

PRODUCCIÓN DE INÓCULO MICORRÍZICO DE *Gigaspora gigantea* EN MEZCLAS DE SUSTRATOS CON DIFERENTE TAMAÑO DE PARTÍCULA

MYCORRHIZAL INOCULUM PRODUCTION OF *Gigaspora gigantea* IN GROWING MEDIA AND PARTICLE SIZE

Arturo Jiménez-Martínez¹, M. Carmen A. González-Chávez^{1*}, M. Carmen Gutiérrez-Castorena¹,
M. Encarnación Lara-Hernández¹, J. Luis García-Cue²

¹Edafología, ²Estadística. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (carmeng@colpos.mx).

RESUMEN

Existe poca información acerca de la influencia del tamaño de las partículas y de las propiedades físicas y químicas de los sustratos usados para la producción de inoculante micorrízico. El objetivo de este estudio fue evaluar el número de esporas, colonización de la raíz, peso seco de la parte aérea y de la raíz, y volumen radical producidos por plantas de lechuga inoculadas con *Gigaspora gigantea* en 12 sustratos elaborados con diferente tamaño de partículas. Los sustratos se prepararon con dos tipos de bonote de coco (*Cocos nucifera*): granular (Bg) y fibroso (Bf) en mezcla con piedra pómez (P) y tezontle (T), con tres granulometrías (<0.6 mm, 0.6-1 mm, 1-2 mm) en proporción 3:1 v/v, excepto Gc:P:T (1-2 mm) en proporción 6:1:1 v/v. Como testigo se usó la mezcla con turba:agrolita:vermiculita (Tur:A:V) a granel en proporción 2:1:1 v/v. *Lactuca sativa* var. King Henry se usó como planta hospedera. El experimento se evaluó 75 d después de la siembra con un ANDEVA y comparación de medias (Tukey ≤ 0.05). El estudio micromorfológico y análisis de imágenes determinó la interacción sustrato-raíz-esporas. La mayor colonización micorrízica ($p \leq 0.05$) ocurrió en Tur:A:V a granel, Bg:P:T 1-2 mm y con la granulometría de 0.6-1 mm. El mayor número de esporas (20 esporas g⁻¹ sustrato seco) se obtuvo en Tur:A:V a granel ($p \leq 0.05$). Los sustratos con tamaño de partícula <0.6 mm y 0.6-1 mm favorecieron positivamente las variables de respuesta de la planta hospedera ($p \leq 0.05$). El estudio micromorfológico mostró que las esporas se relacionan con los componentes Bg:P:T y se alojan en la superficie rugosa de las vesículas fracturadas de tezontle. El sustrato Bg:T:P (1-2 mm) se recomienda como sustituto de Turb:A:V a granel para la producción de *Gi. gigantea*.

ABSTRACT

There is little information about the influence of particle size and the physical and chemical properties of the growing media used for mycorrhizal inoculum production. The objective of this study was to evaluate the number of spores, root colonization, aerial and root dry biomass, and root volume produced by lettuce plants inoculated with *Gigaspora gigantea* in 12 substrates made with different size particles. Growing media were prepared with two types of coconut coir (*Cocos nucifera*): granular (Gc) and fibrous (Fc) mixed with pumice (P) and volcanic scoria (locally called tezontle T), with three granulometries (<0.6 mm, 0.6-1 mm, 1-2 mm) in a ratio 3:1 v/v, except Gc:P:T (1-2 mm) in a ratio 6:1:1 v/v. The control treatment consisted of a mixture of peat:agrolite:vermiculite (Pe:A:V) in bulk material with a 2:1:1 v/v ratio. *Lactuca sativa* var. King Henry was used as host plant. The experiment was evaluated 75 d after sowing with an analysis of variance and comparison of means (Tukey ≤ 0.05). The micromorphological study and image analysis determined the interaction of growing media-root-spores. The highest mycorrhizal colonization ($p \leq 0.05$) occurred in Pe:A:V in bulk materials, Gc:P:T 1-2 mm and with granulometry of 0.6-1 mm. The highest number of spores (20 spores g⁻¹ dry growing medium) was obtained in Pe:A:V in bulk ($p \leq 0.05$). Growing media with particle size <0.6 mm and 0.6-1 mm positively favored the response variables of the host plant ($p \leq 0.05$). The micromorphological study showed that the spores are related to the components Gc:P:T and reside in the rough surface of the fractured vesicles of tezontle (volcanic residue). Growing medium of Gc:T:P (1-2 mm) is recommended as a substitute of Pe:A:V in bulk materials for the production of *Gi. gigantea*.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: junio, 2013. Aprobado: marzo, 2014.

Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 48: 239-254. 2014.

Key words: granulometry, mycorrhizae, spores, *Lactuca sativa* L. var. King Henry, *Gigaspora gigantea*.

Palabras clave: granulometría, micorriza, esporas, *Lactuca sativa* L. var. King Henry, *Gigaspora gigantea*.

INTRODUCCIÓN

La micorriza arbuscular es la asociación simbiótica de tipo mutualista que ocurre entre hongos del phylum Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001) y más del 80 % de las plantas terrestres en todos los ecosistemas (Feldmann *et al.*, 1989). Debido a los múltiples beneficios que le confieren a su planta hospedera, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son importantes como inoculantes para estimular la sobrevivencia y crecimiento de las plantas en semilleros y viveros, donde se utilizan sustratos inertes, estériles o fumigados (Sharma *et al.*, 2000; Varela-Fregoso y Trejo, 2001).

Para propagar a los HMA se utiliza comúnmente arena, la cual es un sustrato que permite alta colonización y producción de esporas; sin embargo, debido a su peso, el manejo en cantidades altas es difícil. Otros materiales usados para la propagación de estos hongos son turba, perlita, vermiculita, arcillas expansivas, diversos residuos forestales y agrícolas, y tezontle (Jakobsen *et al.*, 1992; Jarstfer y Sylvia, 1999; Douds *et al.*, 2010).

Según Saif (1981), el sustrato ideal para la propagación de HMA debe permitir el establecimiento funcional de la simbiosis micorrízica y ayudar a la provisión de agua y aire para el crecimiento de los simbiontes involucrados. Además debe ser ligero, de bajo costo y con alta disponibilidad (González-Chávez *et al.*, 2000; González-Chávez, 2002).

En su mayoría, los sustratos se usan a granel, lo que incrementa su variabilidad. Según Anicua-Sánchez *et al.* (2009), el tamaño de partícula es factor determinante para el desarrollo de las plantas, porque las propiedades físicas y químicas de los sustratos dependen de la granulometría de los componentes. Gutiérrez-Castorena *et al.* (2011) usaron mezclas de bonote de coco granular:tezontle (Bg:T) y bonote de coco granular:piedra pómez (Bg:P) con granulometría de 1-2 mm y proporción 75:25 (v/v), y mediante estudios micromorfológicos mostraron que en estas mezclas hay un sistema de poros heterogéneo y distribución en bandas, lo que permitió la percolación y la retención de humedad óptima para el desarrollo de plántulas de lechuga.

Hay poca investigación que considere el tamaño de partícula en la producción de inoculante de HMA

INTRODUCTION

Arbuscular mycorrhiza is the mutualistic symbiotic association that occurs between fungi of the phylum Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001) and more than 80 % of the terrestrial plants in all of the ecosystems (Feldman *et al.*, 1989). Due to the multiple benefits which they confer to the host plant, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are important as inoculants to stimulate the survival and growth of the plants in seedbeds and nurseries, which use inert, sterile or fumigated growing media (Sharma *et al.*, 2000; Varela-Fregoso and Trejo, 2001).

To propagate the AMF, sand is commonly used. This is a growing medium that allows high colonization and spore production; however, due to its weight, its management in great quantities is difficult. Other materials used for the propagation of these fungi are peat, perlite, vermiculite, expansive clays, diverse forest and agricultural residues, and tezontle (volcanic residue) (Jakobsen *et al.*, 1992; Jarstfer and Sylvia, 1999; Douds *et al.*, 2010).

According to Saif (1981), the ideal growing medium for the propagation of AMF should permit the functional establishment of mycorrhizal symbiosis and help the provision of water and air for the growth of the symbionts involved. It should also be light, economical and highly available (González-Chávez, 2002).

For the most part, growing media are used in bulk, which increases their variability. According to Anicua-Sánchez *et al.* (2009), particle size is a determining factor for plant development, because the physical and chemical properties of the growing media depend on the granulometry of the components. Gutiérrez-Castorena *et al.* (2011) used mixtures of granular coconut coir: tezontle (Gc:T) and granular coconut coir:pumice (Gc:P) with granulometry of 1-2 mm and a 75:25 (v/v) ratio, and with morphological studies they showed that in these mixtures there is a system of heterogeneous pores and bands distribution, which allows the percolation and optimal moisture retention for the development of lettuce seedlings.

