



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Análisis de la colonización y producción
de la micorriza arbuscular en dos
especies de árboles en una selva húmeda**

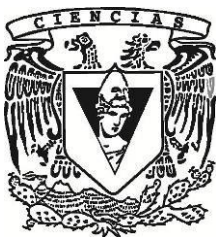
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ANDREA ALEJANDRA SERRANO YSUNZA



**DIRECTOR DE TESIS:
Dr. Francisco Javier Álvarez Sánchez**

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de datos del jurado

1. Datos de la alumna
Serrano
Ysunza
Andrea Alejandra
56 22 18 88 ext. 44712
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
304501663
2. Datos del Tutor
Dr.
Francisco Javier
Álvarez
Sánchez
3. Datos del sinodal 1
Dra.
Mayra Elena
Gavito
Pardo
5. Datos del sinodal 2
Dr.
Alejandro
Alarcón
7. Datos del sinodal 3
Dr.
Francisco Javier
Álvarez
Sánchez
4. Datos del sinodal 4
Dra.
Irene
Sánchez
Gallen
6. Datos del sinodal 5
Dra.
Rosalva
García
Sánchez
8. Datos del trabajo escrito
Análisis de la colonización y producción de la micorriza arbuscular en dos especies de árboles en una selva húmeda
62 p. 2012

Agradecimientos

A la mujer que me enseñó a disfrutar la vida y también me la dio, gracias por todo mami, te amo. A Fer M, que me ha enseñado tanto y querido más.

A mis sinodales, Mayra Gavito, Alejandro Alarcón, Rosalva García e Irene Sánchez, por las correcciones y el enriquecimiento de este trabajo. Principalmente a Javier Álvarez, por abrirme la puerta a su laboratorio y darme la confianza para participar en este proyecto, he aprendido mucho.

A mis amigos del alma, que me hacen feliz: Iorch, corazón, por ti todo, sin tus pláticas a mi vida le faltarían momentos catárticos; Israel, mi mayor apoyo, gracias por aguantar cada una de las crisis y los dramas, pero sobre todo por estar en los momentos más felices; Sabina y Tania, su amistad es invaluable, me encanta cada momento que hemos compartido, sufrido, crecido, aprendido, más aun los que hemos disfrutado ¡ha seguir creando momentos amigas!; Toño, aunque la vida se tuerza un poco, mi cariño sigue ahí y agradezco muchísimo que me hayas cuidado tanto. Los quiero muchísimo a todos.

Néstor, mi hermanito de tesis, mi compañero por la vida, mi amigo por siempre, no me queda más que agradecerte el haber compartido esta aventura. ¡Lo logramos!.

A todos mis profesores de ecología, Carlos, Jorge, Mario, Neptalí, Edith, Javier, Irene, Lupita, Oswaldo, Beto, JC, Dulce, Mayra, Arcadio, por haber sido parte del descubrimiento de tan grata disciplina, por disfrutarla y contagiarme del gusto por ella. A mis maestras más tempranas Alejandra, Paulina y Alicia, que desde la secundaria me confirmaron y reiteraron que mi pasión es la biología. Lilia, por ser una de mis primeros contactos con mi vocación y acompañarme a las Galápagos

Al maravilloso grupo conformado por el Laboratorio de Ecología del suelo, agradezco enormemente haber llegado ahí y haber conocido a personas tan valiosas como ustedes a las cuales quiero tanto y sin las cuales haber hecho este trabajo habría sido terriblemente aburrido, a todos ¡GRACIAS!. Sweety, por enseñarme tanto y demostrarme lo importante que es poner el ejemplo; Oswy, por presentarme a Los Tuxtlas y contagiarme de tu vitalidad y buena ondas; Irene, muchísimas gracias por todo el apoyo que me has dado, el académico, pero sobre todo el emocional; Ernest, por leerme tantas y tantas veces, por las porras, los consejos y los mezcales; Esthela, por ser una de las almas más lindas y tiernas que conozco y recibirme con una sonrisa todos los días; Juan Carlos, por ser un amigo tan confiable y siempre tan de buen humor; Mónica y Diego, por las carcajadas compartidas; Lupita, gracias por el tiempo que me dedicaste y las dudas que siempre me ayudaste a resolver; Isela, por el tiempo dedicado y el conocimiento que me heredaste; Nelly y Liz, por todas las cosas que me enseñaron y compartieron; Carla y Nacho, por su amistad y agradables charlas.

