



Efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* y de la fertilización nitrogenada en el crecimiento de plantas de fresa

Effect of the inoculation with *Glomus intraradices* and nitrogen fertilization on growth of strawberry plants

Salgado-Barreiro, C.S.¹; Bravo-Patiño, A.²; Wang, E.T.³; Cárdenas-Navarro, R.^{1,*}

¹ Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Unidad Posta Veterinaria Zootécnica, Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro. C.P. 58800. Tarímbaro, Michoacán, México.

² Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Unidad Posta Veterinaria Zootécnica, Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro. C.P. 58800. Tarímbaro, Michoacán, México.

³ Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n. Distrito Federal, México.

Recibido 23 marzo 2012; aceptado 18 mayo 2012

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación del HMA *Glomus intraradices* en el crecimiento de las plantas de fresa variedad Camino Real, fertilizadas con 0, 1, 3 y 10 mM de N en forma de NH_4^+ ó NO_3^- . Se realizó un experimento en condiciones de invernadero, en el que se evaluó el porcentaje de colonización, el peso seco de las raíces (PSR) y de la parte aérea (PSPA), a los 33 y 48 días después del establecimiento (dde). El porcentaje de colonización se redujo conforme al incremento de la concentración de NH_4^+ ó NO_3^- en la solución de riego; a los 33 dde, la inoculación de *G. intraradices* incrementó el PSR y el PSPA en las plantas fertilizadas con NH_4^+ ; y a los 48 dde se observó el mismo efecto en las plantas que recibieron NO_3^- . En ambos casos, los valores más altos de biomasa aérea y radical se registraron en las plantas fertilizadas con bajas concentraciones de N. Estos resultados indican que la inoculación con *G. intraradices* tiene el potencial de reducir la aplicación de fertilizantes nitrogenados en el cultivo de fresa. Además, el exceso de N inhibe la colonización de HMA sin incrementar el crecimiento de la planta. Así mismo, el efecto de la inoculación de *G. intraradices*, forma y dosis de fertilizante nitrogenado depende de la fase de crecimiento de la planta.

Palabras clave: *Glomus intraradices*, hongos micorrízicos arbusculares, fertilizantes nitrogenados, *Fragaria x ananassa*, Duch.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of inoculation of AMF *Glomus intraradices* on the growth of strawberry plants (cultivar Camino Real), irrigated with nutrient solutions at 0, 1, 3 and 10 mM of N as NH_4^+ or NO_3^- . An experiment was conducted under greenhouse conditions in which the percentage of root colonization, the root dry weight (RDW) and the shoot dry weight (SDW), were evaluated at 33 and 48 days after the plant establishment (dae). The percentage of root colonization was reduced by the increased concentration of NH_4^+ or NO_3^- in the irrigation solution; at 33 dae, the inoculation of *G. intraradices* increased the RDW and the SDW in plants fertilized with NH_4^+ ; at 48 dae the same effect was observed in plants receiving NO_3^- . In both cases, the highest values of shoot and root biomass were recorded in plants irrigated with low concentrations of N. These results demonstrated that the inoculation of AMF could reduce the N-fertilizer in strawberry crop. Furthermore, the excess of N-fertilizer inhibited the colonization of AMF and was not necessary for increase the plant growth. Also, the growth reaction of strawberry plants to the AMF inoculation, fertilizer form and dose varied in different growth stages.

Keywords: *Glomus intraradices*, arbuscular mycorrhizal fungi, nitrogen fertilizers, *Fragaria x ananassa*, Duch.

* Autor para correspondencia

Email: rcadenasnavarro@gmail.com (R. Cárdenas-Navarro).

1. Introducción

La fresa es un importante fruto comercial en México y otros países. México ocupa la novena posición en la producción de fresa a nivel mundial, y es el principal proveedor de los Estados Unidos, particularmente durante los meses de diciembre a junio, justo cuando las condiciones climáticas son difíciles para la cosecha de la fresa en ese país. El estado de Michoacán aporta el 53% de la producción total nacional (SAGARPA, 2011).

