



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EN EL CULTIVO DE LECHUGA (*Lactuca sativa* L.) BAJO
DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO

TESIS

PRESENTA

ING. ERNESTO SERNA MATA

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

CON OPCIÓN TERMINAL EN EL ÁREA AGRÍCOLA

ASESOR DE TESIS

DR. RAÚL CÁRDENAS NAVARRO
DOCTOR EN AGRONOMÍA

CO-ASESORA DE TESIS

DRA. VILMA DEL CARMEN CASTELLANOS MORALES
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

MORELIA, MICHOACÁN. FEBRERO DE 2016.



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES

TESIS

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EN EL CULTIVO DE LECHUGA (*Lactuca sativa* L.) BAJO
DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO

QUE SOMETE EL **ING. ERNESTO SERNA MATA**
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRO EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
CON OPCIÓN TERMINAL EN EL ÁREA AGRÍCOLA

COMITÉ TUTELAR

DR. RAÚL CÁRDENAS NAVARRO

TUTOR

DRA. VILMA DEL CARMEN CASTELLANOS MORALES

Co-TUTORA

DRA. MARÍA LUISA ESPAÑA BOQUERA

ASESORA

DR. ALEJANDRO MARTÍNEZ PALACIOS

ASESOR

DR. LUIS LÓPEZ PÉREZ

ASESOR

MORELIA, MICHOACÁN. FEBRERO DE 2016.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) por la generación de espacios y oportunidades de superación con una diversidad de enfoques para los profesionistas.

Al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la UMSNH por la oportunidad de formación en sus planes de y programas de estudio.

A la Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez" de la UMSNH por las facilidades para tener una mejor preparación y poder formar estudiantes de licenciatura en Agronomía más competitivos.

Al Sindicato de Profesores de la Universidad Michoacana (SPUM) y a la Sección Agrobiología por las facilidades, comprensión y apoyos para realizar una formación posterior a la licenciatura.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico como becario para realizar Maestría en la modalidad Profesionalizante.

Al Dr. Raúl Cárdenas Navarro y la Dra. María Luisa España Boquera por la confianza, por permitirme formar parte de sus alumnos y poder participar en sus programas de formación.

A la Dra. Ana Tzitziki Chávez Bárcenas y al Dr. Pedro Antonio García Saucedo por las facilidades para la realización del trabajo de laboratorio y campo.

La MC. Nayda Luz Bravo por su gran apoyo en el desarrollo de toda la etapa de laboratorio.

A los compañeros Doreli, Ana Rosa, María Candelaria y Luis Fernando, por su colaboración y apoyo en distintas etapas del experimento.

DEDICATORIAS

A los CC. Cenobio Serna Rivera y Concepción Mata Ortíz por darme la vida, brindarme confianza y una oportunidad de tener mejores aspiraciones.

A la Ing. Rosalina Ríos Villanueva y Ernesto Raziel Serna Ríos por compartir esta agradable experiencia de alcanzar un peldaño más de formación profesional.

A la familia Serna Mata y familia Ríos Villanueva por permitir estar en sus espacios de vida.

A mis amigos que desde la licenciatura y durante este proceso han estado al pendiente de buscar la mejor oportunidad de formación y fortalecimiento profesional, somos un gran equipo.

Al H. Cuerpo Tutorial del IIAF: Dr. Raúl Cárdenas Navarro, Dra. Vilma del Carmen Castellanos Morales, Dra. María Luisa España Boquera, Dr. Luis López Pérez y Dr. Alejandro Ramírez Palacios, gracias por su apoyo y aportaciones.

A los profesores, laboratoristas, personal administrativo del IIAF y a los muy buenos compañeros que integraron la generación 2014-2016 (7ª generación), así como a los que forman parte de otros programas de Maestría y Doctorado.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	i
RESUMEN.....	iv
INTRODUCCIÓN.....	1
Generalidades del cultivo	1
Producción de lechuga.....	3
El nitrógeno en la lechuga.....	5
El fósforo en la lechuga.....	6
Los hongos micorrízicos arbusculares	7
Efecto en el fósforo y el nitrógeno	8
Justificación	11
OBJETIVOS	12
Objetivo general.....	12
Objetivos específicos	12
HIPÓTESIS	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
Ensayos 1 y 2	13
Objetivo	13
Producción de plántula para ensayos	13
Viabilidad del inóculo	14
Identificación de estructuras micorrízicas	15
Materiales.....	16
Diseño experimental y desarrollo del ensayo 1	17
Variables medidas en ensayo 1	17
Diseño experimental y desarrollo del ensayo 2.....	18
Variables medidas en ensayo 2	20
Análisis de datos	20
Ensayo 3.....	21
Objetivos	21
Materiales.....	21
Diseño experimental	23
Manejo.....	24

Variables a medidas en ensayo 3	26
Análisis de contenido nutrimental	27
Análisis de los datos	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
Ensayo 1	29
Ensayo 2	32
Ensayo 3	35
Contenido nutrimental.....	45
CONCLUSIONES	47
RECOMENDACIONES Y PERPECTIVAS.....	48
LITERATURA CITADA	49

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Contenido nutrimental de lechuga redonda de parte la comestible	2
2. Producción de lechuga en México por cada estado para el año 2014	4
3. Producción de lechuga en el estado de Michoacán por municipio para el año 2014	5
4. Material utilizado para tinción de raíz de lechuga con tinta-vinagre	16
5. Contenido del suelo antes de plantar lechuga en campo en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán	22
6. Contenido del agua de riego para lechuga en campo en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán	23
7. Tratamientos en el cultivo de lechuga inoculada y no inocuada con HMA y niveles de nitrógeno, en campo en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán	26
8. Comparación de medias de longitud de raíz, peso seco de raíz, peso fresco foliar y área foliar de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) a 21 días en invernadero, en Uruapan, Michoacán	30
9. Comparación de medias de longitud de raíz, peso fresco de raíz, peso seco de raíz peso, fresco foliar, peso seco foliar, área foliar y número de hojas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) a 28 días en invernadero, en Uruapan, Michoacán	31
10. Comparación de medias de longitud de raíz, peso fresco de raíz, peso seco de raíz, peso fresco foliar, peso seco foliar, área foliar y altura de planta de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) a 21 días en invernadero, en Uruapan, Michoacán	33
11. Comparación de medias de longitud de raíz, peso fresco de raíz, peso seco de raíz, peso fresco foliar, peso seco foliar, área foliar y altura de planta de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) a 28 días en invernadero, en Uruapan, Michoacán	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Presencia de <i>Rhizophagus intraradices</i> en raíces colonizadas	8
2. Planta de lechuga muestreada: Separación de parte aérea y raíz (A) y separación por tratamiento (B)	18
3. Inoculación con HMA en plántula: aplicación a la raíz de lechuga (A) y cubierta del inóculo (B)	18
4. Cosecha de planta de lechuga: planta lavada (A) y planta por tratamiento (B)	19
5. Identificación de estructuras micorrízicas: raíces de lechuga en porta objetos (A) y vesícula en raíz de lechuga (B)	20
6. Características de plantación de lechuga en campo en Santa Bárbara, Uruapan	23
7. Trasplante de lechuga (A) y plantas de lechuga con riego (B) en campo en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán	25
8. Primera fertilización con nitrógeno de plantas lechuga (A) y desarrollo de con riego (B) a campo abierto en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán	25
9. Muestreo de raíz de lechuga: previo al trasplante (A) y muestreo en campo posterior al trasplante (B)	26
10. Planta de lechuga muestreada para registro de peso fresco (A); y peso seco de parte aérea (B)	27
11. Comparación de medias de colonización de raíces de lechuga (<i>Lactuca de sativa</i> L.) con fuente y dosis de inóculo a 28 días en invernadero en Uruapan, Michoacán	29
12. Comparación de medias de colonización de raíces de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) con inóculo líquido a 21 y 28 días en invernadero en Uruapan, Michoacán	32
13. Comparación de medias de colonización de raíces de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo, a 60 días después del trasplante	35

14	Comparación de medias de colonización de raíces de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo a 74 días después del trasplante	36
15	Comparación de medias de peso seco de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo, a 60 días después del trasplante	37
16	Comparación de medias de peso seco de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo, a 74 días después del trasplante	38
17	Comparación de medias de peso fresco de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo, a 60 días después del trasplante	39
18	Comparación de medias de peso fresco de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo, a 74 días después del trasplante	40
19	Comparación de medias de área foliar en hojas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo, a 60 días después del trasplante	41
20	Comparación de medias de área foliar en hojas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo, a 74 días después del trasplante	42
21	Comparación de medias, medición de clorofila en hojas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo, a 60 días después del trasplante	43
22	Comparación de medias, medición de clorofila en hojas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo, a 74 días después del trasplante	44
23	Comparación de medias de contenido de fósforo en hojas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo a los 60 días después del trasplante	45
24	Comparación de medias de contenido de fósforo en hojas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) en campo a los 74 días después del trasplante	46

RESUMEN

El trabajo se realizó con plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cv Salinas tipo Iceberg (bola) inoculadas y no inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus intraradices*) y fertilizadas con cuatro niveles de nitrógeno. El objetivo fue determinar la contribución de los HMA en el crecimiento y el contenido nutrimental de plantas de lechuga fertilizadas con diferentes niveles nitrógeno. Para lo anterior se establecieron tres ensayos: el primero con dos fuentes de inóculo (sólido y líquido) y cinco dosis de propágulos de HMA, el segundo con la fuente de inóculo líquido y cuatro dosis de propágulos de HMA, ambos en invernadero y el tercero en campo en la localidad de Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán con planta previamente inoculada en invernadero. Las plantas establecidas en campo, fueron aporte de cuatro niveles de nitrógeno. Los resultados indicaron para el primer ensayo que la fuente de inóculo líquido favoreció mejor el desarrollo de la plantas de lechuga (raíz y parte aérea), en el segundo ensayo las plantas inoculadas con dosis de 50 y 100 propágulos por planta permiten mejor peso seco y fresco de planta de lechuga (raíz y parte aérea). En el tercer ensayo con diseño y análisis factorial presentó diferencias significativas la inoculación de HMA de mayor peso fresco y seco (parte aérea), área foliar y contenido de clorofila; no en las concentraciones de fósforo. Los niveles de nitrógeno aportado permitieron mejores características de planta en etapa de desarrollo y cosecha. La combinación de HMA y niveles de nitrógeno no presentaron diferencias significativas.

Palabras clave: *Rhizophagus intraradices*, colonización, nitrato de potasio, fertilización, fósforo.

ABSTRACT

The work was performed with lettuce plants (*Lactuca sativa* L.) cv Iceberg Salinas type (ball) inoculated and not inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (*Rhizophagus intraradices*) and fertilized with four levels of nitrogen. The objective was to determine the contribution of AMF on growth and nutrient content of lettuce plants fertilized with different nitrogen levels. The first two sources of inoculum (solid and liquid) and five doses of propagules of AMF, the second source of liquid inoculum and four doses of propagules of AMF, both in the greenhouse and the third, for the above three trials they were established field in the town of Santa Barbara, Uruapan, Michoacan plant previously inoculated in the greenhouse. Established plants in the field, were a contribution of four levels of nitrogen. The results showed for the first test that the source of liquid inoculum better favored the development of lettuce plants (roots and aerial part), in the second test plants inoculated with doses of 50 and 100 propagules per plant dry weight and allow better fresh lettuce plant (root and aerial part). In the third trial design and factorial analysis showed significant differences inoculation HMA larger fresh and dry weight (aerial part), leaf area and chlorophyll content; No phosphorus concentrations. Nitrogen levels allowed provided best features of plant development stage and harvesting. The combination of HMA and nitrogen levels were not significantly different.

Keywords: *Rhizophagus intraradices*, colonization, potassium nitrate, fertilization, fosforus.

INTRODUCCIÓN

La actividad agrícola es importante por la necesidad constante de contar con alimentos para la población humana. El cultivo de las hortalizas, como la lechuga, participa con incrementos de producción debidos a su consumo y popularidad.

La lechuga es una verdura de importancia nutricional y económica, que se puede cultivar en todo el mundo en varias épocas del año; el principal uso es para consumo humano (Dan *et al.*, 2014). Los estudios sobre genética de la lechuga han permitido mejorar su valor nutricional, además de lograr su adaptación fisiológica a una diversidad de condiciones ambientales (Vries, 1997).

La lechuga cultivada *Lactuca sativa* proviene, por polinización alógama, de especies como *Lactuca serriola* entre otras, las cuales se consideran como malezas. El nombre científico de *Lactuca*, se debe al látex blanco (lactucario) que expulsan el tallo, las hojas o las raíces al sufrir algún corte. El lactucario es utilizado por sus propiedades medicinales, para calmar a personas nerviosas y ayudar a conciliar el sueño (Sirtori y Boffelli, 2007). La lechuga, por su contenido de potasio, presenta propiedades diuréticas ligeras; también contiene alta cantidad de clorofila, por lo que ayuda a limpiar la sangre y el hígado (Bartimeus, 2014).

Generalidades del cultivo

El tallo de la planta de lechuga es cilíndrico y ramificado; la raíz es pivotante, con una longitud promedio de 25 cm cuando se desarrolla en suelo; las hojas tienen el borde liso, ondulado o aserrado y están colocadas en roseta y en algunas variedades forman un cogollo esférico o “pella” (tipo iceberg) en la etapa de desarrollo, antes de emitir la flor. El contenido de nutrimental de la lechuga se describe en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Contenido nutrimental de la lechuga redonda de parte la comestible

Elemento	Unidad de medida	Cantidad contenida
Energía	Kcal	12
Energía	Kj	50
Agua	g	95.7
Proteínas	g	1.3
Grasa total	g	0.2
Carbohidratos totales	g	2.1
Carbohidratos disponibles	g	0.8
Fibra cruda	g	0.8
Fibra dietaria	g	1.3
Cenizas	g	0.7
Fósforo	mg	49
Calcio	mg	47
Zinc	mg	0.18
Hierro	mg	1.00
Retinol	µg	63.00
Vitamina A	µg	370.0
Tiamina	mg	0.06
Riboflavina	mg	0.05
Niacina	mg	0.48
Vitamina C	mg	7.40

Fuente: Reyes *et al.*, (2009)

De acuerdo al contenido nutrimental de la lechuga, en su parte comestible (superior) su composición es alta en fósforo y calcio como elementos minerales; además de que posee una porción importante de proteínas y carbohidratos totales como se muestra en Cuadro 1 (Reyes *et al.*, 2009).

Las plantas de lechuga son anuales, con ciclo de vida que comprende de 70 a 90 días, contados a partir de la siembra; de preferencia se debe sembrar en semillero o almácigo. Las semillas de lechuga tienen una capacidad germinativa

importante de ocho a nueve años, pero se sugiere no utilizar estas con más de tres años (Sirtori y Boffelli, 2007). La planta se puede desarrollar en condiciones de vivero por 20 a 30 días para favorecer mejor su desarrollo durante la primera etapa. Para establecer la planta en el lugar definitivo, debe contar con buen desarrollo de raíz y no presentar ninguna enfermedad o daño; la plantación se realiza con raíz completa, con cinco hojas verdaderas u ocho centímetros de altura. La cosecha se realiza cuando el cogollo está bien formado y compacto (SIAP, 2015b).

La planta de lechuga prefiere temperaturas diferenciadas durante sus distintas etapas productivas. El mejor desarrollo de la planta se presenta entre 15 y 18 °C; la germinación se puede realizar desde los 5 hasta los 16 y 20 °C como temperatura óptima. La siembra de lechuga se lleva a cabo en los ciclos de primavera-verano y otoño-invierno. Las lechugas pueden ser precoces o tardías según la temporada en que sean establecidas; existen variedades para cada temporada y la diferencia entre ellas es según el tiempo de desarrollo, el cual puede ser rápido o tardío. El tiempo que se tarden en desarrollar es debido a las condiciones de frío el cual ocasiona trastornos y retraso en las plantas. Las plantas de lechuga tienen la capacidad de acogollado de acuerdo a la característica genética de cada variedad, la cual es influenciada por factores climatológicos como la luz limitada y temperaturas superiores a 20 °C dificultan su desarrollo. Una iluminación suficiente y temperaturas inferiores a los 20 °C durante el día favorecen a las plantas, además de una baja temperatura nocturna (Claridades Agropecuarias, 1999).

