

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA
APLICADA-TLAXCALA**

**DENSIDAD POBLACIONAL DE LOS HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EN SUELOS AGRÍCOLAS APLICADOS CON COMPOSTA**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

HÉCTOR SANTOS LUNA ZENDEJAS

**DIRECTORES DE TESIS
DRA. MARÍA MYRNA SOLÍS OBA
DR. JUAN MANUEL GONZÁLEZ PRIETO**

TLAXCALA, MEXICO AGOSTO 2012



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Tepetitla de Lardizábal el día 25 del mes junio del año 2012, el (la) que suscribe Héctor Santos Luna Zendejas alumno (a) del Programa de Doctorado en Ciencias en Biotecnología con número de registro B 081142, adscrito a Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. María Myrna Solís Oba y Dr. Juan Manuel González Prieto cede los derechos del trabajo intitulado **Densidad poblacional de los hongos micorrízicos arbusculares en suelos agrícolas aplicados con composta**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección hlzendejas9@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Héctor Santos Luna Zendejas

Nombre y firma

	ÍNDICE GENERAL	Pag.
INDICE DE TABLAS		7
INDICE DE FIGURAS		8
RESUMEN		9
ABSTRACT		11
1. INTRODUCCIÓN		12
1.1 MICORRIZAS		12
1.1.1 Tipos de micorrizas		13
1.1.2 Hongos micorrizógenos		14
1.1.3 Hongos micorrízicos arbusculares		15
1.1.4 Micorriza arbuscular (MA)		17
1.1.5 Distribución de la micorriza arbuscular		18
1.1.6 Efectos de los hongos MA en agricultura		19
1.1.7 Micorriza arbuscular como sustituto de fertilizantes		19
1.2 COMPOSTAS		21
1.2.1 Definición de composta		22
1.2.2 Propiedades de las compostas		22
1.2.3 Componentes para preparar compostas		23
1.2.4 Factores que condicionan el proceso de compostaje		25
1.3 ÁREA DE ESTUDIO		27
1.3.1 Municipio de Altzayanca		27
1.3.2 Orografía		27
1.3.3 Clima		27
1.3.4 Tipo de suelo		27
1.3.5 Uso actual del suelo		28
2. ANTECEDENTES		30
3. JUSTIFICACIÓN		33
4. HIPÓTESIS		34
5. OBJETIVOS		34
5.1 GENERAL		34
5.2 PARTICULARES		34
6. MATERIALES Y MÉTODOS		35
6.1 Compostas		35
6.2 Muestreo de suelo rizosférico en la región de Altzayanca		36
6.3 Siembra de maíz y frijol		37
6.4 Muestreo de suelo rizosférico y raíces de plantas en cultivo		38
6.5 Técnicas de estudio		39
6.5.1 Tinción de raíces de los cultivos de maíz y frijol		39
6.5.2 Determinación del porcentaje de colonización		39
6.5.3 Aislamiento de esporas de hongos MA		40
6.5.4 Montaje de esporas en preparaciones permanentes		40
6.5.5 Cuantificación de esporas		41
6.5.6 Determinación taxonómica de los hongos MA		42
6.6 Cultivo de haba en invernadero		42
6.6.1 Esterilización del suelo		43
6.6.2 Obtención del inóculo de hongos MA		43
6.6.3 Variables evaluadas en el ensayo en invernadero		43

6.7 Análisis estadístico para los parámetros medidos a los cultivos de maíz, frijol y haba	44
7. RESULTADOS y DISCUSIÓN	45
7.1 Características físicas y químicas de las compostas	45
7.1.1 Nutrientos	45
7.1.2 pH	46
7.1.3 Conductividad Eléctrica (CE)	47
7.1.4 Relación C/N	47
7.2 Géneros de hongos MA asociados a los cultivos	49
7.3 Resultados para cultivo de maíz (<i>Zea mays</i> L.)	50
7.3.1 Número de esporas de hongos MA	50
7.3.2 Colonización micorrízica	54
7.3.3 Crecimiento de maíz	57
7.3.4 Rendimiento de maíz	60
7.4 Resultados de cultivo de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	62
7.4.1 Número de esporas de hongos MA	62
7.4.2 Colonización micorrízica	64
7.4.3 Crecimiento de frijol	67
7.4.4 Rendimiento de frijol	69
7.5 Resultados de cultivo de haba (<i>Vicia faba</i> L.)	71
7.5.1 Altura de follaje	71
7.5.2 Biomasa fresca y seca de follaje	72
7.5.3 Biomasa fresca de las raíces	75
7.5.4 Rendimiento: peso fresco y seco de fruto	77
7.5.5 Evaluación de Fósforo (P) en biomasa seca del follaje	79
8. CONCLUSIONES	80
9. LITERATURA CITADA	81
ANEXO 1. Métodos para análisis físicos y químicos de las compostas	91
A.1.1 Medición de pH (1:2)	91
A.1.2 Determinación de conductividad eléctrica (CE) (1:5)	91
A.1.3 Determinación de cenizas (TMECC 05.07-A)	92
A.1.4 Determinación de materia orgánica y carbono orgánico (método As-07, Wakley y Black)	92
A.1.5 Determinación de sólidos totales	93
A.1.6 Determinación del % de humedad	93
A.1.7 Determinación de nitrógeno total (Khjendal)	94
A.1.8 Determinación de la relación C/N	94
A.1.9 Determinación del fósforo aprovechable para suelos (método AS-10, procedimiento Olsen)	95
A.1.10 Determinación de textura (método As-05 Bouyoucos)	96
A.1.11 Prueba de fitotoxicidad o madurez de compostas	96
ANEXO 2. Parámetros físicos y químicos de los residuos orgánicos industriales usados en el compostaje	98
ANEXO 3. Diagrama de Troug	99
ANEXO 4. Producción académica: Artículos científicos	100
Luna Zendejas Héctor Santos, López Wong Wenndy, Solís Oba Myrna and Vera Andrea (2011). Effect of compost made with sludge from wastewater treatment plants on field of corn (<i>Zea mays</i> L.) and arbuscular mycorrhizal fungi density. Afr J Agric Res 6: 1233-1240.	100

Luna Zendejas Héctor Santos, Solís Oba Myrna, López Wong Wenndy, Vera Reyes Andrea and González Prieto Juan Manuel (2011). Effects of compost made with sludge and organic residues on bean (*Phaseolus vulgaris* L.) crop and arbuscular mycorrhizal fungi density. *Afr J Agr Res* 6: 1580-1585. **108**

	Pag.
Tabla 1. Clasificación de las asociaciones micorrízicas	14
Tabla 2. Clasificación del grupo de hongos que forman la micorriza arbuscular basada en la diversidad genética del ADN	16
Tabla 3. Proporciones en volumen de los residuos orgánicos industriales utilizados para la preparación de las pilas para compostaje	35
Tabla 4. Ubicación geográfica de las zonas de muestreo en el municipio de Alzayanca, Tlaxcala	36
Tabla 5. Muestreo de suelo y raíces durante el ciclo de vida de los cultivos	38
Tabla 6. Diseño experimental para el ensayo con inoculación de esporas de HMA	43
Tabla 7. Relación de factores físicos, químicos de las compostas y del suelo	46
Tabla 8. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) Densidad de esporas de hongos MA en parcelas cultivadas con maíz adicionadas con compostas y controles sin y con fertilización	52
Tabla 9. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) Colonización promedio de las plantas de maíz en parcelas experimentales adicionadas con compostas y controles con y sin fertilizar	57
Tabla 10. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) del crecimiento promedio (cm) de las plantas de maíz en parcelas experimentales adicionadas con compostas y controles con y sin fertilizar.	59
Tabla 11. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) Densidad promedio de esporas de hongos MA en parcelas cultivadas con frijol adicionadas con compostas y controles sin y con fertilización	63
Tabla 12. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) Colonización promedio de las plantas de frijol en parcelas experimentales adicionadas con compostas y control sin fertilizar	66
Tabla 13. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) Crecimiento promedio de las plantas de frijol en parcelas experimentales adicionadas con compostas y control sin fertilizar.	69
Tabla 14. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) para la altura (cm) de las plantas de haba registrada en el cuarto muestreo.	72
Tabla 15. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) para la biomasa promedio del follaje fresco de las plantas de haba medida en el cuarto muestreo.	74
Tabla 16. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) para la biomasa promedio del follaje seco de las plantas de haba, medida en el cuarto muestreo.	74
Tabla 17. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) para la biomasa promedio radical de las plantas de haba, en el cuarto muestreo	76
Tabla 18. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) en el rendimiento promedio de grano fresco de las plantas de haba.	78
Tabla 19. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) en el rendimiento promedio de grano seco de las plantas de haba.	78
Tabla 20. Parámetros físicos y químicos de los residuos orgánicos industriales usados en el compostaje	98

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1 (A-F). Esporas de los géneros encontrados en las parcelas cultivadas con maíz y frijol bajo la adición de compostas y en las parcelas control con y sin fertilizar: A) <i>Acaulospora</i> (400X), B) <i>Glomus</i> (400X), C) <i>Glomus</i> (400X), D) <i>Sclerocystis</i> (400X), E) <i>Scutellospora</i> (400X), F) <i>Gigaspora</i> (400X).	49
Figura 2. Densidad promedio de la población de esporas de hongos MA de las parcelas cultivadas con maíz adicionadas con compostas, de los controles con y sin fertilización. Barras indican la desviación estándar de los datos.	51
Figuras 3 (A-F). Raíces de maíz recolectadas en la etapa de plántula (54 días de crecimiento) de las parcelas con compostas y controles: A) Composta 1, B) Composta 2, C) Composta 3, D) Composta 4, E) Composta 5, F) Control sin fertilizar y G) Control fertilizado.	55
Figuras 4 (A-F). Raíces de maíz recolectadas en la etapa de plántula (172 días de crecimiento) de las parcelas con compostas y controles: A) Composta 1, B) Composta 2, C) Composta 3, D) Composta 4, E) Composta 5, F) Control sin fertilizar y G) Control fertilizado.	55
Figura 5. Colonización micorrízica de las plantas de maíz (<i>Zea mays</i> L.) cultivadas en las parcelas experimentales adicionadas con compostas y controles con y sin fertilizar. Las barras representan la desviación estándar de los datos.	56
Figura 6. Crecimiento promedio de maíz (cm) en las parcelas experimentales aplicadas con diferentes compostas y controles con y sin fertilizar.	58
Figura 7. Rendimiento promedio de maíz (kg/ha) de las parcelas experimentales aplicadas con diferentes compostas y controles con y sin fertilizar.	61
Figura 8. Densidad poblacional de las esporas de hongos MA de parcelas cultivadas con frijol adicionadas con cinco compostas y controles sin y con fertilización. Las barras representan la desviación estándar de los datos.	62
Figuras 9 (A-F). Raíces de frijol recolectadas en la etapa de plántula (54 días de crecimiento) de las parcelas con compostas y controles sin fertilizar: A) Composta 1, B) Composta 2, C) Composta 3, D) Composta 4, E) Composta 5, F) Control sin fertilizar.	64
Figuras 10 (A-F). Raíces de frijol recolectadas en la etapa de plántula (138 días de crecimiento) de las parcelas con compostas y controles sin fertilizar: A) Composta 1, B) Composta 2, C) Composta 3, D) Composta 4, E) Composta 5, F) Control sin fertilizar.	65
Figura 11. Colonización micorrízica de las plantas de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) cultivadas en las parcelas experimentales adicionadas con compostas y control sin fertilizar. Las barras representan la desviación estándar de los datos.	66
Figura 12. Crecimiento promedio de frijol (cm) en las parcelas experimentales aplicadas con diferentes compostas y control sin fertilizar.	68
Figura 13. Rendimiento de frijol (kg/ha) de las parcelas experimentales aplicadas con diferentes compostas y control sin fertilizar	69
Figura 14. Altura promedio (cm) de la parte aérea de las plantas de haba (<i>Vicia faba</i> L.). Las barras significan la desviación estándar de los datos.	71
Figura 15. Biomasa promedio del follaje fresco de las plantas de haba (<i>Vicia faba</i> L.).Las barras representan la desviación estándar delos datos.	73
Figura 16. Biomasa promedio del follaje seco de las plantas de haba (<i>Vicia faba</i> L.). Las barras representan la desviación estándar delos datos.	73
Figura 17. Peso promedio de las raíces frescas de las plantas de haba (<i>Vicia faba</i> L.). Las barras representas la desviación estándar de los datos.	75
Figura 18. Rendimiento promedio en peso fresco y seco de los frutos de las plantas de haba (<i>Vicia faba</i> L.). Las barras representan la desviación estándar de los datos.	77
Figura 19. Diagrama de Troug, influencia del pH sobre la disponibilidad de nutrimentos	99

RESUMEN

En el presente estudio se evaluaron cinco compostas preparadas con diferentes proporciones de lodos de dos plantas de tratamiento de aguas residuales, uno de una industria refresquera y otro de una industria del papel, se mezclaron con residuos orgánicos de una empacadora de chile y rastrojo de maíz de la zona de estudio. Las compostas fueron probadas para determinar su efecto sobre la densidad poblacional de hongos micorrízicos arbusculares (MA) en maíz y frijol, asimismo, sobre el desarrollo y rendimiento de maíz, frijol y haba.

Se determinó la presencia de cinco géneros de hongos MA: *Glomus*, *Sclerocystis* (Glomaceae), *Acaulospora* (Acaulosporaceae), *Gigaspora* y *Scutellospora* (Gigasporaceae), el género *Glomus* fue el mejor representado en los cultivos.

En el caso del maíz al inicio del ciclo de vida de las plantas hubo cantidades pequeñas de esporas de hongos MA, las cuales incrementaron con el tiempo. En las parcelas aplicadas con las compostas se registró mayor número de esporas comparado con los controles sin y con fertilización inorgánica, el análisis estadístico mostró que si hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en el número de esporas de los hongos MA entre los tratamientos con compostas y los controles con y sin fertilización. En las parcelas con las compostas 2 y 3 fue donde se registró mayor número de esporas, la composta 2 tuvo la mayor cantidad de nutrimentos pero su elevado pH disminuyó la disponibilidad de los mismos, mientras que la composta 3 fue de las más pobre en nutrimentos; estas condiciones favorecieron el incremento en el número de esporas, ya que se ha reportado que altos niveles de P en el suelo tienen efectos negativos sobre el desarrollo y colonización de las raíces por los hongos MA. En cuanto al crecimiento del maíz, se observó que la altura promedio de las plantas de los tratamientos con las compostas 1, 2 y 4 mostraron alturas significativamente mayores a las del control sin fertilización; mientras que con la adición de todas las compostas se obtuvo mayor cantidad de grano comparada con el mismo control, además con la adición de la composta 4 hubo mayor rendimiento de maíz, siendo éste de 1554 kg/ha (62% del reportado en la zona de estudio).

En el cultivo de frijol también se observó que el número de esporas incrementó conforme avanzó el tiempo, en todos los tratamientos el número de esporas cuantificadas en las parcelas con composta

fueron significativamente diferentes ($P < 0,05$) a las encontradas en el control sin fertilización. Con la adición de las compostas 1, 3, 4 y 5 se obtuvo mayor número de esporas al final del ciclo de cultivo; las compostas 1 y 3 presentaron menores cantidades de nutrimentos de las cinco compostas y la composta 4 presentó buena cantidad de nutrientes con un pH ligeramente alcalino pudo haber afectado la disponibilidad de los mismos. En el caso de la colonización por los hongos MA en las parcelas adicionadas con las compostas 2, 3 y 5 se encontró mayor colonización comparada con el control. En todos los tratamientos y en el control el crecimiento de las plantas de frijol fue similar, solamente hubo diferencias significativas en la altura promedio de las plantas de la composta 2 comparadas con el control, ésta composta fue con la que se obtuvo el segundo mayor rendimiento de frijol, con la que se obtuvo mayor cantidad fue con la composta 5 (337 kg/ha que representó el 48% de los reportado para la zona de estudio).

En el ensayo para evaluar el efecto de adición de una composta e inóculo de hongos MA, sobre el desarrollo de haba (*Vicia faba* L.) se observó que la biomasa de la parte aérea (en fresco y seca), biomasa de raíz y rendimiento de haba. Con el tratamiento 1 y tratamiento 3 las plantas alcanzaron mayor altura al final del ciclo de la planta (muestreo IV). La mayor ganancia de biomasa (en fresco y seca) de la parte aérea y de raíz se observó en tratamiento 1, seguido de los tratamientos 3 y 2, en las plantas del control todos estos parámetros fueron menores. El mayor rendimiento de haba se obtuvo en el tratamiento 3 seguido del tratamiento 2.

La aplicación de compostas puede ser una estrategia, que por una parte permita la recuperación e incremento de las poblaciones de hongos AM al mejorar las propiedades del suelo, debido a que la materia orgánica y los minerales de los residuos y lodos podrán ser transformados en compuestos que pueden recuperar la fertilidad del suelo.

ABSTRACT

In the present study we evaluated five composts prepared with different proportions of sludge from two treatment plants, wastewater, one of a soft drink industry and one from a paper industry, organic waste is mixed with a chile-packing and corn stover of the study area. The composts were tested to determine their effect on the population density of arbuscular mycorrhizal fungi (MA) in corn and bean, also on the development and yield of corn (*Zea mays* L.), bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and broad bean (*Vicia faba* L.).

We determined the presence of five genera of fungi: *Glomus*, *Sclerocystis* (Glomaceae), *Acaulospora* (Acaulosporaceae), *Gigaspora* and *Scutellospora* (Gigasporaceae), the genus *Glomus* was the best represented in the crops.

In the case of corn (*Zea mays* L.) at the beginning of the life cycle of the plants were small amounts of spores of fungi, which increased with time. In the plots applied with the compost is highest number of spores compared with controls without and with inorganic fertilizer, statistical analysis showed that there were significant differences ($p < 0.05$) in the number of spores of AM fungi among treatments compost and controls with and without fertilization. In the compost plots 2 and 3 was where the highest number of spores, compost 2 had the greatest amount of nutrients but its high pH reduced the availability of data, while the compost 3 was the most nutrient-poor, these conditions favored an increase in the number of spores, as has been reported that high levels of soil P have negative effects on development and root colonization by AM fungi. Regarding the growth of corn, it was observed that the average height of the plants of the treatments with the composts 1, 2 and 4 showed significantly higher elevations to the control without fertilization, while the addition of all the compost was obtained more amount of grain compared with the same control, plus the addition of compost 4 had increased corn yield, and this is from 1554 kg / ha (62% reported in the study area).

In the bean (*Phaseolus vulgaris* L.) crop was also observed that the number of spores increased as time went on, in all treatments the number of spores quantified in plots with compost were significantly different ($p < 0.05$) than those found in the control without fertilization. With the addition of compost 1, 3, 4 and 5 was obtained more spores at the end of the growing cycle, the compost 1 and 3 had lower amounts of nutrients from the five compost and compost 4 presented good amount of

nutrients a slightly alkaline pH may have affected the availability of data. In the case of colonization by AM fungi in the plots with compost added 2, 3 and 5 were found higher colonization compared with control. In all treatments and control the growth of bean plants was similar, there were significant differences in average plant height of compost 2 compared with the control, this compost was with that obtained the second highest yield bean, with the largest number was obtained with the compost was 5 (337 kg / ha which represented 48% of those reported for the study area).

In the trial to evaluate the effect of addition of compost and AMF inoculum on the development of broad bean (*Vicia faba* L.) showed that the aboveground biomass (fresh and dry), root biomass and yield bean. Treatment with 1 and 3 treatment plants reached greater height at the end of the cycle of the plant (sample IV). The greatest gain of biomass (fresh and dry) of shoot and root was observed in treatment 1, followed by treatments 3 and 2 in the control plants all these parameters were lower. The highest yield was obtained in bean treatment 3 followed by treatment 2.

The application of compost can be a strategy, on the one hand allows the recovery and increased AM fungal populations by improving soil properties due to organic matter and minerals from the waste and sludge may be transformed into compounds that can restore soil fertility.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 MICORRIZAS

De manera general la micorriza se ha definido como la asociación simbiótica mutualista entre determinadas especies de hongos del suelo y las raíces de diferentes especies de plantas, es decir se trata de la unión integral e íntima de ayuda mutua entre el micelio y las raíces de diversas plantas, basada en el intercambio bidireccional de nutrimentos (Smith y Read, 2008). El hongo proporciona a la planta nutrimentos del suelo, principalmente fósforo, a cambio de hidratos de carbono fotosintéticos (Karandashov y Bucher, 2005).

La historia de las micorrizas se remonta a alrededor de 460 millones de años, durante el período Ordovícico, cuyo registro fósil evidenció la presencia de estructuras semejantes a hifas cenocíticas, raramente ramificadas y esporas, características que son muy semejantes a los rasgos actuales hongos MA, asimismo, se ha planteado que la relación simbiótica se pudo desarrollar con algunas plantas carentes de raíces como las hepáticas o antoceros e inclusive con Geosiphon (Glomales) el cual forma una endosimbiosis con cianobacterias (Redecker *et al.*, 2000), sugiriendo que esta asociación podría haber jugado un papel importante en la colonización del medio terrestre (Corradi y Bonfante, 2012). El término Mykorrhiza fue utilizado por primera vez en 1885 por el patólogo forestal Albert Bernard Frank, para designar la asociación que se producía entre las hifas de algún hongo del suelo, con las raíces de árboles forestales (Frank, 2005).

1.1.1 Tipos de micorrizas

Se han diferenciado distintos tipos de micorrizas, tomando principalmente en cuenta los grupos de hongos que están implicados en la formación de la asociación, los organismos involucrados son aquellos que presentan un micelio sin septos (Glomeromycota) y los que se caracterizan por poseer un micelio septado (Ascomycetes y Basidiomycetes). Brundrett (2008) diferenció cinco categorías de simbiosis micorrízicas con base en criterios anatómicos regulados por la planta hospedera: micorriza arbuscular, ectomicorriza, micorriza orquidiode, micorriza ericoide y micorriza sub-epidérmica; por su parte Smith y Read (2008) reconocieron siete tipos: micorriza arbuscular,

ectomicorriza, ectendomicorriza, micorriza arbutoide, micorriza monotropoide, micorriza ericoide y micorriza orquidiode (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de las asociaciones micorrízicas (Smith y Read, 2008)

No.	Categoría	Definición	Hospederos	Hongos
1	Micorriza Arbuscular	Micelio cenocítico, colonización intracelular con arbuscúlos y vesículas.	Briofitas, Pteridofitas, Gimnospermas y Angiospermas	Glomeromycota
2	Ectomicorriza	Manto de hifas cortas con septos que penetran entre las células de la raíz y forman una red de Hartig.	Gimnospermas y Angiospermas	Ascomycetes, Basidiomycetes, Glomeromycota
3	Ectendomicorriza	Con o sin manto, hifas con septos, colonización intracelular y con red de Hartig.	Gimnospermas y Angiospermas	Ascomycetes, Basidiomycetes
4	Micorriza Arbutoide	Hifas con septos, colonización intracelular, con o sin manto y con red de Hartig.	Ericales	Basidiomycetes
5	Micorriza Monotropoide	Hifas con septos, colonización intracelular, manto fúngico, red de Hartig.	Monotropoideae (sin clorofila)	Basidiomycetes
6	Micorriza Ericoide	Hifas septadas con colonización intracelular.	Ericales y Briofitas	Ascomycetes
7	Micorriza Orquidiode	Hifas septadas con colonización intracelular.	Orquidáceas (sin clorofila)	Basidiomycetes

1.1.2 Hongos micorrizógenos

Los hongos micorrizógenos han desempeñado un papel importante en muchos procesos microbiológicos y ecológicos que se desarrollan en el suelo, incidiendo sobre su fertilidad e influyendo en la descomposición y reciclado de los nutrientes minerales y de la materia orgánica, así como en la salud y nutrición de las plantas. Los hongos son organismos heterótrofos, requieren fuentes externas de carbono para obtener energía y realizar la síntesis celular; diversos grupos de ellos han desarrollado estrategias o modos de vida para obtener carbono y otros nutrientes de la materia orgánica, por ello existen organismos saprótrofos que viven sobre materia orgánica muerta, necrótrofos, que se alimentan de organismos vivos provocándoles la muerte y biotrófos, que obtienen su alimento sólo de células vivas; tal es el caso de los hongos formadores de micorrizas, que se han caracterizado por vivir como simbioses, asociándose con las raíces de una planta (Morton, 1999).

Las plantas a través de su sistema radical, proveen un nicho a diversos microorganismos que habitan el suelo, como los hongos micorrizógenos y bacterias. Además, las raíces de las plantas secretan diversos compuestos como aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares, vitaminas, purinas, enzimas, hormonas, iones inorgánicos, y CO₂ (Besserer *et al.*, 2006; Steinkellner *et al.*, 2007), los cuales cumplen diversas funciones importante como atrayentes y repelentes químicos en el área circundante al sistema radical. Los flavonoides presentes en los exudados de las raíces pueden fomentar simbiosis benéficas como es el caso entre leguminosas y *Rhizobium* al activar los genes inductores de la formación de los nódulos, también se les ha relacionado con la colonización de los hongos MA de las raíces de diversas plantas de interés agrícola como maíz, sorgo, frijol, tabaco, etc., además pueden cambiar las propiedades físicas y químicas del suelo, e inhibir el crecimiento de especies vegetales como las parasitas. (Walker *et al.*, 2003). Sin embargo, existen otros componentes en los exudados radicales, citados como moléculas de señalización implicados en la estimulación de la germinación, crecimiento y ramificación de las hifas de las esporas de hongos MA, llamados estrigolactonas, que es un sesquiterpeno lactona, destacando su importancia por la activación del gen involucrado en la ramificación de las hifas, evento que es crucial durante el reconocimiento de las raíces de la planta hospedera y el establecimiento de la asociación simbiótica (Steinkellner *et al.*, 2007; Requena *et al.*, 2007).

1.1.3 Hongos micorrízicos arbusculares

Los hongos micorrízicos arbusculares (MA) producen clamidosporas asexualmente por mitosis en el ápice de la hifa seguido por un engrosamiento de la pared estructural y oclusión de ésta por un septo (Schüßler *et al.*, 2001), las esporas son generalmente esféricas y contienen cientos de núcleos (Bécard y Pfeffer, 1993), con una pared constituida por varias capas, y su tamaño varia entre 20 y 1000 µm de diámetro; se pueden formar por separado, en grupos o agregados llamados carpóforos (Gerdemann y Trappe 1974) las hifas de estos hongos carecen de septos distribuidos regularmente. Este grupo de hongos está constituido por aproximadamente 200 morfo-especies que han sido tradicionalmente descritas con base en las características de la pared de la espora (Morton, 1988). Recientemente los hongos MA fueron reclasificados e instituyendo al filum Glomeromycota con base en el análisis de pequeñas secuencias de su subunidad rRNA (Schüßler y Walker, 2010) (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación del grupo de hongos que forman la micorriza arbuscular basada en la diversidad genética del ADN (Schüßler y Walker, 2010)

Phylum Glomeromycota		
Clase Glomeromycetes		
Orden	Familia	Género
Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i> , <i>Funneliformis</i> , <i>Rhizophagus</i> , <i>Sclerocystis</i>
	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>
Diversisporales	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i> , <i>Scutellospora</i> , <i>Racocetra</i>
	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>
	Entrophosporaceae	<i>Entrophospora</i>
	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>
	Diversisporaceae	<i>Diversispora</i> , <i>Otospora</i>
Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>
Archaeosporales	Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
	Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>
	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>

Por otro lado este grupo fúngico también interactúa con una amplia variedad de microorganismos de la rizósfera (Johansson *et al.*, 2004), la cual ha sido considerada como la zona circundante a las raíces de las plantas en donde se llevan a cabo importantes procesos, que determinan el desarrollo y producción de las plantas, a través del flujo de compuestos producto de la fotosíntesis que son exudados por la raíz en forma de carbohidratos, aminoácidos, vitaminas, enzimas, lo que hace que la rizósfera, sea una zona perfecta para el desarrollo y establecimiento de microorganismos benéficos como los hongos (MA) (Giri *et al.*, 2005). La interacción planta-hongos MA ha originado la existencia de un ambiente complejo definido como micorrizosfera, que es la rizósfera de una planta micorrizada, donde los exudados radicales juegan un papel importante, así como el micelio fúngicas en donde ambos pueden mejorar las propiedades físicas y químicas del suelo, influyendo también en la composición de las poblaciones microbianas (Linderman, 2008).

La micorrizosfera difiere de la rizósfera, porque las raíces unidas a las redes miceliales de los hongos MA incrementan su área de absorción, facilitan la captación de los nutrientes minerales, influyendo en el desarrollo de las plantas, otro aspecto es el desarrollo de interacciones con otros microorganismos como las bacterias del género *Rhizobium* (fijadoras de N) que llegan a tener un efecto de sinergismo, donde ambos producen un incremento del crecimiento, vigor y protección de la planta (Giri *et al.*, 2005) a través de cambios en la nutrición de la planta hospedera, variación en

los tipos de exudados que puedan modificar las poblaciones de microorganismos, ya sea por alteraciones en la germinación de esporas de hongos fitopatógenos, que en la mayoría de los casos se produce por estímulos de las propias exudaciones radiculares (Filion *et al.*, 2003).

1.1.4 Micorriza arbuscular (MA)

La micorriza arbuscular se ha definido como una asociación simbióticas mutualistas que se ha establecido entre el micelio de hongos del suelo del filum Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001; Schüßler y Walker, 2010) y las raíces de diversas familias de plantas. Esta asociación es la más común, se presenta en alrededor del 85% de las especies vegetales (Klironomos *et al.*, 2000; Van der Heijden y Sanders, 2002); como en la mayoría de las angiospermas (plantas con flores), en pteridofitas (helechos, licopodios, etc.), en algunas gimnospermas y en rizoides de musgos (Schüßler, 2000; Zhang y Liang-Dong, 2007; Fonseca y Berbera, 2008).

Los hongos MA estan presentes en el suelo en forma de esporas, al germinar producen un tubo hifal que crece a través del suelo hasta encontrar las raíces con las cuales puede establecer la simbiosis, una vez establecido el contacto entre los simbiosites, el hongo forma un apresorio sobre la superficie de éstas, a través del cual penetra hacia el interior del tejido cortical (Requena *et al.*, 2007; Genre y Bonfante, 2007). El patrón de colonización del micelio micorrízico dentro de la raíz varía dependiendo de las especies fúngicas involucradas, existen dos tipos morfológicos, el tipo París observado en *Paris quadrifolia* (Melanthiaceae, Lileales) y el tipo Arum descrito en *Arum maculatum* (Araceae, Alismatales) (Dickson, 2004).

El patrón Arum es el más común, el hongo crece intercelularmente a través de las células corticales de la raíz, ocasionalmente algunas hifas atraviesan la célula formando un enrollamiento hifal. Una vez dentro de la córtex radical, el hongo forma hifas ramificadas dicotómicamente, dando origen al llamado arbusculo; el cual es terminal y se diferencia en ramas laterales que surgen de las hifas intercelulares. Estas estructuras permanecen separadas del citoplasma de la célula vegetal por una extensión de la membrana plasmática de la planta, la cual rodea al hongo (Genre *et al.*, 2005). Entre la pared celular de la planta y la del hongo existe un espacio llamado interface (simbiótica,

micorrízica) o apoplasto interfacial (Schüßler *et al.*, 2006; Govindarajulu *et al.*, 2005; Chalot *et al.*, 2006).

Las hifas intraradicales del hongo están conectadas a las extraradicales formando un micelio continuo, es así que las hifas extraradicales adquieren el fosfato del suelo y es llevado hacia la planta a través de la interface cortical y el arbusculo por medio de los transportadores de fosfato; en el caso de maíz (*Zea mays* L.) por los transportadores *MPT*, *ZEAmA:Pht1;6*, *ZmPT6* (Karandashov y Bucher, 2005; Glassop *et al.*, 2005; Nagy *et al.*, 2006; Smith y Read, 2008). Asimismo, incrementan la captación de otros nutrimentos minerales (Harrison *et al.*, 2002; Govindarajulu *et al.*, 2005) como el nitrógeno (N) (Tobar *et al.*, 1999; Chalot *et al.*, 2006), cobre (Cu) y zinc (Zn) (Tarafdar y Marschner, 1994). De la misma manera esta simbiosis otorga a la planta una mayor resistencia a la acción de los patógenos que afectan a las raíces (Smith y Read, 2008) y a la parte aérea; a la tolerancia a estrés tanto biótico (Liu *et al.*, 2007) como abiótico como: pH, problemas de salinidad y sequía (Morte *et al.*, 2001; Augé, 2001, 2004; Dell'Amico *et al.*, 2002; Sheng *et al.*, 2009; Evelin *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2010), ya que mejoran los parámetros hídricos de las plantas e inducen un mayor desarrollo del sistema radical, lo que provoca un mayor y mejor desarrollo de ellas.

En esta simbiosis mutualista los hongos adquieren carbono orgánico fijado como hexosas desde el apoplasto de la raíz, durante las etapas de su ciclo de vida son metabolizados y almacenados como triacilglicerol (Lammers *et al.*, 2001; Bago *et al.*, 2002; Douds *et al.*, 2005).

1.1.5 Distribución de la micorriza arbuscular

La presencia y distribución de la micorrízica ha sido estudiada en gran diversidad de hábitats naturales y comunidades vegetales. Su distribución se basa en la de las plantas con las cuales están asociadas, creciendo en regiones árticas, templadas y tropicales (Read *et al.*, 2000; Ligrone *et al.*, 2007; Tchabi *et al.*, 2008) y en diferentes altitudes y latitudes (Allen 1991; Smith y Read, 2008); por ello son parte importante de los ecosistemas. No obstante, existen diferencias entre las distintas especies vegetales en cuanto a su dependencia por la micorriza, la cual se ha fundamentado en aspectos morfológicos del sistema radical – producción, abundancia, longitud, grado de ramificación, distribución y profundidad de las raíces y pelos radicales, asimismo, se han

considerado aspectos de rapidez de crecimiento, respuesta a las condiciones del suelo y la producción de exudados, todo ello juega un papel importante para delimitar la dependencia micorrízica (Brundrett, 2008).

1.1.6 Efectos de los hongos MA en agricultura

En las últimas décadas se ha impulsado el uso de otras alternativas que conduzcan a incrementar la producción agrícola y que además protejan el medio ambiente, a través de las interacciones biológicas naturales de la biota del suelo (Johansson *et al.*, 2004; Finlay, 2008). Los hongos MA han sido considerados como uno de los grupos fúngicos ecológicamente más importantes, siendo un factor clave en el intercambio de elementos minerales entre el suelo y las raíces de las plantas, al transportar a través de sus hifas iones de baja movilidad como el fósforo, reduciendo la necesidad del uso de fertilizantes químicos involucrados con la alta producción agrícola (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000; Bucher, 2007). El incremento del contenido de fósforo en los tejidos de las plantas micorrizadas aumenta el contenido de clorofila, como consecuencia de la actividad fotosintética (Feng *et al.*, 2002), además con la adquisición de nitrógeno en forma de amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-) también se mejora el crecimiento y productividad de los cultivos, por ello el uso potencial de estos hongos como fertilizantes bióticos es viable (Toussaint *et al.*, 2004; Govindarajulu *et al.*, 2005). Asimismo, el beneficio que los hongos nativos puedan brindar a las plantas cultivadas en determinados suelos dependerá de las prácticas agrícolas que sean seleccionadas (Alguacil *et al.*, 2008; Fokoma *et al.*, 2012), ya que éstas afectan la densidad de las raíces, la extensión de la colonización y la formación de esporas por unidad de raíz colonizada, y por ende, la abundancia relativa de las especies de hongos MA (Cesaro *et al.*, 2008).