El nitrógeno (N) es uno de los elementos minerales de mayor demanda en el cultivo de fresa (Taghavi *et al.*, 2004; Bull *et al.*, 2005; Cárdenas-Navarro *et al.*, 2006; Santos y Whidden, 2007), debido a que la calidad y la producción del fruto se ven directamente afectados por la disponibilidad de éste elemento (Bull *et al.*, 2005; Vázquez-Gálvez *et al.*, 2008). Los fertilizantes nitrogenados que se emplean en éste cultivo son en la forma iónica de amonio (NH_4^+) o nitrato (NO_3^-). El NH_4^+ es la forma nitrogenada más utilizada, porque es más barata que el NO_3^- y presenta una mayor disponibilidad para las plantas al ser retenido por las partículas con cargas negativas del suelo (Taghavi *et al.*, 2004). Además, después de ser absorbido por la planta es directamente asimilado en aminoácidos, mientras que el NO_3^- , después de su absorción, debe pasar por una serie de procesos enzimáticos con alto costo energético para su incorporación en aminoácidos (Miller y Cramer, 2004; Cárdenas-Navarro *et al.*, 2006).

Las recomendaciones técnicas señalan que las necesidades de N del cultivo de fresa pueden ser cubiertas con alrededor de 231 kg ha^{-1} , menos de la mitad con respecto de las cantidades que la mayoría de los productores aplican en este cultivo, que están por arriba de 600 kg ha^{-1} (Cárdenas-Navarro *et al.*, 2004; Vázquez-Gálvez *et al.*, 2008). Esta excesiva aplicación de N eleva el costo de producción del cultivo y provoca disturbios fisiológicos a la planta al inducir una producción excesiva de área

foliar y una baja producción de flores y frutos (Bull *et al.*, 2004); así como problemas de contaminación ambiental, por la volatilización como óxido nitroso (N_2O) y por la lixiviación, principalmente de nitratos (Galloway *et al.*, 2004; Vázquez-Gálvez *et al.*, 2008; Gilbert, 2011).

Una de las alternativas para reducir la aplicación de los fertilizantes minerales en los sistemas de producción agrícola es el empleo de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Estos hongos habitan los suelos de manera natural y colonizan las raíces de las plantas, estableciendo una simbiosis de tipo mutualista (Linderman, 1986). A través de las hifas intrarradicales y extrarradicales del hongo, se facilita la adquisición de nutrientes minerales hacia las plantas, como N, fósforo (P), zinc (Zn) y cobre (Cu) (Dalpé y Monreal, 2004; Amaya-Carpio *et al.*, 2005). Por otra parte, el hongo se ve favorecido al obtener de 10 a 20% de compuestos de carbono, proveniente de la actividad fotosintética neta realizada por la planta (Allen *et al.*, 2003). En la literatura especializada se reportan resultados variables sobre el efecto de la inoculación de HMA en el crecimiento y producción de fresa, lo cual depende de la especie del hongo inoculado, de el cultivar de fresa utilizado y de las condiciones de cultivo (Niemi y Vestberg, 1992; Vetsberg *et al.*, 2005; Bull *et al.*, 2005).

Por lo anterior, es necesario realizar estudios para evaluar tanto el efecto de dichas variables sobre el crecimiento y la producción de la fresa; como su compatibilidad con el sistema de producción agrícola utilizado. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto en el crecimiento de las plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*, Duch. vr. Camino Real) inoculadas con el HMA *Glomus intraradices* y fertirrigadas con diferentes concentraciones de N en forma de NH_4^+ y NO_3^- .

2. Materiales y métodos

Preparación de suelo

Se utilizó un suelo no esterilizado, colectado de un predio agrícola que frecuentemente se utiliza para el cultivo de fresa en Zamora, Michoacán, México y presentó las siguientes características físico-químicas: textura arcillo-arenosa, nitrógeno orgánico de $17.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, materia orgánica de 2.3%, fósforo $1.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, potasio $504.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, calcio $5799.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, magnesio $1081.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y pH 6.5. El suelo fue cernido y homogeneizado, eliminando piedras y residuos vegetales, para después colocar 380 g en bolsa de polietileno negro calibre 500, con cuatro agujeros en fondo para facilitar el drenaje.

Inóculo

El inóculo del HMA utilizado fue de la especie *Glomus intraradices*, proporcionado *in vitro* por la empresa de fertilizantes biológicos CoSustenta, México. La viabilidad de éste inóculo se evaluó con el método de reducción del reactivo salino con metil-tazol-tetrazolio (MTT) de Mosmann (1983), 72 esporas en 0.5 ml y se obtuvo una viabilidad del 75%.