There is a limited amount of research that considers particle size in the production of AMF in different growing media (Gaur and Andholeya, 2000; Drew *et al.*, 2003; Ridgway *et al.*, 2006). Little is also known of the influence of the physical

en diferentes sustratos (Gaur y Andholeya, 2000; Drew *et al.*, 2003; Ridgway *et al.*, 2006). También se conoce poco sobre la influencia de las propiedades físicas y químicas del sustrato usado en la producción de inoculantes y la interacción entre las partículas del sustrato con la raíz y las estructuras micorrízicas. Con base en lo anterior, la hipótesis fue que los sustratos con diferente granulometría que afectan el crecimiento de las plantas, también influyen en la producción de propágulos micorrízicos (raíces colonizadas y número de esporas) durante la producción de un inoculante.

En este estudio se seleccionó el hongo micorrízico *Gigaspora gigantea* porque pertenece a una familia poco estudiada (Gigasporaceae) y difiere en su estructura y función del género más común *Glomus*. Especies de *Gigaspora* responden más a perturbaciones por el gran tamaño de sus esporas (200 a 600 μm), a los niveles de fertilidad de N y P, al enriquecimiento de CO_2 en el suelo y la colonización dentro y fuera de la raíz varía ampliamente con respecto a otros géneros micorrízicos (Johnson, 2010).

Los objetivos del presente estudio fueron: 1) seleccionar un sustrato para la producción de *Gi. gigantea*; 2) evaluar la capacidad de *Gi. gigantea* para colonizar y producir esporas en sustratos hechos con base en mezclas de bonote, piedra pómez y tezontle; 3) comparar el uso del bonote de coco (fibroso y granular) en mezclas con piedra pómez y tezontle en tres tamaños de partículas en la producción de esporas de *Gi. gigantea*; 4) estudiar en secciones delgadas la interacción sustrato-raíz-esporas en diferentes sustratos de propagación de *Gi. gigantea*. Con los resultados se espera sugerir un sustrato alternativo a la turba de menor costo, pero que permita la propagación de *Gi. gigantea*, definir el uso de los dos tipos de bonote de coco disponibles en el mercado, así como mostrar evidencias de la interacción raíz-hongo por influencia del tipo de sustrato.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del inóculo madre

Gigaspora gigantea es la especie tipo del género *Gigaspora*. Sus esporas se caracterizan por su gran tamaño (entre 200 y 600 μm , en promedio 324 μm (n=110), pero puede alcanzar hasta 812 μm de diámetro) y su color amarillo verdoso (Blaszkowski, 2014). El inóculo micorrízico de *Gi. gigantea* se propagó durante

and chemical properties of the growing media used in the production of inoculants and the interaction between the particles of the growing media with the root and the mycorrhizal structures. Based on this, the hypothesis was that the growing media with different granulometry that affect plant growth also influence production of mycorrhizal propagules (colonized roots and number of spores) during the production of an inoculant.

For this study the mycorrhizal fungus *Gigaspora gigantea* was selected because it belongs to a little studied family (Gigasporaceae), which differs in structure and function from the more common genus *Glomus*. Species of *Gigaspora* respond more to disturbances due to the large size of their spores (200 to 600 μm), to the fertility levels of N and P, to the enrichment of CO_2 in the soil and the colonization within and outside of the root varies widely compared to other mycorrhizal genera (Johnson, 2010).

The objectives of the present study were: 1) to select a growing medium for the production of *Gi. gigantea*; 2) to evaluate the capacity of *Gi. gigantea* to colonize and produce spores in growing media made with mixtures of coconut coir, pumice and tezontle; 3) to compare the use of coconut coir (fibrous and granular) in mixtures with pumice and tezontle in three particle sizes in the spore production of *Gi. gigantea*; 4) to study the interaction growing medium-root-spores in different mixtures of propagation of *Gi. gigantea* in thin sections. From the results, it is expected to suggest an alternative growing medium to peat that is more economical, but which permits the propagation of *Gi. gigantea*, to define the use of the two types of coconut coir available in the market, and to show evidence of the interaction of root-fungus from the influence of the type of growing media.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of the mother inoculum

Gigaspora gigantea is the species type of the genus *Gigaspora*. Its spores are characterized by their large size (between 200 and 600 μm), average 324 μm (n=110), but may reach 812 μm diameter) and its greenish yellow color (Blaszkowski, 2014). The mycorrhizal inoculum of *Gi. gigantea* was propagated for three months in pots with sorghum plants (*Sorghum bicolor* L.) and dwarf cempasúchil (*Tagetes erecta* L.) as host plants. Sterile sand

tres meses en macetas con plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) y cempasúchil enano (*Tagetes erecta* L.) como plantas hospederas. Arena estéril se usó como sustrato. Las plantas se regaron cada tercer día con solución nutritiva Hoagland baja en fósforo [20 μ M]. Después de ese tiempo, las plantas hospederas se dejaron de regar para propiciar la esporulación del hongo.

Preparación de los sustratos

Los sustratos se prepararon con base en tres granulometrías (<0.6 mm, 0.6-1 mm y 1-2 mm) de bonote de coco fibroso (Bf) y granular (Bg), y se mezclaron en proporción 3:1 con tezontle (T) o piedra pómez (P), respectivamente. Esta granulometría se seleccionó con base en información obtenida por Anicua *et al.* (2009) y Hernández-Escobar (2009), quienes seleccionaron granulometría entre 1 y 2 mm o mayor a ésta. En el presente estudio se decidió comparar con tamaños de partícula menores. El sustrato Bg:P:T se preparó con granulometría de 1-2 mm y en proporción 6:1:1. La mezcla con turba, agrolita y vermiculita en proporción 2:1:1 se utilizó como tratamiento testigo, por ser la turba uno de los sustratos comúnmente usados en las primeras etapas de desarrollo de plantas de interés hortícola y ornamental (Arenas y Vavrina, 2002). Los sustratos experimentales fueron 12: Bf:T, Bf:P, Bg:T, Bg:P (<0.6 mm y 0.6-1 mm), Bf:T, Bf:P, Bg:P:T (1-2 mm) y Tur:A:V a granel. Los sustratos se esterilizaron 1 h a 121 °C, 15 Lb de presión, y después se airearon 24 h. En cada sustrato se evaluaron la densidad aparente y real (según Ansorena, 1994) y se calculó el espacio poroso total y la curva de retención de humedad después de 24 h (de Boodt *et al.*, 1974). El pH se determinó con un potenciómetro Orion research modelo 601 digital 101 Analyzer y la conductividad eléctrica (CE) con un conductímetro modelo 09-325-360 Fisher Brand®.

Diseño del experimento

El experimento se estableció con los 12 sustratos, los cuales se inocularon con 40 ± 1 esporas por maceta (250 mL) en la siembra de lechuga (*Lactuca sativa* var. King Henry) como planta hospedera (una semilla por maceta). Las plantas se mantuvieron 75 d y diariamente se regaron con solución nutritiva Hoagland baja en fósforo [20 μ M]. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones y el diseño fue completamente al azar. Las variables de respuesta fueron: porcentaje de colonización micorrízica total por el método descrito por Koske y Gemma (1989); después del clareo y tinción de las raíces por la técnica de Phillips y Hayman (1970). El número total de esporas por gramo de sustrato seco se contó después de su extracción por el método de Gerdemann y Nicolson (1963). Se determinó el peso seco de la parte aérea y de la raíz, y volumen radical. El experimento se desarrolló entre

was used as growing medium. The plants were watered every third day with Hoagland nutritive solution low in phosphorus [20 μ M]. After this time, the host plants were not watered in order to propitiate the sporulation of the fungus.

Preparation of the growing media

The growing media were prepared based on three granulometries (<0.6 mm, 0.6-1 mm, and 1.2 mm) of fibrous (Fc) and granular coconut coir (Gc), mixed in a ratio of 3:1 with tezontle (T) or pumice (P), respectively. This granulometry was selected based on information obtained by Anicua *et al.* (2009) and Hernández-Escobar (2009), who selected granulometry between 1 and 2 mm or larger. In the present study it was decided to compare with smaller particle sizes. The Gc:P:T mixture was prepared with granulometry of 1-2 mm and in a 6:1:1 ratio. The mixture with peat, agrolite and vermiculite in a 2:1:1 ratio was used as control treatment because peat is one of the growing media commonly used in the first stages of development of plants of horticultural and ornamental interest (Arenas and Vavrina, 2002). The experimental growing media were 12: Fc:T, Fc:P, Gc:T, Gc:P (<0.6 mm and 0.6-1 mm), Fc:T, Fc:P, Gc:P:T (1-2 mm) and Pe:A:V in bulk. They were sterilized 1 h at 121 °C, 15 Lb of pressure, after which they were left to aerate for 24 h. In each growing medium apparent and real density were evaluated (according to Ansorena, 1994) and total porous space and moisture retention curve were calculated after 24 h (de Boodt *et al.*, 1974). The pH was determined with an Orion research potentiometer model 601 digital 101 analyzer, and electrical conductivity (EC) with a Fisher Brand® conductimeter model 09-325-360.

