

ESTACIONALIDAD Y MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS DE ILAMA (*Annona diversifolia* Saff.) EN HUERTOS NATURALES DEL TRÓPICO SECO

Seasonality and Rhizosphere Microorganisms of Ilama (*Annona diversifolia* Saff.) in Natural Orchards in the Dry Tropics

J. Cortes-Sarabia^{1,2}, J. Pérez-Moreno^{1‡}, J. Delgadillo M.¹, R. Ferrera-Cerrato¹ y G. Ballesteros-Patrón²

RESUMEN

La ilama (*Annona diversifolia* Saff.) es una planta tropical nativa del suroeste de México y Centroamérica de gran importancia regional por la alta calidad de sus frutos. A pesar de su gran importancia, ha quedado de lado el estudio de los microorganismos rizosféricos y los hongos micorrícicos en esta planta. Asimismo, los estudios de la influencia de la estacionalidad en los microorganismos rizosféricos en áreas tropicales han recibido escasa atención. En el presente estudio se evalúan las poblaciones de microorganismos rizosféricos, incluyendo los hongos micorrícico arbusculares, asociados con tres edades de ilama y cuatro épocas del año. Las poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato fueron mayores en épocas con mayor precipitación. En contraste, las poblaciones de hongos y actinomicetes fueron mayores en épocas de sequía. La mayor colonización micorrícica total se encontró en el mes con mayor precipitación (agosto) en plantas de uno a ocho meses y de 4 a 20 años. La densidad de esporas fue mayor en épocas con menor precipitación y bajas temperaturas. Hasta donde se conoce, éste es el primer estudio de los microorganismos rizosféricos asociados con *Annona diversifolia* y uno de los pocos estudios que analiza la influencia de la estacionalidad en las poblaciones de microorganismos rizosféricos en árboles tropicales. Este estudio muestra que los diferentes grupos microbianos asociados con la rizosfera de plantas

de ilama han sido afectados diferencialmente por la estacionalidad y la demanda nutrimental de las plantas.

Palabras clave: defoliación, micorriza arbuscular, comunidades microbianas, Annonaceae, factores abióticos.

SUMMARY

The ilama (*Annona diversifolia* Saff.) is a native tropical plant from Southwestern Mexico and Central America of great regional importance due to the high quality of their fruit. Despite its importance, rhizosphere microorganisms and mycorrhizal fungi of ilama have not been studied. Furthermore, studies related to the influence of seasonality on rhizosphere microorganisms in tropical areas are insufficient. In the present study, the populations of rhizosphere microorganisms, including arbuscular mycorrhizal fungi, associated with three plant ages and four seasons of the year were evaluated. The populations of nitrogen fixing and P-solubilizing bacteria were higher in the months with the highest precipitation. In contrast, the populations of fungi and actinomycetes were higher in the dry season. The highest mycorrhizal colonization in ilama plants was observed in the month with the highest precipitation (August) in 1 to 8 month-old and 4 to 20 year-old plants. The highest density of spores was observed in the season without precipitation and with low temperature. This is the first study of rhizosphere microorganisms associated with *Annona diversifolia* and one of the few studies where the influence of seasonality on rhizosphere microorganisms is analyzed in tropical trees. This study shows that the populations of rhizosphere microorganisms were differentially affected by seasonality and by nutrient demand of plants.

Index words: defoliation, arbuscular mycorrhiza, microbial communities, Annonaceae, abiotic factors.

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. 56230 Montecillo, Estado de México.

[‡]Autor responsable (jperez@colpos.mx)

²Instituto Tecnológico de Ciudad Altamirano. 40660 Altamirano, Guerrero, México.

INTRODUCCIÓN

La ilama (*Annona diversifolia* Saff.) es una especie tropical nativa de las colinas de la costa suroeste de México y Centroamérica (Pinto *et al.*, 2005). Su nombre científico hace alusión a los dos tipos de hojas que posee: obovadas pecioladas y brácteas redondeadas no pecioladas que crecen en la base de las ramas pequeñas (FAO, 1994). Este árbol tropical deciduo que alcanza alturas de 7 a 8 m, produce frutos que han sido apreciados desde la época prehispánica, pues se consideraron la natilla de los aztecas. (Ochse *et al.*, 1965; Morton, 1987). A su vez, dichos productos poseen un gran potencial económico para los pobladores de regiones marginales en tierras bajas y cálidas del sureste de México, debido a su apreciado sabor, aroma y a los colores púrpura, rosa y blanco de su pulpa. Adicionalmente, se ha registrado que esta planta posee efectos ansiolíticos, analgésicos, antiinflamatorios, antiepilépticos y anticonvulsivos (González-Trujano *et al.*, 2001; López-Rubalcava *et al.*, 2006).