Plantas de fresa vr. Camino Real

Se utilizaron plantas certificada de fresa vr. Camino Real, importadas de vivero de California a través de la Asociación Agrícola Local de Productores Hortícolas El Duero, A.C., Zamora, Michoacán, México. Previo a su establecimiento se almacenaron a $0\pm 1^\circ\text{C}$. Posteriormente se tomaron muestras de raíces aleatoriamente para evaluar la presencia de HMA, con la técnica de tinción de tinta y vinagre de Vierheilig *et al.* (1998). El resultado de la evaluación fue de cero colonización. A continuación se procedió a la limpieza de las raíces con agua corriente para quitar el exceso de partículas adheridas; después se enjuagaron con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO_3) al 0.5% durante tres minutos, posteriormente se enjuagaron tres veces con agua destilada y se cortaron a

una longitud de 3.0 cm. Finalmente, se estableció una planta por bolsa de polietileno negro con suelo.

Conducción del Experimento

El experimento se realizó en un invernadero en Michoacán, México, bajo las siguientes condiciones: temperatura natural con promedio de 35°C alcanzando una máxima de 38°C y una mínima de 15°C ; una humedad relativa entre 60% a 70% e iluminación solar con una intensidad luminosa máxima de $1300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. El diseño experimental fue completamente aleatorizado con arreglo factorial $2\times 4\times 2$ con cuatro repeticiones. La combinación de estos factores generó 16 tratamientos, que se repitieron cuatro veces, obteniendo 64 unidades experimentales con cinco plantas cada una.

Después de su establecimiento se aplicó 0.5 ml de inóculo *G. intraradices* con una jeringa estéril de 1.0 ml (PLASTIPAK®), cerca de las raíces. Las plantas fueron irrigadas cada tercer día con agua desmineralizada durante 15 días y después fueron fertirrigadas con las soluciones nutritivas correspondientes a su tratamiento. La combinación de los factores concentración de N (0, 1, 3, y 10 mM) y forma iónica del N (NO_3^- ó NH_4^+), generó ocho soluciones nutritivas. Todas las soluciones fueron preparadas con agua desmineralizada, se ajustó a 14 Eq m^{-3} , pH 5.5, CE 2 mS y la concentración H_2PO_4^- fue de 1.0 mM. En las soluciones en las que el N fue proporcionado en forma de NO_3^- , los cationes mantuvieron las siguientes concentraciones (mM): 2 para K^+ ; 3.5 para Ca^{2+} y 1.5 para Mg^{2+} . La concentración de SO_4^{2-} fue de 6.5, 6.0, 5.0 y 1.5; para los tratamientos de 0, 1, 3 y 10 mM de NO_3^- ; respectivamente. En las soluciones en las que la fuente nitrogenada fue el NH_4^+ la concentración de cationes para los tratamientos 0, 1, 3 y 10 mM de NH_4^+ fue, respectivamente, la siguiente (mM): K^+ , 2.0, 2.0, 2.0 y 1.5; Ca^{2+} , 3.0, 2.5, 2.0 y 0.5; Mg , 2.0, 2.0, 1.5 y 0.25. La concentración de SO_4^{2-} se mantuvo

constante en 6.5 mM. Los microelementos fueron proporcionados de manera homogénea para todas las soluciones en las siguientes concentraciones (μM): H_3BO_3 , 20; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.5; Fe-EDTA (ácido etilendiaminotetraacético complejo férrico (III) de sodio), 15; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 12; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.05; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3.

Evaluación y caracterización de las plantas

Se realizaron dos evaluaciones a los 33 y 48 días después del establecimiento (dde). Se evaluó el peso seco de las raíces (PSR) y de la parte aérea (PSPA) durante 72 horas a 80°C (horno Felisa; balanza analítica, Mettler Toledo AT2000). El porcentaje de colonización se evaluó por la técnica de tinción tinta y vinagre (Vierheilig *et al.*, 1998) seguida por el método segmentos de raíces de 1 cm de longitud (Biermann y Linderman, 1981), considerando las estructuras de hifas intrarradicales y vesículas que solamente se evaluaron a los 33 dde. Los efectos de los tratamientos y sus interacciones, se evaluaron con un análisis de varianza (ANOVA) factorial y se utilizó la prueba de Tukey para la comparación de las medias de los niveles de cada factor y de los tratamientos resultantes de la combinación de los factores. Ambas pruebas se realizaron con un intervalo de confianza de 95%, a través del programa SYSTAT 9.01, para Windows (Cranes Software Internacional, Inc. Washington St.).

