargo, esta asociación se encuentra pobremente estudiada en la familia *Arecaceae*, a pesar de la importancia económica de algunas de las especies. *Desmoncus orthacanthos* Martius (*Arecacea*) es una palmera neotropical con características de flexibilidad en sus tallos lo que ha motivado su uso como materia prima para la elaboración de canastos y muebles. El manejo sustentable de esta especie requiere del conocimiento de aspectos biológicos y ecológicos y en este sentido se planteó el estudio de la asociación micorrícica en la palmera *D. orthacanthos*.

Se realizó un estudio diacrónico de la dinámica de colonización y formación de esporas por parte de los hongos micorrizógenos asociados a las raíces de *D. orthacanthos* de diferentes edades, crecidas en dos condiciones contrastantes. Se encontraron diferencias entre estos valores a lo largo de un año de muestreo. Sin embargo, las diferencias entre las distintas edades no fueron estadísticamente importantes. Se evaluó la dinámica del potencial de inóculo en el transcurso de un año y se comparó en dos sitios de estudio, el valor de inóculo mostró diferencias significativas entre ambos sitios en la estación de lluvias. A nivel de invernadero, se realizó una prueba de crecimiento de plántulas de *D. orthacanthos* bajo tres condiciones de disponibilidad de fósforo y se identificó que esta especie presenta dependencia de las micorrizas en las diferentes condiciones evaluadas. Se realizó una prueba de establecimiento de plántulas de esta palmera en el campo, donde se comparó a individuos micorrizados contra individuos no micorrizados y se encontró un efecto benéfico de la asociación.

Se concluye que esta especie se encuentra asociada a hongos micorrizógenos arbusculares en todas las etapas de crecimiento evaluadas, que la asociación fue dinámica y que el potencial del inóculo encontrado presentó una dinámica diacrónica, este especie se benefició de la asociación micorrícica y tuvo dependencia a la misma, el establecimiento de este especie en el campo en las condiciones evaluadas se incrementó cuando las plántulas se inocularon previamente.

ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizae is present in a high percentage of plants in different ecosystems, nevertheless this association has been poorly studied in the Arecaceae family regardless of the economic importance of some of the species. *Desmoncus orthacanthos* Martius (Arecaceae) is a neotropical palm, whose characteristics of stem flexibility have motivated its use as a raw material for building baskets and furniture. The sustainable management of this species requires both ecological and biological knowledge, including the mycorrhizal association in *D. orthacanthos*.

A diachronic study of root colonization and spores production was carried out in palms from different ages, grown in two contrasting conditions. Differences among these values during a year were found; however, differences among the different ages were not statistically important. The dynamics of the inocula potential were evaluated within a year in two places; the value of the inocula showed significant differences between both places in the rainy season. A greenhouse experiment was carried out to test the growth of *D. orthacanthos* under three available phosphorous conditions; a positive relative mycorrhizal dependency was found. A seedlings establishment test was carried out comparing mycorrhizal and non-mycorrhizal plants and a clear positive effect of inoculation with mycorrhizae was found.

This species was associated to mycorrhizal fungi in all growth stages evaluated, the association was dynamic and the inoculum potential presented a diachronic dynamics, this species was benefited from mycorrhizal association and showed positive mycorrhizal dependence, the establishment of this species was increased when seedlings were previously inoculated.

INTRODUCCIÓN

Las plantas requieren de un conjunto básico de nutrimentos para cubrir sus necesidades primordiales como crecer y reproducirse (Fitter y Hay, 1987), estos nutrimentos en su mayoría son tomados como iones disueltos en la solución del suelo (Fitter, 1997) por medio de diferentes estrategias, las cuales se relacionan con la especie de planta, el suelo y ambiente en el que se desarrollan así como la arquitectura propia de sus raíces.

Los microorganismos del suelo juegan un papel crucial en la dinámica de nutrimentos del mismo, uno de los componentes mas importantes de la comunidad microbiana del suelo son los hongos micorrizógenos (HM) capaces de establecer una asociación de tipo mutualista con las raíces de la mayoría de las plantas vasculares terrestres, esta asociación es llamada micorriza. Las micorrizas (raíces y hongos juntos) representan el mayor volumen de biomasa del suelo en la mayoría de los ecosistemas del planeta. Aunado a esto, los hongos micorrizógenos inmovilizan y transportan hacia la planta los nutrimentos que requieren para crecer, por lo tanto influyen en la estructura de los ecosistemas. Siendo los ecosistemas dinámicos, las asociaciones micorrícicas también lo son, por lo que la cantidad, tipo y especies de hongos micorrizógenos cambian con el tiempo (Allen 1991, Bazzaz 1996).

De acuerdo con Janos (1980) y Allen (1991) existe, en la mayoría de las comunidades vegetales, una sucesión de especies que poseen un requerimiento diferente de la asociación micorrícica. Esta sucesión comienza con el establecimiento de plantas no micotróficas (no requieren de la asociación micorrícica), con un cambio en el tiempo hacia plantas facultativamente micotróficas y finalmente dominio de la comunidad vegetal por plantas micotróficas obligadas.

Desmoncus orthacanthos Martius es una palmera trepadora que se distribuye en la parte tropical de México, Centro América y Sudamérica hasta Bolivia, crece en sitios con diferentes grados de perturbación. Sin embargo, las características de su crecimiento y la arquitectura y grosor de sus raíces, nos indican un requerimiento de la asociación micorrícica para la toma de nutrimentos, como ya ha sido verificado por Carrillo *et al.* (2002) al encontrar la asociación micorrícica de tipo arbuscular (MA) en sus raíces. La gente de la comunidad del ejido Noh Bec, al sureste de la Península de Yucatán, en el estado de Quintana Roo, emplea desde hace poco los tallos de esta palmera como materia prima para la confección de artesanías y muebles diversos. El interés por emplear los recursos naturales no maderables de la región ha provocado una mayor promoción por el empleo de esta palmera como recurso importante (Belsky y Siebert 1998). Sin embargo un manejo apropiado de una especie debe incorporar el aspecto de biología básica de la misma.

Es por lo anterior, que en el presente trabajo se planteó el estudio de la asociación micorrícica en la palmera *Desmoncus orthacanthos*, con la finalidad de conocer la importancia de esta asociación a través del tiempo y en las diferentes etapas de crecimiento de la palmera presente en dos ambientes contrastantes, con respecto al grado de perturbación: una selva madura y un acahual generado de una milpa

abandonada. Se evaluó, de igual manera, el aporte de la asociación sobre la toma de fósforo y producción de biomasa en plántulas crecidas en invernadero, y se determinó en un bioensayo de invernadero el índice de dependencia micorrícica relativa de *D. orthacanthos*. Finalmente se evaluó la influencia que tiene la asociación micorrícica sobre la tasa de supervivencia y éxito en el establecimiento de plántulas inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares en sitios contrastantes: selva y acahual.

Los resultados reportados pueden ser empleados para desarrollar estrategias que permitan un uso sostenible de este recurso, sin afectar las poblaciones naturales de *D. orthacanthos* y promoviendo una mayor producción de plantas en poco tiempo. Con el presente trabajo, se pretende evaluar la relación micorrícica desde un punto de vista ecofisiológico en la palmera *D. orthacanthos*, encaminada a la obtención de información que permita el establecimiento de plantaciones experimentales, ya que como se ha mencionado anteriormente la asociación micorrícica puede, hipotéticamente, mejorar las condiciones de crecimiento de las plantas, con lo cual se obtendrían individuos sanos con una talla económicamente importante en un plazo de tiempo menor.

Literatura citada

- Allen, M.** 1991. The ecology of mycorrhizae. Cambridge University Press. Adelaide.
- Bazzaz, F.A.** 1996. *Plants in changing environments*. Cambridge University Press. Melbourne.
- Belsky, J.M. y S.F. Siebert.** 1998. Los productos forestales no maderables en el desarrollo y conservación comunitarios. **En:** Primack R., D. Bray, H. Galleti e I. Ponciano (Eds.). *La selva maya. Conservación y desarrollo*. Siglo Veintiuno. México. D.F. pp.183-196
- Carrillo, L., R. Orellana y L. Varela.** 2002. Mycorrhizal associations in three species of palms of the Yucatán Peninsula, México. *Palms*. **46** (1): 39-46.
- Fitter, A.H. y R.K. Hay.** 1987. *Environmental physiology of plants*. Academic Press. London.
- Fitter, A.** 1997. Nutrient acquisition. **En:** M. Crawley (Ed.). *Plant Ecology*. 2nd Edition. Blackwell Science. London.
- Janos, D.** 1980. Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth. *Ecology*. **61**: 151-162.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

En los ecosistemas naturales las interacciones bióticas son una fuerza necesaria que mantiene el funcionamiento de los mismos y permite el flujo de la energía. El efecto de estas interacciones pueden provocar modificaciones dinámicas en el sistema, promoviendo la permanencia únicamente de los organismos que se acoplan y que por lo tanto poseen un alto valor de adecuación.

Uno de los componentes mas importantes del ecosistema es el suelo, el cual no sólo sirve de substrato y sustento de nutrimentos para las plantas, sino que permite el proceso de reciclamiento efectivo de estos, éste reciclamiento está influenciado por los organismos que en el habitan. Similar a cualquier ecosistema, los organismos que habitan en el suelo establecen interacciones mutualistas importantes, que contribuyen a un eficiente aprovechamiento de los recursos por las plantas.

Las plantas, al poseer ciclos de vida sedentarios, requieren de mecanismos que les permitan responder a las necesidades de un ambiente cambiante en el cual permanecen de manera perenne. Uno de ellos es la asociación que presentan en sus raíces con organismos del suelo, primordialmente con microorganismos, que promueven una mejor captación de los nutrimentos que se encuentran en el suelo y las protege del ataque de patógenos.

Una de las asociaciones más importantes es la que se establece con hongos micorrizógenos (Gianinazzi-Pearson, 1996), ya que ésta se encuentra ampliamente distribuida en todos los ecosistemas; en esta asociación participan un porcentaje importante de especies vegetales que actúan como hospederas de los hongos micorrizógenos, por su lado, la asociación promueve una mayor adecuación de las plantas (Allen, 1991). La asociación micorrícica se considera como una asociación que las plantas requirieron para establecerse y desarrollarse exitosamente en el medio terrestre, teniéndose reportes de la presencia de estructuras muy similares a las micorrizas actuales en registros fósiles que datan de 350 a 400 millones de años (Simon *et al.* 1993, Remy *et al.* 1994).

Interacciones planta-hongos micorrizógenos

Anton DeBary empleó por primera vez en 1887 (Marks 1991) el término simbiosis para describir la coexistencia mutua observada entre una planta hospedera y un hongo invasor, este término es actualmente empleado para describir una asociación en la cual se benefician ambos miembros de la relación durante un período de tiempo importante.

La asociación micorrícica, es un mutualismo simbiótico que se establece entre las partes subterráneas de las plantas y algunos grupos específicos de hongos del suelo. Esta asociación le permite a las plantas explorar mayor volumen del suelo y por lo tanto explotar eficientemente las fuentes minerales del mismo, y al mismo tiempo las protegen del ataque de patógenos así como del estrés hídrico; lo cual ha permitido a

las plantas sobrevivir en diversos ecosistemas naturales, así como en sistemas cultivados (Allen 1991, Bethlenfalvay 1992, Allen *et al.* 1995). Esta asociación es indispensable para el crecimiento y supervivencia de las plántulas en un sistema tropical (Janos 1980). De acuerdo con el comportamiento nutricional de los componentes de la asociación, la definición más apropiada es la consideración de ésta asociación de tipo biotrófica no patógena y duradera (Hodge 2000).

Muchos taxa de hongos están estrechamente ligados con el desarrollo de las asociaciones micorrícicas, incluyéndose miembros de las clases: Zygomycetes, Ascomycetes y Basidiomycetes. Las características distintivas de todos los hongos que forman la asociación micorrícica es que se encuentran ampliamente distribuidos en la mayoría de los suelos, presentan una fuerte dependencia biotrófica hacia sus plantas hospederas y raramente se encuentra libres como saprobios (Srivastava *et al.* 1996).

En condiciones naturales, los hongos micorrizógenos colonizan las raíces de aproximadamente el 90% de las plantas terrestres, siendo el tipo de micorriza arbuscular el más común, presentándose en el 80% de las especies de plantas, entre las que se encuentran muchas de importancia económica (Malloch *et al.* 1980, Bonfante y Perotto 1995, Gianinazzi-Pearson 1996).

Clasificación de las asociaciones micorrícicas

Desde los trabajos de Frank en 1891 (Allen, 1991) se han realizado esfuerzos para clasificar los diferentes tipos de asociaciones que se presentan entre las raíces y los diversos hongos del suelo que promueven la micorrización. Inicialmente las micorrizas se clasificaban en dos tipos dependiendo de la penetración o ausencia de ésta en las células corticales de la raíz: ectomicorrizas (fuera) o endomicorrizas (dentro) (Harley y Smith, 1983).

En años posteriores, se han realizado diferentes clasificaciones de los diferentes tipos de micorrizas, sin embargo todas coinciden en agrupar a las micorrizas desde el punto de vista de penetración de las paredes celulares: ecto (sin penetración de las células corticales), endo (estructuras fúngicas en el interior de las células corticales) o ectendomicorriza (estructuras dentro de las células y formación de manto) (Allen, 1991).

Una clasificación más adecuada de acuerdo con Read (1983) es aquella que incorpora la descripción de las micorrizas con el ecosistema en el que se presenta, sin dejar de lado las plantas hospederas y los hongos que participan en esta. Por lo tanto la clasificación mas moderna no se basa únicamente en los rasgos morfológicos de la colonización, ya que se enriquece con la descripción de las plantas hospederas y los hongos que las colonizan (cuadro 1).

A pesar de que las asociaciones micorrícicas son de diferentes tipos y funciones, coinciden en estar presentes y formar parte importante de todos los ecosistemas naturales terrestres y es posible realizar algunas generalizaciones acerca del tipo de asociación que se presenta en relación con la latitud, propiedades del suelo y con el

tipo de vegetación, dominando la micorriza arbuscular en los trópicos, la micorriza ericoide en los suelos ácidos de las zonas altas y árticas, y la ectomicorriza en las zonas templadas (Allen, 1991; Read, 1991, Francis y Read, 1994; Sylvia, 1998) (Cuadro 1.1).

Cuadro 1.1. Tipos de micorrizas y su distribución entre las plantas (Modificado de Marks, 1991, Brundrett *et al.* 1996 y Read 2002).

Tipo de micorriza	Hongos participantes	Estructuras fúngicas en el hospedero	Rango de hospederos
Arbuscular	Zygomycetes (Glomerales)	Hifas intracelulares, arbuscúlos, hifas enrolladas u ovillos, en algunas familias vesículas en el interior de las células o células auxiliares en el exterior de la raíz	En la mayoría de las plantas vasculares terrestres (80% según algunos autores), incluyendo Briofitas y Pteridofitas
Ectomicorriza	Basidiomycetes Ascomycetes	Hifas intercelulares (Red de Hartig), manto fúngico rodeando la raíz	Gimnospermas y Angiospermas
Arbutoide	Basidiomycetes Ascomycetes	Hifas intercelulares, hifas enrolladas u ovillos intracelulares, manto fúngico rodeando la raíz	Restringida a plantas del género <i>Arbutus</i>
Monotropoide	Basidiomycetes	Hifas inter e intracelulares, manto fúngico rodeando la raíz, presencia de haustorios	Restringida a miembros de la familia Monotropaceae
Ericoide	Ascomycetes	Gran cantidad de enrollamientos de hifas en el interior de las células	Restringida a plantas de la familia Ericaceae
Orquidiode	Basidiomycetes	Hifas intracelulares y ovillos de hifas en el interior de las células	Restringida a miembros de la familia Orchidaceae

Micorriza arbuscular

Los hongos que forman la micorriza arbuscular pertenecen en su totalidad al orden de los Glomerales, géneros *Paraglomus*, *Archaespora*, *Glomus*, *Sclerocystis*, *Entrophospora*, *Acaulospora*, *Gigaspora* y *Scutellospora* (Schenck 1982, Morton 1990, Morton y Redecker 2001). Ver cuadro 1.2 para la clasificación más reciente publicada.

Cuadro 1.2. Clasificación taxonómica de los hongos micorrizógenos arbusculares (Tomado de Morton y Redecker 2001).

CLASE CIGOMICETOS

ORDEN GLOMERALES

SUBORDEN GLOMINEAE

FAMILIAS:

PARAGLOMACEAE

GÉNERO: *Paraglomus*

ARCHAESPORACEAE

GÉNERO: *Archaespora*

GLOMACEAE

GÉNERO: *Glomus*
(*Sclerocystis*)

ACAULOSPORACEAE

GÉNEROS: *Acaulospora* y
Entrophospora

SUBORDEN GIGASPORINEAE

FAMILIA:

GIGASPORACEAE

GÉNERO: *Gigaspora* y
Scutellospora

De acuerdo a la terminología actual las micorrizas arbusculares son consideradas endomicorrizas ya que el hongo endófito sufre de una morfogénesis en el interior de las raíces de los hospederos desarrollando estructuras intercelulares como hifas intra e intercelulares, arbúsculos (estructuras de intercambio de nutrimentos) y en algunos casos vesículas (estructuras de almacenamiento de lípidos) y esporas (Bonfante y Perotto 1995).

Otras estructuras formadas por los hongos micorrizógenos arbusculares son las hifas extrarradicales y en los géneros *Scutellospora* y *Gigaspora*, células auxiliares, ambas se forman en el exterior de la raíz colonizada. Las esporas, por lo general, también se producen en el exterior de la raíz de manera asexual y pueden ser de tipo Clamidospora (géneros *Glomus*, *Sclerocystis*, *Entrophospora* y *Acaulospora*) o bien del tipo Acigospora (géneros *Gigaspora* y *Scutellospora*) (Sylvia 1998; Hernández *et al.* 2003).

Estos hongos son, desde el punto de vista ecológico, simbioses obligados ya que poseen una capacidad limitada o ausente para crecer de manera independiente de la planta hospedera o para producir enzimas que degraden carbohidratos complejos (Finlay y Söderström 1992)

El "costo energético" que la planta hospedera invierte para mantener la asociación se deriva de la traslocación de carbono (C), en forma de fotosintatos, hacia la raíz micorrizada, estos valores van del 10 al 40% del C fijado por medio de la fotosíntesis, estos valores presentan variaciones en función de factores ambientales y de la cantidad de biomasa fúngica, así como de la fisiología del hongo y la interacción con su hospedero (Finlay y Söderström 1992, Jakobsen *et al.* 2002, Allen *et al.* 2003)

Por otro lado, el establecimiento de la asociación micorrícica arbuscular depende de varios factores, tanto bióticos como abióticos, entre los principales se encuentran: factores edáficos como concentración de nutrimentos (principalmente fósforo y nitrógeno); densidad de inóculo en el suelo el cual está formado de propágulos que pueden ser esporas, pero también hifas extracelulares, células auxiliares e incluso vesículas (Sylvia 1998); y un factor biótico de suma importancia es la compatibilidad genética entre el hongo endófito y la planta hospedante (Burleigh *et al.* 2002, Camargo-Ricalde 2002).

El papel ecológico y fisiológico de la asociación micorrícica arbuscular ha sido ampliamente investigado. Los beneficios que la asociación otorga a las plantas hospederas van desde la protección contra patógenos de plantas (Azcón-Aguilar y Barea 1996), estrés por sequía (Ruiz-Lozano *et al.* 1995, Augé 2001), aumento en la adquisición de nutrimentos, especialmente fósforo y nitrógeno (Marschner y Dell 1994) y por lo tanto una mayor ventaja competitiva contra otras plántulas no micorrizadas (St. John y Coleman 1983; Grime *et al.* 1987; Francis y Read 1994). La asociación micorrícica arbuscular, también influye directamente sobre la estructura de la comunidad de plantas (Francis y Read 1994) por medio de la unión a través de las hifas extrarradicales entre diferentes plantas micorrizadas (Newman 1988), aumentando la diversidad vegetal en el ecosistema (Van der Heijden *et al.* 1998) y en muchas ocasiones la adecuación de las plantas hospedantes (Sanders 2002).

De acuerdo con el grado en el que las plantas requieren de los hongos micorrizógenos, Janos (1980) divide a las especies de árboles tropicales en micorrícicas obligadas o micorrícicas facultativas, dependiendo del grado de respuesta a la colonización, siendo las especies micorrícicas obligadas las que dominan en selvas maduras, mientras que las especies facultativas y no micorrícicas son comunes

de áreas perturbadas. Esta clasificación se basa en la evaluación de variables de crecimiento de las plantas como respuesta a la asociación (Menge *et al.* 1978, Plenchette *et al.* 1983, Bagyaraj *et al.* 1988, Van Der Heijden *et al.* 1998), lo que significa que la producción de biomasa se interpreta como un reflejo directo del aporte de los HMA sobre las plantas hospederas.

La información hasta ahora recopilada evidencia que el estado no-micorrizado en las plantas es una excepción (Marks 1991). Sin embargo existen algunas familias de plantas en la que la mayoría de las especies que la componen pueden no responder positivamente a la micorrización. Desde este punto de vista, se reconoce que algunas familias como por ejemplo: Amaranthaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Cruciferae, Cyperaceae y Polygonaceae, poseen especies que son consideradas como no micorrícicas (Allen 1991, Francis y Read 1994), las cuales por lo general se establecen en sitios perturbados con una gran cantidad de nutrimentos disponibles a corto plazo en el suelo, con ciclos de vida cortos y con raíces finas capaces de explotar una gran volumen de suelo.

El término “dependencia micorrícica ecológica” se refiere al requerimiento de hongos por las plantas en substratos con un nivel de fósforo similar al encontrado en el campo en el que se distribuyen de manera natural (Gemma *et al.* 2002). Por otro lado, Kiers *et al.* (2000) mencionan que en las selvas tropicales existe una complejidad de interacciones con respecto a la dependencia micorrícica de las especies de plantas, independientemente de las etapas sucesionales a la que pertenezcan los individuos.

Por lo tanto, la dependencia micorrícica está influenciada por la historia de vida de las plantas hospederas como son el tamaño de la semilla (Peat y Fitter, 1993, Huante *et al.* 1993, Kiers *et al.* 2000), requerimientos de germinación, uso eficiente de nutrimentos y agua, así como de la demanda de luz (Huant *et al.* 1993).

El comportamiento de respuesta diferencial de las plantas a la colonización por hongos micorrizógenos, también es observado en plantas cultivadas sometidas a una alta concentración de fertilizantes y plaguicidas, planteándose un efecto sobre el grado de respuesta de las plantas a la colonización micorrícica como resultado directo del manejo de las especies (Koide *et al.* 1988; Khalil *et al.* 1999).

Micorriza arbuscular en los trópicos

A pesar de la evidente importancia de la asociación micorrícica en los trópicos, se carece de información básica que permita comprender de manera completa el papel de la asociación en estos ecosistemas tan diversos y con una alta complejidad de comunidades (Huant *et al.* 1993).

Probablemente los primeros reportes de micorrizas arbusculares en los trópicos se realizaron en 1896 por Janse y en 1949 por Johnston (Gianinazzi-Pearson y Diem 1982). Los ecosistemas tropicales maduros presentan ciclajes rápidos de nutrimentos, los cuales no se encuentran disponibles para ser lixiviados fuera del sistema, por lo que la asociación micorrícica es importante para tomar los nutrimentos eficientemente y canalizarlos hacia la planta hospedera (Bhatia *et al.* 1996).

Corkidi y Rincón (1997a y 1997b) encontraron la presencia de micorrizas de tipo arbuscular en las raíces de plantas pioneras de la duna costera tropical del Golfo de México. Por otra parte, Guadarrama y Alvarez-Sánchez (1999) reportan la presencia de hongos y un comportamiento estacional en su reproducción en los suelos de ambientes perturbados y conservados de la selva tropical húmeda de la reserva natural "Los Tuxtlas" en el estado de Veracruz, México.

Camargo-Ricalde *et al.* (2003) enlistan las especies vegetales de los sistemas de matorral xerófilo y de selva baja caducifolia del Valle de México que se encuentran asociadas a hongos micorrizógenos; lo que pone de manifiesto la importancia que este tipo de asociación micorrízica pueda tener en el trópico mexicano.

Allen *et al.* (2003) encontraron en la Península de Yucatán, México, que la asociación micorrízica más abundante en árboles de zonas no inundables con suelos pobres en fósforo es del tipo arbuscular, sin embargo en las zonas húmedas con una baja concentración de nitrógeno en el suelo, la asociación tipo ectomicorrízica también se encuentra presente de manera común.

Micorriza arbuscular en palmeras

La investigación micorrízica en especies de la familia Arecaceae ha sido escasa, a pesar de la importancia económica de muchas especies pertenecientes a esta familia, reportes iniciales de la presencia de la colonización micorrízica en las raíces de palmeras se presentaron por Barry (1962). Janos (1977), reportó la presencia de la asociación micorrízica arbuscular en la palmera *Bactris gasipaes* HBK en Costa Rica y concluyó que la asociación es muy importante para algunas especies de palmeras, las cuales no crecerían adecuadamente sin la simbiosis micorrízica.