Debido a que esta planta prospera en suelos con bajos contenidos de nitrógeno (N) y fósforo (P), y posee escasos sistemas radicales, la asociación de microorganismos simbióticos en su raíz resulta fundamental para la adquisición y traslocación nutrimental en esta especie. Adicionalmente, el efecto de la estacionalidad en las comunidades de microorganismos rizosféricos en general y de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en particular, se ha estudiado poco en regiones tropicales (Cleveland *et al.*, 2004). Por ejemplo, Ramos-Zapata *et al.* (2006) evaluaron el efecto de la estacionalidad en el porcentaje de la colonización micorrícica en palma *Desmoncus orthacanthus* Martius, en un bosque tropical maduro. Dichos autores encontraron que los mayores porcentajes de colonización micorrícica, en condiciones naturales para cuatro estadios definidos de crecimiento de esta palma, se presentaron en las épocas de mayor precipitación. Asimismo, De Oliveira y De Oliveira (2005) al estudiar dos especies de árboles frutales tropicales *Theobroma grandiflorum* y *Pullinia cupana*, encontraron que en *T. grandiflorum*, la colonización de HMA y el número de esporas estaba estrechamente relacionada con la precipitación pluvial, la textura y la concentración de magnesio (Mg) y potasio (K).

En el presente trabajo se estudió el efecto de la estacionalidad sobre las poblaciones rizosféricas,

incluyendo los HMA, de plantas de ilama de tres edades en cuatro épocas del año en huertos naturales del suroeste del estado de Guerrero, México. La hipótesis que se planteó fue que en las épocas con mayor precipitación y con mayor demanda nutrimental por las plantas (épocas de llenado de fruto y presencia de frutos maduros) existirían mayores poblaciones microbianas funcionales (bacterias solubilizadoras de fosfatos y fijadoras de N y arbusculos de hongos micorrícicos arbusculares) en comparación con las existentes en épocas de menor precipitación y menor demanda nutrimental por las plantas (épocas de defoliación completa o parcial).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los muestreos se efectuaron en huertos naturales ubicados en San Antonio de las Huertas, Tlapehuala, estado de Guerrero, México. Dicha localidad se encuentra a 18°16' 39" N y 100°31' 03" O, a una altitud de 360 m.

Se estudiaron las poblaciones de microorganismos rizosféricos en plantas de ilama de tres edades: 1) de 1 a 8 meses; 2) de 1 a 3 años y 3) de 4 a 20 años. Se muestrearon 10 plantas de cada edad, distribuidas en áreas naturales de 140 m² de extensión en cuatro épocas del año, durante 2005 y 2006: a) agosto (llenado de fruto); b) octubre (presencia de frutos maduros); c) enero (inicio de defoliación) y d) marzo (defoliación completa y formación de yemas nuevas). Con la finalidad de asegurar que las recolectas se efectuaran en los mismos individuos, éstos fueron marcados con pintura y cintas de plástico, excepto los de 1 a 8 meses de edad en los cuales los muestreos fueron destructivos. El muestreo consistió en coleccionar alrededor de 15 g de raíz y 1 kg de suelo para cada edad, en cada época del año. El suelo en el área de estudio presentó textura franco-arenosa, con 57, 24 y 19% de arena, limo y arcilla, respectivamente. Sus características químicas fueron: pH, 6.6; materia orgánica (MO), 6.8%, y conductividad eléctrica (CE), 0.09 dS m⁻¹. El contenido de N total, P Olsen y K intercambiable fue de 0.34%, 20 mg kg⁻¹ y 0.5 mol kg⁻¹, respectivamente. El N, P y K se determinaron según Bremner (1965), Olsen *et al.* (1954) y el método de extracción de acetato de amonio por emisión atómica, respectivamente.

Se evaluaron las unidades formadoras de colonias (UFC) de hongos, actinomicetos, bacterias totales y bacterias solubilizadoras de fosfatos, mediante conteo