3. Resultados y discusión

Colonización de *G. intraradices* en raíces

A los 33 dde, las plantas de fresa fertirrigadas con la forma NO_3^- mostraron los siguientes resultados: en relación al porcentaje de colonización, la presencia de estructuras fúngicas se observó sólo en las raíces de las plantas que fueron inoculadas (Figura 1). El porcentaje de colonización disminuyó conforme al incremento de la concentración de NO_3^- en la solución de

riego y el mayor valor de esta variable se presentó en las concentraciones de 0, 1 y 3 mM de NO_3^- . Estos resultados sugieren una mayor compatibilidad entre *G. intraradices* y la planta de fresa vr. Camino Real, en condiciones de baja disponibilidad de NO_3^- . Estos resultados también concuerdan con lo observado en raíces de *Allium schoenoprasum* (Bââth y Spokes, 1989), en *Artemisia vulgaris* (Blanke *et al.*, 2005) y en plantas de fresa (Niemi y Vestberg, 1992), donde el N a altas concentraciones inhibe la colonización de HMA. Sin embargo, Castellanos-Morales *et al.* (2012) reportaron un incremento de la presencia de vesículas en las raíces de plantas de fresa cultivadas en sustrato estéril asociado al aumento de la concentración de N en la solución de riego, a los 49 dde. Estos autores sugieren que el efecto de la disponibilidad del N sobre la colonización de HMA en plantas de fresa depende de las condiciones de cultivo. Las diferencias observadas con estos resultados pueden estar asociadas a que el porcentaje de colonización se evaluó a los 33 dde (18 días con tratamientos nitrogenados), las plantas fueron cultivadas en suelo y se cuantificó la presencia tanto de vesículas como de hifas intrarradicales.

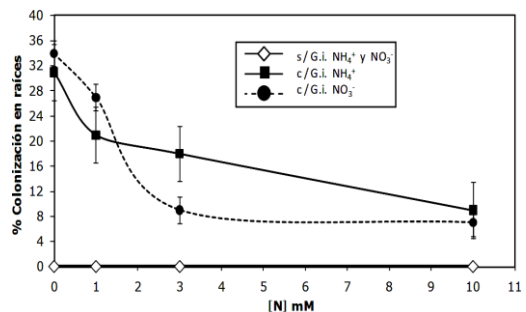


Figura 1. Porcentaje de colonización en raíces de plantas de fresa, sin inoculo (\diamond), con inoculo *G. intraradices*- NO_3^- (\bullet) y con inoculo *G. intraradices*- NH_4^+ (\blacksquare) fertirrigadas a concentraciones de 0, 1, 3 y 10 mM de N los 33dde.

En el caso de las plantas fertirrigadas con NH_4^+ , en esta misma fecha de muestreo, el porcentaje de colonización fue similar al de las plantas fertirrigadas con NO_3^- , sólo

se observaron estructuras del HMA en las raíces de las plantas que fueron inoculadas, el mayor porcentaje de colonización se presentó en las concentraciones de 0 y 1 mM de NH_4^+ y disminuyó conforme se incrementó la concentración de NH_4^+ en la solución de riego (Figura 1). No se observaron diferencias estadísticas en el porcentaje de colonización asociadas a la forma de N utilizada (resultados no mostrados). Estos resultados corroboran que, independientemente de la forma de iónica de N utilizada en la solución de riego, *G. intraradices* mantiene su compatibilidad con las raíces de plantas de fresa var. Camino Real y que la presencia de hifas intraradicales y vesículas, en el parénquima de la raíces, disminuye conforme se incrementa la disponibilidad de N en el medio radical. Johnson *et al.* (1984), reportan niveles de colonización de *Glomus fasciculatum* en crisantemo similares a los de este trabajo, seis semanas

después de la inoculación y pocas diferencias entre plantas fertirrigadas con NH_4^+ o NO_3^- .

Producción de biomasa a los 33 dde

De acuerdo a los resultados que se observan en la Tabla 1, no se presentaron diferencias estadísticas significativas en el PSR y el PSPA, asociadas tanto a la presencia del inoculo, como a la variación de la concentración de NO_3^- . Así mismo, cuando se analiza el efecto de la combinación de estos dos factores, tampoco fue posible observar ningún efecto en los pesos secos. Posiblemente esto se debió al corto tiempo de exposición de las plantas a los factores estudiados (33 dde para la inoculación y 18 dde para la concentración de NO_3^- en el fertirriego), como se reporta en plantas de maíz (Frey y Schuepp, 1993) a los 46 después de la inoculación con *G. intraradices*.

Tabla 1. Efectos de la inoculación con *Glomus intraradices* y la concentración de N en la solución de riego en el peso seco de la raíz (PSR) y peso seco de la parte aérea (PSPA) de plantas de fresa, evaluados a los 33 dde.

