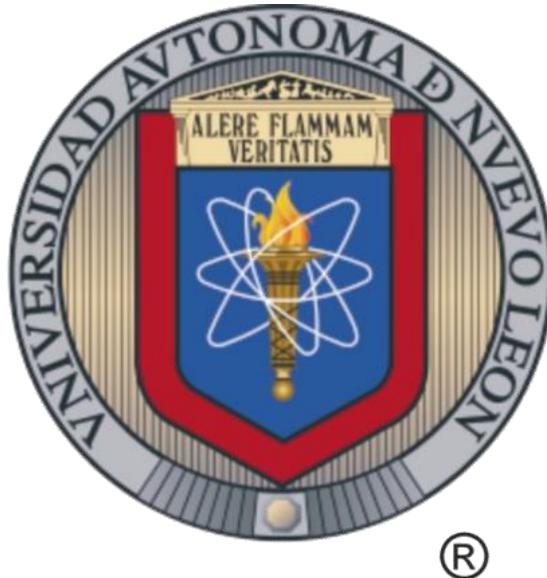


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



TESIS

**INOCULACIÓN DE TRES GENOTIPOS DE NOPAL TUNERO (*Opuntia* spp.) CON
HONGOS MICORRÍZICOS O *Trichoderma***

PRESENTA

EVELYN HERNÁNDEZ VIDAL

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAestría EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

JULIO, 2017

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



TESIS

**INOCULACIÓN DE TRES GENOTIPOS DE NOPAL TUNERO (*Opuntia* spp.) CON
HONGOS MICORRÍZICOS O *Trichoderma***

PRESENTA

EVELYN HERNÁNDEZ VIDAL

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

GENERAL ESCOBEDO, NUEVO LEÓN, MÉXICO

JULIO, 2017

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



TESIS

**INOCULACIÓN DE TRES GENOTIPOS DE NOPAL TUNERO (*Opuntia* spp.) CON
HONGOS MICORRÍZICOS O *Trichoderma***

PRESENTA

EVELYN HERNÁNDEZ VIDAL

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

GENERAL ESCOBEDO, NUEVO LEÓN, MÉXICO

JULIO, 2017

ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL
COMITÉ PARTICULAR COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR

Dr. Rigoberto E. Vázquez Alvarado
Director de Tesis

Dr. Emilio Olivares Sáenz
Co-Director

Dra. Juana Aranda Ruiz
Asesor Auxiliar



R. CARDO D. VALDEZ C.

Dr. Ricardo David Valdez Cepeda
Asesor Externo

Dra. Adriana Gutiérrez Díez
Subdirector de Estudios de Posgrado

Si de todos los organismos creados por Dios,
los más pequeños y aparentemente menos útiles
fueran suprimidos, la vida se tornaría imposible,
ya que el regreso a la atmósfera
y al reino mineral de todo lo que dejó de vivir
sería bruscamente suprimido.

Un poco de ciencia aleja de Dios,
pero mucha ciencia devuelve a Él.

Louis Pasteur

DEDICATORIA

A mi madre, Aurora Vidal Santos por ser la mayor fuente de inspiración en cada momento de mi vida, con amor inmarcesible.

A mis tíos, Leonor Estela Vidal Santos e Hilario Fernández, por su apoyo incondicional, por ser parte de mi vida. Con todo mi amor y respeto.

A mi padre Enrique Hernández Rodríguez por su apoyo en todo momento, con amor eterno.

A mis hermanas Denisse y Solange, a mis sobrinos Dalí y Kriscely, a mi familia por darme el apoyo y aliento para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme esta experiencia, por las vivencias y las amistades que formaron parte de este proyecto.

A mi asesor el Dr. Rigoberto Vázquez Alvarado, le agradezco el apoyo en todo sentido, por hacer posible el proyecto de investigación y por sus consejos. Reciba mi admiración y respeto.

Al Dr. Emilio Olivares Sáenz, le agradezco su apoyo, por estar pendiente del proyecto de investigación, por permitirme formar parte del Centro de Agricultura Protegida y utilizar las instalaciones. Reciba mi admiración y respeto.

Al Dr. Ricardo David Valdez Cepeda, por el inmenso apoyo brindado, sus consejos, compartir sus conocimientos y su experiencia profesional. Reciba mi más sincero agradecimiento, admiración y respeto.

A la Dra. Juana Aranda Ruiz por su apoyo en todo momento, por formar parte de la investigación y por su asesoría en el trabajo de laboratorio.

A la M.C. Nora Estela García Treviño, agradezco de corazón todo el apoyo recibido, por los consejos y por ser una guía en esta etapa. Reciba mi admiración y respeto.

Al Dr. Carlos Héctor Ávila Bello por su apoyo en la elaboración de esta tesis, por sus consejos y por impulsarme a dar este paso en mi vida profesional.

Al Ing. Fernando Cabrieles por su valioso apoyo y asesoría en el análisis de las muestras.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, a la Facultad de Agronomía, al Departamento de Informática; al Ing. Dante García por su ayuda en todo momento.

A mis compañeros y amigos entrañables de la FAUANL, gracias por todo el apoyo y por todas las vivencias, por hacer de estos dos años los más extraordinarios.

Hago extensivo mi agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para la realización de esta maestría.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
RESUMEN	XI
ABSTRACT	XII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Agricultura Convencional	3
2.1.1. Impacto de la fertilización inorgánica.....	3
2.2. Agricultura Orgánica	4
2.2.1. Alternativas para la agricultura orgánica.....	5
2.2.2. Biofertilización.....	6
2.3. Interacción Plantas - Microorganismos	6
2.4. Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA)	7
2.4.1. Simbiosis planta-micorrizas	8
2.4.2. Beneficios bióticos y abióticos	9
2.4.3. Factores que influyen en el establecimiento de la simbiosis	9
2.4.4. Hongos micorrízicos en zonas áridas	10
2.4.5. <i>Glomus intraradices</i>	11
2.4.6. Respuestas de las plantas a la colonización	11
2.5. <i>Trichoderma</i> spp.	12

2.6.	El Cultivo de Nopal Tunero	15
2.6.1.	Importancia socioeconómica	15
2.6.2.	Requerimientos edáficos y climáticos.....	16
2.6.3.	Uso ambiental.....	16
2.6.4.	Inoculación de hongos en cultivo de nopal	17
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1.	Descripción del Área de Estudio	18
3.2.	Material Vegetal	18
3.3.	Preparación de Inóculos	19
3.4.	Diseño Experimental	21
3.5.	Esterilización de Suelo.....	23
3.6.	Plantación e Inoculación	23
3.7.	Agua de Riego Utilizada en el Experimento.....	24
3.8.	Variables	25
3.8.1.	Número de brotes.....	25
3.8.2.	Biomasa fresca y seca de cladodio y raíz.....	26
3.8.3.	Análisis químico de suelos	26
3.8.4.	Análisis químico de los genotipos tuneros.....	27
3.8.5.	Determinación del porcentaje de colonización micorrízica	27
3.9.	Unidades Formadoras de Colonias en Suelo (UFC)	29
3.10.	Análisis Estadístico	30
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1.	Número de brotes mensual.....	31
4.2.	Biomasa Fresca y Seca de Cladodio y Raíz	33

4.2.1.	Biomasa fresca de cladodio.....	33
4.2.2.	Biomasa seca de cladodio.....	35
4.2.3.	Biomasa fresca de raíz.....	36
4.2.4.	Biomasa seca de raíz.....	38
4.2.5.	Efecto de los tratamientos en desarrollo de planta.....	41
4.3.	Análisis Fisicoquímico de Suelo.....	44
4.3.1.	Análisis inicial de suelo.....	44
4.3.2.	Análisis final de suelo.....	45
4.4.	Análisis Químico de Planta.....	47
4.4.1.	Análisis inicial.....	47
4.4.2.	Análisis final.....	47
4.5.	Unidades Formadoras de Colonias.....	51
4.6.	Porcentaje de Colonización Micorrízica.....	52
5.	CONCLUSIONES.....	54
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	55

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Respuesta del nopal a la inoculación con hongos.....	17
2	Descripción de los tratamientos utilizados de acuerdo al genotipo y suelo.....	22
3	Análisis del agua de riego.....	25
4	Número de brotes asociado a los factores y sus niveles y a los meses de estudio.....	33
5	Medias de biomasa seca de cladodios.....	36
6	Principales propiedades químicas de los suelos usados en el experimento.....	44
7	Textura y color de los suelos empleados en el experimento.	45
8	Concentraciones medias finales de N, P y K en los diferentes suelo usados en el experimento.....	46

9	Concentraciones medias de Ca, Mg, pH y MO en los diferentes tipos de suelo.....	46
10	Concentraciones de los macroelementos en cladodios de los genotipos usados en el experimento.....	47
11	Concentraciones medias de los nutrimentos asociadas a los factores suelo y genotipo.	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Genotipos Tuna Amarilla (a), Blanca (b) y Roja (c).....	19
2	Procedimiento de la elaboración del inóculo de <i>Glomus intraradices</i> y <i>Trichoderma harzianum</i>	21
3	Croquis mostrando la distribución de los tratamientos en el campo..	23
4	Procesos de selección, inoculación y plantación de los cladodios.....	24
5	Proceso de tinción de raíz con el método de Phillips y Hayman (1970).....	28
6	Metodología para el conteo de unidades formadoras de colonias en suelo.....	29
7	Comparación de medias de biomasa fresca de cladodio para niveles del factor suelo.....	34
8	Comparación de medias biomosas frescas de cladodio para niveles del factor genotipo.....	35
9	Comparación de medias de Biomasa fresca de raíz entre niveles del factor genotipo.....	37
10	Comparación de medias de peso fresco de raíz entre niveles del factor suelo.....	38

11	Comparación de medias de biomasa seca de raíz entre niveles del factor suelo.....	39
12	Comparación de medias de biomasa seca de raíz entre niveles del factor genotipo.....	40
13	Efecto visual de tratamientos con inóculo SMGi (a) SMTh (b) y sin inóculo SA (c) y SM (d) en el genotipo Tuna Amarilla.....	41
14	Efecto visual de tratamientos con inóculo SMGi (a) SMTh (b) y sin inóculo SA (c) y SM (d) en el genotipo Tuna Blanca.....	42
15	Efecto visual de tratamientos con inóculo SMGi (a) SMTh (b) y sin inóculo SA (c) y SM (d) en el genotipo Tuna Roja.....	43
16	Comparación de medias de UFC en suelo en función de la interacción de los factores Suelo y Genotipo.....	51
17	Comparación de medias de colonización (%) en función de la interacción de los factores Suelo y Genotipo.....	52

RESUMEN

Los sistemas de producción de nopal (*Opuntia* spp.) para verdura y frutos han sido manejados de manera convencional provocando el deterioro de los suelos. Una alternativa para disminuir tal problema puede ser el uso de hongos micorrízicos arbusculares (AM) o *Trichoderma* spp, que mejoran el crecimiento y transfieren resistencia a factores bióticos y abiótico en algunos cultivos. Sin embargo, cómo interaccionan estos microorganismos con el cultivo de nopal tunero (*Opuntia* spp.) aún se desconoce. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la inoculación de tres genotipos de nopal tunero con hongos *Glomus intraradices* o *Trichoderma harzianum*. Para ello, Número de brotes, biomasa de planta y raíz, minerales contenidos en suelo, porcentaje de colonización en raíz y unidades formadoras de colonias en suelo fueron medidos. Los resultados mostraron que existe una diferencia en el crecimiento cuando se aplican cepas de hongos; esto debido a la colonización del hongo en la raíz. El genotipo con mayor respuesta, en cuanto a generación de brotes y biomasa de raíz, fue Tuna Roja; ello debido al gran porcentaje de colonización (90%) de *Glomus intraradices* en la raíz. El genotipo Tuna Blanca presentó 85% de colonización por este hongo en raíz. El genotipo Tuna Amarilla no fue beneficiado por la aplicación de hongos.

Palabras claves: colonización, microorganismo, crecimiento, raíz

ABSTRACT

Production systems of cactus pear (*Opuntia* spp.) for vegetables and fruits have been carried out in a conventional way causing the deterioration of soils. An alternative to reduce this problem may be using arbuscular mycorrhizal fungi (AM) or *Trichoderma* spp. due that they may improve growth and transfer resistance to biotic and abiotic factors in some crops. However, how these microorganisms interact with the cactus pear (*Opuntia* spp.) crop is still unknown. The objective of this work was to determine the effect of inoculation of three genotypes of cactus pear with fungi *Glomus intraradices* or *Trichoderma harzianum*. For this, number of shoots, plant and root biomass, soil minerals, percentage of root colonization and soil colony forming units were measured. Results showed that there is a difference in growth linked with applied fungal strains; this may be due to the fungi root colonization. Tuna Roja was the genotype with the highest response in shoot generation and root biomass; it was due to the high percentage of *Glomus intraradices* root colonization (90%). Tuna Blanca shown 85% of root colonization with this species. Tuna Amarilla genotype was not benefited by the application of fungi.

Keywords: colonization, microorganism, growth, root

1. INTRODUCCIÓN

El nopal (*Opuntia* spp.) es un cultivo de importancia socioeconómica en México. Su valor radica en que los brotes tiernos (nopalitos) son utilizados para el consumo humano como verdura, mientras que sus cladodios maduros se usan como alimento para ganado. Los frutos son usados como alimento (Valdez *et al.*, 2013).

En el caso del nopal, los sistemas han sido manejados de forma convencional para incrementar el rendimiento pero a su vez deterioran al suelo; las sobredosis de fertilización han traído consigo cambios en los microorganismos nativos del suelo y una gran dependencia a la fertilización sintética. La aplicación de microorganismos relacionados con el crecimiento y desarrollo de las plantas, como los hongos micorrízicos arbusculares (AM) o *Trichoderma* spp., es una opción cada vez más utilizada para mejorar la producción de los cultivos (Chaparro *et al.*, 2012).

Los hongos (AM) proporcionan a las plantas minerales a cambio de hidratos de carbono (Smith y Read, 2008), logrando con ello un mejor desarrollo. La simbiosis con hongos micorrízicos tiene una función clave para la absorción de nutrimentos en más del 60% de las plantas terrestres (Wang y Qiu, 2006). Las hifas de los hongos forman una estructura llamada apresorio que se adhiere en la epidermis de la raíz y es el primer contacto entre células de simbiosis.

Los hongos del género *Trichoderma* spp. presentes en el suelo y la rizósfera de las plantas son de vida libre. Estos microorganismos son simbioses vegetales oportunistas, no patógenos que aumentan el crecimiento de las plantas y resistencia a las tensiones bióticas (Harman *et al.*, 2004a).

Trichoderma harzianum tiene efectos benéficos directos en las plantas al promover crecimiento y desarrollo, estimulando defensas contra los patógenos y aumentando la tolerancia a los factores abióticos (Hermosa *et al.*, 2012). Estos efectos son una consecuencia de los diferentes cambios metabólicos que se presentan en las plantas por la interacción íntima entre *Trichoderma* y las raíces.

La aplicación de hongos micorrízicos o *Trichoderma* puede influir positiva o negativamente en el desarrollo de las plantas, debido a que no con todos los cultivos establecen simbiosis. Por lo tanto, la hipótesis es que la inoculación con *Glomus intraradices* y *Trichoderma harzianum* desarrolla simbiosis con las raíces de nopal tunero y, por lo tanto, coadyuvan en la nutrición y crecimiento de la planta. De acuerdo con lo anterior, el objetivo de este trabajo fue identificar el efecto de la inoculación de tres genotipos de nopal tunero con hongos *Glomus intraradices* o *Trichoderma harzianum*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Agricultura Convencional

La agricultura convencional depende de la fertilización sintética, del uso de insecticidas y pesticidas para obtener mayores rendimientos de los cultivos; esto impacta de forma negativa a los agroecosistemas por el uso irracional de los productos químicos, agua y suelo. La forma de manejo inadecuado ha provocado perturbaciones ecológicas y de diversidad de los microorganismos del suelo, y por lo tanto de la fertilidad.

2.1.1. Impacto de la fertilización inorgánica

La fertilidad de los suelos a largo plazo es una preocupación creciente. El crecimiento poblacional ha dispuesto que los sistemas agrícolas desarrollen prácticas para mantener productivos sus suelos e incrementar los rendimientos, creando con ello una mayor dependencia a la fertilización y modificando la biodiversidad de microorganismo nativos (Dick, 1992; Wang *et al.*, 2017).

Algunas de las prácticas que los agricultores han tenido como soporte de sus campos para mantener la productividad del suelo es la aplicación de cantidades grandes de fertilizantes sintéticos. Diversos estudios vinculados a los efectos de los fertilizantes sobre las propiedades del suelo y rendimientos han sido realizados. En la mayoría de los sistemas, el uso de productos sintéticos puede traer consigo una gran producción, pero también un costo mayor y afectación de las condiciones bióticas del suelo.

Las propiedades físicas del suelo están ligadas principalmente a los constituyentes orgánicos que son considerados a menudo como el primer indicador de la fertilidad del suelo. Sin embargo, el uso de fertilizantes y abonos cambia las propiedades del suelo independientemente del contenido de materia orgánica existente.