1.1.7 Micorriza arbuscular como sustituto de fertilizantes

En los últimos 50 años la actividad humana ha modificado los ecosistemas con mayor rapidez y amplitud, en gran medida para satisfacer la demanda de alimento. Hoy en día, cerca del 60% de los ecosistemas se están degradando o utilizando en forma insostenible (IUSS, 2007). El uso de fertilizante se ha vuelto indispensable para obtener altos rendimientos agrícolas debido a la baja fertilidad de la mayoría de los suelos, a pesar de su alto costo. Hoy en día la agricultura mundial ha

tendido a buscar la sustentabilidad de los cultivos a través de alternativas de origen biológico que sean más económicas, y que mejoren la rentabilidad de los cultivos y que además eviten el deterioro ambiental a través de la reducción del uso de fertilizantes. Por lo tanto las oportunidades de incorporar a los hongos MA es una excelente e importante oportunidad para utilizarlos como biofertilizantes, bioprotectores y bioestimulantes en la agricultura sustentable (Siddiqui *et al.*, 2008). El uso de biofertilizantes es una importante alternativa para la sustitución parcial o total de los fertilizantes inorgánicos. Los hongos MA son componentes importantes de los agrosistemas, por realizar diversas funciones en asociación con las plantas, actuando así como sustitutos biológicos de los fertilizantes. Las hifas de los hongos MA se extienden más allá del sistema radicular de las plantas, lo que permite un abarcar un mayor volumen de suelo para ser explorado y adquirir el fósforo a través de ellas (Bucher, 2007). La absorción está mediada por los transportadores de fósforo de los hongos MA de la familia Pht1 y liberado en el apoplasto de la interface hongo-planta, una vez en el citosol de la planta el fósforo es depositado en todas las partes de ella (Nagy *et al.*, 2006). Los hongos AM proveen otros beneficios a sus hospederos al mejorar de la nutrición mineral, aumenta su tolerancia al estrés hídrico (Zhu *et al.*, 2010), actúan como agentes de biocontrol de hongos patógenos del género *Fusarium* (Al-Askar y Rashad, 2010) y reducen la sensibilidad a las sustancias tóxicas presentes en el suelo (Vivas *et al.*, 2003).

La biofertilización, consistir en el aumento del número de microorganismos en un suelo como es el caso de los hongos MA que incrementan la captación y la cantidad de nutrientes asimilables para la planta al interactuar con sus raíces (Souchie *et al.*, 2006). Este tipo de tratamiento de la planta con hongos MA presenta numerosas ventajas: disminuye el uso intensivo de fertilizantes, los costos de producción, la degradación de los agrosistemas y la pérdida de nutrientes (N, P) del suelo por lixiviados (Morte *et al.*, 2007).

1.2 COMPOSTAS

En las últimas décadas la población en México ha experimentado un crecimiento considerable, al igual que las actividades industriales, incrementándose el consumo de agua y, consecuentemente la generación de una mayor cantidad de aguas residuales de los sectores industriales, comerciales y municipales básicamente (SEMARNAT, 2002; CONAGUA, 2010), dando lugar a la necesidad de su tratamiento para propiciar su reutilización.

Actualmente se generan aproximadamente 13,64 Km³ de aguas residuales, donde el 7,66 Km³ son de origen municipal y 5,98 Km³ de no municipales (CONAGUA, 2010). A diciembre de 2009 existían en el país 2,029 plantas municipales en operación formal, con una capacidad total instalada de 121 m³/s, procesando un caudal de 88,1 m³/s, equivalente al 42,1% del total de las aguas residuales generadas y recolectadas, y con respecto a las tratamiento de éstas por parte de plantas industriales habían 2,256; de éstas 2,186 tenían un gasto de tratamiento de 36,700 m³/s, que equivale al 50,6% de su capacidad instalada (CONAGUA, 2010). La depuración de las aguas ha dado lugar a la producción de grandes volúmenes de residuos llamados lodos, los cuales son sólidos, semisólidos o líquidos y que no han sido sometidos a procesos de estabilización (SEMARNAT, 2002).

En la actualidad, se obtienen cantidades importantes de estos residuos que no tienen una aplicación directa, por lo que ha sido necesario buscar alternativas que conduzcan a encontrar una salida, puesto que no es aceptable, desde el punto de vista ambiental, su acumulación, ya que se han considerado en muchas ocasiones no reciclables de primera instancia, y que por tanto no son reintegrados al ciclo natural de reciclamiento de materia orgánica. Su acumulación se ha convertido en un grave problema, sin embargo, su alto contenido tanto de materia orgánica como inorgánica, y la presencia de microorganismos que desempeñan un papel importante en la mineralización de compuestos orgánicos los hacen un material susceptible de aprovecharse (Esparza Rodríguez, 2004; López Wong, 2010). Es por ello y bien cierto que en función de las características de estos materiales, resulta factible su incorporación al suelo a través de ser procesados y transformados en un recurso útil (Coker *et al.*, 1991).

Actualmente la biotecnología ambiental en combinación con otras tecnologías, han propuesto reciclar los residuos orgánicos a través del proceso de compostaje, cuyo producto final son las compostas. Éstas se caracterizan por ser estables e higiénicas y pueden ser utilizadas como mejoradores de suelos, a través de la incorporación de nutrientes minerales que incrementan la productividad agrícola (Abad y Puchades, 2002; Eghball, 2002; Atlas y Bartha, 2002; López y López, 2004; Widman *et al.*, 2005).

1.2.1 Definición de composta

El compostaje es el proceso de descomposición de la materia orgánica mediante un proceso microbiológico aeróbico, por el cual microorganismos como hongos, bacterias y actinomicetos, actúan sobre la materia biodegradable como restos de cosecha, excrementos de animales y residuos urbanos e industriales – lodos, entre otros, cuyo producto es llamado composta (Graves y Hattemer, 2000).

La composta es considerada como un abono excelente para la agricultura; que aplicada en los agrosistemas mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo e incrementa el crecimiento de las plantas (Navarro *et al.*, 1995; Graves y Hattemer, 2000). Bernal Calderón y Gondar Bouzada (2007) la consideraron como un insumo inodoro, estable, libre de patógenos, que no atrae insectos o vectores. Por lo que puede ser manejada y almacenada sin peligro por largos períodos de tiempo y por lo tanto, no representa riesgos sanitarios para el ambiente natural y social (Haug, 1993; Graves y Hattemer, 2000).

1.2.2 Propiedades de las compostas

Mejora las propiedades físicas del suelo: la materia orgánica favorece la estabilidad de la estructura de los agregados de los suelos, aumenta la porosidad y permeabilidad y aumenta su capacidad de retención de agua. Los suelos son más esponjosos y con mayor retención de agua (Atlas y Bartha, 2002; Caravaca *et al.*, 2002; Eghball *et al.*, 2004).

Mejora las propiedades químicas: aumenta el contenido de macronutrientes como el Nitrógeno (N), Fósforo (P), Potasio (K), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg), y los micronutrientes tales como el Hierro (Fe), Zinc (Zn), Manganeseo (Mn) y Cobre (Cu); así como la capacidad de intercambio catiónico (CIC) (Atlas y Bartha, 2002; Eghball *et al.*, 2004).

Mejora la actividad biológica: actúa como soporte y alimento de los microorganismos. La población microbiana es un indicador de la fertilidad del suelo (Moreno Casco, 2008). Reduce la erosión de los suelos (Rodríguez y Córdova, 2006). Esta libre de malos olores y puede ser almacenado durante períodos prolongados. Estas cualidades las hacen adecuadas para su uso en los agrosistemas (Soliva y López, 2004; Abad y Puchades, 2002).

1.2.3 Componentes para preparar compostas

Para la elaboración de compostas se puede emplear cualquier material orgánico, generalmente proceden de:

Restos de cosechas: pueden emplearse para hacer compostas o ser utilizados como texturizante en la elaboración de éstas. Los restos vegetales como hojas, troncos, ramas, tallos, frutos, tubérculos, etc., contienen altas cantidades de nitrógeno, sin embargo, son bajas en carbono (Rodríguez y Córdova, 2006).

Podas: de pastos, malas hierbas y ramas de frutales. Es importante triturarlas antes de su incorporación a la pila, para lograr una mejor biodegradación a corto plazo.

Residuos urbanos: son todos aquellos residuos orgánicos procedentes de los hogares como restos de alimentos (fruta, hortalizas, restos de animales), que a través de su reciclaje por composteo se genera un fertilizante orgánico utilizado cada vez más en la agricultura sustentable. Los residuos orgánicos composteados han ganado popularidad debido a su efecto positivo sobre las propiedades biológicas, físicas y químicas de los suelos (Rodríguez y Córdova, 2006; Hargreaves *et al.*, 2008).

Estiércoles: de bovinos, caprinos, ovinos, gallináceas y otros (Vázquez-Alvarado, 2003).

Plantas marinas: como *Posidonia oceánica* (fanerógama) ya que contienen compuestos ricos en N, P y C, cuyo aprovechamiento en agricultura como fertilizante orgánico puede ser de gran interés (Castaldi y Melis, 2002; Saidi *et al.*, 2009).

Los lodos se originan del proceso de tratamiento de aguas residuales. Debido a los procesos físicos y químicos implicados, éstos tienden a concentrar metales pesados y compuestos orgánicos poco biodegradables, así como potencialmente organismos patógenos (virus, bacterias, etc.) presentes en aguas residuales. Sin embargo, los lodos son ricos en nutrientes tales como nitrógeno y fósforo, y contienen materia orgánica útil en suelos deficientes o sujeto a la erosión (Aravena *et al.*, 2007).

La materia orgánica y los nutrientes son los elementos importantes que hacen que este tipo de residuos sean utilizados como fertilizantes o enmiendas orgánicas del suelo (<http://ec.europa.eu>). A pesar de ello los lodos han sido considerados como residuos peligrosos, sin embargo, cuando se les somete a un proceso de estabilización por la degradación biológica aeróbica pueden ser explotados benéficamente, por su contenido nutricional (Castrejón, 2000; Guerrero Nevárez *et al.*, 2007). La calidad de las enmiendas orgánicas dependerá del origen de la materia prima, de las cantidades utilizadas y del procedimiento de compostaje, asimismo, su efectividad también dependerá de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo donde sean aplicadas (Hargreaves *et al.*, 2008).

Lodos composteados fueron utilizados para determinar su efecto sobre la productividad de maíz, encontrando que en los tratamientos mixto II (12000 kg ha lodo + 350 kg ha de urea) y mixto I (8000 kg ha lodo + 350 kg ha de urea) el rendimiento de grano se incrementó en un 23,5 y 12,2%, respectivamente, con relación al tratamiento mineralizado. En cuanto a la presencia de metales ($Pb < 3$ mg/kg, $Cd < 0,1$ mg/kg y $Cr < 3$ mg/kg) en el suelo se observó que estuvieron por debajo de los límites permisibles de Europa (Delgado Arroyo *et al.*, 2002). También en suelos franco arcillosos cultivados con maíz se evaluó el efecto de la adición de lodos sin composteo (dosis de 18 Mg ha⁻¹), lodo composteados (dosis de 18 Mg ha⁻¹) y fertilizante inorgánico (150-75-30 - N-P-K), encontrándose que las parcelas tratadas con ambos lodos incrementaron el contenido de la materia orgánica (2,5 veces), del fósforo (1,4 veces) y del contenido (1,6 veces), así como también el rendimiento en grano cultivado (5,22 y 5,77 t ha⁻¹, respectivamente) con relación al tratamiento

fertilizado. Aunque las concentraciones de Zn y Cu aumentaron con la adición de los lodos, las concentraciones finales ambos tratamientos se encontraron por debajo de las concentraciones permitidas por las normas mexicanas. También se determinó que la calidad del grano fue buena y apta para el consumo humano. Con base en los resultados hallados se indicó que el uso de lodos no implicó riesgos ambientales (Vaca *et al.*, 2011). La aplicación de compostas elaboradas con restos de plantas agrícolas y estiércol de vaca en parcelas cultivadas con frijol,

1.2.4 Factores que condicionan el proceso de compostaje

El proceso de compostaje se basa en la actividad de los microorganismos: bacterias, hongos y actinomicetos que viven en la materia orgánica y que son los responsables de su descomposición. Para que estos microorganismos puedan desarrollar tal actividad, se necesitan ciertas condiciones óptimas de temperatura, humedad y oxigenación; de las condiciones ambientales, de los tipos de residuos y del tipo de técnica de compostaje empleada (Rodríguez y Córdova, 2006). Los factores más importantes son:

Temperatura - se consideran recomendables temperaturas entre 35 a 55 °C, para la eliminación de patógenos, parásitos y semillas de malas hierbas. A temperaturas muy altas, algunos microorganismos importantes para el proceso mueren (Moreno y Mormeneo, 2007).

Humedad – ha sido reconocida como uno de los aspectos críticos para lograr la optimización del proceso aeróbico de compostaje, la humedad óptima para el crecimiento microbiano se encuentra entre el 50 y 70%. La actividad biológica decrece cuando la humedad está por debajo del 30% y por encima del 70% el agua desplaza al aire dificultando la circulación del oxígeno, provocando condiciones anaerobias de la materia orgánica, generando malos olores, disminuyendo la velocidad del proceso. El contenido de humedad dependerá del tipo de residuo utilizado, para materiales fibrosos o residuos forestales gruesos la humedad máxima permisible es del 75 al 85 % (Moreno, 2008).

pH – la composición de los residuos se presenta en intervalos de pH entre 5 y 8 a temperaturas de 36°C. Sin embargo, si la temperatura sube a 46°C disminuye la velocidad de descomposición a pH

bajos, y se incrementa si el pH está por encima de 6,5. Esta diferencia se puede explicar por la sensibilidad de las comunidades de microorganismos al efecto combinado de condiciones de acidez y temperatura. Los microorganismos pueden tolerar factores ambientales extremos, por ejemplo altas temperaturas o bajos pH, pero no los dos al mismo tiempo, existen diferentes grupos de microorganismos: unos son mesófilos (ácido tolerantes) y otros termófilos (no toleran la acidez) (Sundberg *et al.*, 2004).

Oxígeno - El oxígeno es elemento esencial para la descomposición aeróbica y la supervivencia de bacterias, hongos y actinomicetos que participan durante el proceso aeróbico de compostaje, su presencia es esencial para el metabolismo aeróbico, ligado a la oxidación de las moléculas orgánicas de los residuos. Su consumo es proporcional a la actividad microbiana, por ello existe una relación directa entre el oxígeno y la temperatura. La mayor cantidad de éste se requiere durante la fase inicial de la degradación, debido al crecimiento de la población microbiana y su concentración dependerá del tipo de material que sea procesado (Rodríguez y Córdova, 2006).

Relación C/N - el carbono y el nitrógeno son los dos componentes básicos de la materia orgánica. Por ello para obtener una composta de buena calidad es importante que exista una relación equilibrada entre ambos elementos. Teóricamente una relación C/N inicial de 25:1 a 35:1 es la recomendada, si el material de partida contiene demasiado carbono, la relación será muy alta y el proceso será lento, la temperatura no subirá suficientemente y se perderá el exceso de carbono en forma de dióxido de carbono (CO_2), pero si el material contiene demasiado nitrógeno, la relación es baja y se producirán pérdidas de este elemento en forma de amoníaco (NH_3) (Rodríguez y Córdova, 2006). La relación C/N variará en función de los residuos utilizados (Graves y Hattemer, 2000).

1.3 ÁREA DE ESTUDIO

1.3.1 Municipio de Alzayanca

El municipio de Alzayanca se ubica en el Altiplano central mexicano a 2600 msnm, entre los 19° 26' latitud N y 97° 48' longitud O. Localizado al oriente del estado, colinda al norte y al oriente con el estado de Puebla, al sur con los municipios de Huamantla y Cuapiaxtla, y al poniente con los municipios de Huamantla y Terrenate (www.tlaxcala.gob.mx).

1.3.2 Orografía

Las características del relieve de su suelo son: zonas accidentadas, que abarcan aproximadamente el 70% de la superficie total y se localizan al norte del municipio; zonas semiplanas que representan el 20% de la superficie y se sitúan en la parte central; zonas planas que comprenden el restante 10% y se ubican en la parte sur del municipio (www.tlaxcala.gob.mx).

1.3.3 Clima

El clima es semi-seco, con régimen de lluvias en los meses de julio a septiembre. El periodo caluroso se presenta en los meses de marzo a mayo. La dirección de los vientos en general, es de sureste a noroeste. La temperatura promedio mínima anual registrada es de 6,3°C y la máxima de 22,3°C. La precipitación promedio mínima registrada es de 7,3 mm y la máxima de 122,7 mm (www.tlaxcala.gob.mx).

1.3.4 Tipo de suelo

En el municipio existen suelos regosoles districos, con arena eólica de materiales con sedimentos de cuenca y abanicos fluviales de la montaña La Malintzi. Además cambisoles entricos, que son suelos de barro café claro recubierto de la capa coluvial arenosa (Werner, 1988).

1.3.5 Uso actual del suelo

El total de la superficie que ocupan las unidades de producción rural en el municipio es de 13,747 hectáreas, área que representa el 5,7% de la superficie del estado. De tal extensión, 11,652 hectáreas (84,8%), constituyen la superficie de labor (cultivo anual o de ciclo corto), así como a frutales y plantaciones. El resto del suelo se distribuye en pastos naturales con 1,923 hectáreas (14%); bosque con 65 hectáreas (0,5%) y sin vegetación con 107 hectáreas (0,7%) (www.tlaxcala.gob.mx).

2. ANTECEDENTES

Con el aumento demográfico y la degradación de los suelos, se hace cada vez más difícil que la población mundial genere alimentos suficientes para abastecer sus necesidades y a la vez sostener la fertilidad de los suelos. Con el desarrollo y utilización de los fertilizantes inorgánicos logró generar altos rendimiento de los cultivos, sin embargo, esta práctica también ha desencadenado diversos problemas, como la carencia de nutrimentos minerales e inestabilidad de las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos agrícolas; todo ello ha ocasionando la pérdida de fertilidad y capacidad productiva. Como resultado de esta fertilización, se ha dado el aumento en los niveles de nitrógeno y fósforo en los agrosistemas, los cuales han tenido efectos negativos sobre el desarrollo, colonización, abundancia y composición de las poblaciones de esporas de hongos MA (Dekkers y Van der Werff, 2001; Hayman, 1970; Mårtensson y Carlgren, 1994; Egerton-Warburton y Allen, 2000). Covacevich *et al.* (2005) estudiaron el efecto de la fertilización fosforada en cultivos de trigo sobre la micorrización en suelos con contenidos de fósforo predominantemente bajos, observaron que cuando el contenido de fósforo era superior a 11 ppm la micorrización disminuía.

Recientemente Deepak (2008) determinó que la aplicación de fósforo a las raíces de trigo a concentraciones de 5 kg ha⁻¹ fue la óptima para que se desarrolle la colonización micorrízica, determinando un aumento de vesículas y arbuscúlos y un incremento en el desarrollo de las plantas y por ende un alto rendimiento. Sin embargo, al aumentar las concentraciones de P, se vio una disminución gradual de la colonización radical, la reducción del crecimiento de la planta y un menor rendimiento. Hao *et al.* (2008) investigaron en macetas de cultivo, la respuesta ante la inoculación de *Glomus mosseae* y *Glomus etunicatum* con dos líneas puras de maíz, así como del suministro de diversas concentraciones: 10, 50 y 100 mg P kg⁻¹ de suelo. Las dos líneas de maíz no difirieron significativamente en respuesta a la colonización micorrízica, sin embargo, la colonización disminuyó a concentraciones altas de P. El efecto benéfico de las dos especies de hongos MA con respecto al crecimiento de las plantas y al de la absorción de P fue mayor a concentraciones bajas, en tanto que con altas concentraciones fueron negativas; la respuesta micorrízica también disminuyó con el aumento de P.

En décadas reciente se ha impulsado el uso de diversos tipos de abonos orgánicos, como una estrategia integral de manejo de residuos y aprovechamiento de sus componentes, para generar material rico en nutrimentos que estén disponibles para las plantas. La aplicación de fertilizantes orgánicos como los estiércoles y biosólidos de plantas depuradoras, previamente sometidos al proceso de compostaje mejoran la producción agrícola al recuperar la fertilidad de los agrosistemas (Evanylo y Daniels, 1999; Esparza Rodríguez, 2004; Whalen *et al.*, 2008).

Bajo condiciones de invernadero las plantas de *Euphorbia prostrata* aumentaron significativamente su peso fresco y biomasa radical con la inoculación con hongos MA y vermicomposta, indicando que la utilización de ambos es importante para su desarrollo (Channashettar *et al.*, 2008). Por otro lado Gutierrez *et al.* (2008) investigaron el efecto de *Glomus claroideum*, *G. fasciculatum*, de una bacteria nativa diazotrofa, de estiércol de ovino y vermicomposta sobre el crecimiento de las plantas de maíz; para ello midieron el contenido de N y P en hojas y el porcentaje de micorrización. Observaron que la colonización micorrízica se incrementó significativamente en presencia de la bacteria diazotrofa y de la vermicomposta. Asimismo, determinaron que el peso de las plantas de maíz cultivadas en turba e inoculadas con *G. fasciculatum*, vermicomposta y con la bacteria aumentó considerablemente.

Puesto que los hongos micorrízicos constituyen un componente importante de la interface suelo-planta, es de suma importancia poder determinar las respuestas de éstos ante la aplicación de enmiendas orgánicas como las compostas. Se ha visto que al adicionar abonos orgánicos como estiércol de vaca y oveja, hojas de *Crotalaria juncea* y *Pongamia pinnata* en plantas de frijol caupí bajo condiciones de campo las concentraciones de P, N y K se incrementaron en el suelo, en tanto que al aumentar las concentración de carbohidratos en sus raíces, hubo un mayor desarrollo de arbusculos, mientras que la formación de vesículas, la colonización y la densidad de esporas disminuyeron, sin embargo al final del ciclo del cultivo el número de estas se incremento con respecto a la población del suelo sin enmienda orgánica, lo cual indica que las concentraciones de carbohidratos pueden influir en el desarrollo de la asociación micorrízica (Muthukumar y Udaiyan, 2000).

Serralde y Ramírez (2004) aplicaron tratamientos con base en materia orgánica (restos de frijol caupí y gallinaza) a dos variedades de maíz (ICA-Sikuani V-110 y regional Clavito) creciendo en suelos ácidos con alto contenido de aluminio (1 a 2 cmol+/kg) y bajo de fósforo disponible (<10 mg/kg), determinaron que la materia orgánica no tuvo un efecto determinante entre los tratamientos sobre la densidad total de esporas de los hongos MA, así como también en el porcentaje de colonización ($\geq 86\%$), sin embargo, ésta se correlacionó positivamente con la abundancia relativa de los géneros *Acaulospora*, *Entrophospora* y *Scutellospora* ($R^2 \geq 83,40$), mientras que a $\text{pH} \geq 5,2$ la abundancia de *Entrophospora*, *Gigaspora* y *Glomus* fue favorecida. El pH varió con respecto al tiempo, observándose que a un pH mayor a 5,2 el contenido de Al disminuyó e incrementándose el contenido de fósforo disponible, a pesar de ello éste no inhibió el desarrollo de la asociación micorrízica.

El crecimiento de los hongos MA puede estar limitado por la baja disponibilidad de nutrimentos en el suelo, bajo estas circunstancias la adición P o N puede aumentar su desarrollo (Allen, 1991). En respuesta a la adición de nitrógeno, Egerton-Warburton y Allen (2000) observaron cambios en las comunidades de especies como *Glomus aggregatum*, *Gl. leptotichum* y *Gl. geosporum* asociadas a un matorral de salvia de la costa sur de California, al aplicar fertilización nitrogenada y puede estar relacionada con los requerimientos de C, N y P propios de cada uno de los géneros o especies de hongos MA.

Las adiciones de N y K por fertilización química y la adición de estiércol no tienen efectos sobre la formación de la micorriza arbuscular, sin embargo, la adición conjunta de N, P y K reduce la colonización (Grant *et al.*, 2005). Por lo tanto, parece que las aplicaciones moderadas de estiércol tienen menor efecto adverso al contener cantidades similares de nutrimentos que los fertilizantes inorgánicos. Tal efecto es debido a la diferencia temporal en la disponibilidad del P, con el estiércol hay una liberación gradual de él, por lo que se presenta un equilibrio ante la demanda de la planta (Grant *et al.*, 2005). Del mismo modo, la densidad de esporas de los hongos MA en campos sembrados con soya de Japón, fue mayor en los suelos con un alto coeficiente de absorción de fosfato del suelo ($r=0,751$), mientras que la colonización de las raíces por estos hongos, presentó una correlación negativa con el contenido de fósforo disponible ($r=-0,300$). Lo cual sugiere que en suelos de origen volcánico (Andisoles y Regosoles) y con alto potencial de fijación de P, las

cantidades de esporas de hongos MA se pueden incrementar y jugar un papel importante en la captura P para las plantas (Isobe *et al.*, 2011).

El suelo del municipio de Alzayanca es del tipo de los Regosoles, de ahí la importancia de recuperar las poblaciones de estos hongos MA, a través de implementar practicas agrícolas tomado en cuenta el reciclamiento de biosólidos generados en las plantas depuradoras de diversas industrias para generar compostas, y que puedan ser aplicadas como fertilizantes orgánicos en los sistemas agrícolas, por lo anterior el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de compostas sobre la densidad de esporas de los hongos micorrízicos arbusculares presentes en dos cultivos maíz y frijol en un suelo de la región de Alzayanca y así como también a través de un ensayo utilizando el cultivo de haba.

3. JUSTIFICACIÓN

El municipio de Alzayanca, Tlaxcala, a pesar de ser uno de los de mayor importancia por su producción agrícola, atraviesa graves problemas por la falta de fertilidad de sus suelos, lo cual ha sido ocasionado principalmente por malas prácticas agrícolas. Por tales motivos, es muy importante desarrollar investigación encaminada a demostrar las ventajas de impulsar el uso de otras alternativas que conduzcan a incrementar la producción y que además protejan al medio ambiente a través de las interacciones biológicas de la biota del suelo; la micorriza arbuscular, representa una alternativa ya que es un factor clave en el intercambio de elementos minerales entre el suelo y las raíces de las plantas, reduciendo la necesidad del uso de fertilizantes químicos involucrados con la alta producción.

Por otro lado, los principales problemas ambientales que sufre nuestro país es el de la excesiva generación de residuos y su inadecuado manejo. En el país se estima que son producidas más de 32 millones de toneladas de basura o residuos sólidos. A pesar de ello, los residuos no han sido procesados a través de tratamientos para evitar la contaminación del suelo, agua y aire. La separación de los residuos sólidos permite reciclar elementos como el papel, cartón y textiles, entre otros, y tratar a los residuos orgánicos para generar abono (composta).

Hay una gama de lodos industriales no tóxicos que a la fecha no están siendo aprovechados y éstos se disponen en los rellenos sanitarios como lo es en el estado de Tlaxcala, sin embargo es importante destacar que su contenido de materia orgánica y nutrimentos minerales, especialmente compuestos de N y C así como la diversidad de microorganismos que contienen los convierten en componentes muy interesantes para incorporarse en la elaboración de compostas. Esto justifica estudiar el beneficio potencial de estos residuos en el enriquecimiento de suelos agrícolas, no solamente desde el punto de vista de la aportación de nutrimentos sino en el efecto de estos sobre la densidad de las poblaciones de hongos MA, conocimiento que permitirá estimar el uso potencial de compostas elaboradas con residuos orgánicos y lodos industriales no tóxicos en el desarrollo de los cultivos.

4. HIPÓTESIS

El uso de composta elaboradas con diversos residuos orgánicos, como los lodos de plantas de tratamiento de aguas industriales no tóxicos, aplicados en suelos agrícolas deficientes en nutrientes favorecerán el desarrollo de las comunidades microbianas del suelo, entre ellas las de los hongos micorrízicos arbusculares, así como también el desarrollo de los cultivo de maíz y frijol, a través de la incorporación de materia orgánica que mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Determinar el comportamiento poblacional de los hongos micorrízicos arbusculares (MA) en suelos agrícolas adicionados con compostas y evaluar el efecto de éstas sobre el desarrollo vegetal.

5.2 PARTICULARES

Se aislaran, cuantificaran e identificarán los géneros de los hongos MA presentes en los suelos experimentales del municipio de Alzayanca, Tlaxcala.

Se realizara el seguimiento de la densidad poblacional de hongos MA en parcelas experimentales cultivadas con maíz y frijol con la aplicación de diferentes compostas.

Se evaluara el efecto de las compostas sobre la colonización de los hongos MA, crecimiento y rendimiento de los cultivos de maíz y frijol.

Se determinara el efecto combinado de la aplicación de composta e inoculación de los hongos MA sobre el desarrollo y producción del cultivo de haba (*Vicia faba* L.) en macetas de ensayo.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Compostas

Se utilizaron cinco compostas previamente elaboradas por la maestra López Wong (2011) (Luna Zendejas *et al.*, 2011 a,b) colaborador del proyecto, las cuales se prepararon con lodos de dos plantas de tratamiento de agua, de una empresa refresquera y una papelera, con residuos de chile procedentes de una empacadora y rastrojo de maíz como texturizante. La mezcla de residuos y la proporción que se empleó de cada una se indica en la tabla 3. Los análisis de los residuos empleados se muestran en el anexo 1.

Tabla 3. Proporciones en volumen de los residuos orgánicos industriales utilizados para la preparación de las pilas para compostaje

Componentes	Porcentaje (%) en volumen en cada Composta				
	Composta 1	Composta 2	Composta 3	Composta 4	Composta 5
Chile (residuos de empacadora)	30	55	25	75	-
Rastrojo de maíz	10	10	5	25	10
Lodos de empresa papelera	30	-	45	-	45
Lodos de empresa de bebidas	30	35	25	-	45
Relación C/N	21	18	23	21	19

El primer paso en la elaboración de las compostas fue la selección de los residuos y la determinación de proporciones a utilizar (Tabla 3), posteriormente se formaron pilas de aproximadamente 1 m³ adicionando las cantidades correspondientes de cada uno de los residuos para cada una de las compostas, las pilas se mezclaron y se homogenizaron manualmente. El siguiente paso consistió en humedecer con agua corriente cada una de las pilas, mezclando los materiales nuevamente para agregar la suficiente agua y se taparon con plástico de manera no hermética para evitar la pérdida de agua. Cada una de las pilas se humedeció y volteó semanalmente, asimismo, se supervisaron para evitar alteraciones en el proceso. El compostaje duro cinco meses y al final se trituró cada composta con un molino agrícola John Deere (Modelo 9020) para su posterior aplicación.

La maestra López Wong (2010) analizó las compostas para verificar el cumplimiento de la Norma Técnica Estatal Ambiental (SMA, 2006) para emplearse como mejoradores de suelos, la metodología que siguió para cada parámetro se muestra en el anexo 1.

6.2 Muestreo de suelo rizosférico en la región de Altzayanca

Se evaluaron seis zonas agrícolas del municipio de Altzayanca, Tlaxcala. Su ubicación se muestra en la tabla 4. El muestreo se llevó a cabo con el objeto de obtener una muestra representativa de la biota nativa de hongos MA de esta región y seleccionar el terreno para la experimentación. La recolección de suelo se realizó perforando con una pala recta la zona rizosférica de cada planta a una profundidad de entre 15 y 20 cm aproximadamente, abarcando una periferia de 15 cm circundante al tallo de la planta, tomando una muestra de aproximadamente 1 kg de suelo.

Las muestras de suelo recolectadas fueron almacenadas en bolsas de polietileno perfectamente etiquetadas y refrigeradas a 4°C, con el propósito de preservar las estructuras fúngicas, en tanto se realizó la extracción de las esporas de los hongos MA.

Tabla 4. Ubicación geográfica de las zonas de muestreo en el municipio de Altzayanca, Tlaxcala

Zona	Sitio	Georeferencia	Altitud (msnm)
1	Altzayanca	N 19° 18' 32.8'' WO 97° 50' 47.9''	2416
2	Loma de Junquito	N 19° 20' 46.6'' WO 97° 44' 18.2''	2450
3	Las Cuevas	N 19° 21' 25.3'' WO 97° 44' 18.6''	2414
4	Xaltitla	N 19° 25' 50.9'' WO 97° 45' 59.1''	2606
5	Lazaro Cárdenas	N 19° 26' 53.2'' WO 97° 49' 33.1''	2600
6	Carrillo Puerto	N 19° 23' 09.4'' WO 97° 51' 26.8''	2475

La selección del terreno se llevó a cabo y fue identificado como zona 1 (tabla 4), posteriormente se realizaron las labores de campo como la labranza – la cual consiste en la remoción de la capa vegetal del suelo realizada antes de la siembra; rastreo el cual corresponde a la acción para

desmoronar las partes o porciones de suelo que han sido removidas por la labranza; y surcado – el cual consiste en formar, sobre el suelo, bordos continuos a cierta profundidad y separación, facilitando labores posteriores como el sembrado y cosecha.

6.3 Siembra de maíz y frijol

Una vez concluidas las labores de preparación para la siembra, el terreno se dividió en dos parcelas longitudinales, en una de ellas se sembró maíz y en otra frijol, cada una de éstas se dividió a su vez en siete subparcelas de 6 X 4 m (largo X ancho), cada una de ellas fue designada para el establecimiento de los tratamientos con cada una de las cinco compostas, un control sin fertilización y un control con fertilización. Se llevó a cabo la siembra de los cultivos, para ello se hicieron hoyos con una pala recta a una distancia de 30 cm uno de otro, con una profundidad de 10 cm. En cada hoyo se agregó la composta 80 g (5 ton/ha) y se depositaron tres semilla de frijol ó de maíz finalmente se cubrió con suelo. Como control se usó una parcela sin adición de composta ni de fertilizantes y una parcela para cada cultivo donde se adicionó el fertilizante químico comercial (200 Kg-urea/ha; 100 Kg-triple fosfato/ha) la adición de fertilizante fue una al mes de sembrado y otra a los dos meses y medio, la composta sólo se hizo una aplicación, las actividades de riego y de la aplicación de fertilizante se llevaron a cabo para ambos cultivos de acuerdo con la costumbre de los campesinos de la zona de estudio. En el terreno donde se llevó a cabo la experimentación se tiene riego y este se usó semanalmente para mantener la humedad de los cultivos.

Durante el ciclo agrícola de cada cultivo, se llevó a cabo cada 15 días la medición del crecimiento de las plantas de ambos cultivos, la cual consistió en medir la altura del tallo a partir de la superficie del suelo hasta la región superior de cada una de él. Al final del ciclo agrícola del maíz se recolectaron las mazorcas de cada subparcela, se secaron a temperatura ambiente, se desgranó la mazorca y se pesó para determinar su producción. En el caso de frijol, se cortaron las matas dejándose secar a temperatura ambiente, posteriormente se separó el grano de la vaina, se pesó y se determinó el rendimiento de cada una de las parcelas experimentales adicionadas con su respectiva composta.

6.4 Muestreo de suelo rizosférico y raíces de plantas en cultivo

Después de la siembra de los cultivos de maíz y frijol, se llevaron a cabo cuatro muestreos tanto de suelo rizosférico como de raíces a lo largo de las diferentes etapas fenológicas de las plantas (Tabla 5):

- Para frijol los muestreos fueron en: etapa de plántula (hojas trifoliadas [V2]) a los 30 días, plántula (3^a hoja trifoliada [V4]) a los 54 días, floración [R6] a los 107 días y fruto maduro (planta o vaina madura [R8]) a los 138 días (IICA *et al.*, 2009).
- Para maíz los muestreos fueron en: plántula [V6] a los 30 días, plántula [V9] a los 54 días, emergencia de espigas [R1] a los 138 días y fruto o grano duro [R5] a los 172 días (ISU, 1996; Cárcova *et al.*, 2003).

En cada muestreo se tomaron de cada una de las subparcelas tres muestras al azar de raíces de ambos cultivos, así como aproximadamente 1 kg de suelo rizosférico circundante al tallo de la planta, a una profundidad máxima de 20 cm. El muestreo se hizo caminando en zig-zag y de esquina a esquina de la subparcela. Las tres muestras obtenidas de cada una de las subparcelas se mezclaron para obtener una muestra mixta, con el objeto de tener representada a la población nativa de los hongos MA. Se recolectaron un total de 84 muestras de suelo rizosférico y 84 muestras de raíces para cada cultivo, dando un total de 336 muestras (Tabla 5).