Koske y Gemma (1990) reportan la presencia de raíces micorrizadas por hongos micorrizógenos arbusculares en la palmera cultivada *Cocos nucifera* L. en las playas de Hawai. Mientras que Clement y Habte (1995) encontraron que poblaciones nativas de la palmera *Bactris gasipaes* distribuidas en diferentes zonas de las selvas de Sudamérica presentan diferentes niveles de dependencia micorrízica.

Fisher y Jayachandran (1999) reportan la presencia de micorriza tipo arbuscular en las raíces de la palmera *Serenoa repens* en la vegetación de Florida y argumentan el valor ecológico de la asociación, ya que esta especie crece de manera natural en condiciones donde el suelo es pobre en nutrientes y agua.

Núñez (2001) reporta la presencia de la asociación micorrízica en raíces de la palmera *Astrocaryum mexicanum* en una selva tropical húmeda de Veracruz. Recientemente, Morte y Honrubia (2002) reportan el efecto de la micorrización arbuscular sobre el crecimiento de la palmera *Phoenix canariensis* Hort. et Chabaud, concluyendo que esta palmera presenta una alta dependencia a la asociación. En la península de Yucatán, Carrillo *et al.* (2002) reportan la presencia de hongos micorrizógenos arbusculares en las raíces de tres especies de palmeras nativas: *Desmoncus orthacanthos* Martius, *Bactris major* y *Bactris mexicana*.

Especie de estudio

***Desmoncus orthacanthos* Martius; descripción y distribución.**

***Desmoncus orthacanthos* Mart.**, Hist. Nat. Pal. 2:87. 1824. Tipo: Brasil, Río Macuri, Max. Neuwied (holotipo M; fototipo F!). Figura 1.

Ubicación taxonómica (Jones 1995)

Orden: Arecales

Familia: Arecaceae

Subfamilia: Arecoideae

Tribu: Cocoeae

Subtribu: Bactridinae

Género: *Desmoncus*

Especie: *D. orthacanthos* Martius.

Nombre común: hanan (maya), bayal, jahuactal, matamba, matambilla, junco, junco negro. Quero (1992, 1994)

Planta perenne que presenta tallos uniformes en toda su longitud; vainas de 15-20 cm de largo, muy espinosas, con espinas negras, pequeñas de 0.5-3 cm de largo. Hojas de más de 2 m de largo, pecíolo corto de 3-5 cm de largo; raquis muy espinoso, ferrugíneo-furfuráceo; en la porción adaxial armado con espinas de diferentes tamaños, las mayores hasta 2 cm de largo, la porción abaxial con espinas escasas, hasta 2.5 cm de largo, la porción donde se encuentran las pinnas modificadas no presenta espinas; pinnas más de 20 pares, las medias de más de 30 cm de largo por 3-5 cm de ancho; 7-9 pares de pinnas modificadas en espinas que disminuyen de tamaño hacia el ápice, las más largas de 7-12 cm de largo. Inflorescencia con ramas simples, la espata inferior pequeña de menos de 8 cm de largo, generalmente poco espinosa o desarmada, la espata superior fusiforme, muy espinosa, 20-40 cm de largo; pedúnculo de la inflorescencia espinoso solo en la base, raquis generalmente desarmado, con 30-50 raquillas flexuosas. Flores masculinas hasta 10 mm de largo, cáliz con lóbulos angostamente triangulares. Flores femeninas con cáliz cupuliforme de 1 mm de largo; corola tricuspidada de 4 mm de largo. Fruto globoso a subgloboso, rojizo a púrpura de 1-1.5 cm de diámetro, apiculado con los restos de los estigmas (Quero 1992, 1994) (figura 1.1).

D. orthacanthos presenta hábito trepador y crecimiento clonal a través del cual forma agregados, sus tallos pueden llegar a medir más de 30 m de longitud, con un diámetro aparente de 8 cm. Generalmente crece en bosques tropicales maduros, donde produce una cantidad considerable de tallos y potencialmente puede crecer en sitios perturbados (Orellana *et al.* 1999a). *D. orthacanthos* se distribuye en la república mexicana en los estados de Veracruz, Tabasco, Oaxaca, Chiapas y en la Península de Yucatán se encuentra en la parte sur de los estados de Campeche, Quintana Roo y Yucatán (Quero 1992, 1994) (figura 1.2).

Importancia de *D. orthacanthos*

El empleo del ratán en países tropicales para la elaboración de muebles es muy cotizado, por lo que es importado a México a altos costos, y el empleo del ratán (*Calamus spp*) sin una adecuada estrategia de conservación ha provocado que las poblaciones naturales de *Calamus spp* comiencen a agotarse. Debido a lo anterior en el Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) actualmente se llevan al cabo investigaciones para determinar el potencial para explotar comercialmente y de manera sostenible especies de palmas nativas con características similares a las del género *Calamus*, como es el caso de *D. orthacanthos*.

El uso de los recursos naturales locales proporciona por una lado, un incremento en el ingreso económico de las comunidades locales y por otro lado se pueden promover diferentes estrategias para el uso, manejo y conservación de los recursos naturales.

Orellana *et al.* (1999a) consideran que *D. orthacanthos* es junto con las palmeras nativas de la península de Yucatán *Bactris mexicana*, *B. major* y *Acoelorrhapha wrightii* un candidato potencial como sustituto del ratán como materia prima para la elaboración de muebles y cestos. Sin embargo las características anatómicas y mecánicas observadas en *D. orthacanthos* son mas cercanas a las características del ratán (*Calamus*), lo cual hacen de esta especie nativa uno de los sustitutos más adecuados (Orellana *et al.* 1998, Orellana *et al.* 1999a)

Las líneas de investigación que se desarrollan actualmente en el CICY con *D. orthacanthos*, abarcan las características mecánicas (Orellana *et al.* , 1998, Orellana *et al.*, 1999a), de propagación *in vitro* y estudios biomecánicos, así como evaluaciones ecológicas y fenomorfológicas de individuos de esta especie que se distribuyen en el sur de Quintana Roo.

El interés por estudiar los rasgos biológicos y estimular el empleo sostenible de este recurso no maderable, radica en que actualmente está siendo explotado sin control por los pobladores del ejido Noh-Bec, ya que se extraen tallos e individuos de esta especie, las artesanías elaboradas por la comunidad son vendidas en el mercado local, por lo que se pretende estimular esta actividad pero con un plan de manejo



Figura 1.1. *Desmoncus orthacanthos* Martius. **A.** Plántula donde se observan los tallos espinosos. **B.** Frutos en los que se aprecia su forma globosa y la estructura de la espata, así como el tallo espinoso. **C.** Hojas modificadas, se muestra el detalle de las pinnas modificadas en forma de ganchos, con los cuales se ayuda para trepar por otras plantas. **D.** Detalle de los tallos generados de un solo rizoma, donde se aprecia el crecimiento colonial (Fotografías de R. Orellana y J. Quiroz).

adecuado ya que la gente extrae los individuos de la selva sin una posterior reforestación.

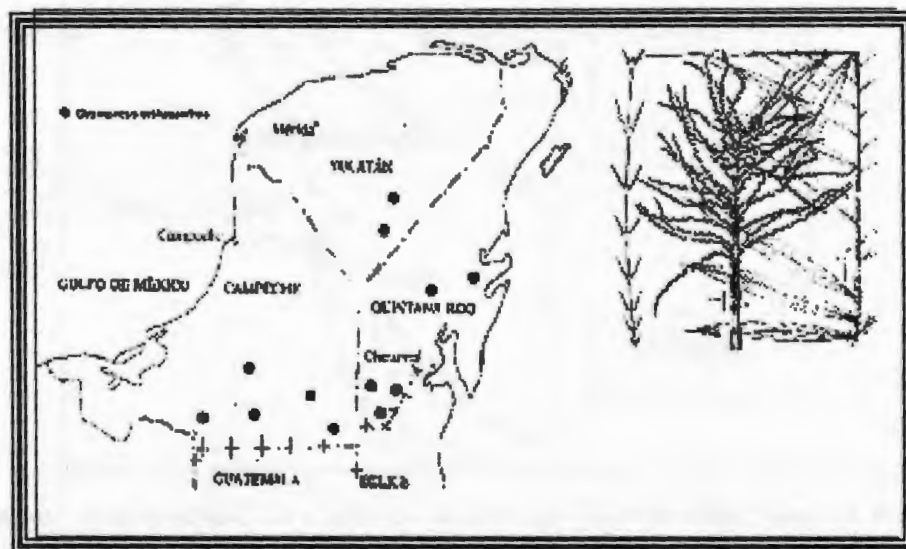


Figura 1.2. Distribución de *D. orthacanthos* en la península de Yucatán. Se distribuye en selvas medianas a altas subperennifolias y perennifolias. Modificado de Quero (1992 y 1994).

Con el presente trabajo se pretende contribuir al conocimiento ecofisiológico de esta especie en las diferentes condiciones ambientales en las que se encuentra en el ejido Noh-Bec, considerando su asociación simbiótica con los hongos micorrizógenos del suelo.

Sitio de estudio, clima, suelo, vegetación

El presente trabajo se realizó en los terrenos del Ejido Noh Bec, que se encuentra en la parte sur del estado de Quintana Roo y pertenece al municipio de Felipe Carrillo Puerto. La localización geográfica es entre los paralelos 19°02'30" y 19°12'30" latitud Norte y los meridianos 88°13'30" y 88°27'30" de longitud Oeste. El ejido colinda al norte con el ejido Petcacab, al sur con el ejido Chacchoben, al este con el ejido Cuahtémoc, al oeste con los ejidos Los Divorciados y Díaz Ordaz (Tropica Rural Latinoamericana, 1998) (figura 1.3).

El ejido Noh Bec tiene una superficie de 23,100 hectáreas, de las cuales 18,000 son de selva mediana bajo régimen de manejo forestal, 400 hectáreas de selva mediana y baja se encuentran bajo régimen de reserva ejidal, 2,800 hectáreas son de uso agropecuario y 106 hectáreas se encuentran ocupadas por cuerpos de agua (Tropica Rural Latinoamericana, 1998).

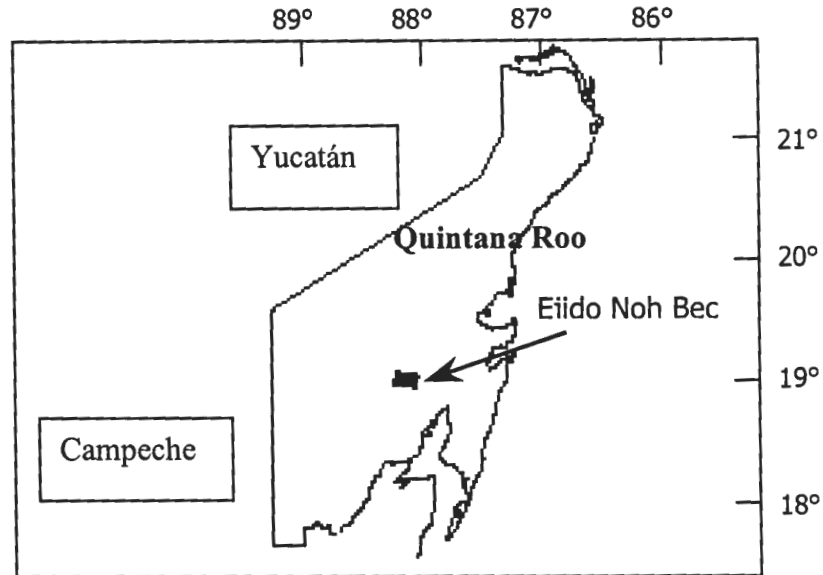


Figura 1.3. Localización de ejido Noh Bec en el estado de Quintana Roo. Tomado y modificado de Tropical Rural Latinoamericana (1998).

De acuerdo a la división fisiográfica propuesta por Miranda (1964), el ejido Noh-Bec se localiza en la subregión de Planicies del Caribe y del noreste, y se caracteriza por ser una planicie con ondulaciones leves de no más de 3 metros, la altitud promedio es de 60 metros sobre el nivel del mar, con terrenos bajos inundables que pueden provocar grandes extensiones donde se forman aguadas como es el caso de la Laguna Noh-Bec, con una extensión aproximada de 12 km de longitud por 8 km de ancho.

El clima es cálido subhúmedo con un período de lluvias en verano y otro período corto de lluvias en febrero y marzo, la temperatura media anual oscila entre 24 y 26°C, la precipitación anual es de 1,200 mm. De acuerdo con la clasificación climática de Köppen modificada por García (1973) el clima es de tipo $Aw_1(x')_i$ (figura 1.4).

La formación geológica de la zona de estudio se origina de la placa calcárea de origen marino que forma la Península de Yucatán, se caracteriza por poseer niveles inferiores constituidos por coquinas recubiertas por calizas, originando suelos de coloración amarillo-rojiza, la clasificación de los suelos del ejido Noh Bec incluye: rendzinas, luvisoles, vertisoles y gleysoles.

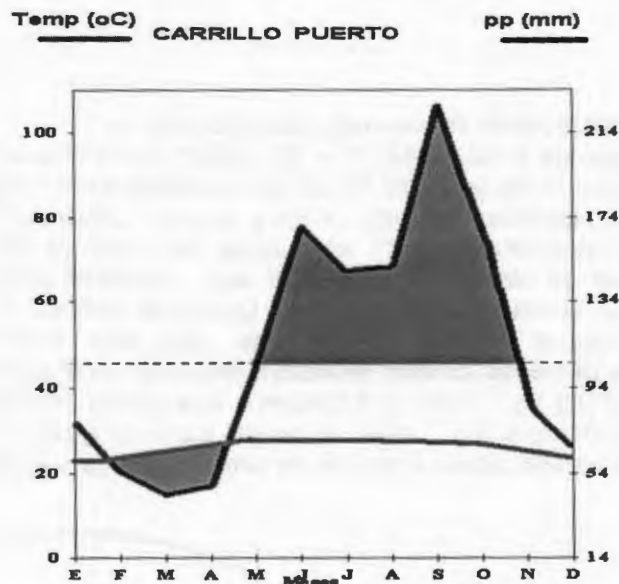


Figura 1.4. Diagrama ombrotérmico de una estación meteorológica cercana (Carrillo Puerto) (Tomado de Orellana *et al.* 1999b).

En la zona de estudio los individuos de *D. orthacanthos* se distribuyen en sitios con diferentes grados de perturbación, por lo tanto se han localizado y marcado individuos que se encuentran creciendo en dos condiciones contrastantes, una selva madura (sitio no perturbado) y una Milpa abandonada (sitio perturbado). En la figura 1.5 se puede apreciar la localización de los sitios con diferentes grados de perturbación que se utilizaron en este proyecto. Los sitios se han tipificado de manera inicial por la altura promedio de los árboles y por los componentes de la comunidad vegetal que los caracterizan.

Selva madura

Este sitio de muestreo se encuentra localizado en 19° 07' 28" N y 88° 20' 25" O. Es una selva madura sub perennifolia y de acuerdo con algunos ancianos del lugar no ha sido perturbado por actividad humana alguna en los últimos 80 años o más. La comunidad vegetal se encuentra dominada por las siguientes especies: *Pouteria unilocularis* (Engel) Eyma, *Aseis yucatanensis* Standl., *Metopium browneii* (Jacq.) Urban y las palmas *Cryosophila stauracantha* (Heynh.) R. Evans, *Sabal mauritiiformis* (H. Wendl. Ex- H. Karst.) Griseb. & H. Wendl. y *Desmoncus orthacanthos* Martius. El dosel de esta comunidad vegetal alcanza los 20 a 25 m de altura. El fósforo disponible de acuerdo al método de Olsen en el suelo de este sitio es de 18.80 mg kg⁻¹ suelo y el nitrógeno total por el método de micro- Kjeldahl es igual a 67.75 cmol. kg⁻¹ suelo, el valor de pH de este suelo es 7.3. El suelo en este sitio es de tipo Gleysol. Este sitio es conocido por la población local con el nombre de "El Huasteco".

Acahual desarrollado a partir de una milpa abandonada

Este sitio está localizado a 19° 05'54" N y 88° 13'30" O. El área está cubierta de vegetación secundaria en las primeras etapas de establecimiento, originalmente este sitio fue usado para agricultura de roza, tumba y quema, cultivándose maíz por dos ciclos, hace aproximadamente 8 a 10 años antes del inicio de este trabajo. Las especies dominantes de plantas de este lugar son: *Cecropia peltata* L., *Bursera simaruba* (L.) Sarg., *Guazuma ulmifolia* Lam., *Guettarda combsii* Urb. y la palma *Desmoncus orthacanthos* Martius. El dosel en este sitio alcanza una altura aproximada de 10 a 15 metros. El valor de fósforo disponible en el suelo de acuerdo al método Olsen 13.50 mg kg^{-1} suelo y el nitrógeno total (micro- Kjeldahl) en el suelo tiene un valor de $16.93 \text{ cmol. kg}^{-1}$ suelo, el pH del suelo es igual a 7.1. El suelo en este sitio es de tipo vertisol gleico. Este sitio es conocido por la población local como "La milpa".

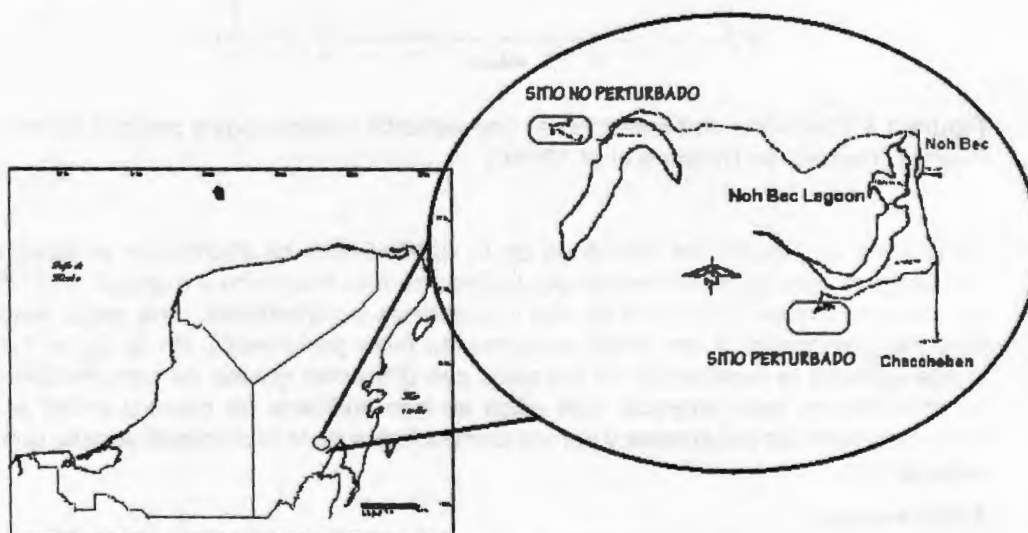


Figura 1.5. Localización de los sitios de muestreo.

JUSTIFICACIÓN

Con el presente trabajo, se pretende evaluar la relación simbiótica micorrícica desde un punto de vista ecofisiológico en la palmera *D. orthacanthos*, encaminada a la obtención de información que permita el establecimiento de plantaciones experimentales, ya que la asociación micorrícica puede mejorar las condiciones de crecimiento de las plantas, con lo cual se obtendría palmeras sanas con una talla económicamente importante en un plazo de tiempo corto.

HIPÓTESIS

1. La presencia de la asociación micorrícica arbuscular en los diferentes estadios de desarrollo de la palmera *D. orthacanthos* y en los distintos sitios en los que se distribuye, contribuye de manera positiva en la supervivencia y crecimiento de las poblaciones en los sitios de estudio.
2. La asociación micorrícica arbuscular presenta un comportamiento estacional que responde tanto a las condiciones fisiológicas de la planta y hongo, como a las condiciones ambientales.
3. Los individuos de *D. orthacanthos* que establecen la asociación con hongos micorrizógenos arbusculares elevan su valor de adecuación y las probabilidades de completar de manera exitosa su ciclo de vida.
4. La inoculación con hongos micorrizógenos arbusculares, favorece el establecimiento y permanencia exitosa de *D. orthacanthos* en los sistemas estudiados.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la respuesta ecofisiológica de *Desmoncus orthacanthos* Martius a la asociación micorrícica en sitios con condiciones contrastantes de perturbación (selva madura y milpa abandonada) en una selva tropical mediana en Quintana Roo, México.

Objetivos particulares

- Evaluar el comportamiento estacional y espacial de la asociación micorrícica en diferentes etapas del crecimiento de la palma *D. orthacanthos* Martius.
- Evaluar el comportamiento estacional y espacial del número de propágulos de hongos micorrizógenos en el suelo de una selva madura y en una milpa abandonada.
- Determinar el grado de dependencia de *D. orthacanthos* a la simbiosis micorrícica.
- Evaluar el efecto de la simbiosis micorrícica en el establecimiento, crecimiento y supervivencia de plántulas de *D. orthacanthos* introducidas a una selva madura y a una milpa abandonada.

LITERATURA CITADA

- Allen, M. F. 1991. *The ecology of mycorrhizae*. Cambridge University Press.
- Allen, M.F.; W. Swenson, J.I. Querejeta, L.M. Egerton-Warburton y K.K. Treseder. 2003. Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex interactions among plants and fungi. *Annual Review of Phytopathology*. 41:15.1–15.33
- Allen, E. B., M. F. Allen, D. T. Helm, J. M. Trappe, R. Molina y E. Rincón. 1995. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. En: Collins H.P. , G.P. Robertson y M.J. Klung (Eds.). *The significance and regulation of soil biodiversity*. Kluwer Academic Publishers, Holanda, pp: 47-62.
- Augé, R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*. 11:3-42.
- Azcón-Aguilar, C. y J. Barea. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens-an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*. 6: 457-464.
- Barry, D. 1962. The possibility of mycorrhizae in palms. *Principes*. 6:87-90
- Bethlenfalvay, G. 1992. Mycorrhizae and crop productivity. En: *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA Special Publication No. 54. USA.
- Bhatia, N.V., K. Sundari y A. Adholeya. 1996. Diversity and selective dominance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. En: Mukerji K.G. (Ed.). *Concepts in Mycorrhizal Research*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, pp: 133-178.
- Bonfante, P. y S. Perotto. 1995. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytologist*. 130:3-21
- Brundrett, M., N. Bougher, B. Dell, T. Grove y N. Malajczuk. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph 32. Canberra. 374 p
- Burleigh, S.H., T. Cavagnaro y I. Jakobsen. 2002. Functional diversity of arbuscular mycorrhizas extends to the expression of plant genes involved in P nutrition. *Journal of Experimental Botany*. 53: 1593-1601.
- Camargo-Ricalde, S. 2002. Dispersal, distribution and establishment of arbuscular mycorrhizal fungi: A review. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 71: 33-44.
- Camargo-Ricalde, S.; S. Dhillion y C. Jiménez-González. 2003. Mycorrhizal perennials of the "matorral xerófilo" and the "selva baja caducifolia" communities in the semiarid Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. *Mycorrhiza*. 13:77-83.
- Carrillo, L., R. Orellana y L. Varela. 2002. Mycorrhizal associations in three species of palms of the Yucatán Peninsula, México. *Palms*. 46 (1): 39-46.
- Clement, C. y M. Habte. 1995. Genotypic variation in vesicular-arbuscular mycorrhizal dependence of the pejobaye palm. *Journal of Plant Nutrition*. 18: 1907-1916.
- Corkidi, L. y E. Rincón. 1997a. Arbuscular mycorrhizae in tropical sand dune ecosystem on the Gulf of Mexico. I. Mycorrhizal status and inoculum potential along a successional gradient. *Mycorrhiza*. 7: 9-15.
- Corkidi, L. y E. Rincón. 1997b. Arbuscular mycorrhizae in tropical sand dune ecosystem on the Gulf of Mexico. II. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of species distributed in different early successional stages *Mycorrhiza*. 7: 17-23.

