

PROPAGACIÓN Y MICORRIZACIÓN DE PLANTAS NATIVAS CON POTENCIAL PARA RESTAURACIÓN DE SUELOS

PROPAGATION AND MYCORRHIZATION OF NATIVE PLANTS WITH SOIL RESTORATION POTENTIAL

Laura Hernández-Cuevas¹, Vidal Guerra-De la Cruz², Guadalupe Santiago-Martínez¹
y Porfirio Cuatlal-Cuahutencos¹

RESUMEN

Se presentan los resultados obtenidos al propagar e inocular con hongos micorrizógenos arbusculares a *Amelanchier denticulata* (tlaxistle) y *Eysenhardtia polystachya* (palo dulce), plantas nativas de América, que forman micorriza arbuscular y crecen en México sobre suelos someros y con escasez de nutrientes. La propagación se hizo a partir de semillas, en vermiculita y turba mezcla (2:1). La mitad de las plantas de cada especie se inoculó con una mezcla de tres cepas de hongos micorrizógenos arbusculares aisladas de suelos de Tlaxcala: *Glomus claroideum*, *Acaulospora laevis* y *A. morrowiae*. El tlaxistle y el palo dulce alcanzaron valores por arriba del 40% de germinación y del 80% de supervivencia al trasplante. Aunque, los porcentajes de colonización micorrizica fueron bajos en los dos casos, menores al 10% para palo dulce y al 20% para tlaxistle, los individuos micorrizados mostraron las mejores respuestas en diámetro, altura, biomasa aérea ($p < 0.001$) y contenido de fósforo. También se analizan algunas variables indicadoras de calidad de planta en relación a la micorrización. Se concluye que la propagación a partir de semillas es una buena estrategia para la obtención de plantas de los dos taxa estudiados y que la micorrización favorece significativamente su desarrollo inicial, ya que mejora sus rasgos de crecimiento, lo que es crítico para las plantas que serán destinadas al campo en programas de restauración.

Palabras clave: *Acaulospora laevis* Gerdemann et Trape, *Acaulospora morrowae* Spain et Schenk, *Amelanchier denticulata* (Kunth) W. D. J. Koch, *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg., *Glomus claroideum* Schenk et Smith, hongos micorrizógenos arbusculares.

ABSTRACT

The results of propagation and inoculation with arbuscular mycorrhiza of *Amelanchier denticulata* ("tlaxistle") and *Eysenhardtia polystachya* ("palo dulce"), American native plants, which form arbuscular mycorrhiza and commonly grow in Mexico on shallow and nutrient-poor soils are described. Seeds of both species were collected from wild populations in Tlaxcala, and germinated in a vermiculite-peat moss (2:1) mixture. One half of the plants for each species was inoculated with a mix of three arbuscular mycorrhizal strains isolated from Tlaxcala soils: *Glomus claroideum*, *Acaulospora laevis* and *A. morrowiae*. Both plant species showed a good response to propagation with over 40% of germination and 80% of transplantation survival. Mycorrhization was low in both species, less than 10% in sweet stick and less than 20% in "tlaxistle"; however, basal diameter, total height, aerial biomass, and Phosphorus content in mycorrhized plants revealed significant differences ($p < 0.001$) compared to those of non-mycorrhized plants. Other plant quality indicators were also analyzed as related to mycorrhization. It was concluded that propagation from seeds is an appropriated way to obtain seedlings of these two species, and mycorrhization significantly improves development of favorable traits on plants in early stages, keeping good rates of survival and plant growth, which are critical for plants to be used in restoration programs.

Key words: *Acaulospora laevis* Gerdemann et Trape, *Acaulospora morrowae* Spain et Schenk, *Amelanchier denticulata* (Kunth) W. D. J. Koch, *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg., *Glomus claroideum* Schenk et Smith, arbuscular mycorrhizal fungi.

Fecha de recepción: 3 de diciembre de 2009.

Fecha de aceptación: 17 de agosto de 2011.

¹Laboratorio de Micorrizas, CICB, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

²Sitio Experimental Tlaxcala-CIRCE-INIFAP. Correo-e: guerra.vidal@inifap.gob.mx

INTRODUCCIÓN

Se estima que más del 70% de la superficie de la república mexicana está ocupada por diferentes tipos de vegetación, que incluyen bosques templados, tropicales y de zonas áridas (Challenger y Soberón, 2008). No obstante, gran parte ella ha disminuido, o al menos, está deteriorada por diversos factores de origen humano y natural; por ejemplo: la tala desmedida, los incendios forestales, la sobreexplotación de algunas especies útiles y el desmonte para fines agropecuarios, entre otros, los cuales ponen en riesgo el patrimonio biológico que representa la cubierta forestal (Challenger *et al.*, 2009).

La pérdida de los bosques ocasiona áreas degradadas, en las que la posibilidad de ocurrencia de procesos erosivos graves aumenta, por la formación geológica de los suelos. Estos fenómenos adquieren particular relevancia en la zona denominada Eje Volcánico Transversal, cuyos suelos de origen volcánico y con alto contenido de sílice, cuando quedan descubiertos se compactan fuertemente y se propicia la aparición de duripanes o tepetates, que se caracterizan por su gran dureza y porque sus nutrimentos son escasos o se están en formas químicas poco o no disponibles (Werner, 1992).

Las características de los tepetates hacen que el establecimiento de la vegetación natural sea muy difícil y, en algunos casos, prácticamente imposible. En la región geográfica mencionada, el riesgo de pérdida de la cubierta vegetal es mayor por la gran presión demográfica y su consecuente demanda de espacios y recursos, lo cual ha propiciado el cambio de uso del suelo y un incremento importante en la frecuencia y magnitud de los procesos erosivos (Haulon *et al.*, 2005).

Una manera de recuperar los ecosistemas dañados es a través de prácticas de reforestación y restauración que incluyen coníferas y latifoliadas, principalmente de los géneros *Pinus* y *Quercus* (PRONARE, 2000). En las últimas décadas se ha propuesto el uso de especies menos convencionales, pero con potencial de adaptación a condiciones edafoclimáticas extremas, entre las que destacan las plantas nativas o autóctonas (Montaño y Monroy, 2000; Rondón y Vidal, 2005). En procesos de restauración son importantes las que brindan ventajas adicionales, como el enriquecimiento del suelo con algunos minerales esenciales; por ejemplo el nitrógeno (Ferrari y Wall, 2004; Bashan *et al.*, 2005) favorece el establecimiento y desarrollo de comunidades microbianas diversas, cuya participación es relevante en el ciclo de nutrientes (García-Oliva, 2005).