Pernes y Tessier (2004) encontraron que la aplicación de fertilizantes amoniacales disminuyó el pH del suelo y provocó la disminución de la capacidad de intercambio catiónico. Las afectaciones que se presentan al implementar un sistema dependiente de aplicaciones químicas para su fertilidad o para el control de plagas y enfermedades son diversas; el impacto de la fertilización sintética a largo plazo genera una mayor dependencia de la fertilización, así como de los pesticidas e insecticidas al crear plagas más resistentes e inactivar la simbiosis benéficas entre plantas y microorganismos del suelo.

2.2. Agricultura Orgánica

La agricultura orgánica se ha definido de diversas formas. Pérez y Landeros (2009) la precisan como la agricultura que excluye del total de sus prácticas al empleo de plaguicidas, fertilizantes y que se basa en la aplicación de abonos orgánicos, formando sistemas diseñados para restablecer y mantener la biodiversidad y el ambiente.

En otro contexto, Félix *et al.* (2008) sugieren que la agricultura orgánica es una práctica que promueve la utilización de los desechos orgánicos procedentes del propio sistema y de los desechos externos, los cuales son transformados en un material llamado humus mediante un proceso de descomposición aeróbico en condiciones controladas, particularmente de humedad y aireación, en el cual participan bacterias, hongos y actinomicetos.

La agricultura orgánica requiere de la optimización del uso del suelo, así como de los microorganismos que habitan en él y con ello mantener su fertilidad, minimizando al mismo tiempo cualquier efecto ambiental nocivo. El propósito principal de la agricultura orgánica es aumentar los rendimientos de los cultivos, reduciendo la contaminación por la fertilización inorgánica y manteniendo la fertilidad del suelo a un nivel apropiado y restaurándola si es que ha disminuido (Diacono y Montemurro, 2010).

La agricultura orgánica se ha desarrollado de manera intensiva en los últimos tiempos. Algunos productores han ingresado en el comercio de vegetales orgánicos debido a su costo y valor agregado, dado que se obtienen en sistemas con prácticas saludables; de igual manera, el vínculo generado entre los sistemas convencionales y enfermedades como el cáncer ha permitido que el valor de los productos desarrollados en sistemas orgánicos sean valorados cada vez más; por ello se han generado alternativas para poder mantener sistemas libre de fertilizantes y productos químicos y que produzcan de manera óptima utilizando los recursos del suelo.

2.2.1. Alternativas para la agricultura orgánica

En la agricultura, los sistemas con fertilizantes químicos y pesticidas en cantidades pequeñas puede lograrse con la aplicación de microorganismos que contribuyan a la absorción de nutrimentos y que beneficien el crecimiento de las plantas contra factores bióticos y abióticos; en ese sentido se considera el supuesto que una planta bien nutrida crecerá de manera óptima y será capaz de resistir a los factores que le puedan afectar.

Estos sistemas productivos deben concebirse al considerar la premisa de una agricultura sustentable con tecnología de poco impacto, mediante la cual se disminuya el costo de producción, conserve el ambiente y logre que el sistema sea sostenible en el tiempo (Terry y Ruíz, 2008).

2.2.2. Biofertilización

La biofertilización es uno de los elementos más valiosos con que cuenta la agricultura orgánica. Esta se desarrolla con base en microorganismos que viven en el suelo. Sin embargo, sus poblaciones suelen ser pequeñas, ya que al incrementarse mediante la inoculación artificial son capaces, entre otros beneficios, de poner a disposición de las plantas una parte importante de los elementos nutritivos como N, P, K, Ca y Mg que son necesarios para su desarrollo sin afectar el equilibrio biológico del suelo (Leyva *et al.*, 2002)

2.3. Interacción Plantas - Microorganismos

La interacción entre las plantas y su entorno es un proceso dinámico en el cual las plantas se relacionan con el ambiente y reaccionan a los cambios. El sistema radicular tradicionalmente proporciona el anclaje, absorción de nutrimentos y agua, y es un elemento clave para que una planta interactúe con su entorno (Bais *et al.*, 2006). Las señales químicas que son emitidas por los microorganismos contenidos en el suelo son recibidas y las plantas las reconocen para luego ser dirigidas a través de la liberación de compuestos químicos en forma de exudados radiculares. La secreción

de estos compuestos varía entre especies de plantas, ecotipos (Micallef *et al.*, 2009), e incluso, entre raíces de las plantas (Uren, 2007).

Los diversos compuestos liberados por plantas como exudados de raíz crean un ambiente único en la rizósfera e incluyen azúcares, aminoácidos, flavonoides, alifáticos, ácidos, proteínas y ácidos grasos (Badri *et al.*, 2009). Todos estos diferentes compuestos son capaces de atraer e iniciar tanto interacciones simbióticas como patógenas dentro de la raíz; la composición y concentración del exudado de la raíz cambia según las señales recibidas del ambiente, rizósfera, edad de la planta (De la Pena *et al.*, 2010), tipo de suelo (Rovira, 1969), y factores bióticos y abióticos (Flores *et al.*, 1999). La composición proteica de los exudados radiculares cambian cuando la planta crece sola a diferencia de cuando realiza alguna simbiosis con algún microorganismo.

Los exudados radiculares se utilizan como sustratos de crecimiento por los microorganismos del suelo y algunos también actúan como antimicrobianos; por lo tanto, si hay un cambio en la composición y concentración de los exudados, también cambiarán los microorganismos que habitan la rizósfera (Perry *et al.*, 2007).

2.4. Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA)

Los hongos micorrízicos arbusculares son considerados como la asociación simbiótica de mayor importancia para la agricultura, encontrándose resultados satisfactorios en cereales, hortalizas, granos, plantas ornamentales (Anwar y Pichtel, 2008) y plantas forestales (Retama *et al.*, 2017).

Las plantas mejoran su estado nutricional cuando realizan simbiosis con microorganismos del suelo. Entre los microbios asociados a las plantas están los hongos micorrízicos arbusculares (MA) (Phylum Glomeromycota) y son probablemente los más antiguos y generalizados (Parniske, 2008).

2.4.1. Simbiosis planta-micorrizas

Los hongos micorrízicos arbusculares son simbioses obligados que distribuyen nutrientes minerales, especialmente fósforo (P) y nitrógeno (N), los cuales son constituyentes de carbohidratos vegetales (Smith y Smith, 2011). Las esporas de los hongos pueden germinar espontáneamente y vivir pocos días debido a sus reservas de lípidos antes de encontrar a su hospedero; pero si hay ausencia de una raíz hospedera y la planta no emite señales, las hifas tienden a retraerse (Schmitz y Harrison, 2014).

Cuando la planta emite señales, las hifas de los hongos forman una estructura llamada apresorio que se adhiere a la epidermis de la raíz y es el primer contacto célula a célula entre simbioses.

En las células de las plantas, el núcleo migra para formar el aparato de pre-penetración (APP). El APP es citoplasma que contiene microtúbulos y microfilamentos que se alinean con el retículo endoplásmico, formando un tubo hueco que guía la hifa a través de las células hasta llegar al córtex. Es ahí donde se forman estructuras llamadas arbusculos, por los cuales se da el intercambio de nutrimentos entre el hongo y la planta y hasta este punto se puede decir que la simbiosis está bien establecida (Smith y Smith, 2011).

Por lo tanto, las raíces micorrizadas tienen dos vías de absorción de nutrientes. La primera es la vía de absorción normal de la planta, es decir, los nutrientes son absorbidos a través de los pelos radiculares; en particular, para los nutrientes con poca movilidad en el suelo como P, la absorción a través de la planta es a menudo limitada por el desarrollo de zonas de agotamiento alrededor de las raíces (Smith *et al.*, 2004). La vía de adopción a través de micorrizas permite la absorción mediante transportadores de nutrientes con mucha afinidad en la extensión de raíz, seguida a lo largo de las hifas al micelio en la corteza de la raíz y la absorción de la interfaz de micorrizas por los transportadores de captación de la planta.

2.4.2. Beneficios bióticos y abióticos

Los hongos micorrízicos también proporcionan beneficios no nutricionales a su planta huésped, tales como mejora de la resistencia de las plantas contra varios factores abióticos (sequía, salinidad, metales pesados) y bióticos (patógenos, herbívoros) (Smith y Read, 2008). Esta relación es benéfica tanto para el hongo como para la planta, ya que por medio de la simbiosis adquiere nutrientes del suelo (Serralde y Ramírez, 2004).

2.4.3. Factores que influyen en el establecimiento de la simbiosis

El vínculo entre las plantas y las micorrizas sugieren que los HMA son sensibles a la evolución de la disponibilidad de plantas; por lo tanto, también a los factores involucrados en la fotosíntesis y a la demanda de nutrientes de las plantas para cambiar la asignación de carbohidratos a la simbiosis. La fertilidad del suelo y la

intensidad de la luz son factores que tienen efectos importantes en la simbiosis micorrízicas. Johnson (2010) ha sugerido que las plantas deben generar un equilibrio funcional entre el suelo y los microorganismos del suelo y ajustarse para optimizar la adquisición del recurso más limitado para maximizar su crecimiento.

2.4.4. Hongos micorrízicos en zonas áridas

Las plantas que se desarrollan en ambientes áridos y semiáridos viven en estrés debido a diferentes factores edáficos y ambientales, por lo que los hongos micorrízicos arbusculares son fundamentales para su desarrollo. Los hongos micorrízicos son los microorganismos sobresalientes de la rizósfera de las plantas y pueden encontrarse en diferentes ambientes, aun cuando se presenten condiciones ambientales desfavorables para las plantas. Distintas investigaciones han referido que es de esperarse mayor impacto benéfico de los HMA cuando las plantas están expuestas a ambientes extremos que limitan el crecimiento.

La simbiosis entre las plantas y los HMA es una de las estrategias de la planta para crecer en una variedad de condiciones de estrés. El impacto ecológico de los HMA para los ecosistemas áridos y semiáridos le permiten a la planta una mayor tolerancia a las tensiones ambientales características de estos ecosistemas (Allen, 2007). Los HMA mejoran el crecimiento de las plantas y la estructura del suelo. Debido a las funciones clave que los HMA desempeñan en la simbiosis, una alta población de los hongos para el desarrollo y mantenimiento de la diversidad vegetal es necesaria (Van der Heijden *et al.*, 2006). Evaluaciones de las especies nativas de HMA son de gran importancia ya que sus poblaciones juegan un papel importante en el vigor de las

comunidades vegetales y la restauración de ecosistemas perturbados (Renker *et al.*, 2004).

2.4.5. *Glomus intraradices*

Los sistemas radiculares de las plantas cumplen las funciones principales, absorción de agua y minerales y anclaje de la planta al suelo. En la naturaleza, la adquisición de nutrimentos minerales por las raíces es asistida por simbiosis con hongos micorrizicos arbusculares (HMA) del filo *Glomeromycota*, una de sus especies es *Glomus intraradices* (Schüßler y Walker, 2001). Durante esta íntima asociación, el micelio adquiere minerales del suelo más allá de las zonas accesibles por la raíz misma. Dentro de la raíz, una proporción considerable de los minerales se entregan a la planta en las interacciones, pero dicha interacción no sucede en todas las plantas. Los hongos no pueden acceder a la colonización de la raíz puesto que algunos son específicos para cierto tipo de raíz; incluso dentro la misma especie hay preferencia por los hongos a los exudados y señalizaciones enviadas por la planta.

2.4.6. Respuestas de las plantas a la colonización

Los hongos micorrizicos han generado simbiosis con algunas leguminosas y hortalizas. Campos *et al.* (2010) señalaron que genotipos de arroz genéticamente modificados para expresar genes ante patógenos y una variedad silvestre estimularon más el crecimiento de las plantas al ser inoculados con *Glomus intraradices* que los testigos (sin inoculación); en ambas situaciones las plantas fueron capaces de generar simbiosis con el HMA. Por consiguiente, los hongos deben ser capaces de establecer

asociaciones simbióticas con variedades de especies de plantas y tener la capacidad de suprimir, neutraliza o eludir la respuesta de defensa de la misma.

Los hongos micorrízicos tienen capacidades diferentes para colonizar las raíces de las plantas. Algunos genotipos híbridos de trigo no generaron respuesta a la aplicación de HMA comparados con genotipos de polinización libre, los cuales presentaron mayor crecimiento de planta sin la aplicación de fertilizantes, al igual que la aplicación de micorrizas y fertilización; pero cuando se realiza la supresión de los hongos y sólo se considera la fertilización sintética, los genotipos híbridos desarrollan mayor crecimiento. Los programas de mejoramiento genético desarrollan líneas de semillas para mejorar la producción de biomasa, capacidad y calidad y cantidad de granos, Sin embargo, este estudio indica que la mejora genética altera la relación planta-hongos positiva y aumenta la dependencia a la fertilización (Cobb *et al.*, 2016).

2.5. *Trichoderma* spp.

Trichoderma es un género de hongo ascomycete que expresa múltiples actividades con un gran impacto en la agricultura (Lorito *et al.*, 2010). *Trichoderma* spp. se ha implementado comúnmente como agente de biocontrol por la capacidad antagónica con algunos patógenos del suelo; también, esta especie tiene efectos benéficos directos sobre las plantas promoviendo el crecimiento, desarrollo y aumento de la tolerancia a factores abióticos. Dichos efectos son consecuencia de los diferentes cambios metabólicos de las plantas por la interacción íntima entre *Trichoderma* y raíces; en tal interacción, el hongo actúa como una planta endofítica simbiótica y los

tejidos vegetales no se destruyen; sin embargo, un diálogo molecular ventajoso en donde tanto planta como hongo se ven beneficiados es creado (Hermosa *et al.*, 2013).

Diversos estudios han demostrado que *Trichoderma harzianum* coloniza a las raíces como una respuesta defensiva. El hongo penetra en la epidermis y la parte superior de la corteza de la raíz; así se da la asociación entre planta y el hongo; ello, implica respuestas moleculares. *Trichoderma* spp. es capaz de activar las defensas de las plantas tanto a nivel local como sistemáticamente (Brotman *et al.*, 2008).

El hongo *Trichoderma* spp. tiene preferencia por crecer en las raíces de plantas y, por consiguiente, promueve abundante crecimiento de la raíz, además de eliminar a otros hongos para no tener competencia. Por lo tanto, las plantas que coloniza son beneficiadas.

Trichoderma ha sido ampliamente estudiado por la capacidad de incrementar el crecimiento de las plantas al producir antibióticos, parasitar otros hongos y microorganismos nocivos. Por lo tanto, su uso en la agricultura se ha extendido no únicamente como un agente de control biológico sino también como un biofertilizante (Adams *et al.*, 2007).

El efecto de *Trichoderma* spp. se ha estudiado al considerar variables de crecimiento de las plantas cultivadas como algodón (Shanmugaiah *et al.*, 2009), hortalizas (Celar y Valic, 2005) y frijol (Hoyos *et al.*, 2009). *Trichoderma* spp. induce algunos cambios en la expresión génica de las plantas y la fisiología. Entre los cambios fenotípicos están el aumento de la resistencia sistémica a las enfermedades de las plantas, incluyendo

raíces (Harman *et al.*, 2004a), así como incrementos en la eficiencia y absorción de nutrimentos (Harman, 2000).

Al inocular plantas de maíz con cepa de *Trichoderma* se produce una acumulación de almidón de plantas, cuyas raíces fueron colonizadas por el hongo (Shoresh y Harman, 2008). Ello sugiere que *Trichoderma* induce el aumento del crecimiento, mediado por un aumento de fotosíntesis y las tasas respiratorias, y la resistencia sistémica inducida (Shoresh y Harman, 2008).

Ahmed y Upadhyay (2011) proponen, como una alternativa a los productos químicos, la utilización de *Trichoderma harzianum*, tanto contra patógenos como para aumentar el rendimiento; estos autores inocularon el suelo con una cepa de *Trichoderma harzianum* y observaron que el hongo había marcado un aumento del número de hojas, área foliar y contenido de clorofila en las plantas cultivadas.

Trichoderma, al tener la capacidad de mejorar la defensa de la planta contra el estrés biótico y abiótico, mejora también el crecimiento como resultado de diferentes mecanismos como la exudación de reguladores del crecimiento de las plantas (Vinale *et al.*, 2008), solubilización de fosfatos y minerales tales como el hierro (Fe), el manganeso (Mn) y el magnesio (Mg) que tienen un papel importante en el crecimiento de las plantas, secreción de enzimas exógenas, así como indirectamente con el control de los patógenos de raíz. La variedad de algunos de estos mecanismos indican múltiples modos de acción que conducen al aumento de la disponibilidad y absorción de nutrientes, resultando en una mayor absorción de nutrientes por parte de las plantas.

2.6. El Cultivo de Nopal Tunero

El género *Opuntia* de la familia Cactaceae está integrado por casi 300 especies. De tal número de especies, tal vez sólo diez a doce se cultivan comúnmente para la producción de fruta, nopalitas, forraje o cochinilla.

El género es nativo de América del Norte y su historia está estrechamente relacionada a las antiguas civilizaciones mesoamericanas, particularmente a la cultura azteca. La evidencia arqueológica confirma que su cultivo fue iniciado por nativos que se establecieron en las regiones semiáridas de Mesoamérica (Pimienta-Barrios, 1990; Yahia, 2011). Desde América del Norte, el género ha sido llevado a otras partes del mundo África, Europa y ahora es aprovechado en varios países.

Las especies de *Opuntia* son mayormente cultivadas en las zonas desérticas de los estados del norte de México, donde se encuentra la mayor diversidad genética. México destaca como el mayor productor y consumidor de tuna en el mundo.