- Finlay, R. y B. Söderström.** 1992. Mycorrhiza and carbon flow to the soil. **En:** Allen M.F. (Ed.). *Mycorrhizal functioning. An integrative plant fungal process.* Chapman & Hall. New York.
- Fisher, J.B. y K. Jayachandran.** 1999. Root structure and arbuscular mycorrhizal colonization of the palm *Serenoa repens* under field conditions. *Plant and soil.* **217:** 229–241.
- Francis, R. y D. Read.** 1994. The contribution of mycorrhizal fungi to determination of plant community structure. *Plant and Soil.* **159:** 11-25
- García, E.** 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Apuntes de Climatología. Talleres Larios. México. D.F.
- Gemma, J.N., R.E. Koske and M.Habte.** 2002. Mycorrhizal dependency of some endemic and endangered Hawaiian plant species. *American Journal of Botany.* **89 (2):** 337-345.
- Gianinazzi-Pearson, V.** 1996. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis. *The Plant Cell.* **8:** 1871-1883.
- Gianinazzi-Pearson, V. y H. Diem.** 1982. Endomycorrhizae in the tropics. **En:** Dommergues, Y. y H. Diem (Eds.). *Microbiology of tropical soils and Plant Productivity.* Junk Publishers. U.K., London.
- Guadarrama, P y J. Alvarez-Sánchez.** 1999. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, Mexico. *Mycorrhiza.* **8:** 267-270.
- Harley, J.L. y S.E. Smith.** 1983. Mycorrhizal simbiosis. Academic Press. London.
- Hernández, L.; S. Castillo, P. Guadarrama, Y. Martínez, M. Romero y I. Sánchez.** 2003. *Hongos micorrizógenos arbusculares del Pedregal de San Ángel.* Facultad de Ciencias. UNAM. D.F.
- Hodge, A.** 2000. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. *FEMS Microbiology Ecology.* **32:** 91-96.
- Huante, P.; E. Rincón y E. Allen.** 1993. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on seedling growth of four tree species from the tropical deciduous forest in Mexico. *Mycorrhiza.* **2:** 141-145.
- Jakobsen, I.; S.E. Smith y F.A. Smith.** 2002. Function and diversity of arbuscular mycorrhizae in carbon and mineral nutrition. **En:** van der Heijden, M.G.A. y I. Sanders (Eds.). *Mycorrhizal ecology. Ecological studies Vol. 157.* Springer-Verlag. Heidelberg.
- Janos, D.** 1977. Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect the growth of *Bactris gasipaes*. *Principes.* **21:** 12-17
- Janos, D.** 1980. Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth. *Ecology.* **61:** 151-162.
- Khalil, S.; T. Loynachan y M. Tabatabai.** 1999. Plant determinants of mycorrhizal dependency in soybean. *Agron. J.* **91:**135-141.
- Kiers E.; Lovelock C.; Krueger E. y E. Herre.** 2000. Differential effects of tropical arbuscular mycorrhizal fungal inocula on root colonization and tree seedling growth: implications for tropical forest diversity. *Ecology Letters,* **3:** 106-113.

- Koide R; M. Li; J. Lewis y C. Irby. 1988. Role of mycorrhizal infection in the growth and reproduction of wild vs. cultivated plants. I. Wild vs. cultivated oats. *Oecologia*. 77:537-543.
- Koske, R.E. y J.N. Gemma. 1990. VA mycorrhizae in strand vegetation of Hawaii: Evidence for long-distance codispersal of plant and fungi. *American Journal of Botany*. 77: 466-474.
- Malloch, D.W., K.A. Pirozynski y P.H. Raven. 1980. Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbiosis in vascular plants (a review). *Proceedings of the National Academy of Science*. 77 (4): 2113-2118.
- Marks, G.C. 1991. Causal morphology and evolution of mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 35: 89-104
- Marschner H. y B. Dell. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*. 159: 89-102.
- Miranda, F. 1964. *Vegetación de la península yucateca. Rasgos fisiográficos. La vegetación*. Colegio de posgraduados. Escuela Nacional de Agronomía. Chapingo.
- Morte A. y M. Honrubia. 2002. Growth response of *Phoenix canariensis* to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *Palms*. 46:76-80.
- Morton, J. 1990. Evolutionary relationships among arbuscular mycorrhizal fungi in the Endogonaceae. *Mycologia*. 82: 192-207.
- Morton, J. B. y D. Redecker. 2001. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93:181-195.
- Newman, E. 1988. Mycorrhizal links between plants: their functioning and ecological significance. *Advances in Ecological Research*. 18: 243-267.
- Núñez, O. 2001. Dinámica de colonización micorrícica en individuos adultos de *Astrocrinum mexicanum* Liebm (Arecaceae) en una selva tropical. Tesis de Licenciatura. UNAM. D.F.
- Orellana, R., P. Herrera, S. Escalante y S. Rebollar. 1998. In search of rattan substitutes in the Yucatan peninsula, Mexico. Forest Products Society 52nd Annual Meeting. Mérida, Yucatán, México.
- Orellana, R.; P. Herrera, S. Rebollar, J. Escalante, G. López, S. Escalante y L. Gus. 1999a. Studies on the potential uses of some native palms of the Yucatan peninsula (Mexico) as substitutes of rattan. *Acta Horticulturae*. (486): 291-295.
- Orellana, R., M. Balam e I. Bañuelos 1999b. Diagramas ombrotérmicos. 111.2 Evaluación Climática. En: García de Fuentes, A. J. Córdoba y Ordoñez, P. Chico Ponce de León (Eds.). *Atlas de procesos territoriales de Yucatán*. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida.
- Peat H.J. y A. H. Fitter. 1993. The distribution of arbuscular mycorrhizas in the British flora. *New Phytol.*, 125: 845-854.
- Quero, H. 1992. *Las palmas silvestres de la Península de Yucatán*. Pub. Esp. 10. Instituto de Biología. UNAM. México.
- Quero, H. 1994. *Palmae*. Flora de Veracruz. Fascículo 81. Instituto de Ecología. México, D.F.

- Read, D.J.** 1983. The biology of mycorrhiza in the Ericales. *Canadian Journal of Botany*. **61**: 985-1004.
- Read, D.J.** 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia*. **47**: 376-391.
- Read, D.J.** 2002. Towards ecological relevance-progress and pitfalls in the path towards an understanding of mycorrhizal functions in Nature. **En:** van der Heijden, M.G.A. y I. Sanders (Eds.). *Mycorrhizal ecology. Ecological studies Vol. 157*. Springer-Verlag. Heidelberg.
- Remy, W., T.N. Taylor, H. Hass y H. Kerp.** 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Science*. **91**: 11841-11843.
- Ruiz-Lozano, J., R. Azcón y M. Gómez.** 1995. Effects of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. *Applied and Environmental Microbiology*. **61**: 456-460.
- Sanders, I. R.** 2002. Specificity in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **En:** van der Heijden, M.G.A. y I. Sanders (eds.). *Mycorrhizal ecology. Ecological studies Vol. 157*. Springer-Verlag. Heidelberg.
- Schenck, N.C.** 1982. *Methods and principles of mycorrhizal research*. American Phytopathological Society. Minnesota.
- Simon, L. J. Bousquet, R.C. Lévesque y M. Lalonde.** 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*. **363**: 67-69.
- Srivastava, D., R. Kapoor, S.K. Srivastava y K.G. Mukerji.** 1996. Vesicular arbuscular mycorrhiza-an overview. **En:** Mukerji K.G (Ed.). *Concepts in Mycorrhizal Research*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, pp: 1-39.
- St. John T.V., Coleman D.C.** 1983. The role of mycorrhizae in plant ecology. *Canadian Journal of Botany*, **61**: 1005-1014.
- Sylvia, D.M.** 1998. Mycorrhizal symbioses. **En:** Sylvia, D.M.; J.J. Fuhrmann, P.G. Hartel y D.A. Zuberer (Eds.). *Principles and applications of soil microbiology*. Prentice Hall. New Jersey.
- Tropical Rural Latinoamericana.** 1998. Plan de manejo. Ejido Noh-Bec 1999-2008. Versión en Disco Compacto.
- van der Heijden, M.G.; J.N. Klironomos; M.Ursic; P. Moutoglis; R. Streitwolf-Engel; T. Boller; A. Wiemken y I.R. Sanders.** 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* **396**: 69-72.

CAPÍTULO 2

Mycorrhizal dynamics and dependence of *Desmoncus orthacanthos* Martius (Arecaceae)

INTRODUCTION

The role of the arbuscular mycorrhizal (AM) association in improving the growth of individual plants has been investigated extensively. This association offers the host plant protection against soil pathogens (Azcón-Aguilar & Barea 1996), improved water uptake and resistance to water stress (Augé 2001, Querejeta *et al.* 2003, Ruiz-Lozano *et al.* 1995), and increased nutrient uptake (especially phosphorus and nitrogen; Marschner & Dell 1994; Siquiera & Saggin-Junior 2001). The mycorrhizal association is important for nutrient cycling since roots with external hyphae can explore and capture nutrients from a larger volume of soil compared to nonmycorrhizal roots (Attiwill & Adams 1993; Bhatia *et al.* 1996).

Mature tropical ecosystems are characterised by continual, year-long nutrient cycling for the incorporation of mineral resources into biomass (Johnson & Wedin 1997, Pankow *et al.* 1991). In tropical forests where competition for light, nutrients and water may be high, the AM association can influence the ability of plants to acquire nutrients and increase plant growth and fitness (Allen *et al.* 2003, Zobel *et al.* 1997). In spite of the importance of the mycorrhizal association in tropical ecosystems, there is relatively little basic information on the role of this association in such a diverse and complex system (Janos 1980a; Huante *et al.* 1993), as well as a lack of knowledge of the mycorrhizal fungal life cycle and their capacity to track changes in edaphic and microclimatic conditions (Brundrett 2002).

In tropical systems, studies of seasonal root colonization or density of spores in soil (e.g. Guadarrama & Álvarez-Sánchez 1999, Johnson & Wedin 1997, Picone 2000) are scarce, and even fewer studies have evaluated these for the long term (Allen *et al.* 1998; 2003). It is important to evaluate temporal and disturbance dynamics of the mycorrhizal association since the seasonality of host plants and their response to the symbiosis are related to their strategy for nutrient uptake and competition (Bethlenfalvay 1992). Nevertheless, these dynamics are poorly understood, and it is difficult to make predictions about the importance and response of plants to mycorrhizae (Bethlenfalvay 1992, Sanders & Fitter 1992).

The objective of this study was to examine the mycorrhizal seasonality and growth response of the palm *Desmoncus orthacanthos* Martius in the southern part of Yucatán Peninsula (Mexico). This species grows in the understory of seasonal tropical forest in mature as well as secondary forest. It is harvested by local people to produce handicrafts, so it has commercial value and could be included in reforestation efforts. AM fungi have been observed in the roots of this species (Carrillo *et al.* 2002), but their function has not been examined. As part of a program to understand the ecology and horticulture of this species (Orellana *et al.* 1999), a study was initiated to observe the

dynamics of AM root colonization and spore production of *D. orthacanthos* in mature and secondary forest, and to test its dependency on AM in greenhouse conditions.

METHODS

Species of study. *Desmoncus orthacanthos* is a Neotropical, scandent Arecaceae that is broadly used for the production of furniture and handicrafts by farmers in regions that were originally covered with evergreen and semi-evergreen tropical forests from southern Mexico to Brazil and Bolivia (Henderson *et al.* 1995). People who use this palm species prefer to harvest mature individuals with stems more than 30 m in length. *D. orthacanthos* can dominate the canopy in some secondary forests, and is recognized by the production of infructescences composed of red berries that mature from July to September, and are probably dispersed by birds. Juveniles are frequently found at low densities in mature forests; but by contrast, their densities are higher in disturbed areas such as abandoned agriculture, even though predation and sapling mortality may be intense. Biological and ecological studies of this species are scarce (Orellana *et al.* 1999, Siebert 2000). Carrillo *et al.* (2002) have found AM associations in roots of individuals occurring in both disturbed and undisturbed areas. These were described as the Magnolioid roots type, as originally classified by Baylis (1975).

Study Area. Field observations and sampling were done at the ejido (communal farmland) of Noh-Bec which is located in the central-southern portion of Quintana Roo State, México, between 19° 02'30" - 19° 12'30" and 88° 13'30" - 88° 27'30". The climate is warm sub-humid with the rainy season during May through October. Annual mean temperature varies from 24 to 26 °C, and precipitation is 1200-1500 mm. Soils in this area have originated from calcareous materials, and rendzins, vertisols, luvisols and gleysols dominate. The original vegetation is evergreen to semievergreen tropical forest with canopy heights between 20 to 30 m. Plants were sampled in mature forest and abandoned cropland. The populations of *D. orthacanthos* that were present in the two sites had different plant structure in terms of age distribution and size.

Mature forest: The mature forest site is located at 19° 07' 28" N and 88° 20'25" W. It is a semievergreen mature forest that, according to some elder inhabitants, was not disturbed for 80 years or more. The tree canopy was 20-30m tall and dominated by *Pouteria unilocularis* (Engel) Eyma, *Alseis yucatanensis* Standl., *Metopium brownei* (Jacq.) Urban, with the understory palms *Cryosophila stauracantha* (Heynh.) R. Evans, *Sabal mauritiformis* (H. Wendl. Ex- H. Karst.) Griseb. & H. Wendl., and *Desmoncus orthacanthos*. Extractable phosphorous (Olsen and Dean 1965) for this site was 18.8 mg kg⁻¹ soil and total nitrogen (micro-Kjeldahl) was 67.8 cmol kg⁻¹ soil, with a soil pH of 7.3, and 5.2% organic matter. Soil samples for nutrient determination were collected in April 2001 (dry season).

Abandoned agriculture (milpa, cornfield): The abandoned cornfield site is located at 19° 05'54" N and 88° 13'30" W. This area was covered with early secondary vegetation; originally this area was used for traditional maize slash and burn agriculture to grow corn for two years 8-10 years prior to the time field work was initiated. The dominant tree species were *Cecropia peltata* L., *Bursera simaruba* (L.) Sarg., *Guazuma ulmifolia* Lam., *Guettarda combsii* Urb. with a canopy of 10-15m, and *D. orthacanthos* occurred in the

understory. The extractable P was 13.5 mg kg^{-1} , the total N was $16.9 \text{ cmol kg}^{-1}$, soil pH was 7.1 and 3.3% of organic matter. Soil samples for nutrient determination were collected in April 2001 (dry season).

Field methods. In March 2001, five individuals of *Desmoncus orthacanthos* from four previously defined growth stages were selected and labelled in each site. Growth stages were determined assuming a relationship between the height and development stage (Orellana et al. 1999). Individuals between 35 and 50 cm in height were considered juveniles (J); individuals taller than 50 cm but shorter than 120 cm were considered saplings (S); individuals larger than 120 cm, and that did not display signs of reproduction were considered immature adults (A); and individuals larger than 120 cm with visible signs of reproductive structures (inflorescence or fruit) were considered mature adults (M). Every 3 to 4 months both sites (mature forest and abandoned cornfield) were sampled, and survival of individuals was recorded; in case an individual died the nearest palm from the same growth stage replaced it. Roots and soil from vicinity were collected from labelled individuals to a depth of 20 cm, selecting roots ≤ 2 mm in diameter. Roots were rinsed and fixed in a 70:29:1 (volumetric) water-ethanol-glycerine solution. At least 250 mL of soil from vicinity were collected from every individual and air-dried. Soil moisture was determined gravimetrically.

Laboratory methods. Root samples were cleared in 10% KOH and H_2O_2 and stained with trypan blue (Phillips & Hayman 1970). From each sample, ten 1-cm fragments were randomly selected, and mycorrhizal root colonization was determined by observations in a microscope at 40X. For each sample, 75 microscopic fields (1-mm diameter) were examined and counted as colonized when hyphae, vesicles or arbuscules were observed (McGonigle et al. 1990). Percentage of colonization was calculated as a ratio of the number of colonized sections and total number of fragments analysed.

AM fungal spore density in vicinity soil was estimated by a modified detergent-sucrose flotation method as follows (Allen et al. 1979): soils were air-dried and sieved to < 2 mm, from each soil sample 1 g was centrifuged in water, and then suspended in detergent-sucrose solution. Spores contained in the suspension were collected and filtered over a $45 \mu\text{m}$ pore membrane. Only entire spores were counted and spore density was expressed as a number of spores per gram of dry soil.

Mycorrhizal dependency of *D. orthacanthos*. Seeds of *Desmoncus orthacanthos* were collected in the field, in both forest and abandoned agriculture, and were germinated in humid chambers using sterilized vermiculite as substrate. After germination, 10 days, one seedling was transplanted per pot, and each pot was filled with 350 mL of sterilized vermiculite. In the mycorrhizal treatment 100 mL of soil from the forest (36 propagules: colonized roots, spores and extraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi per 100 mL soil) was applied. Non-mycorrhizal treatments were inoculated with 100 mL of pasteurized forest soil to eliminate mycorrhizal propagules. To recover the natural soil microbiota in the non-mycorrhizal treatment, 100 mL of soil filtrate using Whatman No. 42 filter paper was applied according to Azcón & Barea (1997).

Pots were randomly distributed in a greenhouse. Six treatments were applied: three levels of phosphorous (P) concentration in solution (0, 10 and 20 ppm) and two mycorrhizal levels (mycorrhizal and nonmycorrhizal) were used, each treatment with six replicates. Every 30 days 100 mL of Hoagland's nutrient solution was applied to the pots, using KH_2PO_4 (1M) to adjust the P level required. Relative mycorrhizal dependency of *D. orthacanthos* was calculated according to Plenchette *et al.* (1983): $\text{RMD} = [(\text{mean dry weight of mycorrhizal plants} - \text{mean dry weight of nonmycorrhizal plants}) / \text{mean dry weight of non-mycorrhizal plants}] \times 100$.

Statistical analyses. All field data were square root transformed to ensure equality of variance and normality. One-way analysis of variance for repeated measurements (ANOVA-RM) was used (Kleinbaum *et al.* 1998) to compare root colonization and spore density in different sampling dates; one-way ANOVA was used to compare the same parameters between growth stages for each observation date, and Student's t-tests were used to compare differences among stages and between sites. In addition, Pearson's correlation test was used to evaluate relationships between root colonization, spore density and soil moisture.

RESULTS

Survivorship. *Desmoncus orthacanthos* had a survival of 100% in all stages of growth except for juveniles, which had 60% and 80% in mature forest and abandoned cornfield, respectively during one year of observation. The decreased survival of juveniles may have been from leaf and stem predation that was observed in the field.

AM fungi structures. Root colonization was *Arum* type. AM fungal structures were found in all root observations. The most common structures observed were intraradical hyphae inside the cortical tissue, but vesicles and internal spores were also observed, and in few cases arbuscules. Only percent total colonization is reported, as structures other than internal hyphae were sparse (< 5% of observations).

Seasonal patterns of root colonization. Roots of *Desmoncus orthacanthos* had AM fungal colonization on all sampling dates. The values ranged from 5 to 33% for individuals in the mature forest, while individuals from the abandoned cornfield varied from 6 to 34%. Higher values of root colonization were observed in September for all stages in the mature forest, and the highest values of root colonization occurred in mature adults (**M**) (Figure 1). This is the time of year when the mature adults produce flowers and fruits. In the abandoned cornfield the highest values of root colonization were also observed in March 2001 for all stages except for the immature palms (**A**) (Figure 2). Overall AM root colonization in mature forest ($F=19.8$, $p<0.001$), and in abandoned cornfield ($F=14.3$, $p<0.001$), showed seasonal dynamics for all growth stages, except for saplings in both sites and juveniles in abandoned cornfield.

Seasonal spore density. Spores of AM fungi were observed in soil from vicinity on all dates and growth stages. The density of spores from mature forest was higher in both March 2001 and 2002 than the other sampling dates. In the abandoned cornfield, this tendency toward higher spore density in March was only observed in samples from juveniles (**J**) and mature palms (**M**) (Figure 4). Spore density of AM fungi from soil

vicinity of individuals in the mature forest showed seasonal variation ($F=16.9$, $p<0.0001$) (Figure 3). Seasonality was also observed when different growth stages were analysed separately. Spore density patterns in the abandoned cornfield showed the same dynamics as those observed in mature forest, with significant differences in spore density among sampling dates ($F=12.2$, $p<0.0001$). Separate analyses for different stages showed no significant differences between sample dates for saplings (S) in the abandoned cornfield, but there was seasonal variation in spore density for all other growth stages.

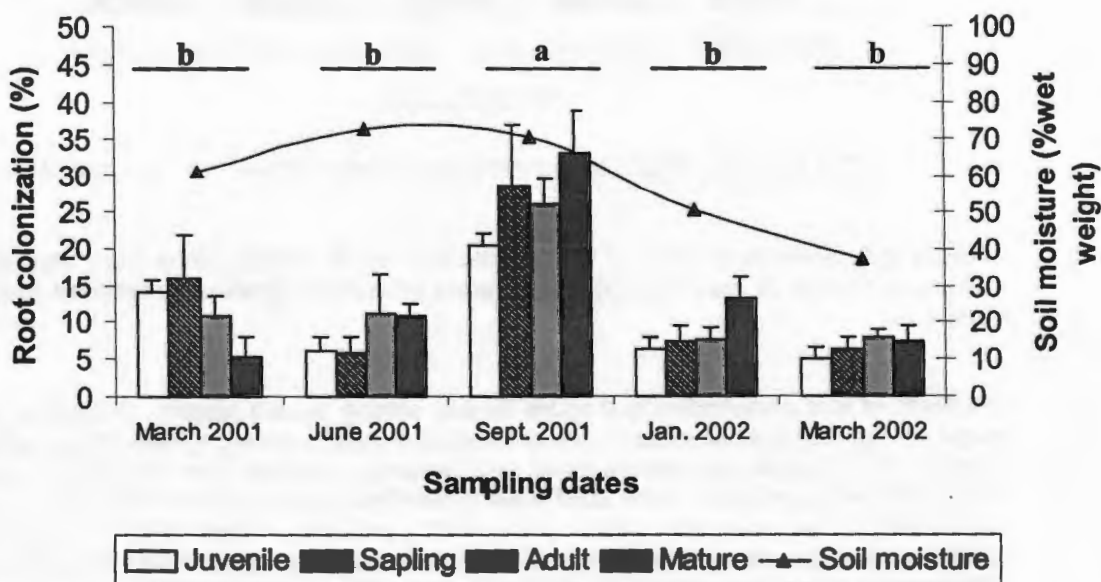


Figure 2.1. Average (+S.E.) of root colonization in *D. orthacanthos* from mature forest. Groups of bars marked with different letters are significantly different ($p<0.05$) ($n=5$).

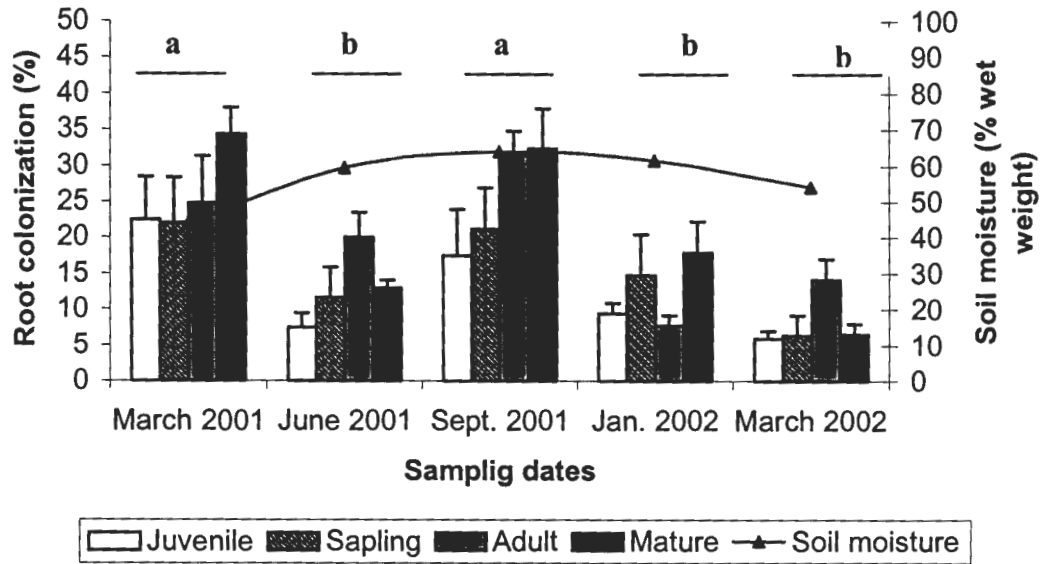


Figure 2.2. Average (+S.E.) of root colonization in *D. orthacanthos* from abandoned cornfield. Groups of bars marked with different letters are significantly different ($p < 0.05$) ($n=5$).

Patterns of root colonization and spore density among growth stages. In general there were no significant differences in percent root colonization among growth stages within a sample date at either the mature forest or abandoned cornfield. One exception occurred in abandoned cornfield in June 2001, when juveniles (J) had significantly lower percent colonization than immature adults (A) ($F=3.36$, $p < 0.05$). There were no significant differences among stages in any sample dates in spore density at either site ($p > 0.05$ in all cases).

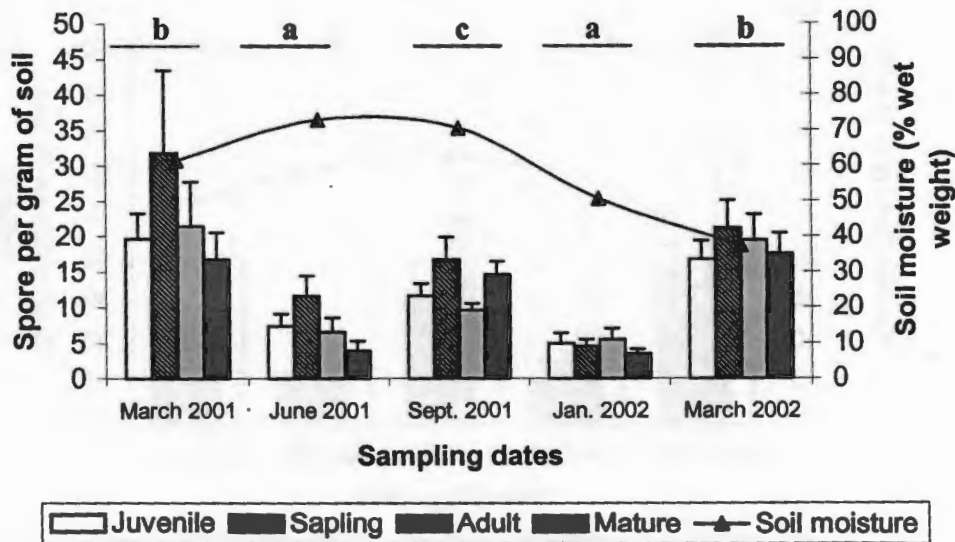


Figure 2.3. Average (+S.E.) of spores per gram of soil from rhizosphere of *D. orthacanthos* from mature forest. Groups of bars marked with different letters are significantly different ($p < 0.05$) ($n = 5$).