Tabla 5. No. total de muestras de suelo y raíces durante el ciclo de vida de los cultivos

Muestr e o s			No. Muestras de suelo		No. Muestras de raíces	
	Etapas fenológicas		Maíz	Frijol	Maíz	Frijol
	Maíz	Frijol				
Muestreo 1	V6	V2	21	21	21	21
Muestreo 2	V9	V4	21	21	21	21
Muestreo 3	R1	R6	21	21	21	21
Muestreo 4	R5	R8	21	21	21	21
Total			84	84	84	84

6.5 Técnicas de estudio

6.5.1 Tinción de raíces de los cultivos de maíz y frijol

Se llevó a cabo la tinción de las muestras de raíces de los cultivos de maíz y frijol para determinar el porcentaje de colonización micorrízica y relacionarlo con el número de esporas de estos hongos presentes en la rizósfera de estos cultivos.

Las raíces recolectadas se tiñeron utilizando la técnica de Phillips y Hayman (1970), éstas se lavaron con agua corriente, con el objeto de eliminar las partículas de suelo. Se colocaron en un vaso de precipitado y se les agregó hidróxido de potasio (KOH) al 10%, se calentaron a 90°C en baño María de 15 a 30 min; posteriormente se enjuagaron con agua y se sumergieron en ácido clorhídrico (HCl) al 10%, dejándolas reposar por 10 min. Pasado este tiempo, se escurrieron y sin lavar, se agregó el azul de Tripán (SIGMA T6146) al 0,05% por 24 h a temperatura ambiente; se enjuagaron y se conservaron en refrigeración (4°C) en solución constituida por una mezcla de ácido láctico, agua y glicerina en proporción 1:1:2.

6.5.2 Determinación del porcentaje de colonización

Se tomaron 20 fragmentos de raíz de 2 cm de largo, éstos se colocaron sobre un portaobjetos a lo ancho de éste, uno al lado de otro, en forma paralela, se adicionaron tres o cuatro gotas de alcohol polivinílico sobre los segmentos y se colocó un cubreobjetos, dejando secar las preparaciones a temperatura ambiente por una semana, las muestras fueron debidamente etiquetadas.

Se observaron las preparaciones con la ayuda de un microscopio óptico (MOTIC B3-223) bajo el objetivo 10X como sigue: se comienza por uno de los extremos del primer segmento de la raíz, a partir de ahí se visualiza de manera horizontal recorriendo todos los segmentos de la raíz, al llegar al último segmento se mueve la platina verticalmente y se detiene en la parte media; el procedimiento se repite una vez más en el extremo inferior, hasta completar 60 campos (McGonigle *et al.*, 1990).

Al observar cada campo se registra la presencia (+) o ausencia (-) de las estructuras fúngicas para ser contabilizadas y se determina el porcentaje de colonización con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de colonización} = \frac{\# \text{ campos colonizados}}{\# \text{ total campos observados}} \times 100$$

Se elaboraron tres preparaciones por cada una de las muestras de raíces, la evaluación se hizo por triplicado.

6.5.3 Aislamiento de esporas de hongos MA

Para la extracción de las esporas de hongos MA se siguió la técnica de tamizado húmedo y decantación (Brundrett, 2008), la cual consistió en tomar 100 g de suelo rizosférico y colocarlos en un vaso de precipitado al que se le agregaron 900 ml de agua; ésta suspensión se mezcló vigorosamente por 30 s, se dejó reposar de 4 a 5 min y el sobrenadante se decantó sobre una serie de tamices de diferente tamaño de abertura (0,500 mm, 0,212 mm, 0,106 mm y 0,050 mm) ensamblados de mayor a menor tamaño, con el fin de separar las esporas, el proceso anterior se repitió cinco a seis veces. El material retenido en cada uno de los tamices se centrifugó a 2,000 rpm y el sobrenadante fue desechado. El material retenido en el fondo del tubo se centrifugó con sacarosa al 50% a 2,000 rpm durante cinco minutos, el sobrenadante se vació en un tamiz de 0,050 mm para ser lavado con agua corriente y luego se transfirió a una caja Petri. Mediante la observación con un microscopio estereoscópico (Vanguard 1274ZH) se separaron, cuantificaron y agruparon las esporas con base en su tamaño, forma, hifa de sostén y color.

6.5.4 Montaje de esporas en preparaciones permanentes

Las preparaciones sirvieron de referencia para la identificación de los géneros de hongos MA, se elaboraron de acuerdo con las técnicas de Schenck y Pérez (1990) y Brundrett (2008). Con las esporas extraídas se formaron dos grupos con base en sus características morfológicas como color,

tamaño, forma y presencia de la hifa de sostén, un grupo de ellas se depositó en un extremo del portaobjetos agregándosele una gota de alcohol polivinílico, y el otro grupo de esporas se colocó en el otro extremo con una gota con alcohol polivinílico con reactivo de Melzer, como medio de montaje. Se dejaron secar las preparaciones durante algunas horas y posteriormente se hizo presión sobre el cubreobjetos para romper las esporas, lo cual permitió observar los estratos de la pared, característica que es importante para su separación taxonómica.

El reactivo de Melzer es uno de los más empleados en la microscopia de hongos, se utiliza con el propósito de detectar si los estratos externos o internos constituyentes de la pared de las esporas, presenten una reacción amiloide (púrpura) que indica que el estrato contiene almidón cambiando de color de gris azulado a azul negruzco, o dextrinoide (rojo) reacción que revela la presencia de dextrinas, la coloración será de marrón a rojizo o a rojo oscuro (Morton, 1987), característica que ha sido considerada para separar morfoespecies.

Preparación de la solución madre.

En un vaso de precipitado se pone 1 g de yodo y 3 g de yoduro potasio, se agregan 30 ml de agua destilada y se mezcla hasta disolver, en seguida se añaden 40 ml de agua destilada y se agitar.

Preparación del reactivo:

Se toman 5 ml de solución madre y añaden 5 g de hidrato de cloral cristalizado, finalmente se agita y se deposita en un gotero ámbar para su uso.

6.5.5 Cuantificación de esporas

Mediante la utilización de un microscopio óptico (MOTIC B3-223) se hizo el conteo de las esporas que previamente fueron separadas y agrupadas en morfotipos con base en su tamaño, forma, hifa de sostén y color, el reporte se hizo por 100 g de suelo seco, donde sólo se tomaron en cuenta las esporas con aspecto físico saludable (pared sin perforaciones y contenido brillante con gránulos lipídicos).

6.5.6 Determinación taxonómica de los hongos MA

La determinación de cada género se efectuó con la ayuda de un microscopio óptico y se apoyó en la literatura especializada de Schenck y Pérez (1990), Morton y Benny (1990) y las guías del INVAM (www.invam.caf.wvu.edu).

6.6 Cultivo de haba en invernadero

Se estableció un ensayo utilizando la composta 3, seleccionada por haber encontrado el mayor número de esporas en la parcela de maíz, mientras que en la parcela de frijol presentó la segunda cantidad superior de esporas de hongos MA. Se empleó la planta de haba (*Vicia faba* L.) por ser altamente dependiente de la asociación micorrizica arbuscular (Tawaraya, 2003) para evaluar el efecto de la aplicación de la composta y de la inoculación con hongos MA sobre el desarrollo de la planta.

El suelo utilizado para elaborar las macetas proviene de la parcela experimental. El ensayo consistió en 4 tratamientos con 28 macetas cada uno, el tratamiento 1 se conformó de suelo estéril + composta + inóculo de hongos MA, el tratamiento 2 de suelo estéril + composta, el tratamiento 3 de suelo estéril + inóculo de hongos MA y el control con suelo agrícola sin esterilizar (Tabla 6). Las macetas de los tratamientos 1, 2 y 3 se llenaron con 4 kg de suelo y composta en proporción 3:1, las del control con 4 kg de suelo agrícola sin esterilizar (Rodríguez y Córdova, 2006), inmediatamente se sembraron dos semillas de haba por maceta. Las macetas permanecieron en un área perteneciente al CIBA-IPN, Tlaxcala, bajo condiciones ambientales durante el ciclo de vida de la planta (4 meses aproximadamente). Se tomaron muestras de raíces y parte aérea de la planta al mes después de la fecha de siembra (9 de mayo de 2011 y 18 de noviembre de 2012), a los dos meses, a los tres y a los cuatro meses (final del ciclo de vida) (Brundrett, 2008). El ensayo se estableció en dos ciclos de cultivo bajo las mismas condiciones.

Tabla 6. Diseño experimental para el ensayo con inoculación de esporas de hongos MA

	Control	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Suelo estéril		X	X	X
Suelo sin esterilizar	X			
Composta		X	X	
Inóculo de hongos MA		X		X

6.6.1 Esterilización del suelo

El suelo utilizado en los ensayos experimentales en invernadero fue previamente secado a temperatura ambiente y puesto dentro de botes metálicos para su esterilización en autoclave a 121°C y 1 atm de presión durante 60 min. Este procedimiento se repitió tres veces.

6.6.2 Obtención del inóculo de hongos MA

El inóculo utilizado para el establecimiento del ensayo se generó a través del empleo de la técnica de separación de esporas de hongos MA propuesta por Brundrett (2008). Por cada 100 g de suelo se obtuvieron aproximadamente 7 g de tamizado, con un promedio de 400 esporas. Cada maceta se inoculó con 14 g de esporas de hongos MA.

6.6.3 Variables evaluadas en el ensayo en invernadero

Las plantas de haba fueron evaluadas durante las siguientes etapas vegetativas: plántula (al mes de crecimiento), antes de la floración (dos meses), antes de fructificar (tres meses) y cultivo maduro (cuatro meses). Las variables evaluadas fueron:

- 1.- Longitud de la parte aérea (altura): medida realizada desde el hipocotilo hasta el extremo superior de la última hoja, medida cada 30 días.
- 2.- Biomasa fresca del follaje: medida obtenida al pesar en una balanza de precisión (SARTORIUS 1801) la parte aérea de las plantas, considerada desde el hipocotilo hasta el extremo superior de la última hoja, medida cada 30 días.

- 3.- Biomasa seca del follaje: medida obtenida tras poner en una bolsa de papel la parte aérea de la planta, posteriormente fueron colocadas en una estufa de secado a 60 °C al menos por 24 h hasta o hasta obtener un peso constante, pesadas en una balanza de precisión.
- 4.- Biomasa fresca de la raíz: se eliminó el suelo y se pesó a través del uso de una balanza de precisión (SARTORIUS 1801), medida cada 30 días. Es importante aclarar que no se determinó biomasa seca debido a que las raíces frescas debieron ser utilizadas para determinar el porcentaje de colonización de los hongos MA.
- 5.- Productividad Peso fresco: al final del ciclo de cultivo se pesó el total de las vainas producidas por cada una de las plantas por cada tratamiento. Cabe resaltar que en la zona de estudio el haba se comercializa principalmente en vaina fresca, por tal motivo se determinó así el rendimiento.
- 6.- Peso seco: se obtuvo después de secar todas las vainas en una estufa de secado a 60 °C al menos por 48 h o hasta obtener un peso constante.

6.7 Análisis estadístico para los parámetros medidos a los cultivos de maíz, frijol y haba

Todos los resultados reportados en este trabajo se expresaron como media de tres repeticiones. Los resultados se analizaron mediante el programa STATISTICA 7 versión para WINDOWS Vista, realizando análisis de varianza (ANOVA). Para determinar la significancia estadística de las diferencias se realizó una prueba de comparación múltiple de LSD ($\alpha=0.05$).

7. RESULTADOS y DISCUSIÓN

7.1 Características físicas y químicas de las compostas

Las cantidades de N, P y C variaron en las compostas estudiadas (tabla 7). La más rica en nutrimentos fue la composta 2, la cual tuvo la mayor cantidad de N y P siendo de 43,81 mg N/kg y 12,73 mg P/kg respectivamente y la segunda mayor cantidad de C (336,6 mg C/kg). La siguiente en nutrimentos fue la composta 5 que presentó la segunda mayor cantidad de N (31,81 mg/kg), la tercera mayor cantidad de P (8,325 mg/kg) y la cantidad más alta de carbono (347,85 mg/kg). En tercer lugar de nutrimentos estaría la composta 4 que presentó la cuarta mayor cantidad de N y la tercera mayor cantidad de P y C, las compostas 1 y 3 fueron las más bajas en aporte de nutrimentos. Es importante resaltar que el suelo tuvo niveles muy bajos de los tres nutrimentos, lo cual indica que el suelo de la zona de estudio presenta una alta erosión. En el control fertilizado se encontraron altas concentraciones de N y P como resultado de la aplicación de urea y triple fosfato.

En el presente trabajo se tuvo como objetivo determinar el efecto de la adición de compostas sobre la densidad de hongos MA y sobre el desarrollo de algunos cultivos, por lo que es muy importante indicar las características que presentaron las compostas para posteriormente explicar las variaciones que se observaron en los cultivos adicionados con las compostas comparado con los controles. Los parámetros evaluados a las compostas fueron: cantidad de N, P y C; pH; conductividad eléctrica y relación C/N.

7.1.1 Nutrimentos

El nitrógeno es un elemento de gran importancia, forma parte de las principales biomoléculas (aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, etc.) y es uno de los principales factores que limitan el crecimiento de las plantas (Myrold, 1999). El nitrógeno se encuentra casi en su totalidad en forma orgánica contenido en la materia del suelo, en plantas y animales, debe ser transformado a su forma inorgánica (NH_4^+ y NO_3^-) para ser aprovechado por las plantas, lo cual es llevado a cabo por bacterias fijadoras de N (Jones *et al.*, 2007; Fauvart y Michiels, 2008).

El P es otro de los elementos muy importantes ya que también forma parte de diversas biomoléculas, es necesario para la generación del ATP, para la síntesis de los fosfolípidos y de los ácidos nucleicos, participa de manera importante durante la floración y fructificación de las plantas

(Castellanos *et al.*, 2000). De acuerdo con Mullen (1999) la cantidad de fósforo en el suelo varía de entre $<100 \mu\text{g g}^{-1}$ (suelos arenosos) hasta $>1,000 \mu\text{g g}^{-1}$, además su concentración en solución en el suelo es de 0,1 a 1 mg L^{-1} , de esta cantidad más de la mitad puede estar en forma de compuestos orgánicos, su disponibilidad dependerá del tipo de suelo y gran parte de él que este fijo a otro minerales, por tanto no puede ser absorbido por las plantas; los fertilizantes son entonces una de las fuentes de fósforo para ellas (Syers *et al.*, 2008). Las enmiendas agrícolas como las compostas elaboradas con diversos residuos también pueden enriquecer el contenido de P de los suelos, pues el P orgánico que contienen se descompone fácilmente para ser liberado como ortofosfato y estar disponible para las plantas (Stoffella y Kahn, 2001; Fuentes *et al.*, 2006; Saidi *et al.*, 2009).

La materia orgánica del suelo procede de la descomposición de restos y residuos por la acción de diversos microorganismos del suelo, dando origen a lo que se denomina humus, el cual está constituido por un complejo de macromoléculas en estado coloidal constituido por proteínas, azúcares, ácidos orgánicos, minerales, etc., que en unión con los minerales arcillosos, originan los complejos organominerales, cuya aglutinación determina la textura y estructura de un suelo, que desarrollan un papel de importancia en la fertilidad, conservación y presencia de microorganismos (Meléndez, 2003; Bot y Benítez, 2005).

Tabla 7. Relación de factores físicos y químicos de las compostas y del suelo.

Parámetros	Composta 1	Composta 2	Composta 3	Composta 4	Composta 5	Control sin fertilizar	Control fertilizado	Límite	Referencia
N (mg/kg)	24,91	43,81	13,21	22,81	31,81	4,65	92,00	----	
P (mg/kg)	6,75	12,73	7,60	9,49	8,32	0,42	20	>2.5	SEMARNAT, 2006
C (mg/kg)	212,4	336,6	217,35	306,9	347,85	42,43	42,43	>150	SEMARNAT, 2006
pH	8,25	8,53	7,23	8,47	7,00	7,34	7,34	6,5 – 8,0	SEMARNAT, 2006
CE (dS/m)	0,88	1,67	1,12	1,54	1,35	0,04	0,04	< 2	USDA-1999
C/N	8,49	7,69	16,46	13,46	10,94	9,13	9,13	< 12	SEMARNAT, 2006

7.1.2 pH

El pH es otro de los parámetros más importantes del suelo, indica la acidez o basicidad de una sustancia. Las plantas y diversos microorganismos responden marcadamente a las condiciones químicas de su medio (suelos ácidos o alcalinos), la mayoría de los microorganismos y plantas se desarrollan en ambientes con un intervalo de pH de 6 a 7. El pH afecta de modo significativo la

disponibilidad y la asimilación de los nutrimentos esenciales como lo son el N y P, así como también del hierro, manganeso, cobre y zinc (Safir y Duniay, 1991): el intervalo de pH que favorece la disponibilidad de N es de 6 a 8,5 y para la fijación de P es de 6 a 7, pero prácticamente en todo el intervalo de pH se favorece su disponibilidad, siendo mayor de pH 6 a 8,2 y de pH 8,7 a 10 (Ver Anexo 2, Tabla 20), asimismo, ejerce una fuerte influencia al determinar la proliferación y actividad de muchos microorganismos del suelo (Hartel, 1999).

El pH de las compostas fue de neutro a moderadamente alcalino (Tabla 7). La composta 5 presentó un pH neutro (7), en tanto que la composta 3 y el suelo control sin fertilizar fue ligeramente alcalino, de 7,23 y 7,34, respectivamente; en las compostas 1, 2 y 5 se encontró un pH moderadamente alcalino de 8,25, 8,47 y de 8,53, respectivamente; sin embargo en todas las compostas el pH estuvo en el rango en que se reporta como adecuado para que el N y P estén disponibles.

7.1.3 Conductividad Eléctrica (CE)

La CE es un parámetro ampliamente utilizado para la estimación de la salinidad, por ello expresa la concentración de sales solubles en una disolución (Na^+ , Ca^{+2} , K^+ , Mg^{+2} , Cl^- , SO_4^{-2}), los nitratos y fosfatos no contribuyen de forma apreciable a la conductividad aunque son muy importantes biológicamente. Esta medida permite por ejemplo determinar la cantidad de sales presentes en el suelo, se han sugerido varios límites arbitrarios de salinidad, es aceptado que las plantas son afectadas de manera adversa cuando el contenido en sales excede el valor de 4 dS/m, ya que se considera que a partir de este valor las propiedades morfológicas y fisicoquímicas del suelo son fuertemente influenciadas por el carácter salino, siendo tóxicas para las plantas (Porta *et al.*, 2008).

Todas las compostas presentaron valores de CE entre 0,88 y 1,67 dS/m, mientras que el suelo de las parcelas experimentales presentó el más bajo de 0,04 dS/m (Tabla 7). Estos valores son aceptables de acuerdo con lo citado por IUSS (2007) quién menciona que ésta debe ser <4 dS/m.

7.1.4 Relación C/N

La relación C/N es la proporción entre la cantidad de carbono orgánico respecto a la cantidad de nitrógeno total en el suelo o en un material orgánico. Este índice es utilizado para determinar en el caso de las compostas, la madurez y estabilidad de la materia orgánica. La relación óptima de este

índice (C/N) para los mejoradores de suelos como lo son las compostas es de <12% (SEMARNAT, 2006). Es de suma importancia que la relación C/N sea inferior a 12 debido a que se tendrá una mayor tasa de mineralización, que es la conversión de un elemento que se encuentra en forma orgánico a un estado inorgánico en el suelo, produciéndose amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-), aumentando así el contenido de nitrógeno inorgánico, evitando que se presente una inmovilización a través de la transformación de NH_4^+ y NO_3^- en N orgánico y no esté disponible para las plantas (Castellanos *et al.*, 2000).

Las compostas 3 y 4 fueron las que presentaron los valores más altos de la relación C/N, de 16,46 y 13,46 respectivamente, mismos que sobrepasaron el valor máximo indicado en la NTEA-006-SMA-RS-2006 (SEMARNAT, 2006); mientras que las compostas 5, 1 y 2 tuvieron proporciones menores, (Tabla 7) cumpliendo con lo establecido por la norma.

7.2 Géneros de hongos MA asociados a los cultivos

En las muestras de suelo rizosférico analizadas de maíz y frijol se determinó la presencia de cinco géneros de hongos MA de los 17 que hasta ahora han reconocido Schüßler y Walker (2010) (Figura 1 (A-F): A) *Acaulospora* (Acaulosporaceae); B, C, D) *Glomus* y *Sclerocystis* (Glomeraceae), E, F) *Scutellospora* y *Gigaspora* (Gigasporaceae).

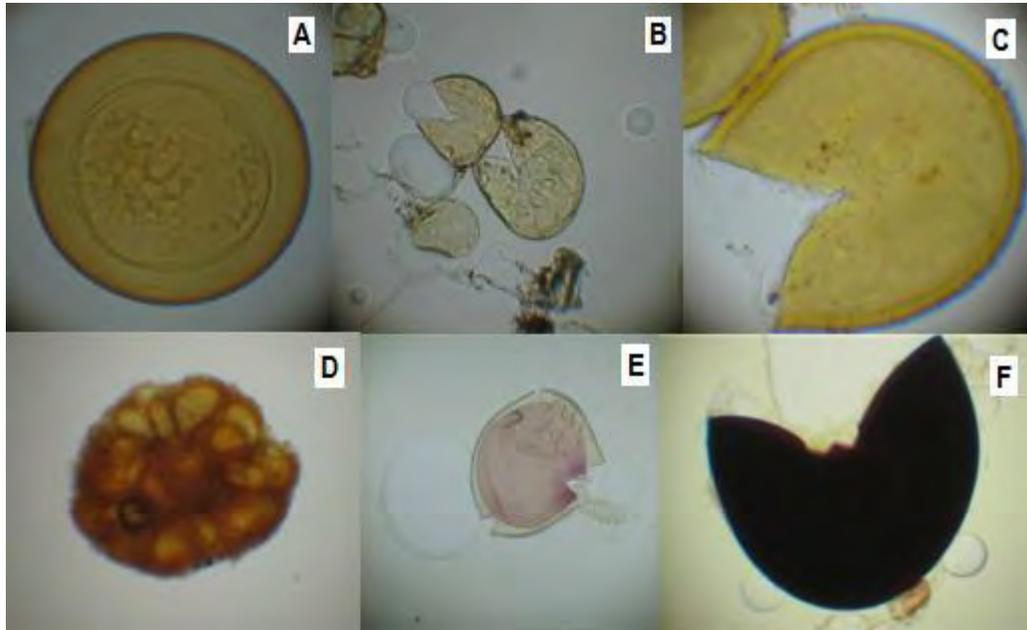


Figura 1 (A-F). Esporas de los géneros encontrados en las parcelas cultivadas con maíz y frijol bajo la adición de compostas y en las parcelas control con y sin fertilizar: A) *Acaulospora* (400X), B) *Glomus* (400X), C) *Glomus* (400X), D) *Sclerocystis* (400X), E) *Scutellospora* (400X), F) *Gigaspora* (400X).

En las parcelas cultivadas con maíz, el género mejor representado fue *Glomus*, esto concuerda con los resultados de Serralde y Ramírez (2004) quienes evaluaron el número de esporas en suelos cultivados con dos variedades de maíz y adicionados con materia orgánica (material verde y abono) encontrando que este género fue el que presentó mayor abundancia. Mientras que Schalamuk *et al.*, (2007) evaluaron la variación de la comunidad de hongos MA en un cultivo de trigo bajo diferentes sistemas de labranza, hallando también una dominancia del género *Glomus*. Asimismo, se ha reportado que este mismo género fue dominante en suelos agrícolas subtropicales cultivados con hortalizas y frutales (Wang *et al.*, 2008), en la región del Himalaya se realizó un estudio para recopilar información sobre la distribución y riqueza de los hongos MA asociados a plantas

medicinales (*Catharanthus roseus* Linn., *Ocimum* spp. y *Asparagus racemosus* Willd) observando también que *Glomus* fue el mejor representado (Gaur y Kaushik, 2012).

7.3 Resultados para cultivo de maíz (*Zea mays* L.)

7.3.1 Número de esporas de hongos MA

Para evaluar la densidad poblacional de hongos MA se hicieron tres muestreos de suelo rizosférico adyacente a las raíces de las plantas, el primero fue en el estado de plántula (V6) a los 54 días después de la siembra. El número de esporas encontradas en las parcelas experimentales fue bajo, el menor número de esporas se encontró en la parcela control sin fertilizar (11 esporas por 100 g de suelo), en tanto que el mayor fue hallado en la parcela con la composta 1 (26 esporas por 100 g de suelo), el número no varió significativamente entre los tratamientos (Figura 2).

Posteriormente el segundo muestreo se hizo al inicio de la emergencia de las espigas (R1) a los 138 días, las cantidades de esporas se incrementaron en todos los tratamientos aplicados con las compostas con respecto al primer muestreo, donde el incremento fue significativo comparado con los controles con y sin fertilizar. La mayor cantidad de éstas, se halló en la parcela aplicada con la composta 2 con un total de 128 esporas por 100 g de suelo, siguiendo en número el de la composta 4, donde se contabilizaron 112 esporas. En los tratamientos con las compostas 1, 3 y 5 se cuantificaron cantidades similares, cercanas a 65 esporas por 100 g de suelo. En las parcelas control con y sin fertilizar, el número de esporas contadas fue el más bajo, en ambas se contabilizaron tan sólo 35 esporas en 100 g de suelo seco (Figura 2).

El tercer muestreo se hizo en la etapa de grano duro (R5) a los 172 días, observándose diferencias significativas ($p < 0.05$) en el número de esporas, el máximo incremento se vió en las parcelas adicionadas con las compostas, comparadas con las contadas en los controles con y sin fertilizar; así en las parcelas con las compostas 2 y 3, se cuantificó el mayor número siendo de 255 y 222 esporas en 100 g de suelo seco respectivamente. En las parcelas con las compostas 1, 4 y 5 se encontraron cantidades menores de esporas de 170, 155 y 133 respectivamente. La menor cantidad de ellas se hallaron en las parcelas control con y sin fertilizar, sólo se obtuvieron 26 y 40 esporas respectivamente (Figura 2).

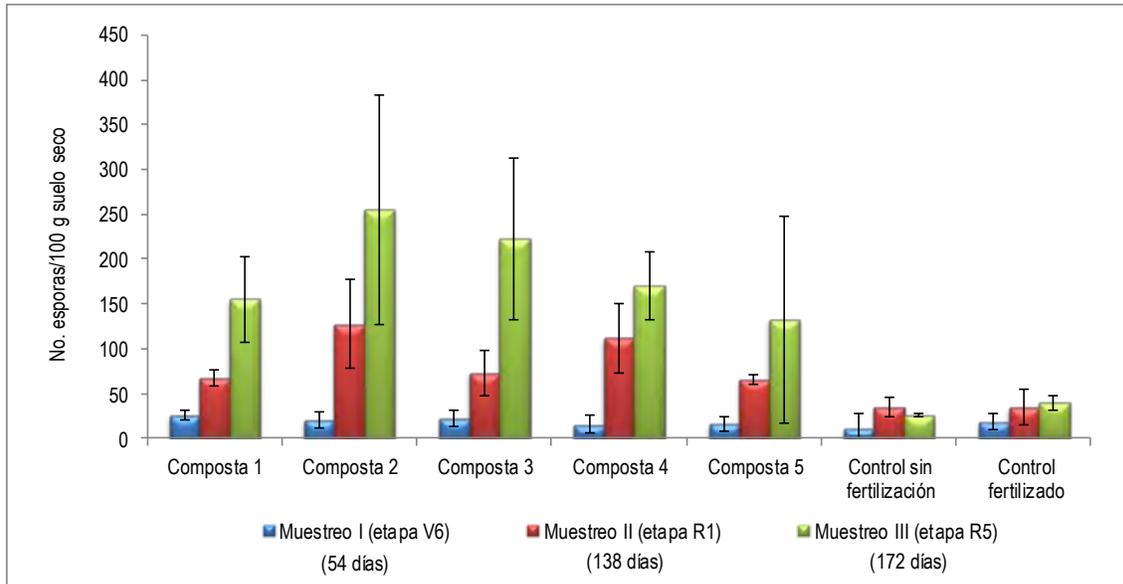


Figura 2. Densidad promedio de la población de esporas de hongos MA de las parcelas cultivadas con maíz adicionadas con compostas, de los controles con y sin fertilización. Barras indican la desviación estándar de los datos

Con base en los resultados del análisis estadístico de LSD mostrados en la tabla (8) con referencia al número promedio de esporas de hongos MA encontrados en el tercer muestreo, se determinó que hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos aplicados con las compostas y los controles con y sin fertilizar. Asimismo, en los tratamientos con compostas hubo diferencias significativas entre sí. Entre los tratamientos con las compostas 2 y 3 no hubo una diferencia significativa ($p < 0.05$), siendo estos donde se contabilizaron mayor número de esporas promedio; seguidas de los tratamientos con las compostas 1, 4 y 5 donde no hubo diferencias significativas entre ellos ($p < 0.05$). En todas las parcelas aplicadas con composta hubo diferencia significativa en el número de esporas comparadas con las dos parcelas control con y sin fertilizar. Entre ambas parcelas control no hubo diferencia significativa, lo cual indica que los suelos erosionados y los adicionados con fertilizantes químicos no favorecen el crecimiento de los hongos MA.

Tabla 8. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) Densidad de esporas de hongos MA en parcelas cultivadas con maíz adicionadas con compostas y controles sin y con fertilización

Tratamiento	Prueba LSD						
	Control sin fertilizar	Control fertilizado	Composta 1	Composta 2	Composta 3	Composta 4	Composta 5
Control sin fertilizar		0,671598	0,001109	0,000004	0,000023	0,000461	0,004586
Control fertilizado	0,671598		0,002603	0,000008	0,000048	0,001065	0,010841
Composta 1	0,001109	0,002603		0,006837	0,052081	0,656688	0,484462
Composta 2	0,000004	0,000008	0,006837		0,313472	0,016780	0,001645
Composta 3	0,000023	0,000048	0,052081	0,313472		0,117377	0,013079
Composta 4	0,000461	0,001065	0,656688	0,016780	0,117377		0,260633
Composta 5	0,004586	0,010841	0,484462	0,001645	0,013079	0,260633	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

Mendoza *et al.* (2002) y Mohammad *et al.*, (2003) determinaron que en pastizales existe una correlación positiva entre suelos fértiles y un mayor número de esporas, indicando que las propiedades que definen la fertilidad del suelo se relacionan de manera directa y significativa con la cantidad de esporas de hongos MA, considerando lo expuesto por estos autores se puede explicar porque en todos los tratamientos aplicados con composta se encontraron mayores cantidades de esporas de HMA que en el control sin la adición de las mismas.

Los hongos MA facilitan la captación de los nutrimentos minerales como el P y N, sin embargo los altos niveles de P y N en el suelo tienen efectos negativos sobre el desarrollo y colonización de las raíces por los hongos MA (Liu *et al.*, 2000) afectando también el crecimiento de las plantas, mientras que niveles moderados de P incrementan los niveles de N y la colonización por estos hongos (Safir y Duniway, 1991). En un cultivo de soya se observó también que la densidad de esporas de los hongos MA fue correlacionada negativamente con el contenido de P disponible, presentando un coeficiente de correlación negativo de -0,606, sin embargo, hubo una correlación positiva con la absorción de P tanto para soya como para maíz, mientras que la colonización fúngica se correlacionó positivamente con la densidad de esporas y negativamente con el contenido de fósforo disponible (Isobe *et al.*, 2008); la disponibilidad del P en forma de fosfatos podría estar influenciada por los hongos micorrízicos suministrando fósforo a las raíces de muchas plantas (Castellanos *et al.*, 2000). En las parcelas adicionadas con las compostas 2 y 3 se registraron mayores cantidades de esporas, de acuerdo con la tabla 7 se observa que la composta 2 tuvo la concentración más alta de P, un pH alcalino (8,53) favoreció la disponibilidad del mismo, lo cual pudo haber beneficiado el incremento del número de esporas; mientras que la composta 3 presentó la menor cantidad de N de

las cinco compostas y una cantidad moderada de P, lo cual puede explicar porque con esta se favoreció el incremento en el número de esporas. Las compostas 1, 4 y 5 presentaron valores más bajos de esporas que las dos compostas restantes, esto se podría explicar porque estas tres compostas presentaron mayores cantidades de N que la composta 3 y en el caso de las compostas 4 y 5 mayores cantidades de P, además sus valores de pH favorecieron más la disponibilidad de estos nutrimentos comparada con la de la composta 2.

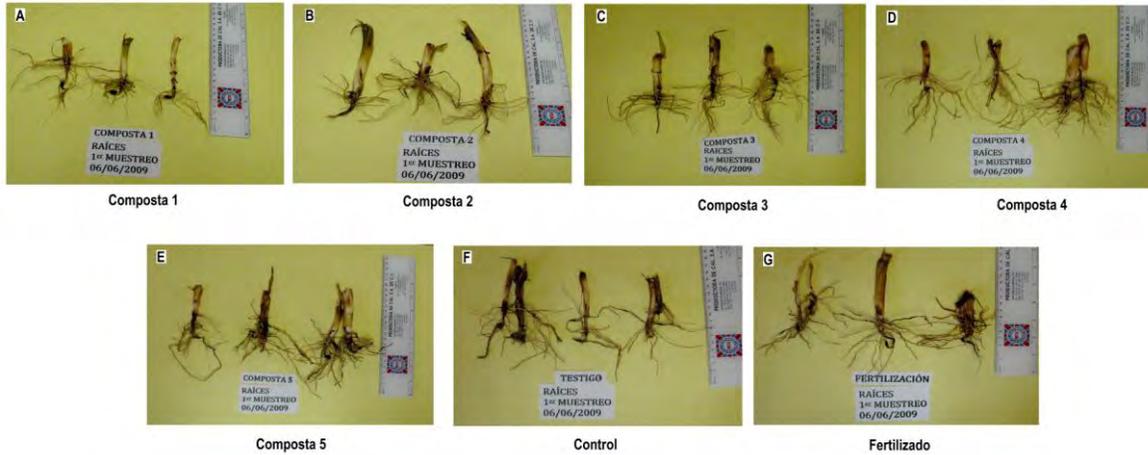
En la parcela control fertilizada se cuantificaron cantidades muy bajas de esporas, como se observa en la figura 1, esto se puede explicar porque se ha indicado que el uso inadecuado de los insumos agrícolas, como la fertilización fosforada principalmente, puede producir decremento de la colonización micorrízica, disminuyendo el número de propágulos de hongos MA de la rizósfera de las plantas, y se ha visto en cultivos de trigo el efecto de su aplicación sobre la micorrización, ésta disminuyó cuando el contenido de P fue superior a 11 ppm (Covacevich *et al.*, 2005, 2008); tal aumento de las concentraciones de P trae como consecuencia una disminución gradual de la colonización radicular, lo cual puede reflejarse en la disminución del número de esporas (Deepak, 2008), en tanto que al aplicar 5 ppm de P, el desarrollo de la colonización micorrízica se optimizó.