Eysenhardtia polystachya (Ortega) Sarg. (palo dulce) y *Amelanchier denticulata* (Kunth) W. D. J. Koch (tlaxistle) crecen de manera natural en amplias regiones geográficas del país y soportan características ambientales difíciles (Morfín y Camacho, 1987; Terrones *et al.*, 2007), por lo que desde el

INTRODUCTION

An estimation of the total area of Mexico indicates that 70% is covered by different types of vegetation that include temperate or mild-weather forests, tropical forests and arid zones (Challenger and Soberón, 2008). Nevertheless, great part of it has been reduced, or at least, disturbed, by several factors of human or natural origin; for example: unlimited felling, forest fires, overexploitation of some useful plants and removal of forests for agricultural endings, among others, which put at risk the biological heritage that the forest cover means (Challenger *et al.*, 2009).

The loss of forests provokes degraded areas, in which the possibility of having intense erosion becomes greater, from the geological composition of soils. These phenomena are particularly relevant in the Transverse Volcano Axis, where soils of volcanic formation and with high silica content prevail, which, when they are strongly compacted, duripans appear; they are known by their hardness and scarce nutriments or that are in hardly available chemical forms (Werner, 1992).

The characteristics of duripans make the establishment of natural vegetation very difficult, in some cases, almost impossible. In the formerly mentioned geographic region, the risk of losing the vegetal cover is even greater because of the demographic pressure, and its resulting demand for spaces and resources, which has favored land-use change and an important increment of the frequency and dimension of erosive processes (Haulon *et al.*, 2005).

One way to recover the damaged ecosystems is by reforestation and restoration that include hardwoods and softwoods, mainly *Pinus* and *Quercus* (PRONARE, 2000). In the last decades the use of less conventional species has been proposed, but with adaptive potential to extreme edaphological and climatic conditions, among which are native plants (Montaño and Monroy, 2000; Rondón and Vidal, 2005). Those which provide additional advantages are important in restoration processes, such as soil improvement with essential minerals like nitrogen (Ferrari and Wall, 2004; Bashan *et al.*, 2005), that favors the establishment and development of microbe communities, whose role is relevant in the nutrient cycle (García-Oliva, 2005).

Eysenhardtia polystachya (Ortega) Sarg. ("palo dulce") and *Amelanchier denticulata* (Kunth) W. D. J. Koch ("tlaxistle") naturally grow in large geographic regions of Mexico and they resist stressing environments (Morfín and Camacho, 1987; Terrones *et al.*, 2007); thus, they have been recommended as suitable for the restoration of damaged zones since last century (Flores and Lindig-Cisneros, 2005). *A. denticulata* y *E. polystachya* form arbuscular mycorrhiza (Varela, 2000), and, under particular conditions, the second one can link in a symbiotic association with nitrogen fixing bacteria. These characteristics promote

siglo pasado se han recomendado como apropiadas para la recuperación de algunas zonas deterioradas de México (Flores y Lindig-Cisneros, 2005). *A. denticulata* y *E. polystachya* forman micorriza arbuscular (Varela, 2000), y bajo ciertas condiciones la segunda puede asociarse simbióticamente con bacterias fijadoras de nitrógeno. Estas características promueven el desarrollo vegetal y el enriquecimiento de los suelos, de tal forma que, se sugiere el uso de ambas especies en programas de manejo y restauración ecológica (Morfin y Camacho, 1987; González y Camacho, 2000; Terrones *et al.*, 2007).

A pesar de lo antes expuesto, se ha dado poca atención a su estudio, ya que solo para *E. polystachya* existe información sobre su propagación (González y Camacho, 2000), su adaptabilidad a la sequía (González y Cantú, 2001) y su utilización como elemento funcional en sistemas agroforestales (Magdaleno *et al.*, 2005; Terrones *et al.*, 2007). Así mismo, se ha documentado que la colonización micorrízica extensiva en sus raíces y el micelio extrarradical favorecen la formación de agregados y a la estructura del suelo en terrenos tepetatosos (Crisóstomo *et al.*, 1991). Terrones *et al.* (2007) consignan el potencial de adaptación de *A. denticulata*, pero se desconocen datos sobre su germinación, propagación o de su micorrización en condiciones controladas.

Con base en lo anterior, los objetivos de este trabajo fueron: evaluar la respuesta germinativa de las semillas de *E. polystachya* y *A. denticulata*, determinar la supervivencia de las plántulas y el efecto de inocularlas con hongos micorrizógenos arbusculares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especies vegetales

Se recolectaron frutos de *Eysenhardtia polystachya* (Fabaceae) y *Amelanchier denticulata* (Rosaceae) entre septiembre y noviembre de 2005, en el Cerro Tepeticpac, municipio Totolac, Tlaxcala. Esta topografía se sitúa entre los 19° 20' y 19° 21' de latitud norte y los 98° 13' y 98° 14' de longitud oeste, a una altitud de 2,300 a 2,520 m y cuenta con poblaciones silvestres abundantes de los dos taxa. Los frutos del tlaxistle se descarnaron para extraer las semillas, las cuales se lavaron con agua destilada y secaron a 60°C en un horno de convección digital BINDER BD53L por 24 h. Para palo dulce fue suficiente el secado de las vainas por el mismo tiempo a igual temperatura para facilitar su apertura. En ambos casos las semillas se colocaron en una solución de Tween 20 al 2% durante 4 minutos, para romper la tensión superficial; se enjuagaron con agua destilada estéril por 10 minutos, finalmente se dejaron en hipoclorito de sodio al 5%, durante 30 minutos y se enjuagaron tres veces.

vegetal development and soil enrichment in such a way that the use of both species has been suggested for management and ecologic restoration programs (Morfin and Camacho, 1987; González and Camacho, 2000; Terrones *et al.*, 2007).