Patterns of root colonization and spore density between mature forest and abandoned cornfield. Both percent colonization and spore density were similar in the mature forest and the abandoned cornfield on most dates. Root colonization was significantly different between the two field sites ($t = 2.97$, $p < 0.02$) on one date only (March 2001), and only at the mature adult stage. Mature adults from the abandoned cornfield had higher root colonization (34.4%) than mature adults from the mature forest (5.4%) (Figures 1 and 2). Spore density was higher in juvenile palms in abandoned cornfield than mature forest in September ($t = 2.84$, $p < 0.05$), but not on any other date. Immature adult palms also showed differences in September ($t = 2.97$, $p < 0.02$) but not on other dates (Figures 2.3 and 2.4).

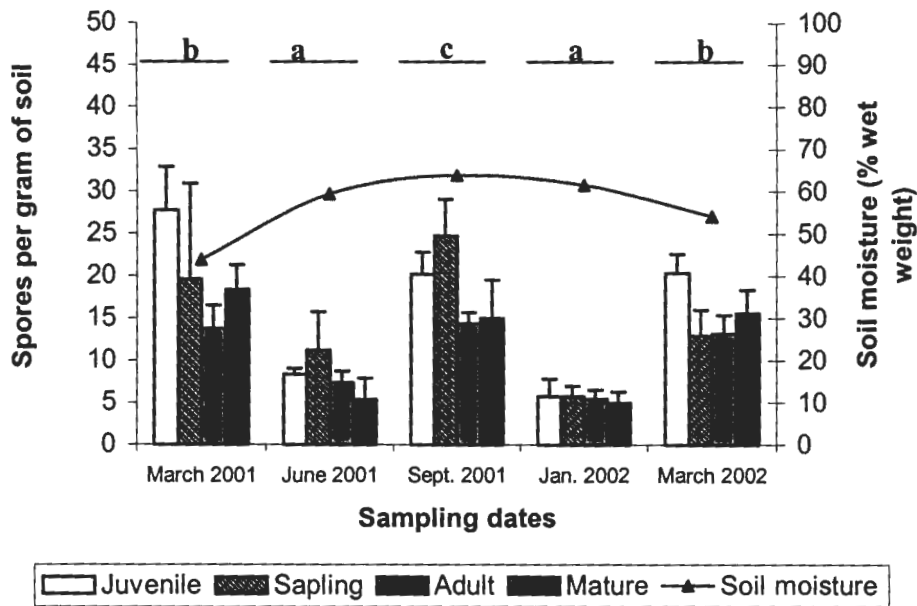


Figure 2.4. Average (+S.E.) of spores per gram of soil from rhizosphere of *D. orthacanthos* from abandoned cornfield. Groups of bars marked with different letters are significantly different ($p < 0.05$) ($n=5$).

Correlation between root colonization, spores and soil moisture. Using Pearson's correlation test, there is no significant correlation ($p > 0.05$ in all cases) between the values of either spore density or percent colonization and soil moisture, and between root colonization and spore density. Both AM fungal activity and soil moisture showed seasonal dynamics, but these did not track each other closely. Fungal activity was maintained during the dry season, often with no significant reduction compared to the rainy season.

Mycorrhizal dependency of D. orthacanthos. At the end of the experiment, the actual P available for plants in the substrate was 4 (0 ppm added), 12 (10 ppm added) and 24 ppm (20 ppm added) of P. The relative mycorrhizal dependency was greatest for the plants that received the lowest level of P (54.9%), but there was a positive biomass response to all three levels of added P (Table 2.1).

Table 2.1. Average (\pm S.E.) of total dry weight of *D. orthacanthos* growing at three P levels in nutrient solution (n = 6).

	Dry weight (g)		
	0 ppm P	10 ppm P	20 ppm P
Mycorrhizal plants	1.24 (\pm 0.14)	0.55 (\pm 0.12)	0.51 (\pm 0.12)
Nonmycorrhizal plants	0.73 (\pm 0.18)	0.44 (\pm 0.11)	0.47 (\pm 0.12)

DISCUSSION

Mycorrhizae and establishment. Many reports indicate that the development of a mycorrhizal association plays an important role in improving establishment of seedlings in a competitive system, such as a tropical forest (Francis & Read 1994, Gange *et al.* 1993, Lovera & Cuenca 1996, Pedersen & Sylvia 1996, Zobel *et al.* 1997). The reduced survivorship of juveniles in both the mature forest (60%) and abandoned cornfield (80%) indicate that this is the limiting stage for successful establishment of the species (e.g. Escalante *et al.* 2004). The values of root colonization by AM fungi in juveniles were not different in the abandoned cornfield and mature forest, nor was colonization different in general among the four growth stages, indicating that mycorrhizal inoculum was not the major limiting factor for establishment.

In another study that examined mycorrhizal inoculum following slash and burning in Quintana Roo, the percentage colonization was comparable to mature forest within a year, and the AM spore species composition recovered within four years after the fire (Allen *et al.* 2003). Leaf and stem predation, most likely by insects (Ramos pers. obs., also previously reported by Siebert 2000) was probably the cause of mortality of the juvenile stage. Thus there is no direct relationship between percent colonization and survival of juveniles at the abandoned cornfield and forest sites. In fact, later growth stages had no higher colonization than juveniles, either. Instead, it is more useful to understand the seasonal dynamics as an important factor for the establishment and growth of this species.

Seasonality of the AM association. Mycorrhizal fungi usually track seasonal soil moisture changes quite closely, especially in seasonal climates such as seasonally dry tropical forest (Allen *et al.* 1998, 2003). The results of this study on *Desmoncus orthacanthos* were surprising in that the relationships between both percent root colonization and spore density were not significantly correlated with soil moisture, and there were still active roots with relatively high percent colonization during the dry season. This may indicate that this species is dependent on mycorrhizae during the entire year; in fact % colonization in the abandoned cornfield during the height of the dry season in March 2001 was as high as the following September, the middle of the rainy season, as has been found for other palm species in a tropical forest (Nuñez-Castillo & Alvarez-Sánchez 2003). September is also the season of flowering for *D. orthacanthos*, a time when other researchers have reported higher than normal % colonization (Corkidi & Rincón 1997) so high colonization could be an indicator of high effort of growth and development (pers. obs.).

The studies that have reported seasonality of the mycorrhizal association generally assume a direct influence of environmental conditions on the fungi, such as temperature and moisture (Mohammad *et al.* 1998, Nehl *et al.* 1998, Sigüenza *et al.* 1996). In fact, percentage of root colonization may decrease during the rainy season if there is a high rate of root production (Allen, 2001). Conversely, during drought there may be high values of root colonization due to a slow rate of root growth (Cade-Menun *et al.* 1990, Koide & Mooney 1987). In this study, the soil moisture was related to root production. Samples from June 2001 and March 2002 had a high density of fine new roots, even though June is in the rainy season and March is in the dry season; both of these times had reduced % colonization. In fact, multiple factors are likely responsible for the percentage of colonization, including environmental conditions, rate of root vs. fungal growth, phenology, and physiological status of the plant (Allen 2001, Brundrett 2002, De Mars & Boerner 1995).

Presence of arbuscules is often considered the best indicator of functioning in the AM association (Corkidi & Rincón 1997, Gange & Ayres 1999, McGonigle *et al.* 1990, Tester *et al.* 1987), but arbuscules were found in only about 1% of the observations. This was also the case for other tree and herb species of seasonal tropical forest (Allen *et al.* 1998; 2003). Arbuscules are not the only structure for transporting nutrients, and vesicles and intraradical hyphae, which were observed in *D. orthacanthos*, are indicators of current and past colonization (Allen 1991). Furthermore, arbuscules are ephemeral structures that degrade after 3-7 days (Mohammad *et al.* 1998, Tester *et al.* 1987, Toth & Miller 1984).

Seasonality of spore production has been observed in the wet tropics (Guadarrama & Alvarez-Sanchez, 1999) and the seasonal tropics (Allen *et al.* 1998; 2003). The results from *D. orthacanthos* show a higher density of spores during the dry season (March of both years) than the rainy season, indicating spore production was inversely related to soil moisture. This inverse relationship has also been observed in other studies on seasonality of spore production (Douds & Millner 1999, Miller & Bever 1999). The density of spores was in the same range of values as other studies in tropical and seasonal tropical forest (Allen *et al.* 1998, 2003, Johnson & Wedin 1997, Picone, 2000) although higher than wet tropical forest (Guadarrama & Alvarez-Sanchez, 1999).

An absence of differences in the mycorrhizal association between a mature forest and abandoned cultivated field obtained in our results, could be explained in terms of sufficient time for recovery (successional stage), since the latter was abandoned 8 to 10 years ago, and secondary vegetation has colonized the area. Furthermore, slash and burn agriculture maintains high levels of soil inoculum (Allen *et al.* 2003). The ability of juveniles to form a mycorrhizal association similar to older stages may be promoted by the high soil inoculum. The AM association likely influences the fitness of this species at all growth.

Mycorrhizal dependency of D. orthacanthos. Individuals of *D. orthacanthos* showed mycorrhizal dependency. The response of tropical plants to mycorrhizae may range from facultative to obligate, depending on the successional stage, size of seed, and nutrient requirements (Allen *et al.* 2003, Huante *et al.* 1993, Janos 1980b, Sharma *et al.* 2001,

Siqueira & Saggin-Junior 2001, Siqueira *et al.* 1998). The high value for RMD and the presence of magnolioid roots in this species (Baylis 1975) suggest that, according to Janos (1980a), *D. orthacanthos* may be an obligate mycorrhizal plant in the semi-evergreen tropical forest of Quintana Roo, México.

Gemma *et al.* (2002) pointed out that the "ecological mycorrhizal dependency" can be evaluated if the experiments to calculate dependency are carried out at the same P substrate concentrations as in the field where the plants grow in normal conditions. The final values of P in substrate (12 and 24 ppm) correspond to values found in field soils, and promoted a mycorrhizal growth response. Of course, the greenhouse growth conditions did not simulate field conditions, especially because an artificial growth medium was used so that low P conditions could be tested. We are not aware of the occurrence of natural soils in the region with the low P value of 4 ppm from our experiment, as these soils tend to have moderate to high P concentrations (Allen *et al.* 2003, Ceccon *et al.* 2003, Estrada-Medina 2000). Poor root colonization often occurs under high levels of soil P (Allen 1991, Amijee *et al.* 1989, Douds & Millner 1999, Olsson *et al.* 1999, Smith & Read, 1997, Srivastava *et al.* 1996, Wang *et al.* 1993), but not in these soils where moderate to high P levels are normal, and high levels of colonization also occur (Allen *et al.* 2003).

The pot experiment also did not simulate drought stress that may occur in the field during the dry season. Although plants were sampled at the March dry season, soil moisture was still nearly 40% in these highly organic soils. These values of soil moisture are high considering that there had been virtually no rain for 2-3 months at the March sample dates. One hypothesis that has been put forth to explain high soil moisture during dry periods is hydraulic lift from areas of higher soil water, such as deeper soil layers, to the soil surface where plants deplete soil moisture. Mycorrhizal fungi are especially important in promoting hydraulic lift, as the surfaces of extramatrical hyphae act as a capillary conduit (Querejeta *et al.* 2003). *D. orthacanthos* maintains high activity of mycorrhizal fungi during the dry season. This recent discovery of the importance of the extramatrical hyphae in promoting hydraulic lift further explains the importance to plants in maintaining a mycorrhizal association during the dry season. *D. orthacanthos* may be obligate mycorrhizal in order to survive and maintain physiological activity during the dry season. Further physiological studies of this species in the field are required.

Desmoncus orthacanthos produced new fine roots during both the wet and the dry season, and the % AM colonization of *D. orthacanthos* was high during both seasons. The fact that the species always maintained a mycorrhizal association suggests that the fungi are important to its growth during the entire year, and may indicate the obligate nature of the association. By contrast, fine roots could seldom be found for other native tree species, both mature and saplings, in Quintana Roo during the dry season (Allen *et al.* 2003), so this palm maintains an active root system when others become dormant. Flower and fruit production of *D. orthacanthos* occur during the wet season, when AM fungi may be important to maintain growth, but AM fungi may be important to reduce drought stress and promote hydraulic lift during the dry season (Querejeta *et al.* 2003).

This work contributes to the body of knowledge on mycorrhizae in tropical palms, which have received relatively little attention (Fisher & Jayachandran 1999). *Desmoncus orthacanthos* in particular is important to study because of its high economic potential (Escalante *et al.* 2004, Orellana *et al.* 1999, Siebert 2000,). An understanding of its mycorrhizal relationships may contribute to its conservation by enabling cultivation for economic purposes. The fact that mycorrhizal colonization was equally high in the abandoned agriculture and the mature forest indicates that the indigenous practice of slash and burn agriculture maintains a healthy soil inoculum, and is congruent with initiating a plantation program for a species such as *D. orthacanthos* that has a high mycorrhizal dependency.

ACKNOWLEDGMENTS

Valuable help in field and laboratory from R. Sibaja, L. Carrillo and J. Quiroz are greatly appreciated. J.R-Z. got a scholarship (No. 153737) from CONACYT, México.

REFERENCES

- Allen, E.B., Rincón, E., Allen, M.F., Pérez-Jimenez, A. & P. Huante, 1998. Disturbance and seasonal dynamics of mycorrhizae in tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica* 30: 261-274.
- Allen, E. B., Allen, M.F., Egerton-Warburton, L., Corkidi, L. & A. Gomez-Pompa, 2003. Impacts of early and late seral mycorrhizae during restoration in seasonal tropical forest, Mexico. *Ecol Appl* 13:1701-1717.
- Allen, M. F., 1991. The ecology of mycorrhizae. Cambridge University Press. Cambridge.
- Allen, M. F., 2001. Modeling arbuscular mycorrhizal infection: is % infection an appropriated variable? *Mycorrhiza* 10: 255-258.
- Allen, M.F., Moore, T.S., Christensen, JR.M., & N. Stanton, 1979. Growth of vesicular-arbuscular-mycorrhizal and nonmycorrhizal *Bouteloua gracilis* in a defined medium. *Mycol* 71:666-669.
- Amijee, F., Tinker, P. & V. Stribley, 1989. The development of endomycorrhizal root systems. VII. A detailed study of effects of soil phosphorus on colonization. *New Phytol* 111: 435-446.
- Attiwill, P. & M. Adams, 1993. Nutrient cycling in forest. *New Phytol* 124: 561-582.
- Augé, R.M., 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
- Azcón-Agullar, C. & J. Barea, 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens-an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6: 457-464.
- Baylis G.T.S., 1975. The magnoloide mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: Sanders, F., B. Mosse & P. Tinker (Eds.) *Endomycorrhizas*. pp. 373-389. Academic Press. New York.
- Bethlenfalvay, G.J., 1992. Mycorrhizae in the agricultural plant-soil system. *Symbiosis* 14:413-425.
- Bhatia, N.V., K. Sundari & A. Adholeya, 1996. Diversity and selective dominance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: Mukerji, K.G. (Ed.) *Concepts in Mycorrhizal Research*. pp 133-178. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- Brundrett, M.C., 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol* 154: 275-304.
- Cade-Menun, B., Berch, S. & A. Bomke, 1990. Seasonal colonization of winter wheat in South Coastal British Columbia by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Can J Bot* 69:78-86.
- Carrillo, L., Orellana, R. & L. Varela, 2002. Mycorrhizal associations in three species of palms of the Yucatán Peninsula, Mexico. *Palms* 46: 39-46.
- Ceccon, E., Huante, P. & J. Campo, 2003. Effects of nitrogen and phosphorus fertilization on the survival and recruitment of seedlings of dominant tree species in two abandoned tropical dry forests in Yucatán, México. *For Ecol Manage* 182: 387-402.
- Corkidi, L. & E. Rincón, 1997. Arbuscular mycorrhizae in tropical sand dune ecosystem on the Gulf of Mexico. I. Mycorrhizal status and inoculum potential along a successional gradient. *Mycorrhiza* 7: 9-15.

- DeMars, B. & R. Boerner**, 1995. Mycorrhizal dynamics of three woodland herbs of contrasting phenology along topographic gradients. *Am J Bot* 82:1426-1431.
- Douds, JR. D. & P.D. Millner**, 1999. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agr Ecosys Environ* 74: 77-93.
- Escalante, S., Montaña, C. & R. Orellana**, 2004. Demography and potential extractive use of the liana palm *Desmoncus orthacanthos* Martius (Arecaceae), in Southern Quintana Roo, México. *For Ecol Manage* 187:3-18.
- Estrada-Medina, H.**, 2000. Caracterización y cartografía del recurso suelo del municipio de Hocaba, Yucatán. Master's thesis. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Mexico.
- Fisher, J.B. & K. Jayachandran**, 1999. Root structure and arbuscular mycorrhizal colonization of the palm *Serenoa repens* under field conditions. *Plant Soil* 217: 229–241.
- Francis, R. & D. Read**, 1994. The contribution of mycorrhizal fungi to determination of plant community structure. *Plant Soil* 159: 11-25.
- Gange, A.C. & R. Ayres**, 1999. On the relation between arbuscular mycorrhizal colonization and plant "benefit". *Oikos* 87:615-621.
- Gange, A.C., Brown, V.K. & G.S. Sinclair**, 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: a determinant of plant community structure in early succession. *Func Ecol* 7: 616-622.
- Gemma, J.N., Koske R.E. & M. Habte**, 2002. Mycorrhizal dependency of some endemic and endangered Hawaiian plant species. *Am J Bot* 89: 337-345.
- Guadarrama, P. & J. Alvarez-Sánchez**, 1999. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, Mexico. *Mycorrhiza*. 8: 267-270.
- Henderson, A., Galeano, G. & R. Bernal**, 1995. *A Field Guide to the Palms of the Americas*. Princeton University Press. New York.
- Huante, P., Rincón, E. & E. B. Allen**, 1993. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizae on seedling growth of four tree species from the tropical deciduous forest in Mexico. *Mycorrhiza* 2:141–145.
- Janos, D. P.**, 1980a. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12: 56-64.
- Janos, D. P.**, 1980b. Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rainforest plant growth. *Ecology* 61:151–162.
- Johnson, N. C., & D. A. Wedin**, 1997. Soil carbon, nutrients, and mycorrhizae during conversion of dry tropical forest to grassland. *Ecol Appl* 7:171–182.
- Kleinbaum, D., Kupper, L., Muller, K. & A. Nizam**, 1998. *Applied regression analysis and other multivariable methods*. Duxbury Press. California.
- Koide, R.T. & Mooney, H.A.** 1987. Spatial variation in inoculum potential of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi caused by formation of gopher mounds. *New Phytol* 107: 173-182.
- Lovera, M. & G. Cuenca**, 1996. Arbuscular mycorrhizal infection in Cyperaceae and Gramineae from natural, disturbed and restored savannas in La Gran Sabana, Venezuela. *Mycorrhiza*. 6:111-118.
- Marschner, H. & B. Dell**, 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil* 159: 89-102.

- McGonigle, T., Miller, M.H., Evans, D.G., Fairchild, G.L. & J.A. Swan, 1990.** A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 115:495-501.
- Miller, S.P. & J.D. Bever, 1999.** Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in stands of the wetland grass *Panicum hemitomon* along a wide hydrologic gradient. *Oecologia* 119: 586-592.
- Mohammad, M., Pan, W. & A. Kennedy, 1998.** Seasonal mycorrhizal colonization of winter wheat and its effect on wheat growth under field conditions. *Mycorrhiza* 8:139-144.
- Nehi, D., Allen, S. & J. Brown, 1998.** Slow arbuscular mycorrhizal colonisation of field-grown cotton caused by environmental conditions in the soil. *Mycorrhiza* 8:159-167.
- Núñez-Castillo, O. & F.J. Álvarez-Sánchez, 2003.** Arbuscular mycorrhizae of the palm *Astrocaryum mexicanum* in disturbed and undisturbed stands of a Mexican tropical forest. *Mycorrhiza* 13: 271-276.
- Olsen, S.R. & L.A. Dean, 1965.** Phosphorus. In: Black, C.A. (Ed.). *Methods of soil analysis*. pp.1035-1049. American Society of Agronomy. Madison.
- Olsson, P.A., Thingstrup, I., Jakobsen, I. & E. Bååth, 1999.** Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biol Bioch* 31: 1879-1887.
- Orellana, R., Herrera, P., Rebollar, S., Escalante, J., López, G., Escalante, S. & L. Gus, 1999.** Studies on the potential uses of some native palms of the Yucatan peninsula (Mexico) as substitutes of rattan. *Acta Hort* 486: 291-295.
- Pankow, W., Boller, T. & A. Wiemken, 1991.** The significance of mycorrhizas for productive-ecosystems. *Experientia* 47:391-294.
- Pedersen C. & D.M. Sylvia, 1996.** Mycorrhiza: ecological implications of plant interactions. In: Mukerji, K.G. (Ed.). *Concepts in Mycorrhizal Research*. pp. 223-301. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- Phillips, J. & D. Hayman, 1970.** Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans Brit Mycol Soc* 55: 158-160.
- Picone, C., 2000.** Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. *Biotropica* 32: 734-750.
- Plenchette, C., Fortin, J. & V. Furlan, 1983.** Growth responses of several plant species to mycorrhizae in soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant Soil* 70: 199-209.
- Querejeta, J. I., Egerton-Warburton L. & M. F. Allen, 2003.** Direct nocturnal water transfer from oaks to their mycorrhizal symbionts during severe soil drying. *Oecologia* 134: 55-64.
- Ruiz-Lozano, J., Azcón, R. & M. Gómez, 1995.** Effects of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. *Appl Env Microbiol* 61: 456-460.
- Sanders, I.R. & V. Fitter, 1992.** The ecology and functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas in co-existing grassland species. *New Phytol* 120: 517-524.
- Sharma, M.P., Bhatia, N. & A. Adholeya, 2001.** Mycorrhizal dependency and growth responses of *Acacia nilotica* and *Albizia lebbek* to inoculation by indigenous AM

- fungi as influenced by available soil P levels in a semi-arid Alfisol wasteland. *New Forests* 21:89-104.
- Siebert, S.F.**, 2000. Abundance and growth of *Desmoncus orthacanthos* Mart. (Palmae) in response to light and ramet harvesting in five forest sites in Belize. *For Ecol Manage* 137:83-90.
- Sigüenza, C., Espejel, I. & E. Allen**, 1996. Seasonality of mycorrhizae in coastal sand dunes of Baja California. *Mycorrhiza* 6:151-157.
- Siqueira, J. O. & O.J. Saggin-Junior**, 2001. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. *Mycorrhiza* 11:245-255.
- Siqueira, J. O., Carneiro Carbone, M. A., Curi, N., Rosado Da Silva, S. C. & A.C. Davide**, 1998. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in Southeastern Brazil. *For Ecol Manage* 107:241-252.
- Smith, S. & D.J. Read**, 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. San Diego.
- Srivastava, D. R., Kapoor, S.K., Srivastava & K.G. Mukerji**, 1996. Vesicular arbuscular mycorrhiza-an overview. In: Mukerji K.G. (Ed.). *Concepts in Mycorrhizal Research*. pp.1-39. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.
- Tester, M., Smith, S. & F. Smith**, 1987. The phenomenon of "nonmycorrhizal" plants. *Can J Bot* 65:419-431.
- Toth, R. & M. Miller**, 1984. Dynamics of arbuscule development and degeneration in *Zea mays* mycorrhiza. *Am J Bot* 71: 449-460.
- Wang, G.M., Stribley, D.P., Tinker, P.N. & C. Walker**, 1993. Effects of pH on arbuscular mycorrhiza I. Field observations on the long-term liming experiments at Rothamsted and Woburn. *New Phytol* 124: 465-472.
- Zobel, M., Moora, M. & E. Haukioja**, 1997. Plant coexistence in the interactive environment: arbuscular mycorrhiza should not be out of mind. *Oikos* 78: 202-208.