De la misma manera se ha relacionado que el incremento y decremento del número de esporas de hongos MA están involucrados con la fenología de la planta hospedera. López-Sánchez y Honrubia (1992) observaron que la máxima densidad de esporas se presentó durante la etapa de fruto (verano), presentando bajas cantidades en invierno, mientras que en primavera tendió a incrementarse, permaneciendo alta durante el otoño. Luna-Zendejas (1997) observó en agrosistemas tlaxcaltecas cultivados con alverjón, frijol y haba, que el número de esporas varió de acuerdo con la fenología de la planta, encontrándose cantidades bajas al momento de la siembra, manteniéndose así hasta la floración, momento en el que se incrementaron hasta alcanzar el mayor número de esporas en la etapa de la maduración de los frutos. Cousin *et al.* (2003) demostraron que la esporulación de diferentes especies de hongos MA es claramente estacional y está influenciada por la fenología de la planta hospedera de diferentes ecosistemas. También se ha notado que la presencia de las estructuras fúngicas (micelio, arbuscúlos y vesículas) alcanzan su máximo nivel durante la etapa de floración del maíz, momento en el cual la planta tiene una alta demanda de

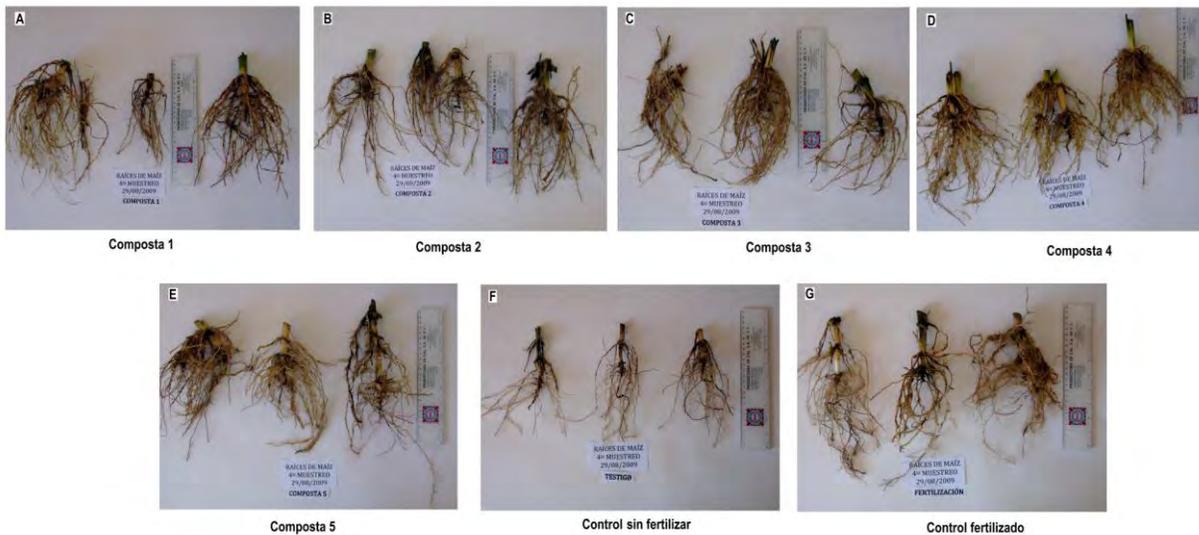
carbohidratos, en tanto que, las poblaciones de esporas de hongos MA encontradas en los suelos presentaron los máximos valores al final de la época de lluvias (Gavito y Varela, 1993).

7.3.2 Colonización micorrízica

Las plantas a través de su sistema radicular proveen un nicho ecológico a microorganismos como bacterias, virus y hongos, como es el caso de los hongos MA, los cuales están íntimamente asociados con las plantas, dependiendo ambos de la presencia del otro para sobrevivir en su medio (Pankow *et al.*, 1991). Se observaron las raíces de las plantas en los tres muestreos, en el muestreo I, el sistema radical de todas las plantas recolectadas tanto de las parcelas aplicadas con composta como de las parcelas control con y sin fertilizar presentaron un escaso desarrollo radical, que en su momento era propio de su fase de crecimiento, por lo que no hubo diferencias significativas entre ellas (Figuras 3, A-F). La mayor proliferación del sistema radicular se presentó en las raíces recolectadas durante el muestreo III en particular aquellas que se desarrollaron en las parcelas adicionadas con las compostas; mientras que en ambas parcelas control con y sin fertilizar se vio una menor abundancia de raíces con respecto a las extraídas de las parcelas con composta. Se infiere que la adición de composta favoreció el desarrollo del sistema radical al incrementarse en el suelo nutrimentos como el N, P y materia orgánica, que influyeron sobre el desarrollo de la micorrización y en la densidad de las esporas de los hongos MA (Shrestha *et al.*, 2008) (Figuras 4, A-F).



Figuras 3 (A-F). Raíces de maíz recolectadas en la etapa de plántula (54 días de crecimiento) de las parcelas con compostas y controles: A) Composta 1, B) Composta 2, C) Composta 3, D) Composta 4, E) Composta 5, F) Control sin fertilizar y G) Control fertilizado



Figuras 4 (A-F). Raíces de maíz recolectadas en la etapa de plántula (172 días de crecimiento) de las parcelas con compostas y controles: A) Composta 1, B) Composta 2, C) Composta 3, D) Composta 4, E) Composta 5, F) Control sin fertilizar y G) Control fertilizado.

Las observaciones al microscopio de las preparaciones de raíces revelaron la presencia de las estructuras fúngicas como micelio, vesículas y arbuscúlos indicadoras de la simbiosis micorrízica. El mayor porcentaje de micorrización fue de 43 % en las raíces de las plantas que crecieron bajo la aplicación de la composta 5, en tanto que en las parcelas con las compostas 4, 3 y 1 presentaron valores similares entre ellas de un 37 y 38 %, mientras que los porcentajes más bajos observados se vieron en las plantas de la parcela adicionada con composta 2, control con y sin fertilizar (32, 32 y 30 %, respectivamente) (Figura 5).

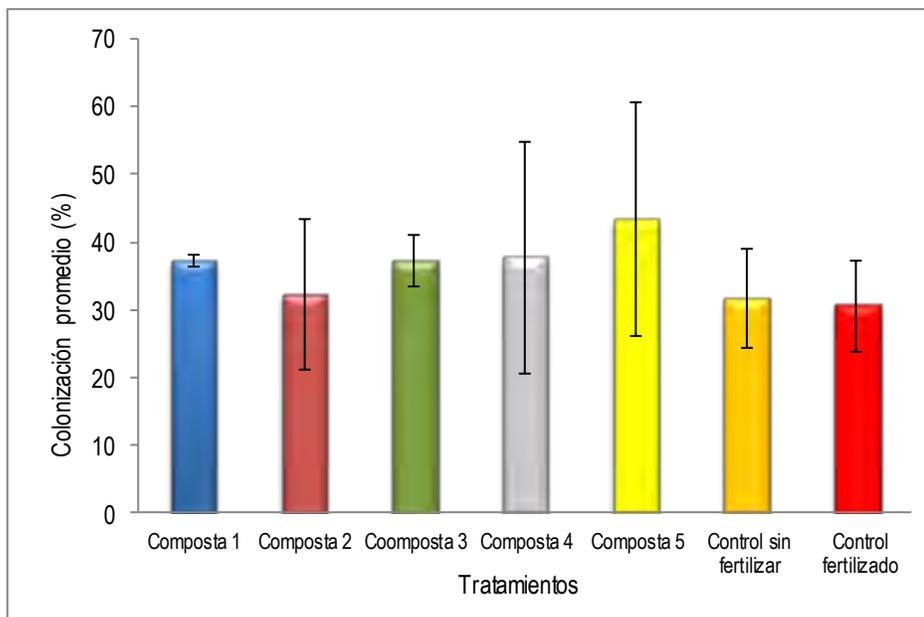


Figura 5. Colonización micorrízica de las plantas de maíz (*Zea mays* L.) cultivadas en las parcelas experimentales adicionadas con compostas y controles con y sin fertilizar. Las barras representan la desviación estándar de los datos.

De acuerdo con el análisis estadístico de LSD del porcentaje de colonización promedio de las raíces de maíz, el cual se muestra en la tabla 8, se puede inferir que estadísticamente no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos con compostas y las parcelas controles con y sin fertilizar.

Tabla 9 .Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) Colonización promedio de las plantas de maíz en parcelas experimentales adicionadas con compostas y controles con y sin fertilizar.

Prueba LSD							
Tratamiento	Control sin fertilizar	Control fertilizado	Composta 1	Composta 2	Composta 3	Composta 4	Composta 5
Control sin fertilizar		0.911594	0.532107	0.940988	0.532107	0.508627	0.220916
Control Fertilizado	0.911594		0.463525	0.853250	0.463525	0.441929	0.184954
Composta 1	0.532107	0.463525		0.580839	1.000000	0.970471	0.532107
Composta 2	0.940988	0.853250	0.580839		0.580839	0.556184	0.247841
Composta 3	0.532107	0.463525	1.000000	0.580839		0.970471	0.532107
Composta 4	0.508627	0.441929	0.970471	0.556184	0.970471		0.556184
Composta 5	0.220916	0.184954	0.532107	0.247841	0.532107	0.556184	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

El bajo porcentaje de colonización observado en todas las raíces de maíz independientemente de los tratamientos y controles, puede ser determinado por diversos factores, uno de ellos fue la baja fertilidad que caracterizó al suelo de la zona de estudio, el cual ha sido clasificado como un Regosol dístico conformado por arenas principalmente (IUSS, 2006), dadas sus características de porosidad, su capacidad de aprovechamiento de agua y nutrimentos está limitada al no poder retenerlos, perdiéndose por lavado o lixiviación (Castellanos *et al.*, 2000; Berti y Cunningham, 2000). La aplicación de fertilizantes inorgánicos pueden afectar el desarrollo de la colonización a través de proporcionar a las plantas los nutrimentos suficientes para su crecimiento, provocando que éstas reduzcan su dependencia por la micorriza y por lo tanto que se presente una disminución en las poblaciones de los hongos MA (Liu *et al.*, 2000; Smith y Read, 2008). Lo anterior puede explicar el hecho que fue observado en el presente trabajo que la colonización de las raíces se vio reducida en gran parte.

7.3.3 Crecimiento de maíz

La figura 6 muestra el crecimiento promedio de maíz registrado durante su ciclo de vida, el mayor crecimiento se observó en las plantas que se desarrollaron en las parcelas adicionadas con las compostas con respecto a las que crecieron en las parcelas control con y sin fertilizar. El máximo crecimiento promedio de las plantas lo alcanzaron a los 101 días, siendo las plantas de las parcelas con la composta 4 las que registraron mayor altura promedio (242,5 cm), seguidas de las que crecieron con las compostas 2, 1, 3 y 5 (222,25, 219,75, 207,2 y 198,6 cm, respectivamente),

mientras que las plantas de las parcelas control con y sin fertilizar presentaron valores de altura promedio menores de 160,75 y 175,6 cm, respectivamente.

El mayor crecimiento de las plantas en las parcelas adicionadas con compostas se puede deber a que las plantas pudieron disponer tanto del N como del P que aportaron las compostas ya que los valores de pH de las mismas se encuentran dentro del límite inferior para que estos nutrientes estuviesen disponibles (Tabla 7). Aunado a lo anterior la CE de las compostas estuvo dentro del valor citado por IUSS (2007) quién menciona que ésta debe ser <4 dS/m, contribuyendo también con la disponibilidad de los nutrientes. Moreno (2008) citó que la CE debía ser inferior a 1,50 dS/m, de lo contrario el suelo presentaría altas cantidades de sales y la absorción de agua por las plantas se vería disminuida, en el caso de las compostas no presentaron valores que afectaran la salinidad del suelo en detrimento de los cultivos.

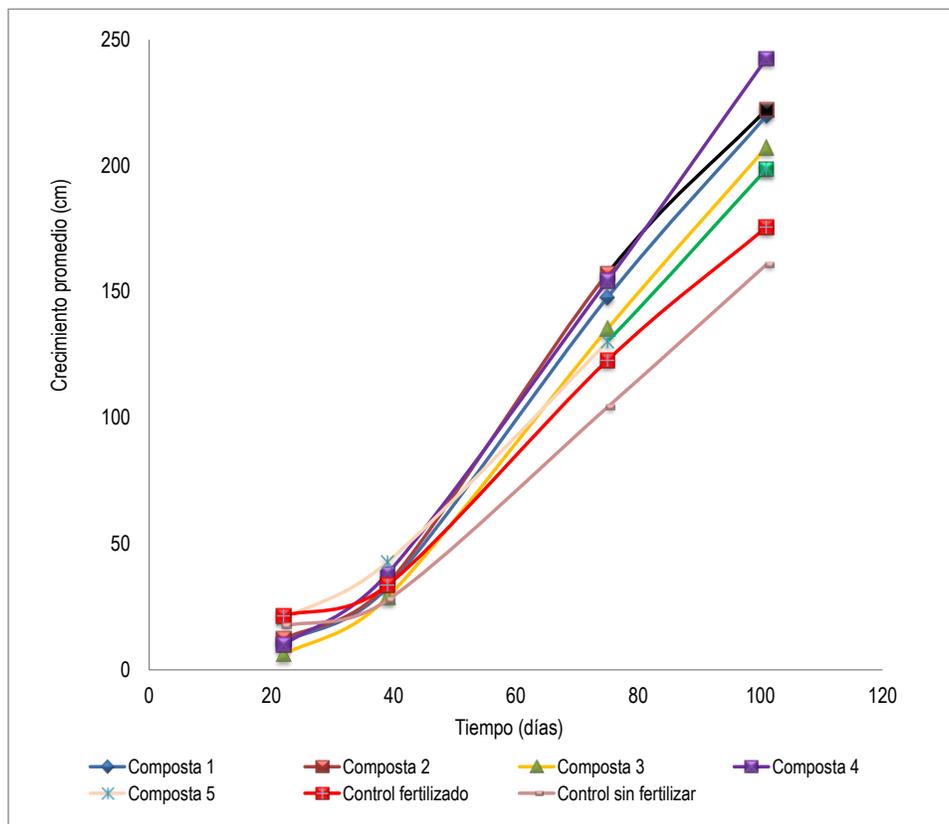


Figura 6. Crecimiento promedio de maíz (cm) en las parcelas experimentales aplicadas con diferentes compostas y controles con y sin fertilizar.

El mayor crecimiento fue observado con la adición de la composta 4, a pesar de que fue la segunda mejor en contenido de P y la tercera mejor en contenido de N y C, según lo indicado en la sección 7,1, pero es importante destacar que esta se elaboró básicamente con residuos de una empacadora de Chile, es decir con materiales altamente degradables, lo cual pudo contribuir a que aportara mayor cantidad de nutrientes fácilmente asimilables y que permitieron el desarrollo vegetal. Con el resto de las compostas se registró un crecimiento similar entre ellas.

Con el tratamiento fertilizado, el crecimiento promedio fue menor (175,6 cm) al observado en las parcelas adicionadas con compostas, y similar al de la parcela control sin (160,75 cm). El desarrollo alcanzado de las plantas de maíz en las parcelas controles de la región de Alzayanca se debe a su pobreza de materia orgánica como a su textura arenosa la cual no permite la retención de NO_3 ni de los cationes (NH_4^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ , Na^+), ya que un exceso de agua o de lluvia favorecen el arrastre hacia los estratos más bajos del suelo (Castellanos *et al.*, 2000), favoreciendo la pérdida de sales por lixiviación (Berti y Cunningham, 2000).

Se presentan en la tabla (10) los resultados obtenidos por la prueba de LSD ($\alpha=0.05$) de crecimiento promedio de maíz, correspondientes al cuarto muestreo. Se determinó la existencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos con compostas y los controles con y sin fertilizar: Los tratamientos con las compostas 1, 2 y 4 tuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al control sin fertilizar y ésta última además contra el control fertilizado. Mientras que las compostas 3 y 5 no tuvieron diferencias significativas en crecimiento ($p < 0.05$) con ninguno de los otros tratamientos o con los tratamientos control con y sin fertilizar.

Tabla 10. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) del crecimiento promedio (cm) de las plantas de maíz en parcelas experimentales adicionadas con compostas y controles con y sin fertilizar

Tratamiento	Prueba LSD						
	Control sin fertilizar	Control fertilizado	Composta 1	Composta 2	Composta 3	Composta 4	Composta 5
Control si fertilizar		0,557946	0,023186	0,018209	0,070751	0,002104	0,138839
Control fertilizado	0,557946		0,085699	0,069877	0,214593	0,010594	0,364832
Composta 1	0,023186	0,085699		0,921293	0,621708	0,370540	0,405425
Composta 2	0,018209	0,069877	0,921293		0,553990	0,425021	0,352576
Composta 3	0,070751	0,214593	0,621708	0,553990		0,167710	0,733336
Composta 4	0,002104	0,010594	0,370540	0,425021	0,167710		0,087609
Composta 5	0,138839	0,364832	0,405425	0,352576	0,733336	0,087609	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

7.3.4 Rendimiento de maíz

La figura 7 muestra el rendimiento de maíz por parcela, con la aplicación de las compostas se mejoró el rendimiento en comparación con la parcela de control sin fertilizar. En la zona de Altzayanca el rendimiento de maíz en grano es de 2,5 ton/ha (COPLADET, 2010), por consiguiente con la aplicación de la composta 4 se alcanzó un 62 % de ella (1554 kg/ha), no obstante que no se alcanza el rendimiento promedio es importante mencionar que sólo se realizó una aplicación de composta, se presume que al ir haciendo posteriores aplicaciones el rendimiento debe mejorar (Douds *et al.*, 1997). En las parcelas control fertilizado, compostas 3 y 5 se obtuvo una producción muy similar, siendo de 1291,6 kg/ha; 1225 kg/ha y 1162,5 kg/ha, respectivamente; estos rendimientos fueron mayores a los obtenidos en la parcelas adicionadas con las compostas 2, 1 y control sin fertilizar (800 kg/ha, 650 kg/ha y 422,5 kg/ha, respectivamente).

El mayor rendimiento obtenido en la parcela con la composta 4 se atribuye, como se mencionó anteriormente al origen de los residuos con las que fue elaborada, los cuales permitieron tanto el crecimiento como la fructificación del cultivo de maíz. En el caso de la composta 5, su alto contenido de nutrimentos (fue la segunda mejor) explica el adecuado crecimiento y producción de grano, mientras que con la composta 3 se registró un crecimiento y se cosechó una cantidad de grano similares a los registrados en la parcela con la composta 5, estos resultados se pueden deber a que, a pesar de los bajos nutrimentos de la composta 3 su pH estuvo dentro del indicado como óptimo para la disponibilidad de N y P. Caso contrario es el de la composta 2, la cual registró el mayor contenido de nutrimentos, muy buen crecimiento de maíz pero baja producción de grano, esto se puede explicar porque el pH de esta composta no fue el óptimo para favorecer la disponibilidad de N y P. El caso de la composta 1, es interesante, ya que permitió un adecuado crecimiento de la planta, pero el rendimiento de maíz fue menor con respecto a las demás compostas, esto podría explicarse debido a que esta composta tuvo baja cantidad de nutrimentos como el N, P y C y sólo cubrieron la demanda necesaria para el crecimiento de las plantas y no para la fructificación del maíz. Es muy importante resaltar que con tan sólo una aplicación de las compostas se alcanzó una mayor producción que en la parcela control sin fertilización, por esta razón, los residuos orgánicos empleados en la formulación de las compostas pueden ser considerados como un buen sustrato biodegradable que aporta nutrimentos a las plantas.

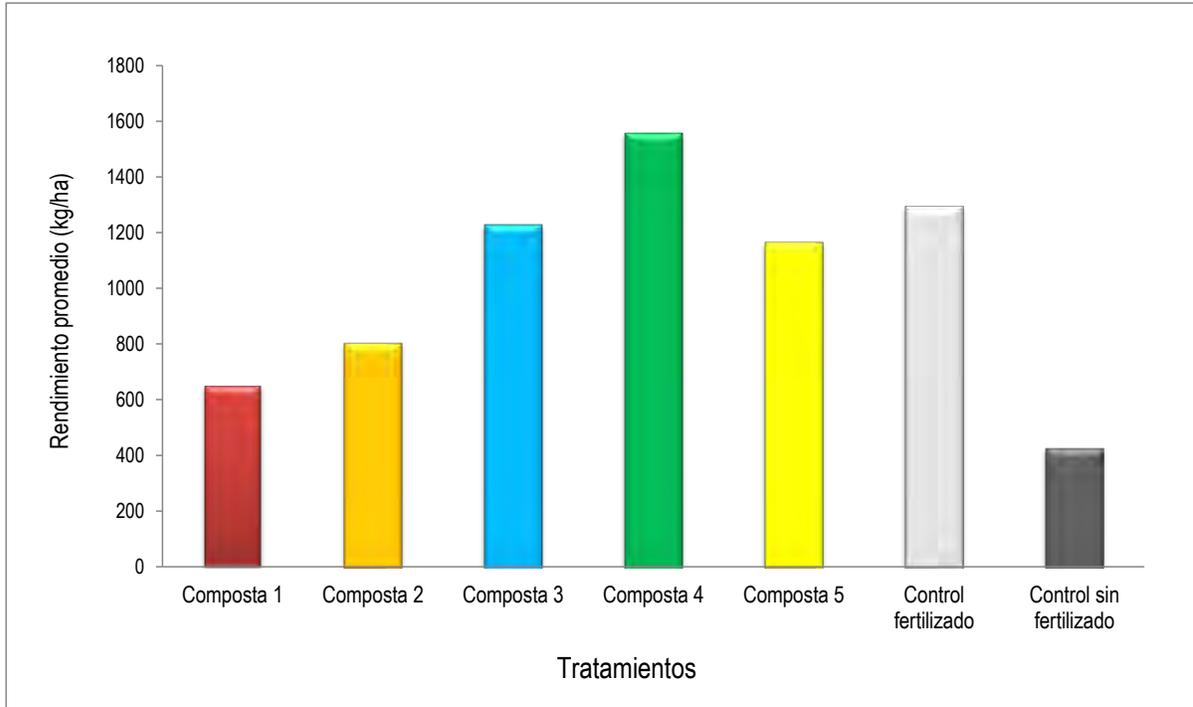


Figura 7. Rendimiento promedio de maíz (kg/ha) de las parcelas experimentales aplicadas con diferentes compostas y controles con y sin fertilizar.

7.4 Resultados de cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

7.4.1 Número de esporas de hongos MA

Se llevó a cabo el conteo de esporas en las siete parcelas experimentales, el primer muestreo se realizó en etapa de plántula (V4), a los 54 días de crecimiento, en todas ellas se encontraron bajas cantidades de esporas, en las parcelas con las compostas 2, 1 y 3 inicialmente se contabilizaron 21, 22 y 23 esporas/100 g de suelo seco, respectivamente, mientras que, para las parcelas control sin fertilizar, compostas 5 y 4 las cantidades de esporas fueron mayores con 37, 40 y 42 esporas/100 g de suelo (Figura 8). El mayor número de esporas se determinó en el muestreo III, en etapa de fruto maduro (R8), a los 138 días de la siembra. En la parcela con la composta 3 se observó el mayor incremento de esporas con un total de 214, mientras que en las parcelas con las compostas 1, 4 y 5 el número de esporas fue menor (179, 180 y 192 esporas en 100 g/suelo seco, respectivamente), seguidas de las parcelas control fertilizada y con composta 2 con cantidades de 89 y 85 esporas en 100 g/suelo seco. La parcela control sin fertilizar presentó la menor cantidad de esporas con tan sólo 47 en 100 g/suelo seco (Figura 8)

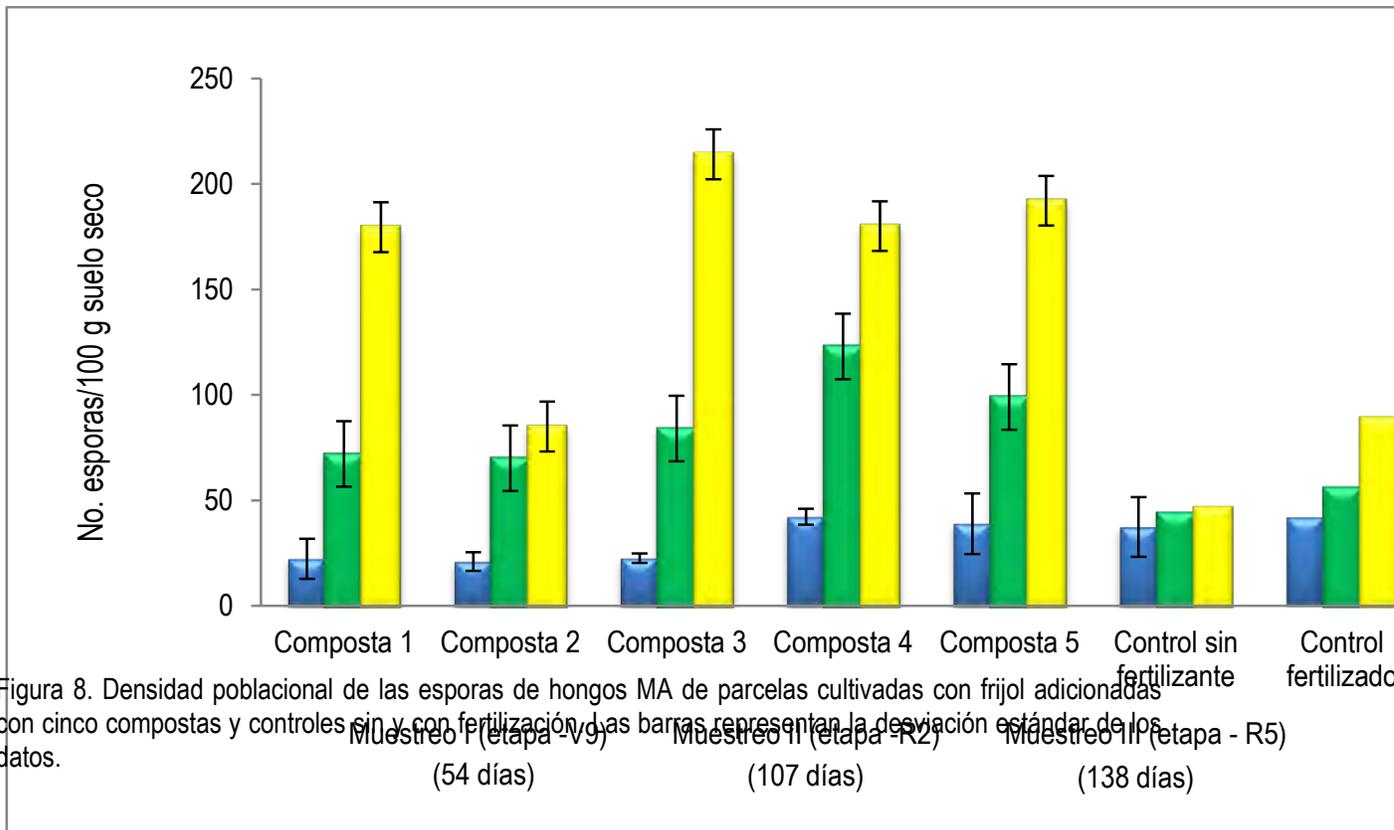


Figura 8. Densidad poblacional de las esporas de hongos MA de parcelas cultivadas con frijol adicionadas con cinco compostas y controles sin y con fertilización, las barras representan la desviación estándar de los datos.

A los datos promedio obtenidos de número de esporas de este cultivo, se les realizó una prueba de comparación múltiple de LSD ($\alpha=0.05$) encontrando que hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamiento con compostas y los tratamientos con y sin fertilización (Tabla 11). El tratamiento control sin fertilización tuvo diferencias significativas ($p < 0,05$) con los cinco tratamientos con compostas y con el control fertilizado. En tanto que el tratamiento control fertilizado fue diferente ($p < 0,05$) a los tratamientos con las compostas 1, 3, 4, 5 y control sin fertilizar, mientras que los tratamientos con las compostas 1, 3, 4 y 5 fueron diferentes ($p < 0,05$) al tratamiento con la composta 2 y controles con y sin fertilizar.

Tabla 11. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) Densidad promedio de esporas de hongos MA en parcelas cultivadas con frijol adicionadas con compostas y controles con y sin fertilizar.

Tratamiento	Prueba LSD						
	Control sin fertilización	Control fertilizado	Composta 1	Composta 2	Composta 3	Composta 4	Composta 5
Control sin fertilización		0.004422	0.000001	0.012696	0.000000	0.000001	0.000000
Control fertilizado	0.004422		0.000157	0.603494	0.000014	0.000444	0.000090
Composta 1	0.000001	0.000157		0.000060	0.184803	0.588648	0.761155
Composta 2	0.012696	0.603494	0.000060		0.000006	0.000164	0.000035
Composta 3	0.000000	0.000014	0.184803	0.000006		0.071707	0.296307
Composta 4	0.000001	0.000444	0.588648	0.000164	0.071707		0.402430
Composta 5	0.000000	0.000090	0.761155	0.000035	0.296307	0.402430	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

Como ya se mencionó, la adición de compostas, que aportaron nutrimentos al suelo, pudo haber sido la principal causa por la que incrementaron el número de esporas en dichos tratamientos; mientras que la baja cantidad de nutrimentos de la parcela control sin fertilizar pudo haber sido el factor por el cual no se favoreció el incremento en el número de esporas (Mendoza *et al.*, 2002; Mohammad *et al.*, 2003). El alto contenido de N y P adicionado con el fertilizante, pudo ser el principal factor por el cual no se vio incrementada la asociación con los HMA (Liu, *et al.*, 2000) en la parcela fertilizada, ya que se ha observado que al suministrar dosis inadecuadas de fertilizantes fosforados y nitrogenados pueden traer como consecuencia la desaparición de los propágulos de estos hongos de la rizósfera de las plantas (Covacevich *et al.*, 2005).

El número de esporas se incrementó en todos los tratamientos hacia el final del ciclo de vida del cultivo (fruto maduro - R8), observándose que existe una correlación entre ambos, lo cual coincide

con lo observado por Luna-Zendejas (1997) en agroecosistemas cultivados con frijol, alverjón y haba en la zona de estudio.

7.4.2 Colonización micorrízica

En el muestreo I, se observa que en todas las plantas de frijol recolectadas tanto de las parcelas adicionadas con compostas como la parcela control, el desarrollo del sistema radicular fue pobre acorde a su etapa inicial de crecimiento (Figura 9, A-F). El mayor desarrollo del sistema radicular se notó en las raíces recolectadas durante el muestreo III, las raíces de los tratamientos con compostas presentaron una mayor densidad de raíces, que el control (Figura 10, A-F), a través de la incorporación de nutrientes como el P, N y C, lo cual también se vio reflejado con el incremento de la densidad de esporas de los hongos MA.



Figura 9 (A-F). Raíces de frijol recolectadas en la etapa de plántula (54 días de crecimiento) de las parcelas con compostas y controles sin fertilizar: A) Composta 1, B) Composta 2, C) Composta 3, D) Composta 4, E) Composta 5, F) Control sin fertilizar.

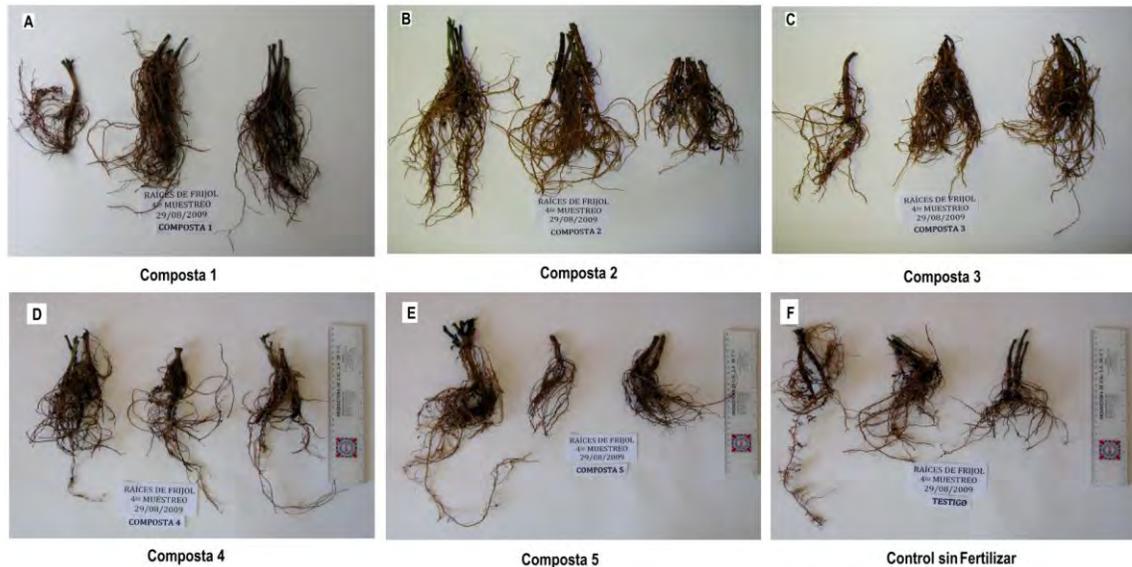


Figura 10 (A-F). Raíces de frijol recolectadas en la etapa de plántula (138 días de crecimiento) de las parcelas con compostas y controles sin fertilizar: A) Composta 1, B) Composta 2, C) Composta 3, D) Composta 4, E) Composta 5, F) Control sin fertilizar.

Al observar las muestras de raíces al microscopio se evidencia la presencia de las estructura fúngicas características de la simbiosis micorrízica. Las plantas de las parcelas con las compostas 2, 3 y 5 presentaron el valor promedio máximo de porcentaje de colonización todas ellas tuvieron 36 %. Mientras que las plantas de la parcela con la composta 4 conjuntamente con el control sin fertilizar mostraron porcentaje similares del 27 y 25%. En la parcela con la composta 1 se determinó el porcentaje más bajo siendo este de tan sólo el 18 % (Figura 11).

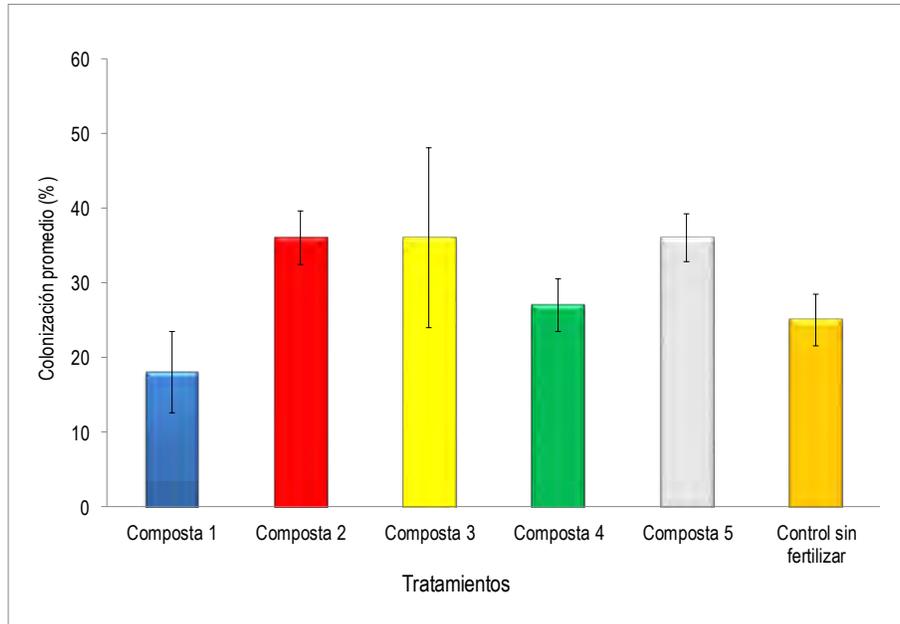


Figura 11. Colonización micorrízica de las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en las parcelas experimentales adicionadas con compostas y control sin fertilizar. Las barras representan la desviación estándar de los datos.

El análisis de LSD ($\alpha=0.05$) que se muestra en la tabla (12) corresponde a los valores promedio de la colonización micorrízica en las raíces de frijol. Estadísticamente existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos con las compostas y el control sin fertilizar. Los tratamientos con las compostas 2, 3 y 5 presentaron diferencias ($p < 0.05$) con los tratamientos de la composta 1 y control sin fertilizar. La composta 4 no presentó diferencias ($p > 0.05$) ni con los tratamientos con compostas ni con el control sin fertilizar.

Tabla 12. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) Colonización promedio de las plantas de frijol en parcelas experimentales adicionadas con compostas y control sin fertilizar.