Tratamiento	NO_3^-		NH_4^+	
	PSR (g)	PSPA (g)	PSR (g)	PSPA (g)
Inóculo	$p=0.13$	$p=0.62$	$p=0.05$	$p=0.01$
sin	0.158 a	0.302 a	0.164 b	0.363 b
con	0.138 a	0.322 a	0.192 a	0.437 a
Concentración de N (mM)	$p=0.39$	$p=0.83$	$p=0.15$	$p=0.04$
0	0.165 a	0.302 a	0.202 a	0.385 b
1	0.152 a	0.322 a	0.163 a	0.390 b
3	0.140 a	0.330 a	0.162 a	0.362 b
10	0.137 a	0.305 a	0.187 a	0.465 a
Concentración × Inóculo	$p=0.11$	$p=0.03$	$p=0.02$	$p=0.00$
0 × sin	0.133 a	0.273 a	0.223 a	0.370 b
1 × sin	0.147 a	0.263 a	0.130 b	0.303 bc
3 × sin	0.123 a	0.337 a	0.123 b	0.207 c
10 × sin	0.150 a	0.360 a	0.180 ab	0.573 a
0 × con	0.197 a	0.330 a	0.180 ab	0.400 b
1 × con	0.157 a	0.380 a	0.197 ab	0.477 ab
3 × con	0.157 a	0.323 a	0.200 ab	0.517 ab
10 × con	0.123 a	0.250 a	0.193 ab	0.357 b

Las medias por columna y por fuente de variación con letra idénticas son iguales estadísticamente, (Tukey $p \leq 0.05$).

El análisis de los efectos simples de los factores estudiados sobre el PSR muestra que no se generaron diferencias estadísticas por la concentración de NH_4^+ en la solución de riego, posiblemente debido al corto periodo de los tratamientos (18 días), y que las plantas inoculadas con *G. intraradices* presentaron un valor estadísticamente superior en esta variable (Tabla 1). El incremento de la biomasa radical por efecto de la inoculación de HMA ha sido reportado por Amaya-Carpio *et al.* (2005) en plantas de *Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa* inoculadas con seis especies de *Glomus* mas *Gigaspora rosea*. La interacción entre la inoculación con *G. intraradices* y la concentración de NH_4^+ en la solución de riego no resultó estadísticamente significativa, pero si se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos generados por la combinación de estos factores.

En las plantas no inoculadas el PSR más alto se registró en el tratamiento 0 mM de NH_4^+ y disminuyó con la presencia de este ión en la solución de riego; el incremento en la biomasa de las raíces, en respuesta a la baja disponibilidad de N, así como su disminución en altas concentraciones de este elemento, ha sido ampliamente documentado (Hopkins, 1998; Lawlor *et al.*, 2001). Por otra parte, las plantas inoculadas no registraron diferencias entre los tratamientos nitrogenados (Tabla 1). Con respecto al PSPA, el análisis de los efectos simples muestra que los dos factores estudiados generaron diferencias estadísticas sobre esta variable. La biomasa aérea fue mayor en las plantas inoculación con *G. intraradices*, lo que coincide con los resultados de Niemi y Vestberg (1992), quienes reportan un incremento de la biomasa aérea de plantas de fresa variedad *Senga Sengana*, por efecto de la inoculación de *G. mosseae* y *G. intraradices*, comparadas con plantas no inoculadas. En el factor concentración de N en la solución de riego se registró el mayor valor del PSPA en las plantas fertirrigadas con 10 mM de NH_4^+ (Miller y

Cramer, 2004). La combinación de los factores también fue estadísticamente significativa, lo que implica que el efecto de los tratamientos nitrogenados fue contrastante entre las plantas inoculadas y no inoculadas. Al analizar los tratamientos generados por la combinación de los factores estudiados, se observó que la concentración de 10 mM de NH_4^+ en la solución de riego generó el valor más alto y más bajo de biomasa aérea, en las plantas no inoculadas e inoculadas, respectivamente. Estos resultados y el bajo nivel de colonización del HMA registrado en el tratamiento de 10 mM de NH_4^+ , sugieren un efecto inhibitorio del NH_4^+ a altas concentraciones sobre la simbiosis *G. intraradices* - plantas de fresa vr. Camino Real, como se reporta en plantas de crisantemo (Johnson *et al.*, 1984) y en plantas de *Allium schoenoprasum* (Bâath y Spokes, 1989).

Producción de biomasa a los 48 dde

A los 48 dde, el PSR no presentó diferencias estadísticas significativas asociada a la inoculación con *G. intraradices*, pero sí en las concentraciones de NO_3^- en la solución de riego (Tabla 2). Los valores más altos de PSR se registraron en las plantas que fueron irrigadas con 1 y 3 mM de NO_3^- . Este resultado es contrastante con la típico relación negativa entre crecimiento radical y el incremento de la disponibilidad de N, aunque este comportamiento puede variar en función de las condiciones de cultivo y la fuente de N utilizada (Hawkins y George, 2001).