en placa. Este método consistió en obtener diluciones decimales seriadas, de suelo rizosférico en agua destilada estéril desde 10^{-1} hasta 10^{-9} . Posteriormente, se inocularon dichas diluciones en los medios de cultivos sólidos correspondientes en cajas de Petri, por quintuplicado. El conteo de microorganismos se efectuó en las placas que contenían de 30 a 300 colonias. Los medios de cultivo sólidos empleados fueron: papa dextrosa agar, Czapeck, agar nutritivo y Pikovskaya (Pikovskaya, 1948), respectivamente. Con el mismo método se evaluaron las poblaciones de bacterias con características similares a las bacterias fijadoras de N pertenecientes a los grupos de *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Beijerinckia* spp. y *Derxia* spp., en los medios de cultivo, NFb (Rennie, 1980), LG para *Azotobacter*, LG para *Beijerinckia* y LG para *Derxia* (Lipman, 1903), respectivamente. Se efectuó una caracterización macro y micromorfológica para los géneros de bacterias mencionadas anteriormente. Adicionalmente, para *Azospirillum* se empleó el medio de cultivo NFb propuesto por Tarrand *et al.* (1978) y para *Azotobacter*, *Beijerinckia* y *Derxia* se empleó como fuente de carbono en el medio LG sacarosa, glucosa y almidón, respectivamente (Rennie, 1981). Las evaluaciones se efectuaron entre 3 y 8 días después de la siembra, dependiendo de los grupos microbianos. Para cada edad, en cada época del año, se sembraron tres diluciones con cinco repeticiones para cada uno de los medios de cultivo empleados. Todas las placas se incubaron a 28 °C. Se evaluó la colonización micorrícica de las raíces y el número de esporas en suelo rizosférico, para cada edad, en cada época del año. Se determinó el porcentaje de colonización de arbusculos, vesículas, hifas y colonización total para cada planta, según Phillips y Hayman (1970). Para cada muestra de raíz se evaluaron 75 campos visuales en 25 segmentos de raíces montadas en lactoglicerol. Asimismo, se evaluó la densidad de esporas de hongos micorrícicos arbusculares en 100 g de suelo rizosférico de cada planta, siguiendo la técnica de Gerdemann y Nicolson (1963).

Análisis estadístico

Los datos que se obtuvieron en las diferentes variables evaluadas se sometieron a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$). Para satisfacer los criterios de normalidad y homogeneidad de varianzas, los valores de UFC se

transformaron a logaritmos previo a los análisis de varianza respectivos. En el caso de los valores de colonización micorrícica, expresados como porcentajes, los datos se transformaron, y sus arcosenos se utilizaron en los análisis de varianza, para satisfacer los mismos criterios que en el caso de UFC. Los datos se analizaron con el programa estadístico SAS 8.0 (SAS Institute, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron variaciones en las UFC registradas en medios sólidos en los cuatro muestreos efectuados. En términos generales, se observaron dos tendencias: a) Las UFC de hongos totales y actinomicetes fueron más abundantes en la rizosfera de plantas defoliadas en la época de secas (marzo), independientemente de la edad de los árboles; por ejemplo, las UFC de actinomicetes registrados en el mes de marzo, considerando las tres edades de árboles, fueron conspicuamente superiores a las registradas en el mes de agosto (21×10^6 versus 13×10^6 UFC por g de suelo seco; $n = 9$; $P = 0.05$) y b) Las UFC de bacterias totales y bacterias solubilizadores de fosfatos (Cuadro 1) y las bacterias fijadoras de N de vida libre en general (Cuadro 2) fueron más abundantes en la rizosfera de plantas con hojas en época de mayor precipitación (agosto) comparadas con plantas parcialmente o totalmente defoliadas en las épocas de menor o nula precipitación. Por ejemplo, las UFC de bacterias en fuente combinada de carbono registradas en el mes de agosto, considerando las tres edades de árboles, fueron evidentemente superiores a las registradas en el mes de marzo (44×10^6 versus 14×10^5 UFC por g de suelo seco; $n = 9$; $P = 0.05$).

Adicionalmente, existió una evidente variación en la dinámica estacional de las estructuras micorrícicas estudiadas (Cuadro 3). En términos generales, las mayores colonizaciones micorrícicas totales se registraron en las épocas cuando las plantas tenían hojas y existió mayor precipitación (agosto y octubre). Independientemente de la edad de las plantas, los menores porcentajes de arbusculos se presentaron siempre en plantas con defoliación completa en la época de sequía (marzo), mientras que los mayores porcentajes de dichas estructuras se registraron en las plantas con hojas en las épocas de mayor precipitación (agosto y octubre). Los mayores porcentajes de vesículas se observaron en la etapa previa a la defoliación y sequía

Cuadro 1. Poblaciones de microorganismos aislados de la rizosfera de plantas de ilama (*Annona diversifolia* Saff.) en tres edades y cuatro estadios fenológicos.