Al grupo de Dinámica, por compartir todo este tiempo y ser excelentes compañeros de laboratorios. Silvia, gracias por ser una persona tan vital que

reparte y contagia energía y alegría (hasta en forma de postres), porque sé que puedo contar contigo; Gaby, por ser tan risueña y disfrutar las mariposas conmigo; Yuri, Ileana, Tonathiu, Christiane, gracias por los buenos ratos que me han hecho pasar en toda esta etapa y todos los postres que hemos disfrutado. A Marco, por el apoyo que siempre brinda.

A “los del museo”, por todas las veces que toqué esa puerta y me abrió alguien con una sonrisa, un consejo, un abrazo, un par de risas, un regaño o un café. Gracias a todos: Dani, Debo, por la amistad, apoyo e invitaciones a comer; Clau, por ir un paso adelante, tener tantas respuestas y sobre todo compartirlas; César, por todas y cada una de tus pláticas alegres, realistas, guarras, desesperadas, críticas y siempre oportunas; Marco, Erick, Héctor, Enrique, por su amistad.

Gracias a la danza por haberme acompañado siempre y ser mi punto de escape para perderme y reencontrarme. Por supuesto a mis hermanas bailarinas que han sido fundamentales en este camino, Syl, Les, Fer, Lau, Adriana, por compartir esta pasión y nuestras vidas a través de ella, por ser mi apoyo emocional siempre que lo necesito, por quererme tanto, sobre todo, gracias Re porque además de esto me has abierto la puerta de tu casa en los momentos que más lo he necesitado; todas ustedes me han dado fuerza y razones para admirarlas ¡¡Ballet las amou!!.. Irma, por juntarnos a todas y hacernos brillar con luz propia, por todas tus enseñanzas y el cariño que me das, te quiero. Alain ¡a ti también te quiero ballet!.

A las personas que dedicaron tiempo y esfuerzo para ayudarme a realizar esta tesis: Isela y Raúl, gracias por la paciencia para compartir y depurar la dichosa técnica; a todas las chicas que me ayudaron en campo Sandra, Yohali, Sabina, Tania, Dulce, Esthela, Paulina, espero que hayan disfrutado la selva a pesar de las desmadrugadas; a la M.en C. Juliana Padilla del COLPOS, por haber realizado los análisis de tantas muestras de suelo; a Anabel del laboratorio de microciné de la Facultad de Ciencias por tomar fotos tan padre para ilustrar el trabajo; Reynaldo y Emanuel por formar parte de este proyecto.

Gracias a mi cuerpo querido, que resistió durante la tesis, arduas jornadas de trabajos, calambres, contracturas y una que otra pesadilla.

A todos aquellos que con su amistad, pláticas y consejos me han ayudado a salir de algún bache en este sinuoso camino, Alma, Irama, Germán, Aranda, Javier, Valeria, Sergio G., Ana Lu, Alex, Tracey.

Al personal de la Estación de Los Tuxtles y muy especialmente a Don Juan, Braulio y Mari, por apoyar los proyectos y siempre estar dispuestos a ayudar.

Al proyecto PAPIIT IN-213409 por el financiamiento y becas otorgados para la realización de este trabajo.

Dedicatoria

Mami, te dedico la satisfacción y la emoción de haberla terminado.

Sabina, Tania y Toño, son las personas más importantes de esta etapa de mi vida,
sin importar más, los quiero tanto.

Néstor, te comparto el logro de este trabajo, sin ti esta tesis no sería.

Selva querida, por que no te acabes nunca y sigas regalando magia.

Índice

Resumen	1
1. Introducción	3
1.1. Hongos micorrizógenos arbusculares	3
1.1.1. Función ecológica de los HMA	5
1.1.2. Micelio extrarradical	7
1.1.3. Colonización intrarradical	8
1.2. La selva húmeda	10
1.2.1. Grupos funcionales	11
1.2.1.1. Tolerantes a la sombra	12
1.2.1.2. Demandantes de luz	13
2. Antecedentes	14
3. Objetivos	19
3.1. Objetivo general	19
3.2. Objetivos particulares	19
4. Hipótesis	19
5. Métodos	20
5.1. Sitio de estudio	20
5.1.1. Ubicación Geográfica	20
5.1.2. Clima	22
5.1.3. Suelos	22
5.1.4. Vegetación	23
5.2. Preparación de especies vegetales	25
5.2.1. Sustrato	25
5.2.2. Germinación	25
5.2.3. Inóculo	25
5.2.4. Inoculación por HMA	26
5.3. Montaje del experimento	27
5.3.1. Trasplante a campo	27
5.4. Cosecha	29
5.5. Evaluación del desempeño de los HMA	29
5.6. Análisis estadístico	30
6. Resultados	31