Experimental design

The experiment was established with 12 growing media, which were inoculated with 40 ± 1 spores per pot (250 mL) in the lettuce crop (*Lactuca sativa* var. King Henry) as host plant (one seed per pot). The plants were grown for 75 d and watered daily with Hoagland nutritive solution low in phosphorus [20 μ M]. Each treatment had four replicates and the design was completely randomized. The response variables were: percentage of total mycorrhizal colonization by the method described by Koske and Gemma (1989); after clearing and staining of the roots by the technique described by Phillips and Hayman (1970). The total number of spores was counted per gram of dry growing medium after their extraction by the method of Gerdemann and Nicolson (1963). Aerial and root dry biomass, and radical volume were determined. The experiment was carried out between July and October of 2011 in a greenhouse (average

julio y octubre de 2011 en invernadero (temperatura promedio 21 °C e intensidad luminosa de 5820.05 Wcm⁻²) en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México.

Análisis micromorfológico

Para el análisis micromorfológico y de imágenes se usó una repetición de cada tratamiento. Las macetas inalteradas con sustrato y raíces se secaron al aire y se impregnaron con resina poliéster insaturada y monómero de estireno en proporción 7:3 (Murphy, 1986). Las secciones delgadas se prepararon y en cada una se tomaron seis microfotografías con objetivo de 2X (0.6×1 mm) en un microscopio petrográfico marca Olympus® bajo luz polarizada plana y cruzada. Las imágenes se procesaron con el programa Image-Pro Plus, versión 5.0 para cuantificar la porosidad. Los rasgos morfológicos se escribieron de acuerdo al Manual de Bullock *et al.* (1985) enfatizando la porosidad (dentro y entre partículas), distribución de esporas y sistema radical de planta.

Análisis de datos

Los datos se analizaron con estadísticos descriptivos, diagramas de crecimiento, ANDEVA ($p \leq 0.05$) y comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Todas las variables fueron sometidas a la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($\alpha = 0.05$). Sólo el porcentaje de esporas no presentó una distribución normal, por lo cual los datos se transformaron a través de logaritmos naturales (ln), los datos transformados se sometieron a la prueba Shapiro-Wilk ($\alpha = 0.05$) y fue aceptado el requisito de homocedasticidad para realizar el ANDEVA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades físicas y químicas de los sustratos

Tur:A:V a granel presentó el pH más bajo (5.3). La conductividad eléctrica fluctuó de 56.9 a 165.8 y Bg:P:T 1-2 mm tuvo valor menor. Los sustratos con granulometría <0.6 mm y 0.6-1 mm, excepto de Bg:P, presentaron la densidad aparente más alta. Bf:P y Bf:T (1-2 mm), y Tur:A:V a granel tuvieron menor densidad real en contraste con Bf:T, Bg:P, Bg:T, Bg:P (<0.6 mm y 0.6-1 mm), que tuvieron los valores más altos. El sustrato con mayor espacio poroso total (EPT) fue Bf:P 1-2 mm, mientras que los de menor EPT fueron Bf:P y Bg:P (<0.6) y Tur:A:V a granel (Cuadro 1). Gutiérrez-Castorena *et al.* (2011) reportaron propiedades físicas y químicas similares a las observadas en este estudio. En la literatura revisada

temperature 21 °C and light intensity of 5820.05 Wcm⁻²) at the Colegio de Postgraduados, Montecillo Campus, Estado de México.

Micromorphological analysis

A replicate of each treatment was used for the micromorphological and image analyses. Unaltered pots with growing media and roots were air dried and impregnated with unsaturated polyester resin and styrene monomer in a 7:3 ratio (Murphy, 1986). Thin sections of the growing media were prepared and six microphotographs were taken for each of them with objective of 2X (0.6×1 mm) in an Olympus® petrographic microscope under plane and crossed polarized light. Porosity was quantified in the images using the program Image-Pro Plus, version 5.0. Morphology features were described following the manual of Bullock *et al.* (1985) emphasizing porosity (inter and intra particles), spore distribution pattern and radical plat system.

Analysis of data

The data were analyzed with descriptive statistics, growth diagrams, ANOVA ($p \leq 0.05$) and comparison of means with the Tukey test ($p \leq 0.05$). All of the variables were subjected to the normality test of Shapiro-Wilk ($\alpha = 0.05$). Only the percentage of spores did not present a normal distribution; therefore the data were transformed by mean of natural logarithms (nl). Then the transformed data were subjected to the test of Shapiro-Wilk ($\alpha = 0.05$) and the homocedasticity requisite was accepted to carry out the ANOVA.

RESULTS AND DISCUSSION

Physical and chemical properties of the growing media

Pe:A:V in bulk presented the lowest pH (5.3). Electric conductivity fluctuated from 56.9 to 165.8 and Gc:P:T 1-2 mm showed the lowest value. The growing media with granulometry <0.6 mm and 0.6-1 mm, except of Gc:P, presented the highest apparent density. Fc:P and Fc:T (1-2 mm), and Pe:A:V in bulk had lower real density in contrast to Fc:T, Gc:P, Gc:T, Gc:P (<0.6 mm and 0.6-1 mm), which showed the highest values. The growing medium with the highest total porous space (TPS) was Fc:P 1-2 mm, while these with the lowest TPS were Fc:P and Gc:P (<0.6 mm) and Pe:A:V in bulk (Table 1). Gutiérrez-

Cuadro 1. Características físicas y químicas de los sustratos.
Table 1. Physical and chemical characteristics of the growing media.

Tamaño partícula	Sustrato	pH	CE [†] $\mu\text{mhos cm}^{-1}$	Da g cm^{-3}	Dr g cm^{-3}	EPT %
< 0.6 mm	Bf:T	6.9 (0.33)	148.3 (4.10)	0.6 (0.01)	2.5 (0.01)	80.9 (0.7)
	Bg:T	6.7 (0.16)	155.7 (12.3)	0.5 (0.01)	2.5 (0.06)	82.6 (0.4)
	Bf:P	6.5 (0.14)	141.4 (27.2)	0.5 (0.01)	1.0 (0.10)	73.7 (1.3)
	Bg:P	6.2 (0.15)	165.8 (16.8)	0.4 (0.00)	2.5 (0.01)	78.3 (1.0)
0.6-1 mm	Bf:T	6.5 (0.27)	150.7 (5.50)	0.4 (0.01)	2.3 (0.01)	84.1 (0.6)
	Bg:T	6.4 (0.11)	150.2 (30.4)	0.4 (0.01)	2.7 (0.10)	82.0 (0.7)
	Bf:P	6.3 (0.19)	147.7 (27.0)	0.4 (0.01)	2.2 (0.01)	82.7 (0.1)
	Bg:P	6.3 (0.15)	124.6 (17.0)	0.5 (0.01)	2.2 (0.06)	81.6 (0.46)
1-2 mm	Bf:T	6.2 (0.35)	158.7 (20.0)	0.2 (0.01)	2.4 (0.09)	86.1 (0.6)
	Bf:P	6.2 (0.12)	137.0 (23.0)	0.2 (0.01)	2.1 (0.11)	91.1 (0.5)
	Bg:P:T	6.2 (0.01)	56.9 (7.1)	0.4 (0.39)	2.4 (0.03)	83.8 (0.2)
A granel	Tur:A:V	5.3 (0.04)	108.2 (6.3)	0.2 (0.01)	1.2 (0.12)	78.9 (1.91)
	DMS	0.784	73.455	0.042	0.353	3.414

[†]CE: conductividad eléctrica, Da: densidad aparente, Dr: densidad real, EPT: espacio poroso total ♦ EC: electric conductivity, Ad: apparent density, Rd: real density, TPS: total porous space.

DMS: diferencia mínima significativa. Para cada una de estas propiedades en cada sustrato, se presenta el promedio y la desviación estándar entre paréntesis, n=3 ♦ LSD: least significant difference. The average and standard deviation are presented in parenthesis for each one of these properties in each substrate, n = 3.

no se encontraron recomendaciones para la selección de sustratos en la producción de inoculantes micorrízicos que se basen en las propiedades físicas y químicas de los mismos.

Los sustratos con granulometría <0.6 mm (Figura 1A) tuvieron una capacidad menor de retención de agua que los de tamaño de partícula mayor 1-2 mm (Figura 1C). Sin embargo, en los sustratos con granulometría menor, el agua se retuvo con mayor fuerza al aumentar la tensión (50 y 100 kpa). Por tanto, éstos no liberaron el agua fácilmente comparados con los sustratos de granulometría más alta. Por el contrario, a mayor tamaño de partícula la capacidad de retener el agua a tensión cero aumentó, pero se perdió con facilidad a las diferentes tensiones (Figuras 1B y 1C). Lo anterior concuerda con los resultados de Gutiérrez-Castorena *et al.* (2011), quienes reportaron que las mezclas Bg:T y Bg:P (75:25 v:v) con granulometría 1-2 mm, presentaron la mayor capacidad de retención de humedad y favorecieron el mejor crecimiento de plantas de lechuga.