Tratamientos	Prueba LSD					
	Control sin fertilizar	Composta 1	Composta 2	Composta 3	Composta 4	Composta 5
Control sin fertilizar		0.183652	0.041347	0.046671	0.693941	0.046671
Composta 1	0.183652		0.003062	0.003462	0.094729	0.003462
Composta 2	0.041347	0.003062		0.947538	0.084411	0.947538
Composta 3	0.046671	0.003462	0.947538		0.094729	1.000000
Composta 4	0.693941	0.094729	0.084411	0.094729		0.094729
Composta 5	0.046671	0.003462	0.947538	1.000000	0.094729	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

Las especies de plantas difieren en cuanto a sus necesidades nutrimentales, Plenchette *et al.* (1983) determinaron que bajo de condiciones de campo el frijol presentó una alta dependencia micorrízica del 95%; sin embargo, las plantas analizadas en este trabajo presentaron porcentajes menores al 40%. Brundrett y Kendrick (1988) han mencionado que aquellas plantas que presenten una colonización inferior al 25%, se clasifican como plantas con un bajo porcentaje de colonización. La raíces de todas las plantas, que se desarrollaron bajo los distintos tratamientos hayan sido adicionados con compostas o sin fertilizar, tuvieron porcentajes de colonización menores al cincuenta por ciento, esto se puede explicar porque si bien al adicionar las compostas se incrementaron en el suelo nutrimentos como el N, P y materia orgánica, que influyeron sobre el desarrollo de la micorrización (Shrestha *et al.*, 2008), no fue suficiente para incrementar de manera sustancial la colonización.

7.4.3 Crecimiento de frijol

El crecimiento promedio de las plantas de frijol se muestra en la figura 12, los valores superiores se encontraron en las plantas de las parcelas con las compostas 2 y 1 cuyos valores fueron de 64,63 y 60,83 cm, para cada uno de ellos, mientras que en las plantas de la parcela con la composta 5 y el control sin fertilizar fueron inferiores, encontrando alturas de 55,25 y 54,75 cm, respectivamente y en las parcelas con las compostas 3 y 4 se mostraron los valores más bajos siendo de 44,14 y 39,14 cm, respectivamente. En el caso del frijol no hay una alta dependencia por N, ya que microorganismos como *Rhizobium* a pueden captar el nitrógeno para la planta (Bottomley, 1999), por ello aparentemente no hay una correlación entre los nutrimentos aportados por las compostas y el crecimiento alcanzado, incluso en el caso del control sin la adición de compostas se observó un buen crecimiento del frijol por dicha razón.

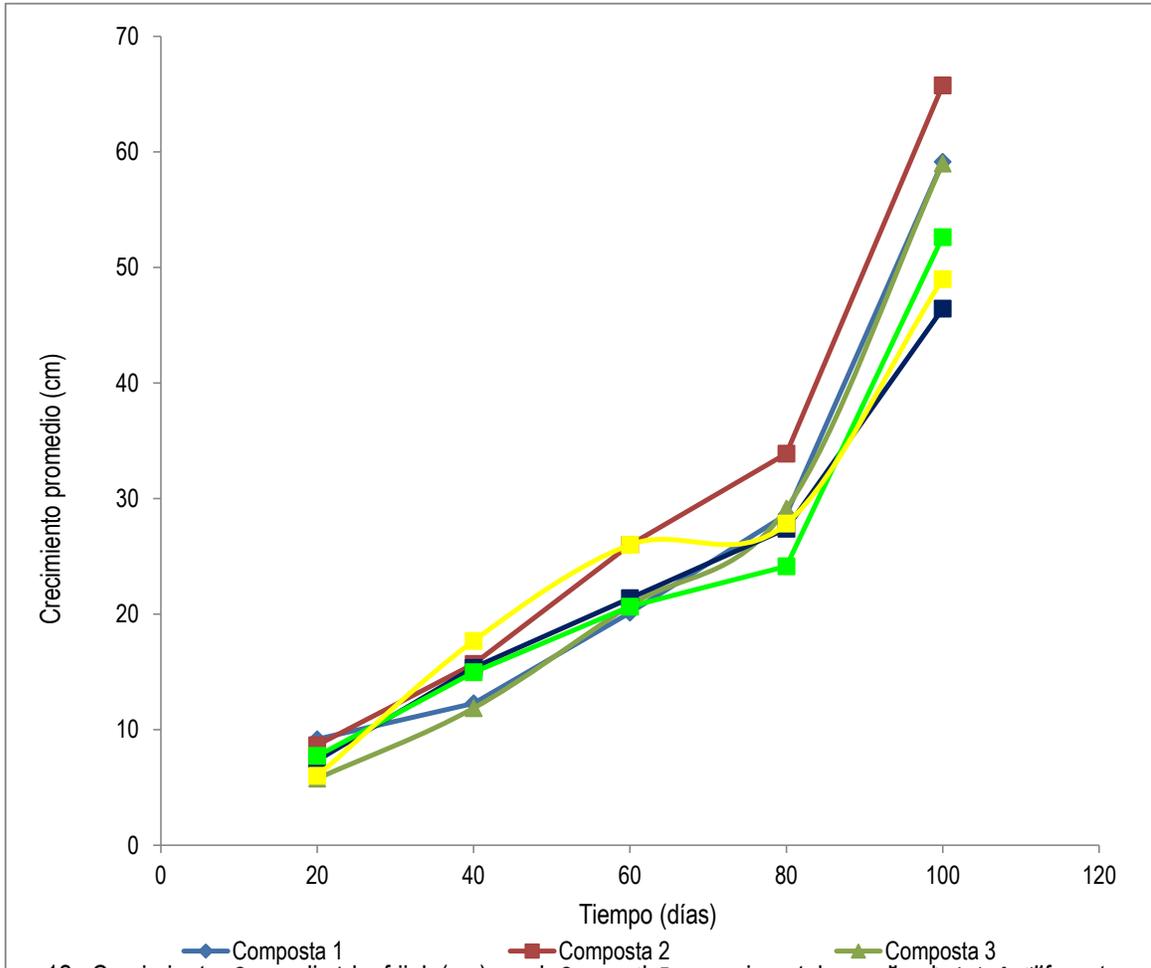


Figura 12. Crecimiento promedio de frijol (cm) en las parcelas experimentales aplicadas sobre diferentes compostas y control sin fertilizar.

En la tabla 13 se presentan los resultados estadísticos del análisis de LSD ($\alpha=0.05$) sobre el crecimiento promedio de las plantas de frijol, observándose diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). El tratamiento control fue diferente ($p < 0.05$) al tratamiento con la composta 2, los tratamiento con las compostas 1 y 3 fueron diferentes ($p < 0.05$) con el tratamiento con la composta 4, mientras que él de la composta 2 presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) con los tratamientos con las compostas 4, 5 y el control sin fertilizar. También el tratamiento con la composta 4 tuvo diferencias ($p < 0.05$) con los tratamientos con las compostas 1, 2 y 3, y la parcela adicionada con la composta 5 fue diferente ($p < 0.05$) con relación al tratamiento con la composta 2.

Tabla 13 .Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) Crecimiento promedio de las plantas de frijol en parcelas experimentales adicionadas con compostas y control sin fertilizar.

Prueba LSD						
Tratamiento	Control sin fertilizar	Composta 1	Composta 2	Composta 3	Composta 4	Composta 5
Control sin fertilizar		0.115591	0.005885	0.115591	0.419448	0.703126
Composta 1	0.115591		0.202382	1.000000	0.019822	0.228115
Composta 2	0.005885	0.202382		0.202382	0.000590	0.015697
Composta 3	0.115591	1.000000	0.202382		0.019822	0.228115
Composta 4	0.419448	0.019822	0.000590	0.019822		0.237208
Composta 5	0.703126	0.228115	0.015697	0.228115	0.237208	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

7.4.4 Rendimiento de frijol

La aplicación de las compostas 5, 2 y 1 mejoró el rendimiento de la leguminosa en comparación con la parcela control (Figura 13). La producción más alta se alcanzó en la parcela aplicada con la composta 5, con un rendimiento de 337 kg/ha que representó el 48% del rendimiento total reportado para la región de Alzayanca que es de 700 kg/ha (COPLADET, 2010). Con la adición de la composta 2 se obtuvo un rendimiento de 216 kg/ha, mientras que con la composta 1 fue de 146 kg/ha. Con las compostas 3, 4 y el control sin fertilizar, los rendimientos fueron de alrededor de 120 kg/ha.

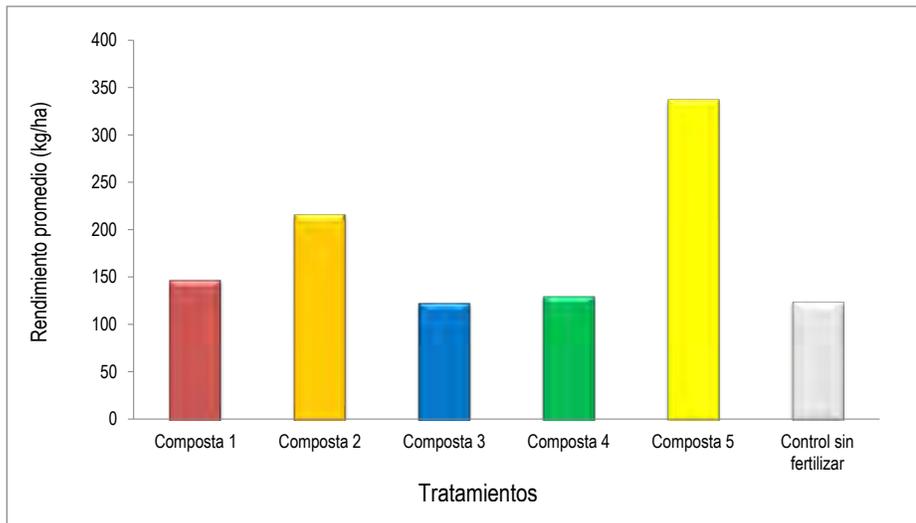


Figura 13. Rendimiento promedio de frijol (kg/ha) de las parcelas experimentales aplicadas con compostas y control sin fertilizar.

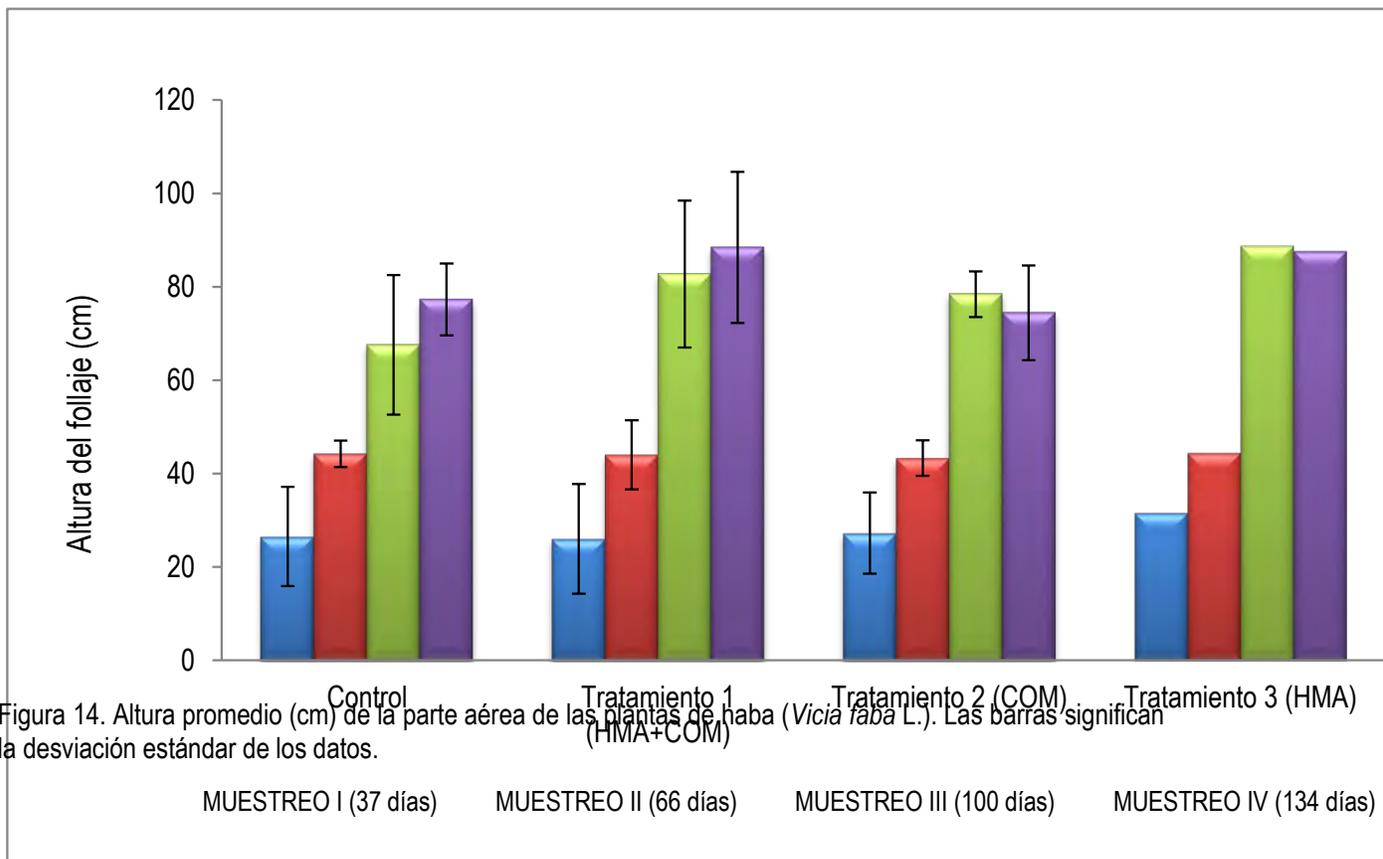
Esto se puede deber a que, como ya se mencionó la composta 5 tuvo el segundo mejor contenido de nutrimentos, el mejor contenido fue el de la composta 2, sin embargo el pH de ambas compostas pudo haber sido muy importante ya que la composta 5 tuvo un pH de 7, con lo cual se favoreció la disponibilidad de nutrimentos, mientras que el pH de la composta 2 (8,53) no estuvo en el intervalo óptimo para facilitar dicha disponibilidad; esto puede explicar porque con estas dos compostas se obtuvo el mayor rendimiento de frijol. En el caso de las otras compostas se tuvo el aporte de nutrimentos necesarios para el crecimiento pero no para la fructificación.

En todos los casos la producción de frijol fue inferior al reportado por COPLADET (2010), cuya producción en la región de Alzayanca es de 700 kg/ha, sin embargo, los resultados son después de sólo una aplicación de las compostas, se presume que al hacer más aplicaciones de composta el rendimiento mejoraría (Douds *et al.*, 1997).

7.5 Resultados de cultivo de haba (*Vicia faba* L.)

7.5.1 Altura de follaje

En la figura 14 se muestran las alturas promedio registradas de las plantas de haba (*Vicia faba* L.) durante todo el ciclo de cultivo. En el muestreo I el crecimiento promedio inicial de las plantas en todos los tratamientos fue similar, llegando a medir entre 26 y 31,5 cm (Figura 14), aunque no hubo diferencia significativa entre ellas, lo mismo se presentó durante los muestreos II con alturas entre los 46,5 y 51 cm. En el muestreo III se obtuvieron valores de 65,4 a 76 cm, en tanto que en el muestreo IV los valores de altura promedio oscilaron entre 77,7 y 88,6 cm.



El análisis de comparación múltiple de LSD no evidenció diferencias significativas ($p < 0.05$) en los tratamientos entre sí, ni con el control con relación a este parámetro, el comparativo estadístico se hizo para cada uno de los muestreos de manera independiente. En la tabla 14 se muestra el estadístico para la altura promedio de las plantas de haba en el cuarto muestreo. Fue evidente que

el crecimiento semejante logrado con todos los tratamientos no permitió asegurar que hubo efecto diferente de cada tratamiento.

Tabla 14. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) para la altura (cm) de las plantas de haba registrada en el cuarto muestreo.

Tratamiento	Prueba LSD			
	Control	Tratamiento 3 (HMA)	Tratamiento 1 (HMA/COM)	Tratamiento 2 (COM)
Control		0.155963	0.792006	0.758351
Tratamiento 3 (HMA)	0.155963		0.247324	0.265642
Tratamiento 1 (HMA/COM)	0.792006	0.247324		0.964940
Tratamiento 2 (COM)	0.758351	0.265642	0.964940	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

Si bien, una de las funciones importantes de los hongos MA es la de incrementar la captación de los nutrimentos minerales esenciales para el desarrollo vegetal, en el presente trabajo se confirmó que los tratamientos evaluados no causaron un efecto en el crecimiento de las plantas de haba debido a la homogeneidad de los resultados obtenidos.

7.5.2 Biomasa fresca y seca de follaje

La biomasa fresca y seca de las plantas a los 37 días (muestreo I) fue baja en todos los tratamientos así como en el control, la ganancia de biomasa fresca y seca por las plantas fue aumentando conforme su desarrollo, notándose que entre el muestreo II (66 días) y muestreo III (100 días) hubo un mayor incremento en biomasa con respecto al alcanzado durante el muestreo IV. Conforme las plantas se desarrollaron incrementaron ambas biomásas, alcanzando sus máximos valores durante el muestreo IV a los 134 días (Figuras 15 y 16); para el caso de la biomasa fresca los pesos promedio mayores se encontraron en el tratamiento 3 (HMA) con 45,3 g y en tratamiento 1 (HMA/COM) con 44,3 g, seguidos del tratamiento 2 y control quienes presentaron valores de 40,8 y 36,2 g, respectivamente. En cuanto a la biomasa seca se observó que en el tratamiento 1 (HMA/COM) se encontraron 6,7 g y en el tratamiento 3 (HMA) 6,4 g, seguidos también del tratamiento 2 (COM) con 5,7 g y del control con un peso promedio de 5,18 g. (Figuras 15 y 16).

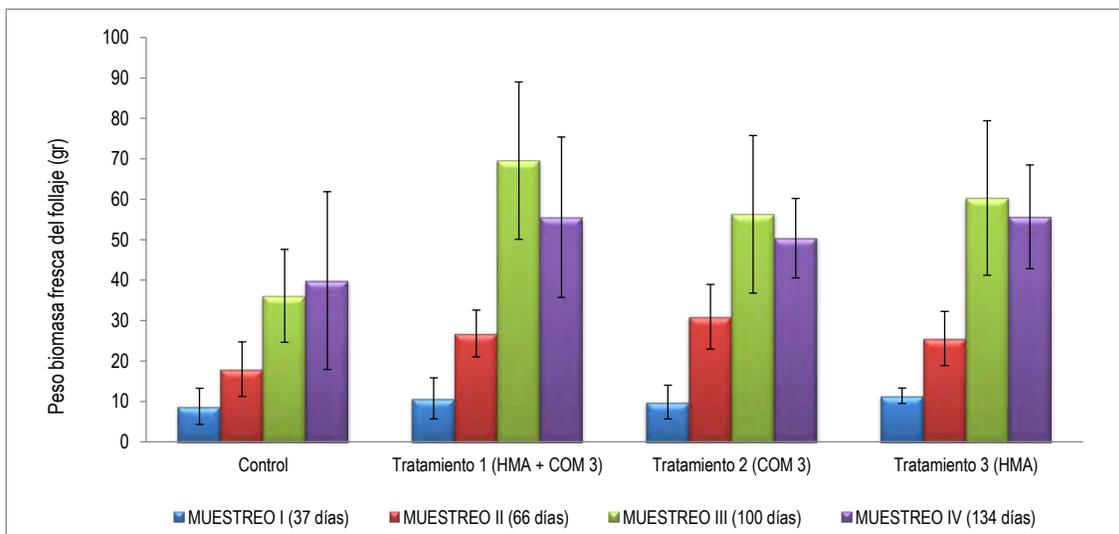


Figura 15. Biomasa promedio del follaje fresco de las plantas de haba (*Vicia faba* L.). Las barras representan la desviación estándar de los datos.

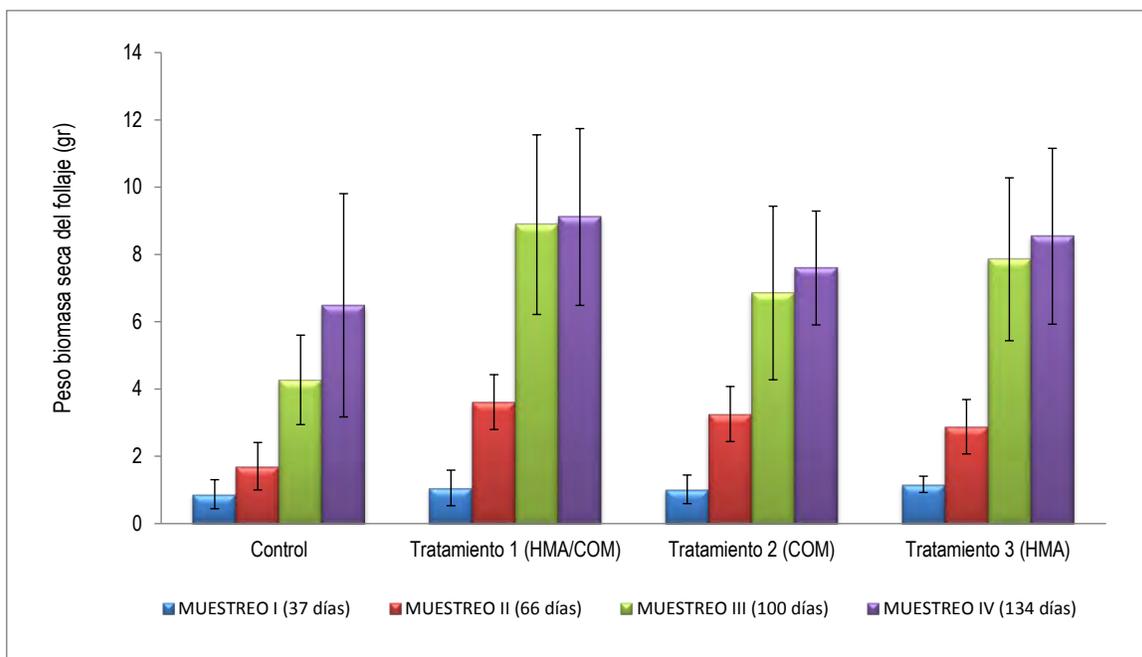


Figura 16. Biomasa promedio del follaje seco de las plantas de haba (*Vicia faba* L.). Las barras representan la desviación estándar de los datos.

Con respecto a la biomasa fresca, los resultados de la prueba de LCD indican que no hubo diferencia significativa en los primeros muestreos, pero si al final del ciclo de desarrollo. En la tabla

15, se observan los resultados del análisis estadístico para la biomasa fresca promedio medida en el cuarto muestreo, los cuales indican que entre los tratamientos 3 (HMA) y 1 (HMA/COM) no hubo una diferencia significativa ($p < 0.05$), sin embargo, fueron diferentes al tratamiento 2 (COM) y al control ($p > 0.05$). En biomasa seca, el tratamiento 1 (HMA/COM) alcanzó la mayor cantidad de materia seca (6.7 g) y de acuerdo al análisis estadístico fue diferente ($p < 0.05$) a los tratamientos 3 (HMA) y 2 (COM), así como también al control (Tabla 16).

Tabla 15. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) para la biomasa promedio del follaje fresco de las plantas de haba medida en el cuarto muestreo

Prueba LSD				
Tratamiento	Control	Tratamiento 3 (HMA)	Tratamiento 1 (HMA/COM)	Tratamiento 2 (COM)
Control		0.037596	0.048747	0.091124
Tratamiento 3 (HMA)	0.037596		0.912166	0.692482
Tratamiento 1 (HMA/COM)	0.048747	0.912166		0.775465
Tratamiento 2 (COM)	0.091124	0.692482	0.775465	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

Tabla 16. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) para la biomasa promedio del follaje seco de las plantas de haba, medida en el cuarto muestreo

Prueba LSD				
Tratamiento	Control	Tratamiento 3 (HMA)	Tratamiento 1 (HMA/COM)	Tratamiento 2 (COM)
Control		0.068213	0.028431	0.158359
Tratamiento 3 (HMA)	0.068213		0.708503	0.676354
Tratamiento 1 (HMA/COM)	0.028431	0.708503		0.429063
Tratamiento 2 (COM)	0.158359	0.676354	0.429063	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

Es de resaltar que en ambos casos considerando la biomasa fresca y seca el tratamiento 1 donde se aplicó composta e inoculación de HMA fue donde se registraron los mayores valores. Los incrementos logrados en ambas variables se deben a la presencia de los hongos MA y a la adición de la composta, por un lado los hongos micorrízicos a través de establecer la simbiosis con las raíces de las plantas, pudieron optimizar la captura de los nutrientes minerales dispuestos por aplicación la composta, mejorando el desarrollo vegetativo de las plantas (Alarcón *et al.*, 2008; Yao

et al., 2002). Con la aplicación de compostas y con la presencia de los hongos micorrízicos pueden contribuir favorablemente en el desarrollo de cultivos de interés socioeconómico, a través de la optimización nutricional de las plantas.

7.5.3 Biomasa fresca de las raíces

Durante el muestreo I a los 37 días, las raíces de las plantas tomadas de los tratamientos 3 (HMA) y 1 (HMA/COM) obtuvieron la mayor biomasa radical (11,9 y 11,7 g, respectivamente), la cual fue superior a la medida en las plantas del control (8,9 g) y a las correspondientes al tratamiento 2 (COM) (7,7 g) (Figura 17). Conforme las plantas se desarrollaron se observó mayor ganancia de peso radical, el máximo se registró en el muestreo III a los 100 días. En el tratamiento 3 (HMA) el peso promedio de las raíces fue de 25 g, mientras que en los tratamientos 1, 2 y control se obtuvieron pesos menores, siendo de 13,5, 15,8 y 17,9 g, respectivamente. Finalmente en el muestreo IV se presentó un decremento de la biomasa radicular principalmente en los tratamientos 1, 3 y control debido a la senescencia propia del desarrollo de las plantas (Figura 17).

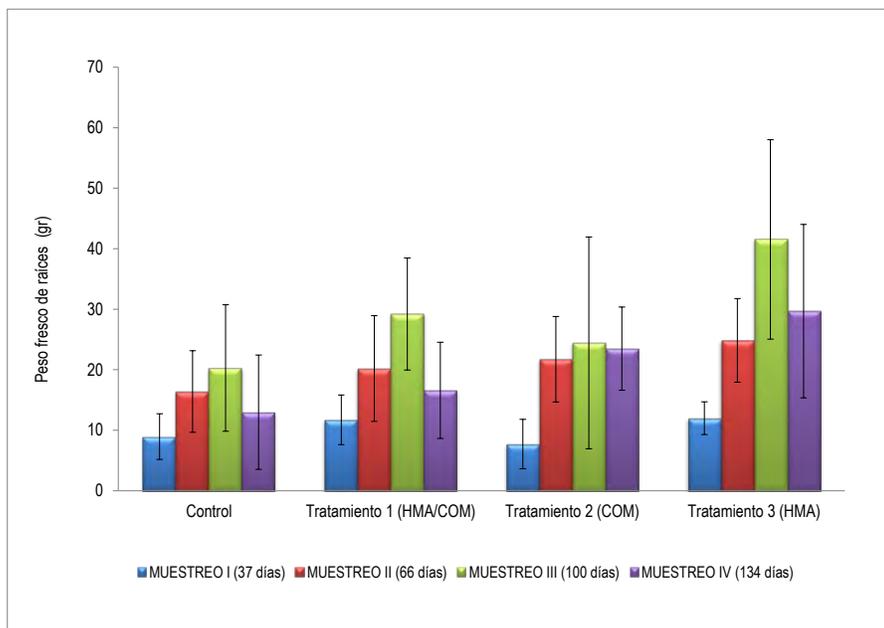


Figura 17. Peso promedio de las raíces frescas de las plantas de haba (*Vicia faba* L.). Las barras representan la desviación estándar de los datos.

Con base en el análisis estadístico de los pesos promedio de las raíces recolectadas en el cuarto muestreo, el cual se muestra en la tabla (17), se observa que el peso promedio registrado en las muestras del tratamiento 3 (HMA) estadísticamente presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al tratamiento 1 (HMA/COM), tratamientos 2 (COM) y al control, con éste tratamiento se obtuvieron los máximos registros de biomasa radicular a lo largo de todo el ciclo de la planta, indicados por los cuatro muestreos (12,4 g; 18,3 g; 25 g y 22,1 g, respectivamente). Asimismo, se determinó que no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos 1 y 3 y el control.

Tabla 17. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) para la biomasa promedio radical de las plantas de haba, en el cuarto muestreo

Tratamiento	Prueba LSD			
	Control	Tratamiento 3 (HMA)	Tratamiento 1 (HMA/COM)	Tratamiento 2 (COM)
Control		0.000432	0.278555	0.213376
Tratamiento 3 (HMA)	0.000432		0.013326	0.020499
Tratamiento 1 (HMA/COM)	0.278555	0.013326		0.871564
Tratamiento 2 (COM)	0.213376	0.020499	0.871564	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

La cantidad de biomasa radicular alcanzada principalmente con el tratamiento 3 donde hubo una adición de inóculo de hongos MA, puede ser un indicador de la actividad benéfica de estos organismos, ya que una de las funciones importantes de los hongos MA es la de aumentar el área de absorción radicular de las plantas a través de sus redes miceliales y con ello captar mayor número de nutrientes, como en el caso del fósforo. El P es un elemento que participa de manera directa e indirecta en varias de las funciones vitales de las plantas, ya forma parte de compuestos orgánicos que participan en las reacciones bioquímicas que permiten aprovechar la energía luminosa a través de la fotosíntesis, esta energía es utilizada por las células de las plantas para producir tejidos y órganos vegetales, incluyendo las raíces (Irwing, 1982). Esta ganancia radical puede ser atribuida a la actividad de las hifas de los hongos MA, dando como resultado un mayor transporte de nutrientes y agua hacia la parte aérea (Marschner y Dell, 1994; Yao *et al.*, 2002)

7.5.4 Rendimiento: peso fresco y seco de fruto

El mayor rendimiento en peso fresco y seco de los frutos de haba se obtuvo en el tratamiento 3 (HMA) alcanzando los valores máximos de 16,5 y 5,6 g, respectivamente, seguido del tratamiento 2 (COM) con un rendimiento de 9,9 y 3 g, respectivamente. Mientras que en el control y el tratamiento 1 (HMA/COM) no se observó aumento en este parámetro con respecto a los otros tratamientos (Figura 18).

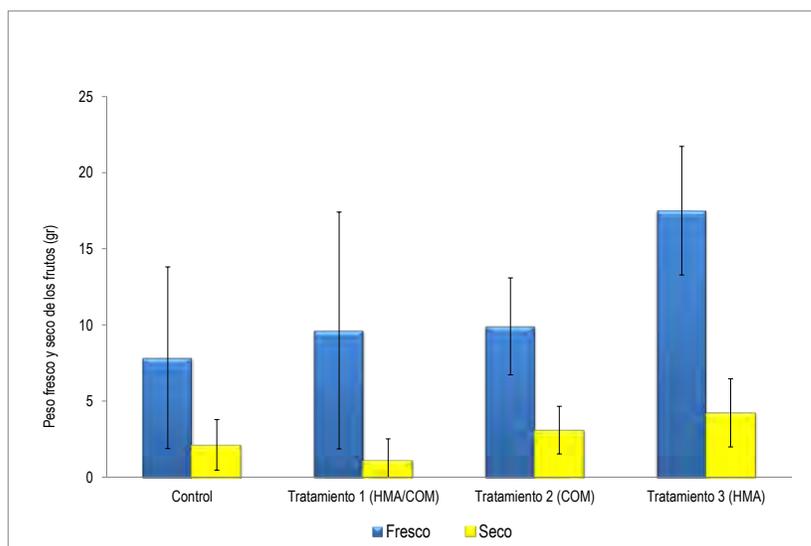


Figura 18. Rendimiento promedio en peso fresco y seco de los frutos de las plantas de haba (*Vicia faba* L.). Las barras representan la desviación estándar de los datos.

Estadísticamente entre el tratamiento 3 (HMA) y los tratamientos 2 (COM), 1 (HMA/COM) y control hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en el rendimiento alcanzado, basado en los promedios de los pesos fresco como en los pesos seco de los frutos de haba. Los mayores se registraron en el tratamiento 3 (HMA), en el cual se hizo la aplicación del inoculante fúngico (Tablas 18 y 19). En tanto que el tratamiento 2 (COM) fue diferente estadísticamente ($p < 0.05$) con respecto al tratamiento 1 (HMA/COM) y al control.

Tabla 18. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) en el rendimiento promedio de grano fresco de las plantas de haba.

Tratamiento	Prueba LSD			
	Control	Tratamiento 1 (HMA/COM)	Tratamiento 2 (COM)	Tratamiento 3 (HMA)
Control		0.346209	0.217730	0.001207
Tratamiento 1 (HMA/COM)	0.346209		0.035611	0.000106
Tratamiento 2 (COM)	0.217730	0.035611		0.024285
Tratamiento 3 (HMA)	0.001207	0.000106	0.024285	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

Tabla 19. Prueba de LSD ($\alpha=0.05$) en el rendimiento promedio de grano seco de las plantas de haba.

Tratamiento	Prueba LSD			
	Control	Tratamiento 1 (HMA/COM)	Tratamiento 2 (COM)	Tratamiento 3 (COM)
Control		0.295888	0.306154	0.001098
Tratamiento 1 (HMA/COM)	0.295888		0.045077	0.000073
Tratamiento 2 (COM)	0.306154	0.045077		0.013634
Tratamiento 3 (HMA)	0.001098	0.000073	0.013634	

Los números rojos indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos

La asociación simbiótica establecida por los hongos MA con las raíces de las plantas de haba, pudo ayudar en la captación y asimilación de los nutrientes minerales disponibles en el suelo a pesar de los niveles que caracterizaron al suelo de las macetas, cuyas cantidades fueron de N (4,65 mg/kg) y P mg/kg (0,423), también se diferenció por poseer una relación C/N de 9,13 con un pH de 7,34 ligeramente alcalino (Tabla 7), el cual facilitó la disponibilidad del N y P lo cual se reflejó en el producto obtenido. Sin embargo, con el tratamiento 1 (HMA/COM) la productividad fue deficiente, quizá esto se deba principalmente al pobre desarrollo radicular que presentaron las plantas de este tratamiento con respecto a las plantas del tratamiento 3 (13,5 g) (Figura 18). Con respecto al tratamiento 2, con la aplicación de la composta fue factible aumentar los nutrientes esenciales para el buen desarrollo de las plantas, los cuales pudieron estar disponibles para ser utilizados por las plantas (Yao *et al.*, 2002; Sorensen *et al.*, 2008), sin embargo el rendimiento fue menor al obtenido en las plantas del tratamiento 3.

7.5.5 Evaluación de Fósforo (P) en biomasa seca del follaje

Se llevó a cabo la determinación del contenido de fósforo foliar en las hojas secas de las plantas de haba recolectadas al final del ensayo, encontrándose que la mayor cantidad se halló en el tratamiento 2 (COM) conteniendo 88 mg/kg, seguida del tratamiento 3 (HMA) con 85 mg/kg, mientras que las cantidades más bajas se apreciaron en el control (80,5 mg/kg) y en el tratamiento 1 (HMA/COM) (76 mg/kg). El suelo de las macetas en el cual se desarrollaron las plantas se caracterizó por presentar niveles bajos de N (4,65 mg/kg), P (0,423 mg/kg), C (42,435 mg/kg), una CE de 0,04, con un pH ligeramente alcalino (7,34). El crecimiento promedio de las plantas fue muy homogéneo entre los tratamientos con compostas y el control, lo cual no permitió asegurar que hubo efecto diferente de cada tratamiento (Figura 14). Sin embargo, en el tratamiento 3 (HMA) y tratamiento 1 (HMA/COM) se registró la mayor ganancia de biomasa tanto fresca como seca con respecto al tratamiento 2 (COM) y control (Figuras 15 y 16), estadísticamente fueron diferentes ($p < 0.05$). Asimismo, el mayor incremento de biomasa fresca radical fue alcanzado con el mismo tratamiento 3 (HMA), así como también el rendimiento fresco y seco de las plantas de haba (Figura 18), en ambos parámetros este tratamiento tuvo diferencias significativas con relación a los tratamientos 1 y 2 y control.