Producción de lechuga

La producción de lechuga en México en el 2014 fue de 177,498.28 en 9,145.15 ha con rendimiento promedio de 20.08 t ha⁻¹ (SIAP, 2015a), que se ubica en 21 estados (Cuadro 1). El estado con mayor superficie establecida es Guanajuato (3,405 ha), seguido por Baja California (1,259.50 ha), Zacatecas (1,101 ha) y Puebla (966 ha); como el mejor rendimiento correspondió al estado de Aguascalientes (34.33 t ha⁻¹), con la posición cinco en cuanto a superficie cultivada con 821 ha. El estado de Michoacán por superficie establecida se ubicó en la posición ocho en 2014 (285 ha), con una producción de 6,830 toneladas y rendimiento de 23.96 t ha⁻¹ (SIAP, 2015a).

Cuadro 2. Producción de lechuga en México por cada estado para el año 2014

Ubicación	Superficie sembrada (Ha)	Producción (T)	Rendimiento (t ha ⁻¹)	Precio medio rural (\$/tonelada)
Aguascalientes	821.00	28,183.40	34.33	2,668.84
Baja California	1,259.50	15,743.30	12.70	8,345.70
Baja California Sur	8.00	87.00	10.88	6,509.34
Chihuahua	6.00	106.00	17.67	3,377.36
Coahuila	7.00	210.00	30.00	5,000.00
Distrito Federal	71.90	613.43	8.55	6,647.21
Durango	8.00	157.00	19.62	2,722.93
Guanajuato	3,405.00	58,498.40	17.20	2,949.46
Guerrero	7.00	50.00	7.14	2,749.60
Jalisco	215.00	4,037.00	18.78	2,580.09
Michoacán	285.00	6,830.00	23.96	2,879.19
México	16.00	245.70	15.36	4,633.06
Puebla	966.00	16,997.30	18.89	1,938.53
Querétaro	376.00	10,124.50	27.44	2,179.71
San Luis Potosí	71.00	1,837.00	29.16	2,491.79
Sinaloa	8.00	57.00	7.12	4,500.00
Sonora	427.75	11,917.50	27.86	4,415.73
Tlaxcala	57.00	1,710.00	30.00	2,075.44
Veracruz	15.00	232.50	15.50	4,440.00
Yucatán	14.00	46.25	3.30	6,595.86
Zacatecas	1,101.00	19,815.00	21.99	3,734.77
Total/promedio	9,145.15	177,498.28	20.08	3,427.35

Fuente: SIAP, (2015a)

Los municipios en el estado de Michoacán con mayor superficie dedicada al cultivo de lechuga son Zamora (190 ha), Tarímbaro (109 ha) y Jacona (105 ha); los municipios con más alto rendimiento son Jacona, Zamora, Yurécuaro y Copándaro, quienes superan las 22 t ha⁻¹ como se muestra en Cuadro 2 y 3 (SIAP, 2015a).

Cuadro 3. Producción de lechuga en el estado de Michoacán por municipio para el año 2014

Ubicación	Superficie sembrada (Ha)	Producción (T)	Rendimiento (t ha ⁻¹)	Precio medio rural (\$/tonelada)
Charo	22.00	297.00	13.50	2,600.00
Cojumatlán de Régules	21.00	310.00	14.76	2,300.00
Copándaro	14.00	312.00	22.29	3,753.85
Ixtlán	13.00	130.00	10.00	5,230.77
Jacona	105.00	3,475.00	33.10	3,287.14
Jiquilpan	7.00	98.00	14.00	2,300.00
Maravatío	95.00	1,655.00	17.42	3,986.16
Sahuayo	36.00	536.00	14.89	2,822.39
Tarímbaro	109.00	1,968.00	18.06	4,008.94
Venustiano Carranza	19.00	266.00	14.00	2,386.84
Yurécuaro	3.00	66.00	22.00	6,000.00
Zamora	190.00	5,150.00	27.10	4,246.99
Total/promedio	634.00	14,263.00	22.50	3,778.10

Fuente: SIAP, (2015a)

El nitrógeno en la lechuga

Las plantas presentan diferentes capacidades de extracción por las raíces y asimilación de los nutrimentos disponibles en el suelo. La necesidad que un cultivo tiene de un nutrimento depende de la función que éste realiza en cuanto a la producción de biomasa (Flores *et al.*, 2010). En los cultivos agrícolas, la formulación de una dosis de fertilización de cada elemento debe basarse en metas de rendimiento y depende del sistema de producción (Alejo *et al.*, 2011).

Las prácticas implementadas en cada cultivo en el suministro de fertilizantes como el nitrógeno impactan de forma significativa en el ambiente. Las cantidades aportadas deben estar en función de la demanda nutrimental del cultivo y con esto se evita la generación de problemas de contaminación (Flores *et al.*, 2010). El nitrógeno es el nutrimento de mayor absorción por la planta, por lo que es el elemento con

mayores volúmenes de aplicación en la agricultura. Se debe cuidar que el nitrógeno aportado al cultivo no se lixivie en forma de nitratos, sino que la planta lo aproveche de la manera más eficiente, lo cual reducirá efectos contaminantes en agua y suelo (Martínez *et al.*, 2011).

Las plantas acumulan nitrógeno en sus hojas, en forma de nitratos. Esto se considera de importancia en su calidad porque puede tener un efecto negativo en la salud del consumidor cuando, como en la lechuga, las hojas son la parte comestible (Sánchez, 2010). En hojas de lechuga tipo iceberg se consideran aceptables concentraciones de nitrógeno menores a los 2000 mg de NO_3/kg de materia fresca, para lechugas cultivadas en condiciones de cielo abierto, o 2500 mg de NO_3/kg para las cultivadas en condiciones de invernadero (DOCE, 2002).

Los requerimientos de nitrógeno para la lechuga son de 113 kg ha^{-1} , sin que esto genere una acumulación de nitratos tóxicos en la planta, conforme a lo que señala la Unión Europea (Flores *et al.*, 2010). La asimilación de nitrógeno por el cultivo de lechuga se estima entre 150 a 200 kg ha^{-1} (Rincón, 2005); Bugarín *et al.* (2011) señalan un máximo de absorción de 167.7 kg ha^{-1} , con lo cual se alcanza un peso por planta de 0.18 kg . Las aportaciones de nitrógeno en lechuga tipo iceberg comunes en México son de 50 a 200 kg ha^{-1} , sin que altas cantidades reflejen aumento en peso fresco; sin embargo la acumulación de nitratos se incrementa en concentraciones altas, principalmente en las hojas (Rincón *et al.*, 2002).

El fósforo en la lechuga

El fósforo es un nutriente de importancia, el cual favorece el desarrollo y crecimiento vegetal y en las hortalizas contribuye en aumentar la producción. La deficiencia de este elemento afecta al crecimiento de la planta, que en casos extremos no se desarrolla más allá de la etapa de plántula; además provoca un bajo rendimiento. Su deficiencia severa no es común en áreas cultivadas con hortalizas, ya que los agricultores suelen aportarlo en cada temporada de siembra, junto con otros elementos, normalmente con independencia de un análisis de suelo.

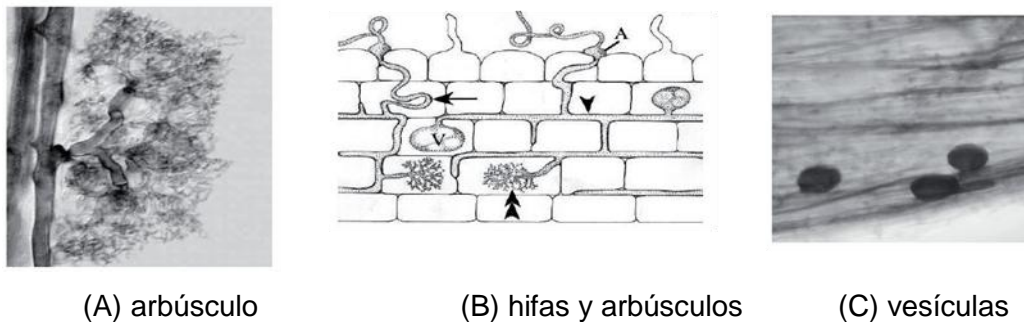
El fósforo es un elemento de poca movilidad en la mayoría de los suelos agrícolas. Es suministrado en ocasiones desde la preparación de suelo en el caso poner protección, en acolchado se debe colocar cercano a donde se establecerán las plantas, para favorecer la disponibilidad (Hochmuth *et al.*, 2001). La actividad del elemento con las plantas depende en gran parte del tipo y la composición química del suelo. En las primeras etapas del cultivo, la forma de fósforo aportada puede afectar la disponibilidad del elemento para la planta; durante el desarrollo del cultivo no se han encontrado diferencias en la fuente del elemento (Hochmuth *et al.*, 2001).

Las lechugas acumulan fósforo en hojas y raíces; el contenido de este elemento es diferente en cada una de las partes de la planta. La cantidad de fósforo que puede absorber depende tanto de las cantidades contenidas en el suelo como de las aportadas con la fertilización (Bertossi *et al.*, 2013).

Los hongos micorrízicos arbusculares

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son organismos que viven en el suelo como simbioses en las raíces de la mayoría de las plantas terrestres. Ellos le aportan beneficios, con lo que se generan ventajas sobre las plantas no micorrizadas, como la mayor adquisición de nutrientes de baja disponibilidad o de baja movilidad en el suelo. La actividad de los HMA esta limitada a los cultivos que no son compatibles o bien a las condiciones del suelo donde este se desarrollen, también a las condiciones de un manejo integrado del cultivo, además del uso de monocultivos (Barrer, 2009). Los HMA favorecen la absorción de nutrientes por la planta, a través de las hifas (Smith y Smith, 2011) (Figura 1). Los HMA se caracterizan por presentar crecimiento intra e intercelular de la corteza de la raíz, además de formar dos tipos de estructuras como arbusculos y vesículas (Quilambo, 2004). Los arbusculos son hifas que se dividen dicotómicamente con periodos de vida cortos; las vesículas son estructuras de almacenamiento que se forman en la parte terminal de las hifas (Barker *et al.*, 1998). Las hifas infectivas son las que inician los puntos de colonización en una o varias raíces; las hifas absorbentes son las que se encargan de explorar el suelo para la extracción de nutrientes y las hifas fértiles son las que llevan las esporas (Morton, 2002 citado por Barrer, 2009). Las hifas presentan crecimiento intercelular y los

arbúsculos se encuentran dentro de las células corticales. También las hifas presentan crecimiento intracelular al igual que los arbúsculos, pero estos forman enrollamiento cuando están dentro de la célula (Barker *et al.*, 1998; Peterson *et al.*, 2004 y Morton, 2002 citado por Barrer, 2009). El crecimiento del hongo se da en forma asimbiótica entre una y dos semanas hasta que se genera el contacto con la raíz del hospedero, para lo cual se genera una estructura de nombre apresorio, a través del cual se lleva a cabo la penetración de las hifas a las células corticales de la raíz para formar los arbúsculos e incrementar el área de contacto entre la planta y el hongo (Bago *et al.*, 2000). Los cambios fisiológicos y bioquímicos que se generan en la planta al momento de ser infectada son de reconocimiento y no de rechazo, por lo cual se considera que el hongo emite señales a la planta antes de la colonización y con ello evitar el rechazo (Gadkar *et al.*, 2001). En experimentos con cultivos donde se hicieron aportaciones de fósforo y sin fósforo se encontró que existen diferencias de mayor infectividad cuando este elemento se encuentra limitado en su aportación (Elias y Safir, 1987 citados por Barrer, 2009).



(A) arbúsculo

(B) hifas y arbúsculos

(C) vesículas

Fuente: Peterson *et al.*, 2004 citado por Barrer, (2009)

Figura 1. Presencia de *Rhizophagus intraradices* en raíces colonizadas

Efecto en el fósforo y el nitrógeno

La fijación biológica de elementos como el nitrógeno y la solubilización de fósforo, son los beneficios esperados en el uso de biofertilizantes como los Hongos Micorrízicos Arbusculares. La comprobación de los efectos es una de las necesidades de investigación, sobre todo de productos comercializados de aplicación para los cultivos en el campo (Uribe *et al.*, 2010).

En trabajos realizados en plantas con presencia de HMA, se tiene que el fósforo es el elemento más favorecido como respuesta (positiva o negativa), de la participación de los HMA. El nitrógeno en presencia de los HMA, la participación en las raíces de las plantas no es tan clara en cuanto a su contribución para satisfacer los requerimientos así como los costos que le representa este elemento por ser el de mayor aporte a cultivos de hoja (Smith y Smith, 2011).

En gran cantidad de los suelos y diversidad de condiciones ambientales hay HMA, se encuentran en bosques templados, pastizales tropicales y subtropicales, así como ecosistemas áridos (Öpik *et al.*, 2010). Se ha podido constatar que la diversidad de HMA es baja en suelos salinos y que la labranza reduce la diversidad y abundancia de hongos formadores de micorrizas (Tapia-Goné *et al.*, 2008).

Para aumentar la cantidad y variedad de los HMA y bacterias benéficas en los suelos agrícolas, en el mercado se comercializan biofertilizantes que incluye *Rhizophagus intraradices* dentro de los más comunes. Los efectos son positivos en la absorción de nutrientes de poca movilidad como fósforo, cobre y zinc, además de ofrecer protección contra patógenos, resistencia a sequía y mejora de las características del suelo (Cuenca *et al.*, 2007). El uso de HMA también contribuye a mejorar el peso seco y más área foliar de las plantas (Barrer, 2009). Los hongos micorrízicos arbusculares generan alteraciones en la fisiología de la planta hospedante como la hidratación en los distintos tejidos en condiciones de sequía, se modifica la transpiración de las plantas y afecta positivamente la apertura de los estomas y la actividad fotosintética (Auge, 2001).

En el cultivo de fresa, los HMA como *Rhizophagus intraradices* produjo una respuesta positiva en el crecimiento y aumento de materia seca (Castellanos *et al.*, 2012) de la planta; esta asociación simbiótica fue afectada por la concentración de nitrógeno suministrado en el riego (Ruiz-Corro *et al.*, 2012). Además en tomate de cáscara inoculado con *Rhizophagus intraradices* se observó un incremento en la actividad fotosintética, durante el desarrollo del cultivo (Velasco *et al.*, 2001).

En plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), los HMA de *Glomus caledonium* y *Glomus mosseae*, tuvieron capacidad de infección, si bien el grado de inoculación dependió de la concentración de nutrientes, como el calcio (Hepper y O'shea, 1984). Owusu-Bennoah (1991) demostraron que el grado de infección de los HMA se puede regular con los niveles de nitrógeno y de fósforo. La colonización de HMA en plantas de lechuga cultivadas en arena con el suministro de soluciones nutritivas en el riego, se vió reducida cuando los niveles de nitrógeno suministrado aumentaron (Owusu-Bennoah, 1991). En plantas de lechuga orejona los HMA favorecieron el aprovechamiento de nitrógeno aportado, aunque con la fuente en forma de nitrato fue más eficiente que con el uso de amonio (Azcon *et al.*, 1992). Los HMA en plantas de lechuga favorecieron un mayor rendimiento cuando solo se fertilizó con alguna fuente de nitrógeno, por la asimilación de nutrientes excepto, calcio bajo condiciones de sequía (Azcon *et al.*, 1996). Marulanda *et al.* (2003) en un estudio con lechuga constataron el efecto de los HMA sobre el transporte de agua y nutrientes en las plantas inoculadas, en función de las condiciones de suelo, humedad disponible y cantidad de micelio generado. Por otra parte, las plantas de lechuga micorrizadas presentaron una mayor tolerancia a la salinidad, lo que también estaría asociado a la disponibilidad de fósforo (Ruiz-Lozano, 1996). Las plantas de lechuga tienen capacidad de asociación simbiótica con los HMA, con la función de compartir antioxidantes, penilpropanoides y carotenoides. La asociación le generó a la planta disminución en las concentraciones de Ca y Mn, pero incremento en los contenidos de Cu y Fe entre otros componentes, en plantas inoculadas respecto a las plantas no inoculadas (Baslam *et al.*, 2011).

Justificación

Los trabajos realizados con lechuga indican que las plantas inoculadas aprovechan mejor las aportaciones de nitrógeno, lo que se refleja en un mayor desarrollo. Sin embargo, se desconoce cuáles son los niveles de fertilización nitrogenada óptimos para lograr una mejor respuesta de la planta, sin que se inhiba la actividad del hongo.

Los HMA colonizan a las plantas de lechuga, sin embargo se desconoce el éxito de la colonización y la capacidad infectiva del hongo, desde la producción de la planta hasta el trasplante.

También es importante estudiar el contenido de los elementos presentes en las hojas de lechuga, en particular N y P, para conocer cómo varían en función de los niveles de fertilización nitrogenada y de la presencia o ausencia de micorrizas. Esto permitiría generar propuestas agronómicas tendentes a disminuir la concentración de N en la parte comestible de la planta, sin afectar la productividad y calidad de la cosecha.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la contribución de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el crecimiento y estado nutricional de plantas de lechuga, cultivadas a varios niveles de fertilización nitrogenada.