In spite of what has been formerly described, little attention has been given to a broader study, as for *E. polystachya* there is only information about its propagation (González and Camacho, 2000), its adaptability to drought (González and Cantú, 2001) and its use as a functional component in agroforestry systems (Magdaleno *et al.*, 2005; Terrones *et al.*, 2007). It has been documented too that the extensive mycorrhizal colonization in their roots and the extra-root mycelium favor the production of added formations and to soil structure in duripans (Crisóstomo *et al.*, 1991). Terrones *et al.* (2007) reported on the adaptation potential of *A. denticulata*, but data about their germination, propagation or its mycorrhization under experimental conditions are unknown.

Based on what has been recounted above, the objectives of this work consisted on the assessment of the germination response of *E. polystachya* and *A. denticulata* seeds, to determine the survival of seedlings and the effect of their inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi.

MATERIALS AND METHODS

Vegetal species

Fruits of *Eysenhardtia polystachya* (Fabaceae) and *Amelanchier denticulata* (Rosaceae) were collected between September and November 2005, in Tepeticpac hill, Totolac municipio, Tlaxcala State. It is located between 19° 20' and 19° 21' north and 98° 13' and 98° 14' west, at 2,300 to 2,520 masl and has abundant wild populations of both taxa. "tlaxistle" fruits were fleshed to take out the seeds, which were washed with distilled water and dried at 60°C in a BINDER BD53L oven for 24 h. For "palo dulce" the drying of pods at the same period and temperature was enough to favor their opening. In both cases, seeds were placed in a 2% Tween solution for 4 min, in order to break superficial tension; they were rinsed with sterile distilled water for 10 min and finally were left in 5% sodium hypochlorite for 30 min and were rinsed thrice.

Germination

A first germination test was carried out in three 20 x 12 cm trays disinfected by 5% sodium hypochlorite with a vermiculite: peat-moss (2:1, v:v) sterilized pressured mix at 15 lb for 1 h by a model and mark ARA T 6000W50L, with 24 h rest. In each

Germinación

Se realizó una primera prueba de germinación en tres charolas de 20 x 12 cm desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5%, con una mezcla de vermiculita: turba (2:1, v:v) esterilizada ARA T 6000W50L a 15 lb de presión por una hora, con 24 horas de reposo. En cada charola se colocaron 100 semillas, para un total de 300 por especie. Con base en los resultados obtenidos en esta prueba se procedió a la propagación masiva en germinadores de unicel de 288 y 242 cavidades para tlaxistle y palo dulce, respectivamente. De acuerdo con la disponibilidad, se colocaron 1,440 semillas de la primera especie y 4,840 de la segunda. En la mezcla estéril de vermiculita:turba, se sembraron las semillas y regaron a capacidad de campo con agua destilada. Los germinadores se cubrieron con plástico adherente, para conservar la humedad, hasta la emergencia de las plántulas, en promedio 15 días para palo dulce y 10 para tlaxistle. El ensayo se mantuvo en invernadero 30 días a 25°C, posteriormente se trasplantaron.

Trasplante

El tipo de contenedor se selecciona considerando la morfología radical de las plantas. Así, para tlaxistle, que presenta crecimiento monopodial, se utilizaron tubetes forestales de 12 x 4 cm, mientras que para Palo dulce, cuya raíz es polipodial ramificada, se usaron macetas semicúbicas de 5.8 x 5.2 cm. Los dos tipos de envase se desinfectaron, previamente, con hipoclorito de sodio al 5% y se enjuagaron con abundante agua destilada. En un sustrato estéril de vermiculita: turba (2:1, v:v) se trasplantaron 982 plantas de tlaxistle y 3,068 de palo dulce. La supervivencia, después del trasplante, se evaluó por conteo directo cada dos días, hasta el día 31 en Palo dulce y día 36 para tlaxistle. Al concluir esta etapa las plantas se inocularon con los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA).

Inóculos micorrízicos

La mitad de las plantas de palo dulce (1,534) y de tlaxistle (491) se inocularon 31 días después del trasplante con una mezcla de esporas de tres especies de HMA, de acuerdo a la propuesta de Hernández-Cuevas y García-Sánchez (2008), quienes indican emplear una mezcla de 20 esporas de *Glomus claroideum* Schenk et Smith, 20 de *Acaulospora laevis* Gerdemann et Trape y 20 de *A. morrowiae* Spain et Schenk, es decir, un total de 60 esporas por planta. El resto de las plantas no se inocularon. Las cepas de HMA pertenecen a la colección de cultivos puros de hongos micorrizógenos arbusculares del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, y fueron aisladas originalmente de tepetates recolectados en el municipio de Hueyotlipán, Tlaxcala.

tray, 100 seeds were placed, which added up to 300 for each species. From the results of this test, a massive propagation was made with 288 pot unicel germinators for "tlaxistle" and 242 for "palo dulce". In regard to availability, 1,440 "tlaxistle" seeds and 4,840 "palo dulce" seeds were put into the sterile vermiculite: peat mix and were watered at field capacity with distilled water. Germinators were covered with adhesive plastic to preserve moisture up to seedling emergence an average period of 15 days for "palo dulce" and 10 for "tlaxistle". The bioassay was kept in the greenhouse for 30 days at 25°C; it was transplanted afterwards.

Transplanting

The type of container is chosen in regard to the root morphology of plants. Thus, for "tlaxistle" that has a monopodium structure, 4 x 4 cm forest tubetes were used, while for "palo dulce", that has a branched polypodium root were used 5.8 x 5.2 cm semi-cubic pots. Both types of containers were previously disinfected with 5% sodium hypochlorite and were rinsed with abundant distilled water. In a sterile vermiculite: peat-moss (2:1, v:v) substrate, 982 "tlaxistle" and 3,068 "palo dulce" plants were transplanted. After this operation, survival was assessed by direct counting every 2 days up to 31 for "palo dulce" and 36 for "tlaxistle". When this stage was concluded, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) were inoculated.

Mycorrhizal inocula

31 days after they were transplanted, half of "palo dulce" (1,534) and "tlaxistle" (491) plants were inoculated with the spores of a three AMF mixture, according to what Hernández-Cuevas and García-Sánchez (2008) suggested, as they mixed 20 *Glomus claroideum* Schenk et Smith spores, 20 *Acaulospora laevis* Gerdemann et Trape spores and 20 *A. morrowiae* Spain et Schenk spores, that is, a total number of 60 spores per plant. The rest of the plants were not inoculated. The AMF strains belonged to the pure arbuscular mycorrhizal fungi collection of the Biological Science Research Center of Tlaxcala University and were originally isolated from duripans collected at Hueyotlipán municipio, Tlaxcala State.