Edad de las plantas y grupos de microorganismos	Estadio fenológico de las plantas [†]			
	I	II	III	IV
- - - Unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco - - -				
Plantas de 1 a 8 meses				
Hongos totales [‡]	4.18 x 10 ⁶ c	0.15 x 10 ⁶ d	15.61 x 10 ⁶ b	564 x 10 ⁶ a
Actinomicetes [§]	1.39 x 10 ⁶ b	55.30 x 10 ⁶ a	41.13 x 10 ⁶ a	15.45 x 10 ⁶ a
Bacterias totales [¶]	844 x 10 ⁶ a	5.53 x 10 ⁶ c	18.61 x 10 ⁶ b	0.12 x 10 ⁶ d
Bacterias solubilizadoras de fostatos [#]	587 x 10 ⁶ a	280 x 10 ⁶ a	16.36 x 10 ⁶ b	21.74 x 10 ⁶ b
Plantas de 1 a 3 años				
Hongos totales	12.80 x 10 ⁶ b	1.20 x 10 ⁶ c	5.84 x 10 ⁶ c	567.9 x 10 ⁶ a
Actinomicetes	0.39 x 10 ⁶ b	4.82 x 10 ⁶ a	14.55 x 10 ⁶ a	14.30 x 10 ⁶ a
Bacterias totales	39.30 x 10 ⁶ a	64.3 x 10 ⁶ b	1.08 x 10 ⁶ c	0.18 x 10 ⁶ d
Bacterias solubilizadoras de fostatos	3.50 x 10 ⁶ a	24.7 x 10 ⁶ b	0.93 x 10 ⁶ c	1.57 x 10 ⁶ c
Plantas de 4 a 20 años				
Hongos totales	133 x 10 ⁶ a	6.96 x 10 ⁶ b	0.19 x 10 ⁶ c	658.2 x 10 ⁶ a
Actinomicetes	10 x 10 ⁶ b	6210 x 10 ⁶ a	229.3 x 10 ⁶ ab	1013 x 10 ⁶ a
Bacterias totales	655 x 10 ⁶ a	83.70 x 10 ⁶ b	63.69 x 10 ⁶ b	7.25 x 10 ⁶ b
Bacterias solubilizadoras de fostatos	12.20 x 10 ⁶ b	446 x 10 ⁶ a	0.13 x 10 ⁶ c	14.94 x 10 ⁶ b

[†] I: Llenado de fruto (agosto); II: Presencia de frutos maduros (octubre); III: Inicio de defoliación (enero); IV: Defoliación completa y formación de yemas nuevas (marzo). [‡] Contabilizados en medio sólido de papa dextrosa agar con rosa de bengala (Beever y Bollard, 1970); [§] Contabilizados en medio sólido Czapeck; [¶] Contabilizada en medio sólido de agar nutritivo; [#] Contabilizadas en medio sólido de Pikovskaya (Pikovskaya, 1948). Valores en la misma fila con la misma letra no son diferentes (Tukey $P = 0.05$). $n = 3$.

(octubre). En el caso de las hifas, la mayor proporción se registró en las plantas defoliadas en épocas de sequía (enero y marzo).

Las poblaciones de microorganismos del suelo y la colonización micorrícica en condiciones naturales se encuentran influenciadas por diversos factores dentro de los cuales se incluyen: a) condiciones ambientales, tales como humedad y temperatura del suelo; b) fenología y estadio fisiológico de las plantas hospederas y c) tasa de crecimiento radical y fúngico (Brundrett, 2002; Cleveland *et al.*, 2003; 2004; 2007). Las comunidades microbianas realizan importantes funciones en los suelos dentro de las que se incluyen la descomposición de MO y la mineralización de los nutrientes. En la actualidad, la influencia de la estacionalidad y de los factores abióticos en la actividad microbiana se ha estudiado principalmente en suelos de zonas templadas, mientras que las áreas tropicales han sido escasamente estudiadas (Cleveland *et al.*, 2004). De manera similar a lo encontrado en diversos grupos microbianos estudiados en el presente trabajo, Cleveland *et al.* (2004) encontraron que la comunidad microbiana fue menor en la estación seca en comparación con la estación lluviosa. Hamel *et al.*

(2006) encontraron que eventos climáticos, como un incremento conspicuo en precipitación, constituyen los principales factores de la variación estacional que afectan la biomasa microbiana del suelo. En el presente estudio, se observó, de manera similar a lo encontrado por dichos autores, que en la época de mayor precipitación (agosto) algunos grupos microbianos, como las bacterias totales, presentaron las mayores poblaciones, independientemente de la edad de las plantas.

En lo que respecta a la colonización micorrícica, los mayores porcentajes de colonización total se observaron (en plantas muy jóvenes y maduras) en la época de mayor precipitación (agosto) en comparación con las épocas con menor o sin precipitación. Una tendencia similar fue registrada recientemente por Ramos-Zapata *et al.* (2006) para la palma *Desmoncus orthacanthus* Martius, en un bosque tropical maduro. Dichos autores encontraron que los mayores porcentajes de colonización micorrícica, en condiciones naturales para cuatro edades definidas de crecimiento de esta palma, se presentaron en las épocas de mayor precipitación. Adicionalmente, se ha considerado con frecuencia que un indicador mas

Cuadro 2. Poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre aisladas de la rizosfera de ilama (*Annona diversifolia* Saff.) en tres edades y cuatro estadios fenológicos.