Objetivos específicos

1.- Evaluar métodos de inoculación del HMA, que induzcan un porcentaje de colonización de las raíces de al menos 40 % por planta, en condiciones de invernadero.

2.- Determinar el efecto de la inoculación de *Rhizophagus intraradices* sobre el crecimiento de plantas de lechuga, cultivadas en campo a varios niveles de fertilización nitrogenada.

3.- Determinar el contenido de P en plantas de lechuga cultivadas en campo, a varios niveles de fertilización nitrogenada e inoculadas con *R. intraradices*.

HIPÓTESIS

El uso de hongos micorrízicos arbusculares en el cultivo de lechuga permiten obtener mejores características de crecimiento con menores aportes de nitrógeno, con respecto a plantas no inoculadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en dos fases: en la primera se realizaron dos ensayos bajo condiciones de invernadero y en la segunda se realizó un ensayo bajo condiciones de campo abierto. Para todos los ensayos, primero se tuvo que producir la plántula, micorrizarla y verificar que se estableció el hongo. En el primer ensayo el objetivo fue determinar fuente de inóculo (sólido y líquido) y en el segundo ensayo las dosis de inóculo.

Ensayos 1 y 2

El trabajo en invernadero se llevó a cabo en Uruapan, Michoacán, en la localidad Toreo El Bajo, fraccionamiento La Huerta, calle Granada # 1, propiedad de la Sra. Rosalina Ríos Villanueva.

Objetivo

Evaluar métodos de inoculación del HMA, que permitan un porcentaje de colonización de las raíces de al menos 50 % por planta, en condiciones de invernadero.

Producción de plántula para ensayos

Las plántulas se desarrollaron en charolas de unicel con cavidades de 25 ml, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio. El sustrato utilizado fue arena, la cual se esterilizó en autoclave a 120 libras por 20 minutos y temperatura de 121 °C, y se dejó enfriar. El material biológico utilizado fueron semillas de lechuga de la variedad comercial Salinas 88 (conocida como "lechuga suprema"), producidas en Estados Unidos por la empresa Sakata Seed América Inc., correspondientes al lote 504398-00-00, con un 90 % de germinación, envasadas en agosto de 2013. En cada cavidad de las charolas de siembra se colocó una semilla, previamente lavada para eliminar parte del tratamiento químico suministrado por la empresa productora.

Como fuente de HMA se utilizó un biofertilizante comercial conteniendo HMA *Rhizophagus intraradices* como inóculo en presentación líquida, con 1,100 propágulos viables por mililitro, proporcionado por el corporativo de Desarrollo Sustentable S. A. de C. V., Morelia, Michoacán México. También se utilizó una fuente de inóculo sólido, de la empresa Endomic®, con 20 esporas de *Glomus* sp., por gramo, disponible en arcilla.

Previo a la aplicación, cada uno de los biofertilizantes se mezcló con gel (sustituto de agar) previamente preparado a dosis de 5 g por litro de agua y mezclado de manera uniforme antes de inocular, la aplicación fue de 1 ml de la mezcla por semilla o planta para los dos biofertilizantes. Para el primer ensayo la inoculación se realizó directamente en las semillas. Posteriormente, se cubrió cada semilla con una capa delgada del mismo sustrato, y las charolas se llevaron al invernadero para su desarrollo. A los 4 días después de la siembra se inició el riego a cada planta aplicado con pizeta, una vez al día de forma manual.

Viabilidad del inóculo

Para la prueba de viabilidad de la fuente líquida de HMA, se colocó 1 ml del inóculo, en cada uno de tres tubos de ensayo con el reactivo MTT (3-(4.5-dimetiltiazol-2)-2.5-difenil bromuro de tetrazolio) a dosis de 0.05 g por 10 ml de agua, se cubrió con papel aluminio, se puso en refrigeración a 5 °C por 24 horas. Con ayuda de un microscopio estereoscópico, se procedió a identificar esporas: las de color rosa y negras se consideraron viables, las de otra coloración o incoloras, se consideraron no viables.

Para realizar la prueba de viabilidad de la fuente sólida de HMA, primero se procedió a extraer esporas, con la técnica de tamizado húmedo. Se pesaron 100 g de inóculo sólido en 1.0 litros de agua, se agitó por 5 minutos, se decantó por 2 minutos y se pasó por dos tamices, de 0.7 y 0.4 mm, en los cuales quedaban retenidas las esporas, posteriormente se lavaron con agua y se recuperaron las esporas. De 1.0 ml de la solución de suelo obtenida del primer tamiz, se mezcló en un tubo de ensayo con el reactivo MTT (3-(4.5-dimetiltiazol-2)-2.5-difenil bromuro de tetrazolio) a dosis de 0.05 g para 10 ml de solución; el tubo se cubrió con papel aluminio y se puso

en refrigeración a 5 °C por 24 horas; trascurrido el tiempo, la muestra se retiró del refrigerador y con ayuda de un microscopio estereoscópico, se procedió a identificar esporas y raíces. Las esporas y/o estructuras de color rosa y las negras se consideraron como viables y las de otra coloración o las incoloras no se consideraron viables.

Identificación de estructuras micorrízicas

A los 21 y 28 días de su germinación, las plántulas de lechuga, se sacaron de la charola y se lavaron con abundante agua potable. Después se procedió a la separación de la parte aérea o foliar y la raíz. La raíz se colocó en un casete de plástico, para realizar el acondicionamiento de tejido y luego la tinción.

Para acondicionar (suavizar) las raíces se colocaron en un vaso de precipitado, 500 ml de agua desionizada y 50 g de hidróxido de potasio (KOH) quedando una solución a concentración del 10 %. La solución se hirvió y se colocaron los casetes que contenían las raíces. Se volvió a hervir durante 7 minutos; al término del tiempo los casetes se retiraron de la solución y se lavaron de manera inmediata, con abundante agua desionizada.

La tinción de estructuras micorrízicas se llevó a cabo mediante la técnica de tinción tinta-vinagre, para posterior conteo de estructuras, según lo propuesto por Vierheilig *et al.*, (1998) con tiempo ajustado a 7 minutos para tinción de plantas de lechuga. La identificación de estructuras micorrízicas se llevó a cabo mediante la técnica propuesta por Bierman y Linderman, (1981).

Cuadro 4. Materiales utilizados para tinción de raíz de lechuga con tinta-vinagre

Requerimiento	Cantidad requerida para 500 ml de agua
Hidróxido de potasio (KOH) en perlas	50 gramos
Tinta color azul (Sheaffer)	25 mililitros
Vinagre de caña	0.5 litros
Agua desionizada	0.5 litros
Vaso de precipitado	1.5 litros de capacidad
Probeta de cristal graduada	0.050 litros de capacidad
Campana de extracción de gases y olores	1 pieza
Parrilla eléctrica	1 pieza
Celdas plásticas perforadas (casete)	1 por cada muestra (32 piezas máximo)

En un vaso de precipitado de capacidad de 1.5 litros, bajo una campana de extracción de gases, se colocaron 500 ml de vinagre de caña y 25 ml de tinta color azul (Sheaffer) como solución al 5 % y se hirvió. Se vertieron en la solución los casete que contenían las raíces y se volvió a dejar hervir durante 7 minutos; transcurrido el tiempo los casetes se retiraron de la solución y se lavaron con abundante agua desionizada. Los casetes lavados se dejaron en una mezcla de 800 ml de agua desionizada con 20 ml de vinagre por 24 horas a temperatura ambiente. Después de este tiempo, las raíces se seccionaron en trozos de 1 cm de largo. Los segmentos de raíz se colocaron en porta objetos, con una gota de aceite de inmersión y se observaron al microscopio óptico (100/1.25 oil) para contar las estructuras del hongo.

Materiales

Para ensayo 1 se utilizaron los inóculos de HMA en presentación líquida y sólida previamente descritos. Para el ensayo 2 se utilizó únicamente inóculo con fuente líquida.

La semilla, de la variedad Salinas 88, tipo iceberg (de bola), se lavó con agua corriente por 5 minutos, se dejó secar y se sembró de forma manual.

Como sustrato se utilizó arena de río con no más de 1/8 pulgadas de grosor, esterilizada a 120 libras por 20 minutos y 121 °C, humedecida con agua corriente. Para el desarrollo de las plántulas se utilizaron charolas de unicel.

Diseño experimental y desarrollo del ensayo 1

El primer ensayo consistió en la inoculación de plantas de lechuga con HMA con dos fuentes de inóculo (líquida y sólida) con aplicación al momento de la siembra.

Este ensayo se realizó bajo el diseño factorial, con arreglo completamente al azar, con 10 tratamientos combinados y tres repeticiones. Los factores de estudio fueron: la fuente de inóculo HMA (líquido y sólido) y el número de propágulos por planta (0, 50, 100, 150 y 200). Para determinar la cantidad de propágulos aplicados, se consideró la cantidad contenida en cada fuente de inóculo, y considerando los resultados de viabilidad (1,100 propágulos/ml viables en líquido y 20 por gramo para sólido). Se estableció el experimento en charolas de unicel, con una semilla por cavidad y se tuvieron 10 plantas por unidad experimental (tratamiento combinado y 30 unidades total).

Variables medidas en ensayo 1

Las variables medidas fueron longitud de raíz, peso fresco de raíz, peso fresco de parte foliar y área foliar a los 21 días posteriores a la siembra; a los 28 días además de las anteriores colonización, peso seco de raíz, peso seco foliar y número de hojas.

La Figura 2 muestra las características de planta completa de lechuga en cosecha para toma de datos.



Figura 2. Planta de lechuga muestreada: Separación de parte aérea y raíz (A) y separación por tratamiento (B)

Diseño experimental y desarrollo del ensayo 2

Con los resultados de las fuentes de inóculo (sólido y líquido), pero con baja respuesta a la colonización de raíces de plantas de lechuga. Se planteó un segundo ensayo para determinar la mejor dosis que asegure una colonización de raíces de lechuga al menos del 40 %, previo al trasplante.

El segundo ensayo consistió en la inoculación únicamente con una fuente líquida de HMA de plantas de lechuga en etapa de plántula, a los 6 días posteriores a la siembra, como se muestra en Figura 3.

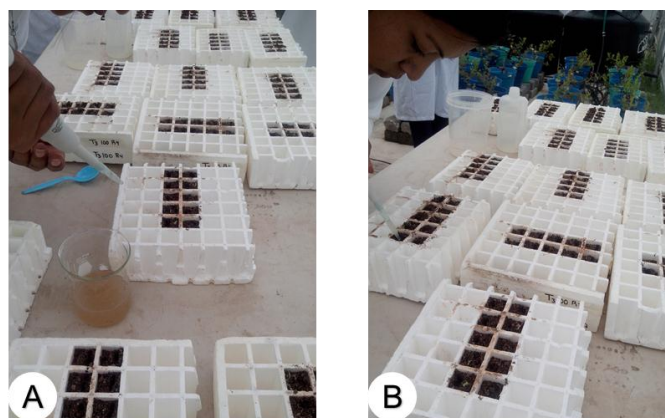


Figura 3. Inoculación con HMA en plántula: aplicación a la raíz de lechuga (A) y cubierta del inóculo (B)

El diseño fue completamente al azar, con siete repeticiones. El factor de estudio fue el número de propágulos por planta a cuatro dosis (0, 50, 100 y 200). El experimento se estableció en charolas de unicel; se depositó una semilla por cavidad y se tuvieron 10 plantas por unidad experimental.

El experimento se desarrolló en invernadero; los riegos se realizaron con agua corriente (para consumo humano), por tener disponibilidad y considerarla de buena calidad, una vez al día o bien un día sí y otro no, dependiendo del nivel de humedad del sustrato (a capacidad de campo) y de las condiciones climáticas, buscando evitar la saturación.

Para la realización de los muestreos, transcurridos 21 y 28 días respectivamente después de la siembra, se tomaron dos plantas completas de cada tratamiento. Se cortaron las raíces a la altura del cuello y se lavaron con agua corriente. De cada planta se midió en fresco: peso foliar y de raíz, área foliar, número de hojas y largo de raíz. El peso fresco de raíz y parte foliar fue con la balanza granataria marca Toledo Mettler modelo PR8002 con precisión $d=0.01$ g. La medición de área foliar en cm^2 se realizó con un planímetro marca Li-cor, Inc. Linconlin LI-3100 Area Meter.

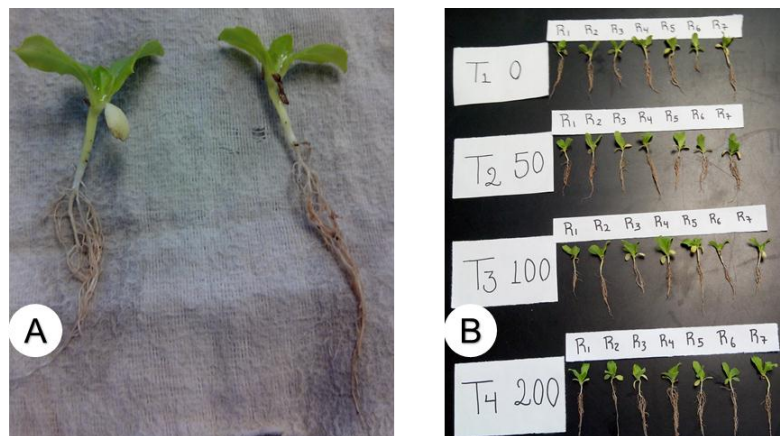


Figura 4. Cosecha de planta de lechuga: planta lavada (A) y planta por tratamiento (B)

Posteriormente se colocaron por separado, en papel aluminio identificado por tratamiento, la parte aérea y la raíz de cada planta, y se secaron en una estufa de gas a 60 °C durante 72 horas. De cada planta se midió el peso seco de la raíz y de la parte foliar con una balanza analítica.

Con el fin de identificar la colonización de las raíces de la planta de lechuga, se tomaron segmentos de raíz de un centímetro, las raíces se teñieron conforme al método tinta-vinagre descrito previamente.

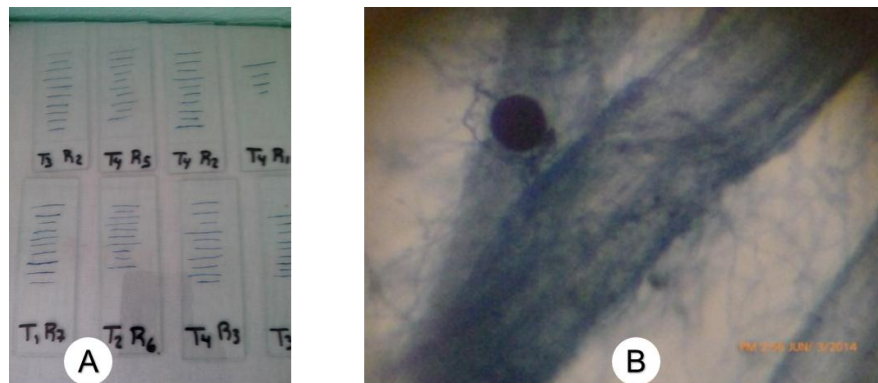


Figura 5. Identificación de estructuras micorrízicas: raíces de lechuga en porta objetos (A) y vesícula en raíz de lechuga (B)

Variables medidas en ensayo 2

Las variables medidas a 21 y 28 días, fueron colonización de raíz, longitud de raíz, peso fresco de raíz y seco de raíz, peso fresco de parte foliar y seco foliar, área foliar y altura de planta.

Análisis de datos

El análisis estadístico de los resultados de todas las variables medidas, se realizó con el programa SYSTAT versión 11.0 para Windows, el cual consistió en el análisis de varianza y la comparación de medias según el método de Tukey ($P \leq 0.05$ y 0.01).

Ensayo 3

El trabajo en campo abierto se desarrolló en la parcela Rancho Experimental de la Facultad de Agrobiología, dependiente de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ubicado en la localidad de Santa Bárbara, municipio de Uruapan, Michoacán. El predio se localiza a 1,610 msnm; el tipo de suelo se reporta en la región como Andosol y Cambisol (Alvarado *et al.*, 2014). El suelo del experimento corresponde a franco arenoso con pH de 4.95.

Objetivos

1. Determinar el efecto de la inoculación de *Rhizophagus intraradices* sobre el crecimiento de plantas de lechuga, cultivadas en campo a varios niveles de fertilización nitrogenada.
2. Determinar el contenido de P en plantas de lechuga cultivadas en campo a varios niveles de fertilización nitrogenada e inoculadas con *R. intraradices*.