Castorena *et al.* (2011) reported similar physical and chemical properties to these observed in this study. In the reviewed literature no recommendations were found for the selection of growing media for the production of mycorrhizal inoculants based on their physical and chemical properties.

The growing media with granulometry <0.6 mm (Figure 1A) had lower water retention capacity than those of particle size larger than 1-2 mm (Figure 1C). However, in the growing media with smaller granulometry, the water was retained with greater force as the tension increased (50 and 100 kpa). Therefore, they do not release water easily compared to the growing media of higher granulometry. In contrast, the larger the particle size, the bigger the capacity to retain water at zero tension, but it was easily lost at the different tensions (Figures 1B and 1C). This is in agreement with the results of Gutiérrez-Castorena *et al.* (2011) who reported that the mixtures Gc:T and Gc:P (75:25 v:v) with granulometry 1-2 mm, presented the highest capacity of moisture retention and favored the best growth of lettuce plants.

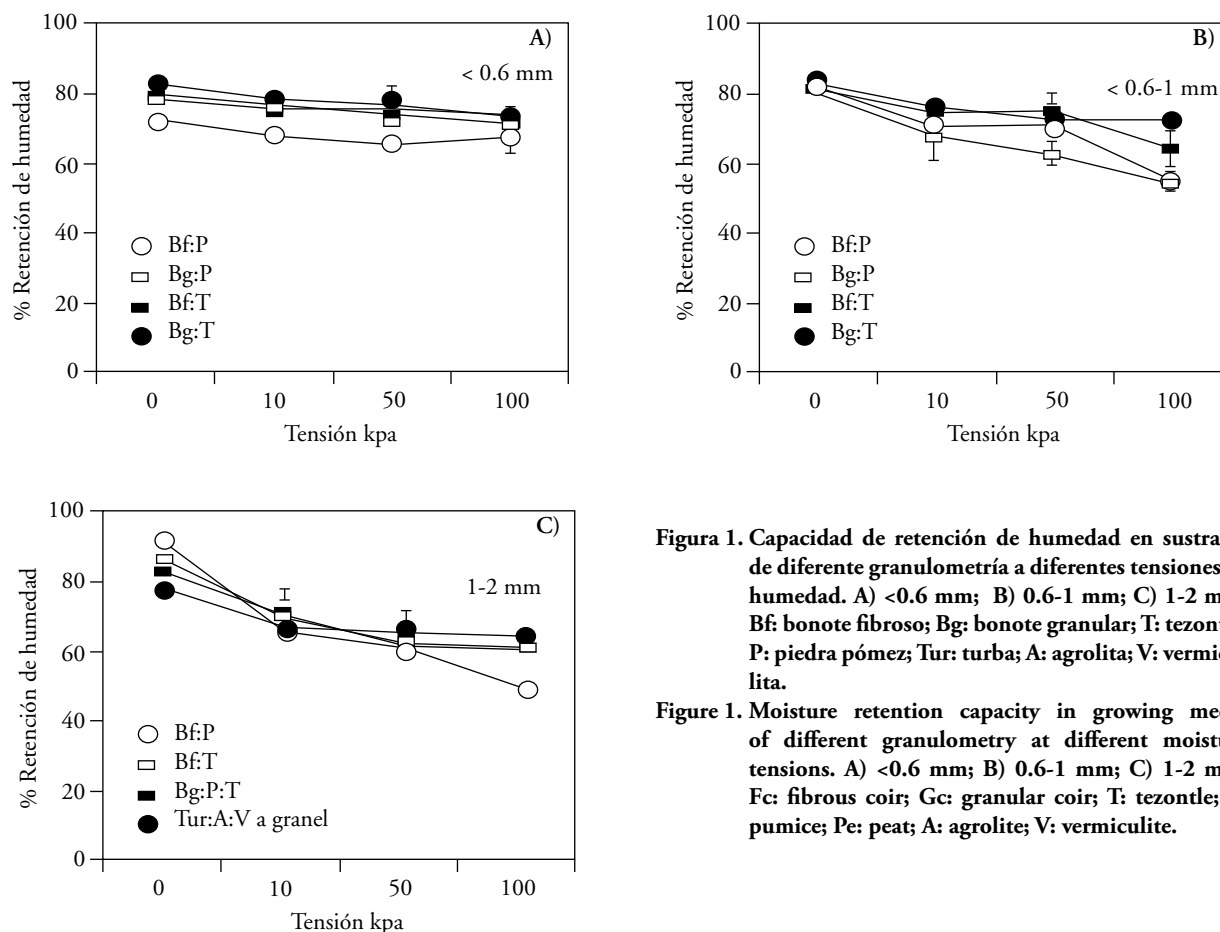


Figura 1. Capacidad de retención de humedad en sustratos de diferente granulometría a diferentes tensiones de humedad. A) <0.6 mm; B) 0.6-1 mm; C) 1-2 mm. Bf: bonote fibroso; Bg: bonote granular; T: tezontle; P: piedra pómez; Tur: turba; A: agrolita; V: vermiculita.

Figure 1. Moisture retention capacity in growing media of different granulometry at different moisture tensions. A) <0.6 mm; B) 0.6-1 mm; C) 1-2 mm. Fc: fibrous coir; Gc: granular coir; T: tezontle; P: pumice; Pe: peat; A: agrolite; V: vermiculite.

Colonización micorrízica y número de esporas

El mayor porcentaje de colonización micorrízica se obtuvo en Tur:A:V a granel, Bg:P:T con 1-2 mm y en los sustratos con tamaño de partícula 0.6-1 mm, en tanto que la menor colonización se detectó en la granulometría < 0.6 mm (Figura 2A). Pocos experimentos han considerado el tamaño de partícula como factor relevante en la propagación de HMA, menos aún han analizado especies de la familia de Gigasporaceae. Con base en los resultados, el menor espacio poroso y la menor capacidad de retención de agua de los sustratos con granulometría más fina pueden ser los factores que influyen la menor colonización micorrízica de *Gi. gigantea*.

La escasa información respecto al tamaño de partícula del sustrato se ha obtenido en especies fúngicas anteriormente pertenecientes al género *Glomus*. Por ejemplo, Drew *et al.* (2003) estudiaron el crecimiento de *Rhizophagus intraradices* (antes *Gl. intraradices*)

Mycorrhizal colonization and number of spores

The highest percentage of mycorrhizal colonization was obtained in Pe:A:V in bulk, Gc:P:T with 1-2 mm and in the growing medium with particle size of 0.6-1mm, whereas the lowest colonization was detected in the granulometry <0.6 mm (Figure 2A). Few experiments have considered particle size as a relevant factor in the propagation of AMF, even fewer have analyzed species of the family of Gigasporaceae. Based on the results, the lower porous space and the lower water retention capacity of the growing media with finer granulometry may be the factors that influence low mycorrhizal colonization of *Gi. gigantea*.

The little information regarding particle size of the growing media has been gathered in fungal species previously belonging to the genus *Glomus*. For example, Drew *et al.* (2003) studied the growth of *Rhizophagus intraradices* (formerly *Gl. intraradices*)

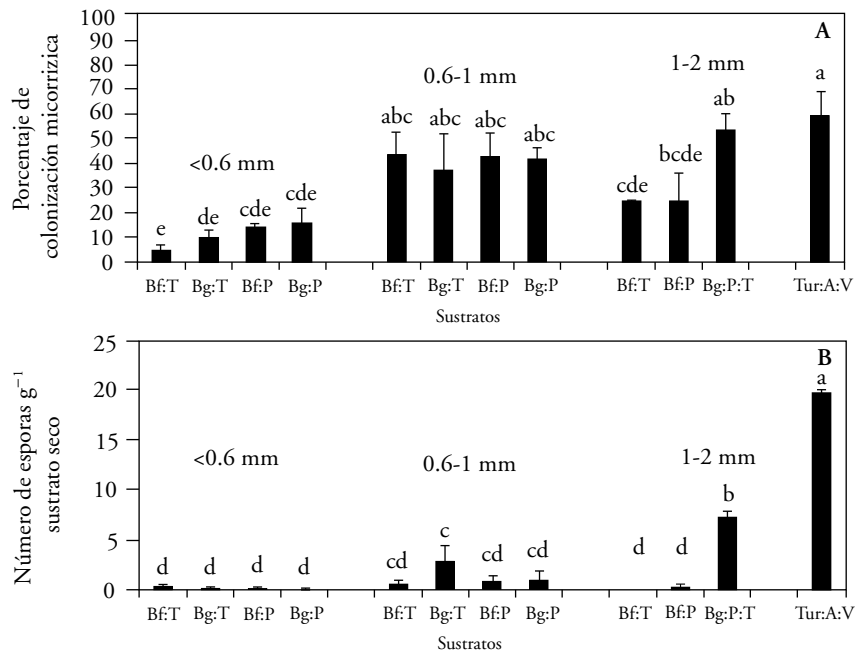


Figura 2. A) Porcentaje de colonización micorrízica total; B) número de esporas de *Gigaspora gigantea* en los sustratos con diferente granulometría; Bf: bonote fibroso; Bg: bonote granular; T: tezontle; P: piedra pómez; Tur: turba; A: agrolita; V: vermiculita. Se muestran promedios y desviación estándar, n=4.