6.1. <i>Poulsenia armata</i>	31
6.1.1. Producción de micelio extrarradical	31
6.1.2. Colonización intrarradical	34
6.2. <i>Trema micrantha</i>	38
6.2.1. Producción de micelio extrarradical	38
6.2.2. Colonización intrarradical	41
7. Discusión	44
8. Conclusiones	51
9. Literatura Citada	52
Apéndice 1. Técnicas de análisis de nutrientes	58
Apéndice 2. Extracción de micelio extrarradical	59
Apéndice 3. Cuantificación de micelio extrarradical	61
Apéndice 4. Tinción y cuantificación de la colonización intrarradical	62

Resumen

Los estudios referentes a los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) principalmente se han enfocado al efecto y desarrollo de la planta hospedera, mientras que aspectos relacionados con la ecología funcional se han explorado poco. Se reconoce que falta información sobre la genética, estructura y diversidad funcional de estos hongos haciendo énfasis en las interacciones entre los simbioses, así como su importante papel en el ecosistema o las respuestas de los HMA relacionadas con factores ambientales en el contexto del cambio climático.

Este trabajo tuvo como objetivo analizar el cambio en la producción de micelio extrarradical (ME) y del porcentaje de colonización intrarradical (CI) de los HMA asociados a dos especies arbóreas, una tolerante a la sombra (*Poulsenia armata*), y otra demandante de luz (*Trema micrantha*), en ambientes contrastantes de la selva húmeda de Los Tuxtlas, Veracruz, ubicados en la región de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz.

En el experimento se hicieron crecer plántulas de ambas especies bajo dos tratamientos: previamente inoculadas (HMA+) y sin inoculación (HMA-); de cada uno de los cuatro tratamientos se trasplantaron 30 individuos en dos parcelas una ubicada en el interior de la selva y la otra en un potrero aledaño a la estación. De forma bimensual se realizaron cosechas de cinco réplicas por tratamiento por sitio, con el propósito de evaluar el desempeño de los HMA midiendo la producción de ME y el porcentaje de CI. También se monitorearon datos de temperatura ambiente (TAP), temperatura del suelo (TPS) y humedad relativa (HR); y se tomaron muestras del suelo asociado a cada planta cosechada, para determinar la concentración de Fósforo (P_{Bray}) y Amonio (NH_4) en la rizósfera.

Los resultados indican que la inoculación previa marca diferencias significativas en el desempeño y desarrollo de los hongos; los valores más altos fueron de los tratamientos HMA+, tanto en la producción de ME (*P. armata*: 12.50 ± 2.04 m/g y *T. micrantha*: 14.56 ± 1.22 m/g) como en el porcentaje de CI (*P. armata*: $54.02 \pm 3.6\%$ y *T. micrantha*: $70.86 \pm 2.33\%$). En la selva, las plántulas de *T.*

micrantha no sobrevivieron, por lo que no se hicieron comparaciones entre sitios para esta especie; por otra parte, en el potrero se observaron los valores más elevados de ME (14.78 ± 1.49 m/g) y CI ($70.86 \pm 2.33\%$), probablemente por el aumento de la actividad fotosintética de las plantas y consecuente incremento en la asignación de recursos hacia los HMA en un ambiente que presenta condiciones estresantes para las plantas.

En ambas especies se observan tendencias de aumento en la CI relacionadas con el aumento de HR y temperatura, posiblemente ligadas a las características estacionales de la región y al ciclo de vida de los HMA; por otra parte, en el caso de la producción de ME del tratamiento HMA- de *T. micrantha* la relación fue significativa y negativa con el aumento de los factores ambientales, lo que podría asociarse a una estrategia oportunista del desarrollo de los HMA.