Materiales

En la segunda fase del trabajo se utilizó biofertilizante líquido para la inoculación según los resultados del ensayo dos, con 50 propágulos de HMA *Rhizophagus intraradices* por planta de lechuga, de la variedad Salinas 88 tipo iceberg (de bola). Para la obtención de las plantas, las semillas se lavaron con agua corriente por 5 minutos en un vaso de precipitado, se secaron y se depositaron en charolas de siembra de 25 ml con arena de río como sustrato, de manera similar a los ensayos 1 y 2.

Las plantas de lechuga inoculadas y las plantas no inoculadas, con 30 días de desarrollo, la colonización se verificó conforme al procedimiento utilizado en los ensayos 1 y 2. Las raíces de las plantas inoculadas con colonización del 50 % y las no inoculadas sin presencia de colonización, se trasladaron a la parcela experimental, a campo abierto, en suelo agrícola.

Con el fin de conocer las características del suelo, se tomó una muestra del mismo una semana antes del establecimiento de las plantas, según el método “cinco de oros”: se tomaron cinco muestras y se mezclaron para obtener una sola muestra de un kilogramo, de la que se analizó: el potencial de hidrógeno, la conductividad eléctrica, la materia orgánica y la composición mineral. Asimismo se realizó el análisis de características del agua de riego. Los resultados se muestran en los Cuadros 5 y 6.

Cuadro 5. Contenido del suelo antes de plantar lechuga en campo en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán

Contenido en suelo	Cantidad y unidades
pH	4.95
CE	0.17 dS/m
MO	2.28 %
P	0.61 mg/kg
K	0.2 Cmol/kg
Ca	1.45 Cmol/kg
Mg	1.18 Cmol/kg
Fe	1.18 mg/kg
Cu	0 mg/kg
Zn	0.012 mg/kg
Mn	1.05 mg/kg
B	0.16 mg/kg
Tipo de suelo	Suelo franco arenoso

Cuadro 6. Contenido del agua de riego para lechuga en campo en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán

Contenido en suelo	Cantidad y unidades
pH	5.77
CE	155 dS/m
Ca	0.9 Meq/L
Mg	0.2 Meq/L
Na	0.35Meq/L
K	0.05 Meq/L
CO ₃	0.0 Meq/L
HCO ₃	1.1 Meq/L
Cl ₂	0.75 Meq/L
SO ₄	0 Meq/L
B	0.31 mg/L
SE	0.4 Meq/L
SP	0.75 Meq/L

Diseño experimental

El diseño experimental fue factorial (factor 1: con HMA y sin HMA en factor 2: cuatro niveles de nitrógeno), dos dosis de HMA (planta de lechuga previamente inoculada y planta sin inocular) y los niveles de nitrógeno utilizados fueron 0, 60, 120 y 240 kg/ha, con arreglo bloques completos al azar, con 4 repeticiones.

Cada unidad experimental constó de 2 surcos de 0.75 m cada uno por 4 m de largo, 30 cm entre plantas (26 plantas por unidad experimental), colocadas en el lomo del surco, como se muestra en Figura 6. Una separación de 2 m entre unidades experimentales. Cada bloque con 8 unidades experimentales con cuatro surcos, con 208 plantas. El experimento constó de 832 plantas, distribuidas en 32 unidades experimentales. El área total ocupada por el experimento fue de 618 m².

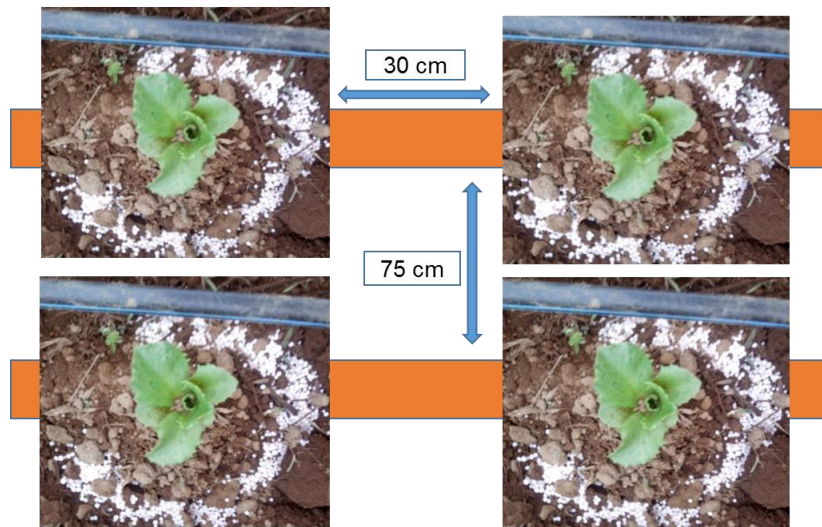


Figura 6. Características de plantación de lechuga en campo en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán

Manejo

El riego fue suministrado por goteo con cintilla, como se muestra en Figura 7; se utilizó el agua del canal de riego “Santa Bárbara”. El riego fue aplicado cada 3 a 4 días, para mantener siempre el suelo a capacidad de campo. Se hicieron dos escardas manuales durante el periodo del cultivo. Las plagas se controlaron de forma preventiva con la instalación de diez trampas amarillas y cuatro azules (de 0.4 por 0.4 m) distribuidas en todo el experimento. Para el control de plagas de mosquita blanca, pulgón y trips se utilizó extracto de canela, permetrina y abamectina a dosis comerciales, en dos ocasiones durante el ciclo del cultivo.

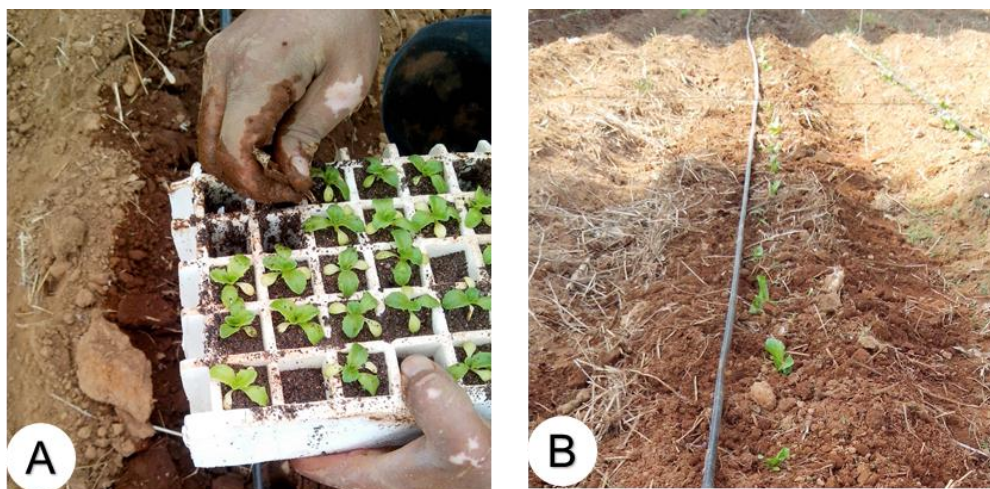


Figura 7. Trasplante de lechuga (A) y plantas de lechuga con riego (B) en campo en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán

Los niveles de nitrógeno fueron cubiertos con nitrato de potasio granulado (KNO_3) con una concentración de 12 (N)-00 (P)-46 (K), distribuido en dos aplicaciones de forma manual. La primera aplicación aportó el 50 % de nitrógeno del total requerido de acuerdo al nivel asignado (0, 60, 120 y 240 kg/ha) y se realizó a los 9 días posteriores al trasplante; el otro 50 % se aplicó a los 50 días después del trasplante. Una vez colocado el fertilizante se tapó y se dio un riego como se muestra en Figura 8.



Figura 8. Primera fertilización con nitrógeno de plantas lechuga (A) y desarrollo de con riego (B) a campo abierto en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán

Cuadro 7. Tratamientos en el cultivo de lechuga inoculada y no inocuada con HMA y niveles de nitrógeno, en campo en Santa Bárbara, Uruapan, Michoacán

Factor 1 Inoculación con HMA	PM	Planta inoculada
	PNM	Planta no inoculada
Factor 2 Fertilización nitrogenada por hectárea	N 0	0 unidades
	N 60	60 unidades
	N 120	120 unidades
	N 240	240 unidades

La colonización de raíces de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), con HMA (más del 50 %) y sin HMA, se verificó con el muestreo de 10 plantas al azar para cada tratamiento previo al trasplante en campo, como se muestra en Figura 9.

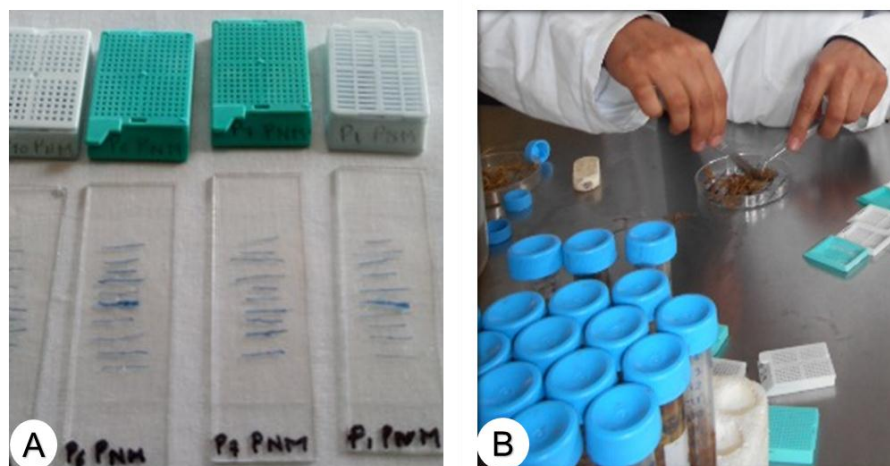


Figura 9. Muestreo de raíz de lechuga: previo al trasplante (A) y muestreo en campo posterior al trasplante (B)

Variables a medidas en ensayo 3

El primer muestreo destructivo se realizó a los 60 días de establecido el experimento en campo (10 días posteriores a la segunda fertilización), el segundo muestreo destructivo se realizó a los 74 días (100 días después de la siembra), una vez alcanzado el máximo desarrollo de la pella o bola, lo que correspondió al momento de la cosecha (Figura 10). Las variables medidas en ambos casos fueron: peso fresco

y seco de la parte aérea y la raíz, área foliar, fotosíntesis y colonización de raíces por HMA (esporas, arbusculos y vesículas); asimismo se analizó el contenido nutrimental de la planta (nitrógeno, nitrato y fósforo).

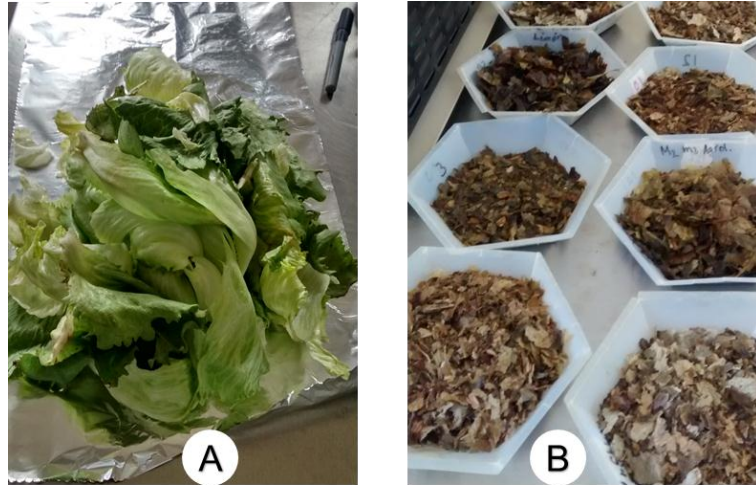


Figura 10. Planta de lechuga muestreada para registro de peso fresco (A); y peso seco de parte aérea (B)

Análisis de contenido nutrimental

Una vez secas las muestras de la parte aérea, se molieron y se conservaron en un recipiente plástico, para posterior análisis de fósforo. Para determinar fósforo se pesaron 70 mg de muestra vegetal (parte aérea), se colocaron en frascos de vidrio (viales), se sometieron a calcinación en mufla a 550 °C por 6 horas continuas. Posterior a este tiempo se dejaron enfriar, se sometieron al análisis de las muestras, para determinación en espectrofotómetro UV/vis Lamda 40 PerkinElmer. La técnica utilizada fue colorimetría para análisis de fósforo en agua natural según Murphy y Riley (1962).

Análisis de los datos

Para el análisis estadístico de los datos se calcularon los valores promedio de las variables medidas, por tratamiento, y se realizaron los análisis de varianza y comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05$ y 0.01) con el programa SYSTAT, versión 11.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los datos colectados de los experimentos de los ensayos 1 y 2, se tienen los resultados que se presentan a continuación:

Ensayo 1

La Figura 2 muestra la colonización de raíces de lechuga a 28 días posteriores a la siembra, con las fuentes de HMA sólida y líquida, además de diferentes dosis de inóculo.

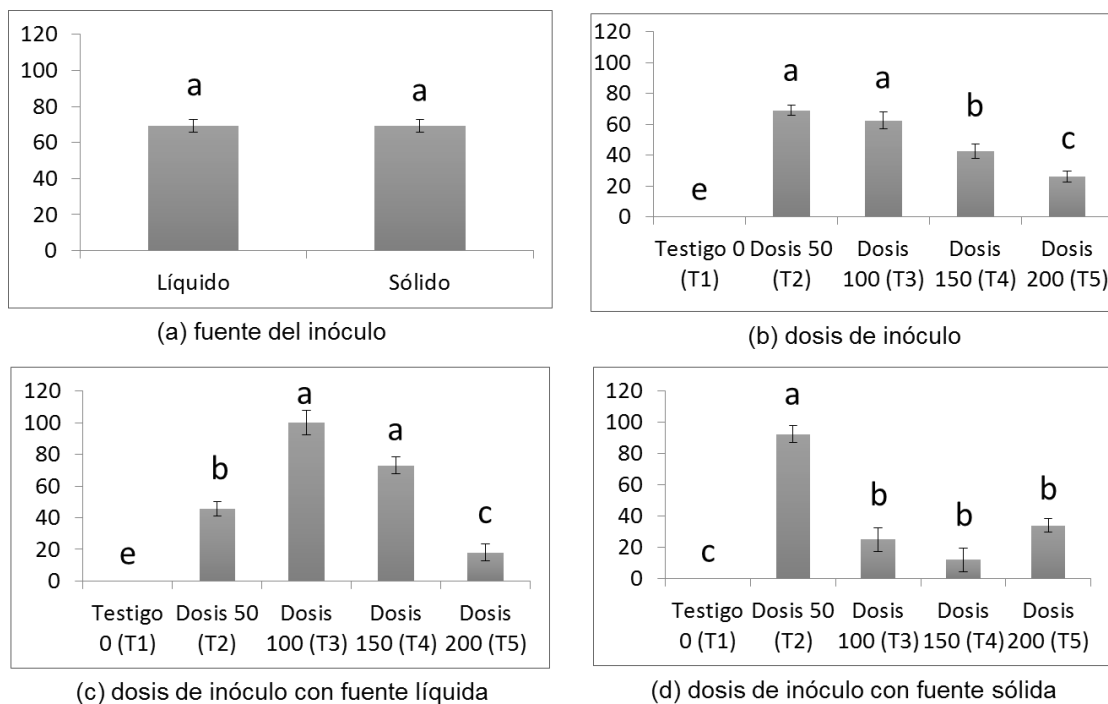


Figura 11. Comparación de medias de colonización de raíces de lechuga (*Lactuca de sativa* L.) con fuente y dosis de inóculo a 28 días en invernadero en Uruapan, Michoacán

Los resultados encontrados indican que, a los 28 días, la fuente de inóculo no tiene un efecto en la colonización. Sin considerar la fuente de inóculo, las dosis de 50 y 100 propágulos por planta dan lugar a porcentajes mayores de colonización; con la fuente líquida, las dosis 100 y 150 aseguran una colonización superior al 50 %, mientras que con la fuente sólida este porcentaje solo se alcanza con la dosis 50.

Estos resultados coinciden con lo reportado en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) por Fernández (2013), quien encontró que a 25 días de la inoculación con inoculante semi-líquido y líquido, la colonización no superó el 11 %, mientras que a los 45 días la colonización supera el 50 %.

Los resultados correspondientes a las variables longitud de raíz, peso fresco de raíz, peso fresco de parte foliar y área foliar a los 21 días posteriores a la siembra se muestran en los Cuadros 8 (21 días) y 9 (28 días).