Figure 2. A) Percentage of total mycorrhizal colonization; B) number of spores of *Gigaspora gigantea* in the growing media with different granulometry. Fc: fibrous coir; Gc: granular coir; T: tezontle (volcanic scoria); P: pumice; Pe: peat; A: agrolite; V: vermiculite. Average and standard deviation are shown, n=4.

y *Funneliformis mosseae* (antes *Gl. mosseae*) en arena con diferentes tamaños de partícula (0.10, 0.38 y 0.26 mm). Esos autores no observaron diferencia en la cantidad de hifas externas de *F. mosseae* entre los tres tamaños de partícula del sustrato, pero con *R. intraradices* se produjo mayor cantidad de hifas externas en el sustrato de 0.10 mm de tamaño de partícula. Gaur y Andholeya (2000) compararon el efecto del tamaño de partícula de arena (1.70-0.78 mm, 0.50-0.78 mm, 0.50-0.25 mm y < 0.25 mm) en la producción de esporas y porcentaje de colonización de *R. intraradices* en plantas de maíz. Esos autores obtuvieron la mayor producción de esporas y alto porcentaje de colonización en partículas con diámetro 0.50-0.78 mm lo cual atribuyeron a mayor aeración y drenaje que propiciaron mayor crecimiento radical. González-Chávez *et al.* (2000) observaron que el sustrato a granel suelo:bonote de coco (1:2 v:v) presentó la mayor retención de humedad de siete sustratos probados en el crecimiento de plántulas de naranjo (135 d después de la inoculación) y éste propició mayor colonización micorrízica de *Glomus* sp. Zac-19 (37 %-80 %).

and *Funnneliformis mosseae* (formerly *Gl. mosseae*) in sand with different particle sizes (0.10, 0.38 and 0.26 mm). Those authors did not observe difference in the amount of external hyphae of *F. mosseae* among the three particle sizes of the growing medium, but with *R. intraradices* there was a larger amount of external hyphae in the growing medium of particle size 0.10 mm. Gaur and Andholeya (2000) compared the effect of sand particle size (1.70-0.78 mm, 0.50-0.78 mm, 0.50-0.25 mm and <0.25 mm) in spore production and colonization percent of *R. intraradices* in corn plants. Those authors obtained the highest spore production and high percent of colonization in particles with diameter of 0.50-0.78 mm and attributed the effect to greater aeration and drainage; which propitiated greater radical growth. González-Chávez *et al.* (2000) observed that the bulk mixture soil:coconut coir (1:2 v/v) presented the highest moisture retention of seven growing media tested in seedling growth of orange (135 d after inoculation) and was the one that propitiated the highest mycorrhizal colonization of *Glomus* sp. Zac-19 (37 %-80 %).

El mayor número significativo de esporas se obtuvo en la mezcla a granel de Tur:A:V, seguido por Bg:P:T 1-2 mm, mientras que el menor número de esporas correspondió a los sustratos con granulometría igual o inferior a 0.6-1 mm (Figura 2B). En la literatura revisada no hay investigaciones relacionadas al tamaño de partícula y la producción de esporas en especies de la familia Gigasporaceae. Sin embargo, debido a que el tamaño de esporas de *Gi. gigantea* puede ser de hasta 800 μm , los sustratos con granulometría fina pueden representar un factor restrictivo para la esporulación de este hongo, porque el espacio poroso y la retención de agua son bajos.

Respecto al tiempo de esporulación de *Gigaspora*, Douds *et al.* (1998) usaron como sustrato una mezcla de arena:vermiculita:arcilla (1:1:1 v/v), para propagar *Gi. margarita* en dos variedades de *Medicago sativa* L. (Gilboa y Moapa) y *Paspalum notatum*. Después de cinco meses de propagación, en *M. sativa* var. Gilboa se produjeron 175 esporas, 52 con la var. Moapa y 1659 con *P. notatum* en 43 cm^3 de sustrato, lo cual muestra el período largo requerido para que *Gi. margarita* produjera esporas. Santos *et al.* (2000) usaron una mezcla de suelo y arena (1:1 v/v) para propagar hongos de *Gi. margarita* y *Rhizophagus clarus* (antes *Glomus clarum*) con *Brachiaria decumbens* como planta hospedera. Después de 150 d ellos obtuvieron 49 y 430 esporas por gramo de sustrato, respectivamente, lo cual muestra que la velocidad de esporulación de *Gigaspora* con relación a *Glomus* es más lenta y esto también es afectado por el tipo de sustrato y por la especie o variedad de planta hospedera utilizada.

En la presente investigación se encontraron 20 y 9 esporas en Tur:A:V a granel y Bg:P:T 1-2 mm por g de sustrato seco en 75 d, respectivamente, lo cual sugiere que los sustratos estimularon la temprana producción de esporas (Figura 2B), porque otra investigación muestra que especies del género *Gigaspora*, al tener esporas de mayor tamaño que *Glomus* y otros géneros de HMA, se producen en periodos mayores a cinco meses (Douds *et al.* 2008). Estos resultados también mostraron que el tamaño de partícula y el tipo de materiales usados para elaborar los sustratos fueron factores determinantes para este propósito. Los resultados son contradictorios a los observados por Guzmán-Plazola *et al.* (1990), quienes probaron bonote de coco, solo y en mezcla con suelo, así como arena-suelo como tratamiento testigo para propiciar

The significant higher number of spores was obtained in the bulk mixture of Pe:A:V, followed by Gc:P:T 1-2 mm, while the lowest number of spores corresponded to these with granulometries equal to or smaller than 0.6-1 mm (Figure 2B). In the reviewed literature there are no studies that are related to particle size and spore production in species of the family Gigasporaceae. However, because the size of spores of *Gi. gigantea* can be up to 800 μm , the growing media with fine granulometry may represent a restrictive factor for the sporulation of this fungus, due to the fact that porous space and water retention are low.

In relation to the time of sporulation of *Gigaspora*, Douds *et al.* (1998) used a mixture of sand:vermiculite:clay (1:1:1 v/v) to propagate *Gi. margarita* in two varieties of *Medicago sativa* L. (Gilboa and Moapa) and *Paspalum notatum*. After five months of propagation, in *M. sativa* var. Gilboa 175 spores were produced, 52 with var. Moapa and 1659 with *P. notatum* in 43 cm^3 of growing medium, which shows the long period required for *Gi. margarita* to produce spores. Santos *et al.* (2000) used a mixture of soil and sand (1:1 v/v) to propagate fungi of *Gi. margarita* and *Rhizophagus clarus* (formerly *Glomus clarum*) with *Brachiaria decumbens* as host plant. After 150 d they obtained 49 and 430 spores per gram of growing medium, respectively, which shows that the slower sporulation velocity of *Gigaspora* in comparison to *Glomus* is also affected both by the type of growing medium and by the species or variety of host plant that is used.

In the present study 20 and 9 spores were found in Pe:A:V in bulk and Gc:P:T 1-2 mm per g of dry growing medium in 75 d, respectively, which suggests that the growing media stimulated the early production of spores (Figure 2B), because other research showed that species of the genus *Gigaspora*, having larger spores than *Glomus* and other genera of AMF, are produced in periods longer than 5 months (Douds *et al.*, 2008). Results also showed that particle size and the type of materials used in the elaboration of the growing media were determining factors for this purpose. These results are contradictory to those observed by Guzmán-Plazola *et al.* (1990), who tested coconut coir, alone and mixed with soil, as well as sand-soil as control treatment to propitiate spore production of *Glomus* sp. and colonization in *Phaseolus vulgaris*. Those authors reported that the

la producción de esporas de *Glomus* sp. y colonización en *Phaseolus vulgaris*. Estos autores reportaron que el bonote sólo o en mezcla fue inapropiado para la colonización micorrízica (17.5 %) y la producción de esporas (52 esporas en 100 mL de sustrato), comparado con el tratamiento testigo (83.5 % en colonización y 882 esporas 100 mL⁻¹ sustrato). Sin embargo, estos autores no consideraron el tamaño de partícula ni tampoco mezclas de sustratos orgánicos, como el bonote de coco, con sustratos inertes o porosos como piedra pómez o tezontle. La presente investigación muestra que el bonote de coco en combinación con esos componentes resulta en una mezcla que propicia la propagación de *Gi. gigantea*. González-Chávez *et al.* (2000) usaron siete sustratos a granel en el crecimiento plántulas de naranjo (135 d después de la inoculación), y el sustrato suelo:bonote de coco (1:2 v:v) propició mayor colonización micorrízica de *Glomus* sp. Zac-19 (37 %-80 %); además este sustrato presentó la mayor retención de humedad.