2.6.1. Importancia socioeconómica

El cultivo de nopal es de gran importancia socioeconómica en México. El gran valor nutrimental de sus brotes y frutos le ha permitido tener mayor aprecio en el mercado. El nopal tiene una gran diversidad de usos, como son: los brotes tiernos como verdura, cladodios maduros usados en las dietas para ganado y sus frutos que son consumidos en fresco y considerados en otros países como fruta exótica; ésta diversidad ha permitido incrementar la producción de los sistemas en zonas semiáridas de México. En el 2016 se reportó una superficie plantada con nopal de 47,632.5 ha, destinadas a la producción de tuna; los estados con mayor aportación fueron: México (190,529.9 t),

Puebla (100,866.05 t), Zacatecas (94,092.04 t), Guanajuato (22,577.26 t), Hidalgo (21,337.41 t), San Luis Potosí (15,138.28 t), sumando una producción total de 462,704.67 t (SIAP, 2016)

2.6.2. Requerimientos edáficos y climáticos

Las especies de *Opuntia* se han adaptado para crecer y producir en regímenes de escasas de agua, alta temperatura y suelos pobres, condiciones adversas para la producción de otros cultivos (Nobel, 1994). Esas especies se encuentran en una variedad de ambientes, desde el desierto, áreas bajo el nivel del mar a áreas de gran altitud o en regiones tropicales de México.

Las plantas de nopal son xerófitas, creciendo principalmente en zonas áridas y zonas semiáridas, donde los niveles anuales de precipitación varían de 250 mm a 450 mm. El metabolismo ácido crasuláceo (CAM) conlleva a que abran sus estomas durante la noche para fijar CO₂ como ácido málico, que luego se convierte en azúcares durante el día. Como plantas con CAM, los nopales se caracterizan por el eficiente uso de agua de 4 a 10 mmol de CO₂ por mol de H₂O a diferencia de las plantas C₃ y C₄. (Pimienta-Barrios *et al.*, 2000).

2.6.3. Uso ambiental

Es importante destacar que el nopal tiene un sistema radical superficial y ramificado, con una gran cantidad de pelos absorbentes que se renuevan anualmente, aportando al suelo una fuente importante de materia orgánica; de esta forma mejora las propiedades físicas y químicas del suelo.

2.6.4. Inoculación de hongos en cultivo de nopal

Algunas investigaciones han demostrado que el cultivo de nopal no ha respondido a la inoculación con algunas cepas de hongos. El Cuadro 1 muestra algunas especies que fueron inoculadas con hongos micorrízicos teniendo nula o poca respuesta a la inoculación y evitando que la raíz sea colonizada.

Cuadro 1. Respuesta del nopal a la inoculación con hongos.

Espece	Inóculo	% Colonización	Referencia
<i>Opuntia amyclaea</i>	<i>Glomus</i> spp.	48%	Estrada y Fred (1999)
<i>Opuntia albicarpa</i>	<i>Glomus intraradices</i>	3%	Estrada y Fred (2007)
<i>Opuntia ficus-indica</i>	<i>Glomus epigaeum</i> <i>Glomus fascieulatum</i> <i>Glomus</i> spp	8-64 %	Cui y Nobel (1992)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Descripción del Área de Estudio

El experimento se estableció en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Campus Marín. La localización es 25 °51' 31" N, 100° 01' 20" O, con una altitud de 403 msnm. El clima que caracteriza a la región es extremoso, con régimen de lluvias en agosto y septiembre; la precipitación media anual es de 528 mm; los meses más calurosos son julio y agosto; la temperatura media anual es de 22°C; la temperatura máxima es 40°C y la mínima es 4°C (CONAGUA, 2015).

3.2. Material Vegetal

Una colecta de material vegetal se realizó en La Ascensión, municipio de Arambarri, Nuevo León. Su localización es 24° 19' 22" N, 99° 54' 37" O, con una altitud de 1,980 msnm. El clima de la región es templado con temperaturas entre 20 y 30 °C en las partes bajas y entre 12 y 20°C en la sierra; la temperatura mínima es de -10°C; las lluvias se presentan de julio a septiembre, con precipitación media anual de 425 mm (CONAGUA, 2015).

Para la obtención del material vegetal se seleccionaron las mejores plantas de tres genotipos de nopal tunero. Cladodios de los genotipos Tuna Roja (TR), Tuna Blanca (TB) y Tuna Amarilla (TA) (Figura 1) con medidas de 26 a 32 cm de ancho y de 30 a 44 cm de largo fueron colectados. También se tomó en cuenta al color típico y nivel de sanidad de los cladodios para evitar infecciones; después de cortar cada cladodio, el

instrumento de corte se desinfectó con alcohol. Los cladodios colectados se colocaron en cajas y se separaron para evitar contacto con las espinas y posible infección. Posteriormente, los cladodios se trasladaron a la Facultad de Agronomía, Campus Marín, donde se colocaron en anaqueles durante 15 días para cicatrizar la herida del corte.



Figura 1. Genotipos Tuna Amarilla (a), Blanca (b) y Roja (c).

3.3. Preparación de Inóculos

Las cepas de *Trichoderma harzianum* y *Glomus intraradices* usadas fueron aisladas a partir de productos comerciales desarrollados por el Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional, Campus Reynosa, Tamaulipas y del Campo Experimental General Terán (CEGET) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), respectivamente. Inicialmente se evaluó el número de esporas, por gramo de producto (harina de trigo para *Trichoderma* y arena para *Glomus intraradices*). En un tubo de ensayo se colocaron 9 ml de agua bidestilada y se agregó un gramo del producto comercial. Las esporas se contaron con base en el método propuesto por Porter (1979), que señala realizar una serie de

diluciones decimales, con la finalidad de obtener un eficiente conteo de esporas en suspensión utilizando una cámara de Neubauer. El conteo fue posible realizarlo en la segunda dilución (1:100).

La viabilidad de las esporas fue evaluada mediante la siembra en placas de agar de papa y dextrosa, e incubadas a 23°C durante un tiempo necesario para observar el crecimiento de las colonias (15 días). Posteriormente, se seleccionaron las cajas de agar que presentaban crecimiento vigoroso y sin contaminación de colonias ajenas. Una muestra de las esporas fue tomada para observarlas con un microscopio óptico (Zeiss, Modelo Standard 25-ICS) a 40X. La identificación microscópica de los hongos comerciales se llevó a cabo con el apoyo de las claves de Schenck y Pérez (1990), así como de las descripciones originales, propuestas por la International Collection of Vesicular and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2016).

La preparación de los inóculos se realizó en forma individual para cada cepa (*Glomus intraradices* y *Trichoderma harzianum*), se utilizaron 20 ml de una solución buffer de fosfatos estéril, se tomaron 2 ml y se depositaron sobre las colonias dentro de las cajas petri respectivas, con ayuda de una asa bacteriológica se extendió la solución, el líquido con las esporas removidas fue recuperado con una pipeta y depositado en el tubo con el resto de solución buffer (18 ml), 1 ml del preparado fue extraído para la cuantificación de esporas, para el conteo se utilizó la técnica de la cámara Neubauer. La observación se hizo en microscopio a 40X, siguiendo la metodología descrita por Colomé, *et al* (1986) (Concentración = Número de esporas x 5 x 10, 000 x dilución), Una vez conocida la cantidad de esporas por ml se realizaron las diluciones

convenientes hasta lograr una solución stock que nos permitiera usar una parte de inóculo por 9 de solución diluyente, es decir; preparar viales con 900 μl de buffer mas 100 μl del inóculo teniendo un total de 1 ml del preparado con una concentración de 2.6×10^6 esporas por ml (Figura 2).

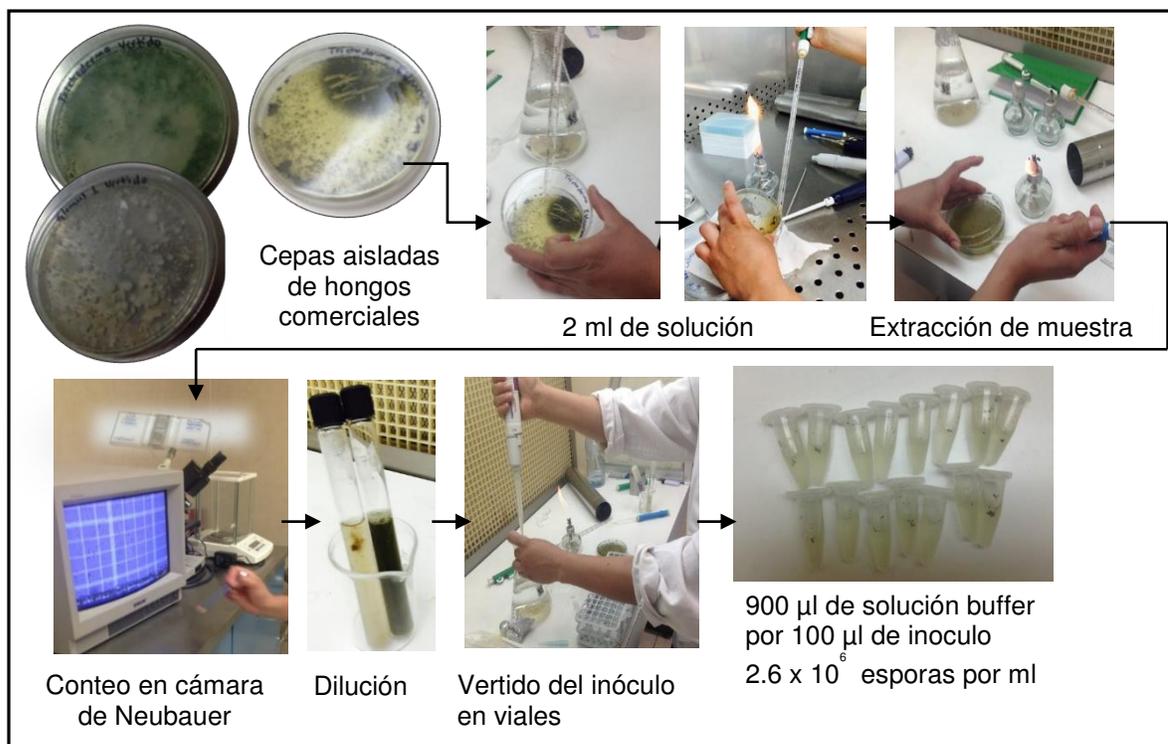


Figura 2. Procedimiento de la elaboración del inóculo de *Glomus intraradices* y *Trichoderma harzianum*.

3.4. Diseño Experimental

Los tratamientos se distribuyeron con base en un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. Así fue involucrado el arreglo factorial que considera tres genotipos (factor genotipo) y cuatro tipos de suelos (con y sin inóculo) dando un total de doce tratamientos (Cuadro 2). El total de unidades experimentales fue 48. La Figura 3 muestra el croquis de campo y la distribución de los tratamientos.

La plantación de los cladodios se realizó el 18 de febrero del 2016 en macetas de plástico con 19 kg de suelo procedente del Banco de Germoplasma de Nopal de la Facultad de Agronomía, Campus Marín, así como de la Ascensión, Nuevo León. La unidad experimental correspondió a una maceta.

Cuadro 2. Descripción de los tratamientos utilizados de acuerdo al genotipo y suelo.

Tratamiento	Factor Genotipo	Factor Suelo (con o sin inóculo)
1	Tuna Amarilla (TA)	Suelo Marín + <i>Glomus intraradices</i> (SMGi)
2		Suelo Marín + <i>Trichoderma harzianum</i> (SMTh)
3		Suelo La Ascensión (SA)
4		Suelo Marín (SM)
5	Tuna Blanca (TB)	Suelo Marín + <i>Glomus intraradices</i> (SMGi)
6		Suelo Marín + <i>Trichoderma harzianum</i> (SMTh)
7		Suelo La Ascensión (SA)
8		Suelo Marín (SM)
9	Tuna Roja (TR)	Suelo Marín + <i>Glomus intraradices</i> (SMGi)
10		Suelo Marín + <i>Trichoderma harzianum</i> (SMTh)
11		Suelo La Ascensión (SA)
12		Suelo Marín (SM)

Bloque o Repetición	Tratamientos											
I	T2	T7	T11	T4	T8	T1	T6	T9	T5	T12	T3	T10
II	T3	T6	T9	T8	T2	T5	T12	T7	T4	T10	T1	T11
III	T1	T5	T10	T3	T7	T11	T4	T8	T9	T2	T12	T6
IV	T12	T4	T6	T9	T10	T3	T8	T1	T7	T11	T5	T2

Figura 3. Croquis mostrando la distribución de los tratamientos en el campo.

3.5. Esterilización de Suelo

El suelo proveniente de Marín correspondiente a los tratamientos que involucraron cepas de *Glomus intraradices* y *Trichoderma harzianum* fue esterilizado. Este procedimiento se realizó con la finalidad de exterminar microorganismos que pudieran afectar a los hongos involucrados en los tratamientos. Para la esterilización se utilizó un contenedor metálico de 100 L. El contenedor se colocó sobre un mechero y se cubrió con una tapa metálica hasta lograr una temperatura de 120°C. La temperatura se midió con un termómetro marca Taylor con un rango de -10 a 400°C. El supuesto es que no existe presencia de esporas en estado latente a esa temperatura (Sagardoy y Mandolesi, 2004). Para homogeneizar la temperatura, el suelo se mezcló cada 40 min.

3.6. Plantación e Inoculación

Largo, ancho, grosor y peso de los cladodios fueron registrados con la finalidad de tener homogeneidad en las repeticiones. La inoculación se realizó al momento de la plantación de los cladodios. Para la inoculación se utilizó un vial de 1 ml con los

preparados de los inóculos. Éste se incorporó a una probeta con 29 ml de agua obteniendo un total 30 ml (1+29 ml) del inóculo para cada uno de los hongos. Dicha cantidad se aplicó en el suelo al abrir un espacio en el centro de la maceta; también se aplicó inóculo en ambas caras inferiores del cladodio. Luego, el cladodio se plantó cubriendo con suelo. De esta forma, el sobrenadante quedó dentro de la maceta para asegurar que la dosis fuese la misma en cada uno de los tratamientos (Figura 4).

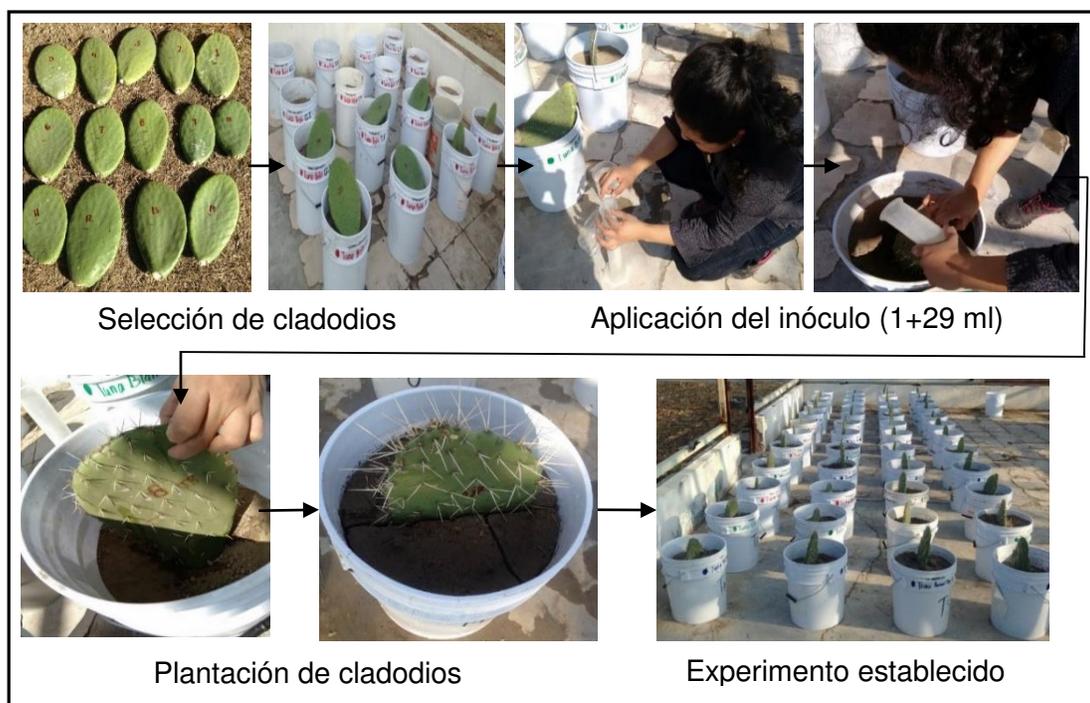


Figura 4. Procesos de selección, inoculación y plantación de los cladodios.

3.7. Agua de Riego Utilizada en el Experimento

El agua utilizada para el riego se analizó con la finalidad de tener un control de los minerales que se aportaban al cultivo. Como agua de riego inicial se utilizó la de los pozos profundos de la Facultad de Agronomía, Campus Marín, la cual se aplicó al

cultivo por un periodo de 30 días; sin embargo, por su salinidad no es recomendable para el cultivo; entonces se decidió cambiarla por el agua potable de la ciudad de Marín, N.L. El Cuadro 3 presenta los resultados de los análisis. De acuerdo a los análisis efectuados, el agua potable de Marín tiene un pH ligeramente ácido y una conductividad eléctrica de 730 μS lo que la hace más adecuada para el riego que el agua del Campus Marín.