Plants were kept in the greenhouse at 26°C, with field capacity watering every 72 h for 120 days. Basal diameter and height were measured on 100 plants of each species taken at random; 10 of them were used to get biomass data of the aerial and root parts. In addition, the total amount of phosphorous (P) and nitrogen (N) were determined in 15 examples of every taxon from the aerial part, based upon the methods proposed for the NMX-Y-025-1981 and NMX-F-608-NORMEX02 Mexican regulations, respectively (AOAC 2010a; AOC 2010b). By using the roots, the mycorrhizal colonization per cent was found, according to the Hernández-Cuevas et al. (2008) procedure. The aerial

Las plantas se mantuvieron en invernadero a 26°C, con riego a capacidad de campo cada 72 horas, durante 120 días. El diámetro basal y la altura se midieron en 100 plantas de cada especie tomadas al azar, de ellas 10 se utilizaron para obtener los datos de biomasa de las partes aérea y radical. Adicionalmente, en 15 plantas de cada taxón se determinó el contenido total de fósforo (P) y nitrógeno (N) en la parte aérea, con base en los métodos propuestos bajo las normas mexicanas NMX-Y-025-1981 y NMX-F-608-NORMEX02, respectivamente (AOAC 2010a; AOC 2010b). Con las raíces se evaluaron los porcentajes de colonización micorrízica, siguiendo el procedimiento descrito por Hernández-Cuevas *et al.* (2008). Se calcularon la relación biomasa aérea / biomasa radical y el índice de esbeltez, este último resulta del cociente de la altura entre el diámetro (Rodríguez, 2008). Las variables anteriores se analizaron mediante una prueba de *t-student* para muestras independientes, en la que se compararon plantas micorrizadas contra no micorrizadas en el programa de análisis estadístico SPSS® (SPSS, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La germinación por especie finalizó a los 30 días de la siembra y su evaluación se realizó al término de dicho periodo (Cuadro 1). Los porcentajes registrados en la literatura para *Eysenhardtia polystachya* son muy variables, desde 28 hasta 85% (González y Camacho, 2000), por lo que la cifra obtenida en el presente trabajo (46%) se considera aceptable, pues es un valor intermedio. Cervantes y Sotelo (2002) indicaron que dicho comportamiento de los números puede responder a la procedencia de la semilla.

Cuadro 1. Respuesta de *Amelanchier denticulata* y *Eysenhardtia polystachya* a la prueba de germinación.
Table 1. Response of *Amelanchier denticulata* and *Eysenhardtia polystachya* to the germination test.

Día ¹	<i>A. denticulata</i>		Día ¹	<i>E. polystachya</i>	
	No. plántulas	Germinación (%)		No. plántulas	Germinación (%)
12	0	0	2	0	0
15	27	9	5	0	0
17	53	17.66	7	0	0
18	27	9	13	42	14
23	21	7	15	46	15.33
25	2	0.66	19	34	11.33
29	1	0.33	23	13	4.33
31	0	0	26	4	1.33
Total	131	43.66	Total	139	46.33

¹ El número de días fue variable, en función de la respuesta de cada planta.

¹ The number of days varied according to the response of each plant.

biomass / root biomass relation and the slenderness index, which results from dividing height by diameter (Rodríguez, 2008) were calculated. The former variables were analyzed by a Student *t* test for independent samples, in which the mycorrhized plants are compared to non-mycorrhized plants by the statistical analysis SPSS® program (SPSS, 1999).

RESULTS AND DISCUSSION

The germination of species ended 30 days after sowing, when the assessment was made (Table 1). The per cent found in literature for *Eysenhardtia polystachya* germination varies very much, from 28 to 85% (González and Camacho, 2000), which means that the result obtained in the actual study (46%) is admissible as it is an in-between value. Cervantes and Sotelo (2002) pointed out that such number behavior might be related to the provenance of seeds.

Amelanchier denticulata registered a slightly lower per cent (43%) which is hard to grade since, as formerly said, there are no published data about this issue. However, it has been stated for a closer species, *Amelanchier alnifolia* (Nutt.) Nutt. ex M. Roem. a germination per cent from 7 to 67, and the explanation for such difference is focused on seed provenance (Acharya *et al.*, 1989), as well.

Survival previous to transplanting and before inoculation was of 97% for "tlaxistle" and of 83% for "Palo dulce" (Table 2), which are rather good as transplanting is a critical stage for plants at the nursery.

El tlaxistle registró un porcentaje ligeramente menor (43%), el cual es difícil calificar dado que, como ya se señaló, no existen datos documentados sobre el particular, pero de una cercana, *Amelanchier alnifolia* (Nutt.) Nutt. ex M. Roem., se han citado valores de germinación del 7 al 67%, indicándose que dicha variación es atribuible al origen de la semilla (Acharya *et al.*, 1989), tal como se cita para palo dulce.

La supervivencia al trasplante, previa a la inoculación, fue de 97% para tlaxistle y de 83% para palo dulce (Cuadro 2), cifras que se consideran bastante buenas ya que el trasplante es normalmente una fase crítica para las plantas en vivero.

González and Camacho (2000) found a high mortality in "palo dulce" seedlings, which is rather contrasting with the survival per cent observed in this study, that are very high and are explained by the vermiculite: peat-moss mixture, which, in the used proportion, allows to keep a pH very close to neutrality (6.2) and that pasteurization prevented the development of harmful microorganisms that critically reduce seedlings in initial stages.

In average, mycorrhization was higher (18%) in "tlaxistle" than in "palo dulce" (6%), even if the colonization number in both of them are rather low, less than 20% (Table 3). In different woody

Cuadro 2. Supervivencia de *Amelanchier denticulata* y *Eysendhartia polystachia* al trasplante.
Table 2. Survival of *Amelanchier denticulata* and *Eysendhartia polystachia* to transplanting.