Edad de las plantas y medio de cultivo sólido [†]	Estadio fenológico de las plantas [‡]			
	I	II	III	IV
- - - Unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco - - -				
Plantas de 1 a 8 meses				
NFB	10.30 x 10 ⁶ a	85.80 x 10 ⁶ a	0.22 x 10 ⁶ c	6.24 x 10 ⁶ b
FCC	597 x 10 ⁶ a	26.50 x 10 ⁶ b	1.04 x 10 ⁶ c	1.66 x 10 ⁶ c
LG (<i>Azotobacter</i> spp.)	99.40 x 10 ⁶ a	9.46 x 10 ⁶ b	1.03 x 10 ⁶ b	1.53 x 10 ⁶ b
LG (<i>Beijerenckia</i> spp.)	696 x 10 ⁶ a	13.50 x 10 ⁶ b	27.66 x 10 ⁶ b	245 x 10 ⁶ a
LG (<i>Derxia</i> spp.)	14.50 x 10 ⁶ a	19.70 x 10 ⁶ c	71.67 x 10 ⁶ b	35.46 x 10 ⁶ b
Plantas de 1 a 3 años				
NFB	0.49 x 10 ⁶ b	21.20 x 10 ⁶ a	0.01 x 10 ⁶ d	0.11 x 10 ⁶ c
FCC	26.60 x 10 ⁶ a	53.50 x 10 ⁶ a	1.78 x 10 ⁶ b	1.47 x 10 ⁶ b
LG (<i>Azotobacter</i> spp.)	9.50 x 10 ⁶ a	0.15 x 10 ⁶ c	9.48 x 10 ⁶ b	0.85 x 10 ⁶ d
LG (<i>Beijerenckia</i> spp.)	20.20 x 10 ⁶ a	0.18 x 10 ⁶ c	0.23 x 10 ⁶ c	5.51 x 10 ⁶ b
LG (<i>Derxia</i> spp.)	398 x 10 ⁶ a	0.2 x 10 ⁶ d	42.15 x 10 ⁶ b	5.51 x 10 ⁶ c
Plantas de 4 a 20 años				
NFB	550 x 10 ⁶ a	390 x 10 ⁶ a	2.09 x 10 ⁶ c	14.33 x 10 ⁶ b
FCC	46.10 x 10 ⁶ b	122 x 10 ⁶ a	1.11 x 10 ⁶ c	1.02 x 10 ⁶ c
LG (<i>Azotobacter</i> spp.)	13.70 x 10 ⁶ a	0.11 x 10 ⁶ c	1.37 x 10 ⁶ b	0.11 x 10 ⁶ c
LG (<i>Beijerenckia</i> spp.)	34 x 10 ⁶ a	1.05 x 10 ⁶ b	3.40 x 10 ⁶ b	10.50 x 10 ⁶ a
LG (<i>Derxia</i> spp.)	27.80 x 10 ⁶ a	0.24 x 10 ⁶ c	12.13 x 10 ⁶ a	3.56 x 10 ⁶ b

[†]NFB = medio de malato libre de nitrógeno utilizado para evaluar *Azospirillum* spp. FCC = fuente combinada de carbono (Rennie, 1980) utilizado para evaluar bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre. Medio LG = medio para *Azotobacter* spp., *Beijerenckia* spp. y *Derxia* spp, medios específicos utilizados para evaluar bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre (Buchanan y Gibbons, 1974). [‡]I = llenado de fruto (agosto); II = presencia de frutos maduros (octubre); III = inicio de defoliación (enero); IV = defoliación completa y formación de yemas nuevas (marzo). Valores en la misma hilera con la misma letra no son diferentes (Tukey $P = 0.05$). $n = 3$.

preciso que la colonización micorrícica total es la presencia de arbusculos (McGonigle *et al.*, 1990; Gange y Ayres, 1999), a pesar de que éstas son estructuras muy efímeras, cuya duración puede ser de 3 a 7 días (Mohammad *et al.*, 1998). En la presente evaluación se observó un mismo patrón de distribución de colonización por arbusculos, independientemente del estadio de las plantas. Los mayores porcentajes de arbusculos se observaron en las épocas de mayor precipitación y también se observó una marcada reducción de presencia de arbusculos en las épocas sin precipitación. De hecho, en la época en la cual existió una defoliación completa (enero) no se detectó presencia de arbusculos, en ninguno de los estadios vegetales estudiados. Debido a que los arbusculos son estructuras que están involucradas directamente en la traslocación nutricional de la interfase planta-hongo (Smith y Read, 1997), la ausencia de arbusculos en la época sin precipitación podría ser indicador entonces de una ausencia de traslocación substancial de N y P del suelo

a las plantas de ilama, vía HMA. Esto parece lógico para plantas carentes de hojas en un ambiente sin agua, independientemente de su edad. En contraste, los mayores porcentajes de arbusculos, registrados en la época de mayor precipitación, correspondieron a la época de llenado de fruto, época en la cual la demanda nutricional de las plantas de ilama es considerablemente alta.