La producción de ME de *P. armata* se relacionó significativamente con la concentración de NH_4 en el suelo únicamente en el tratamiento HMA+ en potrero ($R^2=0.30$; $p<0.04$); también en el potrero las relaciones de la CI con la concentración de P_{Bray} fueron significativas, positiva para HMA- ($R^2=0.66$; $p<0.0008$) y negativa para HMA+ ($R^2=0.34$; $p<0.03$), comportamiento que podría atribuirse a la diferencia en la interacción con el nutriente entre el tratamientos previamente inoculados y la colonización en campo. Sin embargo, la falta de repetición y claridad de estos patrones sugiere que interactúan diversos factores en la regulación de la absorción y transferencia de los nutrientes.

La mayoría de las relaciones estadísticamente significativas que se encontraron en los diferentes análisis, fueron las del potrero, posiblemente porque en el interior de la selva existen mucho más elementos formando interacciones más complejas que dificulten la visualización de patrones relacionados a un solo factor.

1. Introducción

1.1. Hongos micorrizógenos arbusculares

El suelo es la capa delgada que cubre a la Tierra; está habitado por organismos que conforman la biota edáfica que es sumamente diversa y compleja, cuya actividad además de afectar la fertilidad del suelo determina la estabilidad y funcionamiento de los ecosistemas naturales y los agroecosistemas (Carrillo 2009).

En el suelo, las plantas juegan un papel muy importante debido a que son las que aportan el humus que permite la circulación de nutrientes y son las principales suministradoras de substratos energéticos (Carrillo 2009), su sistema radical interactúa con el resto de los componentes biológicos que ahí coexisten y se interrelaciona con todas las propiedades del suelo generando nuevas condiciones físicas y químicas (Sánchez de Prager *et al.* 2010). El área de interacción entre las raíces y el suelo circundante es denominada rizósfera (Hawkes *et al.* 2007) y es aquí donde se ubican los hongos micorrizógenos.

De acuerdo con Johnson (2010) la relación micorrízica arbuscular (MA) está completamente ligada a la evolución de las plantas y la pedogénesis; los resultados de esta asociación son cambios físicos y químicos en la rizósfera provocados por los cambios en la fisiología del hospedero (planta) y del huésped (hongo).

Se ha determinado que el 80% de las especies de plantas vasculares, en prácticamente todos los ecosistemas, establecen, por lo menos, un tipo de AM (Smith y Read 2008). Son reconocidos siete tipos de esta interacción mutualista de acuerdo con la forma de penetración que presenta el hongo en la raíz, las estructuras características que desarrolla y las especies de hongos y plantas involucrados (Guadarrama *et al.* 2004).

En particular en las zonas tropicales la asociación más común es la micorriza arbuscular (MA) que es formada con miembros de casi todos los *phyla* de plantas terrestres y hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), pertenecientes al phylum Glomeromycota (Smith y Read 2008). La clasificación de éstos es sumamente

complicada; el trabajo realizado por Schüssler y Walker (2010) representa una clasificación natural a partir de filogenias moleculares, aunada a evidencia morfológica; el resultado es la agrupación en el *phylum* de cuatro órdenes, 11 familias, 18 géneros y alrededor de 150 especies descritas.

Desde el punto de vista nutricional, el intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta ocurre en casi cualquier circunstancia; por un lado el hongo le facilita a la planta la absorción de iones minerales, principalmente fósforo (P), nitrógeno (N) (Read 1999) y zinc (Zn) (Johnson 2010) y en algunos casos puede conferirle mayor tolerancia al estrés hídrico (Augé 2001). Por el otro, el hongo obtiene un hábitat propicio para su crecimiento y compuestos carbonados producto de la fotosíntesis del hospedero (Allen 1991).

La MA es una interacción asimétrica, ya que las plantas mayoritariamente son facultativas y pueden sobrevivir sin el hongo -por lo menos periodos cortos-, mientras que los HMA han perdido la capacidad de adquirir carbono orgánico sin estar asociados a alguna planta (Johnson 2010). La dependencia de una planta hacia la MA puede variar en escala de plantas no micotróficas, micotróficas facultativas e incluso micotróficas obligadas (Sánchez de Prager *et al.* 2010).

Esta asociación también reduce el efecto de patógenos sobre las raíces, excluye iones tóxicos, e influye en las relaciones hídricas y fotosintéticas de la planta (Read 1999), debido al aumento de la superficie de absorción que proporcionan las hifas externas del hongo, que llegan a extenderse hasta decenas de metros por gramo de suelo (Leake *et al.* 2004). Se ha señalado que esta relación cambia la cantidad y calidad de los exudados radicales lo cual influye en la composición de las comunidades microbianas rizosféricas (Álvarez-Sánchez y Peña 2009).