Cuadro 3. Análisis del agua de riego.

Variables	Campus Marín	Agua potable de Marín
CE a 25° C $\mu\text{S cm}^{-1}$	2 710	730
pH	7.4	6.9
Ca ²⁺ (meq/l)	10.5	5.7
Mg ²⁺ (meq/l)	5	1.9
Na ⁺ (meq/l)	11.6	0
Σ de cationes (meq/l)	27.1	7.6
CO ₃ ²⁻ (meq/l)	0	0
HCO ₃ ⁻ (meq/l)	7.3	6
Cl ⁻ (meq/l)	9.75	1.25
SO ₄ ²⁻ (meq/l)	10.05	7.3
Σ de aniones en (meq/l)	27.1	7.6
SE (meq/l)	16.6	1.6
SP (meq/l)	15	1.275
RAS (meq/l)	4.16	0
CSR (meq/l)	-8.2	0
PSP	69.87	0
Clasificación	C4 S1	C2 S1

3.8. Variables

3.8.1. Número de brotes

Los datos fueron tomados a partir del desarrollo del primer brote en maceta, iniciando el 11 de marzo 2016. A partir del primer brote se contaron los brotes que desarrollaba la planta cada mes hasta el 11 de julio del 2016. Los brotes se presentaron en todas

las unidades experimentales. El número de brotes final se contabilizó hasta seis meses de establecido el experimento.

3.8.2. Biomasa fresca y seca de cladodio y raíz

Muestras de cladodios y raíz se tomaron de las unidades experimentales. Esos órganos se lavaron. Posteriormente se pesaron y fueron secados en estufa a 60°C. Después de estar 3 días en estufa, las muestras se extrajeron y se pesaron nuevamente para determinar el peso seco. El peso fresco de biomasa de cladodio representa el total de cladodios producidos en el período de evaluación.

3.8.3. Análisis químico de suelos

Las propiedades físicas y químicas de los suelos fueron determinadas al inicio y a los seis meses de establecido el experimento con la finalidad de conocer los cambios. Las muestras de suelo fueron colectadas en La Ascensión y en Marín Nuevo León (estéril y sin esterilizar). Esas muestras se analizaron para determinar: porcentaje de materia orgánica por el método de Walkley y Black (1934); conductividad eléctrica con conductímetro; porcentajes de arcilla, arena y limo con el hidrómetro de Boyocus; concentración de N total con el método de Kjeldahl; P con el método de Bray I; K con el método de Olsen Modificado; y pH con el potenciómetro.

3.8.4. Análisis químico de los genotipos tuneros

Una muestra de los genotipos de nopal colectados fue analizada para determinar el nivel de nutrientes de los genotipos al inicio del experimento. A seis meses de establecido el experimento se tomó una muestra final en cada unidad experimental.

El muestreo consistió en tomar un cladodio hijo representativo que permitiera tener un mínimo de 2 gr de materia seca o 100 gr de materia fresca de nopal, a los cuales se les realizaron cortes para ser posteriormente ser secados en estufa durante cuatro días a 60 °C. Al término del secado, las muestras fueron molidas para el análisis.

Las determinaciones de las concentraciones de P, K, Ca y Mg se llevaron a cabo después del proceso de digestión ácida de las muestras deshidratadas. El contenido de N se determinó por el método Kjeldahl; el P por fotolorimetría con amarillo vanadato molibdato utilizando un fotoespectrómetro óptico (Termo Spectronic, modelo Helios Epsilon, USA); K, Ca y Mg con espectrofotómetro de absorción atómica (UNICAM Solar modelo 9626). Por lo tanto, los contenidos nutrimentales en planta iniciales y finales fueron registrados.

3.8.5. Determinación del porcentaje de colonización micorrízica

Las raíces se analizaron utilizando la técnica de tinción de Phillips y Hayman (1970) mediante el clareo con KOH (hidróxido de potasio) al 10%, blanqueo con peróxido de hidrógeno al 10%, acidificación con HCl (ácido clorhídrico) al 10% y tinción de raíces con una solución colorante de azul tripano al 0.05%. El colorante se eliminó y se dejaron las raíces en una solución de lactoglicerol. Una vez teñidas, las raíces cortaron se en segmentos y se montaron en laminillas utilizando lactoglicerol como líquido de

montaje. Las raíces se observaron con microscopio óptico a 40X de aumento y la frecuencia de las estructuras fúngicas en las células corticales y segmentos de raíces no colonizadas fue registrada (Figura 5). La determinación del porcentaje de colonización micorrízica se realizó de acuerdo con el método de Phillips y Hayman (1970) estimado con base en el conteo de segmentos radiculares colonizados por las estructuras fúngicas divididos entre el total de segmentos observados.

$(\text{Número de raíces infectadas} / \text{Número de raíces observadas}) * 100 = \% \text{ de extensión de raíces infectadas}$

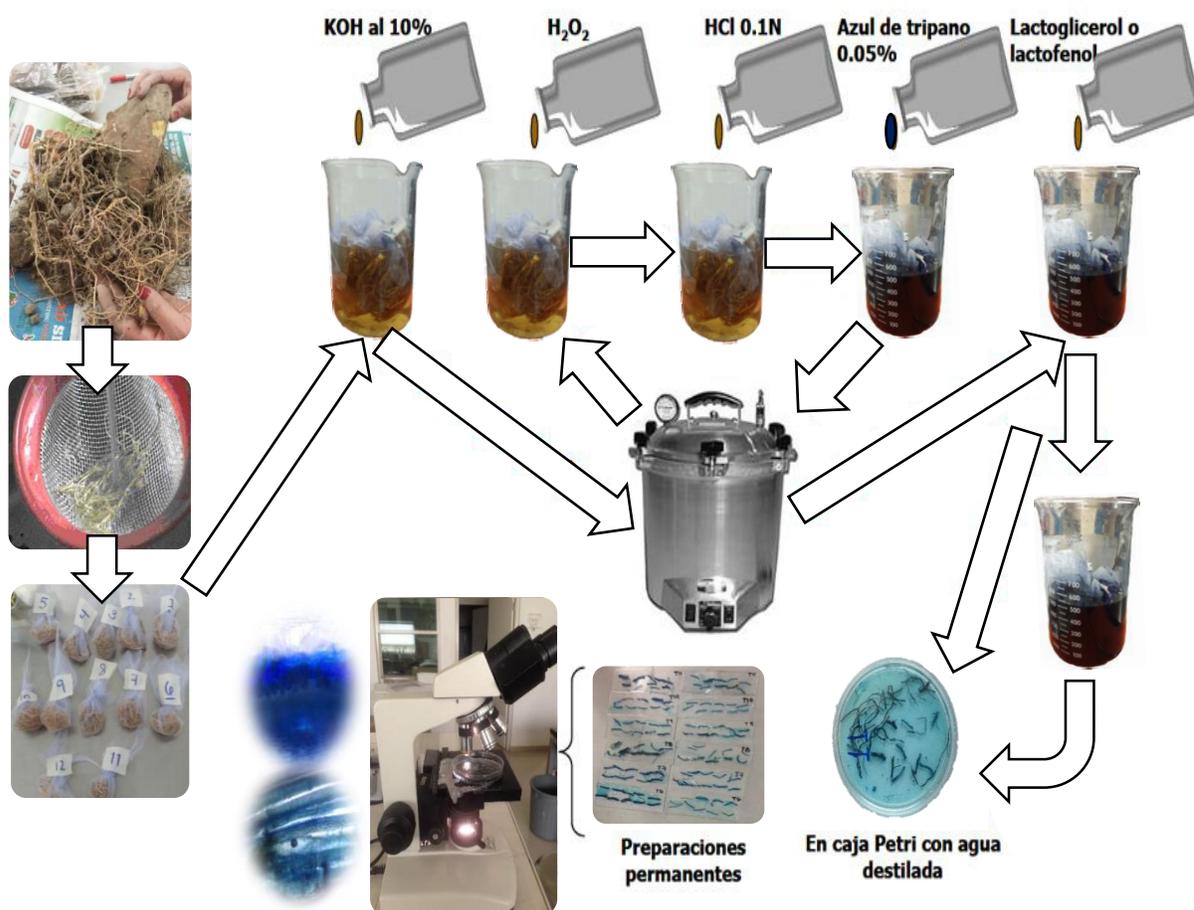


Figura 5. Proceso de tinción de raíz con el método de Phillips y Hayman (1970).

3.9. Unidades Formadoras de Colonias en Suelo (UFC)

Después de seis meses, tiempo determinado para el desarrollo de las plantas y la simbiosis con los hongos, se tomaron muestras de suelo para estimar el número de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (UFC g⁻¹). Para ello, la dilución y siembra se hicieron en placa utilizando como medio de cultivo PDA para el crecimiento de hongos. Los conteos se realizaron a las 96 horas después de la siembra. Mediante el procedimiento de dilución seriada para conteo de esporas se encontró que la dilución de 10⁻⁶ fue la más adecuada para el conteo de UFC, sembrando tres repeticiones por muestra (Figura 6).

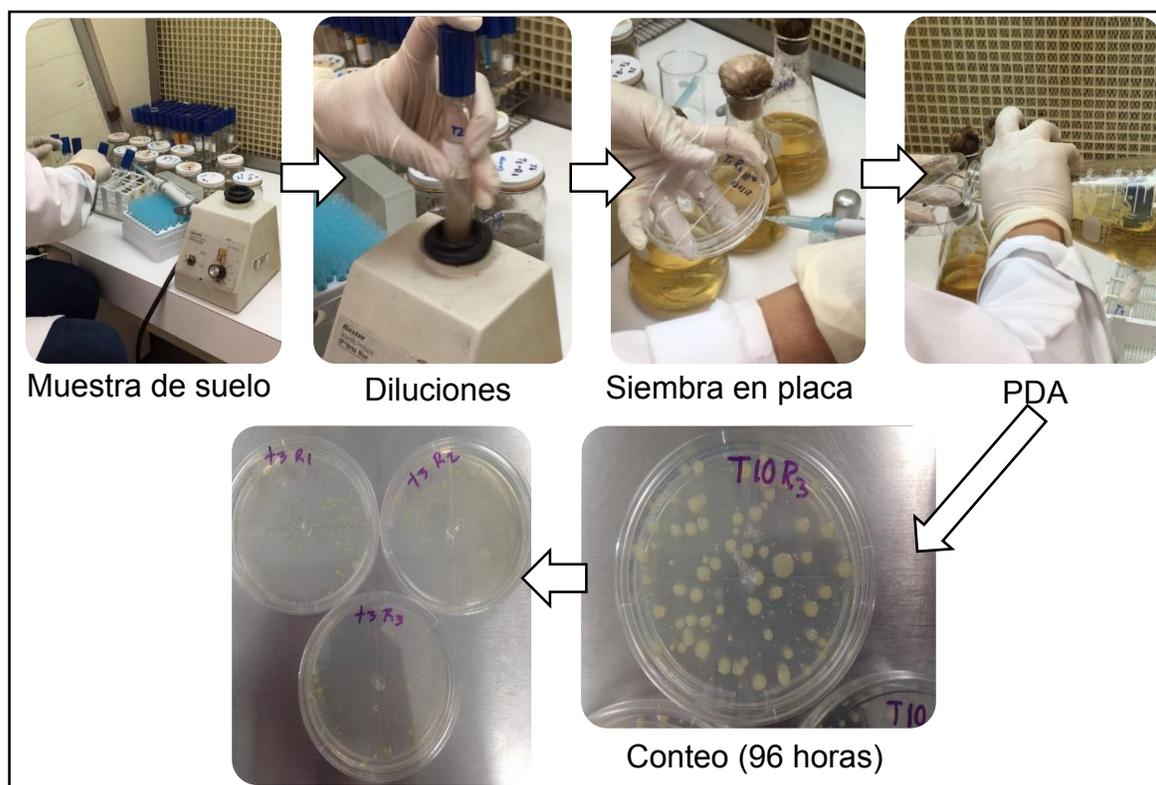


Figura 6. Metodología para el conteo de unidades formadoras de colonias en suelo

3.10. Análisis Estadístico

Los datos se sometieron a análisis de varianza (ANVA) para determinar si hubo efectos significativos de los factores genotipo y suelo. La comparación de medias de tratamientos se hizo al considerar los niveles de significancia 1 y 5% por medio de la prueba de Tukey. Los datos se analizaron con el programa Minitab17.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Número de brotes mensual

El ANVA para número de brotes mensual reveló diferencias significativas entre los niveles de los factores involucrados (Cuadro 4); la interacción entre factores mostró diferencia no significativa, por lo que se procedió a hacer la comparación de las medias de los niveles de los factores principales (suelo y genotipo).

En lo que respecta al factor suelo, durante el primer mes (marzo) del cultivo se presentaron diferencias no significativas; sin embargo, a partir del mes de abril el número de brotes aumento, siendo ello más notorio en suelos que involucraron inóculo. SMTh tuvo la media mayor (3.41); no obstante, el número de brotes correspondiente a SMGi fue estadísticamente similar (3.00). La comparación de medias indica que el efecto de SA sin inóculo es no diferente al de SMGi. El tratamiento con menor número de brotes se asocia a SM.

En los meses de mayo y junio, el número mayor de brotes corresponde a SMGi y SMTh y el menor a SA y SM; cabe destacar que, en el mes de mayo, el número mayor de brotes corresponde a SMGi y SMTh; sin embargo, en el mes de junio la media mayor corresponde a SMGi.

En julio y agosto, a SM con los inóculos (SMGi y SMTh) y SA se asocian efectos mayores sobre número de brotes que al de SM ($p \leq 0.05$). Diversos estudios han descrito los efectos benéficos que tiene la inoculación en algunos cultivos y árboles forestales con HMA al propiciar un mayor crecimiento de las plantas (Campos *et al.*, 2010; Cobb *et al.*, 2016;

Koegel *et al.*, 2015; Retama *et al.*, 2017). Los resultados demuestran que es posible una sinergia entre los HMA y el cultivo de nopal tunero. Por otra parte, el efecto de *Trichoderma harzianum* como promotor de crecimiento es evidente, lo cual ha sido descrito por Ageeb y Mohamed. (2014) en maíz, Mesa *et al.* (2006) en papaya, Buysens *et al.* (2016) en papa.

En cuanto al factor genotipo, el primer mes mostró diferencias estadísticamente no significativas, i. e., los tres genotipos tuvieron número de brotes no diferente. Sin embargo, a partir de abril, el genotipo Tuna Roja mostró un mayor número de brotes en forma progresiva hasta el mes de agosto. Es importante considerar que la cantidad de brotes que se desarrollan en los genotipos está vinculado a sus características o atributos físicos, es decir, genotipos con cladodios de tamaños mayores generan menor número de brotes que genotipos con cladodios pequeños. El genotipo Tuna Roja posee cladodios con longitud (largo) no mayor a 32 cm a diferencia del genotipo Tuna Blanca que tiene un tamaño medio, alcanzando un largo de 36 cm y Tuna Amarilla cuyos cladodios pueden tener hasta 44 cm de largo. Es por ello que la variación del número de brotes estará en función del genotipo; sin embargo, cada genotipo en suelo sin inóculo no desarrolló el mismo número de brotes que cuando se adicionaron hongos.

Cuadro 4. Número de brotes asociado a los factores y sus niveles y a los meses de estudio.

†Fuente de variación	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto
Factor Suelo						
SMGi	0.00 a	3.00 ab	3.75 a	5.83 a	6.66 a	6.66 a
SMTh	0.08 a	3.41 a	3.75 a	5.25 a	5.75 ab	6.16 ab
SA	0.08 a	2.25 bc	2.33 b	3.16 b	4.66 b	5.16 b
SM	0.25 a	1.75 c	2.08 b	2.16 b	2.16 b	2.58 c
Factor Genotipo						
TA	0.18 a	2.18 b	2.43 b	3.75 b	4.56 b	4.62 b
TB	0.06 a	2.18 b	2.56 b	3.37 b	3.81 b	4.12 b
TR	0.06 a	3.43 a	3.93 a	5.18 a	6.06 a	6.68 a
P						
Factor Suelo	0.252	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Factor Genotipo	0.417	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

†SMGi= Suelo de Marín + *Glomus intraradices*, SMTh= Suelo de Marín + *Trichoderma harzianum*, SA= Suelo La Ascensión, SM= Suelo Marín, TA= Tuna Amarilla, TB= Tuna Blanca, TR= Tuna Roja. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

4.2. Biomasa Fresca y Seca de Cladodio y Raíz

4.2.1. Biomasa fresca de cladodio

El análisis de varianza reveló diferencias significativas asociadas a los factores suelo y genotipo. Los suelos con inóculo SMGi, SMTh y SA presentaron mayor biomasa fresca de cladodio que el SM sin inóculo (Tukey $p < 0.05$; Figura 7). Por otra parte, los rendimientos totales por planta asociados a SMGi, SMTh, SA y SM fueron 4.48, 4.32, 3.96, 2.72 kg, respectivamente. Transformados a Kg/ha serían: SMGi, 156.8 t/ha; SMTh, 151.2 t/ha; SA, 138.6 t/ha; y SM, 95.2 t/ha; lo cual se considera en un explotación comercial de 35,000 plantas/ha, esto representa una biomasa sumamente importante y trascendente si fuera para producción de nopalitos o plantas vigorosas para la producción de tunas. Estos resultados sustentan lo descrito por Ahmed y Upadhyay (2011), quienes

señalaron que *Glomus intraradices* y *Trichoderma harzianum* pueden utilizarse como alternativa para aumentar el rendimiento.