Cuadro 8. Comparación de medias de longitud de raíz, peso seco de raíz, peso fresco foliar y área foliar de lechuga (*Lactuca sativa* L.) a 21 días en invernadero, en Uruapan, Michoacán

	Longitud de raíz (cm)	Peso fresco de raíz (g)	Peso fresco foliar (g)	Área foliar (cm ²)
Fuente de inóculo	**	**	NS	NS
Líquido	6.7 a	0.07 a	0.15 a	3.19 a
Sólido	5.4 b	0.04 b	0.13 a	2.64 a
Propágulos planta⁻¹	**	**	**	**
Testigo 0 (T1)	5.3 b	0.05 b	0.11 b	2.35 b
Dosis 50 (T2)	5.9 b	0.05 b	0.11 b	2.16 b
Dosis 100 (T3)	4.7 b	0.03 b	0.11 b	2.06 b
Dosis 150 (T4)	6.5 a	0.06 a	0.11 b	2.33 b
Dosis 200 (T5)	7.9 a	0.08 a	0.13 a	5.68 a
Fuente y dosis	NS	NS	NS	NS
Testigo 0 (T1)	5.5 b	0.04 a	0.09 b	1.71 b
Dosis 50 (T2)	7.0 a	0.08 a	0.15 b	2.94 b
Líquida Dosis 100 (T3)	4.85 b	0.04 a	0.13 b	2.55 b
Dosis 150 (T4)	7.83 a	0.09 a	0.12 b	2.44 b
Dosis 200 (T5)	8.23 a	0.11 a	0.27 a	6.30 a
Testigo 0 (T1)	5.10 b	0.07 a	0.14 b	2.99 b
Dosis 50 (T2)	4.80 b	0.01 b	0.07 b	1.38 b
Sólida Dosis 100 (T3)	4.53 b	0.02 b	0.09 b	1.57 b
Dosis 150 (T4)	5.13 b	0.03 b	0.11 b	2.22 b
Dosis 200 (T5)	7.53 a	0.05 b	0.25 a	5.06 a

* = significancia

** = alta significancia NS = no significativo

A los 21 días de desarrollo, las plantas de lechuga inoculadas con HMA de fuente líquida, presentaron una longitud y un peso fresco de raíz muy significativamente mayores que las inoculadas con fuente sólida (Cuadro 7). Por otra parte, todas las variables medidas resultaron muy significativamente mayores con la

dosis más alta (200) de propágulos por planta. En el caso de las variables longitud y peso fresco de raíz, las dosis 150 y 200 propágulos por planta resultaron en valores estadísticamente similares, pero que superan a los obtenidos con el resto de las dosis aportadas. Sin embargo, el análisis estadístico del efecto combinado de la fuente del inóculo y la dosis aportada, no reveló diferencias significativas entre los tratamientos aplicados.

En el Cuadro 9 se muestran los resultados del análisis estadístico correspondiente a los datos (longitud, peso fresco y seco de raíz, peso fresco y seco foliar, área foliar, número de hojas y % de colonización) obtenidos en el muestreo realizado 28 días después de la siembra.

Cuadro 9. Comparación de medias de longitud de raíz, peso fresco de raíz, peso seco de raíz peso, fresco foliar, peso seco foliar, área foliar y número de hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) a 28 días en invernadero, en Uruapan, Michoacán

	Longitud de raíz (cm)	Peso fresco raíz (mg)	Peso seco raíz (mg)	Peso fresco foliar (mg)	Peso seco raíz (mg)	Peso seco foliar (mg)	Área foliar (cm ²)	Número de hojas
Fuente de inóculo	**	**	*	**	*	**	**	NS
Líquido	6.30 a	39.69 a	8.66 a	233.42 a	8.66 a	31.89 a	5.44 a	5.40 a
Sólido	4.81 b	26.22 b	5.79 b	151.81 b	5.79 b	19.46 b	3.33 b	5.07 a
Propágulos planta¹	**	**	*	**	*	**	**	NS
Testigo 0 (T1)	5.92 b	28.45 a	7.43 b	126.81 b	7.43 b	19.33 b	3.53 b	5.33 b
Dosis 50 (T2)	4.32 b	16.53 b	5.63 b	121.65 b	5.63 b	19.48 b	2.64 b	4.83 b
Dosis 100 (T3)	4.28 b	17.02 b	6.08 b	113.73 b	6.08 b	17.62 b	2.63 b	5.00 b
Dosis 150 (T4)	4.58 b	25.55 a	5.95 b	119.92 b	5.95 b	16.28 b	2.54 b	5.00 b
Dosis 200 (T5)	8.68 a	77.23 a	11.04 a	480.79 a	11.04 a	55.65 a	10.59 a	6.00 a
Fuente y dosis	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	*
Líquida								
Testigo 0 (T1)	6.37 b	124.03 b	20.87 b	124.03 b	124.03 b	6.30 b		19.80 b
Dosis 50 (T2)	5.47 b	173.57 b	19.77 b	173.57 b	173.57 b	7.67 b		27.93 b
Dosis 100 (T3)	5.53 b	147.43 b	23.93 b	147.43 b	147.43 b	9.27 b		23.90 b
Dosis 150 (T4)	4.90 b	122.30 b	28.57 b	122.30 b	122.30 b	6.83 b		17.40 b
Dosis 200 (T5)	9.33 a	599.75 a	105.33 a	599.75 a	599.75 a	13.25 a		70.40 a
Sólida								
Testigo 0 (T1)	5.47 b	129.93 b	36.03 b	129.93 b	129.93 b	8.57 b		18.87 b
Dosis 50 (T2)	3.27 b	69.73 b	13.30 b	69.73 b	69.73 b	3.60 c		11.03 b
Dosis 100 (T3)	3.03 b	80.03 b	10.10 b	80.03 b	80.03 b	2.90 c		11.33 b
Dosis 150 (T4)	4.27 b	117.53 b	22.53 b	117.53 b	117.53 b	5.07 c		15.17 b
Dosis 200 (T5)	8.03 a	361.83 b	49.13 b	361.83 b	361.83 b	8.83 b		40.90 a

* = significancia

** = alta significancia NS = no significativo

A los 28 días de desarrollo de las plantas de lechuga, las variables medidas longitud de raíz, peso fresco y seco de raíz, peso fresco y seco foliar y área foliar presentaron valores más altos en las plantas inoculadas con la fuente HMA líquida (Cuadro 8); el número de hojas fue similar con la fuente sólida o líquida de HMA. Con la cantidad aportada de 200 propágulos por planta, las variables longitud de raíz, peso fresco y seco de raíz, peso fresco y seco foliar, área foliar y número de hojas presentan valores más altos que con las dosis más pequeñas; el peso fresco de raíz es similar con 200 y 150 propágulos por planta, que sin inóculo, pero superiores que con el resto de las dosis de propágulos.

En la combinación de tratamientos, fuente y dosis de propágulos, la dosis de 200 propágulos por planta, dio lugar a valores significativamente mayores para las variables longitud de raíz, área foliar, peso seco foliar y número de hojas, tanto con la fuente líquida como con la sólida. Con esta misma dosis, las variables peso fresco y seco de raíz y peso fresco foliar presentaron valores significativamente mayores con la fuente líquida, que con la fuente sólida y/o las otras dosis.

Ensayo 2

La Figura 12 muestra el porcentaje de colonización de las raíces con los diferentes tratamientos, a los 21 y 28 días.

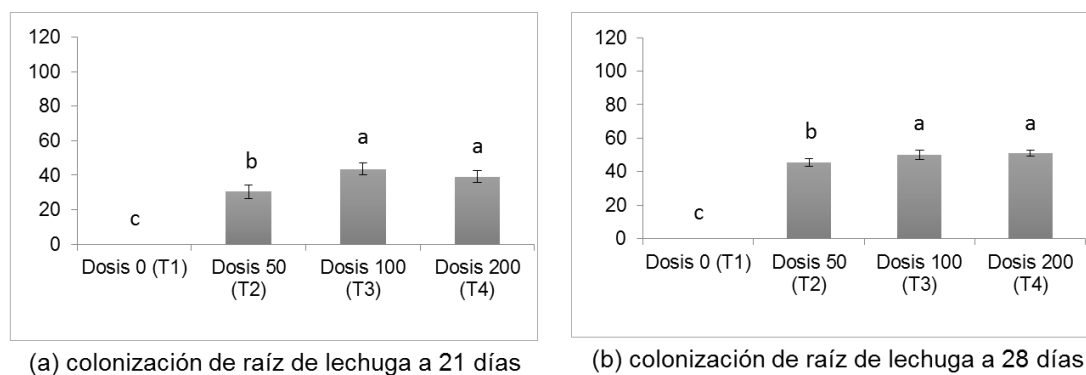


Figura 12. Comparación de medias de colonización de raíces de lechuga (*Lactuca sativa* L.) con inóculo líquido a 21 y 28 días en invernadero en Uruapan, Michoacán

Con la dosis de 50 propágulos por planta se logra una colonización del 40 % a los 28 días; con las de dosis 100 y 200 propágulos por planta se logra una colonización un poco mayor que con 50, pero similar en ambos casos.

En el Cuadro 14 se muestran los resultados correspondientes a las variables longitud de raíz, altura de planta, peso fresco de raíz y foliar, área foliar, peso seco de raíz y foliar, a los 21 días después de la siembra.

Cuadro 10. Comparación de medias de longitud de raíz, peso fresco de raíz, peso seco de raíz, peso fresco foliar, peso seco foliar, área foliar y altura de planta de lechuga (*Lactuca sativa* L.) a 21 días en invernadero, en Uruapan, Michoacán

	Longitud de raíz (cm)	Peso fresco raíz (mg)	Peso seco raíz (mg)	Peso fresco foliar (mg)	Peso seco foliar (mg)	Área foliar (cm ²)	Altura de planta (cm)
Propágulos/ planta⁻¹	*	NS		NS		NS	*
Dosis 0 (T1)	5.83 ab	19.26 a	5.77 a	96.80 a	13.21 a	2.41 a	2.10 ab
Dosis 50 (T2)	5.86 ab	20.10 a	6.56 a	105.97 a	17.73 a	2.53 a	2.33 a
Dosis 100 (T3)	4.61 b	17.31 a	5.37 a	112.57 a	14.85 a	2.78 a	2.03 b
Dosis 200 (T4)	6.04 a	20.85 a	5.27 a	111.97 a	14.47 a	2.39 a	2.08 ab

* = significancia

** = alta significancia NS = no significativo

La longitud de raíz fue significativamente mayor con la dosis de 200 propágulos por planta, que con la dosis de 100, pero similar a la obtenida con las dosis de 50 y 0. La altura de la planta fue superior con la dosis de 50 propágulos por planta que con 100, pero similar a las obtenidas con las dosis de 200 y 0. En las variables peso fresco y seco de raíz, así como peso fresco y seco parte aérea, los valores fueron similares con todas las dosis.

En el Cuadro se muestran 15 se muestran los resultados obtenidos a los 28 días de realizar la siembra, para las variables longitud de raíz, altura de planta, peso fresco y seco de raíz y hojas y área foliar.

Cuadro 11. Comparación de medias de longitud de raíz, peso fresco de raíz, peso seco de raíz, peso fresco foliar, peso seco foliar, área foliar y altura de planta de lechuga (*Lactuca sativa* L.) a 28 días en invernadero, en Uruapan, Michoacán

	Longitud de raíz (cm)	Peso fresco raíz (mg)	Peso seco raíz (mg)	Peso fresco foliar (mg)	Peso seco foliar (mg)	Área foliar (cm ²)	Altura de planta (cm)
Propágulos planta ¹	NS	NS	NS	NS	NS	*	*
Dosis 0 (T1)	6.46 a	15.83 a	7.50 a	82.12 a	17.00 a	1.91 b	2.00 ab
Dosis 50 (T2)	5.94 a	15.73 a	7.16 a	99.03 a	23.31 a	1.78 b	2.32 a
Dosis 100 (T3)	5.76 a	16.16 a	7.64 a	98.97 a	19.50 a	1.11 c	2.00 b
Dosis 200 (T4)	5.24 a	15.33 a	6.78 a	92.40 a	17.71 a	4.21 a	2.20 ab

* = significancia

** = alta significancia

NS = no significativo

La longitud de raíz, peso fresco y seco de raíz, peso fresco y seco foliar no presentaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. La altura de la planta fue superior con la dosis de 50 propágulos por planta que con la dosis de 100, aunque similar con 200 y 0. El área foliar fue mayor con la dosis de 200 propágulos por planta.

Los resultados obtenidos coinciden parcialmente con lo encontrado en plantas de jitomate por Fernández (2013), quien reporta diferencias significativas en crecimiento vegetal y fructificación. Para el caso de plantas de lechuga, solo la altura y el área foliar presentan diferencias significativas. Los resultados encontrados en plantas de lechuga en las variables peso fresco y seco no coinciden con Auge (2001), quien menciona que la presencia de HMA modifica el tamaño de la planta como consecuencia de la absorción de nutrientes, sobre todo de fósforo.

Con la dosis de 50 propágulos por planta se asegura una colonización de las raíces del 40 %, con transcurridos 28 días posteriores a la siembra, suficiente para realizar el trasplante; a dosis mayores el incremento de la colonización, aunque significativo, no resulta ventajoso. Por esta razón se toma como la mejor opción para

inocular las plantas de lechuga, la dosis de 50 propágulos por planta. Además esta dosis produjo plantas de mayor altura y las otras características de crecimiento medidas (salvo el área foliar) presentan valores similares de que con las otras dosis.

Ensayo 3

Los resultados obtenidos en el ensayo 3, referentes al porcentaje de colonización a los 60 y 74 días después del trasplante, se muestran en las Figuras 13 y 14.

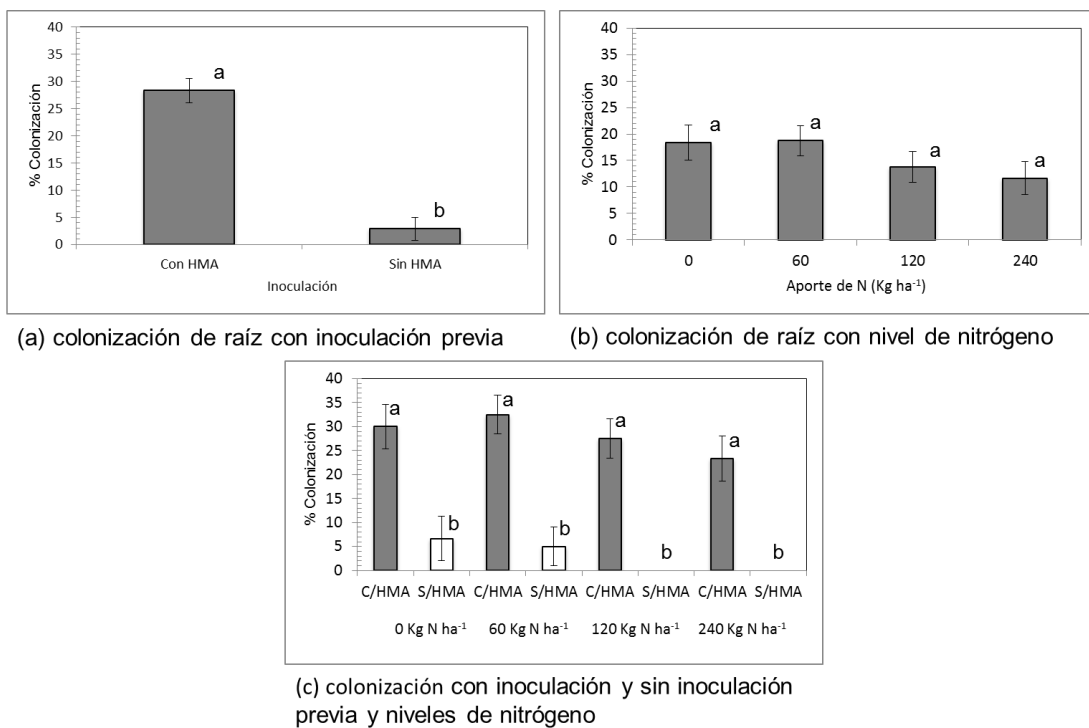


Figura 13. Comparación de medias de colonización de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo, a 60 días después del trasplante

