

IDENTIFICACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN SUELO AGRÍCOLA IRRIGADO CON VINAZAS TEQUILERAS

Ana Lorena
Sanchez-Lizarraga,
Gustavo Dávila-Vázquez,
Silvia Maribel
Contreras-Ramos*

UNIDAD DE TECNOLOGÍA AMBIENTAL,
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y
ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO
DEL ESTADO DE JALISCO A.C. (CIATEJ)

Laura Hernández-Cuevas
LABORATORIO DE MICORRÍZAS.
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
TLAXCALA

Erika Nahomy Marino-
Marmolejo
UNIDAD DE BIOTECNOLOGÍA MÉDICA Y
FARMACEÚTICA. CIATEJ

*Autor responsable:
smcontretas@gmail.com,
smcontreras@ciatej.mx

Palabras clave: Riqueza
de especies, Índices de diversidad,
Abundancia de esporas

IDENTIFICATION OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN AGRICULTURAL SOIL IRRIGATED WITH TEQUILA VINASSES

R E S U M E N

La adición de vinazas tequileras al suelo es común, sin embargo, es nulo el conocimiento de sus efectos en poblaciones de hongos micorrízicos arbusculares (HMA). En este trabajo el objetivo fue evaluar si existen HMA en suelos con la adición de vinazas. Se muestrearon suelos con (SV) y sin (SC) vinaza del municipio “El Arenal”, Jalisco, se extrajeron e identificaron las esporas de HMA. Se identificaron 21 especies de HMA, las más abundantes fueron *Acaulospora mellea*, *Acaulospora scrobiculata*, *Funneliformis geosporum*, *Funneliformis mosseae* y *Paraglomus occultum*. No hubo diferencias significativas entre SV y SC en la abundancia de HMA.

ABSTRACT: The addition of tequila vinasses to soil is a common practice; however, its effects on arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) populations are yet unknown. In this work, the objective was to evaluate if AMF exist in soils amended with vinasses. Soils were sampled with (SV) and without (SC) vinasse from «El Arenal» municipality in Jalisco; AMF spores were extracted and identified. Twenty-one AMF species were identified, the most abundant being *Acaulospora mellea*, *Acaulospora scrobiculata*, *Funneliformis geosporum*, *Funneliformis mosseae* and *Paraglomus occultum*. There were no significant differences in AMF abundance between SV and SC.

Key words: species richness, diversity indices, spore abundance.

INTRODUCCIÓN

La bebida del tequila se obtiene del *Agave tequilana* Weber var. Azul (Lamas-Robles, 2004). Durante la producción del tequila se generan vinazas, y se estima que la producción de tequila en el 2013 generó 1,647 millones de litros de vinazas tequileras (en total al 55% v/v). Las vinazas se caracterizan por su elevada concentración de materia orgánica de 35,000 a 60,000 mg/L como DBO (Demanda Total Biológica de Oxígeno); (60,000-100,000 como DQO) (López-López *et. al.*, 2010). Debido a esto, se considera que la aplicación de vinazas al suelo puede ser benéfica. El conocimiento que más se tiene es sobre vinazas alcohólicas o de la industria vinícola. Sin embargo, son muy pocos los trabajos encontrados en la literatura sobre el efecto de las vinazas tequileras en suelos, y es nula la información sobre su efecto en las poblaciones de hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Estos son organismos que establecen una simbiosis mutua con la mayoría de las plantas superiores, proporcionando un vínculo entre el suelo y sus raíces (Al-Zalzaleh *et. al.*, 2009). Debido a la importancia de las HMA en el suelo y a la práctica común de aplicación de vinazas al suelo, este trabajo tiene como objetivos conocer si existen poblaciones de HMA en un suelo adicionado con vinazas tequileras y evaluar las variaciones en las poblaciones de HMA de un suelo agrícola por efecto de la adición de vinazas tequileras.