En cuanto a los genotipos de nopal tunero se presentó mayor biomasa fresca en TB y TR. El genotipo que obtuvo menor biomasa fresca fue TA (Figura 8). Estos resultados pueden estar vinculados a la poca generación de brotes en el genotipo TA, pero también a la cantidad de agua que es absorbida por la planta. El tamaño de cladodio podría haber influenciado la cantidad de biomasa fresca producida.

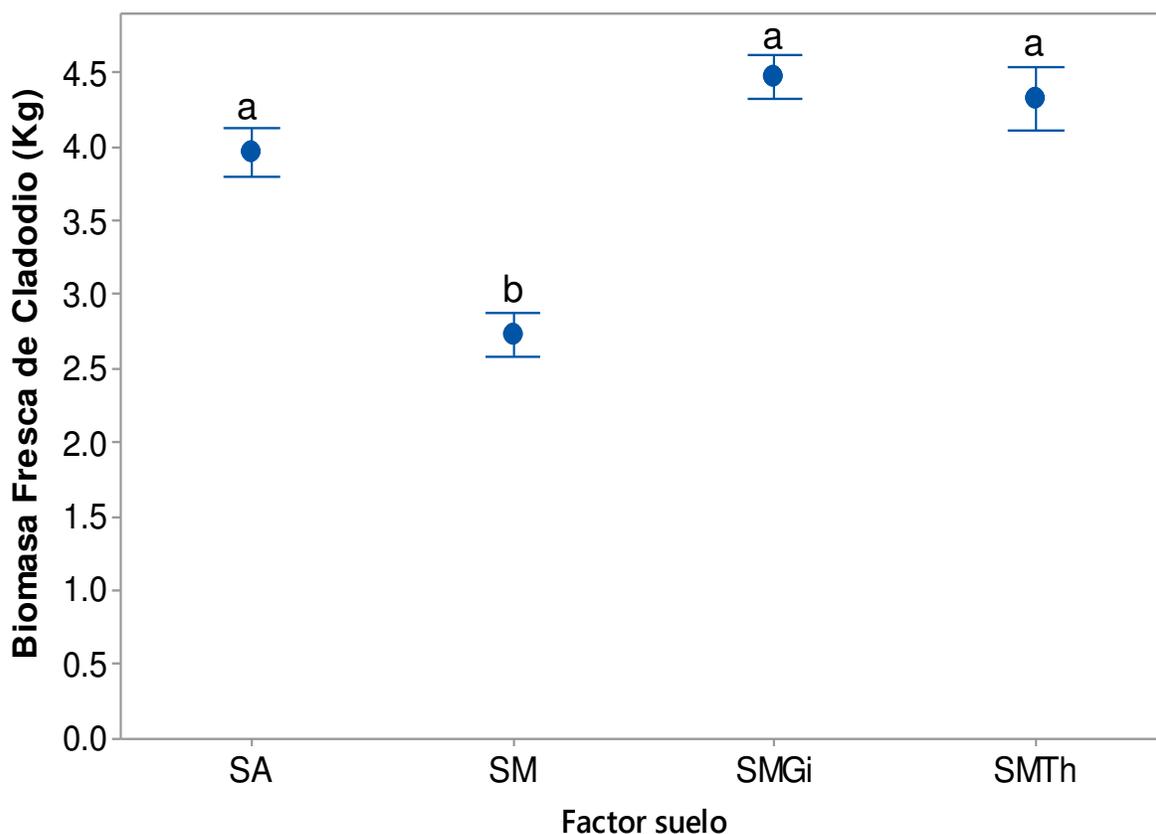


Figura 7. Comparación de medias de biomasa fresca de cladodio para niveles del factor suelo, SMGi=Suelo Marín+*Glomus intraradices*, SMTh=Suelo Marín+*Trichoderma harzianum*, SA=Suelo La Ascensión, SM=Suelo Marín. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferente.

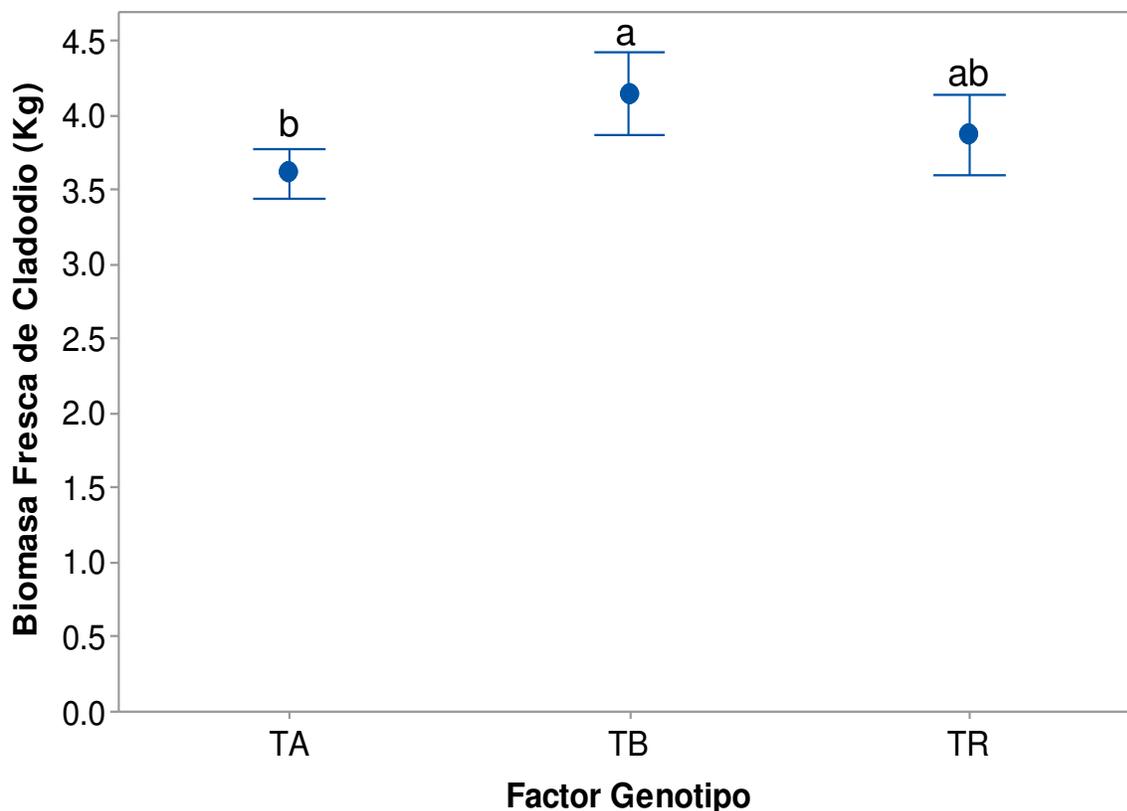


Figura 8. Comparación de medias biomasa fresca de cladodio para niveles del factor genotipo. TA=Tuna Amarilla, TB=Tuna Blanca, TR=Tuna Roja. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

4.2.2. Biomasa seca de cladodio

En cuanto a biomasa seca de cladodios, los genotipos presentaron diferencias estadísticamente no significativas (Cuadro 5). Al secar los cladodios, el peso de la biomasa seca de TR fue no diferente a los de los genotipos de mayor tamaño (TA y TB), a pesar de que TR tuvo un número de brotes mayor. Además, la retención de agua por los genotipos puede apreciarse debido a que la biomasa fresca de cladodios de los genotipos de TR y TB presentó pesos mayores y, al ser secados, la media con el valor mayor corresponde al genotipo TA. Por lo tanto, se deduce que la cantidad de agua en los cladodios de este genotipo (TA) es menor que la de TR y TB.

Cuadro 5. Medias de biomasa seca de cladodios.

†Fuente de variación	gr/ biomasa seca
Factor Suelo	
SMGi	337.8 a
SMTh	322.6 a
SA	371.0 a
SM	333.6 a
Factor Genotipo	
TA	367.1 a
TB	327.3 a
TR	329.4 a
p	
Factor Suelo	0.475
Factor Genotipo	0.284

†SMGi= Suelo de Marín + *Glomus intraradices*, SMTh= Suelo de Marín + *Trichoderma harzianum*, SA= Suelo La Ascensión, SM= Suelo Marín, TA= Tuna Amarilla, TB= Tuna Blanca, TR= Tuna Roja. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

4.2.3. Biomasa fresca de raíz

El ANVA de peso fresco de raíz indica diferencias significativas entre niveles de los factores genotipo y suelo. Con respecto al factor genotipo, Tuna Roja y Tuna Blanca desarrollaron más biomasa fresca de raíz que el genotipo Tuna Amarilla. Sin embargo, Tuna Amarilla y Tuna Blanca fueron no diferentes (Figura 9).

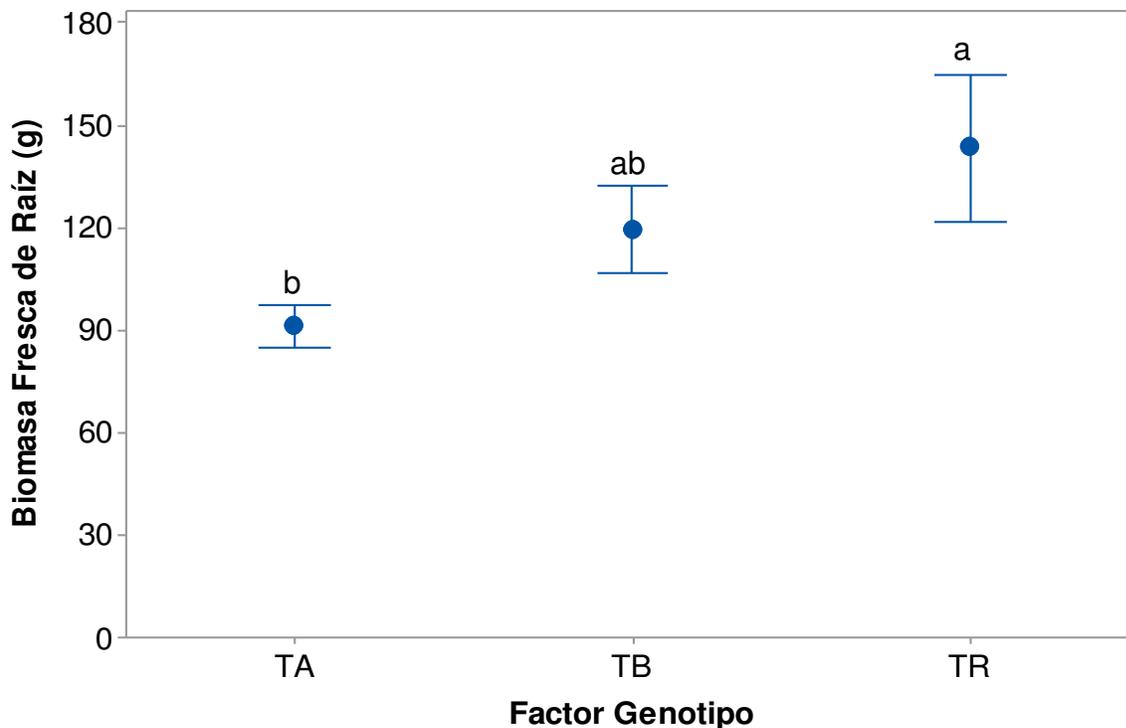


Figura 9. Comparación de medias de Biomasa fresca de raíz entre niveles del factor genotipo. TA=Tuna Amarilla, TB=Tuna Blanca, TR=Tuna Roja. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Al factor suelo con inóculo (SMGi y SMTh) corresponden los valores mayores de biomasa de raíz (Figura 10); esto puede ser debido a la acción de los hongos en el desarrollo radicular. Las cepas de microorganismos colonizan las raíces e inducen cambios en los proteomas de los brotes (Shoresh *et al.*, 2010). La relación simbiótica planta-hongo es fisicoquímica porque hay penetración y colonización en la raíz de la planta (Harman *et al.*, 2004b), mayor solubilidad de los nutrientes y aumento en el desarrollo radicular.

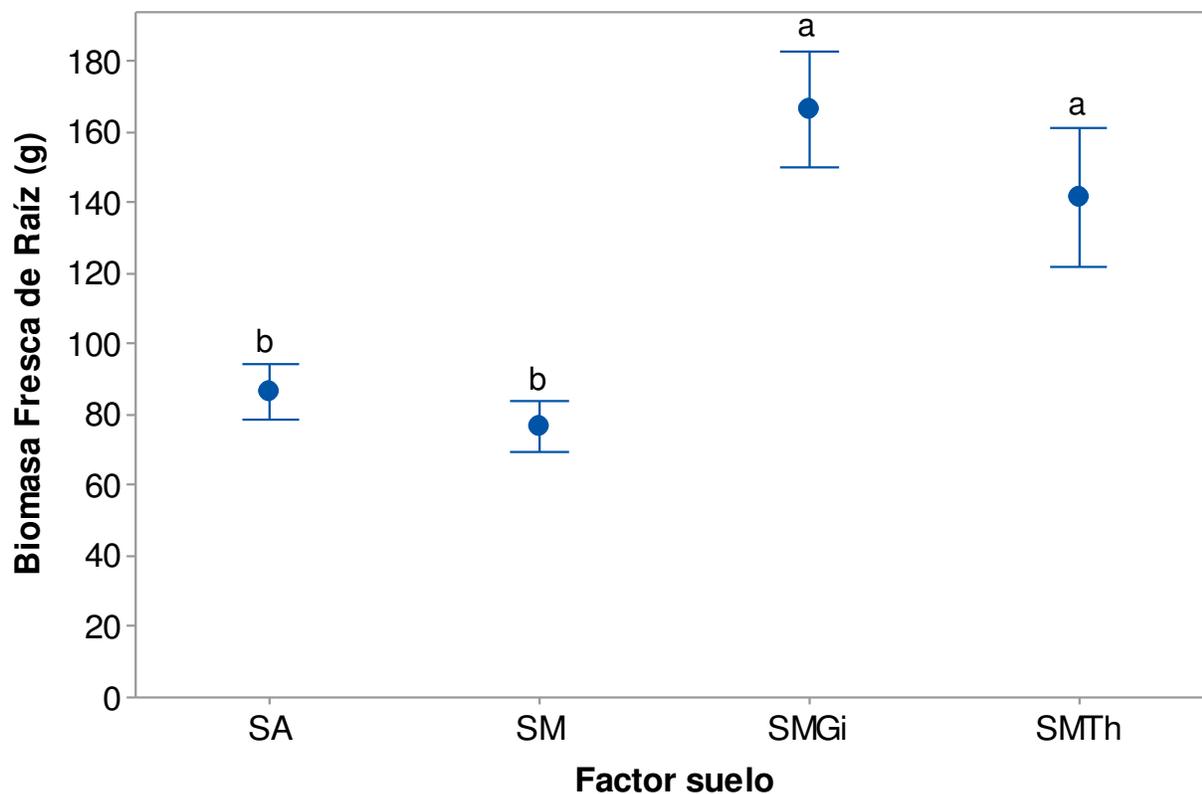


Figura 10 Comparación de medias de peso fresco de raíz entre niveles del factor suelo. SMGi=Suelo Marín+*Glomus intraradices*, SMTh=Suelo Marín+*Trichoderma harzianum*, SA=Suelo La Ascensión, SM=Suelo Marín. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

4.2.4. Biomasa seca de raíz

Los resultados del ANVA al considerar la biomasa seca de raíz son parecidos a los obtenidos con peso fresco de raíz. A SMGi y SMTh corresponden los valores mayores de biomasa seca de raíz (Figura 11). Esta respuesta puede ser explicada porque las hifas de hongos micorrízicos arbusculares asociados con las raíces de las plantas pueden extender el alcance de los sistemas radiculares y aumentar el acceso a recursos que limitan el crecimiento; entonces, la cantidad de biomasa de hifas producida por los hongos AM puede ser sustancial (Miller et al., 1995). El que a TA se asocie la cantidad menor de biomasa radical se puede explicar como una falta de sinergia entre hongo y raíz.

El genotipo que expresó el mayor desarrollo radicular fue TR (46.28gr), seguido del genotipo TB (42.50 gr). El desarrollo de raíz del genotipo TA (37.5 gr) fue estadísticamente no diferente al de TB (Figura 12).

La cantidad de raíz producida por la planta depende en gran medida del genotipo y de sus características. Aunado a ello, Puga-Freitas y Blouin (2015) describen que el desarrollo de la planta no depende de la compatibilidad entre hongos y vegetal, sino de la señalización hormonal emitida por el vegetal.