Otro factor que pudo influir en la colonización micorrícica, en términos de arbusculos y vesículas, en el presente estudio, fue la temperatura de los meses muestreados. Las mayores temperaturas se alcanzan en marzo en las áreas muestreadas y es en esta fecha de muestreo cuando no se detectaron arbusculos o vesículas, independiente de la edad de las plantas. En el caso del número de esporas en el suelo existieron variaciones substanciales en las distintas fechas de muestreo. Las reducciones más dramáticas se apreciaron entre los meses de enero (con una temperatura diaria promedio de 25.5 °C) y marzo (con una temperatura

Cuadro 3. Porcentaje de colonización micorrícica y frecuencia de esporulación intrarradical en plantas de ilama (*Annona diversifolia* Saff.) en tres edades y cuatro estadios fenológicos.

Edad de las plantas	Estadio fenológico de las plantas †			
	I	II	III	IV
	- - - - - % - - - - -			
Plantas de 1 a 8 meses				
Colonización total	95.6a	64.3c	89.0b	42.6d
Arbúsculos	90.8a	53.5a	37.5b	0
Vesículas	5.2b	13.4a	0	0
Hifas	38.5c	13.0d	84.3a	42.3b
Esporas intrarradicales	25.3	52	6.7	4.8
Plantas de 1 a 3 años				
Colonización total	85.3c	82.6d	98.1a	94.0b
Arbúsculos	73.3a	78.8a	52.8b	0
Vesículas	9.3b	29.1a	12.7b	0
Hifas	70.9b	14.4c	85.2a	93.4a
Esporas intrarradicales	16	33.3	4	36
Plantas de 4 a 20 años				
Colonización total	95.6a	84.2c	87.4b	68.1d
Arbúsculos	89.1a	78.7a	47.9b	0
Vesículas	14.5b	26.2 a	19.8a	0
Hifas	67.0b	1.2c	67.0b	68.0a
Esporas intrarradicales	9.3	54.7	7.1	0

†I: Llenado de fruto (mes de agosto); II: Presencia de frutos maduros (mes de octubre); III: Inicio de defoliación (mes de enero); IV: Defoliación completa y formación de yemas nuevas (mes de marzo). Valores en la misma fila con la misma letra no son diferentes según Tukey ($P = 0.05$). $n = 3$.

diaria promedio de 30.2 °C) dado que el número de esporas en el suelo se redujo 87, 80 y 67% para las edades de 1 a 8 meses, 1 a 3 años y 4 a 30 años, respectivamente. Previamente, diversos autores (Monz *et al.*, 1994; Gavito *et al.*, 2005) han estudiado la influencia de la temperatura en los HMA y han encontrado que el incremento en la temperatura afecta el crecimiento de algunas especies de HMA. Gavito *et al.* (2005) encontraron que a 30 °C algunas de las especies de HMA inhibieron su crecimiento de micelio externo. En términos generales, en las épocas con mayor precipitación y mayor demanda nutrimental por las plantas, se observaron las mayores cantidades de arbúsculos en comparación con las observadas en las épocas de menor precipitación y de menor demanda nutrimental (Figura 1). La presencia de los arbúsculos puede ser indicadora de un mayor suministro de nutrimentos por parte de los hongos micorrícicos en las épocas de mayor demanda por las plantas, dado que se conoce que dichas estructuras son responsables de la traslocación nutrimental del suelo a los simbiontes vegetales asociados a la simbiosis micorrícica (Smith y

Read, 1997). Adicionalmente, en las épocas de mayor demanda nutrimental para las plantas, se registraron las mayores poblaciones de bacterias fijadoras y solubilizadoras de fosfatos, las cuales pudieron estar implicadas también en el suministro de N y P hacia las plantas. El estudio de la simbiosis micorrícica ha recibido escasa atención en el género tropical *Annona*. Existen escasos estudios en los cuales se mencione el carácter micorrícico de especies del género *Annona* (Azcon-Aguilar *et al.*, 1996; Manjarrez-Martinez *et al.*, 2005; Padilla y Encina, 2005). Debido a los altos porcentajes de colonización micorrícica observados y a la gran variación estacional registrada en las estructuras micorrícicas, se puede considerar que una mayor comprensión de las relaciones micorrícicas de *Annona diversifolia* Saff. puede contribuir a mejorar la propagación y el cultivo de esta especie tropical con fines económicos. En función de los resultados encontrados, se puede señalar que existen al menos dos tipos de estudios que resultarían de enorme interés para la comprensión de las relaciones que se establecen entre microorganismos rizosféricos y las plantas de ilama. El primero está relacionado con estudiar cómo las condiciones microambientales (como humedad, características físicas y químicas del suelo de micrositos) afectan la presencia y el desarrollo de microorganismos rizosféricos asociados con ilama. El segundo está relacionado con desarrollar estudios de aislamiento, selección y propagación de microorganismos benéficos nativos, incluidos los hongos micorrícicos arbusculares y las bacterias fijadoras de N, con la finalidad de inocular plantas para mejorar su nutrición mineral y reducir sus tiempos de estancia en vivero, lo cual tiene una implicación práctica.