Día	<i>A. denticulata</i>		Día	<i>E. polystachya</i>	
	No. Plántulas	Supervivencia (%)		No. plántulas	Supervivencia (%)
0	982	100	0	3068	100
2	973	99.08	2	3030	98.76
4	969	98.67	4	2999	97.75
6	969	98.67	6	2995	97.62
8	969	98.67	8	2920	95.17
10	967	98.47	11	2886	94.06
15	966	98.37	13	2851	92.92
17	966	98.37	15	2815	91.75
19	965	98.26	18	2782	90.67
22	964	98.16	19	2746	89.50
24	964	98.16	21	2711	88.36
26	962	97.96	23	2675	87.19
29	957	97.45	25	2640	86.04
31	953	97.04	27	2607	84.97
33	950	96.74	29	2573	83.86
36	949	96.63	31	2540	82.79

González y Camacho (2000) obtuvieron una alta mortalidad de plántulas de palo dulce, resultado que contrasta con los porcentajes de supervivencia observados en este estudio, que son muy altos, y se atribuyen a que la mezcla de vermiculita:turba, en la proporción utilizada, permite mantener un pH cercano al neutro (6.2) y a que la pasteurización impidió el desarrollo de microorganismos indeseables que diezman, de manera crítica, a las plántulas durante las etapas iniciales.

Leguminosae inoculated with AMF, 24% of colonization has been determined for *Acacia farnesiana* (L.) Willd. (Monroy-Ata *et al.*, 2007) and 54% for *Mimosa depauperata* Benth. (García-Sánchez *et al.*, 2008). Nevertheless, it is worth-noticing that in one same species colonization itself varies a lot; for example, in *Prosopis laevigata* (Willd.) M. C. Johnst. it may be from 3.5 up to 53% (Monroy-Ata *et al.*, 2007; García-Sánchez *et al.*, 2008), while *Cassia tomentosa* (Jacq.)

Con respecto a la micorrización, fue mayor en tlaxistle que en palo dulce, 18 y 6% en promedio, respectivamente; aunque los valores de colonización en ambos son relativamente bajos, menores a 20% (Cuadro 3). En otras leguminosas leñosas inoculadas con HMA se han determinado 24% de colonización, *Acacia farnesiana* (L.) Willd. (Monroy-Ata *et al.*, 2007) y 54% en *Mimosa depauperata* Benth. (García-Sánchez *et al.*, 2008). No obstante, es importante notar que en una misma especie la colonización es en general muy variable; por ejemplo, en *Prosopis laevigata* (Willd.) M. C. Johnston. es desde 3.5 hasta 53% (Monroy-Ata *et al.*, 2007; García-Sánchez *et al.*, 2008), mientras que en *Cassia tomentosa* (Jacq.) H. S. Irwin *et al.* Barneby, de 41 a 76% (García-Gallegos *et al.*, 2009). Entre los factores que pueden influir en los niveles de micorrización observados están la infectividad y especificidad de los HMA, así ejemplo, en *C. tomentosa* las diferencias en la colonización se asociaron con el origen de los inóculos de HMA probados (García-Gallegos *et al.*, 2009).

Dado que no existen datos previos para tlaxistle, es difícil calificar los valores de colonización registrados. En algunas rosáceas cultivadas del género *Prunus* se han consignado micorrizaciones desde menos del 10% hasta cerca del 80%, en función de las especies de hongos micorrizógenos utilizadas (Calvet *et al.*, 2004).

Como ya se indicó, los valores promedios de colonización fueron relativamente bajos; sin embargo se presentaron diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0.001$) en diámetro, altura y biomasa aérea entre plantas con y sin inoculación micorrizica; en biomasa radical solo hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre plantas micorrizadas y no micorrizadas de Palo dulce (Cuadro 4). Con base en el tiempo de crecimiento de las plantas, estos efectos son atribuibles a la micorrización, aún cuando los porcentajes de colonización son bajos. Los resultados reafirman lo establecido por Clark *et al.* (1999) referente a la ausencia de una relación directa entre la infectividad y la efectividad de los HMA.

Un buen desarrollo de las plantas en sus etapas iniciales de crecimiento les confiere ventajas adaptativas, ya que al ser más vigorosas y tener sistemas radicales bien conformados serán capaces de tolerar mejor el trasplante, tal como sucedió con palo dulce. Diversos autores han expresado que un aumento en la biomasa representa mayores probabilidades de establecimiento exitoso en campo (González-Monterrubio *et al.*, 2005; Monroy-Ata *et al.*, 2007; Estrada-Luna y Davies, 2008), lo cual es crítico para especies destinadas a programas de restauración (Ferrari y Wall, 2004; Rondon y Vidal, 2005).

Una relación eficiente entre biomasa aérea y biomasa radical (BA / BR) es un indicador de la condición de la planta, y por tanto, de sus posibilidades de supervivencia, sobre todo en ambientes con limitaciones de humedad

H. S. Irwin *et al.* Barneby has records from 41 to 76% (García-Gallegos *et al.*, 2009). Among the factors that might impact the observed mycorrhization levels are the ineffectiveness and the specificity of AMFs; so, in *C. tomentosa*, colonization differences were related to the provenance of the inocula of the tested AMFs (García-Gallegos *et al.*, 2009).

Since there are no previous data for "tlaxistle" it is difficult to grade the colonization values that were found. In some cultivated Rosaceae of the *Prunus* genus there are mycorrhizations under 10% and up to 80%, according to the mycorrhizal fungi that are used (Calvet *et al.*, 2004).

Cuadro 3. Respuesta a la colonización por HMA en *Amelanchier denticulata* y *Eysenhardtia polystachia* en condiciones de invernadero.

Table 3. *Amelanchier denticulata* and *Eysenhardtia polystachia* response to AMF colonization under nursery conditions.

Especie vegetal	Colonización (%)		
	valor mínimo	valor máximo	valor promedio ¹
<i>A. denticulata</i>	1.38	96.6	18.23
<i>E. polystachya</i>	0	19.44	6.14

¹ Calculado con base en 15 réplicas con 180 observaciones cada una.

¹ Calculus based on 15 replications with 180 observations each.

As formerly expresses, the average colonization values were rather low; however, there were highly significant statistical differences ($p < 0.001$) in terms of diameter, height and aerial biomass among plants with and without mycorrhizal inoculation; in root biomass there were only significant differences ($p < 0.05$) between "palo dulce" mycorrhized and not-mycorrhized plants (Table 4). Based upon growth time in plants, these effects are conferred to mycorrhization, even when colonization per cent values are low. Results confirm what Clark *et al.* (1999) refer about the absence of a direct relation between ineffectiveness and effectiveness of AMFs.