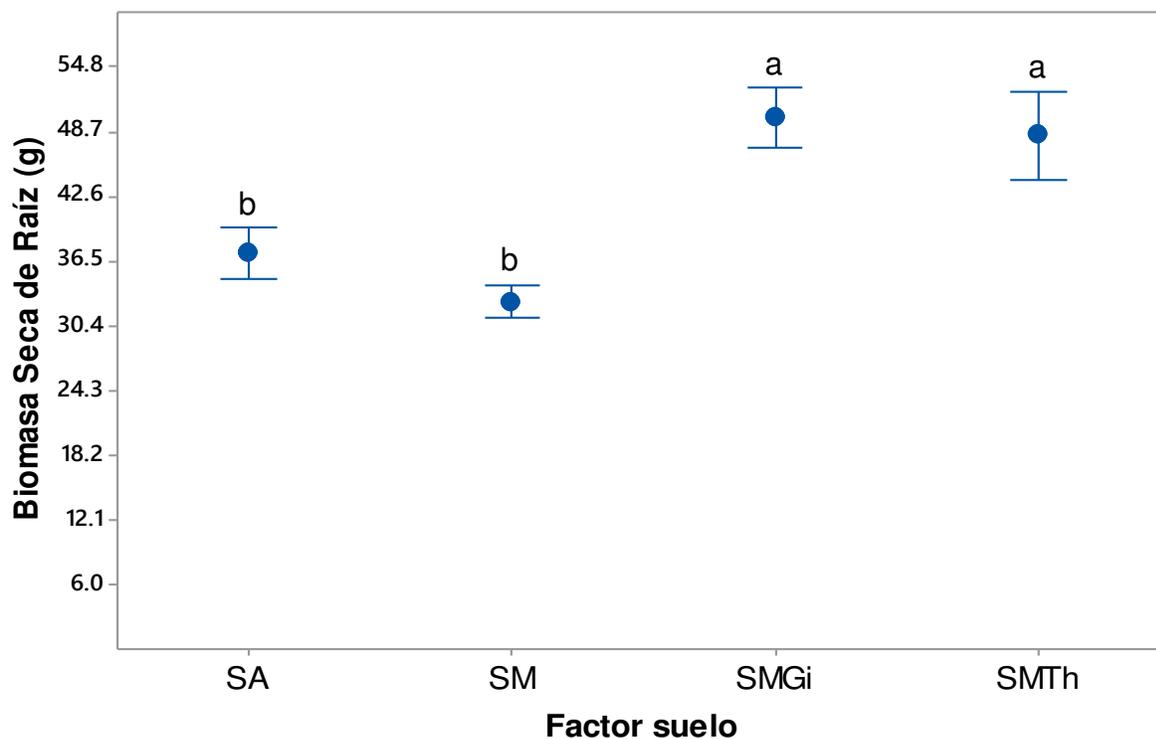


Figura 11. Comparación de medias de biomasa seca de raíz entre niveles del factor suelo. SMGi=Suelo Marín+*Glomus intraradices*, SMTh=Suelo Marín+*Trichoderma harzianum*, SA=Suelo La Ascensión, SM=Suelo Marín. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

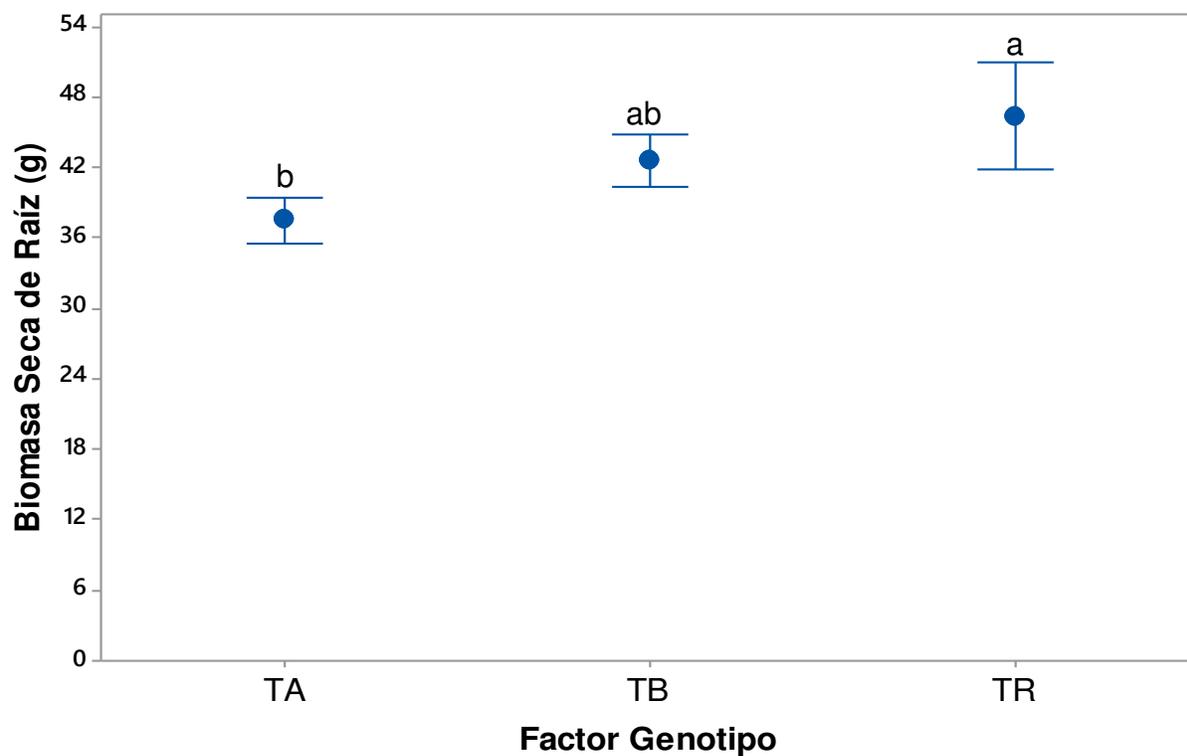


Figura 12. Comparación de medias de biomasa seca de raíz entre niveles del factor genotipo. TA=Tuna Amarilla, TB=Tuna Blanca, TR=Tuna Roja. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

4.2.5. Efecto de los tratamientos en desarrollo de planta

El efecto de los tratamientos con inóculo (SMGi y SMTh) en SM se expresó en mayor número de brotes y abundante desarrollo radicular; además, plantas más sanas se asociaron con la aplicación de *Trichoderma harzianum*. La Figura 13 corresponde al genotipo TA con los distintos tratamientos. Este genotipo tiende a desarrollar cladodios de mayor tamaño que los genotipos TB y TR.

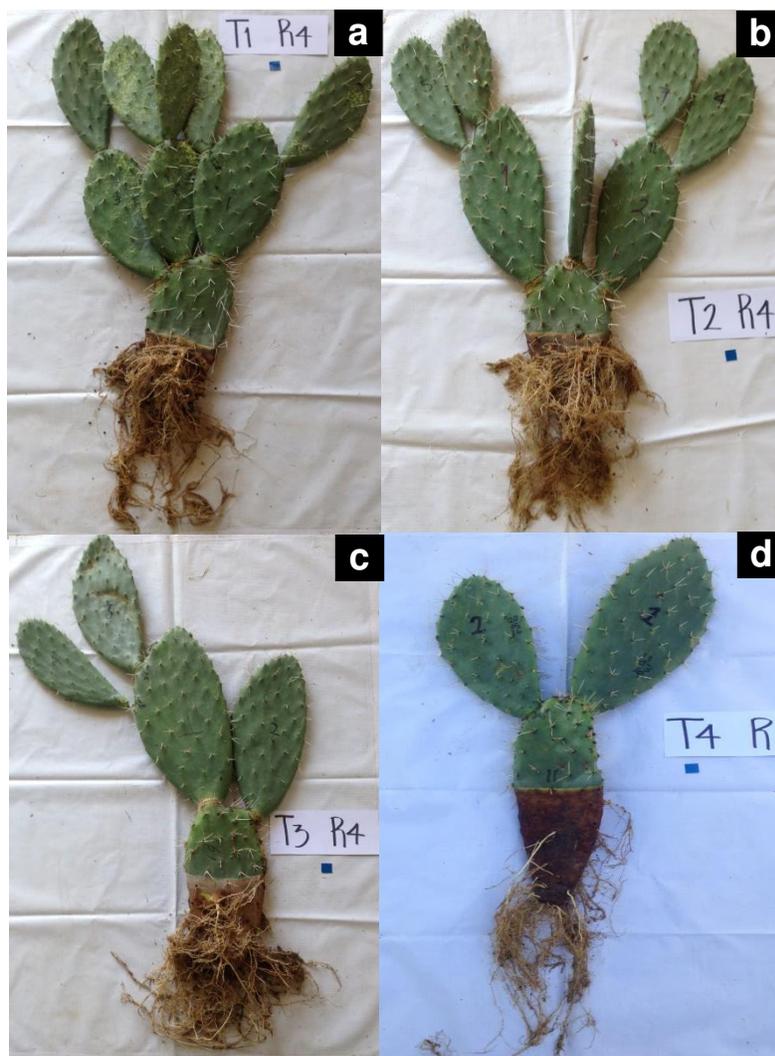


Figura 13. Efecto visual de tratamientos con inóculo SMGi (a) SMTh (b) y sin inóculo SA (c) y SM (d) en el genotipo Tuna Amarilla.

SMGi tuvo un efecto positivo en el genotipo Tuna Blanca; las plantas inoculadas con Gi fueron capaces de generar el mayor número de brotes y un aumento en el desarrollo radicular. Esto pudiera deberse a la selección ejercida por el hongo sobre la raíz y exudados emitidos, ya que de esto dependerá la sinergia entre planta-hongo. En SA y SM se aprecian plantas con un desarrollo radicular escaso (Figura 14).

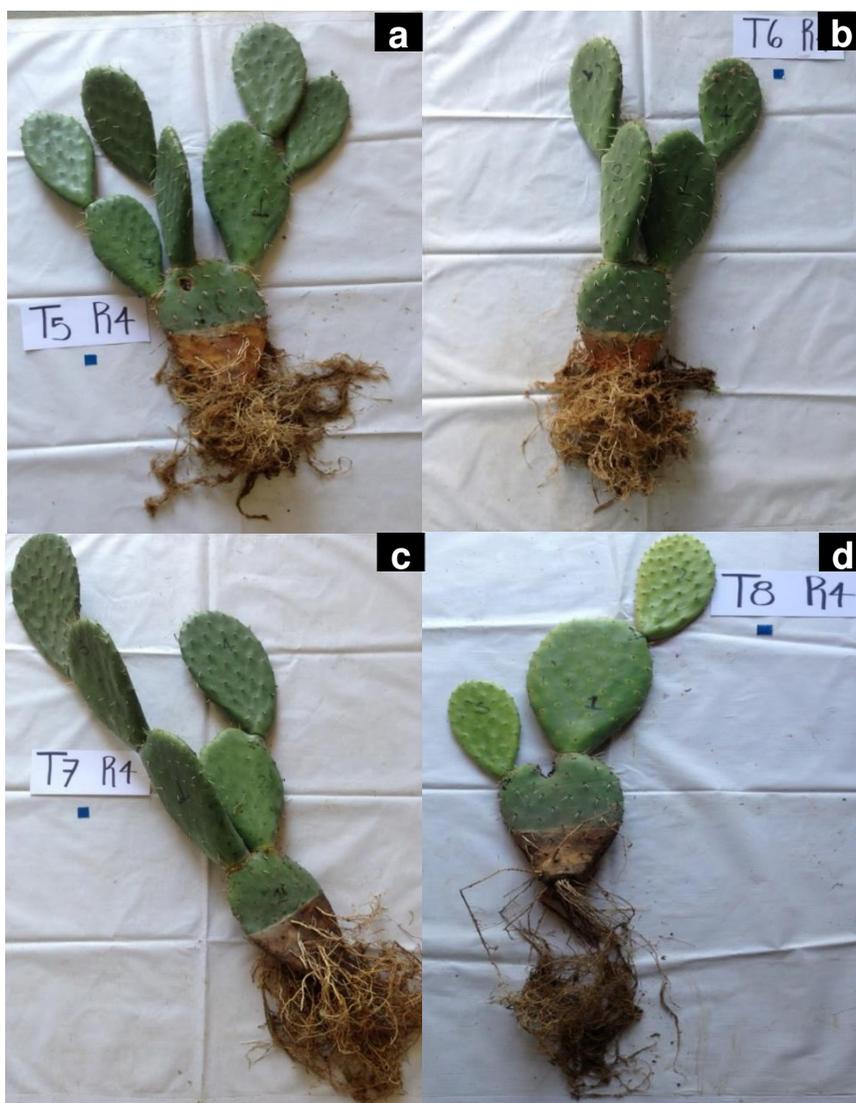


Figura 14. Efecto visual de tratamientos con inóculo SMGi (a) SMTh (b) y sin inóculo SA (c) y SM (d) en el genotipo Tuna Blanca.

En el genotipo de Tuna Roja se dio el valor mayor de número de brotes, así como el mayor desarrollo radicular. En las imágenes se puede apreciar que los tratamientos que involucraron hongos propiciaron plantas más vigorosas con raíz abundante, lo cual pudo haber provisto mayor anclaje, suministro de agua y nutrimentos del suelo. Al SA se asoció una respuesta favorable en cuanto a la generación de brotes; sin embargo, la raíz en este caso no fue tan abundante. A SM se asociaron las plantas con menor número de brotes y mayor incidencia de enfermedades (Figura 15).

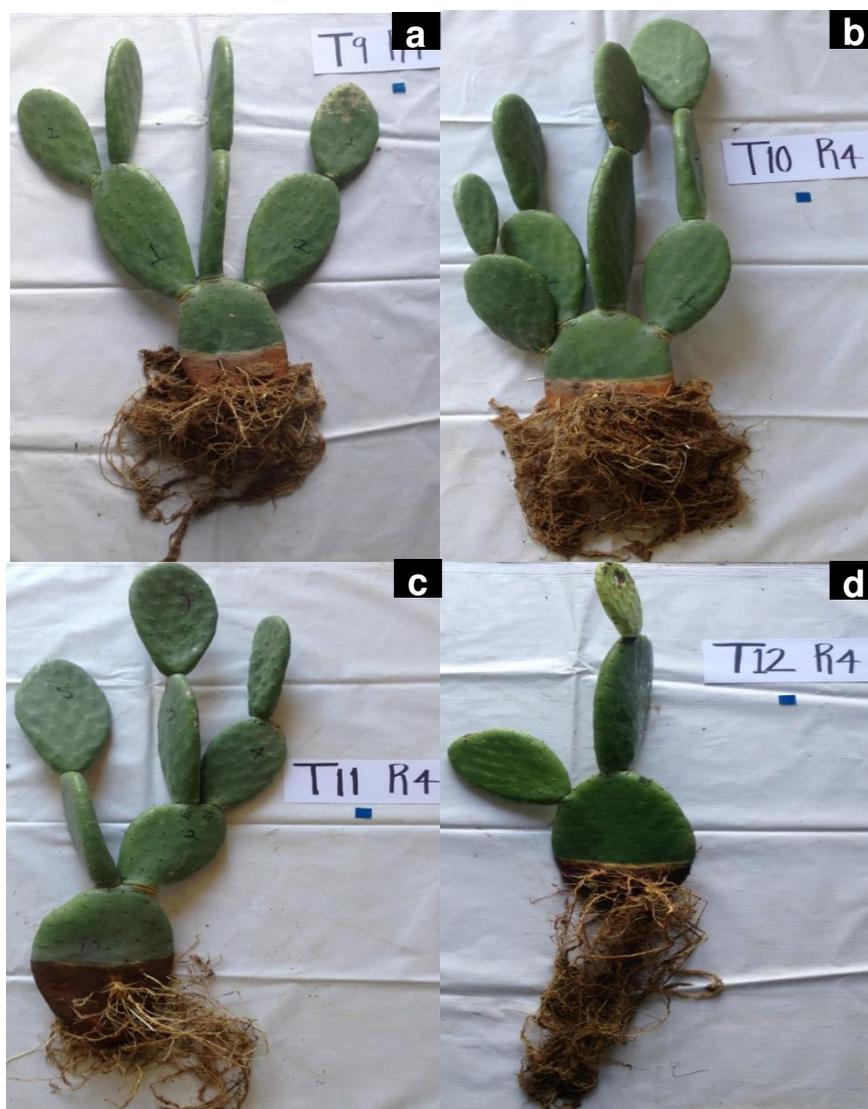


Figura 15. Efecto visual de tratamientos con inóculo SMGi (a) SMTh (b) y sin inóculo SA (c) y SM (d) en el genotipo Tuna Roja.

4.3. Análisis Físicoquímico de Suelo

4.3.1. Análisis inicial de suelo

Los resultados del análisis inicial de suelo sugieren cambios físicos y químicos en el que se esterilizó; i.e. menos N, Mg y M.O., así como más P y K (Cuadro 6). Los valores de N, P, K, Ca y M.O. son mayores en el suelo de La Ascensión que en el Suelo del Campus Marín; cabe destacar que el suelo de La Ascensión suelo ha sido perturbado mínimamente y está destinado al cultivo de nopal tunero, por tal razón mantiene los mejores niveles de fertilidad, en especial la materia orgánica le ha permitido incrementar su contenido de N. Por otra parte, los suelos esterilizados presentaron los menores porcentajes de N total (0.105 a 0.057%). Los análisis de textura de los suelos usados en el experimento se presentan en el Cuadro 7.

Cuadro 6. Principales propiedades químicas de los suelos usados en el experimento.

Suelo	N† (%)	P (%)	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	pH	C.E. (dS)	M.O. (%)
SM E1	0.057	0.0052	0.570	7.486	0.256	8.5	1.24	0.088
SM E2	0.057	0.0052	0.570	7.486	0.256	8.5	1.24	0.088
SA	0.235	0.0087	1.604	7.586	0.175	8.3	0.66	4.761
SM	0.105	0.0018	0.439	7.486	0.422	8.2	0.84	1.932

†N=Nitrógeno, P=Fósforo, K= Potasio, Ca= Calcio, Mg=Magnesio, C.E. = Conductividad Eléctrica, M.O.= Materia Orgánica.