La combinación de los factores también fue estadísticamente significativa, lo que se traduce en un efecto contrastante de los tratamientos nitrogenados en el PSR entre las plantas inoculadas y no inoculadas con *G. intraradices*. En las plantas no inoculadas, el tratamiento de 3 mM de NO_3^- produjo el valor más alto de PSR, mientras que las plantas inoculadas no mostraron diferencias estadísticas en esta variable. En relación con el PSPA, el

análisis de los efectos simples de los factores inoculación con *G. intraradices* y concentraciones de NO_3^- en la solución de riego, no arrojó efectos estadísticamente significativos (Tabla 2). Sin embargo, la combinación de ambos factores si resultó estadísticamente significativa, lo cual implica que el efecto de los tratamiento nitrogenados sobre el PSPA es diferente entre plantas de fresa inoculadas con *G. intraradices* y no inoculadas, como lo reportan Castellanos-Morales *et al.* (2012). En las plantas no inoculadas el PSPA más bajo se registró en el tratamiento 0 mM de NO_3^- y se incrementó con la presencia de este ión en la solución de riego, siguiendo la respuesta típica de incremento en biomasa aérea en función de la disponibilidad de N en el medio radical (Hopkins, 1998; Lawlor *et al.*, 2001). Las plantas inoculadas mostraron un comportamiento contrastante, el PSPA más alto se presentó en el tratamiento 0 mM de NO_3^- y disminuyó con la presencia de este ión en

la solución de riego. Este resultado y la disminución de la colonización radical del HMA por efecto del incremento de la disponibilidad de NO_3^- en el medio radical, denota un efecto inhibitorio de éste ión sobre la simbiosis que establece *G. intraradices* con las plantas de fresa var. Camino Real, tal como se observó en las plantas fertirrigadas con N-NH_4^+ a los 33 dde y en concordancia con el efecto inhibidor del N sobre la simbiosis del HMA y otras plantas de cultivo (Bâath y Spokes, 1989; Blanke *et al.*, 2005).

A diferencia de las plantas fertirrigadas con NO_3^- , en las plantas que recibieron NH_4^+ en esta misma fecha de muestreo, el PSR no presentó diferencias estadísticas asociadas al efecto simple de los factores inoculación con *G. intraradices* y concentración de NH_4^+ en la solución del riego; tampoco en la interacción y en el efecto de los tratamientos generados por la combinación de sus niveles (Tabla 2).

Tabla 2. Efectos de la inoculación con *Glomus intraradices* y la concentración de N en la solución de riego en el peso seco de la raíz (PSR) y peso seco de la parte aérea (PSPA) de plantas de fresa, evaluados a los 48 dde.

Tratamiento	NO_3^-		NH_4^+	
	PSR (g)	PSPA (g)	PSR (g)	PSPA (g)
Inóculo	$p = 0.52$	$p = 0.15$	$p = 0.48$	$p = 0.26$
sin	0.215 a	0.451 a	0.191 a	0.468 a
con	0.209 a	0.497 a	0.182 a	0.506 a
Concentración de N (mM)	$p = 0.00$	$p = 0.73$	$p = 0.51$	$p = 0.03$
0	0.197 b	0.477 a	0.198 a	0.470 ab
1	0.218 ab	0.495 a	0.175 a	0.490 ab
3	0.243 a	0.477 a	0.192 a	0.573 a
10	0.190 b	0.447 a	0.182 a	0.413 b
Concentración x Inóculo	$p = 0.00$	$p = 0.00$	$p = 0.30$	$p = 0.17$
0 x sin	0.187 b	0.367 b	0.210 a	0.417 a
1 x sin	0.183 b	0.563 a	0.173 a	0.427 a
3 x sin	0.290 a	0.650 a	0.210 a	0.600 a
10 x sin	0.177 b	0.407 ab	0.170 a	0.427 a
0 x con	0.207 b	0.587 a	0.187 a	0.523 a
1 x con	0.253 ab	0.427 b	0.177 a	0.553 a
3 x con	0.197 b	0.303 b	0.173 a	0.547 a
10 x con	0.203 b	0.487 ab	0.193 a	0.400 a

Las medias por columna y por fuente de variación, con letra idénticas son iguales estadísticamente, (Tukey $p \leq 0.05$).