A good plant development at its initial growth stages brings adaptive advantages, as they become stronger and have root systems well formed, they are able better qualified to stand transplanting, as happened with "palo dulce". Several authors have expressed that biomass increment means more opportunities to accomplish a successful establishment in the field (González-Monterrubio *et al.*, 2005; Monroy-Ata *et al.*, 2007; Estrada-Luna y Davies, 2008), which is crucial for species destined to restoration programs (Ferrari and Wall, 2004; Rondon and Vidal, 2005).

An efficient relation between aerial and root biomass (AB / RB) is an indicator of the condition of the plant, and

(Rodríguez, 2008). En ninguna de las dos especies estudiadas hubo diferencia estadística entre individuos con y sin micorriza para dicha relación, pero es importante notar que en el caso del tlaxistle el valor es superior en las micorrizadas, es decir, presentaron menos raíces en proporción al follaje, lo que se reconoce como una característica poco deseable para plantas cuyo final serán sitios con problemas hídricos (Rodríguez, 2008), como los suelos degradados.

En contraste, palo dulce tuvo valores para BA / BR más bajos en el tratamiento con HMA (Cuadro 4) esto indica un mayor desarrollo del sistema radical en proporción al tejido fotosintético, en consecuencia más aptitud para condiciones de poca disponibilidad de agua. Rodríguez (2008) cita que independientemente del sistema de producción e incluso de la especie, una relación menor a uno, como el observado en palo dulce, sugiere una alta probabilidad de supervivencia en sitios secos, contrario a lo que se esperaría si la proporción fuese mayor a uno, como en tlaxistle.

Otro indicador de la calidad de planta que se usa con frecuencia es el Índice de Esbeltez, el cual se refiere a las posibilidades de resistencia de la planta a factores físicos como el viento, daño mecánico, sequía, etc. A medida que su valor disminuye, los individuos tienden a ser más aptos para soportar condiciones como las antes descritas (Rodríguez, 2008). En el presente estudio tampoco hubo diferencia estadística entre plantas micorrizadas y no micorrizadas de ambas especies, pero es evidente que los mejores (más bajos) índices se observaron en palo dulce, a diferencia del tlaxistle, cuyos valores más altos se asocian con ejemplares menos robustos y por tanto más susceptibles a las situaciones adversas del ambiente (Cuadro 4).

thus, of its survival possibilities, particularly in moisture-limiting environments (Rodríguez, 2008). There were non significant differences between individuals of any of both species with or without mycorrhization for such relation, but it is important to notice that in "tlaxistle" the value is higher in the first ones, that is, they showed less roots in regard to foliage, which is acknowledged as not very desirable characteristics whose final destination are places with water problems (Rodríguez, 2008), as degraded soils are.

In contrast, "palo dulce" had AB / RB lower in the AMF treatments (Table 4), which means that there is a greater development of the root system in regard to the photosynthetic tissue, and consequently, more aptitude for low-water availability. Rodríguez (2008) states that, apart from the production system and even of the species, a relation under one as observed in "palo dulce", suggests a high probability of survival in dry places, which is the contrary of what might be expected if the rate was over one, as in "tlaxistle". Cuadro 4. Valores medios de las variables de respuesta en *Amelanchier denticulata* y *Eysenhardtia polystachia* bajo dos condiciones: micorrizadas y no micorrizadas a los 120 días de la inoculación.

Another indicator of plant quality that is frequently used is slenderness index, which refers to the possibilities of resistance of the plant to physical factors such as wind, mechanical damage, drought, etc. As the value becomes smaller, individuals tend to be more apt to stand conditions as described (Rodríguez, 2008). In the present study there was no significant difference between mycorrhized and not mycorrhized plants of both species, but it is evident that the best indexes (the lowest) were observed in "palo dulce", in contrast to "tlaxistle" where the highest numbers are related to examples less sturdy and, thus, more susceptible to environmental adverse situations (Table 4).

Cuadro 4. Valores medios de las variables de respuesta en *Amelanchier denticulata* y *Eysenhardtia polystachia* bajo dos condiciones: micorrizadas y no micorrizadas a los 120 días de la inoculación.

Table 4. Mean values of the response variables of *Amelanchier denticulata* and *Eysenhardtia polystachia* under two conditions: 120 after its inoculation.

Especie vegetal		Diámetro (cm)	Altura (cm)	Biomasa aérea (g)	Biomasa radical (g)	Relación BA/BR	Índice de Esbeltez	P (%)	N (%)
<i>A. denticulata</i>	M	1.052**	9.170**	0.1484**	0.0672	2.205	8.82	0.07	0.94
	NM	0.744**	5.397**	0.0696**	0.0414	1.68	7.012	0.02	0.93
<i>E. polystachia</i>	M	2.114**	10.06**	0.1158*	0.2621**	0.441	3.706	0.07	1.23
	NM	1.497**	6.933**	0.0546*	0.0878**	0.622	4.328	0.04	2.67

M = Plantas micorrizadas; NM = Plantas no micorrizadas; BA = biomasa aérea; BR = biomasa radical; P = fósforo; N = nitrógeno

**Diferencias estadísticas altamente significativas. * Prueba de *t-student*, p < 0.001.

*Diferencias estadísticas significativas. Prueba de *t-student*, p < 0.05.

M = Mycorrhized plants ; NM = Not-mycorrhized plants; BA = Aerial biomass; BR = root biomass; P = phosphorous; N = nitrogen.

** Highly significant statistical differences (p<0.001) Student-t test

* Significant differences (p<0.05) Student-t test

Algo similar se observó en el contenido de fósforo (P) en la parte aérea, ya que las dos especies tuvieron registros más altos con la micorrización (Cuadro 4). El nitrógeno (N) fue superior en plantas de palo dulce sin inoculación, mientras que en tlaxistle, prácticamente, no hubo diferencia en esta variable. Lo anterior confirma el papel de las micorrizas arbusculares en el mejoramiento de la absorción de P, pero muy poco en la de N (Tarafdar y Panwar, 2008). La respuesta en Palo dulce refuerza la importancia de analizar con mayor detalle el papel de las bacterias fijadoras de nitrógeno que pueden asociarse con *E. polystachya*. No obstante, los resultados de los dos taxa son muy prometedores para fines de restauración, ya que en ambientes limitantes la captación de P juega un papel fundamental para su establecimiento y supervivencia en campo (Tarafdar y Panwar, 2008).