CONCLUSIONES

Las poblaciones de microorganismos rizosféricos asociadas con plantas de ilama fueron afectadas diferencialmente por la estacionalidad. Las poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato fueron mayores en épocas con mayor precipitación. En contraste, las poblaciones de hongos y actinomicetes fueron mayores en épocas secas. La mayor colonización micorrícica total y arbúsculos se encontró en épocas con menor temperatura y mayor precipitación (agosto) en plantas jóvenes y adultas. Asimismo, las poblaciones rizosféricas de bacterias

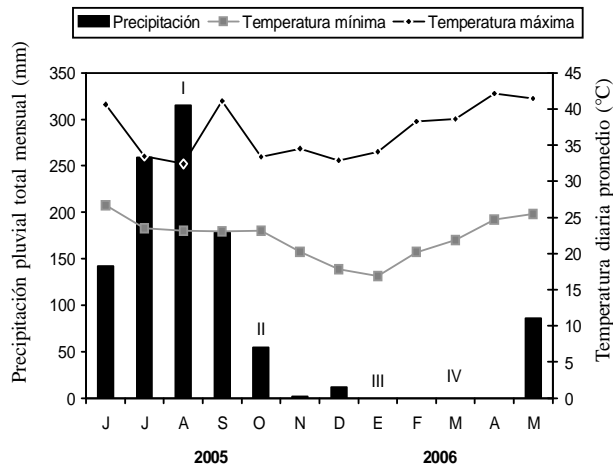


Figura 1. Precipitación pluvial y temperaturas máximas y mínimas en Ciudad Altamirano, Guerrero durante la recolecta de muestras en plantas de ilama, en cuatro etapas fenológicas: I: Follaje completo y llenado de fruto (mes de agosto); II: Follaje completo y presencia de frutos maduros (mes de octubre); III: Inicio de defoliación y presencia de hojas senescentes (mes de enero); IV: Defoliación completa y formación de yemas nuevas (mes de marzo).

solubilizadoras de fosfatos y fijadoras de nitrógeno estuvieron también influenciadas por la demanda nutrimental de las plantas de ilama. Se encontraron mayores poblaciones de dichos grupos microbianos en las épocas de llenado de fruto y presencia de frutos maduros, en comparación con las épocas en las cuales las plantas estuvieron parcial o totalmente defoliadas.