Peso seco de la planta y volumen radical

El mayor peso seco de la parte aérea (PSA) se observó en plantas que crecieron en los sustratos con granulometría <0.6 mm y Bg:T (0.6-1 mm), mientras que el menor PSA fue con Bf:T y Bf:P con granulometría de 1-2 mm (Figura 3A). La granulometría más favorable para el peso seco radical fue <0.6 mm y 0.6-1 mm, excepto en los sustratos Bg:P <0.6 mm y Bf:T y Bg:P (0.6-1 mm), los cuales fueron similares estadísticamente (Figura 3B). Los tamaños de partícula que favorecieron mayor volumen radical de la planta fueron <0.6 mm y 0.6-1 mm con excepción de los sustratos Bg:P <0.6 mm y Bf:T 0.6-1 mm los cuales fueron similares a Bg:P:T 1-2 mm y Tur:A:V a granel. Los valores más bajos de volumen radical correspondieron a Bf:T y Bf:P, ambos con tamaño de partícula de 1-2 mm (Figura 3C).

El porcentaje de colonización micorrízica no se relaciona con el crecimiento de la planta y el sustrato influencia la respuesta de la inoculación micorrízica en la planta (González-Chávez *et al.*, 2000). Por tanto, el sustrato es un factor relevante que influencia en forma independiente el crecimiento de la planta y la propagación de los hongos.

coir alone or mixed was inappropriate for mycorrhizal colonization (17.5 %) and spore production (52 spores in 100 mL of substrate), compared with the control treatment, which had 83.5 % colonization and 882 spores 100 mL⁻¹ growing medium. However, those authors did not consider particle size, nor organic substrate mixtures, such as coconut coir, inert and porous materials such as pumice or tezontle. The present research shows that coconut coir in combination with these components results in a mixture that allows the propagation of *Gi. gigantea*. González-Chávez *et al.* (2000) used seven growing media in bulk that in the growth of orange seedlings (135 d after inoculation), and soil:coconut coir (1:2 v:v) propitiated the highest mycorrhizal colonization of *Glomus* sp. Zac-19 (37 %-80 %); besides, this growing medium presented the highest moisture retention.

Plant dry weight and radical volume

The highest aerial dry biomass (ADB) was observed in the plants that grew in the growing media with granulometry <0.6 mm and Gc:T (0.6-1 mm), whereas the lowest ADB were shown by Fc:T and Fc:P with granulometry of 1-2 mm (Figure 3A). The most favorable granulometry for radical dry weight was <0.6 mm and 0.6-1 mm, except in the growing media Gc:P <0.6 mm and Fc:T and Gc:P (0.6-1 mm), which were statistically similar (Figure 3B). The particle sizes that favored greater radical volume of the plant were <0.6 mm and 0.6-1 mm with the exception of the growing media Gc:P <0.6 mm and Fc:T 0.6-1 mm; which were similar to Gc:P:T 1-2 mm and Pe:A:V in bulk. The lowest values of radical volume corresponded to Fc:T and Fc:P, both with particle size of 1-2 mm (Figure 3C).

The percentage of mycorrhizal colonization is not related to plant growth and the growing medium influences the response of mycorrhizal colonization in the plant (González-Chávez *et al.*, 2000). Therefore, the growing medium is a relevant factor that independently influences plant growth and the propagation of the fungi.

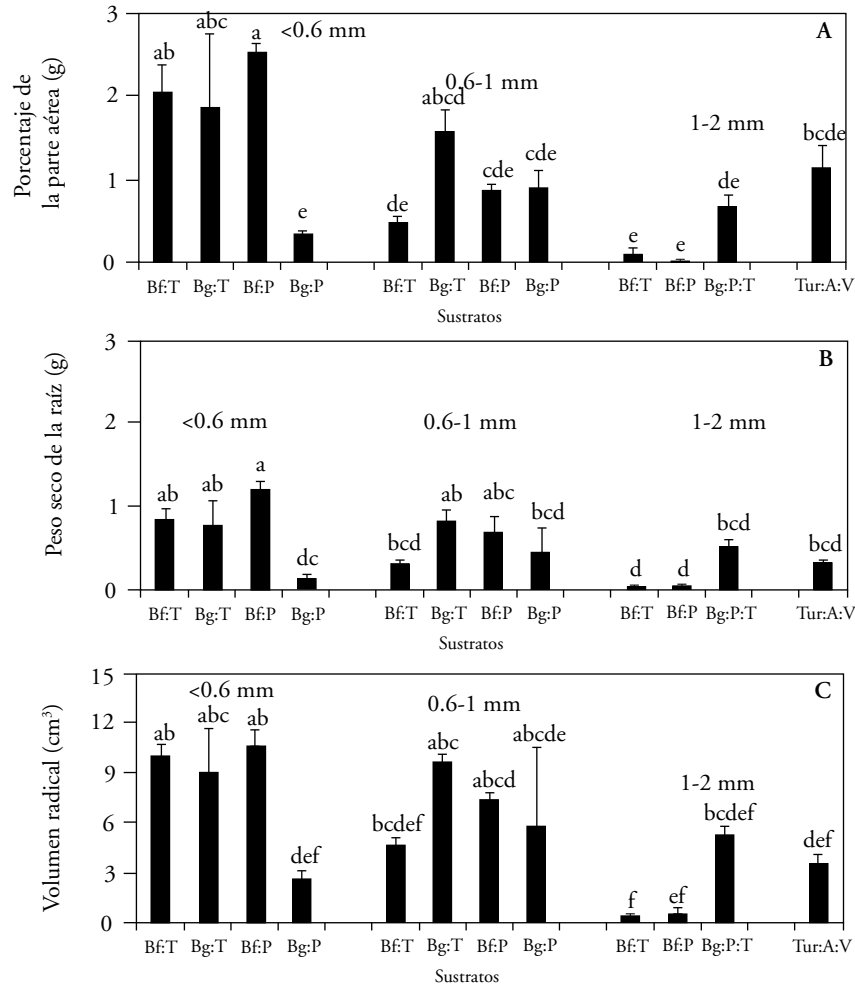


Figura 3. Variables de respuesta de las plántulas de lechuga inoculadas con *Gigaspora gigantea* en sustratos con diferente granulometría. A) peso seco de la parte aérea; B) peso seco de la raíz; C) volumen radical. Bf: bonote fibroso; Bg: bonote granular; P: piedra pómez; T: tezontle; Tur: turba; A: agrolita; V: vermiculita. Se muestran promedios y desviación estándar, n=4.

Figure 3. Response variables of lettuce seedlings inoculated with *Gigaspora gigantea* in growing media with different granulometry. A) dry weight of aerial part; B) dry weight of root; C) radical volume: Fc: fibrous coir; Gc: granular coir; P: pumice; T: tezontle; Pe: peat; A: agrolite; V: vermiculite; Averages and standard deviation are shown, n=4.

Análisis micromorfológico de los sustratos inoculados con *Gigaspora gigantea*

En los diferentes sustratos, el acomodo y distribución de partículas, así como el espacio poroso, presentaron variaciones debidas principalmente al tamaño de partícula. Lo anterior propició diferencias en la capacidad de aireación, retención de humedad y, por tanto, en la presencia y distribución de raíces y estructuras micorrízicas externas (Figura 4).

Micromorphological analysis of the substrates inoculated with *Gigaspora gigantea*

In the different growing media, the accommodation and distribution of particles, as well as porous space, presented variations mainly due to particle size. This propitiated differences in the aeration capacity, moisture retention and therefore, in the presence and distribution of roots and external mycorrhizal structures (Figure 4).

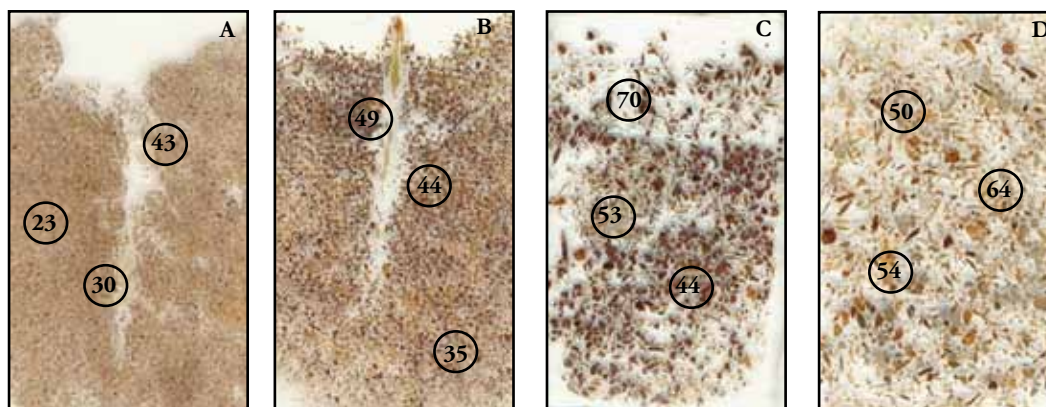


Figura 4. Distribución de partículas de los sustratos inoculados con *Gigaspora gigantea* relacionadas con raíces de lechuga. A) Bf: T < 0.6 mm; B) Bg: T 0.6-1 mm; C) Bf: T 1-2; D) Bf: P 1-2 mm. Los círculos representan la ubicación y porcentaje del espacio poroso en las secciones delgadas de los sustratos.