En el caso del PSPA, no se observaron diferencias estadísticas asociadas al factor inoculación con *G. intraradices*, pero si al factor concentración de NH_4^+ en la solución del riego. En este caso, el PSPA más alto se registró en las plantas fertirrigadas con 3 mM de NH_4^+ y el más bajo se observó en las plantas que recibieron 10 mM de NH_4^+ en la solución de riego. La reducción del crecimiento por el incremento de la concentración de NH_4^+ en el medio radical de plantas de fresa ya fue reportada por Cárdenas-Navarro *et al.* (2006). La interacción de los factores inoculación con *G. intraradices* y la concentración de NH_4^+ en la solución de riego no resultó estadísticamente significativa y tampoco los tratamientos generados por la combinación de los niveles de ambos factores sobre el PSPA. La falta de efectos de la inoculación de *G. intraradices* sobre la producción de biomasa aérea y radical de las plantas de fresa podría estar asociada a la fuente de nitrogenada.

En resumen, a los 33 dde, las plantas de fresa vr. Camino Real inoculación con *G. intraradices* presentaron un mayor crecimiento vegetativo (PSR y PSPA) cuando fueron fertirrigadas con NH_4^+ y a los 48 dde, este efecto se observó en las plantas que recibieron NO_3^- en la solución de riego. En ambos casos, los valores más altos de biomasa aérea y radical se registraron en las plantas fertirrigadas con bajas concentraciones de N. Los mayores porcentajes de colonización de *G. intraradices* de la raíces se observaron en las plantas que recibieron las concentraciones más bajas de N, tanto en forma NO_3^- como de NH_4^+ . Esto indica que la simbiosis *G. intraradices*-plantas de fresa vr. Camino Real se desarrolla mejor a concentraciones bajas de N, indistintamente de la forma su iónica. Estas condiciones pueden ser apropiadas para reducir la aplicación de altas cantidades de fertilizante nitrogenados en este cultivo, reduciendo los costos de producción, los disturbios fisiológicos de las plantas y la

contaminación ambiental. Es necesario continuar realizando estudios con inóculos mixtos de HMA a concentraciones menores de 3 mM de N en la solución de riego, para evaluar su compatibilidad con el cultivo de fresa y su efecto en el crecimiento, la producción de frutos y la calidad.

4. Conclusiones

Los resultados de éste estudio demuestran que la inoculación de *G. intraradices* de plantas de fresa vr. Camino Real promueve el crecimiento (PSR y el PSPA) cuando se utilizan bajas concentraciones de N en la solución de riego y que el efecto de la forma de nitrógeno utilizada sobre el crecimiento depende la fase de desarrollo de la planta. La inoculación de este HMA en el cultivo de fresa podría generar mejores condiciones para crecimiento de las plantas que la aplicación de alta cantidades de fertilizantes nitrogenados.

Agradecimientos

Agradecemos al Consejo de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por el financiamiento para la realización experimental del estudio a través de los Programas de Investigación 2009 y 2010. Al Dr. Javier Villegas y a CoSustenta S.A de C.V., Michoacán, México por proporcionar el inóculo del HMA.

Referencias bibliográficas

- Allen, M.F.; Swenson, M.; Querejeta, J.J.; Egerton-Warburton, L.M.; Treseder, K.K. 2003. Ecology of the mycorrhizae: A conceptual farmwork for complex interaction among plant and fungi. *Annu. Rev. Phytology* 41: 271-303.
- Amaya-Carpio, L.; Davies, F.T.Jr.; Arnold, M.A. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi, organic and inorganic controlled-release fertilizers: Effect on growth and leachate of container-grown bush morning glory (*Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa*) under high production temperatures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130(1): 13-139.
- Bååth, E.; Spokes, J. 1989. The effect of added nitrogen and phosphorus on mycorrhizal growth response and infection in *Allium schoenoprasum*. *Canadian Journal of Botany* 67(11): 3227-3232, 10.1139/b89-402
- Blanke, V.; Renker, R.; Wagner, M.; Füllner, K.; Held, M.; Kuhn, A.J.; Buscot, F. 2005. Nitrogen supply affects arbuscular mycorrhizal colonization of *Artemisia vulgaris* in a phosphate-polluted field site. *New Phytologist* 166: 981-992.