METODOLOGÍA

SITIO DE ESTUDIO

Se realizó un muestreo aleatorio de dos suelo agrícolas, uno donde se aplica vinazas (SV) (n=49) y otro donde no se han aplicado (SC) (n=21) del municipio "El Arenal" Jalisco (20° 46' 7"N y 103° 41' 18" O) (NMX-AA-132-SCFI-2006). El sitio tiene vegetación predominante de caña (*Saccharum officinarum* L.) (Inegi, 2014).

CARACTERIZACIÓN DE SUELOS Y VINAZA

Los suelos fueron caracterizados fisicoquímicamente para parámetros de suelo por la metodología descrita por Dane *and* Top (2002). Simultáneamente se caracterizaron fisicoquímicamente las vinazas tequileras (Eaton *et. al.*, 1999).

AISLAMIENTO, CUANTIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ESPORAS DE HMA.

Las esporas de HMA fueron aisladas de SC y SV utilizando el método de tamizado húmedo, decantación y centrifugación en agua y sacarosa al 50% (p/v), con tamices de 600, 150, 75 y 45 μm . Fueron cuantificadas bajo un estereomicroscopio (SMZ460) y luego montadas en pre-

paraciones fijas de alcohol polivinílico (PVLG) y Melzer mezclado con PVLG (1:1, v/v) (Brundrett *et. al.*, 1996). La determinación taxonómica de las especies se realizó en un microscopio óptico con contraste de interferencia de Nomarski (NIKON Optiphot 2 Plus). Se determinó el número de esporas (abundancia), riqueza (número de especies) e índices de diversidad para cada suelo.

R E S U L T A D O S Y D I S C U S I Ó N

CARACTERIZACIÓN DE SUELOS

Los suelos SC y SV presentaron una clasificación textural franco arenosa, clasificado como suelo Feozem (Inegi, 2014). Tuvieron una cantidad de materia orgánica media, fueron fuertemente salinos y con una CIC alta. Los valores de NO_2^- , NO_3^- y NH_4^+ fueron muy bajos y el contenido de nitrógeno total alto de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Cuadro 1).

CARACTERIZACIÓN DE VINAZAS

Las vinazas tuvieron un pH ácido y elevada materia orgánica, así como alta cantidad de nitratos. Los metales pesados As, Cd, Cu, Cr, Hg, Pb, Ni y Zn estuvieron por debajo de los límites permisibles de las normas (se señala solo una norma y corresponde a técnicas para la cuantificación de nutrientes para plantas, no para metales pesados) antes citadas (Cuadro 2).