LITERATURA CITADA

- Azcón-Aguilar, C., I. G. Padilla, C. L. Encina, R. Azcon, and J. M. Barea. 1996. Arbuscular mycorrhizal inoculation enhances plant growth and changes root system morphology in micropropagated *Annona cherimola* Mill. *Agronomie* 16: 647-652.
- Beever, R. and E. Bollard. 1970. The nature of simulation of fungal growth by potato extract. *J. Gen. Microbiol.* 60: 273-279.
- Bremner, J. M. 1965. Total nitrogen. pp. 1149-1178. *In: C. A. Black (ed.). Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.*
- Brundrett, M. C. 2002. Co-evolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol.* 154: 275-304.
- Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons (eds.). 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology.* 8th ed. Williams and Wilkins. Baltimore, MD, USA.
- Cleveland, C. C., A. R. Townsend, S. K. Schmidt, and B. C. Constance. 2003. Soil microbial dynamics and biogeochemistry in tropical forests and pastures, southwestern Costa Rica. *Ecol. Appl.* 13: 314-326.
- Cleveland, C. C., A. R. Townsend, S. K. Schmidt, and B. C. Constance. 2004. Soil microbial dynamics in Costa Rica: seasonal and biogeochemical constraints. *Biotropica* 36: 184-195.
- Cleveland, C. C., D. R. Nemergut, S. K. Schmidt, and A. R. Townsend. 2007. Increases in soil respiration following labile carbon additions linked to rapid shifts in soil microbial community composition. *Biogeochemistry* 82: 229-240.
- De Oliveira, A. and L. de Oliveira. 2005. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in plants of *Theobroma grandiflorum* Schum and *Paullinia cupana* Mart. of an agroforest system in Central Amazonia, Amazonas state, Brazil. *Brazilian J. Microbiol.* 36: 262-270.
- Food and Agriculture Organization. 1994. Neglected Crops: 1492 from a different perspective. pp. 47-62. *In: J. E. Hernando Bermejo and J. León (eds.). Plant production and protection. FAO. Rome, Italy.*
- Gerdemann, J. W. and T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46: 235-244.
- Gavito, M. E., P. A. Olsson, H. Rouhier, A. Medina-Penafiel, I. Jakobsen, A. Bago, and C. Azcon-Aguilar. 2005. Temperature constraints on the growth and functioning of root organ cultures with arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 168: 179-188.
- Gange, A. C. and R. Ayres. 1999. On the relation between arbuscular mycorrhizal colonization and plant "benefit". *Oikos* 87: 615-621.
- González-Trujano, M. E., A. Navarrete, B. Reyes, P. E. Cedillo, and E. Hong. 2001. Anticonvulsant properties and bio-guided isolation of palmitone from leaves of *Annona diversifolia*. *Plant Medic.* 67: 136-141.
- Hamel, C., K. Hanson, F. Selles, A. F. Cruz, R. Lemke, B. McConkey, and R. Zentner. 2006. Seasonal and long-term resource-related variations in soil microbial communities in wheat-based rotations of the Canadian prairie. *Soil Biol. Biochem.* 38: 2104-2116.
- López-Rubalcava, C., B. Pina-Medina, R. Estrada-Reyes, G. Heinze, and M. Martínez-Vázquez. 2006. Anxiolytic-like actions of the hexane extract from leaves of *Annona cherimolla* in two anxiety paradigms: possible involvement of the GABA/benzodiazepine receptor complex. *Life Sci.* 78: 730-737.
- Manjarrez-Martínez, M. J., A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato. 2005. Fertilización foliar en plantas de *Annona cherimola* Mill. inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares. *Terra Latinoamericana* 23: 553-562.
- McGonigle, T., M. H. Miller, D. L. G. Evans, G. L. Fairchild, and J. A. Swan. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501.
- Mohammad, M., W. Pan, and A. Kennedy. 1998. Seasonal mycorrhiza colonization of winter wheat and its effect on wheat growth under field conditions. *Mycorrhiza* 8: 139-144.
- Monz, C. A., H. W. Hunt, F. B. Reeves, and E. T. Elliot. 1994. The response of mycorrhizal colonization to elevated CO₂ and climate change in *Pascopyrum smithii* and *Bouteloua gracilis*. *Plant Soil* 165: 75-80.
- Morton, J. 1987. Ilama. pp. 83-85. *In: F. J. Morton (ed.). Fruits of warm climates. Creative Resource Systems. Miami, FL, USA.*
- Ochse, J. J., M. J. Soule Jr., M. J. Dijkman y C. Wehlborg. 1965. Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales. Vol. 2. Continental. México, D. F.

- Olsen, S. R., C. V. Cole, F. S. Wantable, and L. A. Dean. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Circular 939. US Department of Agriculture. Washington, DC, USA.
- Padilla, I. M. G. and C. L. Encina. 2005. Changes in root morphology accompanying mycorrhizal alleviation of phosphorus deficiency in micropropagated *Annona cherimola* Mill. plants. *Sci. Hortic.* 106: 360-369.
- Pinto, A. C. de Q., M. C. R. Cordeiro, S. R. M. Andrade, F. R. Ferreira, H. A. Filgueiras, R. E. Alves, and D. I. Kimpara. 2005. *Annona* species. International Centre for Underutilized Crops, University of Southampton. Southampton, UK.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- Pikovskaya, R. I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* 17: 362-370.
- Ramos-Zapata, J. A., R. Orellana, and E. B. Allen. 2006. Mycorrhizal dynamics and dependence of *Desmoncus orthacanthos* Martius (Arecaceae), a native palm of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Interciencia* 5: 364-370.
- Rennie, R. J. 1980. N- isotope dilution as a measure of dinitrogen fixation by *Azospirillum brasilense* associated with maize. *Can. J. Bot.* 58: 21-24.
- Rennie, R. J. 1981. A single medium for the isolation of acetylene-reducing (dinitrogen-fixing) bacteria from soils. *Can. J. Microbiol.* 27: 8-14.
- SAS Institute. 1999. SAS user's guide, Ver 8.0. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Smith, S. and D. A. Read. 1997. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press. San Diego, CA, USA.
- Tarrand, J. J., N. R. Krieg, and J. Döbereiner. 1978. A taxonomic study of *Spirillum lipoferum* group with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. Nov. *Can. J. Microbiol.* 24: 967-980.