De esto se desprende que el tratamiento 3 constituido sólo por inóculo de hongo micorrízicos jugaron un papel importante al facilitar la captación de fósforo, lo cual se vió reflejado en los incrementos de la biomasa del follaje y de las raíces, así como en el aumento del rendimiento de la planta de haba. Se ha visto que en suelos deficientes de P los hongos MA son altamente efectivos facilitando la captura de nutrimentos e incrementando el desarrollo de las plantas (Lu y Koide, 1994).

8. CONCLUSIONES

-  La aplicación de las compostas se correlacionó positivamente con el aumento en el número de esporas de los hongos MA en la rizósfera de maíz (*Zea mays* L.) y de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), así como con el desarrollo y producción de los cultivos.

-  La variación del número de esporas se relacionó con la fenología de las plantas. El máximo número de esporas contabilizadas se alcanzó en la etapa de fruto.

-  En el cultivo de haba (*Vicia faba* L.) la aplicación ya sea de inóculo de hongos MA o de inóculo junto con composta mejora el desarrollo y producción de las plantas

9. LITERATURA CITADA

- Abad M, Puchades R (2002). Compostaje de residuos orgánicos generados en la hoya de Buñol (Valencia) con fines hortícola. Asociación para la Promoción Socioeconómica Interior Hoya de Buñol, Valencia.
- Al-Askar AA, Rashad YM (2010). Arbuscular mycorrhizal fungi: A biocontrol agent against common bean *Fusarium* root rots disease. *Plant Pathol J* 9: 31-38.
- Alarcón A, Ferrera-Cerrato R (2000). Biofertilizantes: importancia y utilización en la agricultura. *Agric Téc Mex* 26: 191-203.
- Alarcón ZA, Morales-León JA, Jaume EO, Vega-Brizuela A, Boicet-Fabré A (2008). Efecto de la aplicación de *Azotobacter chroococcum* y *Glomus* sp en el cultivo del boniato (*Ipomea batatas* (L), Lam). *Granma Ciencia* 12: 1-9.
- Alguacil MM, Lumini E, Roldán A, Salinas-García JR, Bonfante P, Bianciotto V (2008). The impact of tillage practices on arbuscular mycorrhizal fungal diversity in subtropical crops. *Ecol Appl* 18: 527-536.
- Allen MF (1991). *The Ecology of mycorrhizae*. Allen MF (Ed.). Cambridge University Press.
- Aravena RC, Valentin CC, Diez JMC, Mora GML, Gallardo AF (2007). Aplicación de lodos de planta de tratamiento de celulosa: efecto en algunas propiedades físicas y químicas de suelos volcánicos. *J Soil Sc Nutr* 7: 1-14.
- Atlas MR, Bartha R (2002). *Ecología microbiana y Microbiología ambiental*. 4^{ed}. PEARSON EDUCACIÓN, S. A., Madrid, España. pp. 677.
- Augé RM (2001). Water relation, drought and VA mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
- Augé RM (2004). Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. *Can J Soil Sci* 84: 373-381.
- Bago B, Zipfel W, Williams RM, Jun J, Arreola R, Lammers PJ, Pfeffer PE, Shachar-Hill Y (2002). Translocation and utilization of fungal storage lipid in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiol* 128: 108-124.
- Bécard G, Pfeffer PE (1993). Status of nuclear division in arbuscular mycorrhizal fungi during in-vitro development. *Protoplasma* 174: 62-68.
- Bernal-Calderón MP, Gondar Bouzada DM (2007). Producción y gestión de los residuos orgánicos: situación actual a nivel mundial, comunitario y estatal. En: Moreno Casco J, Moral Herrero R (Eds.). *Compostaje*. Mundi-Prensa, Madrid. pp. 9-43.
- Berti WR, Cunninghams D (2000). Phytostabilization of metals. En: Raskin I, Ensley BD (Eds.) *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean-up the environment*. John Wiley & Sons, New York, pp. 71-88.
- Besserer A, Puech-Pages V, Kiefer P, Gomez-Roldan V, Jauneau A, Roy S, Portais JC, Roux Ch, Bécard G, Séjalon-Delmas N (2006). Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biol* 4: 1239-1247.
- Bot A, Benites J (2005). The importance of soil organic matter key to drought-resistant soil and sustained food and production. *FAO Soils, Bulletin* 80. Roma. pp. 95.
- Bottomley PJ (1999). Microbial ecology, Chapter 8. En: Sylvia DM, Fuhrmann JJ, Hartel PG, Zuberer DA (Eds.). *Principles and applications of soil microbiology*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. pp 149-167.
- Brundrett MC, Kendrick B (1988). The mycorrhizal status, root anatomy, and phenology of plants in a sugar maple forest. *Can J Bot* 66: 1153-1173.

- Brundrett MC (2008). Methods for Identifying Mycorrhizas. En: *Mycorrhizal Associations: The Web Resource*. Version 2.0. Date accessed. <mycorrhizas.info>.
- Bucher M (2007). Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhizal interfaces. *New Phytologist* 173: 11-26.
- Caravaca F, Barea JM, Figueroa D, Roldán A (2002). Assessing the effectiveness of inoculation with mycorrhizal fungi and soil compost addition for reforestation with *Olea europaea* subsp. *sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. *Appl Soil Ecol* 20: 107-118.
- Cárcova J, Borrás L, Otegui ME (2003). Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en maíz. En: Satorre E, Benech-Arnold R, Slafer GA, de la Fuente E, Miralles D, Otegui ME, Savín R. (Eds.) *Producción de Cultivos de Granos. Bases Funcionales para su Manejo*. Editorial Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. pp. 135-166.
- Castaldi P, Melis P (2002). Composting of *Posidonia oceanica* and its use in agriculture. In: Insam H, Riddech N, Klammer S (Eds.) *Microbiology of Composting*. Springer, Germany, p. 639.
- Castellanos JZ, Uvalle JX, Aguilar SA (2000). *Manual de Interpretación de Análisis de Suelos y Aguas*. Instituto de Capacitación para la Productividad Agrícola, México.
- Castrejón J, Barrios A, Jiménez B, Maya C, Rodríguez A, González A (2000). Evaluación de la calidad de lodos residuales de México. Instituto de Ingeniería. Grupo de Tratamiento y Reúso. Universidad Nacional Autónoma de México, México, p. 14.
- Chalot M, Blaudez D, Brum A (2006). Ammonia: a candidate for nitrogen transfer at the mycorrhizal interface. *Plant Sci* 11: 263-266.
- Channashettar VA, Uppal HS, Adholeya A (2008). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on plant biomass of *Euphorbia prostrata*. *Mycorrhiza News* 20: 14-17.
- Cesaro P, van Tuinen D, Copetta A, Chatagnier O, Berta G, Gianinazzi S, Lingua G (2008). Preferential colonization of *Solanum tuberosum* L. roots by the fungus *Glomus intraradices* in arable soil of a potato farming area. *Appl Environ Microbiol* 74: 5776-5783.
- Coker CS, Walden LR, Shea TG, Brinker MJ (1991). Dewatering waste sludge for incineration. *Water Environ Tech* 16: 63-68.
- CONAGUA (2001a). Comisión Nacional del Agua, Norma Mexicana - NMX-AA-026-SCFI-2001. Análisis de agua - Determinación de nitrógeno total Kjeldahl en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba.
- CONAGUA (2001b). Comisión Nacional del Agua, Norma Mexicana - NMX-AA-034-SCFI-2001, Análisis de agua - Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba.
- CONAGUA-SEMARNAT-Gobierno Federal (2010). Situación del subsector agua potable, alcantarillado y saneamiento. pp. 282.
- COPLADET (2010). Dirección de informática y estadística. Unidad de Estadística, Tlaxcala, México.
- Corradi N, Bonfante P (2012). The arbuscular mycorrhizal symbiosis: origin and evolution of a beneficial plant infection. *PLoS Pathogens* 8: 1-3.
- Cousin JR, Cousins-Diane H, Corinna G, Stutz JC (2003). Preliminary assessment of arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community structure in an urban ecosystem. *Mycorrhiza* 13: 319-326.

- Covacevich F, Sainz Rozas HR, Barbieri P, Echeverría HE (2005). Formas de colocación de fósforo sobre el crecimiento y la micorrización espontánea del cultivo de trigo. *Cien Suelo* 23: 39-45.
- Covacevich F, Sainz Rozas HR, Barbieri P, Echeverría HE (2008). Crecimiento y micorrización arbuscular nativa de trigo en siembra directa bajo distintas formas de colocación de fósforo. *CI Suelo* 26: 169-175.
- Deepak V (2008). VA mycorrhizal status in wheat cultivar 306 under different phosphorus concentration. *Indian J Agrofor* 10: 62-64.
- Dekkers DBM, Van der Werff PA (2001). Mutualistic functioning of indigenous arbuscular mycorrhizae in spring barley and winter wheat after cessation of long-term phosphate fertilization. *Mycorrhiza* 10: 195-201.
- Delgado Arroyo MM, Porcel Cots MA, Miralles de Imperial Hornedo R, Meltrán Rodríguez EM, Beringola Beringola L, Martín Sánchez JV (2002) Sewage sludge compost fertilizer effect on maize yield and soil heavy metal concentration. *Rev Int Contam Ambient* 18: 147-150.
- Dell'Amico J, Torrecillas A, Rodríguez P, Morte A, Sánchez-Blanco MJ (2002). Water and growth parameter responses to tomato plants associated with arbuscular mycorrhizae during drought and recovery. *J Agric Sci* 138: 387-393.
- Dickson S (2004). The Arum-Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 163: 187-200.
- Douds DD, Galvez L, Franke-Snyder M, Reider C, Drinkwater LE (1997). Effect of compost addition and crop rotation point upon VAM fungi. *Agric Ecosyst Environ* 65: 257-266.
- Douds DD, Nagahashi G, Pfeffer PE, Kayser WM, Reider C (2005). On-farm production and utilisation of arbuscular mycorrhizal fungus inoculum. *Can J Plant Sci* 85: 15-21.
- Egerton-Warburton LM, Allen EB (2000). Shifts in arbuscular mycorrhizal communities along an anthropogenic nitrogen deposition gradient. *Ecol Appl* 10: 484-496.
- Eghball B (2002). Soil properties as influenced by phosphorus- and nitrogen-based manure and compost applications. *Agron J* 94: 128-135.
- Eghball B, Ginting D, Gilly JE (2004). Residual effects of manures and compost application on corn production and soil properties. *Agron J* 96: 442-447.
- Esparza Rodríguez JP (2004). Uso de lodo biológico proveniente del tratamiento de efluentes de la industria de la celulosa como mejorador de suelos degradados. Tesis de Maestría en Ciencias de Recursos Naturales. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile. pp. 91.
- Evanylo GK, Daniels WL (1999). Paper mill sludge composting and compost utilization. *Compost Sci Util* 7: 30-39.
- Evelin H, Kapoor R, Giri B (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals Botany* 104: 1263-1280.
- Fauvert M, Michiels J (2008). Rhizobial secreted proteins as determinants of host specificity in the rhizobium-legume symbiosis. *FEMS Microbiol Lett* 285: 1-9.
- Feng G, Zhang FS, Li XL, Tian C, Tang C, Rengel Z (2002). Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza* 12: 185-190.
- Filion M, St-Arnaud M, Jabaji-Hare SH (2003). Quantification of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* in mycorrhizal bean plants and surrounding mycorrhizosphere soil using real-time polymerase chain reaction and direct isolations on selective media. *Am Phytop Soc* 93: 229-235.

- Finlay RD (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *J Exp Bot* 59: 1115-1126.
- Fokoma R, Adamouc S, Teugwaa MC, Begoude Boyoguenob AD, Nanaa WL, Ngonkeub MEL, Tchamenia NS, Nwagac D, Ndzomod GT, Amvam Zolloa PH (2012). Glomalin related soil protein, carbon, nitrogen and soil aggregate stability as affected by land use variation in the humid forest zone of south Cameroon. *Soil Tillage Research* 120: 69-75.
- Fonseca HMA, Berbara RLL (2008). Does *Lunularia cruciata* form symbiotic relationships with either *Glomus proliferum* or *G. intraradices*?. *Mycol Res* 112: 1063-1068.
- Frank B. 2005. On the nutritional dependence of certain trees on root symbiosis with belowground fungi. *Mycorrhiza* 15: 267-275. (an English translation of A.B. Frank's classic paper of 1885)
- Fuentes B, Bolan N, Naidu R, Mora ML (2006). Phosphorus in organic waste-soil systems. *J Soil Sc Plant Nutr* 6: 64-83.
- Gaur S, Kaushik P (2012). Effect of Seasonal Variation on Mycorrhizal Fungi Associated with Medicinal Plants in Central Himalayan Region of India. *American Journal of Plant Sciences* 3: 618-626.
- Gavito ME, Varela L (1993). Seasonal dynamics of mycorrhizal associations in maize fields under low input agriculture. *Agric Ecosyst Environ* 45: 275-282.
- Genre A, Chabaud M, Timmers T, Bonfante P, Barker DG (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *Plant Cell* 17: 3489-3499.
- Genre A, Bonfante P (2007). Check-in procedures for plant cell entry by biotrophic microbes. *Mol Plant Microbe Interact* 20: 1023-1030.
- Gerdemann JW, Trappe JM (1974). Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycol Mem* 5: 1-76.
- Giri B, Giang PH, Kumari R, Prasad R, Sachdev M, Garg AP, Oelmüller R, Varma A (2005). Mycorrhizosphere: Strategies and Functions. En: Buscot F, Varma A (Eds.). *Soil Biology, Vol. 3 Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. pp. 213-252.
- Glassop D, Smith S, Smith F (2005). Cereal phosphate transporters associated with the mycorrhizal pathway of phosphate uptake into roots. *Planta* 222: 688-698.
- Govindarajulu M, Pfeffer PM, Jin H, Abubaker J, Douds DD, Allen JW, Bücking H, Lammers PJ, Shachar-Hill Y (2005). Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature* 435: 819- 823.
- Grant C, Bittman S, Montreal M, Plenchette C, Morel C (2005). Soil and fertilizer phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhizal development. *Can J Plant Sci* 85: 3-14.
- Graves ER, Hattmer MG (2000). Composting, Chapter 2. *National Engineering Handbook, Part 637*. Department of Agriculture and Natural Resources Conservation Service. United States of America.
- Guerrero Nevárez MA, Pinto Espinoza J, Vicencio de la Rosa MG, Martínez Prado A (2007). Composting of wastewater treatment plant biosolids, *Proceedings Chemical Engineering International Symposium 2007, México*. pp. 144-149.
- Gutiérrez Miceli FA, Moguel Zamudio B, Abud Archila M, Gutierrez Oliva VF, Dendooven L (2008). Sheep manure vermicompost supplemented with a native diazotrophic bacteria and mycorrhizas for maize cultivation. *Bioresource Technology* 99: 7020-7026.
- Hao LF, Zhang JL, Chen FJ, Christie P, Li XL (2008). Response of two maize inbred lines with contrasting phosphorus efficiency and root morphology to mycorrhizal colonization at different soil phosphorus supply levels. *J Plant Nutr* 31: 1059-1073.

- Hargreaves JC, Adl MS, Warman PR (2008). Review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. *Agric Ecosyst Environ* 123: 1-14.
- Harrison MJ, Dewbre GR, Jinyuan L (2002). A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Cell* 14: 2413-2429.
- Hartel PG (1999). The soil habitat, Chapter 2. En: Sylvia DM, Fuhrmann JJ, Hartel PG, Zuberer DA (Eds.). *Principles and applications of soil microbiology*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. pp. 21-43.
- Haug RT (1993). *The Practical Handbook of Compost Engineering*. Lewis Publishers. United States of America. pp. 126-140.
- Hayman DS (1970). Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. *Trans Br Mycol Soc* 54: 53-63.
- IICA, RED SICTA, COSUDE, ASOPROL (2009). Technical guide for the bean crop in Santa Lucía, Teustepe and San.Lorenzo in the Boaco Departament, Nicaragua. Santa Lucía, Boaco, Nicaragua, p. 28.
- Isobe K, Sugimura H, Maeshima T, Ishii R (2008). Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in upland field soil of Japan: 2. Spore density of arbuscular mycorrhizal fungi and infection ratio in soybean and maize fields. *Plant Prod Sci* 11: 171-177.
- Isobe K, Maruyama K, Nagai S, Higo M, Maekawa T, Mizonobe G, Drijber RA, Ishii R (2011). Arbuscular mycorrhizal fungal community structure in soybean roots: comparison between Kanagawa and Hokkaido, Japan. *Adv Microb* 1: 13-22.
- ISU-Iowa State University (1996). How a corn plant develops. Special Report No. 48. Reprinted February, USA.
- IUSS, Working Group, WRB (2006). World reference base for soil resources 2006. 2nd Ed. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome.
- Johansson JF, Paul LR, Finlay RD (2004). Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology* 48: 1-13.
- Jones KM, Kobayashi H, Davies BW, Taga ME, Walker GC (2007). How rhizobial symbionts invade plants: the *Sinorhizobium*-*Medicago* model. *Nat Rev Microbiol* 5: 619-633.
- Karandashov V, Bucher M (2005). Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Science* 10: 22-29.
- Klironomos JN, McCune J, Hart M, Neville J (2000). The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity. *Ecol Lett* 3: 137-141.
- Lammers P, Jun J, Abubaker J, Arreola R, Gopalan A, Bago B, Hernández-Sebastián C, Allen JW, Douds DD, Pfeffer PE, Shachar-Hill Y (2001). The glyoxylate cycle in an arbuscular mycorrhizal fungus. Carbon flux y gene expression. *Plant Physiol* 127: 1287-1298.
- Ligrone R, Carafa A, Lumni E, Bianciotti V, Bonfante P, Duckett J (2007). Glomeromycotan associations in liverworts: a molecular, cellular and taxonomic analysis. *Ame J Bot* 94: 1756-1777.
- Linderman RG (2008). The mycorrhizosphere phenomenon. En: Feldman F, Kapulnik Y, Barr J (Eds.). *Mycorrhiza Works*. Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, Braunschweig, Germany. pp. 341-355.
- Liu A, Hamel C, Hamilton RI, Smith DL (2000). Mycorrhizae formation and nutrient uptake of new corn (*Zea mays* L.) hybrids with extreme canopy and leaf architecture as influenced by soil N and P levels. *Plant Soil* 221: 157-166.

- Liu J, Maldonado-Mendoza IE, Lopez-Meyer M, Cheung F, Town Ch, Maria J (2007). The arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *Plant J* 50: 529-44.
- López AE, López F (2004). Ecosistemas y Agroecosistemas. En: López-Alcocer E, Hurtado S, López-Alcocer F (Eds.) *Agroecología. Principios y Métodos*. Universidad de Guadalajara, México. pp. 7-12.
- López Sánchez ME, Honrubia M (1992). Seasonal variation of vesicular-arbuscular mycorrhizae in eroded soils from southern Spain. *Mycorrhiza* 2: 33-39.
- López Wong, W (2010). Estudio del uso de residuos industriales no peligrosos a través del proceso de compostaje y su aplicación para el cultivo de maíz y frijol. Tesis de Maestría en Biotecnología Aplicada, CIBA-IPN, Tlaxcala, México. pp. 123.
- Lu X, Koide RT (1994). The effects of mycorrhizal infection on components of plant growth and reproduction. *New Phytol* 128: 211-218.
- Luna-Zendejas HS (1997). Variación estacional de los hongos micorrizógenos presentes en suelos de maíz/haba, maíz/alverjón y maíz/frijol del volcán La Malintzi, Tlaxcala. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, U.N.A.M., México, D. F.
- Luna Zendejas HS, López Wong W, Solís Oba M, Vera A (2011a). Effect of compost made with sludge from wastewater treatment plants on field of corn (*Zea mays* L.) and arbuscular mycorrhizal fungi density. *Afr J Agric Res* 6: 1233-1240.
- Luna Zendejas HS, Solís Oba M, López Wong W, Vera Reyes A, González Prieto JM (2011b). Effects of compost made with sludge and organic residues on bean (*Phaseolus vulgaris* L.) crop and arbuscular mycorrhizal fungi density. *Afr J Agric Res* 6:1580-1585.
- Marschner H, Dell B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil* 159: 89-102.
- Mårtensson AM, Carlgren K (1994). Impact of phosphorus fertilization on VAM diaspores in two wedish long-term field experiment. *Agric Ecosyst Environ* 47: 327-334.
- McGonigle TP, Miller MH, Evans DG, Fairchild GL, Swan JA (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 115: 495-501.
- Meléndez G (2003). Residuos orgánicos y la materia orgánica del suelo. En: Meléndez G, Soto G (Eds.) *Taller de Abonos Orgánicos*. CATIE/GTZ/UCR/CANIAN. Costa Rica. pp.155.
- Mendoza R, Goldmann V, Rivas J, Escudero V, Pagani E, Collantes M, Marbán L (2002). Population of mycorrhizal arbuscular fungi in relation with soil properties and host plants In: *Tierra del Fuego*. *Ecol Aust* 12: 105-116.
- Mohammad MJ, Hamad SR, Malkani HI (2003). Population of arbuscular mycorrhizal fungi in semi-arid environment of Jordan as influenced by biotic and abiotic factors. *J Arid Environ* 53: 409-417.
- Moreno Casco J (2008). *Composting*. Mundi-Prensa. Madrid, p. 570.
- Moreno CJ, Mormeneo BS (2007). Microbiología y bioquímica del proceso de compostaje. En: Moreno-Casco J, Moral-Herrero R (Eds.) *Compostaje*. Mundi-Prensa, Madrid, pp. 111-140.
- Morte A, Díaz G, Rodríguez P, Alarcón JJ, Sánchez-Blanco MJ (2001). Growth and water relations in mycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus halepensis* plants in response to drought. *Biol Plantarum* 44: 263-267.
- Morte A, Gutiérrez A, Dreyer B, Torrente P, Honrubia M (2007). Biofertilizantes de última generación. Dpto. Biología Vegetal (Botánica), Facultad de Biología, Universidad de Murcia.

- Morton JB (1987). Effects of mountants and fixatives on wall structure and Melzer's reaction in spores of two Acaulospora species (Endogonaceae). *Mycologia* 78: 787-794.
- Morton JB (1988). Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature and identification. *Mycotaxon* 32: 267-324.
- Morton JB, Benny GL (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes). A new suborder, Glomineae y Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471-491.
- Morton JB (1999). Fungi, Chapter 4. En: Sylvia DM, Fuhrmann JJ, Hartel PG, Zuberer DA (Eds.). Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. pp 72-93.
- Mullen MD (1999). Transformations of Other Elements, Chapter 16. En: Sylvia DM, Fuhrmann JJ, Hartel PG, Zuberer DA (Eds.). Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. pp 369-386.
- Muthukumar T, Udaiyan K (2000). Influence of organic manures on arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Vigna unguiculata* (L.) Walp. in relation to tissue nutrients and soluble carbohydrate in roots under field conditions. *Biol Fertil Soils* 31: 114-120.
- Myrold DD (1999). Transformations of Nitrogen, Chapter 12. En: Sylvia DM, Fuhrmann JJ, Hartel PG, Zuberer DA (Eds.). Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. pp 259-294.
- Nagy R, Vasconcelos MJ, Zhao S, McElver J, Bruce W, Amrhein N, Raghothama KG, Bucher M (2006). Differential regulation of five Pht1 phosphate transporters from maize (*Zea mays* L.). *Plant Biol* 8: 186-197.
- Navarro P, Moral H, Gómez L, Mataix B (1995). Residuos orgánicos y agricultura. Ed. Electrónica: Espagrafic, Universidad de Alicante, España. pp. 155.
- Pankow W, Boller T, Wiemken A (1991). Structure, function and ecology of the mycorrhizal symbiosis. *Experientia* 47: 311-312.
- Phillips JM, Hayman DS (1970). Improved procedures for clearing root and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br Mycol Soc* 55: 158-161.
- Plenchette C, Fortin J A, Furlan V (1983). Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant Soil* 110:199-209.
- Porta J, López-Acevedo M, Poch RM (2008). Introducción a la edafología: uso y protección del suelo. Mundi-Prensa, España. pp. 451.
- Read DJ, Duckett JG, Francis R, Ligrone R, Russell A (2000). Symbiotic fungal associations in lower land plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society London. Biol Sci* 355: 815-831.
- Redecker D, Kodner R, Graham LE (2000). Glomalean Fungi from the Ordovician. *Science* 289: 1920-1921.
- Requena N, Serrano E, Ocón A, Breuninger M (2007). Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. *Phytochemistry* 68: 33-40.
- Rodríguez Salinas MA, Córdova y Vázquez A (2006). Manual de Compostaje Municipal: tratamiento de residuos sólidos urbanos. SEMARNAT-INE-GTZ, 1ª Ed., México, p. 101.
- Safir G R, Duniway J M (1991). Evaluation of plant response to colonization by vesicular – arbuscular mycorrhizal fungi, environmental variables. En: Schnck N C. Methods and Principles of mycorrhizal research. Florida: 3ª Printing, APS, Press, pp. 78.

- Saidi N, Kouki S, M'Hiri F, Jedidi N, Mahrouk M, Hassen A, Ouzari H (2009). Microbiological parameters and maturity degree during composting of *Posidonia oceanica* residues mixed with vegetable wastes in semi-arid pedo-climatic condition. *J Environ Sci* 21: 1452-1458.
- Schalamuk S, Chidichimo H, Cabello M (2007). Variaciones en la composición de especies de Glomeromycota (Fungi) en un cultivo de trigo bajo distintos sistemas de labranza. *Bol Soc Argent Bot* 42 : 45-53.
- Schenck NC, Pérez Y (1990). Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. INVAM. Univ. of Florida, Gainesville, FL. pp. 245.
- Schüßler A (2000). *Glomus claroideum* forms an arbuscular mycorrhiza-like symbiosis with the hornwort *Anthoceros punctatus*. *Mycorrhiza* 10: 15-21.
- Schüßler A, Schwarzott D, Walter C (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol Res* 105: 1413-1421.
- Schüßler A, Martin H, Cohen D, Fitz M, Wipf D (2006). Characterization of a carbohydrate transporter from symbiotic glomeromycotan fungi. *Nature* 444: 933-936.
- Schüßler A, Walker C (2010). The Glomeromycota. A species list with new families and new genera. Electronic version freely available online at www.amf-phylogeny.com
- SEDUE (1985). Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología - Norma Mexicana - NMX-AA-067-1985, Protección al Ambiente-Contaminación del Suelo-Residuos Sólidos Municipales-Determinación de la Relación Carbono/Nitrógeno.
- SEMARNAT (2000). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales - Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.
- SEMARNAT (2002). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales - NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental - Lodos y Biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.
- SEMARNAT (2006). Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales - NTEA-006-SMA-RS-2006 - Que establece los requisitos para la producción de los mejoradores de suelo elaborados a partir de residuos orgánicos.
- Serralde OAM, Ramírez GMM (2004). Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Rev Corpoica* 5: 31-40.
- Sheng M, Tang M, Chen H, Yang B, Zhang F, Huang Y (2009). Influence of arbuscular mycorrhizae on the root system of maize plants under salt stress. *Can J Microbiol* 55: 879-86.
- Shrestha VG, Shrestha K, Wallander H (2008). Effect of plant residues on AM fungi. *Scientific World* 6: 85-88.
- Siddiqui ZA, Pichtel J (2008). Mycorrhizae: An overview. En: Siddiqui ZA, Akhtar MS, Futai K (Eds.). *Mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry*. Springer Science
- Smith SE, Read DJ (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. 3rd Ed. Academic Press.
- Soliva M, López M (2004). Calidad del compost: Influencia del tipo de materiales tratados y de las condiciones del proceso. Formación de técnicos para el tratamiento y gestión de lodos de depuradora. Valsain, CENEAM/MIMAM. España.
- Sorensen JN, Larsen J, Jakobsen I (2008). Pre-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi increases early nutrient concentration and growth of field-grown leeks under high productivity conditions. *Plant Soil* 307: 135-147.

- Souchie EL, Azcón R, Barea JM, Saggin-Júnior OJ, Ribeiro da Silva EM (2006). Phosphate solubilizing and arbuscular mycorrhizal fungi. *Pesq Agropec Bras* 41: 1405-1411.
- Statistica (2006). Programa estadístico para el análisis de datos experimentales. Versión 7.0 para Windows Vista.
- Steinkellner S, Lendzemo V, Langer I, Schweiger P, Khaosaad T, Toussaint JP, Vierheilig H (2007). Flavonoids and strigolactones in roots exudates as signals in symbiotic and pathogenic plant-fungus interactions. *Molecules* 12: 1290-1306.
- Stoffella PJ, Kahn BA (2001). Utilización de compost en los sistemas de cultivo hortícola. Mundi-Prensa Libros, Barcelona.
- Sundberg C, Smärs S, Jönsson H (2004). Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting. *Bioresour Technol* 95: 145-150.
- Syers JK, Johnston AE, Curtin D (2008). Efficiency of soil and fertilizer phosphorus use: Reconciling changing concepts of soil phosphorus behavior with agronomic information. En: FAO (Ed.). *Fertilizer and plant nutrition. Bulletin* 18. Roma. pp. 123.
- Tarafdar JC, Marschner H (1994). Efficiency of VAM hyphae in utilization of organic phosphorus by wheat plants. *Soil Sci Plant Nutr* 40: 593-600.
- Tawarayama K (2003). Arbuscular Mycorrhizal Dependency of Different Plant Species and Cultivars. *Soil Sci Plant Nutr* 49: 655-668.
- Tchabi A, Coyne D, Hountondji F, Lawouin L, Wiemken A, Oehl F (2008). Arbuscular mycorrhizal fungal communities in sub-Saharan Savannas of Benin, West Africa, as affected by agricultural land use intensity and ecological zone. *Mycorrhiza* 18: 181-195.
- Tiquia SM (2000). Evaluating phytotoxicity of pig manure from the pigon-litter system. In: Warman PR, Taylor BR (Eds.) *Proceedings of the International Composting Symposium*, CBA Press Inc. Truro, pp. 625-647.
- Tobar RM, Azcón R, Barea JM (1999). The improvement of plant N acquisition from an ammonium treated, drought-stressed soil by the fungal symbiont in arbuscular mycorrhizae. *Soil Biol Fert* 9: 1-8.
- Toussaint JP, St-Arnaud M, Charest C (2004). Nitrogen transfer and assimilation between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck & Smith and Ri T-DNA roots of *Daucus carota* L. in an in vitro compartmented system. *Can J Microbiol* 50: 251-260.
- Vaca R, Lugo J, Martínez R, Esteller MV, Zavaleta H (2011). Effects of sewage sludge and sewage sludge compost amendment on soil properties and *Zea mays* L. plants (heavy metals, quality and productivity). *Rev Int Contam Ambie* 27: 303-311.
- Van der Heijden MGA, Sanders IR (2002). *Mycorrhizal Ecology*. Springer. Berlin, Alemania. pp. 469.
- Vázquez Alvarado RE (2003). Uso y manejo de estiércoles, Capítulo V. En: Salazar Sosa E, Fortis Hernández M, Vázquez Alarcón A, Vázquez Vázquez C (Eds.). *Abonos orgánicos y plasticultura*. Facultad de Agricultura y Zootecnia de la UJED y Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, COCYTED. pp. 86-109.
- Vivas A, Vörös I, Biró B, Ruiz-Lozano JM, Azcón R (2003). Beneficial effects of indigenous Cd-tolerant and Cd sensitive *Glomus mosseae* associated with a Cd-adapted strain of *Brevibacillus brevis* in improving plant tolerance to Cd contamination. *Appl Soil Ecol* 24: 177-186.
- Walker TS, Bais HP, Grotewold E, Vivanco JM (2003). Root Exudation and Rhizosphere Biology1. *Plant Physiol* 132: 44-5.

Wang YY, Vestberg M, Walker Ch, Hurme T, Zhang X, Lindström K (2008). Diversity and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils of the Sichuan Province of mainland China. *Mycorrhiza* 18: 59-68.

Werner G (1988). The soils in the state of Tlaxcala: Government of the State of Tlaxcala and University Autonomus of Tlaxcala. pp. 198.

Whalen JK, Benslim H, Jiao Y, Sey BK (2008). Soil organic carbon and nitrogen pools as affected by compost applications to a sandy-loam soil in Quebec. *Can J Soil Sci* 88: 443-450.

Widman FB, Herrera RF, Cabañas VD (2005). El uso de compostas provenientes de residuos sólidos municipales como mejorador de suelos para cultivos de Yucatán. *Rev Ing Acad* 9: 31-38.

Yao M, Tweddell R, Désilets H (2002). Effect of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated potato plantlets and on the extent of disease caused by *Rhizoctonia solani*. *Mycorrhiza* 12: 235-242.

Zhang Y, Liang-Dong G (2007). Arbuscular mycorrhizal structure and fungi associated with mosses. *Mycorrhiza* 17: 319-325.

Zhu XC, Song FB, Xu HW (2010). Arbuscular mycorrhizae improves low temperature stress in maize via alterations in host water status and photosynthesis. *Plant Soil* 331: 129-137.

Zucconi F, Forte N, Mónaco A, De Bertoldi M (1985). Phytotoxins during the stabilization of organic matter. En: Gasser J (Ed.). *Composting of agricultural and other wastes*. Elsevier Applied Science Publishing. London, England. pp. 73-86.

<http://www.invam.caf.wvu.edu> - Dr. Morton JB, Dr. Amarasinghe R.

<http://www.tlaxcala.gob.mx/municipios/>- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, 2005. Gobierno del Estado de Tlaxcala.

ANEXO 1

A continuación se anexa los métodos que se siguieron para los análisis físicos y químicos de las compostas.

A.1.1 Medición de pH (1:2)

Pesar 10 g de muestra y adicionar 20 ml de agua desionizada y manualmente agitar a intervalos de 5 min, durante 30 min, dejando reposar durante 15 min. Calibrar el medidor de pH (HACH cat. No. 54650-18 Sension 156 portable multiparameter) y enjuagar con agua desionizada los electrodos antes de iniciar las lecturas de las muestras. La suspensión se agita nuevamente e introduciendo el electrodo en ella, al final se registra el pH al momento en que la lectura se estabiliza (SEMARNAT, 2000).

A.1.2 Determinación de conductividad eléctrica (CE) (1:5)

Pesar 10 g de muestra, añadir 50 ml de agua desionizada, agitando la suspensión y dejándola reposar por 24 h. Para la medición de la CE, se enciende el potenciómetro 5 min antes de realizar las mediciones, la celda se colocada en la muestra y la medición se realiza. Entre cada medición se enjuaga la celda 2 ó 3 veces con agua desionizada. Después se toma la temperatura de la solución. Las lecturas se corrigen con un factor de temperatura y expresándose de acuerdo a las instrucciones del fabricante. El cálculo de la CE se hace mediante la siguiente fórmula (SEMARNAT, 2000).

Cálculo para CE:

$$CE = \frac{(C_{prob}) (K) (Ft)}{1000}$$

Donde:

CE: Conductividad eléctrica (dS/m^{-1}) a temperatura ambiente. $dS/m^{-1} = mmho\ cm^{-1}$.

C_{prob} = Conductividad de la muestra problema en μmho

F_t = Factor de corrección por temperatura

1000 = Factor para convertir de μmho a mmho

A.1.3 Determinación de cenizas (TMECC 05.07-A)

Pesar 1 g de muestra seca (al ambiente) y se coloca en un crisol de porcelana dentro de una mufla a 550°C por dos horas, posteriormente se enfrían las muestras en desecador y se pesan hasta registrar peso constante (SEMARNAT, 2000).