CUADRO 1.
Caracterización de SC y SV

Parámetro	SC	SV	NOM-021-SEMARNAT-2000
Clasificación textural	Franco arenoso	Franco arenoso	N.E.
Tipo de suelo	Feozem	Feozem	N.E.
pH	6.52 ± 0.21 ^A	7 ± 0.29 ^B	Neutral
Conductividad Eléctrica (CE) (mS cm ⁻²)	83.77 ± 31.23 ^A	80.44 ± 35.40 ^A	Fuertemente salino
Capacidad de Retención de Agua (CRA) (%)	9.90 ± 4.2 ^A	12.43 ± 2.01 ^B	N.E.
Humedad (%)	9.37 ± 1.3 ^A		N.E.
Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) (Cmol kg ⁻¹)	27.34 ± 5.97 ^A	25.54 ± 6.83 ^A	Alto
Ceniza (%)	92.56 ± 1.4 ^A	92.26 ± 3.12 ^A	N.E.
Arena (%)	69.98 ± 3.02 ^A	68.87 ± 1.79 ^A	N.E.
Ardilla (%)	16.91 ± 4 ^A	16.66 ± 1.46 ^A	N.E.
Limo (%)	13.11 ± 3.3 ^A	14.67 ± 2.44 ^A	N.E.
Fosfatos PO_4^{3-} (mg L ⁻¹)	0.099 ± 0.08 ^A	0.126 ± 0.02 ^B	Bajo
Fósforo Total (PT) (mg kg ⁻¹)	1.667 ± 0.08	3.11 ± 1.70 ^A	Bajo
Carbono Orgánico Total (COT) (mg L ⁻¹)	11702.3 ± 1340 ^A	12362 ± 1957 ^A	N.E.
Materia Orgánica (MO) (mg kg ⁻¹)	74.4 ± 14 ^A	77.3 ± 31.2 ^A	Medio
Nitritos (NO_2^-) (mg L ⁻¹)	0.01 ± 0.0 ^A	0.03 ± 0.01 ^A	Muy bajo
Nitratos (NO_3^-) (mg L ⁻¹)	0.45 ± 0.07 ^A	0.724 ± 0.28 ^A	Muy bajo
Amonio (NH_4^+) (mg L ⁻¹)	0.037 ± 0.03 ^A	0.047 ± 0.04 ^A	Muy bajo
Nitrógeno Total (NT) (mg L ⁻¹)	971.3 ± 147.07 ^A	1259.41 ± 284 ^A	Alto
Plomo (Pb) (mg kg ⁻¹)	11.965 ± 0.19 ^A	12.11 ± 3.16 ^B	Normal
Cadmio (Cd) (mg kg ⁻¹)	<0.25 ± 0.0 ^A	<0.25 ± 0.0 ^A	Normal
Níquel (Ni) (mg kg ⁻¹)	3.165 ± 0.53 ^A	2.865 ± 22 ^A	Normal
Hierro (Fe) (mg kg ⁻¹)	18400 ± 5313 ^A	14415 ± 7.07 ^A	Apropiado
Manganeso (Mn) (mg kg ⁻¹)	369.15 ± 115 ^A	309.5 ± 2.68 ^A	Apropiado
Zinc (Zn) (mg kg ⁻¹)	34.77 ± 2.64 ^A	34.01 ± 5.27 ^A	Apropiado
Cobre (Cu) (mg kg ⁻¹)	10.14 ± 10.62 ^A	10.62 ± 2.51 ^A	Apropiado

N.E. significa No Especificado.

Parámetro	Vinazas Tequileras	NOM-001-SEMARNAT-1996		USEPA 1992	
		Límites	Máximos Permisibles	Mezcal Δ	Caña de azúcarψ
pH	3.48 ± 0.06	N.E.	9	N.E.	N.E.
CE (mS cm ⁻²)	3.305 ± 0.08	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
PO ₄ ³⁻ (mg L ⁻¹)	22.4 ± 1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
PT (mg L ⁻¹)	26.45 ± 1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
COT (mg L ⁻¹)	2.7 ± 0.6	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
MO (mg kg ⁻¹)	4.65 ± 0.6	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	2.25 ± 0.21	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	580 ± 88.3	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹)	1.4 ± 0.96	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
NT (mg L ⁻¹)	4165 ± 134	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Demanda total Quimica de Oxígeno (DQO) (mg L ⁻¹)	57762.5 ± 1887	N.E.	N.E.	122 860	13380
Demanda Química de Oxígeno Soluble (DQO) (mg L ⁻¹)	53710 ± 3627	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Demanda total Biológica de Oxígeno (DBO) (mg L ⁻¹)	25367 ± 1710	N.E.	45	33600	5046
Demanda Biológica de Oxígeno Soluble (DQO) (mg L ⁻¹)	12733 ± 1570	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Sólidos Totales (mg L ⁻¹)	40.83 ± 3	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Sólidos Suspendidos Totales (mg L ⁻¹)	11.25 ± 2	N.E.	45	N.E.	N.E.
Sólidos Volátiles Suspendidos (mg L ⁻¹)	12.5 ± 3	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Sólidos Volátiles Totales (mg L ⁻¹)	37.33 ± 3	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Sólidos Totales Disueltos (mg L ⁻¹)	29.58 ± 3	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Sólidos sedimentables (mg L ⁻¹)	120 ± 54	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Arsénico (mg L ⁻¹)	< 1.0 ± 0.0	0.4	0.005	N.E.	0.35
Cd (mg L ⁻¹)	< 0.25 ± 0.0	0.1	0.001	N.E.	N.E.
Cu (mg L ⁻¹)	< 1.0 ± 0.0	6	1.5	N.E.	0.0019
Cromo (Cr) (mg L ⁻¹)	< 1.0 ± 0.0	1	0.1	N.E.	0.03
Mercurio (mg L ⁻¹)	< 1.0 ± 0.0	0.01	0.002	N.E.	1.66
Pj (mg L ⁻¹)	< 1.0 ± 0.0	10	0.632	N.E.	N.E.
Ni (mg L ⁻¹)	< 1.0 ± 0.0	4	0.0015	N.E.	N.E.
Zn (mg L ⁻¹)	2.29 ± 0.0	20	5	N.E.	N.E.
Fe (mg L ⁻¹)	24 ± 0.92	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.