La MA forma un sistema integrado por tres componentes, la raíz de la planta y dos sistemas miceliales asociados, uno en el suelo (micelio extrarradical) y otro en el

interior de las raíces, formando los apoplastos¹ (colonización intrarradical); ambos sistemas conforman la interfaz de intercambio de nutrientes (Smith y Read 2008).

Los HMA cuentan con un micelio aseptado y delgado que al penetrar dentro de la raíz se extiende por las células corticales de la planta (Smith y Read 2008), estas hifas, inter e intracelulares, son filamentos tubulares que penetran la epidermis radical para iniciar la colonización (Bago *et al.* 2000) dando lugar a varias estructuras características de estos hongos, los **arbúsculos**, estructuras formadas a partir de ramificaciones dicotómicas de la hifa que fungen como sitios de transferencia de carbono, agua y minerales entre el hongo y la planta; las **vesículas**, estructuras intracelulares redondas, elípticas o irregulares, formadas por un hinchamiento de la hifa, cuya función es almacenar fosfolípidos (Allen 1991); y las **esporas**, que son estructuras asexuales de resistencia que cumplen las funciones de reproducción y supervivencia (Bago *et al.* 2000)

En el suelo pueden encontrarse los HMA en diferentes formas; como esporas libres, asociados al mantillo o a la materia orgánica (MO), o esporas ligadas a las raíces a través de micelio extrarradical (ME) que, a su vez, puede estar libre o adherido a trozos de raíces jóvenes (Sánchez de Prager *et al.* 2010). El crecimiento continuo de las hifas, la diferenciación de las estructuras de infección y la penetración del hospedero, están afectadas principalmente por señales y factores emitidos por las plantas (Singh y Adholeya 2002).

1.1.1. Función ecológica de los HMA

Aspectos claves para explicar el origen de las micorrizas son las diferencias en la habilidad de adquirir nutrientes de las plantas y los hongos, y las características químicas del suelo (Johnson 2010). Un sólo aislamiento de HMA puede colonizar diferentes especies de plantas, formar vínculos entre ellas y proveer un conducto para la transferencia de C, N, P y agua entre ellas (Simard y Durall 2004).

¹Zona de interacción entre la membrana plasmática del hongo y la membrana de la célula vegetal que rodea el arbúsculo; juega un papel fundamental en la transferencia de nutrientes entre simbioses (Smith y Read 2008).

Coalpaert y van Tichelen (1996) afirman que es difícil demostrar que la simbiosis micorrízica presenta ventajas selectivas hacia uno u otro simbiote, la planta o el hongo, y que es de suma importancia no equiparar los efectos benéficos de las micorrizas únicamente con una característica particular del simbiote vegetal como el peso o la altura. La eficiencia de la MA puede determinarse en función de su habilidad para incrementar la tasa de absorción del recurso más limitante para ambos simbiontes; de acuerdo con el modelo de co-adaptación (Johnson 2010). Así, las fuerzas selectivas ejercidas de un simbiote a otro son recíprocas, de manera tal que el intercambio de nutrientes entre ambos se optimiza cuando la fertilidad del suelo es baja minimizando el costo de la simbiosis en términos del C, de manera adaptativa, las plantas invertirán más biomasa en las raíces y la AM –que en los brotes- (Camargo y Rodríguez 2006); sin embargo, cuando la fertilidad del suelo es alta los beneficios del intercambio son bajos (Johnson 2010). De esta forma, se puede decir que en general una baja disponibilidad de nutrientes favorece el desarrollo micorrízico y en consecuencia pueden aumentar significativamente el crecimiento de las plantas en tales condiciones (Coalpaert y van Tichelen 1996). A pesar de esto, hay modelos que sugieren que el mutualismo disminuye con el aumento de la disponibilidad de nutrientes y de la calidad del ambiente (Thrall *et al.* 2006).