CAPÍTULO 3

Dinámica del potencial de inóculo micorrícico del suelo en dos sitios contrastantes en el Ejido Noh-Bec, estado de Quintana Roo, México

RESUMEN

La presencia de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en el suelo es difícil de estimar, ya que las metodologías empleadas muestran un nivel de incertidumbre al evaluar únicamente algunas de las estructuras fúngicas. Para evaluar la cantidad de los propágulos de HMA en los suelos estudiados, se realizó un bioensayo en invernadero utilizando a *Sorghum vulgare* L. (sorgo) como planta hospedera para estimar el número más probable (NMP) de propágulos de HMA utilizando el método propuesto por Porter (1979). Los suelos estudiados provienen de una selva alta-mediana sub-perennifolia de 80 años y un acahual (acahual generado de una milpa abandonada desde hace 10 años), ambos sitios ubicados en el sureste del estado de Quintana Roo en el Ejido Forestal Noh-Bec. Se evaluó el NMP de propágulos de HMA en época de secas, lluvias de verano y lluvias de invierno. Se separaron y contabilizaron las esporas de hongos micorrizógenos del suelo en ambos sitios y se estimó el contenido de humedad del suelo en cada fecha de muestreo. Se observó una variación espacial y temporal de los propágulos de HMA en los suelos. El sitio con los valores más altos de NMP de HMA en el suelo, en todas las épocas de muestreo fue el Acahual. En el sitio no perturbado no se encontró un comportamiento estacional de los propágulos de HMA. Los análisis de comparación entre sitios indican diferencia entre ambos para la época de lluvias de verano. No existe una correlación entre el número de esporas, humedad del suelo y número de propágulos de HMA.

INTRODUCCIÓN

En muchos ecosistemas tropicales, las plantas dominantes se encuentran asociadas a hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) (Allen *et al.* 1995), sin embargo, en áreas perturbadas por procesos naturales o antropogénicos, la mayoría de las condiciones que permiten un crecimiento vegetal idóneo están ausentes, entre las que se consideran las condiciones bióticas del suelo como una baja densidad de HMA, lo que favorece el establecimiento de plantas exógenas al sistema que no desarrollan asociación con HMA (Miller y Jastrow, 1992).

De acuerdo con Janos (1980) y Allen (1991), en una sucesión, después de una perturbación, existe una progresión que va desde plantas que no establecen la asociación, pasando por las que se asocian de manera facultativa hasta llegar a las que se asocian de manera obligada con los HMA. Lo anterior se debe a que inmediatamente después de una perturbación los recursos del suelo no son limitantes y el potencial de inóculo de los HMA se encuentra reducido o eliminado. Las plantas que se establecen de manera rápida sin la presencia de HMA son favorecidas, sin embargo, cuando los recursos del suelo son limitantes y los HMA se establecen, se

seleccionan los mejores competidores, que por lo general son las plantas que se asocian de manera obligada con los HMA.

Las perturbaciones en los ecosistemas reduce, de manera general, la cantidad de propágulos de los HMA (esporas, esporocarpos, hifas extrarradicales, fragmentos de raíces colonizadas) debido a la remoción de las plantas hospedantes, de las cuales dependen para la obtención de carbono y también como resultado de la ruptura del micelio de hifas de los HMA (Allen *et al.* 1998), las cuales pueden llegar a ocupar una densidad tan elevada como 25 m de hifas por gramo de suelo (Smith y Read, 1997).

La ausencia en el suelo de propágulos de HMA es un factor que puede ser limitante en la reforestación de las selvas tropicales, en las cuales la densidad de esporas es baja, siendo el micelio de hongos micorrizógenos arbusculares la principal fuente de inóculo (Fischer *et al.* 1994). El proceso de reforestación en algunos ecosistemas ha demostrado elevar la densidad de propágulos de HMA comparados con la densidad en sitios sin reforestar (Cuenca y Lovera, 1992). La dinámica de los propágulos de HMA se relaciona, por lo tanto, con las condiciones bióticas presentes en el sistema; por un lado la presencia de plantas hospederas y por otro la remoción y alteración de la estructura del suelo, pueden tener un impacto negativo sobre la densidad y viabilidad de los propágulos.

Las condiciones climáticas también influyen de manera directa sobre algunos de los propágulos de HMA, como son las esporas. En ecosistemas tropicales la densidad de esporas de HMA fluctúa de manera estacional (Allen *et al.* 1998, Guadarrama y Alvarez-Sánchez 1999 y Carrillo *et al.* 2002) esto se debe a que la cantidad de agua del suelo tiene un efecto directo sobre la germinación de las esporas estimulándola en condiciones de humedad adecuada y motivando la esporulación en condiciones de déficit.

Es inexacto evaluar la comunidad de los HMA basados únicamente en la densidad de esporas en el suelo, porcentaje de raíces colonizadas o densidad de hifas en el suelo, ya que se subestima el efecto real de los propágulos y por lo tanto el valor de potencial de inóculo del suelo. Este valor de inóculo del suelo por la dinámica misma del sistema, no puede ser estable, siendo necesario estimarlo de una manera estacional.

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el número de propágulos de hongos micorrizógenos en dos sitios con características contrastantes de perturbación durante un ciclo anual, abarcando las lluvias de verano, de invierno y el período de secas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo

Este trabajo se realizó en una reserva forestal perteneciente al Ejido Noh-Bec, que se encuentra en la parte sur del estado de Quintana Roo, México; se localiza entre los paralelos 19 02'30" y 19 12'30" y los meridianos 88 13'30" y 88 27'30". El tipo de vegetación dominante en esta zona es mediana sub-perennifolia, con una altura

promedio de 20 a 30 m (Pennington y Sarukhán, 2000). El clima es cálido subhúmedo con un período de lluvias en verano, la temperatura media anual oscila entre 24 y 26 °C, la precipitación anual es de 1,200 mm; de acuerdo con la clasificación de Köppen modificada por García (1973) el clima es cálido subhúmedo con lluvias de verano de tipo Aw(x')i.

Se seleccionaron dos sitios con condiciones contrastantes de perturbación, en los cuales había poblaciones considerables de *D. orthacanthos*. Los sitios se caracterizaron y se encontró que poseen una composición y estructura vegetal diferente.

Sitio perturbado: Milpa abandonada (huamil, acahual o hubché) localizada en las coordenadas 19 05' 54" N y 88 13'30" O, la vegetación había sido alterada por última ocasión aproximadamente 8-10 años al momento de realizar el muestreo. Las especies vegetales que conforman este sistema secundario son características de sitios perturbados: *Cecropia peltata* L., *Bursera simaruba* (L.) Sarg., *Guazuma ulmifolia* Lam., *Guettarda combsii* Urb. y *Desmoncus orthacanthos* Martius, esta vegetación presenta una altura promedio de 15 m en su estrato dominante. El valor de fósforo extractable (Olsen) es 13.50 mg kg⁻¹ suelo y el valor de nitrógeno total (micro-Kjeldahl) es 16.93 cmol. kg⁻¹ suelo, con pH del suelo igual a 7.1.

Sitio no perturbado: Selva madura no perturbada durante los últimos 80 años localizada en las coordenadas 19 07' 28" N y 88 20'25" O, comunidad vegetal dominada por plantas de 30 m de altura, con especies como: *Pouteria unilocularis* (Engel) Eyma, *Alseis yucatanensis* Standl., *Metopium brownei* (Jacq.) Urban y las palmeras *Cryosophila stauracantha* (Heynh.) R. Evans, *Sabal mauritiiformis* (H. Wendl. Ex H. Karst.) Griseb. & H. Wendl. y *Desmoncus orthacanthos* Martius. El valor de fósforo extractable (Olsen) es 18.80 mg kg⁻¹ suelo y el valor de nitrógeno total (micro-Kjeldahl) es 67.75 cmol. kg⁻¹ suelo, el valor de pH del suelo es 7.3.

Métodos de campo: Los muestreos se realizaron con una periodicidad de 3 a 5 meses, abarcando las diferentes estaciones climáticas: lluvias de verano (Septiembre 2001), lluvias de invierno (Enero 2002) y secas (Marzo 2002), se visitaron los sitios de muestreo y se colectaron 10 muestras de aproximadamente 500 mL cada una de los primeros 20 cm de suelo en claros de vegetación para cada sitio, eliminándose la materia reconocible de la superficie (hojarasca, restos de tallos, etc.).

Las muestras de suelo se mezclaron y homogenizaron por sitio y se conservaron en bolsas de plástico hasta ser secadas a temperatura ambiente, posteriormente se tamizó empleando un malla de 2 mm. En cada sitio se tomaron muestras para separar y contabilizar las esporas de HMA y se estimó el contenido de humedad del suelo empleando el método gravimétrico (Anderson e Ingram 1993).

Prueba en invernadero: Para estimar el número más probable (NMP) de propágulos en los suelos estudiados se utilizó el método propuesto por Porter (1979), este método consistió de lo siguiente: dilución del suelo a estudiar, empleando como diluyente suelo del sitio esterilizado por arrastre de vapor, las diluciones se realizaron con base

cuatro. Se realizó el bioensayo en invernadero utilizando plantas de *Sorghum vulgare* L. (sorgo) como planta trampa hospedera y se empleó el suelo fresco, recién colectado en las diferentes fechas para ambos sitios, como fuente de inoculo.

Los tratamientos se aplicaron por cuadruplicado, siendo las siguientes concentraciones evaluadas: Suelo sin diluir y suelo diluido a las siguientes concentraciones: 4^{-1} , 4^{-2} , 4^{-3} , 4^{-4} , 4^{-5} , 4^{-6} . 50 mL de las diluciones obtenidas se evaluaron empleándose macetas de 300 mL de capacidad con 200 mL de suelo esterilizado y 50 mL de suelo a estudiar, cubierto con una capa de suelo esterilizado para evitar contaminaciones entre los diferentes tratamientos.

Las macetas con las diferentes diluciones se distribuyeron aleatoriamente en una mesa de invernadero, las plantas fueron regadas por capilaridad para evitar la lixiviación de nutrimentos, las condiciones de humedad y temperatura ambiental no fueron controladas.

Seis semanas después de la siembra, las plántulas fueron cosechadas y se prepararon las raíces de acuerdo con la tinción propuesta por Phillips y Hayman (1970) para evaluar la presencia de HMA en las raíces.

De acuerdo a Porter (1979) se aplicó la siguiente formula para estimar el NMP de propágulos de HMA:

$$\text{Log } \lambda = [x * \log a] - K$$

λ = número de propágulos infectivos

x = promedio de macetas con raíces colonizadas (número de macetas con raíces colonizadas dividido entre el número de replicaciones por dilución)

a = factor de dilución (en este caso se empleará con base cuatro)

K = valor de la tabla de Fisher y Yates (1970), según el nivel de dilución y el valor de x calculado.

Análisis estadísticos

Se aplicó el análisis de correlación para detectar si los factores evaluados: humedad del suelo y densidad de esporas por gramo, tienen influencia sobre el valor del número de propágulos de HMA en el suelo. Los valores del NMP de propágulos calculados se analizaron mediante una prueba de verosimilitud (Kalbfleisch 1985, Sprott 2000), la cual consiste en calcular los límites inferiores y superiores más probables con base en los valores reales de las muestras estimados por máxima verosimilitud; para

desarrollar esta prueba se diseñó un programa denominado "*DILUTION*" el cual se encuentra en su versión beta, este programa fue realizado en lenguaje Fortran por el Dr. Jorge Navarro.

Para comparar el NMP calculado para diferentes muestras se graficaron los valores obtenidos, colocando en el eje de las Y los valores de verosimilitud relativa y en el eje de las X los valores de NMP calculados por el programa. La estimación del NMP de cada muestra es el valor del eje X cuya verosimilitud relativa es igual al 100%, que corresponde al pico de la curva de verosimilitud. Para decidir si existían diferencias estadísticas entre las muestras se observaron si las curvas se sobreponen. Si no se sobreponían entonces existen diferencias significativas entre los valores del NMP calculado para las muestras. En el caso de que las curvas se sobrepongan se observa el nivel de verosimilitud en el cual lo hacen; se considera que una sobreposición de las curvas en el punto igual o menor al 15% de verosimilitud, entonces las diferencias entre los valores del NMP son significativas, si se observa una sobreposición a un valor de verosimilitud mayor al 15% entonces las diferencias observadas no son significativas.

RESULTADOS

Los resultados muestran una variación espacial en el NMP de propágulos de HMA entre los dos sitios evaluados, el sitio que presenta el mayor número de propágulos en promedio es el acahual con 19 (18.69) propágulos 50 mL de suelo⁻¹ contra 4 (4.05) propágulos 50 mL de suelo⁻¹ de la selva. Se observó una variación estacional en el NMP de propágulos calculado, encontrándose el valor más alto en el acahual en la época de lluvias, y en esta misma época el valor más bajo de propágulos de HMA en la selva conservada (Figura 3.1).

El número de esporas por gramo de suelo también presentó una dinámica estacional (Figura 3.2) siendo la densidad de éstas menor en la época de lluvias invernales para ambos sitios. Los valores de humedad del suelo, de manera similar, presentan una variación estacional, el valor de humedad del suelo fue menor en ambos sitios en la época de secas.



Figura 3.1. Dinámica del NMP de propágulos de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en las diferentes épocas de muestreo. Valores estimados de acuerdo al método de Porter (1979).

El análisis de correlación de Pearson entre NMP de propágulos, humedad del suelo y densidad de esporas no mostró un valor significativo ($p > 0.05$) en ningún sitio. Por otro lado, la humedad de suelo tampoco mostró un valor significativo de correlación ($p > 0.05$) con el número de propágulos en el suelo evaluado. La disponibilidad de N y P en los suelos analizados es diferente, lo cual puede relacionarse con el NMP de propágulos encontrados en los suelos de los sitios analizados, el sitio no perturbado con valores elevados de P y N presentó una menor densidad de propágulos de HMA.

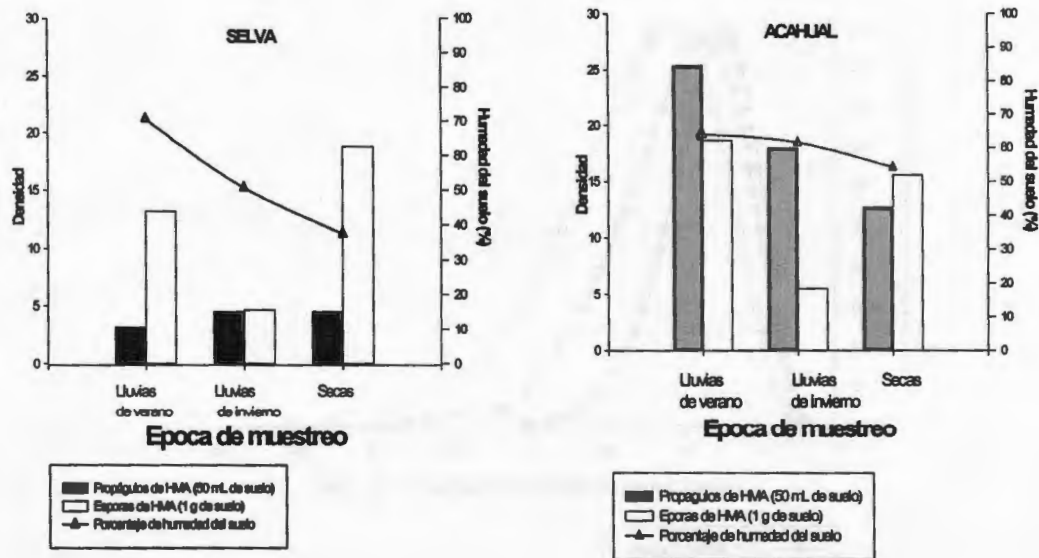


Figura 3.2. Relación entre los valores de humedad del suelo, densidad de esporas por gramo de suelo y el valor estimado de NMP de propágulos de HMA.

Los análisis de verosimilitud no muestran diferencias significativas entre las diferentes épocas de muestreo para un mismo sitio (Figuras 3.3 y 3.4). La comparación de las curvas de verosimilitud de los valores del NMP de propágulos de HMA calculados para la selva y acahual, muestra diferencias estadísticas en el muestreo de la época de lluvias de verano (Figura 3.5) pero no para la época de lluvias invernales o en la época de secas (Figuras 3.6 y 3.7).

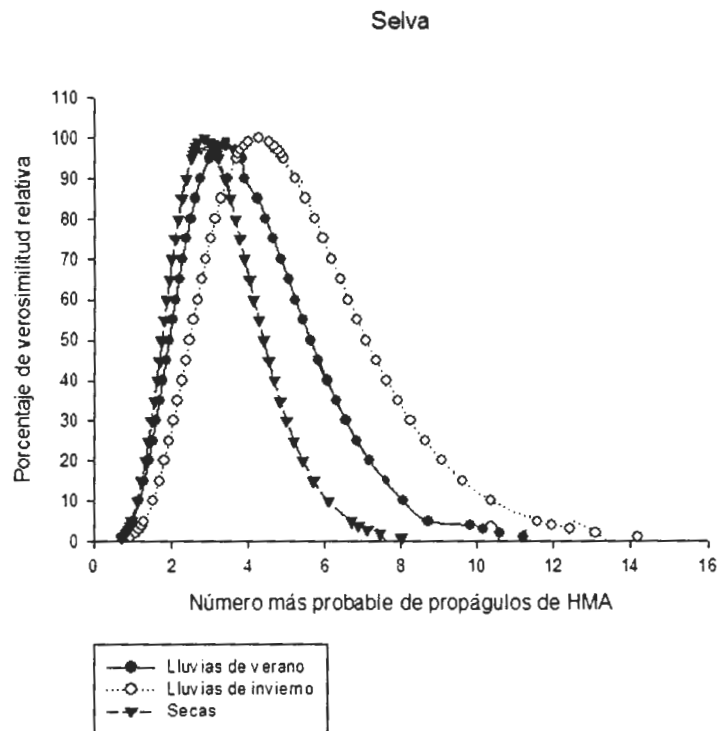


Figura 3.3. Valores de los límites inferiores y superiores de λ calculado en las diferentes épocas de muestreo para el sitio conservado (Selva). Se empleó el programa *DILUTION* para obtener el porcentaje de verosimilitud.

DISCUSIÓN

El valor de inóculo del suelo se determina por la concentración de propágulos viables de HMA en el suelo. La densidad de propágulos de HMA en los suelos evaluados presenta una dinámica espacial, encontrándose una mayor concentración de propágulos por volumen de suelo evaluado en el Acahual, lo que coincide con lo reportado por Fischer *et al.* (1994) en el sentido de que los valores de propágulos en el suelo de la selva son menores que los hallados en sitios en recuperación.

Acahual

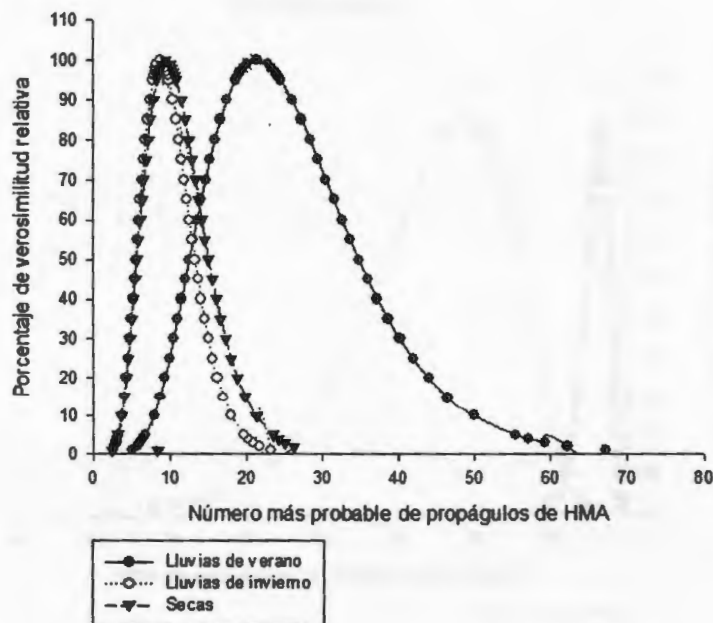


Figura 3.4. Valores de los límites inferiores y superiores de λ calculado en las diferentes épocas de muestreo para el sitio perturbado (Acahual). Se empleó el programa *DILUTION* para obtener el porcentaje de verosimilitud.

Los resultados muestran un valor más elevado del NMP de propágulos en el suelo del acahual, en la época de lluvias de verano e invernales. Cuenca y Lovera (1992) demostraron que durante el proceso de recuperación de sistemas perturbados, los valores de potencial de inóculo de los suelos se incrementa, siendo mayor éste en los sitios en recuperación comparados con sistemas no perturbados, resultado similar al encontrado en el presente trabajo. Sin embargo, es innegable que existen diferentes grados y tipos de perturbación del suelo que sí tienen un efecto sobre el potencial de inóculo de los suelos, como es la remoción del mismo (Koide y Mooney 1987, Tommerup 1994).

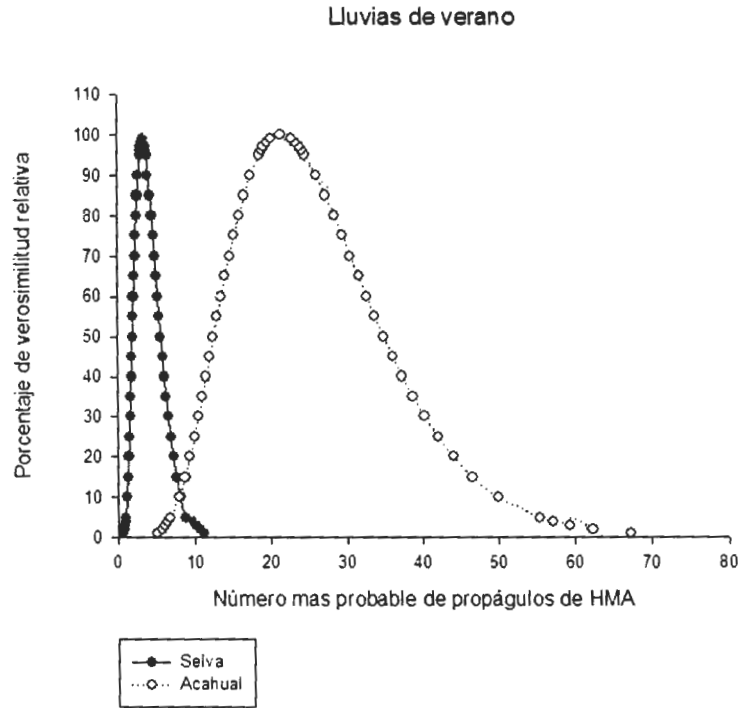


Figura 3.5. Comparación de los valores de λ en ambos sitios para la época de lluvias de verano. Valores calculados con el programa *DILUTION*.

La variación estacional del número de propágulos totales en el suelo del sitio perturbado, se puede relacionar con la variación de algunas fuentes de propágulos, como son las esporas, cuya densidad varía de manera estacional en la mayoría de los ecosistemas con estaciones marcadas. Es de esperar que el valor de inóculo varíe en relación con estos cambios en la densidad de esporas. Sin embargo otros propágulos de los HMA como hifas en el suelo y raíces colonizadas son una fuente importante de inóculo. La evaluación de la dinámica del potencial de inóculo es compleja, como se muestra en los resultados de este estudio.

Lluvias de invierno

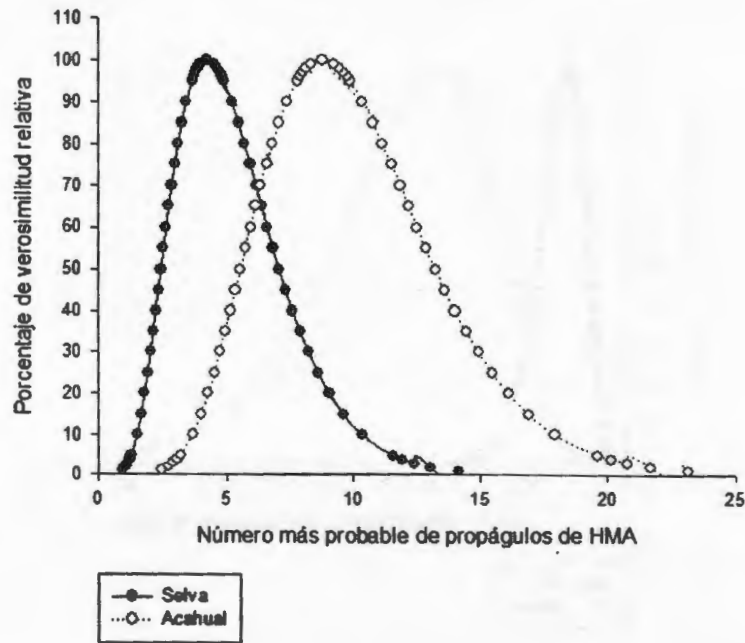


Figura 3.6 Comparación de los valores de λ en ambos sitios para la época de lluvias de invierno. Valores calculados con el programa *DILUTION*.