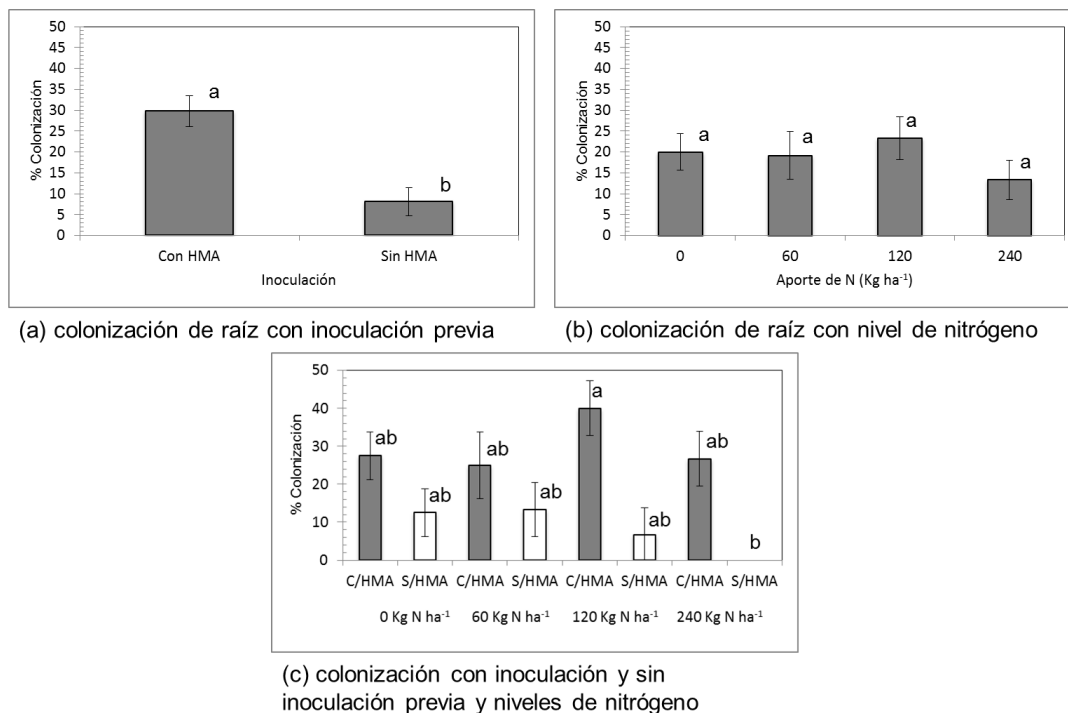


Figura 14. Comparación de medias de colonización de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo a 74 días posteriores al trasplante

A los 60 y 74 días, la colonización en las plantas inoculadas con HMA disminuye, en promedio, con respecto al porcentaje previo al trasplante, pero es significativamente superior a la de las plantas no inoculadas, las cuales presentan cierto nivel de colonización, adquirida posterior al trasplante. Estos resultados coinciden con los reportados por diferentes autores, como Fernández (2013), quien encontró colonización nativa en plantas de jitomate, y Barrer (2009) quien señala que en los suelos agrícolas es común la presencia de HMA nativos que benefician a los cultivos, y que el uso de monocultivos reduce la población microbiana, además de la diversidad. Los resultados en cuanto a colonización coinciden con Urcelay y Battistella (2007), quienes reportan que las plantas anuales como las compuestas muestran mejores valores de colonización total.

Los niveles de nitrógeno no influyeron en la colonización. La combinación de los dos factores (inoculación y fertilización) generó diferencias significativas a los 60 días con respecto a las plantas donde no se realizó la inoculación previa de HMA. A

los 74 días, las plantas no inoculadas fertilizadas con el nivel más alto de N (240 kg/ha) no muestran ninguna colonización. Esto puede explicarse por el efecto limitante del N sobre el desarrollo de los hongos micorrízicos, como lo señala Van (2010), quien indica que el aporte de nitrógeno altera negativamente la biodiversidad en los suelos, con consecuencias en los ciclos de los nutrientes que estos aportan a las plantas cultivadas. La combinación de factores inoculación de HMA y aplicación de nitrógeno no limitó significativamente la colonización.

Las características de peso seco de las plantas de lechuga en etapa de desarrollo (60 días) se muestran en el Figura 15.

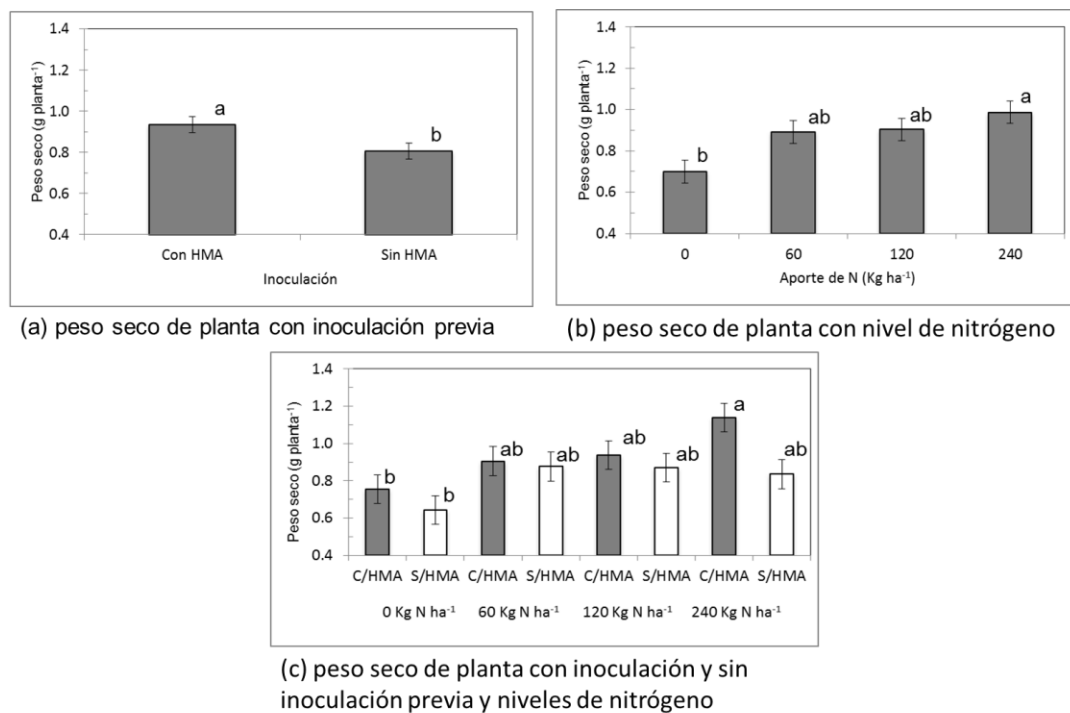


Figura 15. Comparación de medias de peso seco de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo, a 60 días después del trasplante

A los 60 días después del trasplante, el peso seco foliar fue significativamente mayor en las plantas de lechuga inoculadas con HMA y que en las no inoculadas. Las plantas fertilizadas con mayores niveles de nitrógeno, presentan un peso seco

significativamente mayor que las no fertilizadas. La combinación de los dos factores dio diferencias significativas con respecto al aporte mayor de N y sin N aportado.

En la Figura 16 se presenta el resultado del muestreo en el cultivo de lechuga realizado en la etapa de cosecha, a los 74 días después del trasplante.

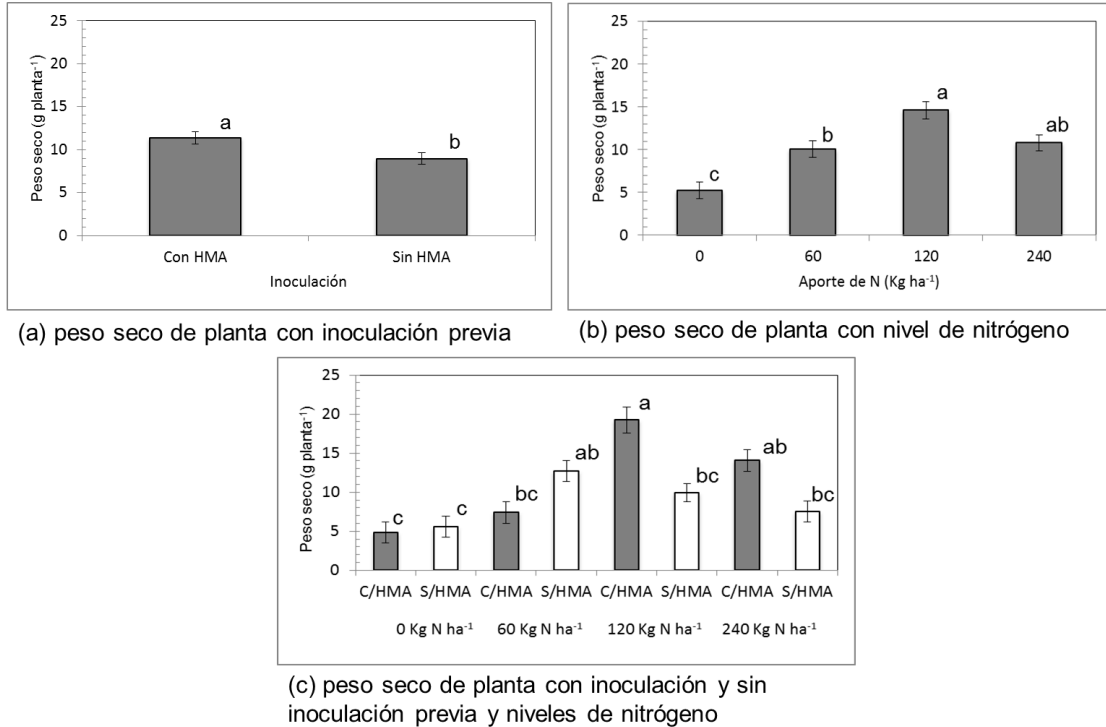


Figura 16. Comparación de medias de peso seco de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo, a 74 días después del trasplante

A los 74 días después del trasplante, el peso seco foliar fue significativamente mayor en las plantas de lechuga inoculadas con HMA y que en las no inoculadas. Entre las plantas fertilizadas con diferentes niveles de nitrógeno, el peso seco foliar mostró ser significativamente mayor con la dosis de 120 unidades, que con la dosis 60 y las no fertilizadas, pero similar al peso seco obtenido con la dosis 240. La combinación de los dos factores dio diferencias significativas donde se hizo aporte de HMA y el nivel de 120 de N comparado con los aportes menores de N.

El incremento de peso seco en plantas de lechuga encontrado coincide con lo reportado por Castellanos *et al.*, (2012), en plantas de fresa con diferencias en peso seco con planta inoculadas.

En la Figura 17 se presenta el resultado del muestreo realizado en la etapa de cosecha, a los 60 días después del trasplante.

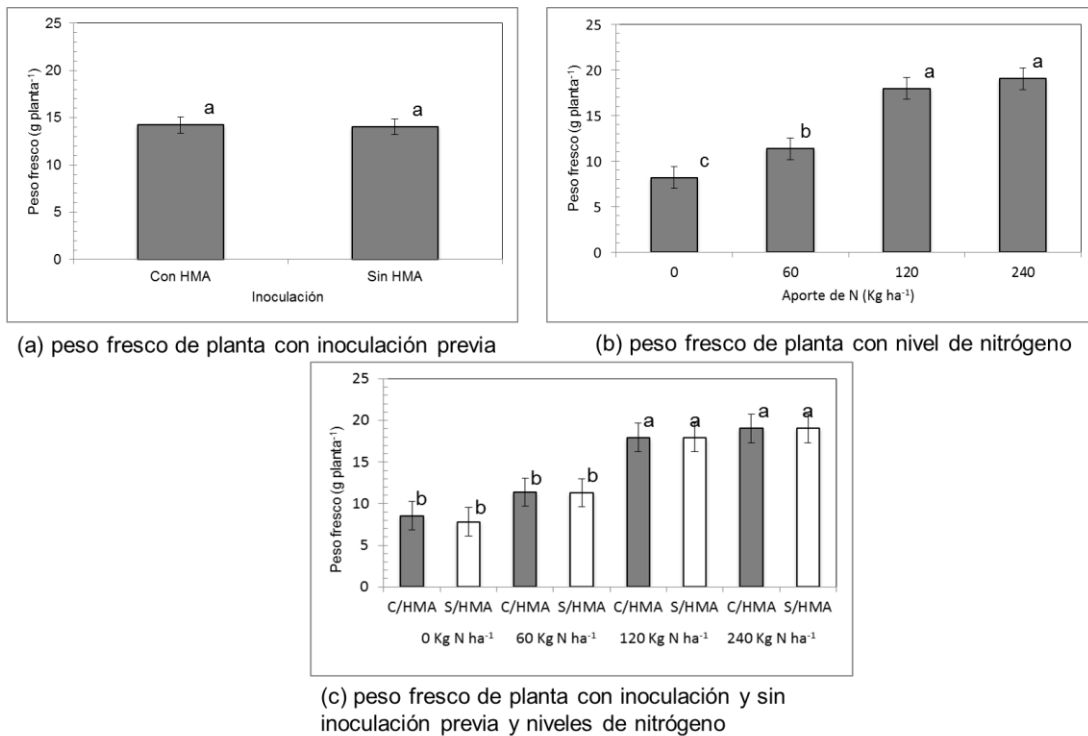


Figura 17. Comparación de medias de peso fresco de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo, a 60 días después del trasplante

A los 60 días después del trasplante, el peso fresco foliar no presentó diferencias significativas entre de las plantas de lechuga inoculadas y no inoculadas con HMA. El peso fresco de las plantas fertilizadas con dosis 120 y 240 fue significativamente mayor que el de las plantas fertilizadas con dosis 60, y este fue mayor que el de las plantas no fertilizadas. La combinación de los dos factores dio diferencias significativas mejores con los mayores aportes de N con o sin inoculación de HMA.

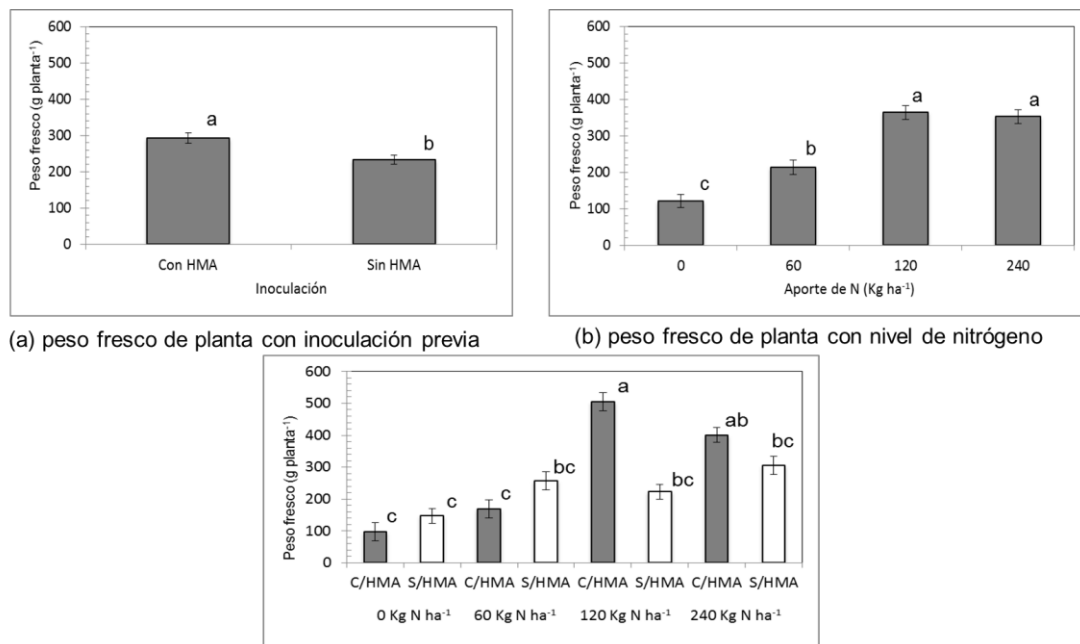


Figura 18. Comparación de medias de peso fresco de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo, a 74 días después del trasplante

A los 74 días después del trasplante, el peso fresco foliar fue significativamente mayor en las plantas de lechuga inoculadas con HMA que en las no inoculadas. Los diferentes mayores niveles de nitrógeno (dosis 240 y 120) dieron lugar a plantas con mayor peso fresco que las fertilizadas con poco N (dosis 60) y a su vez que las no fertilizadas. La combinación de los dos factores dio diferencias significativas con aporte de 120 de N y la inoculación previa de HMA con respecto de los menores aportes de N y sin HMA previo.

En las Figuras 19 y 20 se presentan los resultados relativos al área foliar, obtenidos en el muestreo realizado en la etapa de desarrollo y cosecha, a los 60 y 74 días después del trasplante.