N.E. significa No Especificado. Δ Robles-Gonzales et al., 2012; ψ Aparecida-Christofolletti et al., 2013

CUADRO 2.

Caracterización de vinaza

ASLAMIENTO, CUANTIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE HMA

En suelo SC y SV se identificaron 21 especies, 9 pertenecieron al género *Acaulospora*, 4 al *Funneliformis* y 1 a *Gigaspora*, *Scuttelospora*, *Racocetra*, *Paraglomus*, *Glomus*, *Septoglomus* y *Claroideoglomus* (Figura 1).

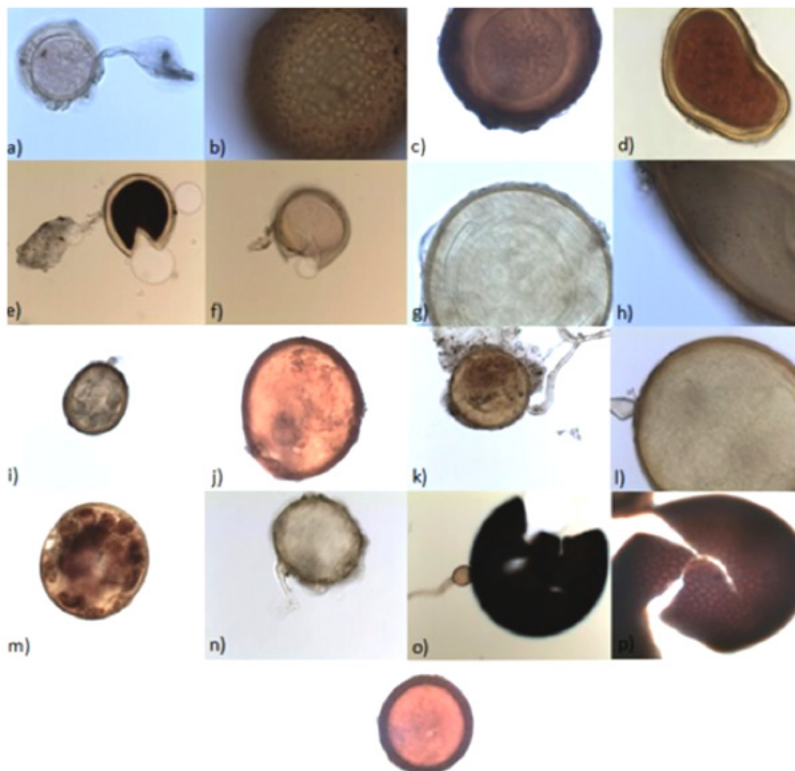


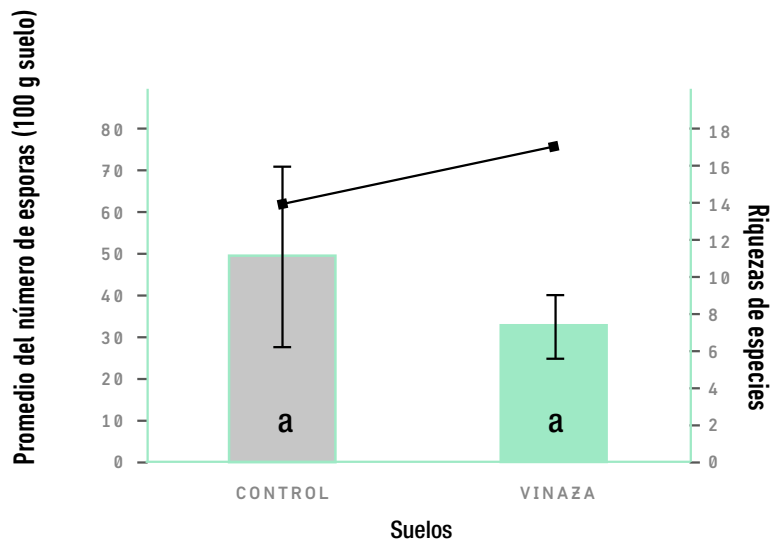
FIGURA 1.