Cuadro 7. Textura y color de los suelos empleados en el experimento.

Tratamiento	% Arena	% Arcilla	% Limo	Color
SM E1	33.12	37.24	29.64	10YR 4/1
SM E2	33.12	37.24	29.64	10YR 4/1
SA	23.12	39.24	37.64	10YR 6/2
SM	19.12	46.24	36.24	10YR 5/2

4.3.2. Análisis final de suelo

Los resultados de suelo final para los minerales N, K y Mg y así como de M.O. mostraron diferencias significativas entre suelos (Cuadro 8). A SA corresponde el mayor porcentaje de N; se destaca que los suelos esterilizados (los involucrados con material inoculado, i.e. SMGi y SMTh) fueron no diferentes a SM en cuanto a fertilidad al término del experimento, a pesar que al inicio del experimento los suelos tenían la menor cantidad de N debido al proceso de esterilización (Cuadro 6); por lo tanto, este aumento de N puede estar vinculado a la interacción de los hongos y la descomposición de la raíz. En este sentido, Gallegos y Méndez (2000) consignaron que el cultivo de nopal cuenta con un sistema de raíz con una gran cantidad de pelos absorbentes que se renuevan y aportan materia orgánica al suelo.

En cuanto a K, la mayor cantidad corresponde SA y SM. Las concentraciones menores de K corresponden a suelos con plantas inoculadas con hongos. Cabe destacar que el nivel de este mineral en SM al inicio del experimento era menor al correspondiente a SA.

La mayor concentración de Mg corresponde a SM (0.577 mg kg⁻¹). La diferencia de concentración de Mg entre los suelos SMGi y SMTh fue no significativa.

Las concentraciones de P (%) y Ca (mg kg⁻¹), así como el nivel pH mostraron diferencias no significativas entre suelos con y sin inóculo. En general, la concentración de P en los suelos, al final del experimento es menor que la concentración de P al inicio del experimento (Cuadros 6 y 8, respectivamente).

Cuadro 8. Concentraciones medias finales de N, P y K en los diferentes suelo usados en el experimento

Suelo (con y sin inóculo)	N (%)	P (%)	K (mg kg ⁻¹)
SMGi	0.116 b	0.00397 a	1.010 a
SMTh	0.114 b	0.00360 a	0.469 b
SA	0.204 a	0.00717 a	1.069 a
SM	0.120 ab	0.00308 a	1.784 a
p	0.028	0.089	0.058

†SMGi= *Glomus intraradices*, SMTh= *Trichoderma harzianum*, SA= Suelo La Ascensión, SM= Suelo de Marín para las variable. N= Nitrógeno, P= fosforo, K= potasio.

Cuadro 9. Concentraciones medias de Ca, Mg y MO, y valor de pH en los diferentes tipos de suelo

Factor Suelo	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	pH	MO
SMGi	9.074 a	0.270 b	8.458 a	1.488 b
SMTh	9.353 a	0.215 b	8.578 a	1.513 b
SA	9.285 a	0.301 ab	8.498 a	2.058 a
SM	9.026 a	0.577 a	8.527 a	1.685 b
p	0.073	0.016	0.754	0.003

†SMGi = *Glomus intraradices*, SMTh = *Trichoderma harzianum*, SA = Suelo La Ascensión, SM = Suelo de Marín, Ca = Calcio, Mg = Magnesio, pH y MO = Materia Orgánica.

4.4. Análisis Químico de Planta

4.4.1. Análisis inicial

El análisis inicial reveló que las concentraciones de los minerales en los genotipos es variado; en Tuna Blanca se presentan las concentraciones mayores de N, P y K. El genotipo que presenta concentraciones menores de N y P en sus tejidos es Tuna Roja. A Tuna Roja corresponde la concentración menor de K. Tuna Amarilla tiene la mayor concentración de Ca, mientras que Tuna Blanca presenta la menor. Por el contrario, a Tuna Blanca se asocia la concentración mayor de Mg y a a Tuna Amarilla la menor.

Cuadro 10. Concentraciones de los macroelementos en cladodios de los genotipos usados en el experimento.

Genotipo	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)
Tuna Amarilla	1.59	0.13	3.82	9.18	0.45
Tuna Blanca	1.80	0.14	4.38	7.71	0.47
Tuna Roja	0.98	0.07	4.16	8.37	0.41

4.4.2. Análisis final

El ANVA sugiere que los tipos de suelo produjeron que los brotes tuvieran concentraciones diferentes de N, P, K, Ca y Mg. En general, las concentraciones mayores de N corresponden a brotes de plantas que crecieron en SA y SM, es decir, cuando no hubo inoculación. Es importante señalar que a SA y SM se asocian los mejores niveles de fertilidad con base en esos elementos. De manera interesante se aprecia que las menores concentraciones de Ca y Mg en brotes corresponden a SA. Asimismo, al suelo inoculado (SMGi y SMTh) se asocian las concentraciones mayores de Ca y Mg y las

menores de N y K. En cuanto a P los mayores porcentajes se a los suelos SA y SMTh. Por lo tanto, *Trichoderma* pudo haber favorecido la absorción de este elemento.

Cabe mencionar que la contribución de la simbiosis micorrízica arbuscular tiene un efecto sobre la nutrición del P y es conocida desde hace mucho; sin embargo, la contribución de la simbiosis de los hongos AM sobre la nutrición de Nitrógeno (N) en las plantas huésped es aspecto poco conocido.

En cuanto a P, lo que se sabe es acerca de un acceso extra radical del micelio a las fuentes P más allá de la zona de agotamiento radicular, claramente ventajoso. Sin embargo, el extra radical micelio no incrementa el acceso a N disponible en el suelo. Algunos resultados de estudios recientes sugieren que el sistema de absorción de NH_4^+ de hongos AM tiene cinco veces mayor afinidad por NH_4^+ que los sistemas típicos de captación de plantas, lo que permitiría al hongo absorber NH_4^+ del suelo, incluso en condiciones de suministro limitado de N, como los que se presentaron (%N=0.057) al inicio en los suelos que involucraron inoculación con hongos. En la literatura también se han reportado efectos negativos, neutros o positivos de la simbiosis AM sobre la nutrición correspondiente al N. Hawkins y George (2001) indicaron que el suministro de N de hifa era insuficiente para mantener una nutrición adecuada de una planta huésped con limitación de N. Por el contrario, otros estudios han demostrado que los hongos AM pueden aumentar la adquisición de N de las plantas.

El ANVA sugiere que al menos hubo dos genotipos cuyos brotes tuvieron concentraciones diferentes de N y Mg (Cuadro 11). A Tuna Blanca y Tuna Amarilla corresponden los brotes con concentraciones mayores de N; mientras que a Tuna Blanca y Tuna Roja corresponden las concentraciones mayores de Mg.

Las concentraciones de P determinadas en el presente estudio son similares a los reportados por Nobel *et al.* (1987) para *Opuntia engelmannii* y López *et al.* (1990) con

Opuntia amyclaea Tenore ($P=0.03\%$); sin embargo, Valdez *et al.* (2010) reportaron una concentración de $P=0.31\%$ en *Opuntia ficus-indica*. Entonces, la cantidad de los nutrimentos está en función de dos parámetros importantes: la fertilidad o la concentración del elemento en el suelo y el genotipo de *Opuntia* involucrado.

En otro contexto, los nopales contienen niveles menores de N y P que Ca y K. Esta situación es diferente a la de las plantas provistas de hojas verdaderas que se cultivan, si se considera lo reportado por Hageman (1992).

Dentro de los factores que afectan la composición nutrimental de las plantas destaca la edad del tejido. López (1988) indicó que la composición nutrimental de órganos y tejidos varía durante su desarrollo y cada elemento muestra un patrón característico. Por ejemplo, el nivel del N cambia con edad del tejido, de manera que el contenido de N tiende a ser mayor en cladodios jóvenes que en cladodios maduros, la magnitud de las diferencias en el contenido de N en cladodios jóvenes y cladodios adultos también varía entre especies.

Las concentraciones de N menores corresponden a tejido vegetal producido con pencas madre sin inóculo. Ello pudo haberse debido a que esos brotes fueron más tardíos y por lo tanto tenían menor edad que los primeros brotes asociados al material inoculado.

Las concentraciones de N, P y K en brotes (Cuadro 11) son menores a las de los cladodios madre (Cuadro 10) en los tres genotipos, excepto P en Tuna Amarilla. La concentración de Ca fue mayor en los cladodios madre que en los brotes en los casos Tuna Amarilla y Tuna Roja. Las concentraciones de Mg en brotes fueron mayores que en cladodios madre; esto puede ser explicado porque los brotes tienen mayor capacidad fotosintética que los cladodios maduros; es decir, ello puede asociarse a la importancia del Mg en la molécula de la clorofila. También se sabe que los hongos tienen una

contribución importante en la asimilación de Mg, porque es favorecida en el intercambio de carbono por los elementos necesarios para el crecimiento de la planta.

Cuadro 11. Concentraciones medias de los nutrimentos en los brotes de nopal asociadas a los factores suelo y genotipo.

F. Suelo	N	P	K	Ca	Mg
	(%)				
SMGi	1.038 b	0.065 b	2.096 c	9.314 a	0.994 a
SMTh	0.996 b	0.122 a	2.413 c	9.186 a	1.003 a
SA	1.436 a	0.092 a	4.686 a	7.399 b	0.553 b
SM	1.363 a	0.052 b	3.269 b	7.597 b	0.952 a
p	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
F. Genotipo					
TA	1.243 a	0.118 a	3.280 a	8.130 a	0.783 b
TB	1.307 a	0.073 a	3.080 a	8.982 a	0.948 a
TR	1.075 b	0.058 a	2.989 a	8.012 a	0.898 a
p	0.008	0.085	0.350	0.250	0.005

SMGi= Suelo Marín+*Glomus intraradices*, SMTh=Suelo Marín+*Trichoderma harzianum*, SA= Suelo La Ascensión, SM=Suelo Marín. TA= Tuna Amarilla, TB= Tuna Blanca, TR= Tuna Roja. N= Nitrógeno, P= fosforo, K= potasio, Ca= Calcio, Mg=Magnesio

4.5. Unidades Formadoras de Colonias

El análisis de varianza para UFC identificó diferencias estadísticamente significativas por efecto de la interacción de los factores suelo y genotipo. A las interacciones SA x Tuna Blanca, SMGi x Tuna Roja y SMTh x Tuna Blanca se asocian los mayores niveles de UFC. Ello significa un efecto positivo de la inoculación con *Glomus intraradices* en Tuna Roja y con *Trichoderma harzianum* en Tuna Blanca. También resalta que Tuna Blanca en SA indujo mayor nivel UFC que en SM; quizás, tal efecto se puede asociar a que SA es el suelo donde ese genotipo se cultiva (Figura 16).

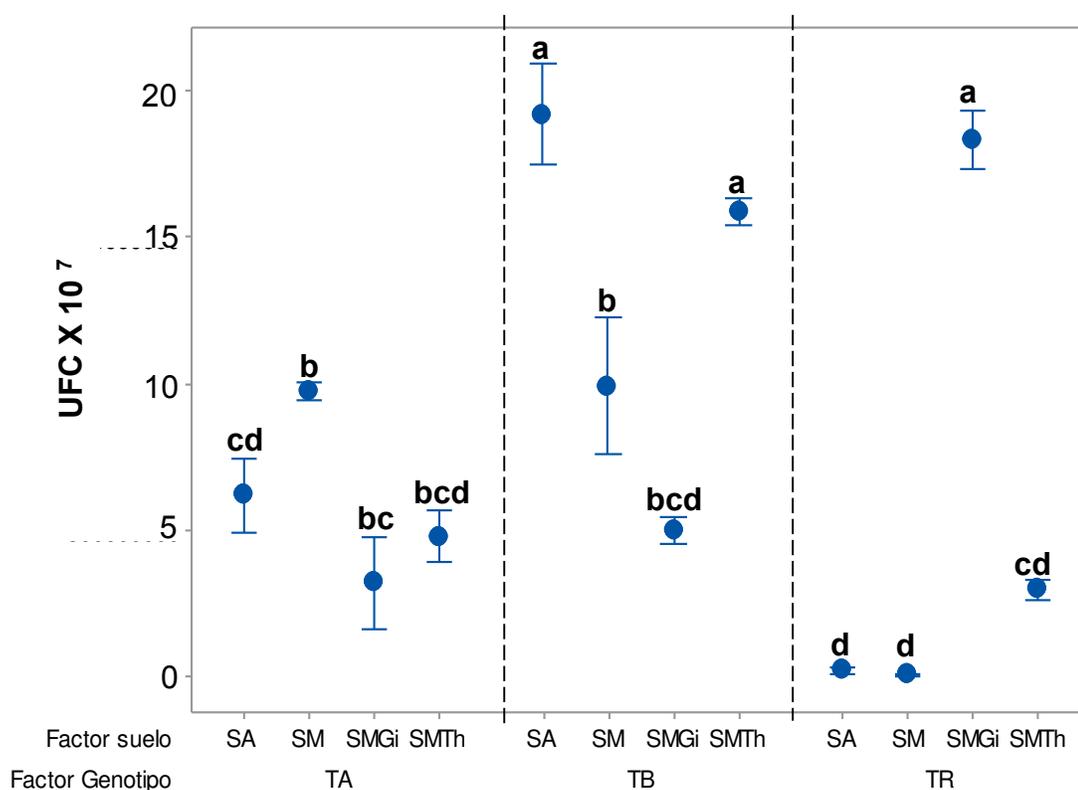


Figura 16. Comparación de medias de UFC en suelo en función de la interacción de los factores Suelo y Genotipo. SMGi=Suelo Marín+*Glomus intraradices*, SMTh=Suelo Marín+*Trichoderma harzianum*, SA=Suelo La Ascensión, SM=Suelo Marín. TA=Tuna Blanca

En general, a Tuna Amarilla se asocian los menores niveles de UFC y la menor variación. Esto significa que a pesar de que en este genotipo se desarrollaron menos UFC, fue capaz de lograr el mayor porcentaje de colonización.

4.6. Porcentaje de Colonización Micorrízica

El análisis de varianza para porcentaje de colonización mostró diferencias estadísticamente significativas por efecto de la interacción de los factores suelo x genotipo (Figura 17). A las interacciones SMGi x Tuna Roja y SMGi x Tuna Blanca se asocian los mayores niveles de porcentaje de colonización, lo cual significa el efecto positivo de la inoculación con *Glomus intraradices* en dichos genotipos.

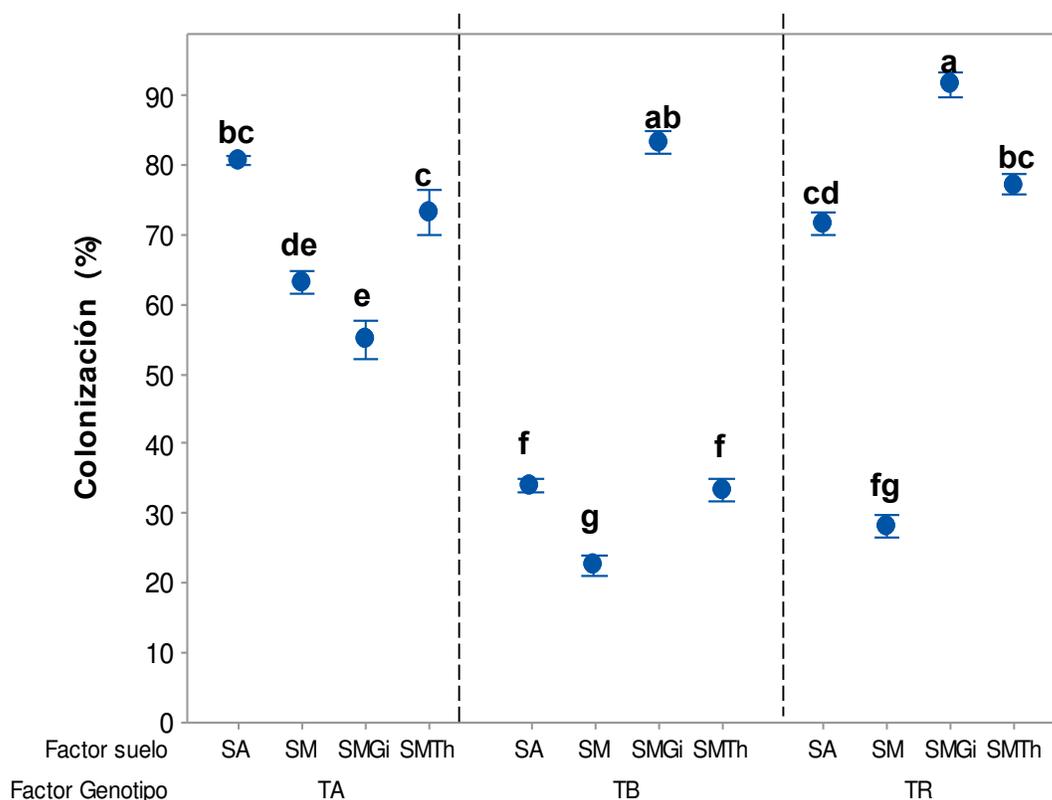


Figura 17. Comparación de medias de colonización (%) en función de la interacción de los factores Suelo y Genotipo. SMGi=Suelo Marín+*Glomus intraradices*, SMTh=Suelo Marín+*Trichoderma harzianum*, SA=Suelo La Ascensión, SM=Suelo Marín. TA=Tuna Amarilla, TB=Tuna Blanca, TR=Tuna Roja.