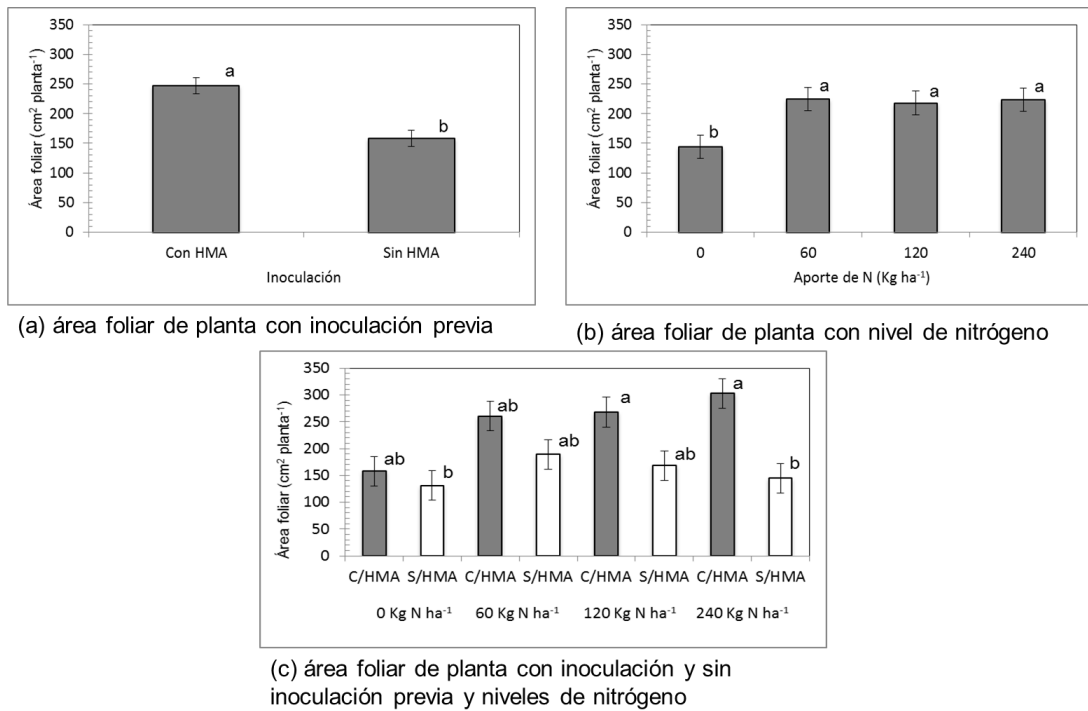


Figura 19. Comparación de medias de área foliar en hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo, a 60 días después del trasplante

A los 60 días después del trasplante, el área foliar de las plantas inoculadas con HMA fue significativamente mayor que la de las no inoculadas. Las plantas fertilizadas con diferentes niveles de nitrógeno presentaron un área foliar mayor que las no fertilizadas. La combinación de los dos factores dio diferencias significativas con aporte de 120 y 240 e inoculación previa de HMA comparado con los aportes menor y mayor sin aporte de HMA previo al establecimiento de las plantas.

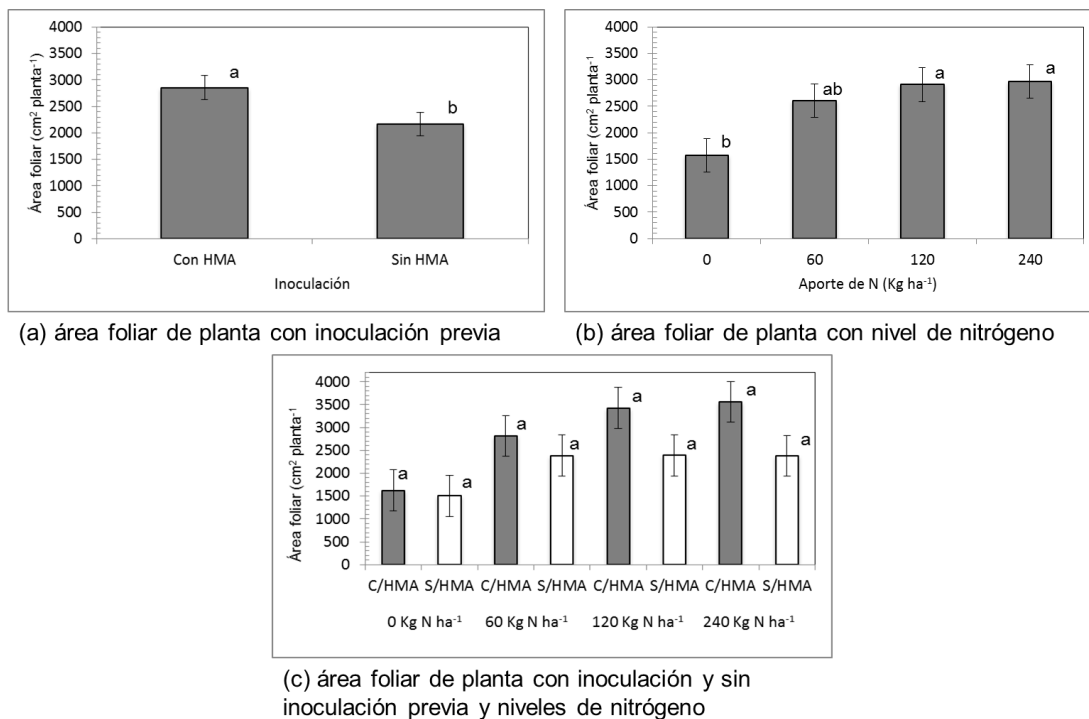


Figura 20. Comparación de medias de área foliar en hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo, a 74 días después del trasplante

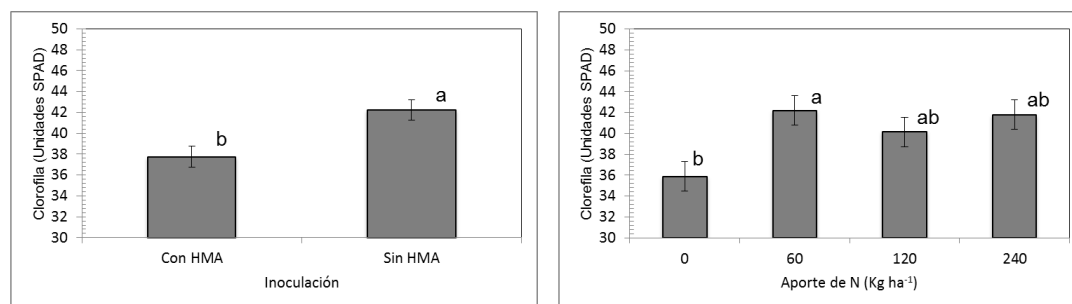
A los 74 días después del trasplante, el área foliar de las plantas inoculadas con HMA fue significativamente mayor que la de las no inoculadas. Las plantas fertilizadas con los mayores niveles de nitrógeno (240 y 120 kg/ha) presentaron un área foliar mayor que las no fertilizadas. La combinación de los dos factores no dio diferencias significativas.

Los resultados encontrados no coinciden con los trabajos desarrollados por Tapia-Goné *et al.*, (2010) en lechuga tipo orejona inoculada con HMA, en suelos salinos de San Luis Potosí, México. Estos autores encontraron porcentajes de colonización de hasta el 80 %, con un efecto positivo, pero no significativo, sobre el área foliar, el volumen de raíz y el peso seco.

Los resultados de mayor área foliar y peso fresco con el mayor aporte de nitrógeno concinden con los que reporta Castellanos *et al.*, (2012), en plantas de fresa

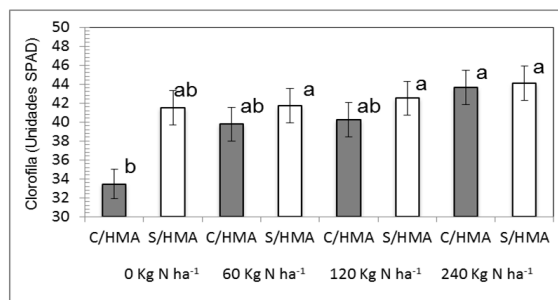
con mejor eficiencia de nitrógeno aportado y que esto es debido a la contribución de los HMA y la disponibilidad del elemento.

En el Figura 21 se muestra el resultado de la medición, en etapa de desarrollo de las plantas (60 días), del nivel de clorofila con un equipo SPAD, que se puede asociar a la actividad fotosintética de las plantas.



(a) clorofila en planta con inoculación previa

(b) clorofila en planta con nivel de nitrógeno



(a) clorofila en planta con inoculación y sin inoculación previa y niveles de nitrógeno

Figura 21. Comparación de medias, medición de clorofila en hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo, a 60 días después del trasplante

A los 60 días después del trasplante, las unidades de clorofila presentaron diferencias significativas entre plantas inoculadas y no inoculadas, siendo mayor en las no inoculadas. La fertilización nitrogenada, en particular con la mayor dosis de nitrógeno, dio lugar a más unidades de clorofila, que la ausencia de fertilizante. La combinación de factores muestra efecto significativo de los mayores aportes de N (240 kg/ha) con o sin inoculación previa de HMA con respecto al aporte menor de N con inoculación previa de HMA.

En la Figura 22 se presenta el resultado de la medición de clorofila realizado en la etapa de cosecha, a los 74 días después del trasplante.

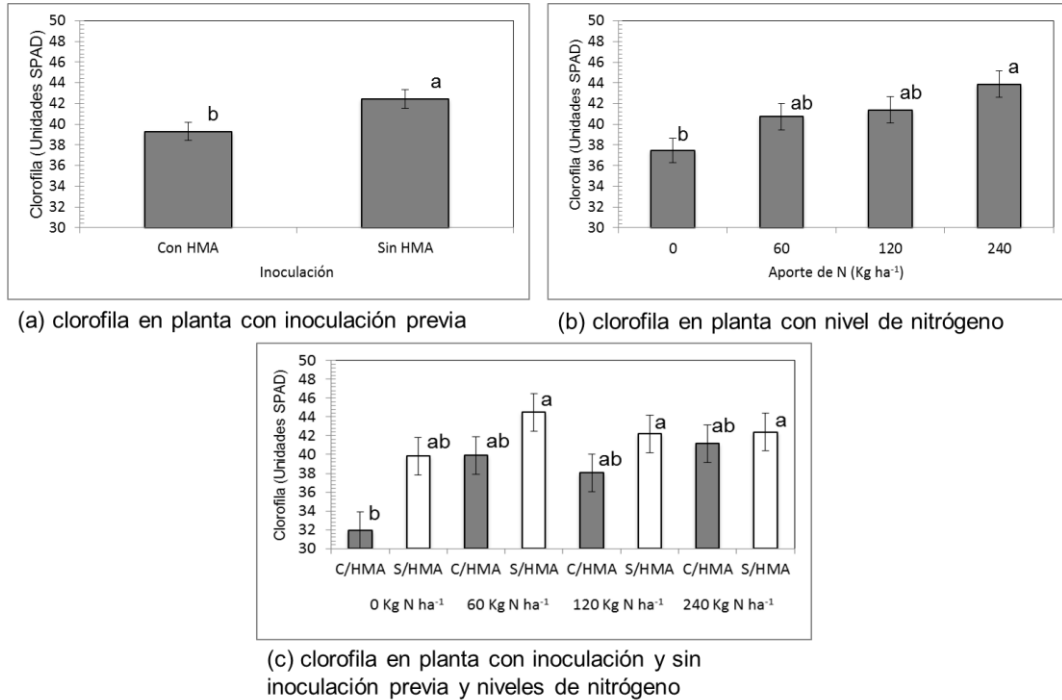


Figura 22. Comparación de medias, medición de clorofila en hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo, a 74 días después del trasplante

A los 74 días, se observan niveles de clorofila significativamente mayores en las plantas no inoculadas con HMA. Las unidades de clorofila sí cambian en función de la dosis de N, siendo significativamente menores en las plantas no fertilizadas. Las diferentes combinaciones de presencia de HMA y niveles de N produjeron efectos significativos mejores con el aporte de nitrógeno, comparado con inoculación previa de HMA y sin N.

Estos resultados coinciden con los reportados por Auge (2001), quien, en estudios de clorofila y fotosíntesis en plantas adultas de diferentes hortalizas, encontró que la presencia de HMA modifica la actividad fotosintética, por la simbiosis que se lleva a cabo entre la planta y el hongo.

Contenido nutrimental

Los niveles de fósforo presentes en las hojas de las plantas de lechuga, a 60 y 74 días posteriores al trasplante, se muestran en Figura 23 y 24, respectivamente.

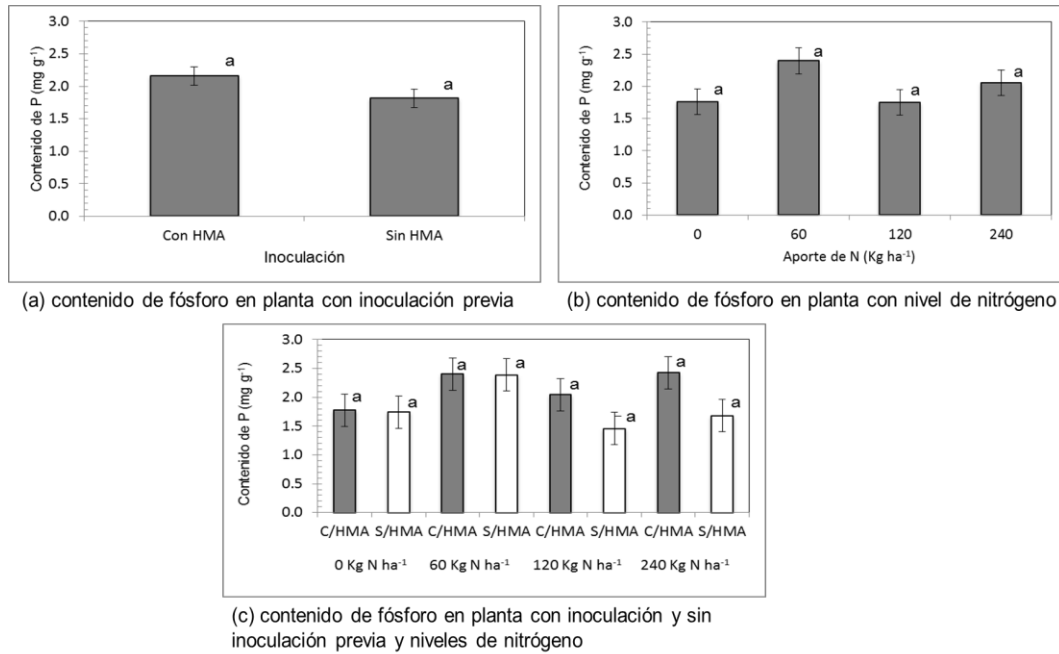


Figura 23. Comparación de medias de contenido de fósforo en hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo a los 60 días después del trasplante

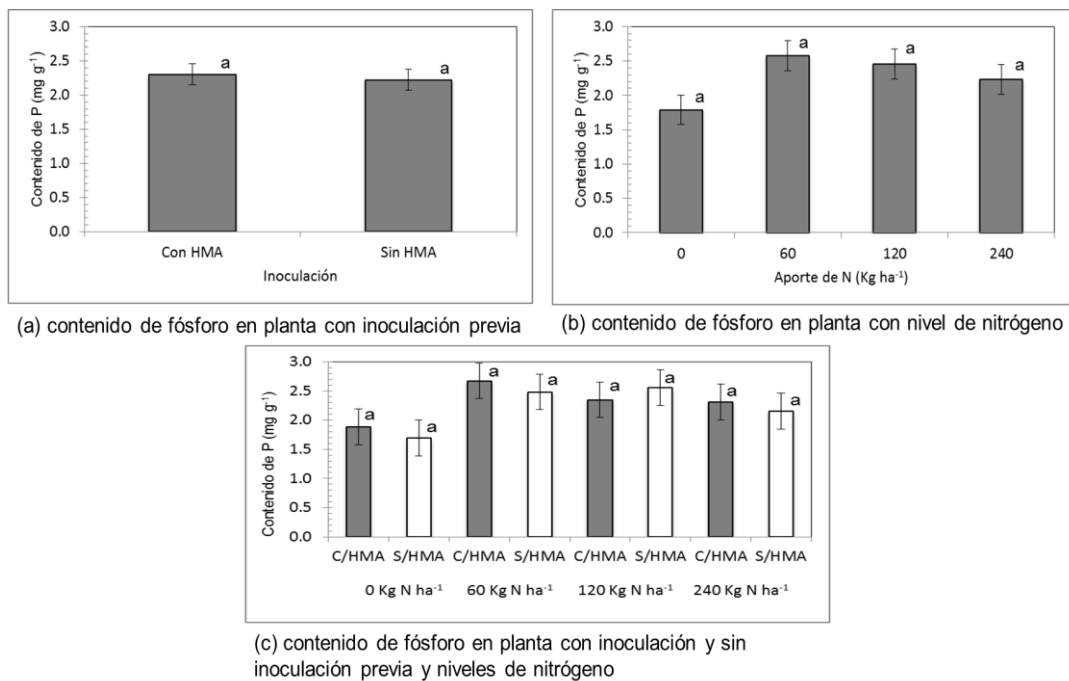


Figura 24. Comparación de medias de contenido de fósforo en hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en campo a los 74 días después del trasplante

Los análisis no mostraron diferencias significativas, ni como efecto de la inoculación con HMA, ni con los diferentes niveles de nitrógeno aplicados, así como su combinación. Esto indica que los HMA no contribuyen a incrementar el contenido de fósforo en hojas de lechuga en etapa de desarrollo y ni al momento de la cosecha.