Especies de HMA identificadas en SC y SV. a) *Acaulospora delicata*, b) *A. foveata*, c) *A. aff. laevis*, d) *A. mellea*, e) *A. morrowiae*, f) *A. scrobiculata*, g) *A. sp.*, h) *A. spinosa*, i) *Claroideoglomus etunicatum*, j) *Funneliformis geosporum*, k) *F. mosseae*, l) *G. margarita*, m) *Glomus microagregatum*, n) *Paraglomus occultum*, o) *Racocetra gregaria*, p) *Scuttelospora reticulata*, q) *Septoglomus constrictum*.

El número de esporas de HMA por cada 100 g del SC (49.33 ± 21.57) y SV (32.66 ± 7.37) no fue diferente significativo (Figura 2) el cual fue menor a lo reportado por Datta y Kulkarni (2012) en caña de azúcar y fue mayor a lo reportado por Reis (1999) quien reportó una densidad de esporas de 10-16 esporas por dm^3 en la rizósfera de caña. Además, el SC presentó menor riqueza de especies que SV (Figura 2). La abundancia relativa (AR) indicó que en el SC y SV *Acaulospora mellea* (SC-22%, SV-12%) fue la que presentó mayor AR seguida por *Acaulospora scrobiculata* (SC-16%, SV-9%) y *Funneliformis geosporum* (SC-14%, SV-27%) mientras que las menores AR las presentaron *Funneliformis mosseae* (SC-11%, SV-11%) y *Paraglomus occultum* (SC-12%, SV-10%) (Figura 3).

FIGURA 2.

Promedio del número de esporas (barras) y riqueza de especies (línea) de HMA en SC y SV. Barras con la misma letra no presentan diferencia significativa ($P \leq 0.05$)

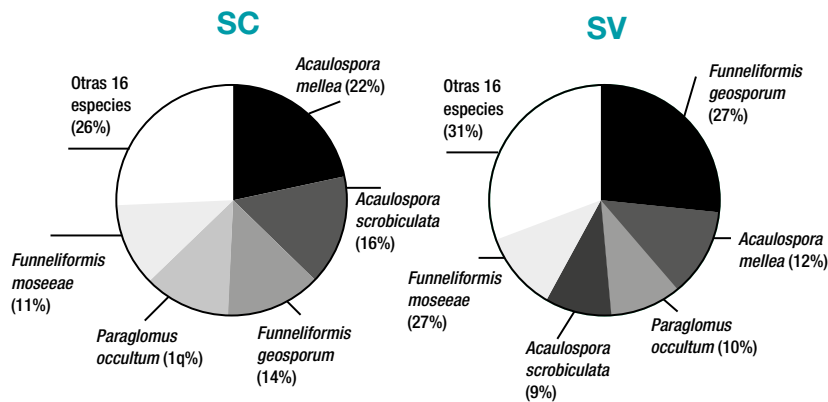


El índice de diversidad de Shannon-Wiener no difirió entre los suelos SC y SV, sin embargo cuando se calculó el índice de Shannon-Wiener ponderado se observó que la diversidad de HMA en el SC es diferente a la diversidad del SV (Tabla 3). Esto indicó que posiblemente la diversidad de HMA está siendo afectada por la aplicación de vinazas.

CUADRO 3.