Figure 4. Distribution of particles of the growing media inoculated with *Gigaspora gigantea* related to lettuce roots. A) Fc: T < 0.6 mm; B) Gc: T 0.6-1 mm; C) Fc: T 1-2; D) Fc: P 1-2 mm. The circles represent the location and percent of porous space in the thin sections of the growing media.

Gutiérrez-Castorena *et al.* (2011) reportaron que para el bonote granular con tamaño de partícula 1-2 mm, la retención de humedad disminuye cuando se mezcla con componentes inorgánicos como P y T, contribuyendo también al incremento en espacio poroso. Además reportaron que cuando hubo mayor proporción del componente orgánico se formaron poros de empaquetamiento compuesto, los cuales tienen capacidad para retener agua y nutrientes.

En la presente investigación fue notable el efecto de la raíz para modificar estructura de los sustratos con tamaño de partícula <0.6 mm. La raíz propició el incremento en el espacio poroso (macroporos) independientemente del tipo de bonote de coco empleado (Figura 4A). También influyó la agregación de las partículas en conglomerados, lo que propicia retención de agua. Los sustratos con granulometría 0.6-1 mm formaron poros de empaquetamiento complejo, más abiertos que en los de <0.6 mm, lo que favoreció la colonización en las raíces de lechuga, pero no la formación de esporas (Figura 4B).

Los sustratos con base en Bf con granulometría de 1-2 mm (Figura 4C y 4D) presentaron el mayor espacio poroso: Bf: T (44 %-70 %), Bf: P (49 %-64 %), y menor capacidad de retención de humedad y la raíz no influyó en el espacio poroso. El tipo de poros presentes fue de percolación, lo cual propició poca retención de humedad en estos sustratos en comparación con Bg:P:T; y por tanto, aumento en espacio

Gutiérrez-Castorena *et al.* (2011) reported that for Gc with particle size 1-2 mm, water retention decreased when mixed with inorganic components such as P and T, also contributing to the increase in porous space. They also reported that when there was a higher proportion of the organic component, compound packing pores were formed, which had the capacity to retain water and nutrients.

In the present study the effect of the root was notable to modify structure of the growing media with particle size <0.6 cm. The root favored the increment in the porous space (macropores) independently of the type of coconut coir employed (Figure 4A). It also influenced the aggregation of the particles in conglomerates, which propitiates water retention. The growing media with granulometry 0.6-1 mm formed complex packing pores, more open than in those of <0.6 mm, which positively influenced the colonization of the lettuce roots, but not spore formation (Figure 4B).

The growing media based on Fc with granulometry of 1-2 mm (Figure 4C and 4D) presented the highest porous space: Fc: T (44 %-70 %) and Fc: P (49 %-64 %) and lower moisture retention capacity, and the root did not influence the porous space. The type of pores present was of percolation, which propitiates little moisture retention in these growing media compared to Gc:P:T; therefore, an increase in porous space, lower development of the host plant,

poroso, menor desarrollo de la planta hospedera, y menor porcentaje de colonización micorrízica y formación de esporas.

La presencia de esporas en el sustrato Bg:P:T 1-2 mm se relacionó con poros de empaquetamiento complejo, rodeadas tanto por las partículas de bonote (Figura 5C), como por los componentes inorgánicos (Figura 5D). Las esporas se ubicaron en la superficie altamente rugosa del tezontle y quedaron semi-ocuidas en las vesículas fracturadas (Figura 6 A, B). En el análisis micromorfológico de Tur:A:V a granel se observó un adecuado acomodo de partículas que favorece la colonización y formación de esporas.

La técnica de Gerdemann y Nicolson (1963) cuantifica el número de esporas libres en el sustrato. El análisis micromorfológico de Bg:P:T 1-2 mm muestra que varias esporas de *Gi. gigantea* se encontraron en poros de empaquetamiento complejo (Figura 5), y también semi-ocuidas en vesículas fracturadas de tezontle (Figura 6). Lo anterior sugiere que en sustratos orgánicos o porosos, el número de esporas extraídas por la técnica de tamizado y húmedo puede subestimarse, al no quedar éstas libres sino

and lower percentage of mycorrhizal colonization and spore formation.

The presence of spores in the growing medium Gc:P:T 1-2 mm was related with complex voids, surrounded by both the coir particles (Figure 5C) and the inorganic components (Figure 5D). The spores were located on the extremely rough surface of the volcanic material and remained semi-occluded in the fractured vesicles (Figure 6A, B). Micromorphological analysis showed that Pe:A:V in bulk presented good sorted accommodation of particles favoring the colonization and formation of spores.

The technique of Gerdemann and Nicolson (1963) quantifies the number of free spores in the growing medium. The micromorphological analysis of Gc:P:T 1-2 mm shows that various spores of *Gi. gigantea* were found, not only in complex packing voids (Figure 5), but also semi-occluded in fractured vesicles of volcanic material (Figure 6). The above suggests that in organic or porous substrates, the number of spores extracted by the wet sieving technique may be underestimated, given that they do

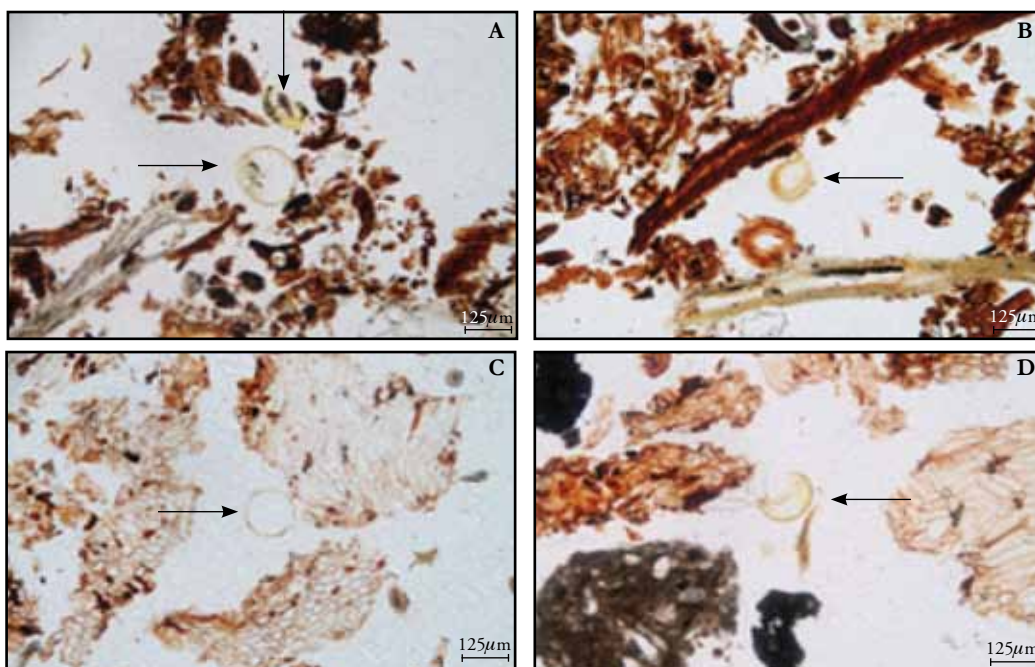


Figura 5. Esporas de *Gigaspora gigantea* en Tur:A:V a granel relacionadas con partículas del sustrato (A), y raíces en Tur:A:V (B), entre partículas de bonote en Bg:P:T 1-2 mm (C), y partículas inorgánicas en Bg:P:T 1-2 mm (D).

Figure 5. Spores of *Gigaspora gigantea* in Pe:A:V in bulk related to particles of the growing media (A), and roots in Pe:A:V (B), among particles of coir in Gc:P:T 1-2 mm (C), and inorganic particles in Gc:P:T 1-2 mm (D).