No se encontró una correlación entre la densidad de esporas y la densidad del NMP de propágulos, por lo tanto, las esporas no son los únicos propágulos infectivos importantes de HMA en estos suelos evaluados, como ya ha sido reportado en ecosistemas tropicales, donde se presentan tasas elevadas de germinación y degradación de las esporas (Allen, 1991). En sistemas tropicales estacionales e incluso en algunos ambientes desérticos, se reconoce que existe una baja densidad de esporas y por lo tanto la red de hifas de HMA son una fuente importante de inóculo (Fischer *et al.* 1994, Bashan *et al.* 2000) e incluso la colonización primaria de las raíces en comunidades naturales ocurre principalmente con el contacto raíz-raíz o raíz-hifa extrarradical, más que por la germinación de las esporas (Harley y Smith, 1983; Hodge 2000)

Secas

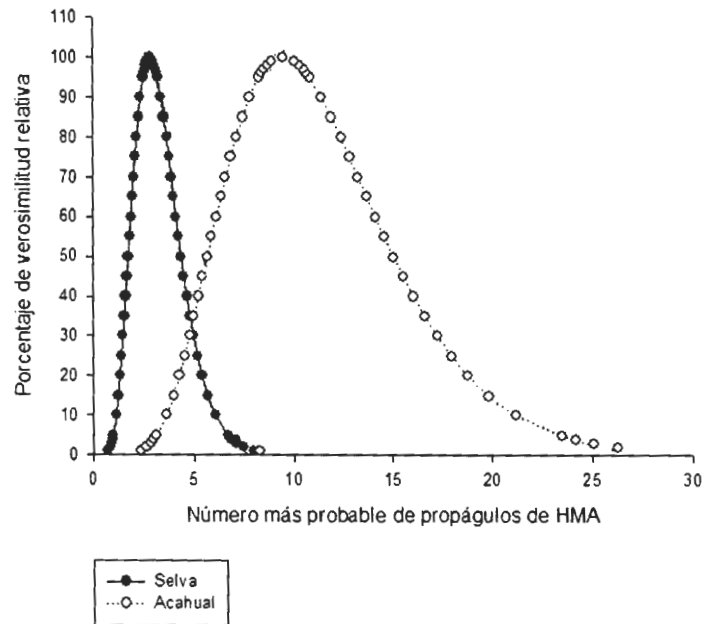


Figura 3.7. Comparación de los valores de λ en ambos sitios para la época de secas. Valores calculados con el programa *DILUTION*.

Los resultados obtenidos sugieren que puede existir una sucesión diacrónica de fuentes de inóculo en los suelos estudiados, siendo que en épocas de seca (Figura 3.8) la presencia de esporas influye de manera más importante en la conservación del potencial de inóculo ya que una baja cantidad de agua en el suelo puede afectar la actividad de las hifas extrarradicales como fuente de inóculo (Jasper *et al.* 1993). En épocas de lluvia, la fuente principal de inóculo en los suelos analizados serían las hifas del suelo y las raíces colonizadas con anterioridad, debido a que un alto valor de humedad en los suelos en la época de lluvia puede disminuir la densidad de esporas (Guadarrama y Álvarez-Sánchez, 1999) ya sea por lixiviación o por germinación. Se propone y presenta una gráfica teórica de la sucesión diacrónica de las diferentes fuentes de propágulos, la cual se ajusta de manera más precisa a lo observado en el suelo de la selva (Figura 3.2).

Algo interesante que se observó en este estudio, ha sido la falta de estacionalidad en el número de propágulos del suelo de la selva conservada, lo cual puede relacionarse con que la comunidad de HMA se encuentra bien establecida y existe, por lo tanto, una respuesta inmediata de crecimiento del micelio a las condiciones de humedad del suelo y una producción de esporas como resultado de un decremento de la misma, como ha sido reportado por Jacobson (1997) y como se muestra en la figura 3.8 de manera teórica. La propuesta de una sucesión en el tiempo de fuentes activas de inóculo, puede enmascarar el efecto del factor de humedad del suelo, por lo cual no presenta una correlación con el NMP de propágulos, lo que provoca que la interpretación de la estacionalidad del potencial de inóculo se encuentre relacionada con muchos factores diferentes en el suelo.

Un factor que afecta de manera importante el valor de inóculo de un suelo, es la presencia de raíces que sirvan de hospederas para los HMA. El componente subterráneo (raíces) de la comunidad vegetal, juega, por lo tanto, un papel importante en la regulación de la comunidad de HMA, como ha sido sugerido por Johnson *et al.* (1992) y Bever (1994). Incluso el papel de los consumidores de hifas debe ser evaluado como un factor importante en la regulación de la densidad de propágulos de HMA, ya que se ha demostrado que pueden regular la población de los HMA en el suelo (St. John y Coleman 1983, Gange 2000).

La concentración de nutrimentos en el suelo tales como N y P, pueden relacionarse con la densidad de propágulos, ya que como se ha demostrado, una alta fertilización mineral puede provocar un decremento en la comunidad de HMA en suelos cultivados (McGonigle *et al.* 1990), sin embargo en una selva natural no existe una correlación entre la concentración de P y el potencial de inóculo (Fischer *et al.* 1994).

Evaluar el potencial de inóculo de los suelos en una sola fecha y ocasión puede conducir a una subestimación de la cantidad real de HMA, debido a la dinámica de reciclamiento de raíces y de micelio fúngico (St. John y Coleman, 1983), por lo que en este trabajo se estimó el potencial de inóculo de HMA en las diferentes estaciones del año presentes en el sitio de estudio. Sin embargo, los valores obtenidos del NMP de propágulos en los suelos debe considerarse con cautela, ya que el método empleado asume que los propágulos se distribuyen al azar en el suelo y que todas las fuentes de HMA son detectados. Sin embargo la prueba de colonización no detecta todos los propágulos presentes en el suelo y los valores obtenidos son relativos, y dependen de las condiciones empleadas en la prueba (Tommerup, 1994).

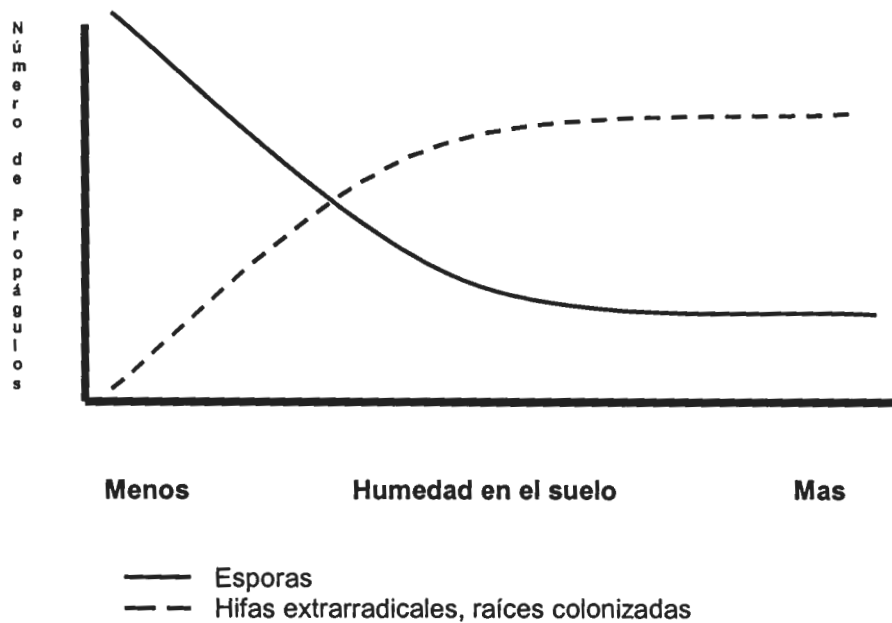


Figura 3.8. Sucesión diacrónica teórica pronosticada de los propágulos en el suelo de la selva y su relación con la humedad del suelo.

CONCLUSIONES

Se presenta una mayor cantidad de propágulos de HMA en el suelo del acahual en todas las épocas de muestreo. El potencial de inóculo del suelo muestra una variación estacional marcada en el acahual. Sin embargo no se correlaciona con los factores evaluados de humedad del suelo y densidad de esporas.

A partir de los resultados, se puede interpretar que existe una sucesión de fuentes de propágulos de HMA en los sitios de estudio. La perturbación o quizás el proceso de recuperación y de establecimiento de nueva vegetación en el sitio perturbado, parece haber afectado de manera positiva la densidad de propágulos de HMA en el suelo.

La interpretación de los factores que afectan la densidad de propágulos de HMA en los suelos es compleja, ya que existen factores ambientales y bióticos que interactúan,

y que en este estudio no fueron evaluados. La producción de propágulos de HMA, su distribución y supervivencia en condiciones naturales son factores que deben integrarse para una mejor interpretación de los resultados.

Hasta donde se sabe este es de los pocos estudios en los que se evalúa la estacionalidad del número de propágulos totales en los suelos de una comunidad vegetal natural.

Literatura citada

- Allen, M. F. 1991. *The ecology of mycorrhizae*. Cambridge University Press. Melbourne.
- Allen, E. B.; M. F. Allen, D. Helm, J. Trappe, R. Molina y E. Rincón. 1995. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. En: *The significance and regulation of soil biodiversity*. H. Collins, G. Roberson y M. Klung (eds.) Kluwer Academia Publishers. 47-62 pp. Netherlands.
- Allen, E.B., E. Rincón, M. Allen; A. Pérez-Jimenez y P. Huante. 1998. Disturbance and seasonal dynamics of mycorrhizae in tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica*. 30: 261-274.
- Anderson, J.M. y J.S.I. Ingram. 1993. *Tropical soil Biology and Fertility. A handbook of methods*. 2nd Ed. CABI. UK.
- Bashan, Y., E.A. Davies, A. Carrillo-García y R. G. Linderman. 2000. Assessment of VA inoculum potencial in relation to the establishment of cactus seedlings under mesquite nurse-trees in the Sonoran desert. *Applied Soil Ecology*. 14: 165-175.
- Bever, J.D. 1994. Feedback between plants and their soil communities in an old field community. *Ecology*. 75 (7): 1965-1977.
- Carillo-Sánchez, L., Orellana, R. y L. Varela. 2002. Mycorrhizal associations in three species of palms of the Yucatán Peninsula, Mexico. *Palms*. 46(1): 39-46.
- Cuenca, G. y M. Lovera. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae in disturbed and revegetated sites from La Gran Sabana, Venezuela. *Canadian Journal of Botany*. 70:73-79.
- Fisher, R.A. y F. Yates. 1970. *Statistical tables for biological, agricultural and medical research*. 6^a Ed. Hafner Publ. Comp. Davie, Connecticut.
- Fischer, C.R.; D.P. Janos; D.A. Perry; R.G. Linderman y P. Sollins. 1994. Mycorrhiza inoculum potentials in tropical secondary succession. *Biotropica* 26:369-377.
- Gange, A. 2000. Arbuscular mycorrhizal fungi, Collembola and plant growth. *TREE*. 15 (9): 369-372.
- García, E. 1973. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Apuntes de Climatología. Talleres Larios. México, D.F.
- Guadarrama, P y J. Alvarez-Sánchez. 1999. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, Mexico. *Mycorrhiza*. 8: 267-270.

- Harley, J.L. y S.E. Smith.** 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. London.
- Hodge, A.** 2000. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. *FEMS Microbiology Ecology*. **32**: 91-96.
- Jacobson, K.M.** 1997. Moisture and substrate stability determine VA-mycorrhizal fungal community distribution and structure in an arid grassland. *Journal of Arid Environment*. **35**: 59-75.
- Janos, D.P.** 1980. Vesicular arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth. *Ecology*. **61**:151-162.
- Jasper, D.A., L.K. Abbot y A.D. Robson.** 1993. The survival of infective hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in dry soil: an interaction with sporulation. *New Phytologist*. **124**: 473-479.
- Johnson, N.C., D. Tilman y D. Wedin.** 1992. Plant and soil control on mycorrhizal fungal communities. *Ecology*. **73** (6): 2034-2042.
- Kalbfleisch J.G.** 1985. *Probability and statistical inference*. Vol 2. Springer-Verlag. New York.
- Koide, R.T. y H.A. Mooney.** 1987. Spatial variation in inoculum potential of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi caused by formation of gopher mounds. *New Phytologist*. **107**: 173-182.
- McGonigle, T.P., D.G. Evans, y M.H. Miller.** 1990. Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiment. *New Phytologist*. **116**: 629-636.
- Miller, R.M. y J.D. Jastrow.** 1992. The application of VA mycorrhizae to ecosystem restoration and reclamation. **En:** *Mycorrhizal functioning. An integrative plant fungal process*. M. Allen (Ed.) Chapman and Hall. London. 438-467.
- Pennington, T. y J. Sarhukan.** 2000. *Árboles tropicales de México*. INIF/FAO, México. 413 p.
- Phillips, J. y D. Hayman.** 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **55**: 158-160.
- Porter, W.M.** 1979. The most probable number method of enumerating infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Australian Journal of Soil Research*. **17**: 515-518.
- Smith, S.E. y D. J. Read.** 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. London.
- Sprott D.A.** 2000. *Statistical inference in science*. Springer-Verlag. New York.
- St. John, T.V. y D.C. Coleman.** 1983. The role of mycorrhizae in plant ecology. *Canadian Journal of Botany*. **61**: 1005-1014.
- Tommerup, I.C.** 1994. Methods for the study of population biology of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **En:** *Techniques for mycorrhizal research*. J.R. Norris, D. Read y A.K. Varma (Eds.) Academic Press. London. 483-511.

CAPÍTULO 4

The role of Mycorrhizae in phosphorus uptake and growth on seedlings of a Neotropical palm species

Abstract

Early seedling growth is very important for plant recruitment, uptake of nutrients, as phosphorous, is crucial for this initial growth. However, plants in tropics commonly meet a poor nutrients soils; in this context the interactions with soil inhabitants, in particular with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), may help to improve root nutrients uptake, especially since most tropical plants, as *Desmoncus orthacanthos* Martius, have coarsely branched roots and little root hairs (magnolioid root). To evaluate the effect of arbuscular mycorrhizae on phosphorus (P) uptake and initial growth of *D. orthacanthos* seedlings, a 160 days bi-factorial experiment was carried out, the factors were mycorrhizae (with or without) and three different levels of available P in substrate (4, 12 and 24 ppm). Total dry plant biomass (DW) and leaf area (LA) respond to P addition on substrate but no to mycorrhizae, concentration of phosphorous in plant (Pt) respond to both factors (mycorrhizae and P level) but no to the interaction; relative growth rate (RGR) respond to the interaction of mycorrhizae and P level. Relative mycorrhizal dependency of *D. orthacanthos* seedlings showed values equal to 24% at 12 ppm of P and 8% at 24 ppm of P available, this values of P in substrate are similar of that found in the natural conditions where this species is distributed. The results indicate that the association of seedlings of *D. orthacanthos* with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) plays an important role in the early growth and P uptake.

Key words: arbuscular mycorrhiza, dependency, *Desmoncus orthacanthos*, neotropical palm, seedlings, P uptake.

INTRODUCTION

Arbuscular mycorrhizal association is an important interaction for both plant and fungi, however it is an obligated type for the fungi while for plant it may be facultative or obligated depending on plant species and environments in which it is distributed. According to Janos (1980) the tropical trees species which dominate in mature forests may be obligated mycorrhizal, whilst in disturbed or early succession areas facultative and non-mycorrhizal plants are more common.

The establishment of the arbuscular mycorrhizal fungi in plant roots depends on both biotic and abiotic soil factors. One of the most important factors is nutrient concentration in soils, mainly phosphorous (P) and nitrogen (N) (Sylvia 1998). Since increase in nutrients acquisition, especially P and N, is one of the main benefits that

the host plant obtains from mycorrhizal association (Marschner and Dell 1994), the concentration level of those nutrients in soil may affects the association development.

The effect of mycorrhizae on seedlings growth and the dependence of them to the mycorrhizal association may be evaluated measuring total dry biomass (Menge *et al.* 1978; Plenchette *et al.* 1983; Bagyaraj *et al.* 1988; Van Der Heijden *et al.* 1998). Biomass production can be interpreted as a reflection to the mycorrhizae role on growth of host plant and therefore the ecological advantage obtained, mycorrhizal association improve phosphorous uptake by plant roots and its accumulation in tissues, which influences growth in both annual and perennial plants (Joner 2000; Kiers *et al.* 2000; Clark 2002; Fisher and Jayachandran 2002).

Desmoncus orthacanthos Martius is a neotropical palm, it may be found in the Yucatan peninsula growing in both disturbed and undisturbed zones, in both zones soils are poor in nutrients, particularly P is weakly available. Since *D. orthacanthos* has magnolioid roots (thick and unbranched roots) according to Baylis (1975), it may have mycorrhizal dependency, however there are not knowledge about the role of arbuscular mycorrhizae on *D. orthacanthos* and his influence in recruitment of seedlings and factors involve in this process. Tropical tree seedlings have showed to benefit from arbuscular mycorrhizae on survival, initial growth and nutrients uptake which influence the recruitment and diversity of seedlings in forest, including the establishment in nutrient-poor soils (Zobel *et al.* 1997; Kiers *et al.* 2000; Khurana and Singh 2001; Fisher and Jayachandran 2002).

The objectives of this research has been i) to evaluate the P uptake and initial growth response of seedlings of *Desmoncus orthacanthos* to arbuscular mycorrhizae, and ii) to calculate the degree of mycorrhizal dependency of this species.

MATERIALS AND METHODS

Biological material: Mature fruits of *D. orthacanthos* were collected from five individuals in mature forest, seeds were germinated on sterilized sand. Once germinated, 36 individuals of 21 days old were randomly selected for the experiment and transferred, one per container, to plant pots with 450 mL of sterilized Perlite (inert, inorganic substrate with low CIC), treatments were applied as described below.

Inoculation: A bi-factorial experimental design was carried out with two levels of mycorrhizae (inoculated or not) and three levels of phosphorous in nutrient solution (0, 10, 20 ppm), there were six treatments with six replicates. Mycorrhizae treatment consist of 100 mL of soil from a secondary forest with 36 infective propagules (spores, extraradical hyphae and colonized roots) on average used as inocula according to MPN dilution test (Porter 1979). The soil used as inocula was sifted in a 2 mm grid to allow roots and spores on inocula but eliminating leaf particles and other plant material.

No-mycorrhizae treatment consist of 100 mL of sterile soil and 100 mL of soil filtrate to re-establish the soil microbiota (Azcón and Barea 1997). The soil filtrate was obtained from soil used as inocula in the mycorrhizae treatment, it was homogenized in distilled

water and filtered through Whatman 42 membrane to capture mycorrhizal spores (Azcón and Barea 1997).

Pots were randomly distributed in a greenhouse, environmental temperature and humidity were not controlled but they were similar to the natural conditions where *D. orthacanthos* growth. Plants were watered by capillarity to avoid nutrients leaching, pots were irrigated once with Hoagland's nutrient solution containing: 2.5 mL L⁻¹ of Ca(NO₃)₂(1M), 2.5 mL L⁻¹ of KNO₃(1M, 1 mL L⁻¹ of MgSO₄(1M), 0.8 mL L⁻¹ of ZnSO₄(0.5mM), 0.5 mL L⁻¹ of MnSO₄(1mM, 0.2 mL L⁻¹ of CuSO₄(0.5mM), 2.0 mL L⁻¹ of H₃BO₃(10mM), 0.1 mL L⁻¹ of Na₂MoO₄(0.5mM, 2.0 mL L⁻¹ FeSO₄*7H₂O(100mM) with KH₂PO₄ (1M) to provide the concentration of phosphorous desired, 0, 10 or 20 ppm of P. At the end of the experiment P available in substrate was evaluated.

Growth analysis: Relative growth rate was evaluated using the formula $RGR = (\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)$ where W_1 and W_2 are dry weight at initial and final harvest, t_1 and t_2 are initial and final harvest time in days. Initial harvest was obtained at the beginning of the experiment, five individuals were taken from the same batch of seedlings and were placed in an oven at 78°C to dry until a stable weight was obtained, after 160 days plants from experiment were collected (final harvest) and dried as described above. Also total dry weight (DW), relationship root/shoot (R/S), and concentration of total P in plant tissues (Pt) following the technique of digestion in HNO₃/HClO₄ (Houba *et al.* 1988) was estimated. Leaf area (LA) was measured with a portable area meter (LICOR 3000A).

Dependence of *D. orthacanthos* to mycorrhizal association was calculated using the formula proposed by Plenchette *et al.*(1983): Relative mycorrhizal dependence (RMD) = [(Dry weight of mycorrhizal plant – dry weight of non-mycorrhizal plant)/ Dry weight of mycorrhizal plant] (100).

Mycorrhizal root colonization at final harvest was evaluated in seedling from all treatments. A quantitative similar secondary roots sample was taken and stained following the proposed by Phillips and Hayman (1970) and observed under optical microscope to estimate the percentage of root colonization.

Statistical analysis: A factorial ANOVA was applied to test differences between treatments and one way ANOVA was applied to separate the effect of mycorrhizae and P level in dry weight response. Non parametric Kruskal-Wallis ANOVA was applied to compare percentage of root colonization. A multiple range test Student-Newman-Keuls was applied to compare mean values when appropriate (Zar 1999).

RESULTS AND DISCUSSION

The final P available in substrate in the different treatments was 4 ppm (0 P in nutrient solution), 12 ppm (10) and 24 (20), showing that the soil employed as inocula contribute with low amount of P.

The highest relative growth rate (RGR) was registered at 4 ppm of P with mycorrhizal inoculum (Figure 1). The ANOVA shows significant differences between the different levels of P and in the interaction between the treatments, the inoculation as isolate factor does not show a significant effect on RGR. The multiple comparison of means indicates that the RGR in the treatment with inoculation of AMF and the concentration at 4 ppm of phosphorous differs significantly from the rest of the treatments (Table 4.1).

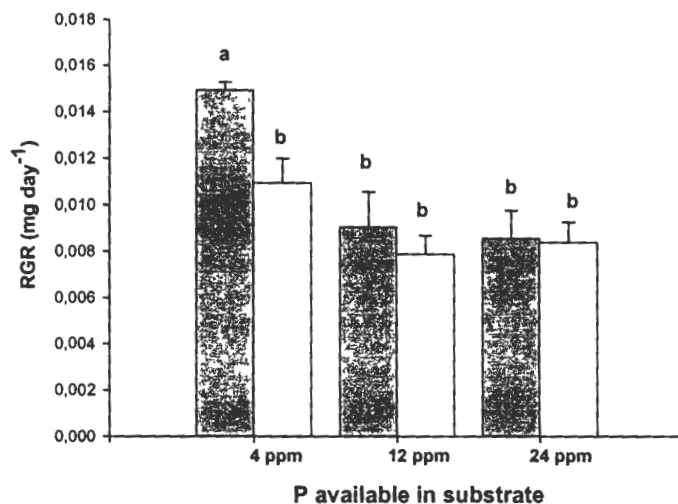


Figure 4.1. Average relative growth rates (+1S.E.) at different P additions. The gray bars represent the treatment with inoculation; the open bars represent treatment without inoculation. The bars marked with the same letter show no significant differences ($p < 0.05$) ($n=6$).

Table 4.1. Analysis of variance on various parameters (M= inoculated, P= level of P added).

Source of variation	RGR	DW	R/S	LA	Pt
M	1.42 n.s.	4.56 *	3.07×10^{-5} n.s.	3.57 n.s.	25.64 ***
P	12.43 ***	9.28 ***	1.450 n.s.	7.09**	16.16 ***
M X P	3.39*	1.78 n.s.	1.249 n.s.	1.54 n.s.	0.695 n.s.

n.s.= no significant, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

The results show that RGR in *D. orthacanthos* is different between the treatments with and without AMF for all the concentrations of available P in the substrate, indicating that the inoculation with AMF increases the rate of biomass production. Therefore, one could expect that, in conditions where P is limited, as tropical soils where this species is distributed, the association with AMF is advantageous for seedlings' growth.

In substrate with 12 and 24 ppm P, no differences were observed between the treatments with or without AM, which could indicate that at these levels of P in the pots, no deficit was created. Marschener (1998) and Mukerji *et al.* (1991) report that the uptake of nutrients by mycorrhizal plants extends to deposits located at various centimeters from the nearest root, therefore the results are not very clear in a confined system such as the plant pots used in this study.

The highest DW in the seedlings, after 160 days growth, was found in the treatment with 4 ppm of P. The treatment with AM inoculation also showed higher values than the non inoculated treatment (Figure 4.2). The ANOVA presents significant differences between treatments of P available in substrate, however, no significant effect was found for mycorrhizal inoculum nor for factor interaction (Table 4.1).

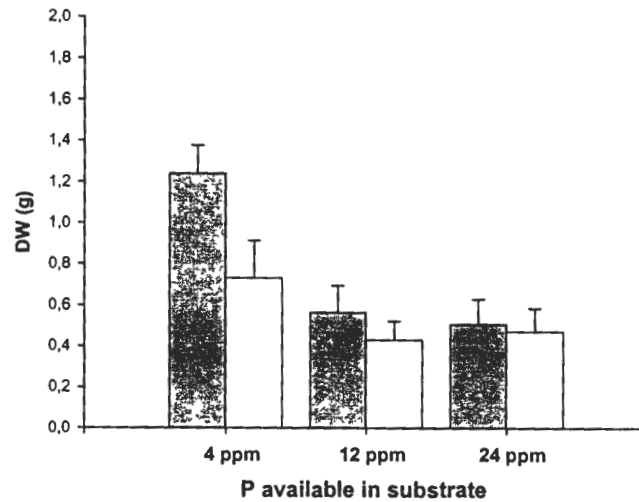


Figure 4.2. Average dry weight (+1S.E.) of *D. orthacanthos* seedlings. The gray bars represent the treatment with inoculation; the open bars represent treatment without inoculation (n=6).