Los factores ambientales juegan un papel importante en el establecimiento de las micorrizas, a pesar de que los HMA se han adaptado a un amplio intervalo de condiciones, existen diferentes factores que intervienen y afectan la colonización intra y extrarradical, entre los que podemos identificar la historia de vida de las plantas hospederas (Guadarrama *et al.* 1998), la estacionalidad (Núñez-Castillo y Álvarez-Sánchez 2003), características propias del suelo como la concentración de nutrientes principalmente fósforo (P) (Kiers *et al.* 2000) y nitrógeno (N) (Thrall *et al.* 2006), así como el pH, la temperatura y la radiación solar (Jasso 2010), la fisiología y la complementariedad funcional de las plantas con el hongo (Allen 2001).

Existen datos contradictorios acerca de la producción de micelio intra- y extrarradical afectada por la estación del año. Se considera que ambas aumentan

durante la temporada de lluvias debido a que esta favorece la geminación de esporas propiciando así la colonización (Manson *et al.* 1992, Ragupathy y Mahadevan 1993). Además, se ha determinado que el aumento de temperatura durante la época de secas, tiene efectos directos e indirectos sobre el desarrollo de los HMA, sugiriendo que el calentamiento de los ecosistemas puede estimular el movimiento de C del hospedero hacia el micobionte (Rillig *et al.* 2002).

Debido a que la simbiosis facilita la absorción de los recursos también afecta la competencia intra- e interespecífica de las plantas (Schroeder y Janos 2004). Las observaciones en campo muestran que diversas plantas que crecen en una amplia variedad de situaciones de estrés se encuentran micorrizadas (Coalpaert y van Tichelen 1996).

1.1.2. Micelio Extrarradical

Se le denomina micelio extrarradical (ME) a las redes hifales de los HMA que crecen de manera extensiva por el suelo a partir del establecimiento del hongo en las raíces de la planta (Smith y Read 2008), formando rutas de transferencia de C orgánico de las raíces de las plantas hospederas y de nutrientes provenientes del suelo, así como transfiriendo sustancias nutritivas y C entre plantas unidas por las redes formadas (Simard *et al.* 2002). El ME de los HMA tiene una influencia muy importante sobre los ciclos biogeoquímicos, la composición de la comunidad de plantas, su nutrición y, en general, las funciones del agroecosistema; constituye una proporción considerable de la biomasa microbiana total, del 20 al 30%, al igual que del C orgánico del suelo, sin embargo no suele ser detectado por métodos estándar de medición de biomasa edáfica (Leake *et al.* 2004, Olsson *et al.* 1999).

El ME es la parte de la interacción más dinámica y con mayor diversidad funcional (Leake *et al.* 2004); es la estructura que interactúa directamente con el suelo, influyendo en las propiedades y formación de éste (Miller y Jastrow 2000); produce glomalina, glicoproteína capaz de aglomerar las partículas de suelo, confiriéndole una estructura más estable (Lovelock *et al.* 2004). Asimismo, la

relación que establecen las hifas extrarradicales con su entorno puede aumentar la porosidad y agregación del suelo (Simard *et al.* 2002).

Hay investigaciones que consideran que las redes miceliales tienen el potencial de influir sobre el desempeño de plántulas y la competencia interespecífica entre ellas, la diversidad vegetal y la dinámica de la comunidad (Simard y Durall 2004). La interacción es tan estrecha que se ha estimado que 10% ó más de los fotosintatos de la planta hospedera son consumidos por el ME, los costos y beneficios funcionales para las plantas asociadas, dependen de la especificidad del hongo, las variaciones fisiológicas y de la especificidad del hospedero (Leake *et al.* 2004).

En la nutrición de las plantas el ME juega un papel muy importante, al aumentar el flujo de nutrientes minerales hacia la planta hospedera mediante la extensión del área de absorción abarcada por la raíces (Albertsen *et al.* 2006). Se ha estudiado y documentado el flujo del P, N y C; los altos requerimientos de P por una especie y su incapacidad para tomarlo del suelo se han correlacionado con una alta dependencia hacia la MA (Sánchez de Prager *et al.* 2010); también se señala que los HMA transportan cantidades considerables de N hacia su hospedero y, puede ser adquirido de fuentes minerales y orgánicas (Leigh *et al.* 2009). A su vez, también el micelio puede ser una vía importante de flujo de C por su respiración en sistemas tropicales (Nottingham *et al.* 2010).

Además, el ME puede afectar el balance hídrico de las plantas hospederas, ya que los sistemas radicales con HMA en general tienen capacidad de absorber agua más rápido y a mayor profundidad que los sistemas no micorrizados, lo que se ve reflejado en el descenso del contenido de agua del suelo y del potencial hídrico del suelo a través del tiempo ante la presencia de HMA (Augé 2001).