Por lo anterior, la inoculación de hongos micorrizógenos arbusculares en tlaxistle y palo dulce es recomendable, así como el estudio de otras especies de HMA, a fin de aumentar sus posibilidades de establecimiento y desarrollo, y en consecuencia, su uso en programas de restauración de suelos erosionados.

CONCLUSIONES

La propagación a partir de semilla en vermiculita y turba pasteurizadas es una buena alternativa para *A. denticulata* y *E. polystachya*, ya que muestran altos porcentajes de germinación y de supervivencia al trasplante.

Aún con porcentajes relativamente bajos de micorrización se obtuvieron mejoras significativas en el crecimiento inicial en diámetro y altura de *A. denticulata* y *E. polystachya*, lo cual puede conferirles ventajas importantes al momento del trasplante a campo.

AGRADECIMIENTOS

Los resultados de este trabajo forman parte del Proyecto "Uso de árboles y arbustos nativos micorrizados para la restauración de suelos degradados" financiado por Fondos Mixtos CONACYT-Gobierno del estado de Tlaxcala, clave FOMIX-TLAX 2004-C01-20.

REFERENCIAS

- Acharya, S. N., C. B. Chu and R. Hermesh. 1989. Effects of population, environment and their interaction on Saskatoon berry (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) seed germination. *Can J. Plant Sci.* 69: 277-284.
- Association of Official Agricultural Chemists AOAC. 2010a. Quinolinium molybdophosphate phosphorus (water soluble) in fertilizers. In: Horwitz, W. and G. W. Latimer Jr. (Eds.). Chapter 2. Association of Analytical Communities. Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, MD. USA, pp. 9.
- Association of Official Agricultural Chemists AOAC. 2010b. Foods protein digestibility. In: Horwitz, W. and G. W. Latimer Jr. (Eds.). Chapter 45. Association of Analytical Communities. Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, MD. USA, pp. 79-80.

Something similar was observed in the phosphorus (P) content in the aerial part, since both species had higher records with mycorrhization (Table 4). Nitrogen (N) was higher in "palo dulce" plants without inoculation while in "tlaxistle" there was almost no difference in this variable. This confirms the role of arbuscular mycorrhizas in improvement of the absorption of P, but very poor in N (Tarafdar and Panwar, 2008). The response of "palo dulce" reinforces the importance of analyzing, with a broader detail, the role of nitrogen fixing bacteria that can associate with *E. polystachya*. Nevertheless, the results of both taxa are very promising for restoration endings, since in limiting environments P collection plays a basic role for their establishment and survival in the field (Tarafdar and Panwar, 2008).

Thus, arbuscular mycorrhizal fungi inoculation in "tlaxistle" and "palo dulce" is advisable, as well as the study of different AMF species, in order to increase their possibilities of establishment and development, and consequently, their use in eroded soil restoration.

CONCLUSIONS

Propagation from seeds sown in a pasteurized vermiculite: peat-moss mixture is a good option for *A. denticulata* and *E. polystachya* as they show high germination and transplanting survival per cents.

Even with rather low mycorrhization per cents, there were significant improvements in the initial diametric and height growth of *A. denticulata* and *E. polystachya*, which might confer them important benefits when they are being transplanted to the field.

ACKNOWLEDGMENTS

The results of this work are part of the Project entitled "Uso de árboles y arbustos nativos micorrizados para la restauración de suelos degradados" (FOMIX-TLAX 2004-C01-20).

End of the English version

- Bashan, Y., M. E. Puento, B. Salazar, L. E. de Bashan, M. Bacilio, J. P. Hernández, L. A. Leyva, B. Romero, R. Villalpando y G. Bethlenfalvay. 2005. Reforestación de tierras erosionadas en el desierto: el papel de las bacterias promotoras de crecimiento en plantas y la materia orgánica. *Suelos Ecuat.* 35(1): 70-77.
- Calvet, C., V. Estaún, A. Camprubi, A. Hernández-Dorrego, J. Pinochet and M. A. Moreno. 2004. Aptitude for mycorrhizal root colonization in *Prunus* rootstocks. *Scientia Hort.* 100(1-4): 39-49.
- Cervantes S., M. A. y M. E. Sotelo. 2002. Guías técnicas para la propagación sexual de 10 especies latifoliadas de Selva Baja Caducifolia en el estado de Morelos. CIR-Centro, SAGARPA-INIFAP. Cuernavaca, Mor. México. 30 p.
- Challenger, A. y J. Soberón. 2008. Los ecosistemas terrestres. In: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Ed.). *Capital Natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. México, D. F. México, pp. 87-108.