We observed a positive effect of AM inoculation on DW for *D. orthacanthos* seedlings, indicating that the establishment of the mycorrhizal association in seedlings increases the growth. The improve of DW in mycorrhizal seedlings coincide with previous reports, where at low P concentrations on substrate, AM inoculation increased the growth on *Jacquemontia reclinata* seedlings (Fisher and Jayachandran 2002), also the increase in biomass and P concentration in tissues (Joner 2000) and greater distribution of biomass towards the roots and shoots (Rubio *et al.* 2003) are the result of AM inoculation and improved P uptake by plant (Bâ *et al.* 2000). In spite of the fact that results from this greenhouse experiment agree to most research done in greenhouse (Allison and Goldberg 2002), we should be careful in extrapolating the results to field conditions, since biomass production depends on plant physiology, mycorrhizal fungi and environmental factors (Solaiman and Abbott 2003).

When we analyzed the results of DW for mycorrhizal plants only, we found significant differences ($F=10.5$, $p=0.0014$), mycorrhizal plants at 4 ppm of P showed the greatest DW values, it was not significant differences between 12 and 24 ppm of available P. At high P availability, the effects of mycorrhizae on dry weight was diminished or detriment, growth depression by arbuscular mycorrhizae at high P availability has been demonstrated for some plant species (Jifon *et al.* 2002, Schroeder and Janos 2004), in this research we found the same detrimental effect on mycorrhizal plants growing at high P available on substrate.

We did not observe response of root/shoot (R/S) ratio in *D. orthacanthos* seedlings to factors evaluated, as showed in statistical analysis, even though it is generally accepted that seedlings with a root system without mycorrhizae needs to produce more secondary roots that permit greater exploration (Mukerji 1991; Marschener 1998).

Leaf area (LA) values responded to P available in substrate but no to mycorrhizal treatments, LA lowest value was found at 12 ppm of P (Figure 4), at 4 and 24 ppm of P seedlings did not show significantly differences on LA values.

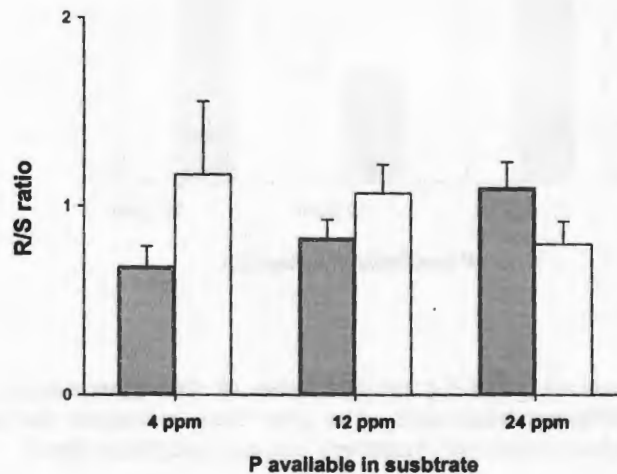


Figure 4.3. Mean values (+1S.E.) of root/shoot ratios of *Desmoncus orthacanthos* seedlings with the different treatments. The gray bars represent the treatment with mycorrhizal fungi; the open bars represent treatment without mycorrhizal fungi. (n=6).

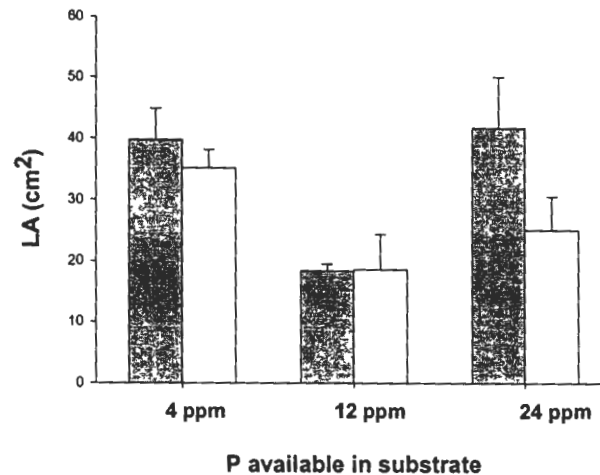


Figure 4.4. Mean values (+1S.E.) of leaf area of the *Desmoncus orthacanthos* seedlings with the different treatments. The gray bars represent the treatment with inoculation; the open bars represent treatment without inoculation (n=6).

The total P content in leaf tissues (Pt) showed statistically significant differences to AM treatment and to P concentration on substrate, but not to the interaction of both factors as indicated by ANOVA (Table 4.1) (Figure 4.5). Highest values of Pt were found at mycorrhizal treatment and at 24 ppm of available P on substrate. The Pt values indicate that the AM mycorrhiza has a stimulating effect on P uptake and consequently on the concentration of this in tissues, concurring with data reported by Joner (2000) for *Trifolium subterraneum* and by Al-Karaki (2002) for *Allium sativum*. Bâ *et al.* (2000) found a relationship between the increase in P uptake and a greater production of biomass, which does not coincide with the results of this study, since the treatment in which the highest Pt concentration was registered does not coincide with the greatest quantity of biomass produced (Figures 4.2 and 4.5). The analysis of the effect of AM inoculation therefore, is more complex and must incorporate all the factors intervening

in the development of the seedlings and in the mycorrhizal association as suggested by Solaiman and Abbot (2003).

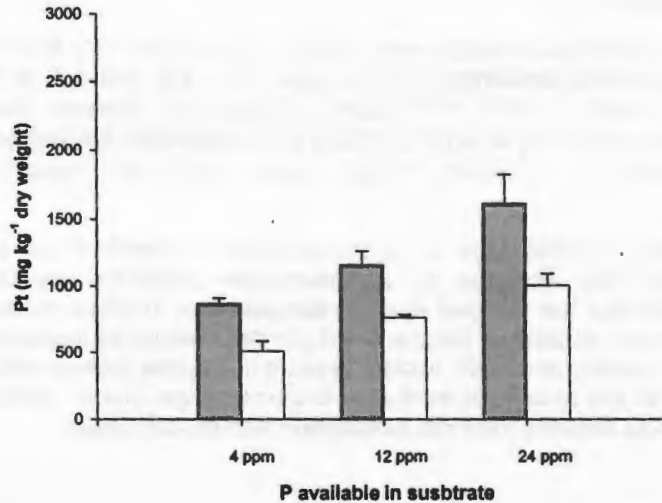


Figure 4.5. Mean value (+1S.E.) of phosphorus concentration in leaf tissue of the *Desmoncus orthacanthos* seedlings with different treatments. The gray bars represent the treatment with mycorrhizal fungi; the open bars represent treatment without mycorrhizal fungi (n=6).

The values of RMD for *D. orthacanthos* at different levels of available P, show that the dependency value decreases as the P concentration in the substrate increases, registering percentages of dependency equal to: 55% (at 4 ppm of P), 24% (12 ppm of P) and 8% (24 ppm of P), indicating that the higher the concentration of P in the substrate, the less beneficial is the association with AM for plant. However *D. orthacanthos* shows positive RMD in all P concentrations evaluated. Even at high concentration (24 ppm) where Sharma *et al.* (2001) have suggested that the response to AM inoculation disappears in subtropical trees, therefore, for this species, establishing AM association even at high levels of P is positive, moreover if P uptake is not the only advantage the association provides. Results for RMD and the magnolioid type roots (Baylis 1975) present in *D. orthacanthos*, suggest that this palm species is obligated mycotrophic (Janos 1980), and benefits from the association with arbuscular mycorrhizal fungi to uptake P and grow in the conditions evaluated. Kiers *et al.* (2000)

mentioned that in tropical forest, there is a complexity of interactions relating to the mycorrhizal dependency of plant species, regardless of the successional stages to which the plants belong. Mycorrhizal dependency is influenced by the characteristics of the host plants themselves, such as the size of the seed (Peat and Fitter 1993; Huante *et al.* 1993; Kiers *et al.* 2000), germination requirements, efficient use of nutrients and water and the demand for light (Huante *et al.* 1993). For this reason, the extrapolation of the calculations to the natural field conditions must be carried out with caution (Munyanziza *et al.* 1997).

The presence of hyphae and vesicles was observed, as well as very scarce amount of arbuscules in mycorrhizal seedlings roots, it was 15.3, 8.8 and 5.3 % of total root colonized at 0, 10 and 20 ppm of P added respectively, however there was not significant difference according to Kruskal-Wallis non parametric ANOVA test ($P > 0.05$). The treatment without inoculation showed none arbuscular mycorrhizal fungal structures.

AM inoculation and P added play an important role in growth of *D. orthacanthos* seedlings, although the absence of an interaction between phosphorous and inoculation suggests that the analysis is more complex and involves more factors and environment conditions. In spite of the complexity in the analysis of these results and of the interaction with abiotic and biotic factors present in tropical forests- which were not taken into account in this study- we were able to demonstrate that *D. orthacanthos* is a species which obtains benefits from the association with mycorrhizae.

ACKNOWLEDGMENTS

Valuable suggestions by Patricia Guadarrama and Victor Parra are greatly appreciated. J. R-Z got a scholarship (153737) from CONACYT, México.

REFERENCES

- Al-Karaki GN (2002). Benefit, cost, and phosphorus use efficiency of mycorrhizal field-grown garlic at different soil phosphorus levels. *J Plant Nutr* **25**, 1175-1184.
- Allison VJ, Goldberg DE (2002). Species-level versus community-level patterns of mycorrhizal dependence on phosphorous: an example of Simpson's paradox. *Funct Ecol* **16**, 346-352.
- Azcón R, Barea J (1997). Mycorrhizal dependency of a representative plant species in Mediterranean shrublands (*Lavandula spica* L.) as a key factor to its use for revegetation strategies in desertification-threatened areas. *Appl Soil Ecol* **7**, 83-92.
- Bâ AM, Plenchete C, Danthu P, Duponnois R, Guissou T (2000). Functional compatibility of two arbuscular mycorrhizae with thirteen fruit trees in Senegal. *Agroforest Syst* **50**, 95-105.
- Bagyaraj D, Manjunath A, Govinda Rao Y (1988). Mycorrhizal inoculation effect on different crops. *J Soil Biol Ecol* **8**, 98-103

- Baylis GTS** (1975). The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: Sanders F, Mosse B, Tinker P, eds. *Endomycorrhizas* Academic press. London. pp. 373-389.
- Clark R** (2002). Differences among mycorrhizal fungi for mineral uptake per root length of switchgrass grown in acidic soil. *J Plant Nutr* **25**, 1753–1772.
- Fisher JB, Jayachandran K** (2002). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance seedling growth in two endangered plant species from south Florida. *Int J Plant Sci* **163**, 559-566.
- Houba J, van der Lee J, Novozamsky I, Walinga I** (1988). *Soil and plant analysis, Part 5, Soil Analysis Procedures*; Wageningen University: Wageningen,.
- Huante P, Rincón E, Allen E** (1993). Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on seedling growth of four tree species from the tropical deciduous forest in Mexico. *Mycorrhiza* **2**, 141-145.
- Janos D** (1980). Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* **12**, 56-64.
- Jifon JL; Graham JH; Drouillard DL; Syversten JP** (2002). Growth depression of mycorrhizal *Citrus* seedlings grown at high phosphorus supply is mitigated by elevated CO₂. *New Phytol* **153**, 133–142.
- Joner EJ** (2000). The effect of long-term fertilization with organic or inorganic fertilizers on mycorrhiza-mediated phosphorus uptake in subterranean clover. *Biol Fert Soils* **32**, 435-440.
- Khurana E, Singh JS** (2001). Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: a review. *Environ Conserv* **28**, 39–52
- Kiers ET, Lovelock CE, Krueger EL, Herre EA** (2000). Differential effects of tropical arbuscular mycorrhizal fungal inoculation root colonization and tree seedling growth: implication for tropical forest diversity. *Ecol Lett* **3**, 106-113
- Marschener H** (1998). Role of root growth, arbuscular mycorrhiza, and root exudates for the efficiency in nutrient acquisition. *Field Crop Res* **56**, 203-207
- Marschner H, Dell B** (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil* **159**, 89-102.
- Menge JA, Jonson EL, Platt RG** (1978). Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars and three nutrient regimes. *New Phytol* **81**, 553-559.
- Mukerji K, Jagpal R, Bali M, Rani R** (1991). The importance of mycorrhiza for roots. In: McMichael B, Persson H, eds. *Plant roots and their environment*. Elsevier Science Publishers. Amsterdam. pp. 290-308.
- Munyanziza E, Kehri HK, Bagyaraj DJ** (1997). Agricultural intensification, soil biodiversity and agro-ecosystem function in the tropics: the role of mycorrhiza in crops and trees. *Appl Soil Ecol* **6**, 77-85.
- Peat HJ, Fitter AH** (1993). The distribution of arbuscular mycorrhizas in the British flora. *New Phytol* **125**, 845-854.
- Phillips J, Hayman D** (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *T Brit Mycol Soc* **55**, 158-160.
- Plenchette C, Fortin J, Furlan V** (1983). Growth responses of several plant species to mycorrhizae in soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant Soil* **70**, 199-209.

- Porter WM** (1979). The most probable number method of enumerating infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Aust J Soil Res* **17**, 515–518.
- Rubio R, Borie F, Schalchli C, Castillo C, Azcón R** (2003). Occurrence and effect of arbuscular mycorrhizal propagules in wheat as affected by the source and amount of phosphorous fertilizer and fungal inoculation. *Appl Soil Ecol* **23**, 245-255.
- Schroeder M and Janos DP** (2004). Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas. *Plant Soil* **264**, 335–348.
- Sharma MP, Bhatia N, Adholeya A** (2001). Mycorrhizal dependency and growth responses of *Acacia nilotica* and *Albizzia lebbek* to inoculation by indigenous AM fungi as influenced by available soil P levels in a semi-arid Alfisol wasteland. *New Forest* **21**,89-104.
- Solaiman MZ, Abbott LK** (2003). Phosphorus uptake by a community of arbuscular mycorrhizal fungi in jarrah forest. *Plant Soil* **248**, 313-320.
- Sylvia DM** (1998). Mycorrhizal symbioses. In: Sylvia DM, Fuhrmann JJ, Hartel PG, Zuberer DA, eds. *Principles and applications of soil microbiology*. Prentice Hall, New Jersey. pp. 408-426.
- Van Der Heijden MG, Boller T, Wiemken A, Sanders IR** (1998). Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology* **79**, 2082-2091.
- Zar J** (1999). *Biostatistical analysis*, 4th Ed.; Prentice Hall Inc., New York.
- Zobel M, Moora M, Haukioja E** (1997). Plant coexistence in the interactive environment: arbuscular mycorrhiza should not be out of mind. *Oikos* **78**, 202-208.

CAPÍTULO 5

Establishment of *Desmoncus orthacanthos* Martius (Arecaceae): effect of inoculation with arbuscular mycorrhizae

Abstract

Inoculation with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi has often promoted increased growth of plants but very little work has been done in the tropics to evaluate the effects of inoculation on the establishment and development of seedlings in forests. *Desmoncus orthacanthos* Martius is a scandent palm present both in early and late succession, and consequently can be used in restoration processes. A test was conducted to determine the effect of AM on the establishment of *Desmoncus orthacanthos* in tropical forest in the Yucatan Peninsula, Mexico. Thirty inoculated and 30 non-inoculated seedlings were introduced in two sites of different successional age, a mature forest and an eight-year old abandoned cornfield.

After six months, percentage of root colonization ranged from 4-6% and was not significantly different between sites or inoculum treatment. Mycorrhizal propagules numbers were similarly high in soil from both sites. Survival and growth parameters were evaluated after 12 months. Leaf area and phosphorus, but not height, were greater in inoculated than non-inoculated plants in the forest but not in the acahual. However, mycorrhizae had a clear effect on plant survival in both sites, with a threefold increase in survival of inoculated compared with non-inoculated plants. Although mycorrhizal colonization was low, the results suggest that inoculation will be important to increase the establishment of this commercially important palm.

Key words: Arbuscular mycorrhizae, tropical palm, seedlings establishment.

INTRODUCTION

The establishment of seedlings in the field is a critical stage in tropical reforestation and in the success of plantations. Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi may play an important role in successful reforestation, as inoculation of tree seedlings has actually increased the success of establishment in the field (Mukerji *et al.*, 1991, Allen *et al.*, 2003). According to Janos (1980), most tree species of mature tropical wet forest are obligate mycorrhizal. However, in oligotrophic environments the pioneer plants also develop AM colonization, which is of great importance for their establishment (Lovera and Cuenca, 1996). In well established or mature vegetation, seedlings may connect into a pre-existing network of mycelium of arbuscular mycorrhizae (Simard and Durall, 2004) that can provide greater uptake of essential nutrients (Eissenstat and Newman, 1990; Pedersen and Sylvia, 1996; Zobel *et al.*, 1997) and phosphorous in tissues (Joner, 2000; Fisher and Jayachandran, 2002), a greater resistance to water stress (Augé, 2001), protection against pathogens (Varma, 1995) and an increased

competitive advantage over other seedlings (Grime *et al.*, 1987; Francis and Read, 1994, van der Heijden *et al.*, 1998, Guadarrama *et al.*, 2004).

Given the growing degradation of habitats in the tropics, it is necessary to evaluate the role of arbuscular mycorrhizae in the re-introduction and reforestation with seedlings produced in greenhouses, a topic that has received relatively little study (Jagpal and Mukerji, 1991; Fischer *et al.*, 1994; Lovera and Cuenca, 1996; Allen *et al.*, 2003). The exploitation of non-timber resources in the wet tropical forest located in the Ejido (communally-owned land) Noh Bec has generated a growing interest in the use of *Desmoncus orthacanthos* Martius a palm that grows in abandoned agricultural fields as well as mature forests in the Yucatán Peninsula. Due to the climbing habit of this plant, it produces long, flexible shoots used in the manufacture of handicrafts. However, the utilization of this slow-growing palm will require replanting and management to avoid depletion of wild stocks. This may include the use of individuals initiated in the greenhouse with mycorrhizal inoculum to improve establishment.

Although there is a general understanding of the advantages inoculation with AM provides in tests with transplants, some studies have reported cases in which the plant does not respond positively to inoculation and on occasions, may even have a deleterious effect (Castellano, 1996). It was not clear from existing literature whether *D. orthacanthos* would respond positively to inoculation, especially given that it is both a colonizing species and a plant of mature forests. The aim of this work is to evaluate the effect of arbuscular mycorrhizae inoculation on the establishment, development and survival of *D. orthacanthos* seedlings in two sites, a mature forest and an abandoned cornfield (acahual).

MATERIAL AND METHODS

Plant material

Mature fruits of *D. orthacanthos* were collected and seeds were germinated in humid chambers using sterilized agrolite as a substrate. Once germinated, the seedlings were transferred to 500 ml plastic bags filled with 350 ml of steam-sterilized soil and with the addition of 50 ml of inocula depending on the treatment.

Inoculation

For the treatment with mycorrhizae, 50 ml of soil from the mature forest were used for each plant. Soil was collected from the surface 20 cm in april. The soil used as inoculum was sifted through a 2 mm grid to allow the passage of fine roots colonized with AMF, spores and extraradical mycelium distributed in the soil. Soil inoculum was used because this is appropriate for a field experiment in native soils (Koide and Li, 1989), and has been used successfully previously in seasonal tropical forest (Allen *et al.*, 2003).

The treatment without mycorrhizae was inoculated with 50 ml of steam-sterilized soil and a soil filtrate to re-establish the microbiota of the soil. The soil filtrate was also obtained from soil taken from forest, which was homogenized in distilled water and

filtered through a Whatman 42 filter paper to prevent the passage of AMF spores (Azcón and Barea, 1997); 50 ml of the filtrate were applied to each plastic growth bag.

Growing conditions

Plants grown in each treatment were placed randomly in a greenhouse for 2 months. When the plants produced two leaves and reached a height of 10 cm, they were transplanted to the two field sites, forest and acahual. Prior to the introduction, the roots were stained using the bleaching and staining technique with Trypan blue (Phillips and Hayman, 1970) to determine the percent of mycorrhizal colonization of the seedlings in both treatments.

Establishment in the field

In September 2001, 30 seedlings were introduced in each site, 15 seedlings inoculated with AMF and 15 seedlings without inoculation. The mature forest, is a medium-height, sub-perennial forest undisturbed by human activities for the last 80 – 100 years. The abandoned cornfield, is secondary vegetation, or acahual, generated from abandoned slash and burn local agriculture, where the original vegetation had been burned for the last time 10 years ago, and abandoned from agriculture eight years ago. The vegetation present in each of the sites under study shows contrasts in composition and average height. The dominant trees of the mature forest are *Pouteria unilocularis* (Engel) Eyma, *Alseis yucatanensis* Standl., *Metopium brownei* (Jacq.) Urban, with the understory palms *Cryosophila stauracantha* (Heynh.) R. Evans, *Sabal mauritiiformis* (H. Wendl. Ex- H. Karst.) Griseb. & H. Wendl. species with an average height of 20-30m, while the dominant trees of the acahual are *Cecropia peltata* L., *Bursera simaruba* (L.) Sarg., *Guazuma ulmifolia* Lam., *Guettarda combsii* Urb., with a canopy of 10-15 m. The mature forest site is located at 19° 07' 28" N and 88° 20' 25" W, while the abandoned cornfield site is located at 19° 05' 54" N and 88° 13' 30" W. Both sites had *D. orthacanthos*, which were larger in the mature forest (30 m) than the acahual (10 m). Seedlings were planted randomly near the center of gaps larger than 3 m diameter, with a 1m distance between one mycorrhizal and one non-mycorrhizal seedling in each gap.

Parameters evaluated

Root samples from seedlings were taken from the greenhouse prior to transplanting (n =20) , and again six months following transplanting (in April) to evaluate the mycorrhizal status in the field (n = 60). Fine roots that could be traced back to *D. orthacanthos* in the field were collected non-destructively from the top 5-10 cm. Because of the slow growth rates of the plants, root samples were collected non-destructively only once. Roots were stained to evaluate the percentage of root colonized by mycorrhizae (Phillips and Hayman, 1970; McGonigle *et al.*, 1990). Survival was evaluated 12 months after the introduction of the seedlings, also values of height and leaf area was carried out. Samples of the youngest fully-expanded leaf of each palm were taken to evaluate the leaf phosphorous concentration using the technique of digestion in HNO₃/HClO₄ (Houba *et al.*, 1988).

Soil analysis

Several soil characteristics of the forest and abandoned cornfield were evaluated. Extractable phosphorus was determined according to Olsen and Dean (1965), and Kjeldahl semi-micro total nitrogen (Bremner, 1965) as well as pH value in soil solution.

To evaluate the infective capacity of the soil in both communities, samples were taken and the mycorrhizal-forming units were determined using the most probable number test (MPN) of AM propagules; following a four-fold soil dilution series (Porter 1979), *Sorghum vulgare* L. was used as a trap plant, with four replicates of each dilution.

Statistical analysis

Values of total height, leaf area, concentration of leaf P, were tested using a two way analysis of variance (ANOVA), in order to compare the effect of the treatments (with and without AM fungi) in the sites (forest and acahual). To detect differences between the values, a Student-Newman-Keuls multiple comparison test was applied. The values of colonization were transformed with square root to comply with the assumptions of normality for the ANOVA. The effect of the treatments on survival was evaluated with a multiple binomial linear regression analysis and the reason of advantage was calculated (odds ratio) (Zar, 1999).

RESULTS

The chemical and biological characteristics of the soil varied between the two study sites (Table 5.1). The number of AMF propagules was greater in acahual than mature forest, while extractable P and total N were greater in forest than acahual. The pH was not different.

Table 5.1. Chemical and biological characteristics of the soils from the study areas.

SOIL PARAMETERS	FOREST	ACAHUAL
P available ^a (mg kg ⁻¹ soil)	18.80	13.50
Total N ^b (cmol kg ⁻¹ soil)	67.75	16.93
Soil pH ^c	7.3	7.1
Propagules of AMF ^d (50 mL ⁻¹ soil)	4.5	18

a: Olsen P extractable.

b: Semi-micro-Kjeldahl.

c: Soil solution.

d: MPN (Porter, 1979).

Transplanted seedlings in acahual had significantly higher percent root colonization than mature forest, although the highest percentage was only 6% whether the plants were inoculated or not (Figure 5.1). Conversely, the inoculated plants were analyzed in

the greenhouse prior to outplanting, and had 15-20% colonization, while uninoculated plants had 0% colonization in the greenhouse. While site of planting had a significant effect on percent colonization, inoculation did not increase colonization in either site (Table 5.2).