Se determina el peso por medio de la formula:

$$\% \text{ ceniza} = ((\text{PCC}-\text{PC}) / (\text{muestra}(\text{g}))) \times 100$$

Donde:

PCC = Peso crisol con cenizas

PC = Peso del crisol

100 = Para referirlo a porcentaje

A.1.4 Determinación de materia orgánica y carbono orgánico (método As-07, Wakley y Black)

Pesar 0,1 g de muestra para materiales ricos en materia orgánica y colocar en un matraz Erlenmeyer de 500 ml. Elaborar un blanco por triplicado adicionando 10 ml de dicromato de potasio 1N. Agregar cuidadosamente con una bureta 20 ml de ácido sulfúrico concentrado girando el matraz durante 1 min. Posteriormente se dejar reposar por 30 min. Procediendo a añadir 200 ml de agua desionizada, 5 ml de H₃PO₄ concentrado y de 5 a 10 gotas del indicador de difenilamina 1% y se agita. La titulación se realiza con la disolución de sulfato ferroso 1N, gota a gota hasta que vire de color a verde claro la suspensión (SEMARNAT, 2000).

El cálculo del porcentaje de carbono orgánico se hace mediante la fórmula:

$$\% \text{ C orgánico} = \frac{B - T}{\rho} (N) (0,39) \text{ mcf}$$

Donde:

B = Volumen d sulfato ferroso gastado para valorar el blanco (ml)

T = Volumen de sulfato ferroso gastado para valorar la muestra (ml)

N = Normalidad exacta del sulfato ferroso (valorar por separado al momento de analizar las muestras)

ρ = Peso de la muestra empleada (g)

mcf = Factor de corrección de humedad

El cálculo de materia orgánica se hace mediante la fórmula:

$$\% \text{ Materia orgánica} = \% \text{ C orgánico} \times 1.724$$

A.1.5 Determinación de sólidos totales

Pesar 1 g de muestra previamente secada al ambiente y determinar el porcentaje de sólidos totales en una termobalanza (Adam Equipment Company 2006) (CONAGUA, 2001b).

A.1.6 Determinación del % de humedad

Pesar 1 g de muestra previamente secada al ambiente y determinando el porcentaje de humedad en una termobalanza (Adam Equipment Company 2006) (SEMARNAT, 2000).

A.1.7 Determinación de nitrógeno total (Khjendal)

Con una muestra de 0,25 g en un tubo de digestión mezclar 1,1 g de catalizador comercial de Se-Cu y agregar 4 ml de ácido sulfúrico concentrado, dejar reposar por 24 h, posteriormente colocar la muestra en un digestor a 260°C por 4 h, pasado ese tiempo se aumenta la temperatura a 360°C por 1 h más. Enfriar por 24 h y realizar la destilación por arrastre de vapor, agregando a un matraz Erlenmeyer 10 ml de la solución de indicadores (mezcla comercial de bromocresol-rojo de metilo) con ácido bórico al 20%. La muestra digestada y fría es depositada en el destilador con 10 ml de hidróxido de sodio al 32%, observándose un cambio de coloración al reaccionar, posteriormente se coloca una manguera del destilador dentro de la mezcla de solución de ácido bórico e indicadores, durante 10 a 15 min para la recuperación de un volumen de 50 ml del producto (CONAGUA, 2001a).

El blanco es por triplicado y se sigue trata bajo las mismas condiciones de la muestra.

$$\% N = \frac{(a-b) (N) (14)}{S (10)}$$

Donde:

a = ml de H₂SO₄ requeridos para la titulación de la muestra

b = ml de H₂SO₄ requeridos para la titulación del blanco

N = Normalidad del H₂SO₄

14 = Peso atómico del nitrógeno

S = Peso de la muestra seca al aire (g)

A.1.8 Determinación de la relación C/N (SEDUE, 1985)

Cálculo:

$$C/N = \frac{\% CO}{\% NT}$$

Donde:

C/N = Relación Carbono-Nitrógeno

CO = Porcentaje de Carbono Orgánico

NT = Porcentaje de Nitrógeno total Kjeldahl

A.1.9 Determinación del fósforo aprovechable para suelos (método AS-10, procedimiento Olsen)

Pesar 2,5 g de suelo y colocar en tubos de polietileno y adicionar 50 ml de la solución extractora, tapar y agitar la suspensión en agitador de acción reciproca durante 30 min a 180 rpm. Filtrar inmediatamente a través de papel filtro Whatman No. 42. Tomar una alícuota de 5 ó 10 ml dependiendo de la concentración de fósforo y colocarla en un matraz aforado de 50 ml. Preparar blancos a partir de alícuotas de solución extractora, siguiendo el mismo proceso para las muestras con suelo. Agregar 5 ml de la solución reductora, agitar y aforar. La lectura se realiza después de 30 min y se elabora una curva de calibración con patrones de 0, 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 y 1,0 mg l⁻¹ de fósforo. Para ello se pipetea 0, 1, 2, 4, 6 y 10 ml de una solución de 5 mg l⁻¹ de fósforo a matraces aforados de 50 ml. Se adiciona un volumen de solución extractante de NaHCO₃ 0,5 M igual a la alícuota empleada para medir las muestras desconocidas, adicionar 40 ml de agua desionizada y 5 ml de la solución de ácido ascórbico aforándose, agitar nuevamente para tomar la lectura después de 30 min (SEMARNAT, 2000).

El cálculo es a través de la fórmula:

$$P \text{ (mg Kg}^{-1}\text{de suelo)} = CC \times V_i/p \times V_f/a$$

Donde:

CC = mg l⁻¹ de fósforo en la solución. Se obtiene graficando la curva de calibración (absorbancia contra mg l⁻¹) e interpolando en la misma, los valores de absorbancia de las muestras analizadas a las cuales previamente se les han estado dando el valor promedio de los blanco o por medio de una regresión simple.

V_i = Volumen de la solución extractora adicionada
 p = Peso de la muestra de suelo seca al aire
 V_f = Volumen final de la solución colorimétrica a leer
 a = Alícuota de la muestra empleada para la cuantificación

A.1.10 Determinación de textura (método As-05 Bouyoucos)

Pesar 50 g de suelo y eliminar la materia orgánica contenida en él, se trata con 15 ml de peróxido de hidrógeno al 30% y se seca durante 24 h a 80°C. La muestra se coloca en un vaso de precipitado de 600 ml y se agregan 10 ml de hexametáfosfato de sodio más 250 ml de agua desionizada, dejándose reposar 15 min. Posteriormente, el suelo se vierte en un vaso de batidora y se agrega agua desionizada a unos 3 cm por abajo del borde del recipiente, dispersando las partículas durante 15 a 20 min. La suspensión se vacía íntegramente en una probeta de 1000 ml, la cual se afora con un hidrómetro en el interior hasta 1130 ml. Después se extrae el hidrómetro de la probeta, se tapa para mezclar la suspensión. Cuando esto se logra, se coloca en posición vertical la probeta y se hace la primera lectura a los 40 s, se introduce el hidrómetro midiendo la temperatura. La suspensión se deja en reposo durante dos horas y se vuelve a introducir el hidrómetro para hacer la segunda lectura (SEMARNAT, 2000).

En cada lectura se toma la temperatura y por cada grado arriba o por debajo de 19,5°C se aplicó una corrección de 0,36 graduaciones sobre el hidrómetro (restando 0,36 por cada 1°C abajo ó sumando 0,36 por cada 1°C por arriba de 19,5°C respectivamente). Temperaturas extremas a 10 y 38°C deberán ser evitadas, las lecturas más exactas serán cuando la suspensión tenga 19,5°C.

A.1.11 Prueba de fitotoxicidad o madurez de compostas

Pesar 2 g de muestra previamente secada al ambiente y tamizar en malla de 2 mm, agregar 10 ml de agua desionizada agitándose durante 1 h, posteriormente se filtra la suspensión. Por otro lado se preparan cajas petri con papel filtro y con 10 semillas de lechuga (Happy Flower) en cada una. Agregar 1 ml del filtrado a cada caja petri e incubar por 4 días en cámara de crecimiento a 27°C.

Registrar diariamente y durante cuatro días el número de semillas germinadas por caja, determinar el porcentaje de germinación (Zucconi *et al.*, 1985).

Al cuarto día se mide la elongación de la raíz ó crecimiento de la radícula; el testigo es tratado bajo las mismas condiciones, pero humedeciéndolas con agua desionizada.

El cálculo del porcentaje de germinación relativo (PGR), crecimiento de radícula relativo (CRR) e índice de germinación (IG), es con base a la técnica propuesta por Tiquia (2000) con las siguientes relaciones:

$$\text{PGR} = \frac{\text{No. de semillas germinadas en extracto}}{\text{No. de semillas germinadas en extracto}} \times 100$$

$$\text{CRR} = \frac{\text{Elongación de radícula en extracto}}{\text{Elongación de radícula en testigo}} \times 100$$

$$\text{IG} = \frac{(\text{PGR}) (\text{CRR})}{100}$$

ANEXO 2

En la tabla 20, se muestran los análisis físicos y químicos efectuados a los residuos orgánicos utilizados para la preparación de las compostas, y los del suelo de la región de estudio antes de la aplicación de las compostas.

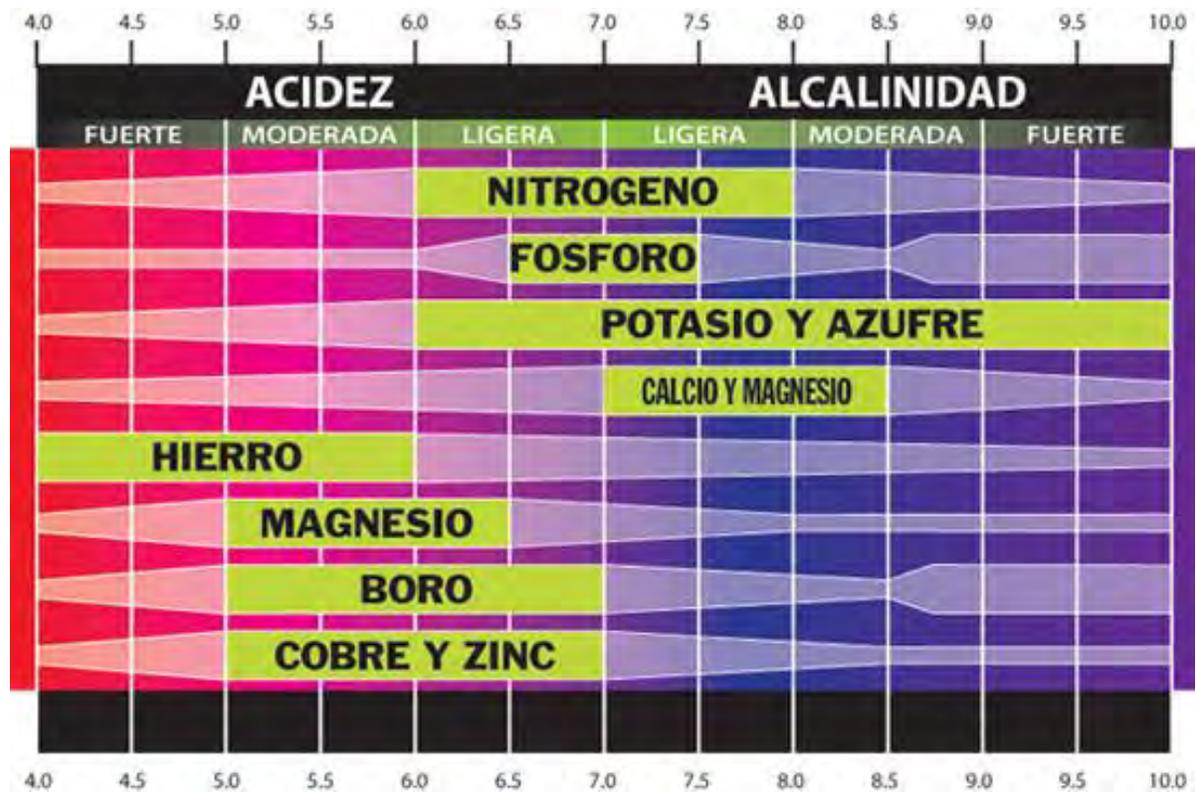
Tabla 20. Parámetros físicos y químicos de los residuos orgánicos industriales usados en el compostaje

	L1	L2	RC	RM	Suelo
%CO	10,79	15,21	42,25	42,25	0,94
%MO	18,60	26,22	72,84	72,84	1,63
% HUM	85,45	90,23	94,13	92,77	96,44
% Mat. seca	14,55	9,77	5,87	7,23	3,56
% CEN	82,57	64,79	32,47	45,48	95,20
%ST	84,82	95,10	95,32	94,51	93,76
% NT	0,36	1,29	2,42	1,32	0,10
C/N	30,26	11,79	10,46	6,42	9,13
pH	no se hizo	8,16	4,79	6,92	7,34

L1=Lodo de la empresa papelera RC=Residuo de Chile % C.O= Carbono Orgánico % HUM= Humedad /Base seca
 L2=Lodo de la empresa de bebida RM=Rastrojo de maíz % M.O= Materia Orgánica %MAT.SECA=Materia seca
 %S.T= Sólidos totales % NT=Nitrógeno total %CEN=Cenizas
 C.E= Conductividad eléctrica C/N= Relación carbono-nitrógeno
 Suelo= De la región de Altzayanca antes de aplicación de compostas

ANEXO 3

Figura 19. Diagrama de Troug, influencia del pH sobre la disponibilidad de nutrientes



ANEXO 4

Productos académicos: Artículos científicos

African Journal of Agricultural Research Vol. 6(5), pp. 1233-1240, 4 March, 2011
Available online at <http://www.academicjournals.org/AJAR>
ISSN 1991-637X ©2011 Academic Journals

Full Length Research Paper

Effect of compost made with sludge from wastewater treatment plants on field of corn (*Zea mays* L.) and arbuscular mycorrhizal fungi density

Luna Zendejas Héctor Santos^{1,2}, López Wong Wendy¹, Solís Oba Myrna^{1*} and Vera Andrea²

¹Research Center for Applied Biotechnology, Tlaxcala, Instituto Politécnico Nacional, Mexico.

²Center for Research in Biological Sciences, Autonomous University of Tlaxcala, Mexico.

Accepted 19 November, 2010

In this study we evaluated four composts prepared with different proportion of sludge from two wastewater treatment plants, a soft drink and a paper industry, mixture with and without chili residues. They were tested over yield of corn and population of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. Sludge was composted producing a non phytotoxic material with good physical and chemical properties. Corn cultivated with the application of the four composts grow higher than control (without compost) and in fertilized plot. Considering the corn production it was higher too in plots applied with composts 2, 3 and 4 than in control, and it was similar with those obtained in fertilized plot. There were significant differences in the number of Arbuscular mycorrhizal fungi spores found in samples of soil with application of compost, comparing with control and fertilized plots; application of composts improve the growth and yield. Making compost with sludge from wastewater treatment plants is an excellent way to valorize the residues, because it organic matter and minerals could be transformed into compounds that even could recover the soil fertility.

Key words: Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi, compost, corn, sludge.

INTRODUCTION

Nowadays, huge quantities of industrial residues are produced, most of them contains material that could be transformed into a useful products. Various alternatives have been proposed to treat organic waste, like composting. It is one of the main options for reducing large amounts of organic waste. This process lays in the biological degradation of organic matter. During composting organic wastes decompose under controlled conditions (temperature, humidity and aeration). The compost, product of this process, is used as a source of nutrients for sustainable agricultural productivity (Abad

and Puchades, 2002; Eghball, 2002; López and López, 2004; Widman et al., 2005). It has been observed that use of compost increases the organic matter content, providing macronutrients such as N, P, K and micronutrients, thereby improving the cation exchange capacity of the soil. Moreover, the biological activity increases as a result of the application of compost as a source of energy and nutrition for the microorganisms in the soil. The physicochemical properties of soil are also improved through its application (Eghball et al., 2004), contributing positively in the formation and stability of its aggregates, and therefore increases the water and gas permeability, increasing the water retention capacity of this (Caravaca et al., 2002). Sludge from wastewater treatment plants have been considered as hazardous waste, however, when they are subjected to a process of stabilization by anaerobic biological degradation, they can be exploited beneficially; it contains mineral nutrients, a low presence of pathogenic microorganisms and heavy metals permissible, conferring an agronomic quality; so it can be used as fertilizer or soil conditioners or enhancers

*Corresponding author. E-mail: myrobotlx@hotmail.com.
Tel/Fax: (52) 2484870762

Abbreviations: C, Carbon; Ca, calcium; CEC, cation exchange capacity; COM, compost; K, potassium; Mg, magnesium; N, nitrogen; Na, sodium; NH₄, ammonium; NO₃, nitrate; P, phosphorous; PPM, parts per million; TSP, triple super phosphate.

Table 1. Composition of the mixtures prepared for composting (%V).

Component	Percentage volume(% V)			
	COM 1	COM 2	COM 3	COM 4
Sludge paper manufacturer	30	45	----	45
Sludge soft drink manufacture	30	25	----	45
Chili pepper residues	30	25	75	----
Corn stubble	10	5	25	10
Initial C/N ratio	21	32	21	20

(Castrejon, 2000).

The fertility of agricultural soil is closely related to microbial populations and the incorporation of organic matter, which brings an increase in the activity of microbial populations by promoting additional benefits related with soil physicochemical characteristics (Triano et al., 2005). In recent years it has promoted the use of other alternatives that help to increase agricultural production and also protect the environment through natural biological interactions of soil biota. In other hand plants through their root system provide a niche for microorganisms that inhabit the soil, like fungi of the phylum Glomeromycota (Schüßler et al., 2001), they form arbuscular mycorrhizal (AM) and mutualistic symbiotic associations are established between their mycelium and the roots of various plants (Klironomos et al., 2001). Once established, AM fungi enhance root mineral nutrition, especially phosphorus, and favor plant growth. Moreover, AM fungi may protect plants against environmental stress such as soil salinity (Klironomos et al., 2001) and drought (Al Karaki et al., 2004).

The aim of this study was to evaluate the employ of compost prepared with sludge from a soft drink and a paper industry wastewater treatment plants, and to evaluate their effect on yield of corn (*Zea mays* L.) and assess its potential impact on the population of AM fungi as outcome of the composts application.

MATERIALS AND METHODS

Field site

The study site was established in the municipality of Altzayanca, Tlaxcala, Mexico (19°18'32" N, 97° 50'47" WO; about 2416 m above the sea level). Its climate is semi-dry, with rainfall in the months July to September. Soils are Dystric Regosols (Werner, 1988; IUSS, 2006).

Compost preparation

Composts (COM) were prepared mixing sludge from two wastewater treatment plants, one manufacturer of paper and other of soft drinks; chili pepper from a packing company and corn stubble as conditioner material, to provide structure, porosity and texture necessary to enable aerobic conditions. The composts were done by aerated static pile method (Willson et al., 1980). The piles were turned and added water weekly during four months. The composition of the mixtures of sludge and residues prepared for composting is shown in Table 1.

Physicochemical analyses

After four months composts were homogenized and sieved (sieve 2 mm) for chemical and physical analysis. Determination of total N and pH were measured according to PROY-NMX-FF-109SCFI-2007 (SAGARPA, 2007), organic matter as the NMX-AA-021-1985 (SEMARNAT, 1985a) and phosphorus by NMX-AA-094-1985 (SEMARNAT, 1985b), methods similar with those reported by Wu et al. (2000). The microbiological analysis of the composts was made based on the NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT 2002).

Phytotoxicity test

Composts maturity was evaluated with the percentage of germination. Tiquia (2000) report that percentage of germination equal or higher than 80% is an indicator of the maturity of the compost. Two grams of each compost, previously dyed at room temperature, were added to 10 ml of deionized water and kept under magnetic agitation for 1hour at room temperature; the mixtures were filtered through filter paper. In Petri dishes were placed 10 seeds of lettuce (*Lactuca sativa* L.) on a disk of filter paper, it was moistened with the filtrate of the composts. The Petri dishes were incubated at 27 °C for 4 days in a chamber (BOD incubator model 208 HACH). The control sample was prepared by using deionized water to moisture the disk of filter paper. During 4 days it was counted the number of seeds germinated per box. Results were expressed as the percentage of germination.

Corn growth

Six plots of 4 m wide by 6 m long were used for experimentation. Land was prepared by mechanically fallow work, tracking and furrowed. The seeds (*Zea mays* L. of region) were put in holes (15 cm depth), at 30 cm from one to other. Composts were added by sowing at a rate of 80 g/hole. A fertilization plot was set, the fertilization was carried out using a mixture of urea and triple super phosphate in a 2.5:1 ratio respectively (250 kg urea/100 kg TSP/ha⁻¹); control was a plot without any addition of compost or fertilizer. Each one of the four composts were applied in one plot: treatment 1 (COM 1), treatment 2 (COM 2), treatment 3 (COM 3), treatment (COM 4). Samples of rhizosphere soil and roots of the crop were taken in three plants selected at random from each plot. Sampling was conducted in three phenologies steps of the plants: seedling stage, in the fruiting stage and in the mature fruit. Also evaluation of the growth of corn was performed by measuring the height of plants in each one of the treatments and after the agriculture cycle it was measured the corn production in each plot.

Extraction and counting of arbuscular mycorrhizal fungi

The AM fungi spores were isolated from the samples of rhizosphere

Table 2. Physical and chemical analysis of composts, control and fertilized soil.

Parameter (unit)	COM 1	COM 2	COM 3	COM 4	SOIL	Fertilized soil
pH	8.25 ± 0.03	7.23 ± 0.03	8.47 ± 0.03	7.00 ± 0.04	7.34 ± 0.06	7.34 ± 0.06
Organic matter (%)	8.10 ± 0.07	8.33 ± 0.19	11.76 ± 0.51	13.33 ± 0.51	1.64 ± .2	1.64 ± 0.2
C/N Ratio	8.49 ± 1.4	16.46 ± 3.06	13.46 ± 2.23	9.66 ± 1.08	9.13 ± 0.12	8.63 ± 0.12
Phosphorus (kg/ha ⁻¹)	6.75 ± 0.7	7.61 ± 0.87	9.50 ± 0.38	8.33 ± 0.95	0.42 ± 0.64	20 ± 1.05
Electric conductivity	0.88	1.12	1.54	1.35	0.04	0.04
Helminthes eggs (HH/2gST)	< 1	< 1	< 1	< 1		
Fecal coliforms (NMPC)	23	230	< 3	210		
Salmonella spp. (NMP/gST)	< 3	< 3	< 3	< 3		

Data are reported as the mean values ± range for three replicates.

soil by the wet sieving and sucrose density gradient centrifugation technique (Brundrett et al., 1996), where 100 g of soil were rinsed through 500, 212, 106 and 38 mm sieves; soil material retained in each sieve was suspended in water and centrifuge at 3000 rpm for 3 min. Only viable spores were recovered one by one under the dissecting microscope and separated and finally they were counted.

Statistical analyses

All the results reported in this paper were expressed as means of three replicates. Results were analyzed by ANOVA analysis with 1 factor to find or not significance difference between composts, fertilized and control plots using a significant value of 5% and using the Tukey's test (5%) for comparison of means to assess the significance difference in results.

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of physical and chemical properties of the composts

The soil of the locality of Altzayanca had a sandy texture (60 to 68% sand), characterized by low fertility, with organic matter contents below 2%, alkaline pH (8.0) and electrical conductivity (<2 dS/m¹) and have a high of erosion, according with (Gutierrez and Ortiz (1999).

The pH values in composts were light alkaline, from 7 and 8.47, however there are some reports indicating that compost made with biosolids reported such values of pH, like Tongetti et al. (2007) reported values for the same parameter from 8.3 to 8.4 for composts prepared with biosolids and municipal organic residues.

Organic matter is one of the most important factors to determinate the agronomic quality of a compost (Kiehl, 1985). All compost show good organic matter content. The initial C/N ratio of the mixtures of residues was between 20 to 32 (Table 1), C/N ratios in composts indicates that during the process of composting the material was degraded and mineralized. The compost C/N values reported in Table 2 were similar to others, Tognetti (2007) reported relations of 11, 13 and 14 for compost made of biosolids with municipal organic waste. Also composts reported good content of P and electrical

conductivity; all results allow noticing that sludge was transformed in material with better physical and chemical characteristics compared with the soil of the Altzayanca region.

During the composting process temperature rise in a good manner (data not shown), such a way the final composts approve the microbiological analysis, helminthes eggs, fecal coliforms and salmonella were in permissible values (Table 2).

Phytotoxicity test

The compost is used today either as a soil conditioner or as component base for the development of specialized agricultural substrates, by this reason assuring of its biological stability and maturity is crucial for it use. A non controlled process results in the production of phytotoxic substances; therefore it is important to confirm the maturity of materials like composts, before to use it in agriculture (Tiquia 2000). After four months all composts showed percentage of germination values >80% (data not shown). These results allow to verifying that sludge from the two wastewater treatment plants in mixtures with or without organic residues (chili), had a good degradation process, producing materials with an adequate mineralization and non phytotoxic, that permit the germination of the lettuce seeds.

Corn growth

Figure 1 shows the growth of corn; it appears that the plants growth in plots with the application of composts was higher than in the fertilized and control plots. The Tukey test (0.05%) shows that there were no significant differences in growth measured with the application of the four composts, and there was significant difference with the growth registered in fertilized and control plots. It is interesting to note that the COM 1 was prepared with both sludge and organic waste (chili), COM 2 with sludge from beverage factory and chili; COM 3 was prepared

1236 Afr. J. Agric. Res.

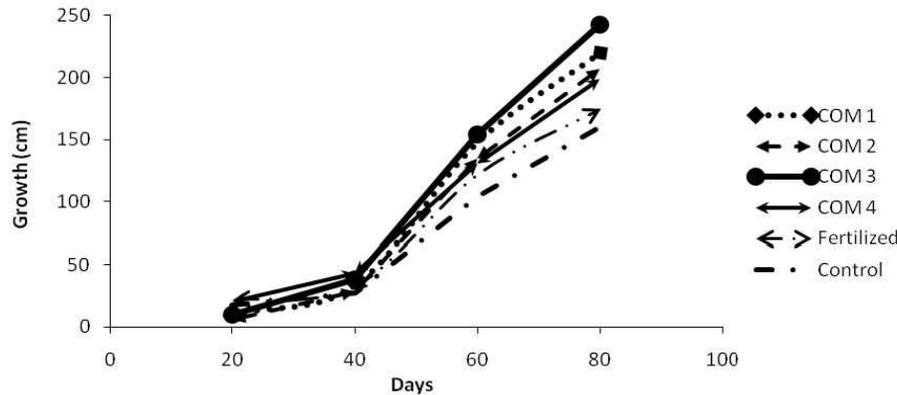


Figure 1. Growth of corn in experimental plots amended with compost prepared with mixing sludge, organic waste (chili) and corn stubble, and unfertilized and fertilized control.

only with organic waste from chili and corn stubble, while the COM 4 was prepared with both sludge and corn stubble and no organic residues (Table 1). Composts made with sludge mixture with other sludge or mixture with organic residues results in a good material that improved the growth of corn.

The observed growth with the addition of composts could be explained due to the physical and chemical parameters of composts (Table 2). The COM 1 had a regular contribution of organic matter (8.1%) and P (6.75 kg ha⁻¹), good C/N relation (8.49) and the pH (8.25) let the availability of the nutrients. COM 2 had a regular organic matter (8.33 %) and P (7.61 kg ha⁻¹) too; however the ratio C/N (16.46) was the highest at the beginning and at the end of the composting process, although the pH (7.23) contributes to the availability of the nutrients. COM 3 had a good organic matter (11.76 %), the best P content (9.50 kg ha⁻¹) and a high C/N relation (13.46), although the pH could affect the availability of the nutrients (8.47). COM 4 has a good organic matter (13.33 %), good C/N (9.66) relation and content of P (8.33) and the neutral pH contribute to the availability of the nutrients. The electrical conductivity was good in all cases, COM 3 (1.54 dS/cm) was in the limit indicated by Moreno (2008), who explains that the electrical conductivity had to be lower than 1.50 dS/cm because when the soil had a higher quantity of salts the adsorption of water by plants is diminished. The incorporation of compost as a soil amendment increased cation exchange capacity (CEC) (Abdelbasset et al., 2009), providing the ability to retain nutrients more effectively (Stofella, 2001). Agricultural amendments as pruning waste compost and biosolids can also enrich the content of P in the soil, for direct input and alteration of the absorptive capacity of P in the soil. The organic P in compost is

easily decomposed to release orthophosphate, available for plants (Stofella, 2001).

In the fertilization treatment, growth was lower than that observed in plots with compost (Figure 1); although the soil had a pH value near to neutral (7.34), which facilitates greater nutrient availability. With the addition of the fertilizer the nutrients surpassed the other treatments with compost application; although it was observed that the soil of this plot was compact, contrasting with those in which the compost was applied. Soil physical properties also play an important role making that the nutrients are retained and available to the plants. The soil in the Alzayanca region is poor in organic matter, its texture does not let the retention of fertilizer applied as salt, by this reason it is easy to lost ions by washing or leaching. Anions like NO³ and cations (NH⁴⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺) could not be retained, excessive water or rainfall favor the drag of to lower strata of the soil away from roots (Castellanos et al., 2000). In the sandy soil texture is favored leaching losses of salts, because the infiltration rate is usually very high, and the drag of nitrate as well (Berti and Cunningham, 2000).

In the control plot was observed that plants showed the lowest growth, because the soil without compost or fertilizer application was poor in nutrients, it is characterized by an almost neutral pH (7.34), a low concentration of N, the contribution of P, organic matter and electrical conductivity parameters were the lowest compared with other treatments.

Yield of corn

Figure 2 shows the yield of corn, the application of the four composts improve the yield comparing with the

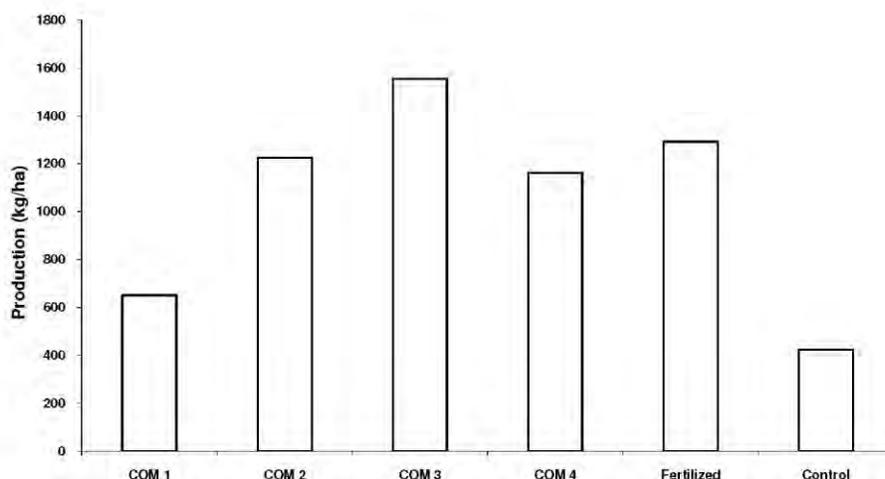


Figure 2. Corn yield in the plots experimental amended with compost prepared with mixing sludge, organic waste (chili) and corn stubble, and unfertilized and fertilized control.

Table 3. Physical and chemical parameters of soil before and after the agricultural production.

Before application of compost							
Parameter	pH	EC (dS/m ⁻¹)	OC (%)	OM (%)	TN (%)	C/N	P (mg/kg)
Soil	7.34	0.04	0.945	1.63	0.103	9.133	9.385
After a cycle of agricultural production of corn							
COM 1	7.99	0.18	1.29	2.22	0.23	5.64	27.14
COM 2	7.89	0.17	1.71	2.95	0.22	7.82	37.40
COM 3	8.05	0.22	1.67	2.88	0.33	5.02	34.70
COM 4	7.07	0.15	1.38	2.39	0.24	5.82	21.72
Fertilized	6.59	0.12	0.61	1.06	0.12	5.08	61.87

EC = electrical conductivity; OM = organics matter; P= phosphorus; OC = organic carbon; TN = total nitrogen. Data are reported as the mean values range for three replicates.

control plot. The highest production was reached in the plot applied with COM 3 with an output of 1554 kg ha⁻¹, while treatments with fertilization, COM 2 and COM 4 showed a very similar production (1291.6, 1162.5 and 1225 kg ha⁻¹ respectively), however, productions were even greater than those observed in treatments with COM 1 and control (650 and 422.5 kg ha⁻¹ respectively). The yield in the fertilized plot, adding COM 2 or COM 4 had no significant difference. With the implementation of the COM 3 it was reached higher production than with fertilization; this compost was made using 100 % organic residues without sludge, by this reason residues were completely biodegraded making a good material for plants. With COM 1 the corn yield was smaller than using

the others, this could be explained because that compost had the lower organic matter, lower P and lower C/N relation; it seems like the nutrients of this compost were enough only to growth the plants and not for the fructification of the corn.

Evaluation of physical and chemical properties of land after crop

Table 3 presents the physical and chemical parameters of soil before and after the corn agricultural cycle of production. After the application of composts and the corn production, the soil improve in the parameters:

1238 Afr. J. Agric. Res.

contain of organic matter was higher indicating that the compost provided nutrients to the soil besides to the plants: The pH remained near neutrality, electrical conductivity increased because of minerals salts into the composts; a similar pattern was observed for the percentage of organic C, which increased as well. It is known that some of the important elements for crops are nitrogen and phosphorus; these were also increased after compost application compared with initial soil. Whereas in plot added with fertilizer, after the cycle of agricultural production of corn, pH was near to neutral, electrical conductivity, nitrogen and phosphorus increased because of the addition of the fertilizer (urea and triple phosphate). In other hand organic matter and percentage C decrease compared with soil before the cycle.

Economical analysis

In 2009 the price of urea in México was 248.3 US dollars and the price of triple phosphate was 235.7 US dollars per ton (Navarrete, 2010). In the Altzayanca region the normal application is 2 parts of urea by one part of triple phosphate, in proportion of 300 kg of mixture of fertilizers by hectare. The application of fertilizer cost 72.23 US dollars per hectare. In other hand compost price is 84 US dollar per ton (Fenifos, 2009). Application of fertilizer was low-priced than compost, however using compost could be possible to improve the physical and chemical properties of the soil with subsequent applications, such a way the requirements of compost could be lower with time.

The use of compost provides many benefits: waste materials are recycled, reduced the cost of storage and handling of them, take advantage of nutrients as C, N, P and mineral salts from materials. Compost is a substances more available to crops, its successive use, could correct environmental problems like erosion by, providing organic matter, that improves with time physical and chemical properties of soil with time.

Density of AM fungi spores

The first rhizosphere soil sampling was carried out at 54 days of planting the crop, the number of AM spores found in the experimental plots including fertilized and control, was very low and did not had a significant difference from one plot to other.

During the second sampling, at 138 days in the fruit stage, quantities of AM spores increased in all treatments applied with the composts. The higher number of spores was found in the plot applied with the COM 3 (112 viable spores/100 g soil), while in the plots with the COM 2, COM 1 and COM 4 were 73, 67 and 66 viable spores respectively. Statistical analysis shows that there was no significance difference ($P > 0.05$) in the number of AM

spores found in plots applied with composts, and they differ significance ($P < 0.05$) from those found in the control and fertilized plots. In plots with fertilization and control, the number of spores was the lowest (35 viable spores/100 g soil).

At 172 days, in mature fruit stage, it was recorded the maximum number of spores in all the plots amended with composts, in control and fertilized ones. In plot with the COM 2 was quantified 222 viable spores (by 100 g soil) followed by plots with COM 3, COM 1 and COM 4 (170, 155 and 133 spores respectively). Statistical analysis shows that there was no significance between the number of AM spores found in soil with composts and shows significance difference ($P < 0.05$) comparing with that found in fertilized and control plots. The last had the fewest (26 and 40 viable spores/100 g soil) (Figure 3). There was a positive correlation between soil fertility and the number of AM spores according to Mendoza et al., (2002).