En el caso de Tuna Roja, el suelo más inóculo (SMGi y SMTh) indujo mayor colonización; también resalta que ese genotipo en SA indujo mayor nivel de colonización que en SM, quizás tal efecto se puede asociar a que SA es el suelo donde ese genotipo se cultiva.

En el caso de Tuna Amarilla, los porcentajes mayores de colonización están ligados a SA y SMTh; ese efecto se puede vincular a que SA es el suelo donde tal genotipo se cultiva y a que hace simbiosis con *Trichoderma harzianum*. Resalta que, en general, el mayor porcentaje de colonización con menor variación, i.e. respuesta menos variable, ocurrió en el genotipo Tuna Amarilla.

Los comportamientos de colonización variaron dependiendo del genotipo. La diferencia puede deberse al tipo de exudado y las señalizaciones emitidas por la planta para permitir ser colonizada por el hongo. Los cambios en el desarrollo de las plantas dependen de la señalización hormonal del vegetal (Puga-Freitas y Blouin., 2015) y los diversos compuestos liberados por plantas como exudados de raíz ya que crean un ambiente único en la rizósfera e incluyen azúcares, aminoácidos, flavonoides, alifáticos, ácidos, proteínas y ácidos grasos (Badri *et al.*, 2009). Todos estos compuestos son capaces de atraer e iniciar tanto interacciones simbióticas como patógenas dentro de la rizósfera.

5. CONCLUSIONES

Los suelos con material inoculado, SMGi y SMTh, produjeron un mayor crecimiento expresado en mayor producción de biomasa de cladodio y raíz. Al tener un incremento en el desarrollo de raíz el crecimiento de parte aérea de la planta aumenta; esto puede deberse a la mayor absorción de nutrimentos del suelo y al incremento de su disponibilidad por la acción de los hongos.

Los genotipos con mayor efecto de los hongos en el crecimiento de raíz fueron Tuna Roja y Tuna Blanca. En el genotipo de Tuna Amarilla, la raíz presentó un menor desarrollo.

Al Suelo Marín con los inóculos (SMGi y SMTh) y SA se asocian el número mayor de brotes, especialmente en Tuna Roja y Tuna Blanca con *Glomus intraradices*. Ello pudo hacerse debido al gran porcentaje de colonización inducido con la inoculación en ambos genotipos, pero especialmente a la gran cantidad de Unidades Formadoras de colonias en el caso de Tuna Roja. Posiblemente, tales circunstancias indujeron las concentraciones mayores de Ca y Mg en brotes vegetativos en los genotipos Tuna Blanca y Tuna Roja.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, P., F.A A. M. De-Leij, and J. M. Lynch. 2007. *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22 mediates growth promotion of crack willow (*Salix fragilis*) saplings in both clean and metal-contaminated soil. *Microbial Ecology* 54:306–313.
- Ageeb, A. S., and A. S. Mohamed. 2014. Application of *Trichoderma harzianum* t22 as a biofertilizer potential in maize growth. *Journal of Plant Nutrition*, 37:30–49.
- Ahmed, M., and R. S. Upadhyay. 2011. Effect of soil amendment with *Trichoderma harzianum*, chemicals and wilt pathogen on growth and yield of tomato. *Journal of Plant Pathology* 41:77–81.
- Anwar, Z. S. and J. Pichtel. 2008. Mycorrhizae: An Overview. *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. Vol. 1. Springer Science + Business Media B.V. pp.1–35.
- Allen, M. F. 2007. Mycorrhizal fungi: highways for water and nutrients in arid soils. *Vadose Zone Journal* 6:291–297.
- Badri, D. V., T. L. Weir., D. van der Lelie., J. M. Vivanco. 2009. Rhizosphere chemical dialogues: plant–microbe interactions. *Current Opinion in Biotechnology* 20:642–650.
- Bais, H. P., T. L. Weir., L. G. Perry., S. Gilroy., J. M. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57:233–266.

- Buysens, C., V. César., F. Ferrais., H. Dupré de Boulois., S. Declerck. 2016. Inoculation of *Medicago sativa* cover crop with *Rhizophagus irregularis* and *Trichoderma harzianum* increases the yield of subsequently-grown potato under low nutrient conditions. *Applied Soil Ecology* 105:137–143.
- Brotman, Y., E. Briff., A. Viterbo, and I. Chet. 2008. Role of swollenin, an expansin-like protein from *Trichoderma*, in plant root colonization. *Plant Physiology* 147:779–789.
- Campos, S. L., J. M. García and B. S. San. 2010. Activation of basal defense mechanisms of rice plants by *Glomus intraradices* does not affect the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 188:597–614.
- Celar, F., and N. Valic. 2005. Effects of *Trichoderma spp.* and *Gliocladium roseum* culture filtrates on seed germination of vegetables and maize. *Journal of Plant Diseases* 112:343–350.
- Conagua (2015). <http://www.conagua.gob.mx>, consulta realizada el 20 septiembre 2016.
- Cobb, A. B., G. W. T. Wilson., C. L. Goad., S.R. Bean., R. C. Kaufman., T. J. Herald., and J. D. Wilson. 2016. The role of arbuscular mycorrhizal fungi in grain production and nutrition of sorghum genotypes: Enhancing sustainability through plant-microbial partnership. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 233:432–440.
- Colomé, J. S., A. M. Kubinsku., R. J. Cano., D. V. Grady. 1986. *Laboratory Exercises in Microbiology*. California Polytechnic State University. West Publishing Company. Los Angeles San Francisco. 283 pp. 64–66.

- Cui, M and P.S. Nobel. 1992. Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 122:643–649.
- Chaparro, J. M., A. M. Sheflin., D.K. Manter and J. M. Vivanco. 2012. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biol. Fertil. Soils* 48:489–499.
- Diacono, M., and F. Montemurro. 2010. Long term effects of organic amendments on soil fertility. A review. *Agronomy Sustainable Development* 30:401–422.
- Dick, R. P. 1992. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 40:25–36.
- De la Pena, C., D. V. Badri., Z. Lei., B. S. Watson., M. M. Brandao, M. C. Silva-Filho, L.W. Sumner and J. M. Vivanco. 2010. Root secretion of defense related proteins is development dependent and correlated with flowering time. *Journal of Biological Chemistry* 285:30654–30665.
- Estrada L. A. A and T. D. Fred. 2007. Estado nutrimental y crecimiento de plantas micropropagadas de nopal (*Opuntia albicarpa Scheinvar* cv. 'Reyna') colonizadas con tres cepas seleccionadas de endomicorrizas. Montaña N.M., Camargo, R.S.L., García, R, Monroy A. (eds.) *Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos*. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV, UAM Iztapalapa, FES Zaragoza, UNAM. Distrito Federal, México. pp.335–356.
- Estrada L. A. A and T. D. Fred 1999. Effects of Mycorrhizal fungi and phosphorus on growth and nutrient uptake of micropropagated prickly pear cactus

- plantlets (*Opuntia amyclaea tenore* 59 cv. Reyna). In: Abstracts of 96th International Conference of the American Society of Horticultural Science. HortScience 3:34. pp. 497.
- Félix, H. J. A., T. R. R. Sañudo., M. G. E. Rojo., R. R. Martínez, and P. V. Olalde. 2008. Importancia de los abonos orgánicos. Ra Ximhai 4:57–67.
- Flores, H. E., J. M. Vivanco., V. M. Loyola-Vargas. 1999. 'Radicle' biochemistry: the biology of root-specific metabolism. Trends Plant Sci 4:220–226.
- Gallegos C. y S.J. Méndez. 2010. La tuna, criterios y técnicas para su producción comercial. Fundacion produce Zacatecas. Universidad Autónoma Chapingo. Mexico. Pp.164.
- Hageman, R. H. 1992. Ammonium versus nitrate nutrition of higher plants. In: Nitrogen in Crop Production. American Society of Agronomy Inc. Crop Science Society of America Inc. and Soil Science Society of America Inc. USA. Pp. 67–88.
- Harman, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Diseases 84:377–393.
- Harman, G. E., R. Petzoldt, A. Comis, and J. Chen. 2004a. Interaction between *Trichoderma harzianum* strain T-22 and maize inbred Mo17 and effects of these interactions on disease caused by *Phytophthora ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. Phytopathology 94:147–153.
- Harman, G. E., C. R. Howell., A. Viterbo., I. Chet., M. Lorito. 2004b. *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. Microbiol. 2:43–56.

- Hawkins, H. J., and E. George, 2001. Reduced ^{15}N -nitrogen transport through arbuscular mycorrhizal hyphae to *Triticum aestivum* L. supplied with ammonium vs. nitrate nutrition. *Annals of Botany* 87:303–31.
- Hermosa, R., A. Viterbo., I. Chet, and E. Monte. 2012. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* 158:17–25.
- Hermosa, R., M. B. Rubio., R. E. Cardoza., C. Nicolás., E. Monte., and S. Gutiérrez. 2013. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. *Int. Microbiol.* 16:69–80.
- Hoyos-Carvajal, L., S. Orduz, and J. Bissett. 2009. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control* 51:409–416.
- INVAM (International Culture Collection of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi). 2016. <http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/speciesID.htm>
- Johnson, N. C. 2010. Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *The New Phytologist* 185:31–647.
- Koegel, S., D. Brulé., A. Wiemken., T. Boller., and P.E. Courty. 2015. The effect of different nitrogen sources on the symbiotic interaction between *Sorghum bicolor* and *Glomus intraradices*: Expression of plant and fungal genes involved in nitrogen assimilation. *Soil Biology & Biochemistry* 86:59–163.
- Leyva, M. P., E. Utria., I. Figueroa., O. Terry., J.O. Calderón and O.S. González. 2002. La biofertilización en la montaña: herramienta biotecnológica de la agricultura sostenible. *Centro Agrícola. Agroecología* 1:76–81.

- Lorito, M., S. L. Woo., G. E. Harman, and E. Monte. 2010. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. *Annual Review Phytopathology* 48:395–417.
- López, M., J. L. 1988. Contenidos nutrimentales en tallos y raíces de nopal tunera (*Opuntia amyclaea* Tenore). Tesis Profesional, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 68.
- López, M., J. L.; J. P. Cruz H. y A. López J. 1990. Contenidos nutrimentales en tallos y raíces de nopal tunera (*Opuntia amyclaea* T.). En: J. J. López G. y M.J. Ayala O. (Eds.). El nopal su conocimiento y aprovechamiento, III Reunión Nacional y I Internacional (memorias). UAAAN. Buenavista, Saltillo, Méx. pp.178–186.
- Mesa, J. R. R., J. L. Gómez., O. Rodríguez., E. Parets and R. Soto. 2006. Efecto de *Trichoderma* y micorrizas en la producción de posturas de *Carica papaya* L. *Centro Agrícola* 3:75–81.
- Micallef, S. A., M. P. Shiaris, A. Colon-Carmona. 2009. Influence of *Arabidopsis thaliana* accessions on rhizobacterial communities and natural variation in root exudates. *J Exp Bot.* 60:1729–1742.
- Nobel, P. S., Ch. E. Russell, P. Felker, J. Galo M. and E. Acuña. 1987. Nutrient relations and productivity of prickly pear cacti. *Agronomy Journal* 79:550-555.
- Nobel, P. S. 1994. Remarkable Agaves and Cacti. Oxford University Press. New York. Pp.166.
- Parniske, M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Review Microbiology* 6:763–775.

- Pérez., V. A., S. C. Landeros. 2009. Agricultura y deterioro ambiental. Elementos: Ciencia y Cultura 73:19–25.
- Pernes-Debuyser, A., and D. Tessier. 2004. Soil physical properties affected by long-term fertilization. *European Journal of Soil Science* 55:505–512.
- Perry, L. G., E. R. Alford., J. Horiuchi., M. W. Paschke., J. M. Vivanco. 2007. Chemical signals in the rhizosphere: root-root and root-microbe communication. In: Pinton R., Z. Varanini and P. Nannipieri (eds) *The Rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil–plant interface*, 2nd edn. CRC Press. pp. 297–330.
- Pimienta-Barrios, E. 1990. El nopal tunero. *Tiempos de Ciencia*. Universidad de Guadalajara. Guadalajara. pp.246.
- Pimienta-Barrios E; J. Zannudo; E. Yopez; E. Pimienta-Barrios and P. S. Nobel. 2000. Seasonal variation of net CO₂ uptake for cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) and pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) in a semi-arid environment. *J. Arid. Environ.* 44:73–83
- Porter, W. M. 1979. The Most Probable Number method for enumerating infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Australian Journal of Soil Research* 17:515–519.
- Puga-Freitas. R and M. Blouin 2015. A review of the effects of soil organisms on plant hormone signaling pathways. *Environmental and Experimental Botany* 114:104–116.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid

- assessment to infection. *Transactions British Mycological Society* 55:158–161.
- Retama, O. Y., C. H. B. Avila., A. Alarcon., R. C. Ferrera. 2017. Effectiveness of native arbuscular mycorrhiza on the growth of four tree forest species from the Santa Marta Mountain, Veracruz (Mexico). *Forest Systems* 15:1–9.
- Renker, C., M. Zobel., M. Öpik., M. F. Allen., E. B. Allen., M. Vosátka., J. Rydlová., F. Buscot. 2004. Structure, dynamics, and restoration of plant communities: do arbuscular mycorrhizae matter? In: *Assembly Rules and Restoration Ecology e Bridging the Gap Between Theory and Practice*. Island Press, Washington, DC. USA. pp. 189–229.
- Rovira, A. D. 1969. Plant root exudates. *The Botanical Review* 35:35–57.
- Sagardoy M. A. and M. E. Mandolesi. 2004. *Biología del suelo*. Unidad nacional del sur. pp. 40.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Consulta Enero 2017. <http://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>
- Serralde O. A. M. and M. M. G. Ramírez. 2004. Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Revista Corpoica* 5:31–40.
- Schenck, N. C. and I. Perez. 1990. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*, Published by Synergistic Publications Gainesville, USA.
- Schmitz, A. M. and M. J Harrison. 2004. Signaling events during initiation of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of Integrative Plant Biology* 56:250–26.

- Smith, S. E., and D. J. Read, 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd ed.; Academic Press: New York, NY. USA.
- Smith, S.E., F. A. Smith., I. Jakobsen. 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: The contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytol.* 162:511–524.
- Smith, S.E and F. A. Smith. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular and ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology* 62:227–250.
- Schüßler, A., D. Schwarzott., C. Walker. 2001. A new fungal phylum *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105:1413–1421.
- Shanmugaiah, V., N. Balasubramanian., S. Gomathinayagam., P. T. Monoharan., and A. Rajendran. 2009. Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth promotion in cotton plants. *African Journal of Agricultural Research* 4:1220–1225.
- Shoresh, M., and G. E. Harman. 2008. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation: A proteomic approach. *Plant Physiology* 147:2147–2163.
- Shoresh, M., G. E. Harman and F. Mastouri. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology* 48:21–43.

- Terry, E. and J. Ruiz. 2008. Evaluación de bioproductos para la producción de tomate (*Solanum lycopersicum*, Mill) bajo sistema de cultivo protegido. *Cultivos Tropicales* 29:11–15.
- Uren, N. C. 2007. Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants. In: Pinton R., Z. Varanini and P. Nannipieri (eds) *The Rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. 2nd edn. CRC Press. pp.1–2.
- Valdez-Cepeda, R. D., F. Blanco., R. Magallanes., R. E. Vázquez., S. de J. Méndez. 2013. Fruit weight and number of fruits per cladode depend on fruiting cladode fresh and dry weight in *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller variety 'Rojo Pelón'. *Scientia Horticulturae* 161:165–169.
- Valdez-Cepeda, R. D and F. Blanco. 2010. Avances de la nutrición del nopal en México. *Revista Salud Pública y Nutrición* 5:1–14.
- Van der Heijden, M.G., R. Streitwolf-Engel., R. Riedl., S. Siegrist., A. Neudecker, K. Ineichen., T. Boller., A. Wiemken and I. R. Sanders. 2006. The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. *New Phytologist* 172:739–752.
- Vinale, F., K. Sivasithamparam, E. L. Ghisalberti, R. Marra, S. L. Woo, and M. Lorito. 2008. *Trichoderma* plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry* 40:1–10.
- Walkley A., and I. A Black. 1934. An examination of the method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37:29–38.

- Wang, B., and Y. L. Qiu. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizae in land plants. *Mycorrhiza* 16:299–363.
- Wang, J., Y. Song, T. Ma., W. Raza., J. Li., J. G. Howland., Q. Huang., Q. Shen. 2017. Impacts of inorganic and organic fertilization treatments on bacterial and fungal communities in a paddy soil. *Applied Soil Ecology* 112:42–50.
- Yahia, E. M. 2011. Prickly pear. Chapter 13, in D. Rees; G. Farrell and J. E. Orchard (eds). *Crop Post-harvest: Science and Technology*, V.3. Perishables. Wiley-Blackwell. Publishing, Oxford, UK. pp.451.