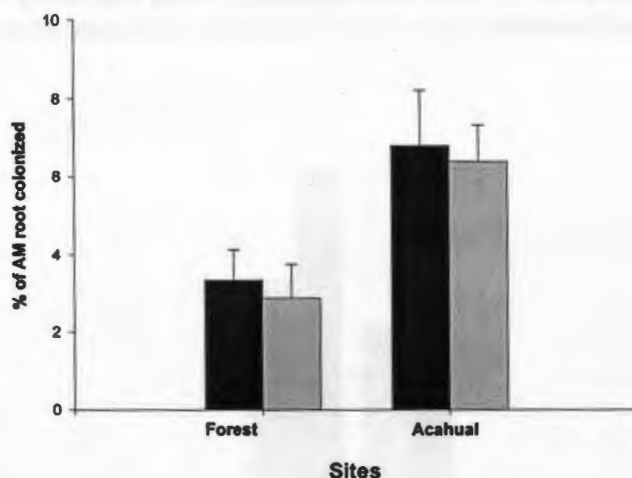


Figure 5.1. Average percentage (+1S.E.) of AMF colonization of the seedling roots six months after introduction in the different environments and treatments. The dark bars represent the treatment with mycorrhizae; the open bars represent treatment without mycorrhizae.

Table 5.2. F values of the ANOVA of the parameters evaluated (n.s. = not significant, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

Source of variation	Root colonization (n=15)	LA (n=8)	H (n=8)	Pt (n=5)
Inoculation	0.44 n.s.	20.64 ***	1.11 n.s.	278.3 ***
Site	11.08 ***	1.37 n.s.	8.72 **	152.0 ***
Inoculation x Site	0.14 n.s.	6.50 *	0.29 n.s.	254.8 ***

Even though there was no effect of mycorrhizal inoculation on percent colonization, the survival of plants introduced to the field was different depending on the inoculum treatment and on the site of introduction (forest or acahual). The highest survival average occurred in acahual for the AM treatment, while the treatments without AM showed lower survival values both for the acahual and for the forest (Figure 5.2). The number of surviving inoculated seedlings was ca. 25% greater than uninoculated treatments, but when the odds ratio was calculated, plants inoculated with AM had a probability of survival three times higher than the plants without inoculation (Table 5.3).

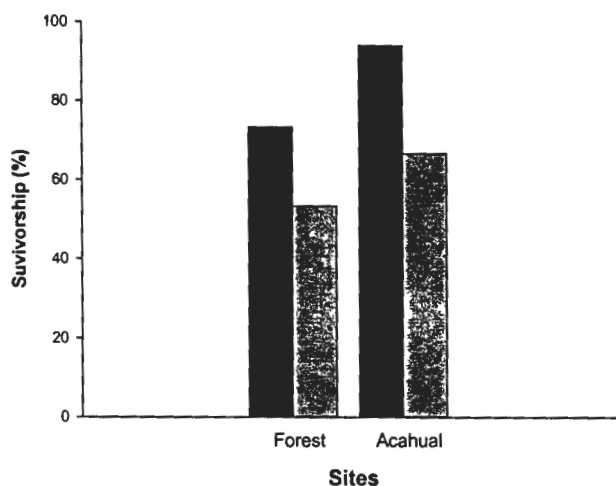


Figure 5.2. Percentage of survival of the plants introduced in different sites and with different treatments. The dark bars represent the treatment with mycorrhizae; the open bars represent treatment without mycorrhizae (n=15).

Table 5.3. Odds ratio calculated for the effect of the sites and treatments on survival (n = 60).

Parameter	Odds ratio	Upper limit	Lower limit	P
SITES	0.405	1.359	0.121	0.143
TREATMENTS	3.493	11.995	1.017	0.047

The highest value of leaf area in seedlings was registered in the AM treatment introduced in the forest. The value of leaf area (Figure 5.3) indicates significant differences between the treatments with inoculation (Table 5.2), with higher values of leaf area in the seedlings with the inoculation treatment for both sites. The interaction between the inoculation and the site of establishment was also significantly different.

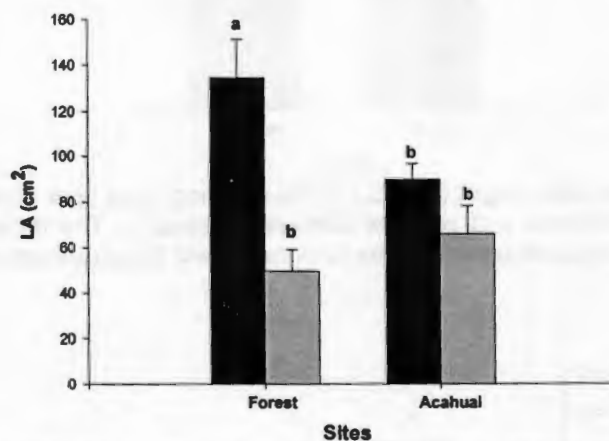


Figure 5.3. Average leaf area (+1S.E.) of the seedlings, one year after introduction in the different environments and with different treatments. The dark bars represent the treatment with mycorrhizae; the open bars represent treatment without mycorrhizae. The bars marked with the same letter show no significant differences (n=8).

The acahual site showed the highest values for seedling height. Significant statistical differences were found between the areas of establishment, but there was no significant difference between inoculum treatments (Table 5.2, Figure 5.4).

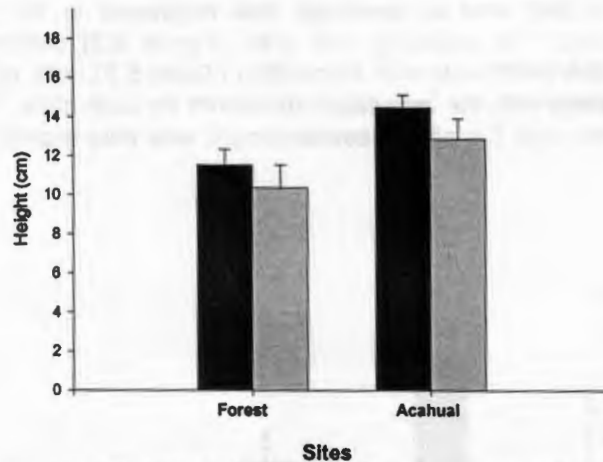


Figure 5.4. Average total height (+1S.E.) of the seedlings one year after introduction in the different environments and with the different treatments. The dark bars represent the treatment with mycorrhizae; the open bars represent treatment without mycorrhizae (n=8).

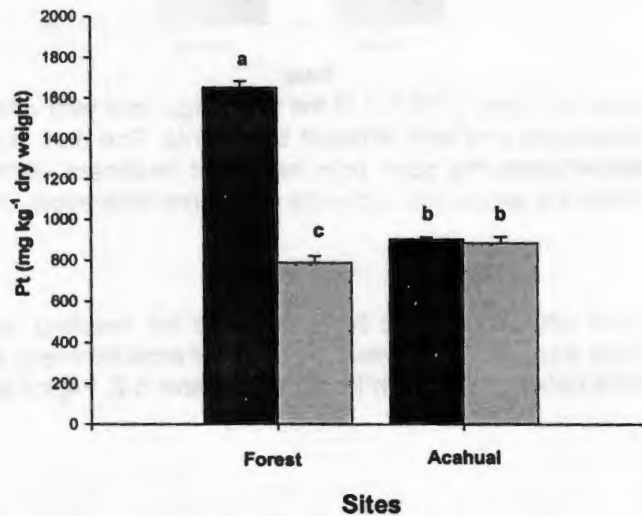


Figure 5.5. Average leaf content of phosphorus (+1S.E.) in the seedlings introduced in the different environments. The dark bars represent the treatment with mycorrhizae; the open bars represent treatment without mycorrhizae. The bars marked with the same letter show no significant differences (n=5).

The highest value of tissue P concentration was found in seedlings inoculated with AM and introduced in the forest (Figure 5.5). This was statistically different from the values found for the other treatments both for forest and acahual. The P values showed a statistical interaction for inoculation and site (Table 5.2).

DISCUSSION

The establishment of seedlings is one of the most important stages for the maintenance and recovery of populations of plant species (Eriksson, 1989), and establishment has been observed in the field for this species (Escalante-Rebolledo *et al.*, 2004). Competition between established vegetation and the seedlings in their proximity is one of the greatest biotic forces determining the structure of a plant community (Kytoviita *et al.*, 2003). If we consider the integration of the seedlings in an existing network of AM mycelium of relevance, then the study of the establishment of seedlings inoculated with AM fungi is of prime interest (Zobel *et al.*, 1997).

According to Mosse and Hayman (1980), colonization of the roots with AM prior to the introduction of seedlings to the field provides the plant with advantages for establishment. Prior to transplanting seedlings, the inoculum density should be evaluated to determine the relative importance or necessity of inoculation. According to Gianinazzi *et al.*, (1989), when high values of infective native propagules are found in the soil, the process of inoculation is unnecessary. However, not only the number of propagules, but also the effectiveness in the formation of new units of infection must be taken into consideration (Klironomos and Hart 2002). Furthermore, the colonization process may take time, and pre-inoculated seedlings may have an advantage even in soils with high inoculum density, as was demonstrated by transplanting inoculated and uninoculated seedlings in a seasonal tropical forest (Allen *et al.*, 2003). Inoculation in the greenhouse ensured that the seedlings introduced to the field had colonization before transplanting, providing them with an advantage over the plants without inoculation, which was evident in this study in increased height, leaf area and survival.

After six months the inoculated and uninoculated roots no longer showed a difference in percent colonization, Roots were harvested only once to avoid damaging the seedlings, but this occurred during the dry season when mycorrhizal colonization is low at this site. Seasonal observations of AM colonization of naturally occurring seedlings of *D. orthacanthos* at these sites showed values of 5 to 30 % colonization (Ramos *et al. in review*). The spatial variation observed in the number of propagules in the two sites, and the response of the plants to the presence of native AM inocula resulted in slightly lower colonization of mature forest than acahual roots during the dry season. This conforms to observations at another mature forest site in the Yucatan Peninsula, where mature forest had lower colonization than acahual (Allen *et al.* 2003). Spatial variation of the AM community has been reported in different studies and is related to

the diversity of the plant community and differences in the soils under evaluation (Carvalho *et al.*, 2003). The effects of inoculum density may interact with multiple factors at a site, such as was observed for pathogen invasion of one species and herbivory of another that both affected AM colonization and plant survival (Allen *et al.* 2005). Although mycorrhizal colonization was low with 4-6%, inoculation was sufficient to make a difference in survival.

The majority of studies carried out on inoculation have demonstrated the superiority of mycorrhizal over non-mycorrhizal plants in aspects such as greater survival and initial growth in reforested areas (Mukerji *et al.*, 1991). The results obtained in this study agree with this, showing increased survival of the inoculated seedlings introduced in the study sites. According to the analysis these seedlings present an advantage three times greater in comparison with seedlings without inoculation. The highest value of survival for the *D. orthacanthos* seedlings was observed in the acahual, this coincides with observations made by Estaún *et al.* (1997) and Azcón-Aguilar *et al.* (2003) who have confirmed that AM fungi (AMF) inoculation increases the probability of establishment in disturbed areas.

The abandoned cornfield is characterized by a large number of seedlings in contrast to the low density of seedlings observed in the mature forest, where a high mortality rate is also observed as well as consumption of the seedlings by herbivores (personal observations). The effect of inoculation on the rate of survival for seedlings introduced in the undisturbed site is evident, which highlights the potentially important role the association with AMF plays in the successful establishment of the seedlings. It is interesting to note that the effect of inoculation on survival can be observed in an early stage of establishment in this perennial species, which coincides with previous reports on the positive effect of inoculation on the establishment of seedlings in the field (Francis and Read, 1994; Pedersen and Sylvia, 1996; Varma, 1995; Fisher and Jayachandran, 2002; Azcón-Aguilar *et al.*, 2003).

The observations made in this study concur with Janos (1980) who concluded that the majority of seedlings from many species at advanced successional stages in wet tropical forests are obligate mycorrhizal; their growth and survival, therefore, are increased by AM. The analysis of results obtained in this study allow us to coincide with Siqueira and Saggin-Júnior (2001) to the effect that, in the tropics, the seedlings must be inoculated with AM prior to introduction in the field in order to increase survival and initial growth.

Although mycorrhizal inoculation caused increased survival in both sites, effects on plant growth were different. In mature forest mycorrhizae promoted increased plant height and leaf P, but not in acahual. Increased P uptake by mycorrhizae has been noted in other species (Al-Karaki, 2002) including tropical forest trees (Bâ *et al.* (2000, Whitbeck, 2001). However, in another study six species of tropical forest trees had no increase in leaf P concentration following inoculation and transplanting to the field, although they did have increased height and survival (Allen *et al.* 2003). The different

responses by *D. orthacanthos* in this study may be related to the different sites. The forest soil had higher extractable P and would not be expected to have a greater response of leaf P to inoculation, but the forest seedlings also had a greater leaf area. The leaf area response may be due to greater shading, as the forest site has taller trees and therefore more shade than acahual.

The leaf P concentration in seedlings without AM inoculation were different among the acahual and forest, the value was higher in acahual, this differences may be due the difference in the number of infective propagules (Table 5.1) and in the composition of the community of AM, since the contribution of phosphorous from the native AM depends on the abundance of the propagules and on their effectiveness in the transfers of P from soil to plant (Solaiman and Abbot, 2003). Mature seasonal tropical forest has a greater diversity of AM spore species than acahual, and includes a higher density of species in the genera Gigaspora and Scutellospora (Allen *et al.* 2003). In another study plants inoculated with Scutellospora had less efficient P uptake and lower growth rates than those with Glomus (Pearson and Jacobson 1993).

This is the first work on inoculation and introduction of a palm species in the Mexican tropics, it was found that the establishment in the field of *D. orthacanthos* seedlings was favored by AM inoculation. Although mycorrhizal colonization was low, the results suggest that inoculation prior to plant introduction to the field is important to increase survival and growth, and that the degree of plant response will depend upon the field site. Other researchers in the tropics have also shown beneficial responses of inoculated, transplanted seedlings (Fischer *et al.*, 1994; Siqueira and Saggin-Júnior 2001), suggesting that inoculation should be part of a program for the reintroduction of the useful palm *D. orthacanthos* to increase its abundance for future harvesting.

ACKNOWLEDGMENTS

We want to thank to Patricia Guadarrama for her comments on an earlier draft of this manuscript, we want also to thank to Lilia Carrillo, Joaquin Quiróz and Roberto Sibaja for helping in field and laboratory work. J.R.Z. got a doctoral grant (153737) from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

REFERENCES

- Al-Karaki G.N.** 2002. Benefit, cost, and phosphorus use efficiency of mycorrhizal field-grown garlic at different soil phosphorus levels. *Journal of Plant Nutrition*. 25, 1175-1184.
- Allen, E. B., Allen, M.F., Egerton-Warburton, L., Corkidi, L. & A. Gomez-Pompa,** 2003. Impacts of early and late seral mycorrhizae during restoration in seasonal tropical forest, Mexico. *Ecological Applications* 13:1701–1717.
- Allen, M.F., E.B. Allen and A. Gomez-Pompa.** 2005. Effects of mycorrhizae and nontarget organisms on restoration of a seasonal tropical forest in Quintana Roo, Mexico: factors limiting tree establishment. *Restoration Ecology*, in press.
- Augé R.M.** 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis *Mycorrhiza*. 11, 3-42.
- Azcón-Aguilar C., Palenzuela J., Roldán A., Bautista S., Vallejo R., Barea J.M.** 2003. Análisis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology* 22, 29-37.
- Bâ A.M.; Plenchete C., Danthu P., Duponnois R., Guissou T.** 2000. Functional compatibility of two arbuscular mycorrhizae with thirteen fruit trees in Senegal. *Agroforestry Systems*. 50, 95-105.
- Bethlenfalvay G.J.** 1992. Mycorrhizae in the agricultural plant-soil system. *Symbiosis* 14, 413-425. I have deleted the sentence with this citation. You may wish to add it somewhere, or delete.
- Bremner J.M.** 1965. Total nitrogen. In: C.A. Black (Ed.), *Methods of soil analysis*. American Society of Agronomy. Madison. 1149-1178.
- Carvalho L.M., Correia P.M., Ryel R.J., Martins-Loução M.A.** 2003. Spatial variability of arbuscular mycorrhizal fungal spores in two natural plant communities. *Plant and Soil*. 251, 227-236.
- Castellano, M.A.** 1996. Outplanting performance of mycorrhizal inoculated seedling. In: K. Mukerji (Ed.), *Concepts in Mycorrhizal Research*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 223-301.
- Eissenstat D.M., Newman E.I.** 1990. Seedling establishment near large plants: effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on intensity of plant competition. *Functional Ecology* 4, 95-99.
- Eriksson O.** 1989. Seedling dynamics and life histories in clonal plants. *Oikos* 55, 231-238.
- Escalante, S., Montaña, C. & R. Orellana,** 2004. Demography and potential extractive use of the liana palm *Desmoncus orthacanthos* Martius (Arecaceae), in Southern Quintana Roo, México. *Forest Ecology and Management* 187:3-18.
- Estaún V., Savé R., Biel C.** 1997. AM inoculation as a biological tool to improve plant revegetation of a disturbed soil with *Rosmarinus officinalis* under semi-arid conditions. *Applied Soil Ecology* 6, 223-229
- Fischer C.R., Janos D.P., Perry D.A., Linderman R.G., Sollins P.** 1994. Mycorrhiza inoculum potentials in tropical secondary succession. *Biotropica* 26, 369-377.

- Fisher J.B., Jayachandran K.** 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance seedling growth in two endangered plant species from south Florida. *International Journal of Plant Science* 163, 559-566.
- Francis R., Read D.J.** 1994. The contribution of mycorrhizal fungi to the determination of plant community structure. *Plant and Soil* 159, 11-25
- Gange A.C., Brown V.K., Sinclair G.S.** 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: a determinant of plant community structure in early succession. *Functional Ecology* 7, 616-622
- Gianinazzi S., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson V.** 1989. Conceptual approaches for the rational use of VA endomycorrhizae in agriculture: possibilities and limitations. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 29, 153-161.
- Grime J.P., Mackey J.M., Hillier S.H., Read D.J.** 1987. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. *Nature* 328, 420-422.
- Guadarrama P., Álvarez-Sánchez J., Briones O.** 2004. Seedling growth of two pioneer tropical tree species in Competition: The role of arbuscular mycorrhizae. *Euphytica* 138, 113-121.
- Houba J., van deer Lee J., Novozamsky J., Walinga I.** 1988. Soil and plant analysis. Wageningen University. Wageningen.
- Jagpal R., Mukerji K.G.** 1991. VAM fungi in reforestation. In: McMichael B.L., Persson H. (Eds.), *Plant roots and their environment*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp 309-313.
- Janos, D.P.** 1980. Vesicular arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth. *Ecology* 61,151-162.
- Joner E.J.** 2000. The effect of long-term fertilization with organic or inorganic fertilizers on mycorrhiza-mediated phosphorus uptake in subterranean clover. *Biology and Fertility of Soils* 32, 435-440.
- Koide R.T., Li M.** 1989. Appropriate controls for vesicular-arbuscular mycorrhiza research. *New Phytologist* 111, 35-44.
- Kytoviita M.M., Vestberg M., Tuomi J.** 2003. A test of mutual aid in common mycorrhizal networks: established vegetation negates benefits in seedlings. *Ecology*, 84, 898-906.
- Lovera M., Cuenca G.** 1996. Arbuscular mycorrhizal infection in Cyperaceae and Gramineae from natural, disturbed and restored savannas in La Gran Sabana, Venezuela. *Mycorrhiza* 6,111-118.
- McGonigle T., Miller M.H., Evans D.G., Fairchild G.L., Swan J.A.** 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115,495-501.
- Mosse B., Hayman D.S.** 1980. Mycorrhiza in tropical plants. In: P. Mikola (Ed.), *Tropical Mycorrhiza research*. Clarendon Press Oxford, Oxford, pp 213-230.
- Mukerji, K.G., Jagpal R., Bali M., Rani R.** 1991. The importance of mycorrhiza for roots. In: McMichael B.L., Persson H. (Eds.), *Plant roots and their environment*, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp 290-308.
- Olsen S.R., Dean L.A.** 1965. Phosphorus. In: Black C.A. (Ed.), *Methods of soil analysis*. American Society of Agronomy, Madison, pp 1035-1049.

- Pearson, J. N., and I. Jakobsen.** 1993. The relative contribution of hyphae and roots to phosphorus uptake by arbuscular mycorrhizal plants, measured by dual labelling with phosphorus-32 and phosphorus-33. *New Phytologist* 124, 489–494.
- Pedersen C., Sylvia D.M.** 1996. Mycorrhiza: ecological implications of plant interactions. In: Mukerji K. (Ed.), *Concepts in Mycorrhizal Research*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 223-301.
- Phillips J., Hayman D.** 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Transactions of the Brithis Mycological Society* 55, 158-160.
- Porter W.M.** 1979. The “most probable number” method for ennumerating infective propagules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Australian Journal of Soil Research* 17, 515-519.
- Simard S.W. and Durall D.M.** 2004. Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. *Canadian Journal of Botany*. 82, 1140-1165.
- Siqueira J.O., Saggin-Júnior O.J.** 2001. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. *Mycorrhiza*. 11, 245-255.
- Solaiman M.Z., Abbott L.K.** 2003. Phosphorus uptake by a community of arbuscular mycorrhizal fungi in jarrah forest. *Plant and Soil*. 248, 313-320.
- St. John T.V., Coleman D.C.** 1983. The role of mycorrhizae in plant ecology. *Canadian Journal of Botany* 61, 1005-1014.
- Varma, A.** 1995. Ecophysiology and application of arbuscular mycorrhizal fungi in arid soils. In: Varma A., Hock B. (Eds.), *Mycorrhiza*. Springer-Verlag, Berlin, pp 561-591.
- van der Heijden, M.G.A., J.N. Klironomos, M. Ursic, P. Moutoglis, T. Streitwolf-Engel, T. Boller, A. Iemken, Sanders I.R.** 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69–72.
- Whitbeck J.L.** 2001. Effects of light environment on vesicular-arbuscular mycorrhiza development in *Inga leiocalycina*, a tropical wet forest tree. *Biotropica*. 33, 303-311.
- Zar J.** 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall Inc., New York.
- Zobel M., Moora M., Haukioja E.** 1997. Plant coexistence in the interactive environment: arbuscular mycorrhiza should not be out of mind. *Oikos* 78, 202-208.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES

El estudio de la asociación micorrízica en las palmeras ha sido muy escaso, lo cual puede deberse a dos aspectos generales en la fisiología de la familia: el tipo de raíces que presenta hace difícil el proceso de colecta y tinción para la observación de las estructuras fúngicas. De manera muy particular para la especie de este estudio, se presenta la dificultad para obtener plántulas germinadas en vivero, ya que sus semillas tienen una viabilidad corta, la cual también se observa en el campo, en donde la densidad de plántulas es muy baja, dominando los individuos que se generan de los rebrotes.

La asociación micorrízica arbuscular en raíces de *D. orthacanthos* muestra una dinámica estacional, la cual se relaciona principalmente con los procesos de producción de raíces y de reproducción.

No se encontró una variación espacial en los valores de colonización y número de esporas entre los sitios evaluados de milpa abandonada y selva madura. Aparentemente la comunidad de HMA del suelo de la milpa abandonada se ha recuperado de la perturbación.

No se observó una coincidencia entre los picos de colonización de las raíces de *D. orthacanthos* y los valores más elevados de densidad de esporas en la rizósfera.

En todas las etapas de crecimiento de *D. orthacanthos* evaluadas en el campo se encontró que sus raíces presentaban asociación con HMA, lo cual puede significar la importancia de esta para el crecimiento de esta palma.

El número de propágulos de HMA en el suelo mostró una variación estacional en la milpa abandonada, sin embargo no se correlaciona con la humedad del suelo ni con la densidad de esporas.

En el suelo de la selva madura existe una sucesión de fuentes de propágulos de HMA. La perturbación o quizás el proceso de recuperación y de establecimiento de nueva vegetación en la milpa abandonada, parece haber afectado de manera positiva la densidad de propágulos de HMA en el suelo de ese sitio.

Los factores de inoculación con HMA y concentración de fósforo en el substrato en las pruebas de invernadero juegan un papel importante en el crecimiento de las plántulas de *D. orthacanthos*, la ausencia de interacción entre el nivel de fósforo y la inoculación con HMA, sugiere que el análisis debe involucra a ambos componentes de la asociación, así como las condiciones del ambiente.

Los valores de dependencia calculados para *D. orthacanthos* demuestran la importancia que la asociación de sus raíces con HMA juega en el crecimiento de las plántulas, al menos en las condiciones de invernadero.

El establecimiento en el campo de plántulas de *D. orthacanthos* fue favorecido por la inoculación con HMA. El efecto observado de la inoculación con HMA sugiere que debe emplearse la inoculación de plántulas de *D. orthacanthos* desarrolladas en viveros, en programas de manejo en los se desee elevar las tasa de establecimiento y supervivencia en el campo.

A pesar de que la permanencia de *D. orthacanthos* en las selvas por medio de rebrotes generados de los rizomas parece ser una estrategia exitosa, la asociación micorrízica en las raíces de esta especie también juega un papel importante. Los programas de manejo y conservación de esta palmera deben considerar este componente como fundamental en el éxito para el establecimiento de plantaciones experimentales. Sin embargo se debe evaluar el potencial de inóculo de los suelos donde se pretenda establecer las plantaciones, antes de decidir si es necesario realizar la inoculación en vivero.