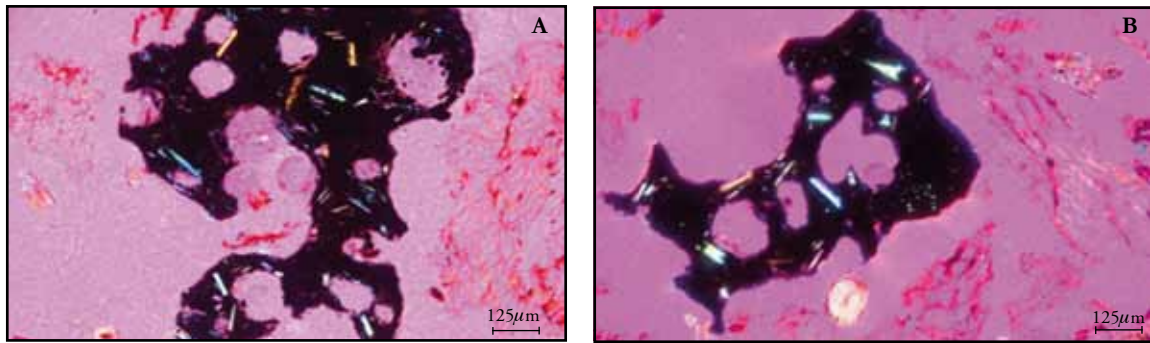


Figura 6. Secciones delgadas que muestran esporas de *Gigaspora gigantea* relacionadas con poros vesícula fracturados de partículas de tezontle en Bg:P:T 1-2 mm (A, B). Muestras observadas con luz cruzada de un microscopio petrográfico.

Figure 6. Thin sections that show spores of *Gigaspora gigantea* related to pores of fractured vesicles of volcanic scoria particles in Gc:P:T 1-2 mm (A, B). Samples observed with crossed light of a petrographic microscope.

atrapadas en las partículas del sustrato. La diferencia entre el número de esporas por gramo de sustrato en Bg:T:P 1-2 mm y Tur:A:V a granel fue ± 11 . Es posible que el número de esporas en Bg:P:T 1-2 mm sea mayor debido a que la esporulación se produjo en las partículas de tezontle. Así, además de los factores tamaño de partícula y tipo de sustrato, las propiedades físicas y químicas de los sustratos influyen la propagación de estos hongos en la raíz de la planta y en el suelo. Por tanto, se debe estudiar la perspectiva estequiométrica de los flujos de C, N, P en el sustrato que favorezcan la comunicación a través de las diferentes escalas de evaluación para entender mejor el manejo de estos hongos benéficos para el suelo y la planta (Johnson, 2010).

El sustrato Bg:P:T (1-2 mm) es de interés para estudiar la producción de inoculante de otros géneros y especies de hongos micorrízico arbusculares, porque sus componentes económicos y fácil adquisición lo ubican como un sustrato potencial para la propagación de inoculantes micorrízicos.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran la necesidad de seleccionar sustratos para la propagación de hongos micorrízicos como *Gigaspora gigantea*. Los sustratos con granulometría < 0.6 mm favorecieron el desarrollo de las plantas de lechuga, pero no la colonización micorrízica o la formación de esporas. Los sustratos con granulometría de 0.6-1 mm promovieron la mayor colonización micorrízica, junto con Bg:P:T (1-2 mm) y Tur:A:V a granel, pero no la producción

not remain free in the growing medium, but rather trapped in the particles of it. The difference between the number of spores per gram of growing medium in Gc:T:P 1-2 mm and Pe:A:V in bulk was ± 11 . It is possible that the number of spores in Gc:P:T 1-2 mm is higher due to the fact that sporulation was produced in the volcanic scoria particles. Thus, along with the factors of particle size and growing media type, the physical and chemical properties of these influence the propagation of these fungi in the plant root and in the soil. Therefore, it should be studied the stoichiometric perspective of the flows of C, N and P in the substrate which favor communication through the different evaluation scales to better understand the management of these fungi which are beneficial for soil and plant (Johnson, 2010).

The substrate Gc:P:T (1-2 mm) is of interest for the study of inoculants production of other genera and species of arbuscular mycorrhizal fungi, because its economical components and availability make it a potential substrate for the propagation of mycorrhizal inoculants.

CONCLUSIONS

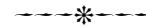
The results show the need to select growing media for the propagation of mycorrhizal fungi such as *Gigaspora gigantea*. The growing media with granulometry < 0.6 mm favored the development of lettuce plants, but not mycorrhizal colonization or spore formation. The growing media with granulometry of 0.6-1 mm promoted higher mycorrhizal colonization, along with Gc:P:T (1-2

de esporas. Bg:P:T 1-2 mm favoreció la colonización micorrízica y la producción de esporas; en este sustrato, hay una posible subestimación en la producción de esporas, porque algunas se encontraron en las vesículas fracturadas de partículas de tezontle. Tur:A:V a granel propició un peso seco menor de la parte aérea y raíz así como volumen radical, pero favoreció más la colonización micorrízica y el mayor número de esporas. Bg:P:T 1-2 se podría usar para la producción de inoculante de *Gi. gigantea* porque sus componentes son de fácil adquisición y económicos, y reduce la explotación de recursos naturales como la turba.

LITERATURA CITADA

- Anicua-Sánchez, R., M. C. Gutiérrez-Castorena, P. Sánchez-García, C. Ortiz-Solorio, V. H. Volke, y J. E. Rubiños-Panta. 2009. Tamaño de partícula y relación micromorfológica en propiedades físicas de perlita y zeolita. *Agric. Téc. Méx.* 35: 147-156.
- Ansorena, M. J. 1994. *Sustratos, Propiedades y Caracterización*. Mundi Prensa Madrid. España. p: 172.
- Arenas, N., and C. S. Vavrina. 2002. Coir as alternative to peat in media for tomato transplant production. *Hort. Sci.* 39: 309-312.
- Blazskouski, J. 2014. (<http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/Gigaspora%20gigantea.htm>). (Consulta: febrero 2014).
- Bullock, P., N. Federoff, A. Jongerius, G. Stoops, and T. Tursina. 1985. *Handbook for Soil Thin Section Description*. Wayne Research Publications, England. p: 152.
- de Boodt, M., O. Verdonck, and I. Cappaert. 1974. Method for measuring the water release curve of organic substrates. *Acta Hort.* 37: 2054-2062.
- Douds, D. D., L. Galvez, G. Becard, and Y. Kapulnik. 1998. Regulation of arbuscular mycorrhizal development by plant host and fungus species in alfalfa. *New Phytol.* 138: 27-35.
- Douds, D. D., G. Nagahashi, and P. H. Reed. 2010. On-farm production of inoculum of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi and assessment of diluents of compost for inoculum production. *Bioresour. Technol.* 101: 2326-2330.
- Drew, E. A., R. S. Murray, and S. E. Smith. 2003. Beyond the rhizosphere: growth and function of arbuscular mycorrhizal external hyphae in sands of varying pore sizes. *Plant Soil* 251: 105-114.
- Feldmann, F., N. T. V. Junqueira, and R. Lieberei. 1989. Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhiza as a factor of integrated plant protection. *Agric. Ecosyst. Environ.* 29: 131-135.
- Gaur, A., and A. Andholeya. 2000. Effects of the particle size of soil-less substrates upon AM fungus inoculum production. *Mycorrhiza* 10: 43-48.
- Gerdemann, J. W., and T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. British Mycol. Soc.* 46: 235-244.
- González-Chávez, M. C., R. Ferrera-Cerrato, A. Villegas-Monter, y J. L. Oropeza. 2000. Selección de sustratos de crecimiento en microplántulas de cítricos inoculados con *Glomus* sp. *Zac-19. Terra Latinoam.* 18: 369-377.
- mm) and Pe:A:V in bulk, but not spore production. Gc:P:T 1-2 mm favored mycorrhizal colonization and spore production; in this growing media, there is a possible underestimation in production of spores due to the fact that some of them are found in the fractured vesicles of tezontle. Tur:A:V in bulk propitiated lower aerial and root dry biomass, as well as radical volume, but which most favored both mycorrhizal colonization and spore production. Gc:P:T 1-2 could be used for the production of inoculant of *Gi. gigantea* because its components are economical and easily obtained, and reduce the exploitation of natural resources such as peat.

—End of the English version—



- Phillips, J. M., and D. S. Haymann . 1970. Improve procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. British Mycol. Soc. 55: 158-160.
- Ridgway, H. J., J. Kandula, and A. Stewart. 2006. Optimizing the medium for producing arbuscular mycorrhizal spores and the effect of inoculation on grapevine growth. N. Z. Plant Prot. 59: 338-342.
- Saif, S. R. 1981. The influence of soil aeration on the efficiency of vesicular arbuscular mycorrhizas. I. Effect of soil oxygen on the growth and mineral uptake of *Eupatorium odoratum* L. inoculated with *Glomus macrocarpus*. New Phytol. 88: 649-659.
- Santos, A. L., F. A. de Souza, J. G. M. Guerra, e R. L. L. Berbara. 2000. Estabelecimento e capacidade infectiva de *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum* em solo sob erosão. Acta Bot. Bras. 14: 127-139.
- Schüßler, A., D. Schwarzott, and D. Walker. 2001. A new fungal Phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycol. Res. 105: 1413-1421.
- Sharma, A. K., C. Singh, and P. Akhauri. 2000. Mass culture of arbuscular mycorrhizal fungi and their role in biotechnology. Indian Natn. Sci. Acad. 66: 223-238.
- Varela-Fregoso L., y D. Trejo. 2001. Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. Acta Zool. Mex. 1: 39-51.