Número total de esporas (100 g de suelo) e índices de diversidad de HMA en SC y SV.

	CS	VS
Número total de esporas	$1.677 \pm 21.57A$	$1.520 \pm 7.37A$
Número de especies(S)	14	17
Shannon-Wiener (H')	$2.24 \pm 1.03A$	$2.33 \pm 0.83A$
Shannon-Wiener ponderado (H_p)	0.975A	1.014B
Diferentes letras entre columnas indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$)		

**FIGURA 3.**

Abundancia relativa (% del total de esporas) de especies de HMA presentes en SC y SV.

El pH de los suelos determina la distribución de las especies predominando algunas en suelos neutros, alcalinos y otras en ácidos (Moreira-Souza *et. al.*, 2003). Las diferentes especies de HMA difieren en su tolerancia a las condiciones físicas y químicas adversas en el suelo (Kumar and Ghose, 2008).

CONCLUSIONES

Los HMA aislados de un suelo agrícola fueron identificados. 21 especies de HMA fueron identificadas, en donde las especies predominantes fueron *Acaulospora mellea*, seguida por *Funneliformis scrobiculata*, *Acaulospora geosporum*, *Funneliformis moseeae* y *Paraglomus occultum*.

REFERENCIAS

- AL-ZALZALEH, H. A. A.-Z., Majid A.; Mathew, Anu Ray. (2009). Vam Inoculation for Selected Ornamental Plants in Bioremediated and Agricultural Soils. *European Journal of Scientific Research*, 25 (4), 7.
- BRUNDRETT M., Bougher N., Dell B., Grove T. & Malajczuk N. 1996 Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. 374.
- DANE Jh. & Top C. (2002) in *Methods Of Soil Analysis* Soil Science Society Of America, Ch. 4.
- DATTA, P., & Kulkarni, M. (2012). Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in sugarcane rhizosphere in relation with soil properties. *Notulae Scientia Biologicae*, 4(1), 66-74.
- EATON A., Rice E. & Baird R. 1999 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. (American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation).

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación recibió apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por medio del «Fondo Sectorial de Investigación para la Educación SEP-CONACYT» en el proyecto 181070. Los autores están agradecidos porque Sánchez-Lizarraga A.L. recibió beca de CONACYT para realizar esta investigación.

- INEGI. Guía para la Interpretación de Cartografía Edafología, <<http://www.inegi.org.mx>> (2014).
- INVAM (International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi). General life cycle, and the structures formed, <<http://invam.caf.wvu.edu>> (2014).
- KUMAR, T., & Ghose, M. (2008). Status of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the Sundarbans of India in relation to tidal inundation and chemical properties of soil. *Wetlands Ecology and Management*, 16(6), 471-483.
- LAMAS-ROBLES R. (2004) in *Ciencia y tecnología del tequila; Avances y perspectivas* Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), (ed Gschaedler- Mathis AC) 258-284.
- LÓPEZ-LÓPEZ, A., Davila-Vazquez, G., León-Becerril, E., Villegas-García, E., & Gallardo-Valdez, J. (2010). Tequila vinasses: generation and full scale treatment processes. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 9(2), 109-116.
- MOREIRA-SOUZA, M., Trufem, S. F., Gomes-da-Costa, S. M., & Cardoso, E. J. (2003). Arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. *Mycorrhiza*, 13(4), 211-215.
- POMAR, D. C. V., & de Prager, M. S. (2011). Efecto de vinazas sobre hongos que forman micorriza arbuscular en un Molisol del Valle del Cauca, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 64(1), 5755-5767.
- REIS, V. M., de Paula, M. A., & Döbereiner, J. (1999). Ocorrência de micorrizas arbusculares e da bacteria diazotrófica *Acetobacter diazotrophicus* em cana-de-açúcar. *Pesq. Agropec. Bras.*, 34(10), 1933-1941.
- SANTOS, M., Diánez, F., De Cara, M., & Tello, J. (2008). Possibilities of the use of vinasses in the control of fungi phytopathogens. *Bioresource Technology*, 99(18), 9040-9043.