- Challenger, A., R. Dirzo, J. C. López, E. Mendoza, A. Lira-Noriega e I. Cruz. 2009. Factores de cambio y estado de la biodiversidad. In: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Ed.). Capital Natural de México, Vol. II: Estado de conservación y tendencias de cambio. México, D. F. México. pp. 37-73.
- Clark, R. B., S. K. Zeto and R. W. Zobel. 1999. Arbuscular mycorrhizal fungal isolate effectiveness on growth and root colonization of *Panicum virgatum* in acidic soil. *Soil Biol. Biochem.* 31(13): 1757-1763.
- Crisóstomo, M. S., G. Gómez-Cruz, R. Ferrera-Cerrato, R. Quintero-Lizaola, y J. A. Santizo-Rincón. 1991. La influencia de los hongos endomicorrízicos V-A en la disponibilidad del fósforo en *Eysenhardtia polystachya*. In: Tovar S., J. L. y R. Quintero-Lizaola (Eds.) La investigación edafológica en México. Memorias XXIV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, Pachuca, Hgo. México, p. 108.
- Estrada-Luna, A. A. y F. T. Davies Jr. 2008. Estado nutricional y crecimiento de plantas micropropagadas de nopal (*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. "Reyna") colonizadas con tres cepas seleccionadas de endomicorrizas. In: Montaña-Arias, N. M., S. L. Camargo-Ricalde, R. García-Sánchez y A. Monroy-Ata (Eds.): Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. Mundi-Prensa S.A. de C.V., Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT, UAM-Iztapalapa. FES-Zaragoza-UNAM, México, D. F. México. pp. 203-215.
- Ferrari, A. E. y L. G. Wall. 2004. Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados. *Rev. Fac. Agron. La Plata* 105(2): 63-87.
- Flores O., M. H. y R. Lindig-Cisneros. 2005. La lista de nombres vulgares y botánicos de árboles y arbustos propicios para repoblar los bosques de la República de Fernando Altamirano y José Ramírez a más de 100 años de su publicación. *Rev. Mex. Biod.* 76: 11-35.
- García-Gallegos, E., G. Gómez, O. G. Vázquez y E. M. Zamora. 2009. Respuesta de *Cassia tomentosa* desarrollada en tepetate con inoculación micorrízica bajo condiciones de invernadero. *Revista UDO Agrícola* 9(4): 816-825.
- García-Oliva, F. 2005. Algunas bases del enfoque ecosistémico para restauración. In: Sánchez, O., E. Peters, R. Márquez-Huitzil, E. Vega, G. Portales, M. Valdez y D. Azuara (Eds.). Temas sobre restauración ecológica. SEMARNAT-INE-US. Fish and Wildlife Service-Unidos para la Conservación A.C., México, D. F. México. pp. 101-112.
- García-Sánchez, R., A. Monroy-Ata y E. Chimal. 2008. Hongos micorrizógenos arbusculares asociados a diferentes plantas y matorrales del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. In: Montaña-Arias, N. M., S. L. Camargo-Ricalde, R. García-Sánchez y A. Monroy-Ata (Eds.): Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. Mundi-Prensa S.A. de C.V., Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT, UAM-Iztapalapa. FES-Zaragoza-UNAM, México, D. F. México. pp. 123-136.
- González K., V. and F. Camacho M. 2000. Test on growing media for *Eysenhardtia polystachya*, a promising species for planting on degraded areas of Mexico. *Seed. Sci. Tech.* 28(2): 271-275.
- González R., H. e I. Cantú. 2001. Adaptación a la sequía de plantas arbustivas de matorral espinoso tamaulpeco. *Ciencia UANL* 4(4): 454-461.
- González-Monterrubio, C., A. Monroy-Ata, E. M. García-Amador y M. S. Orozco-Almanza. 2005. Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en el desarrollo de plántulas de *Opuntia streptacantha* Lem. sometidas a sequía, en condiciones de invernadero. *Rev. Esp. Ciencias Quím. Biol.* 8(1): 5-10.
- Haulon, M., G. Flores, A. Vera, G. Werner y G. Velásquez. 2005. Rehabilitación de tepetates y medición de erosión en Santiago Tlalpan. In: Flores, G., E. Fuentes, N. García, M. Haulon y A. Vera (Comps.). La edafología y la sostenibilidad. Guía de campo. XXIII Curso-Diplomado Internacional de Edafología "Nicolás Aguilera". Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlax. México. pp. 65-73.
- Hernández-Cuevas, L. y R. García-Sánchez. 2008. Propagación por esporas: el caso de las micorrizas arbusculares. In: Álvarez-Sánchez, J. y A. Monroy-Ata (Comps.): Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración. Las Prensas de Ciencias-UNAM, México, D. F. México. pp. 29-42.
- Hernández-Cuevas, L., P. Guadarrama-Chávez, I. Sánchez-Gallén y J. A. Ramos-Zapata. 2008. Micorriza arbuscular. Colonización intrarradical y extracción de esporas del suelo. In: Álvarez-Sánchez, J. y A. Monroy-Ata (Comps.). Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración. Las Prensas de Ciencias-UNAM, México, D. F. México. pp. 1-16.
- Magdaleno, M. L., E. García, J. I. Valdez-Hernández y V. De la Cruz. 2005. Evaluación del sistema agroforestal «árboles en terrenos de cultivo» en Vicente Guerrero, Tlaxcala, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 28 (3): 203-212.
- Monroy-Ata, A., J. Estevez, R. García-Sánchez y R. Ríos. 2007. Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 80 (Supl.): 49-57.
- Montaña, N. M. y A. Monroy. 2000. Alternativas para la conservación ecológica de suelos en zonas áridas y semiáridas de México. *Ciencia y Desarrollo* 154: 26-37.
- Morfín L., L. y F. Camacho M. 1987. El Palo dulce (*Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg.) una alternativa para la explotación forrajera de áreas tepetatasas. In: Ruíz, F. F. (Ed.). Uso y manejo de tepetates para el desarrollo rural. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Edo. de México. México. pp. 192-198.
- Programa Nacional de Reforestación PRONARE. 2000. Evaluación de la reforestación 1999 del Programa Nacional de Reforestación, SEMARNAP. México, D.F. México. s/p.
- Rodríguez T., D. A. 2008. Indicadores de Calidad de Planta Forestal. Universidad Autónoma Chapingo-Mundi-Prensa, S.A. de C.V., México, D. F. México. 156 p.
- Rondón, J. A. y R. Vidal. 2005. Establecimiento de la cubierta vegetal en áreas degradadas (principios y métodos). *Rev. For. Lat.* 38: 63-82.
- Statistical Package for the Social Sciences.SPSS 1999. Base 10.0. Applications Guide. SPSS Inc. Chicago, IL. USA. 426 p.
- Tarafdar, J. C. y J. Panwar. 2008. El papel de las micorrizas arbusculares en la nutrición por P en plantas de ambientes áridos y semiáridos. In: Montaña-Arias, N. M., S. L. Camargo-Ricalde, R. García-Sánchez y A. Monroy-Ata (Eds.): Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos. Mundi-Prensa S.A. de C.V., Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT, UAM-Iztapalapa. FES-Zaragoza-UNAM, México, D. F. México. pp. 41-53.
- Terrones, R. T. del R. L., H. García, M. A. Hernández y C. Mejía, 2007. Potencial agroforestal con arbustivas nativas. Folleto técnico 1. INIFAP-Campo Experimental Bajío. Celaya, Gto. México. 36 p.
- Varela, L. 2000. Estudio de la micorriza y hongos micorrizógenos en un matorral secundario establecido en el Cerro de Tepetitpac, Tlaxcala, México. Tesis de Doctorado, ENCB, IPN, México, D. F. México. 86 p.
- Werner, G. 1992. Suelos volcánicos endurecidos (tepetates) en el estado de Tlaxcala: distribución, rehabilitación, manejo y conservación. *Terra* 10: 318-331.