Several authors have mentioned that the pH have an effect on the distribution and abundance of different species of fungi (Porter et al., 1987a; Porter et al., 1987b). According to Abbott and Robson (1991) increases in pH and soil nutrient content are related to a decrease in the density of spores of AM fungi. In contrast some other authors, like Mendoza et al (2002) or Escudero and Mendoza (2005) indicate that an increase in the pH support the development of fungi in this work all the composts had a higher pH compared with the soil before compost application.

The low quantity of spores found in the fertilized soil could be explained because the use of agricultural inputs such as phosphate fertilizer, can decrease the amount of spores of fungi from the rhizosphere of plants, as Covacevich et al. (2005) found in wheat crops, mycorrhizal colonization decreases when the P content exceeds 11 ppm, while applying 5 kg ha⁻¹ the development of mycorrhizal colonization was optimized. Such increase in P concentration results in a gradual decrease of root colonization, which is reflected in the decrease of the number of spores as (Deepak, 2008) reported. In soybean fields the density of spores of AM fungi had been negatively correlated to the content of P applied. In other hand fungal colonization was correlated positively with the spore density and negatively with the content of available phosphorus (Isobe et al., 2008). In this work the soil applied with fertilizer had the higher value of P; this could be the partial reason why in fertilized plot the number of spores of AM fungi found were very low.

Additionally increase or decrease in the number of spores of fungi is correlated with the host plant phenology, as López-Sánchez and Honrubia (1992) found that the maximum density of spores was presented during the stage of fruit (summer), with lower numbers in winter, while in spring tended to increase and remained high during the fall. Also we found in a previous study

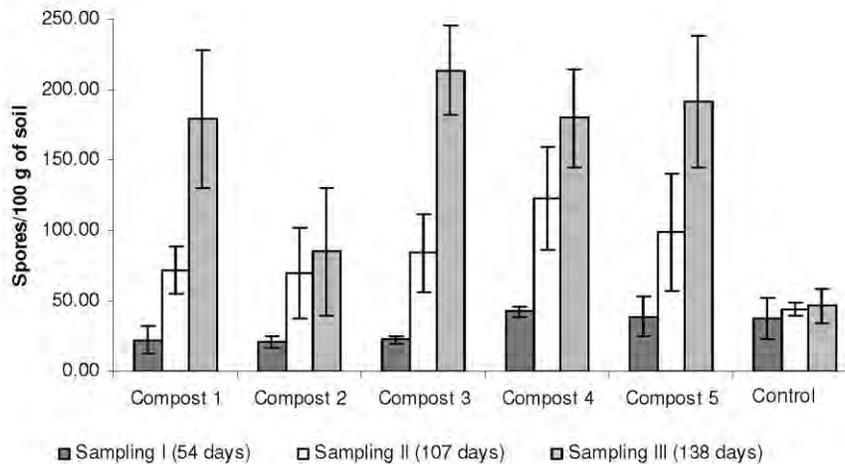


Figure 3. Population density of spores of AM fungi of plots cultivated with corn supplemented with compost and fertilized. Data are reported as the mean values range for three replicates.

with beans and broad beans growth in Tlaxcala, that the number of spores varied with the phenology of the plant, with low quantities at the time of planting, maintaining until flowering, and increases at the stage of fruit ripening (Luna-Zendejas, 1997). Cousin et al. (2003) showed that the sporulation of different species of AM fungi were clearly seasonal and influenced by host plant phenology of different ecosystems as we found. The presence of fungal structures (mycelium, arbuscules and vesicles) reach their peak during the flowering stage of corn; at that time the plant has a high demand for carbohydrates, while the populations of spores of AM fungi presented the highest values at the end of the rainy season (Gavito and Varela, 1993).

With the addition of the composts was achieved a positive effect on growth, agricultural production of corn and in soil properties. These results suggest that the sludge could be used to make compost instead to sent them to final disposition, to correct the problem of erosion of topsoil. The soil will also retains more water and improves the cation exchange capacity, which will give fertility to the same, and therefore have better yields to future crops. Application of compost also create the appropriate environment for the growth of bacteria, fungi and actinomycetes, beneficial to soil and plants, This microorganisms make symbiotic relationships with plants by provide nitrogen, solubilize phosphorus, favor the absorption of nutrients and water by plants and stimulate the growth of roots, especially in the early stages of their growth. Also create an environment hostile to plant pathogens, reducing the incidence of diseases in different plant species.

Conclusion

The use of sludge from wastewater treatment plants is an interesting way to use their nutrients for the production of compost, a material with good physical and chemical properties that allow increase in the growth and yield of corn. Also compost made with sludge could be used to reduce environmental problems such as erosion, because the continued application of could improve the soil quality and physical and chemical properties. Developing the culture of sludge recycling will be beneficial: for example in the restoration of lands, avoid contamination by fertilization and sites of final disposition will increase their middle life. All this is possible because the organic matter, regardless of its nature, could be mineralized through the composting process, resulting in a non-phytotoxic material, where components are transformed into compounds assimilated by crops.

ACKNOWLEDGMENT

We are grateful to Mr. Ascension Altamirano for allowing us to carry out the experimentation on his land of municipality of the Altzayanca, Tlaxcala, Mexico.

REFERENCES

Abad M, Puchades R (2002). Compostaje de residuos orgánicos generados en la hoya de Buñol (Valencia) con fines hortícola. Asociación para la Promoción Socioeconómica Interior Hoya de Buñol, Valencia.

1240 Afr. J. Agric. Res.

- Abbott LK, Robson AD (1991). Factors influencing the Occurrence of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizas. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 35: 121-150.
- Abdelbasset L, Rabhi M, Ghnaya T, Montemurro F, Jedidi N, Abdely CH (2009). Effectiveness of compost use in salt-affected soil. *J. Hazard. Mater.*, 171: 29-37.
- Al Karaki G, McMichael B, Zak J (2004). Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza*, 14: 263-269.
- Berti WR, Cunninghams D (2000). Phytostabilization of metals. In: Raskin I, Ensley BD (eds) *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean-up the environment*. John Wiley & Sons, New York, pp. 71-88.
- Brundrett MC, Bougher N, Dell B, Grove T, Malajczuk N (1996). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research. Pirie, Camberra, Australia, pp. 141-171.
- Castellanos JZ, Uvalle JX, Aguilar SA (2000). Manual de Interpretación de Análisis de Suelos y Aguas. Instituto de Capacitación para la Productividad Agrícola, México.
- Castrejón J, Barrios A, Jiménez B, Maya C, Rodríguez A, González A (2000). Evaluación de la calidad de lodos residuales de México. Instituto de Ingeniería. Grupo de Tratamiento y Residuo. Universidad Nacional Autónoma de México, México, p. 14.
- Caravaca F, Baraa JM, Figueroa D, Roldán A (2002). Assessing the effectiveness of inoculation with mycorrhizal fungi and soil compost addition for reforestation with *Olea europaea* subsp. *sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. *Appl. Soil Ecol.*, 20: 107-118.
- Cousin JR, Cousins-Diane H, Corinna G, Stutz JC (2003). Preliminary assessment of arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community structure in an urban ecosystem. *Mycorrhiza*, 13: 319-326.
- Covacevich F, Sainz Rozas HR, Barbieri P, Echeverría HE (2005). Formas de colocación de fósforo sobre el crecimiento y la micorrización espontánea del cultivo de trigo. *Cienc. Suelo*, 23: 39-45.
- Deepak V (2008). VA mycorrhizal status in wheat cultivar 306 under different phosphorus concentration. *Indian J. Agrofor.*, 10: 62-64.
- Eghball B (2002). Soil properties as influenced by phosphorus- and nitrogen-based manure and compost applications. *Agron. J.*, 94: 128-135.
- Eghball B, Ginting D, Gilly JE (2004). Residual effects of manures and compost application on corn production and soil properties. *Agron J.*, 96: 442-447.
- Escudero V, Mendoza R (2005). Seasonal Variation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Temperate Grasslands Along a Wide Hydrologic Gradient. *Mycorrhiza*, 15: 291-299.
- Fenifos (2009). Fertilizantes nitrogenados y fosfatados S. de R. L., www.fenifos.com
- Gavito ME, Varela L (1993). Seasonal dynamics of mycorrhizal associations in maize fields under low input agriculture. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 45: 275-282.
- Gutiérrez-Castorena MC, Ortíz-Solorio CA (1999). Origen y evolución de los suelos del ex lago de Taxcoco, México. *Agrociencia*, 33: 199-208.
- Isobe K, Sugimura H, Maeshima T, Ishii R (2008). Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in upland field soil of Japan-2. Spore density of arbuscular mycorrhizal fungi and infection ratio in soybean and maize fields. *Plant Prod. Sci.*, 11: 171-177.
- IUSS, Working Group, WRB (2006). World reference base for soil resources 2006. 2nd edition. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome.
- Kiel EJ (1985). Fertilizantes orgánicos. Ed. Agronómica, Ceres, San Pablo.
- Kironomos JN, Hart MM, Gurney JE, Moutoglis P (2001). Interspecific differences in the tolerance of arbuscular mycorrhizal fungi to freezing and drying. *Can. J. Bot.*, 79: 1161-1166.
- López-Sánchez ME, Honrubia M (1992). Seasonal variation of vesicular-arbuscular mycorrhizae in eroded soils from southern Spain. *Mycorrhiza*, 2: 33-39.
- López AE, López F (2004). Ecosistemas y Agroecosistemas. In: López-Alcocer E, Hurtado S, López-Alcocer F (eds) *Agroecología: Principios y Métodos*. Universidad de Guadalajara, México, pp. 7-12.
- Luna-Zandejas H (1997). Variación estacional de los hongos micorrizógenos presentes en suelos de maíz/haba, maíz/alverjón y maíz/frijol del volcán La Malintzi, Tlaxcala. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, U.N.A.M., México, D. F.
- Moreno CJ (2008). Compostaje, Mundi-Prensa Libros, Madrid, p. 570.
- Porter WM, Robson AD, Abbott LK (1987a). Factors Controlling the Distribution of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Relation to Soil pH. *J. Appl. Ecol.*, 24: 663-672.
- Mendoza R, Goldmann V, Rivas J, Escudero V, Pagani E, Collantes M, Marbán L (2002). Poblaciones de hongos micorrizcos arbusculares en relación con propiedades del suelo y planta hospedante en pastizales de Tierra del Fuego. *Ecol. Aust.*, 12: 105-116.
- Navarrete M (2010). Fertilizantes, Tiendan precios de fertilizantes a bajar. *Noroeste.com negocios*, El portal de Sinaloa.
- Porter WM, Robson AD, Abbott LK (1987b). Field Survey of the Distribution of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Relation to Soil pH. *J. Appl. Ecol.*, 24: 659-662.
- Schubler A, Schwarzott D, Walter C (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413-1421.
- SAGARPA (2007). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación- NMX-FF-109-SCFI-2007. Humus de lombriz (lombricomposta). Especificaciones y Métodos de Prueba.
- SEMARNAT (1985). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales- NMX-AA-021-1985, PROTECCIÓN AL AMBIENTE-CONTAMINACIÓN DEL SUELO-Residuos Sólidos Municipales-Determinación de Materia Orgánica.
- SEMARNAT (1985). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales- NMX-AA-094-1985, Protección al Ambiente-Contaminación del Suelo-Residuos Sólidos Municipales-Determinación de Fósforo Total.
- SEMARNAT (2002). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales- NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental.- Lodos y Biosólidos. Especificaciones y Límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.
- Stoffella PJ, Kahn BA (2001). Utilización de compost en los sistemas de cultivo hortícola. Mundi-Prensa Libros, Barcelona.
- Tiquia SM (2000). Evaluating phytotoxicity of pig manure from the pig-on-litter system. In: Warman PR, Taylor BR (eds) *Proceedings of the International Composting Symposium*, CBA Press Inc. Truro, pp. 625-647.
- Tognetti C, Mazzarino MJ, Laos F (2007). Improving the quality of municipal organic waste compost. *Biores. Tecnol.*, 98: 1067-1076.
- Triano SA, Palma D, Hernández E (2005). Uso de sustratos orgánicos y reciclaje de nutrientes en la producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el municipio de Cunduacán, Tabasco. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Campus Tabasco, Fundación PRODUCE, Tabasco, A.C.
- Warner G (1988). Los suelos del estado de Tlaxcala: Altiplano Central Mexicano. Gobierno del Estado de Tlaxcala y Universidad Autónoma de Tlaxcala, p. 198.
- Widman FB, Herrera RF, Cabañas VD (2005). El uso de compostas provenientes de residuos sólidos municipales como mejorador de suelos para cultivos de Yucatán. *Ingeniería Revista Acad.*, 9: 31-38.
- Willson GB, Parr JF, Epstein E, Marsh PB, Chaney RL, Colacicco D, Burge WD, Sikora LJ, Tester CF, Homick S (1980). Manual for composting sewage sludge by the Beltsville aerated pile method. Washington, DC.
- Wu L, Ma LQ, Martínez GA (2000). Comparison of methods for evaluating stability and maturity of biosolids compost. *J. Environ. Qual.*, 29: 424-429.

Full Length Research Paper

Effects of compost made with sludge and organic residues on bean (*Phaseolus vulgaris* L.) crop and arbuscular mycorrhizal fungi density

Luna Zendejas Héctor Santos^{1,2}, Solís Oba Myrna^{1*}, López Wong Wenndy¹, Vera Reyes Andrea² and González Prieto Juan Manuel³

¹Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada-Tlaxcala, Instituto Politécnico Nacional, México.

²Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, México.

³Centro de Biotecnología Genómica, Reynosa Tamaulipas Instituto Politécnico Nacional, México.

Accepted 28 February, 2011

In this study we evaluated five composts prepared with two sludge: from a beverage factory and from a paper industry; they were mixture with organic residues from a pepper canned and corn stubble. Composts were tested over yield of common bean and population of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. Mixtures of residues and sludge were composted during four months producing a non phytotoxic material with good physical and chemical properties. Bean cultivated with the application of three composts growth higher than control (without compost). Considering the bean production it was higher in plots applied with composts 1, 2 and 5 compared with control, these show high nitrogen content. In plots applied with the five composts the number of AM fungi spores found was higher than in control. We demonstrate that the use of sludge to make compost is an interesting way to take advantage of residues and a manner to improve the soil properties, because the organic matter and minerals of waste and sludge could be transformed into compounds that could recover the soil fertility.

Key words: Arbuscular Mycorrhizal fungi, compost, bean, sludge.

INTRODUCTION

Agricultural soils are often subject to excessive erosion, nutrient run-off, and loss of organic matter and, consequently, a decline in fertility. One method of reversing the degradation and improving the quality of soils involves the addition of several kinds of wastes such as solid organic waste, sewage sludge, agricultural and industrial wastes, and animal manure (Crecchio et al., 2001). In recent years, application of organic wastes to agricultural lands has received considerable attention owing to the cost and environmental problems associated with their disposal (Ahmad et al., 2006).

Compost has favorable effects on physical and chemical properties of soil, like pH, and the capacity to absorb nutrients from soil, increasing the availability of macro and micronutrients that stimulates micro-organisms development (Biala, 2000). Compost obtained

from the organic fraction of municipal solid waste, from sewage sludge and from other selected waste biomasses can be effective fertilizer for agriculture (Zhang et al., 2006).

The aim of this study was to evaluate the use of compost prepared with sludge from a beverage and a paper industry wastewater treatment plants, and to estimate their effect on yield of common bean crop (*Phaseolus vulgaris* L.) and assess its potential impact on the population of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi as outcome of the composts application.

MATERIALS AND METHODS

Experimental field location

Study site was established in the municipality of Altzayanca, Tlaxcala, Mexico (19°18'32" N, 97° 50'47" W; about 2416 m above the sea level). Weather conditions are semi desertic, with July to September rainfall. Soils are Dystric Regosols (Werner, 1988; IUSS et al., 2006).

*Corresponding author. E-mail: myrobatx@yahoo.com.mx.
Tel/Fax 01 2484870762.

Table 1. Composition of the mixtures prepared for composting.

Component	Percent volume (% V)				
	Compost 1	Compost 2	Compost 3	Compost 4	Compost 5
Sludge paper manufacturer	30	0	45	0	45
Sludge soft drink manufacture	30	35	25	0	45
Chili pepper residues	30	55	25	75	0
Corn stubble	10	10	5	25	10

Compost preparation

The composts were prepared by mixing different proportions of not toxic sludge from a waste water treatment plant of a paper mill and a soft drink manufacturer, with a waste from chili preserves, corn stubble was used to improve the porosity and ensure the entry of oxygen (Raviv, 2005). The composition of mixtures prepared for the composts is in Table 1. Mixtures were turned and added water weekly for four months, according to the aerated static pile method (Willson et al., 1980).

Physicochemical analyses

After four months, the composts were homogenized and sieved (sieve 2 mm) for chemical and physical analysis. Determination of total N and pH were measured according to Wu et al. (2000), Organic Matter, Organic Carbon (method AS-07; method Wakley and Black), Electrical Conductivity (method AS-18), Total Nitrogen determination (method AS-25) and determination of the C/N and Phosphorus (method AS-10; Procedure Olsen) (NOM-021-REC/NAT-2000). The microbiological analysis of the composts was made based on NOM-004-SEMARNAT-2002 standard.

Phytotoxicity test

Maturity of composts was evaluated with the percentage of germination index (% GI) using seeds of lettuce (*Lactuca sativa* L.) following the method reported by Tiquia (2000) who reported that germination index equal or higher than 80%, is an indicator of compost maturity.

Plants growth

Land was prepared by means of mechanical fallow work, tracking and furrowed. Terrain was divided in six plots of 4 m wide by 6 m long. The seeds (*Phaseolus vulgaris* L. of region) were put in holes (15 cm depth), at 30 cm from one to another. Composts were added at a rate of 80 g/hole. Control was a plot without compost or fertilizer. Plants height was measured periodically and the beans yield in each plot was calculated. Rhizosphere soil were taken to count the AM spores, sampling was carried out taking into account three phenological stages of plant: seedling stage V4 (Trifolio), flowering (R6 stages) and stage R8 (pod ripe or mature plant) (IICA et al., 2009).

Extraction and counting of AM fungi spores

Spores of AM fungi were isolated from rhizosphere soil samples by the techniques of wet sieving and decanting, and the technique of sucrose gradient centrifugation method (Brundrett et al., 1996). Spore isolation was performed using sieves of 500, 212, 106 and

40 mm respectively, the material retained on each sieve was centrifuged at 3000 rpm for 3 min. Only viable spores were separated and counted.

Statistical analyses

All the results reported in this work were expressed as means of three replicates. Results were analyzed by ANOVA analysis with one factor to find significance statistical difference between treatments, using a significant value of 5%. Tukey test (5%) was used for comparison of means to assess the significance difference in results.

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of physical and chemical properties of the composts

Soil of Altzayanca locality had a sandy texture (60 to 68% sand) characterized by low fertility, with organic matter contents below 2%, alkaline pH (8.0), electrical conductivity of <2 dS/m¹ and a high degree of erosion, similar with those reported by Gutiérrez and Ortiz (1999). Table 2 shows the physical and chemical analysis of composts and control soil of Altzayanca.

pH in composts were slightly alkaline (7 to 8.53), however there are some reports indicating that compost made with sludge exhibit alkaline values, as Wu et al. (2000) whose reported final pH 8.3 to 8.4 for composts made with sludge and garden residues; and Iñiguez et al. (2006) who reported pH 8.67 to 8.55 for compost with sludge and agave residues. All compost show good organic matter content, this is the main factor to determine the agronomic quality of (Kiel, 1985).

Mixtures of residues had an initial values C/N ratios of 18 to 32 (Table 1), and final C/N ratios (in composts) from 16.46 to 7.69. Decrease in C/N relations indicates that during composting process the material was degraded and mineralized. The C/N ratios for composts were similar to that reported by Iñiguez et al. (2006), C/N ratios of 11.58 and 11.07 for composts with sludge and agave residues.

In other hand, Moreno et al. (2008) indicated that electrical conductivity has to be lower than 1.50 dS/cm, because a high value shows excessive salt content and this could affect the absorption of water and nutrients by plants (Bhoopaner et al., 2003). Only compost 2 shows

Table 2. Physical and chemical analysis of composts and control.

Parameter (units)	Compost 1	Compost 2	Compost 3	Compost 4	Compost 5	Soil
pH (H ₂ O)	8.25 ± 0.03	8.53±0.002	7.23 ± 0.03	8.47 ± 0.03	7.00 ± 0.04	7.34 ± 0.06
Organic matter (%)	8.10 ± 0.07	12.9±0.89	8.33 ± 0.19	11.76 ± 0.51	13.33 ± 0.51	1.64 ± 2
Total Nitrogen (%)	0.55± 0.08	0.97± 0.07	0.29± 0.07	0.51± 0.09	0.71± 0.08	0.1± 0.02
C/N ratio	8.49 ± 1.4	7.69±1.043	16.46 ± 3.06	13.46 ± 2.23	9.66 ± 1.08	9.13 ± 0.12
Phosphorus (kg/ha ⁻¹)	6.75 ± 0.7	10.75± 0.87	7.61 ± 0.87	9.50 ± 0.38	8.33 ± 0.95	0.42 ± 0.64
Electric conductivity dS/cm	0.88	1.67	1.12	1.54	1.35	0.04
Helminthes eggs (HE/2gTS)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Fecal coliforms (MPNC)	23	430	230	< 3	210	< 3
Salmonella spp (MPN/gTS)	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3

pH in water 1:2, HE/2gTS, Helminthes Eggs per total soil gram, MPNC, most probable number of coliform, MPN/gTS, most probable numbers per total soil gram.

an electrical conductivity higher than this value. Additionally content of Phosphorous were better for composts compared with the soil of the Altzayanca region. Microbiological analysis indicates that during composting process, the temperature rise was enough to kill pathogen microorganisms (like *Salmonella* spp), helminthes eggs and fecal coliforms. Sludge and waste were transformed into material with good characteristics to apply in soil (Table 2).

Phytotoxicity test

Use of compost has been increased in recent years either as a soil conditioner or as component base for the development of specialized agricultural substrates. After four months, all % GI were 80% and above guarantying assuring the biological stability and maturity of entire composts.

Plant height

Plants growth was similar in plots with compost addition and the control (Figure 1). Tukey test (0.05%) shows that there were no significant differences in height measured between plot treated plants and plot control plants.

Crop yield

Application of the composts 1, 2 and 5 improve the yield comparing with the control plot (Figure 2). Highest production was reached in the plot applied with compost 5, with yield of 337 kg ha that represents 91% of yield reported by Copladet (2005). Second yield was for plot treated with compost 2 and the third was using compost 1 with a yield of 216 and 146 kg ha⁻¹, respectively. While with composts 3, 4 and control the yields were about 120 kg ha⁻¹. Composts 5, 2 and 1 were made with the high

content of sludge from the beverage factory; Those compost had high content of nitrogen compared with sludge from the paper factory (1.29 and 0.36% N, respectively). Bean crop required high concentrations of N, K and Ca (Guedes and Junqueira, 1978) and low quantities of P, Mg and S for healthy growth. In addition compost 5 had neutral pH, the major quantity of organic matter and good amount of % N and % P, this explain the high beans yield observed. Whereas compost 2 had 12.9% of organic matter and the highest quantity of % N and % P, however the pH (8.53) was slightly alkaline and decreases the availability of nutrients and the bean yield. Low yield in plot with compost 1 was due to its high % N and the low % P and alkaline pH. The low beans yield with composts 3 and 4 were either due to poor % organic matter and % P and high pH. In all cases the beans yield were lower than that reported by Copladet (2005) however results are after only one application of composts.

After application of composts and bean production, the soil improves in the % C, % Organic matter, % N and % P compared with initial values, indicating that composts provided nutrients to the soil besides to the plants. The pH remained near neutrality and electrical conductivity increased too, because of minerals salts present into the composts (Table 3).

Economical analysis

In 2009 the price per ton in Mexico of urea and triple phosphate fertilizers was 248.3 and 235.7 US dollars, respectively (Navarrete, 2010), and the compost was 84 US dollar per ton (Fenitos, 2009). In the Altzayanca region the fertilization is made with a mixture of 200 kg urea and 100 kg triple phosphate per hectare. Considering this quantities the application of fertilizer in this work cost 72.23 US dollars per hectare, low-priced than compost. Even thought subsequent applications of compost could improve the physical and chemical

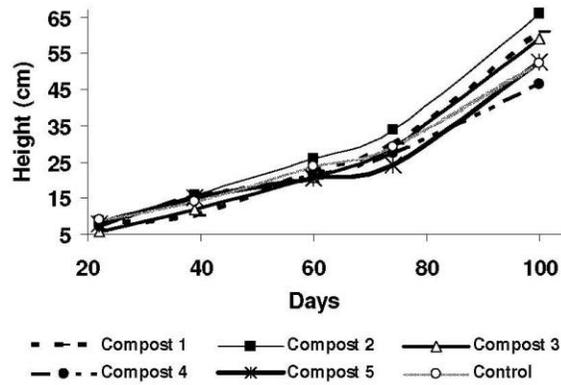


Figure 1. Plant height of treatment plots.

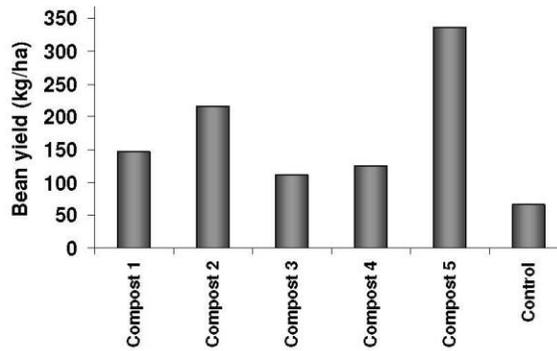


Figure 2. Beans Crop yield on the treatment plots.

Table 3. Physical and chemical parameters of soil before and after the treatments.

Soil before application of composts							
Parameters	pH	EC (dS m ⁻¹)	OC (%)	OM (%)	TN (%)	C/N	P (mgkg ⁻¹)
Soil	7.34	0.04	0.945	1.63	0.103	9.133	9.385
Soil after a cycle of agricultural production of bean							
COM 1	7.05	0.19	1.18	2.04	0.29	4.01	19.93
COM 2	7.05	0.22	1.70	2.94	0.27	6.40	55.33
COM 3	7.05	0.13	1.36	2.34	0.18	7.51	22.99
COM 4	7.03	0.14	1.40	2.41	0.15	9.21	31.20
COM 5	7.03	0.17	1.51	2.61	0.18	8.37	35.60

pH in water 1:2, EC = Electrical conductivity, OM = organics matter, P = phosphorus, OC = organic carbon, TN = total nitrogen. Data are reported as the mean values range for three replicates.

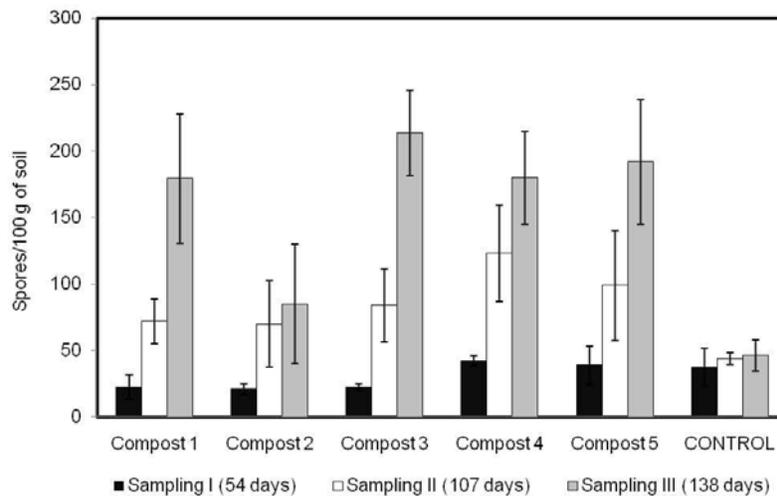


Figure 3. Spores density of AM fungi on plots treated.

properties of the soil, such a way the requirements of compost could be lower with time and eventually economically compared with fertilization.

Density of spores AM fungi

Rhizosphere soil was analyzed in different stages: at seedling stage V4 (Trifolio) the number of spores found in plots applied with compost and control was very low and did not have a statistical significant difference. At stage R8 (pod ripe or mature plant) the higher number of viable spores was present in the plot applied with the compost 3 (214 viable spores/100 g soil), while in the plots with the composts 1, 4 and 5 the number of spores did not have a significant difference between them (179, 180 and 192 spores, respectively) (Figure 3). In all cases spores number were different significantly ($P < 0.05$) from those found in the control plot, indicating that there was a positive correlation between soil fertility and the spores number (Mendoza et al., 2002).

Raise in spore number was according with reports of López-Sánchez and Honrubia (1992), they found that spores number increase according with the plant phenological stage, reporting the maximum density of spores during the fruiting stage in Poaceae, Fabaceae, Asteraceae and Chenopodiaceae families. Also in a previous study with common beans and broad beans in Tlaxcala, the number of spores show relation with the plant phenology with the phenology of the plant, found low quantities sowing at time of planting, and increase

during the (Luna-Zendejas 1997). Cousin et al. (2003) showed that the sporulation of different AM fungi were clearly seasonal and were influenced by host plant phenology.

Composts employed had pH from 7 to 8.53, Porter et al. (1987) indicate that pH between 5.5 to 6.5 have positive effect on distribution and abundance of different fungal species as *Glomus* and *Acaulospora*. However, Abbott and Robson (1991) explained that increases in pH and soil nutrient content are related to a decrease in spores density of AM fungi. In contrast Mendoza et al. (2002) and Escudero and Mendoza (2005) indicated that enhance in the pH support fungi the development. In phosphorous case, augment in phosphorous concentration results in a gradual decrease of spore's number affecting root colonization (Deepak, 2008). In soybean fields, spores density of AM fungi had been negatively correlated with the content of phosphorous applied (Isobe et al., 2008). In this work, except for compost 1, it was observed a negative correlation between % P in composts and number of viable spores found.

Conclusions

Sludge and organic matter, could be mineralized through the composting process, resulting in a non-phytotoxic material, where components were transformed and assimilated by crops, improving the beans yield, growth of plants and the population of AM fungi. The use of

sludge from wastewater treatment plants is an interesting way to employ their nutrients for the production of a material with good physical and chemical properties; it could be used to reduce environmental problems such as erosion, as a consequence of the continued application of compost.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Mr. Ascension Altamirano for providing experimental field for this study in Altzayanca region.

REFERENCES

- Abbott LK, Robson AD (1991). Factors Influencing the Occurrence of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizas. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 35: 121-150.
- Ahmad R, Khalid A, Arshad M, Zahir ZA, Naveed M (2000). Effect of raw (un-composted) and composted organic waste material on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) *Soil Environ.*, 25: 135-142.
- Bhoopaner G, Kapoor R, Mukerji KG (2003). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and salinity on growth, biomass, and mineral nutrition of *Acacia auriculiformis*. *Biol. Fertil. Soils*, 38: 170-175.
- Biala J (2000). The use of composted organic waste in viticulture – A review of the international literature and experience, Sustainable Industries Branch, Canberra act 2601, Environment Australia, Canberra.
- Brundrett MC, Bougher N, Dell B, Grove T, Malajczuk N (1996). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research. Pirie, Canberra, Australia, pp. 141-171.
- Copladet (2005). Direction of informatic and statistic. Unit of Statistic, México.
- Crecchio C, Curci M, Mininni R, Ricciuti P, Ruggiero P (2001). Short-term effects of municipal solid waste compost amendments on soil carbon and nitrogen content, some enzyme activities and genetic diversity. *Biol. Fertil. Soils* 34: 311-318.
- Cousin JR, Cousins-Diane H, Corinna G, Stutz JC (2003). Preliminary assessment of arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community structure in an urban ecosystem. *Mycorrhiza*, 13: 319-326.
- Deepak V (2008). VA mycorrhizal status in wheat cultivar 306 under different phosphorus concentration. *Indian J. Agrofor.*, 10: 62-64.
- Escudero V, Mendoza R (2005). Seasonal Variation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Temperate Grasslands Along a Wide Hydrologic Gradient. *Mycorrhiza*, 15: 291-299.
- Fenifos (2009). Nitrogenated and fosfates fertilizers. www.fenifos.com.
- Guedes GAA, Junqueira NA (1978). Calagem e adubacao Agropecuaria Inform. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 4: 21-23.
- Gutiérrez-Castorena MC, Ortis-Solorio CA (1999). Origen and evolution Of the soils in the exTexcoco lake, México. *Agrociencia*, 33: 199-208.
- IICA, RED SICTA, COSUDE, ASOPROL (2009) Technical guide for the bean crop in Santa Lucía, Teustepe and San.
- Lorenzo in the Boaco Department, Nicaragua. Santa Lucía, Boaco, Nicaragua, p. 28.
- Íñiguez GPJ, Velasco PA (2006). Utilization of subproducts of the tequila industry part 8: Evolution of some constituents in the mixture of biosólidos-agave stubble during the compost process. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 22: 83-93.
- Isobe K, Sugimura H, Maeshima T, Ishii R (2008). Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in upland field soil of Japan-2. Spore density of arbuscular mycorrhizal fungi and infection ratio in soybean and maize fields. *Plant Prod. Sci.*, 11: 171-177.
- IUSS, Working Group, WRB (2006). World reference base for soil resources 2006. 2nd edition. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome.
- Kiel EJ (1985). Organic fertilizers. Ed. Agronómica, Ceres, San Pablo.
- López-Sánchez ME, Honrubia M (1992). Seasonal variation of vesicular-arbuscular mycorrhizae in eroded soils from southern Spain. *Mycorrhiza*, 2: 33-39.
- Luna-Zendejas H (1997). Stational variation Of the Micorrizic fungi in soil cultivated with corn/green beans, corn/beans In the Malintzi, Tlaxcala. Master degree thesis in biology.
- Mendoza R, Goldmann V, Rivas J, Escudero V, Pagani E, Collantes M, Marbán L (2002). Population of micorrizic arbuscular fungi in relation With soil properties and hospeder plants In Tierra del Fuego. *Ecol. Aust.*, 12: 105-116.
- Moreno CJ (2008). Composting, Mundi-Prensa books, Madrid, p. 570.
- Navarrete M (2010). Fertilizers, Price of fertilizers trend to decrease Noroest.com negocios, The Sinaloa portal.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-REC/NAT-2000 that establish specifications of fertility, salinity and clasification of soils, Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial, december 31th, 2002. Norma Oficial Mexicana.
- NOM-004-SEMARNAT-2002, Environmental protection.- sludge and Biosólidos. Especifications and maximal permissible limits of contaminants for the use and final disposition.
- Porter WM, Robson AD, Abbott LK (1987a). Factors Controlling the Distribution of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Relation to Soil pH. *J. Appl. Ecol.*, 24: 663-672.
- Raviv M (2005). Production of high-quality composts for horticultural purposes: A mini-review. *Hort. Technol.*, 15: 52-57.
- Tiquia SM (2000). Evaluating phytotoxicity of pig manure from the pig-litter system. In: Warman PR, Taylor BR (eds) Proceedings of the International Composting Symposium, CBA Press Inc. Truro, pp. 625-647.
- Werner G (1988). The soils in the state of Tlaxcala: Goberment of the State of Tlaxcala and University Autonomus of Tlaxcala, p. 198.
- Willson GB, Parr JF, Epstein E, Marsh PB, Chaney RL, Colacicco D, Burge WD, Sikora LJ, Tester CF, Hornick S (1980). Manual for composting sewage sludge by the Beltsville aerated pile method. Washington, DC.
- Wu L, Ma LQ, Martinez GA (2000). Comparison of methods for evaluating stability and maturity of biosólidos compost. *J. Environ. Qual.*, 29: 424-429.
- Zhang M, Heaney D, Henriquez B, Solberg E, Bittner E (2006). A four-year study on influence of biosólidos/MSW cocompost application in less productive soils in Alberta: Nutrient dynamics. *Compost Sci. Util.*, 14: 68-80.