- Biermann, B.; Linderman, R.G. 1981. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: A proposed method towards standardization. *New Phytol* 87: 63-67.
- Bull, C.; Muromoto, J.; Koike, S.T.; Leap, J.; Shennan, C. 2005. Strawberry cultivars and mycorrhizal inoculants evaluated in California organic production fields. *Plant Management. Network Crop Management* 1-11.
- Cárdenas-Navarro, R.; Sánchez-Yañez, J.M.; Fariás-Rodríguez, R.; Peña-Cabriales, J.J. 2004. Los aportes del Nitrógeno en la agricultura. *Rev. Chapingo. Serie Hortícola* 10(2): 173-178.
- Cárdenas-Navarro, R.; López, P.L.; Lobit, P.; Ruiz-Corro, R.; Castellanos-Morales, V.C. 2006. Effects of nitrogen source on growth and development of strawberry plants. *Journal of Plant Nutrition* 29: 1699-1707.
- Castellanos-Morales, V.C.; Villegas-Moreno, J.; Vierheilig, H.; Cárdenas-Navarro, R. 2012. Nitrogen availability drives the effect of *Glomus intraradices* on the growth of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) plants. *J Sci Food Agric* 1-5.
- Frey, B.; Schüepp, H. 1993. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. *New Phytol* 124, 221-230.
- Dalpé, Y.; Monreal, M. 2004. Arbuscular mycorrhiza inoculum to support sustainable cropping systems. *Plant Management Network* doi: 10.1094.
- Galloway, J.N.; Detender, F.J.; Capone, D.G.; Boyer, E.W.; Howarth, R.W.; Seitzinger, S.P.; Asner, G.P.; Cleveland, C.C.; Green, P.A.; Holland, E.A.; Karl, D.M.; Michaels, A.F.; Porter, J.H.; Townsend, A.R.; Vorosmarty, C.J. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry* 70: 153-226.
- Gilbert, N. 2011. Changes in use of nitrogen fertilizer are key to reducing greenhouse gases. *Nature*. doi: 10.1038.
- Hawkins, H.J.; George, E. 2001. Reduced ¹⁵N-nitrogen transport through arbuscular mycorrhizal hyphae to *Triticum aestivum* L. supplied with ammonium vs. nitrate nutrition. *Annals of Botany* 87: 303-311 doi:10.1006/anbo.2000.1305, available online at <http://www.idealibrary.com>
- Hopkins, W.G. 1998. *Introduction to Plant Physiology*. Ed. John Wiley & Sons, N.Y., U.S.A.
- Johnson, C.R.; Jarrell, W.M.; Menge, J.A. 1984. Influence of ammonium: nitrate ratio and solution pH on mycorrhizal infection, growth and nutrient composition of *Chrysanthemum morifolium* var. Circus. *Plant and Soil* 77,151-157.
- Lawlor, D.; Lemaire, G.; Gastal, F. 2001. Nitrogen and yield. pp 343-367. In: *Plant Nitrogen*. Lea, P.J.; Morot-Gaudry, J.F. Ed. Springer-Verlag-INRA. Berlin, Alemania.
- Linderman, R.G. 1986. Managing rhizosphere microorganisms in the production of horticultural crops. *HortScience* 21: 1299-1306.
- Miller, A.J.; Cramer, M.D. 2004. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil* 0: 1-36.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. of Immunological Methods* 65(1-2): 55-63.
- Niemi, M.; Vestberg, M. 1992. Inoculation of commercially grown strawberry with VA mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 144: 132-142.
- SAGARPA. 2011. Secretaria de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (Online) Disponible en: www.sagarpa.gob.mx
- Santos, B.M.; Whidden, A.J. 2007. Nitrogen fertilization of strawberry cultivars: Is preplant starter fertilizer needed? Serie: HS1116 del Departamento de Ciencias Hortícolas del Instituto de Ciencias Agrícolas y Alimentarias de la Universidad de Florida. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu>
- Taghavi, T.S.; Babalar, M.; Ebadi, A.; Ebrahimzadeh, H.; Asgari, M.A. 2004. Effects of nitrate to ammonium ratio on yield and nitrogen metabolism of strawberry (*Fragaria x ananassa* cv. Selva). *Int. J. Agri. Biol.*, 6: 994-997.
- Vázquez-Gálvez, G.; Cárdenas-Navarro, R.; Lobit, P. 2008. Efecto del nitrógeno sobre el crecimiento y rendimiento de fresa regada por goteo y gravedad. *Agricultura Técnica en México* 34: 235-241.
- Vestberg, M.; Saari, K.; Kukkonen, S.; Hurme, T. 2005. Micotrophy of crops in rotation and soil amendment with peat influence the abundance and effectiveness of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi in field soil. *Mycorrhiza*. 15: 447-458.
- Vierheilig, H.; Coughlan, A.P.; Wyss, U.; Piche, Y. 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 5004-5007.