Este resultado no coincide con lo reportado por Auge (2001), quien señala que la presencia de HMA modifica los niveles de fósforo en hojas de las plantas de diferentes hortalizas, y que la absorción de este elemento puede verse favorecida o limitada por la presencia de hongos micorrízicos. También Azcón *et al.*, (1992 y 1996) encontraron que los niveles de fósforo y otros elementos, excepto el calcio, se ven favorecidos por la presencia de HMA, bajo condiciones de estrés.

CONCLUSIONES

Con respecto a los métodos de inoculación del HMA, el objetivo fue encontrar la dosis de inóculo que, en condiciones de invernadero, asegure un porcentaje de colonización de las raíces de al menos 40 % por planta, antes del trasplante. El porcentaje de colonización se logra con la dosis de 50 propágulos por planta independientemente de la fuente de inóculo; sin embargo utilizando inóculo líquido se obtienen plantas con mejores características de crecimiento. Con dosis mayores e inóculo líquido, el efecto sobre la colonización, aunque significativo, no resulta ventajoso y no se aprecia ninguna mejoría en las características de las raíces de las plantas. Se elige la dosis de 50 propágulos por planta con fuente líquida, para inocular las plantas de lechuga en los subsecuentes experimentos en campo.

En condiciones de campo, el objetivo fue determinar el efecto de la inoculación y la aportación de diferentes niveles de nitrógeno, sobre la colonización y el crecimiento y desarrollo de las plantas. El porcentaje de colonización en las plantas inoculadas, una vez establecidas en campo, se mantuvo, independientemente de los niveles de fertilización nitrogenada. Se encontró que, de manera general, las características de crecimiento de las plantas mejoraron significativamente con presencia de HMA. En particular, en el momento de la cosecha a plantas fertilizadas con N tuvieron mayor peso fresco y seco, y más área foliar que las no fertilizadas, no habiendo diferencias claras entre las dosis de N. La misma tendencia se observa en las unidades de clorofila medidas en las hojas, que se pueden asociar al comportamiento fotosintético de la planta. En cuanto al contenido nutrimental de las hojas de lechuga, la presencia de HMA y los niveles de nitrógeno suministrados no tuvieron un efecto significativo en la concentración de fósforo.

RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo con el cultivo de lechuga, se sugiere lo siguiente:

- Estudiar el contenido de otros elementos nutricionales, como potasio y calcio, en la parte aérea de las plantas de lechuga cultivadas con los mismos tratamientos (Hongos Micorrízicos Arbusculares y niveles de nitrógeno).
- Evaluar otras especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares compatibles con plantas de lechuga, para contar con más opciones de inoculación.
- Evaluar otras fuentes de nitrógeno, además de nitrato de potasio, con plantas de lechuga inoculadas con Hongos Micorrízicos Arbusculares.
-
- Realizar un estudio en condiciones de hidroponía para evitar el efecto de la calidad del suelo.

LITERATURA CITADA

- Alejo, S.G.; Bugarín M.R.; Ortiz C.M.; Luna E.G. y Jiménez M.V. 2011.** Nutrición nitrogenada en cultivos importantes de Nayarit. Revista Fuente Año 3 No. 6 Enero-Marzo 2011. Nayarit, México. <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/02-06/5.pdf>. Consulta: 9/dic/2014.
- Auge, M.R. 2001.** Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Review. Springer-Verlag 2001. Mycorrhiza 11:3-42.
- Alvarado H.H, Beltrán N.M.A., Ríos C.P., Martínez T.M., Amora L.E. y Carreón-Abud Y. 2014.** Dinámica estacional de comunidades microbianas en huertas de aguacate con diferente uso de suelo. Biológicas, Julio 2014, 16 (1): 19–24. <http://www.biologicas.umich.mx/index.php/biologicas/article/view/189/pdf> Consulta 16 junio de 2015.
- Azcon By.R., Gomez M. and Tobar D.R. 1992.** Effects of nitrogen source on growth, nutrition, photosynthetic rate and nitrogen metabolism of mycorrhizal and phosphorus-fertilized plants of *Lactuca sativa* L. Departamentos de Microbiología y Fisiología Vegetal, Estación Experimental del Zaidin (C.S.LC), Granada, Spain. Consulta: 10/10/2014.
- Azcón, R., Gomez, M., and Tobar, R. 1996.** Physiological and nutritional responses by *Lactuca sativa* L. to nitrogen sources and mycorrhizal fungi under drought conditions. Biology and Fertility of Soils, 22(1-2), 156-161. Consulta: 10/10/2014.
https://scholar.google.com.mx/scholar?q=Physiological+and+nutritional+responses+by+Lactuca+Sativa+L.+to+nitrogen+sources+and+mycorrhizal+fungi+under+drought+conditions+&btnG=&hl=es&as_sdt=0%2C5

- Barrer S.E. 2009.** El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. Revista: Facultad de Ciencias Agropecuarias 124, vol. 7 no. 1 enero-Junio 2009. Bucaramanga, Colombia.
- Bartimeus, P. 2014.** 100 alimentos que curan: Combate las enfermedades más comunes y potencia tu salud. Grijalbo Ilustrados. Consulta en línea: 9/dic/2014. http://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=lt5_BAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT9&dq=beneficios+de+lactucario&ots=l17Sz94cVJ&sig=5Du0MOjhtlkOHtkdyh1-3DFcDVA#v=onepage&q&f=false.
- Biermann, B. & Linderman R.G. 1981.** Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: A proposed method towards standardization. *New Phytologist*, 87 (1), 63-67.
- Bugarín, M.R., Virgen P.M., Galvis S.A., García P.D., Hernández M.T., Bojorques S.I. y Madueño M.A. 2011.** Extracción de nitrógeno en seis especies olerícolas durante su ciclo vegetativo. *Bioagro* 23(2): 93-98. Marzo 2011. México. Consulta: 29/06/2014. <http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev23%282%29/3.%20Extracci%C3%B3n%20de%20nitr%C3%B3geno%20en%20seis%20especies%20oler%C3%ADcolas.pdf>
- Castellanos, M.V., Villegas-M.J., Vierheilig H. and Raul Cardenas N.R. 2012.** Nitrogen availability drives the effect of *Glomus intraradices* on the growth of strawberry (*Fragaria xananassa* Duch.) plant.
- Cuenca, G., Cáceres, A., Oirdobro, G., Hasmy, Z., y Urdaneta, C. 2007.** Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 32 (1), 23-29.
- Dan, S., Qiang, H., Zhaonan, D., & Zhengquan, H. 2014.** Genetic transformation of lettuce (*Lactuca sativa*): A review. *African Journal of Biotechnology*, 13(16), 1686-1693.

DOCE, (Diario Oficial de las Comunidades Europeas). **2002**. Reglamento (CE) No 563/2002 de la comisión de 2 de abril de 2002, por el que se modifica el Reglamento (CE) no 466/2001 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Consulta en línea: 9/dic/2014.

<http://www.agrodigital.com/upload/1/7/reglamento%20ce5632002%20por%20el%20que%20se%20fija%20el%20contenido%20maximo%20de%20determinados%20contaminantes%20en%20los%20productos%20alimenticios.pdf>.

Escalante C.L., Trejo C.R., Esquivel A.O., Arreola A.J.G., Flores H.A. 2008. Comparación de tasas fotosintéticas en algunas plantas cultivadas y malezas. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Revista Chapingo Serie Zonas Áridas. 2008. 7: 165-172. UACH. Bermejillo, Dgo. México. file:///C:/Users/felipe/Downloads/rchsaVII1036.pdf. Consulta 17 junio de 2015.

Fernández, F. 2013. Efectividad de algunos tipos de inoculantes micorrízicos a base de *Glomus hoi* "like" en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. Var. Amalia). Cultivos Tropicales, 27(3), 25-30. Consulta en línea: 12/12/2015. <http://200.14.48.83/index.php/ediciones/article/viewFile/369/pdf>

Financiera Rural. 2008. La producción de hortalizas en México. Dirección General Adjunta de Fomento y Promoción de Negocios y Dirección Ejecutiva de Diseño de Programas y Productos. Mayo, 2008. México.

Flores, M.A., Miranda F.R.A., Galvis S.A., Hernández M.M.T. y Ramos E.G. 2010. Estudio sobre el requerimiento interno de nitrógeno en lechuga (*Lactuca sativa*). Sociedades rurales, producción y medio ambiente. Vol.10 Número 19. 83-100. <http://132.248.9.34/hevila/Sociedadesruralesproduccionymedioambiente/2010/vol10/no19/4.pdf>.

Guerra, S.B.E. 2008. Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. Tecnología en Marcha, Vol. 21-1, Enero-Marzo 2008, P. 191-201.

Consulta: 29/junio/2014. http://www.tec-digital.itcr.ac.cr/servicios/ojs/index.php/tec_marcha/article/view/1352/1254

Hepper, C.M. and O'shea J. 1984. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in lettuce (*Lactuca sativa*) in relation to calcium supply. *Plant and Soil* 82, 61-68 (1984). Ms. 5873 9 1984. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, Dordrecht. Printed in the Netherlands. Department of Soil Microbiology, Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Hertfordshire AL5 2JQ, UK.

Martínez, G.F.J., Ojeda B. D.L., Hernández R. O.A., Martínez T.J. y De la O Q.G. 2011. El exceso de nitratos: un problema actual en la agricultura. Facultad de ciencias agrotecnológicas/universidad autónoma de chihuahua. *Syntesis, aventuras del pensamiento*. 57. Enero-marzo 2011. Consulta: 12/junio/2014. http://www.uach.mx/extencion_y_difusion/synthesis/2011/08/18/el_exceso_de_nitratos_un_problema_actual_en_la_agricultura.pdf

Marulanda, A., Azcon R. and Ruiz-Lozano J.M. 2003. Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. *Physiologia Plantarum* 119: 526–533. 2003 Copyright # *Physiologia Plantarum* 2003. Printed in Denmark.

Öpik, M., Vanatoa, A., Vanatoa, E., Moora, M., Davison, J., Kalwij, J. M., and Zobel, M. 2010. The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *New Phytologist*, 188 (1), 223-241. Consulta: 13/12/15. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2010.03334.x/pdf>

Owusu-Bennoah, E. 1991. Effects of nitrate and ammonium nitrogen on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in lettuce (*Lactuca sativa*) grown in sand with nutrient solutions. *Ghana Jnl agric. Sci.* 24-27,23-29. Accra: National Science & Technology Press. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Ghana, Legan, Ghana.

- Rincón, S.L. 2005.** Fertilización nitrogenada y contenido de nitratos en hojas de lechuga iceberg. Vida rural 50, 1 de junio. IMIDA Murcia, España. Consulta: 29/junio/2014.
http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Vrural/Vrural_2005_210_50_55.pdf
- Rincón, S.L., Pérez C.A., Pellicer B.C. Sáez S.J. y Abadía S.A. 2002.** Influencia de la fertilización nitrogenada en la absorción de nitrógeno y acumulación de nitratos en la lechuga iceberg. Centro de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (CIDA). Estación Sericícola. C/ Mayor s/n. 30150 La Alberca (Murcia). Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg. Vol. 17 (2). Página: 29/06/2014.
http://www.inia.es/GCONTREC/PUB/rincons_1161159865156.pdf
- Ruiz-Corro, R., Castellanos-Morales V. y Cárdenas-Navarro R. 2012.** Efecto de *Glomus intraradices*, *Azospirillum brasilense* y fertilización nitrogenada en fresa (*Fragaria xananassa* Duch.). VII Simposio Nacional y IV Reunión Iberoamericana de la Simbiosis Micorrízica. Centro de Investigación y desarrollo del Estado de Michoacán. Corporativo de Desarrollo Sustentable S.A de C.V. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Mayo, 2012. Jalapa, Veracruz. México.
http://www.uacj.mx/DGPDI/Documents/Documentos_PIFI/3.3/ICB/3.3_ICB_Re al_35.doc.pdf Consulta 17 de junio de 2015.
- Ruiz-Lozano, J.M., Azcon R. and Gómez M. 1996.** Ellevation of salt stress by arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. Physiologia Plantarum 98:767-772. Julio, 1996. Granada, España.
- Sánchez, T.M. 2010.** Evaluación de la calidad de lechuga (*Lactuca sativa* L.) respecto a su contenido de nitratos y materia seca. Revista de la Facultad de Agronomía-UNLPam-Vol N° 21. Santa Rosa, Argentina. Consulta en línea: 9/dic/2014.
http://es.wikipedia.org/wiki/Ciudad_de_Santa_Rosa

- SIAP** (Sistema de información agropecuaria y pesquera). **2015a**. Anuario estadístico agropecuario, avance de siembras y cosechas de lechuga, resumen nacional por estado otoño-invierno 2014 riego + temporal. Sagarpa. México.
- SIAP** (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). **2015b**. Lechuga *Lactuca sativa*. Sagarpa. México. Consulta 6 de noviembre de 2015. <http://www.siap.gob.mx/lechuga/>
- Sirtori, G. y Boffelli E. 2007**. Las lechugas; cultivo, cuidado y consejos prácticos. De Vecchi S.A.U. Barcelona.
- Smith, S.E. and Smith, F.A. 2011**. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. Annual review of plant biology, 62, 227-250.
- Tapia-Goné, J.J., Ferrera-Cerrato R., Varela-Fregoso L., Rodríguez-Ortiz J.C., Soria-Colunga J.C., Tiscareño-Iracheta M.Á. y Villar-Morales C. 2010**. Infectividad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). Revista Mexicana de Micología, 31, 69-74. Consulta en línea: 15 de octubre de 2015. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v31/v31a10.pdf>
- Tapia-Goné, J., Ferrera-Cerrato R., Varela-Fregoso L., Rodríguez-Ortiz J.C., Lara-Mireles J., Soria-Colunga, J.C. y Cisneros-Almazán R. 2008**. Caracterización e identificación morfológica de hongos formadores de micorriza arbuscular, en cinco suelos salinos del estado de San Luis Potosí, México. Revista Mexicana de Micología, 26, 1-7. Consulta en línea: 15 de octubre de 2015. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v26/v26a1.pdf>
- Tobar, R.M. Azcon, R. y Barea J.M. 1994**. The improvement of plant N acquisition from an ammonium-treated, drought-stressed soil by the fungal symbiont in arbuscular mycorrhizae. Mycorrhiza 4:105-108.

- Urcelay, C. y Battistella R. 2007.** Colonización micorrízica en distintos tipos funcionales de plantas herbáceas del centro de Argentina. Asociación Argentina de Ecología. *Ecología Austral* 17:179-188.
- Van, D.L.T., Lilleskov E.A., Pregitzer K.S., & Miller R.M. 2010.** Simulated nitrogen deposition causes a decline of intra-and extraradical abundance of arbuscular mycorrhizal fungi and changes in microbial community structure in northern hardwood forests. *Ecosystems*, 13 (5), 683-695.
- Velasco, V.J., Ferrera C.R y Almaraz S. J.J. 2001.** Vermicomposta, micorriza arbuscular y *Azospirillum brasilense* en tomate de cáscara. Recibido: Octubre de 1997. Aceptado: Abril de 2001. *Terra* 19 (3) 241-248. 30/06/2014. <http://www.chapingo.mx/terra/contenido/19/3/art241-248.pdf> Consulta: 29/junio/2014.
- Vierheilig, H., Coughlan A.P., Wyss U., y Piche Y. 1998.** Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*. December 1998; 64:12 5004-5007. Washington D.C.
- Vries, I.M. 1997.** Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 44: 165–174, 1997. 165 c. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. Department of Plant Taxonomy, Wageningen Agricultural University, P.O. Box 8010 NL-6700 ED Wageningen, The Netherlands.