1.1.3. Colonización Intrarradical

La colonización de las raíces de las plantas por HMA puede darse a partir de tres fuentes de inóculo que se encuentran de manera natural en el suelo: esporas,

fragmentos de raíces infectadas y ME (Smith y Read 2008). Una vez que las hifas infectivas del inóculo entran en contacto con la raíz de un hospedero, se forma un apresorio, la hifa penetra en la raíz y se extiende de manera radial por la epidermis y exodermis; en las células de la corteza las hifas se diferencian (Bago *et al.* 2000) y comienzan a formar las estructuras de colonización e intercambio mencionadas anteriormente.

La tasa de colonización está influenciada por la habilidad de los HMA para dispersarse de manera rápida y extensiva hacia las raíces de las plantas; esta capacidad está afectada por factores ligados a la germinación de las esporas, el crecimiento presimbótico del micelio y la formación de apresorios (Guadarrama *et al.* 1998). La composición de especies, viabilidad, latencia y fuente de inóculo, así como la comunidad de esporas son factores importantes en la colonización de las raíces, particularmente, la tasa de iniciación de la colonización y la propagación dentro del sistema radical, están correlacionados con la densidad de propágulos (Smith y Read 2008) y el potencial de inóculo del suelo² (Ramos-Zapata *et al.* 2008).

Gehring y Connell (2006) afirman que la intensidad de la luz es un factor importante para predecir la CI, en especies de la selva húmeda que sean micotróficas facultativas u obligadas, debido a que los HMA dependen de las plantas para la obtención de energía, por lo que bajos niveles de luz podrían resultar en porcentajes de colonización más bajos de los que podrían alcanzarse en zonas con mayor incidencia lumínica.

Existen datos contradictorios acerca de la producción de micelio intra- y extrarradical afectada por la estación del año; por una parte se considera que ambas aumentan durante la temporada de lluvias debido a que esta favorece la geminación de esporas propiciando así la colonización y disminuyendo la abundancia de esporas (Manson *et al.* 1992, Ragupathy y Mahadevan 1993). Sin embargo, se ha señalado que el aumento de temperatura, como ocurre durante la época de secas,

² Capacidad de los propágulos de formar la asociación micorrízica con las raíces de las plantas de un suelo dado (Luna 2009).

tiene efectos directos e indirectos sobre el desarrollo de los HMA; algunos resultados sugieren que el calentamiento de los ecosistemas puede estimular el movimiento de C del hospedero hacia el micobionte (Rillig *et al.* 2002).

1.2. La selva húmeda

La selva húmeda (SH) únicamente ocupa el 7% de la superficie total de la Tierra, y en ellos se ha registrado cerca del 50% de la biodiversidad mundial; en México representa el 17% de la flora del país con más de 5,000 especies vegetales (Soberón *et al.* 2008). Actualmente este tipo de ecosistemas corren el riesgo de desaparecer principalmente como consecuencia de la deforestación, en el caso particular de México, presenta una tasa de pérdida anual de 2% (Masera *et al.* 1997). La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, reporta que en el año 2000, la tasa estimada anual de deforestación total de las selvas fue de 510 mil hectáreas año¹ (SEMARNAT 2008).

Durante la década de los 80's, en México el 75% de la deforestación del país ocurrió en las SH; es sabido que las consecuencias a gran escala de la deforestación son muy graves e incluyen el cambio climático global, la pérdida de servicios ecosistémicos y de biodiversidad (Guevara *et al.* 2004a).

La principal causa de deforestación se debe al cambio de uso de suelo, ya que al eliminar la cobertura vegetal las condiciones se modifican considerablemente, lo que lleva a que paisajes anteriormente continuos se fragmenten y alteren la dinámica del ecosistema; el resultado es una serie de fragmentos desiguales con vegetación original en diferentes estados sucesionales, rodeados de cultivos y potreros, cambiando el paisaje de selva por un mosaico de vegetación con zonas agrícolas, ganaderas, de vegetación secundaria y parches de vegetación original (Guevara *et al.* 2004b).

La fragmentación repercute en el ambiente abiótico, ya que la forma y el tamaño del fragmento determinan que en la zona de transición de selva a la zona

perturbada se genere un efecto denominado de borde, el cual consiste en la modificación, desde el interior del fragmento de selva hacia el exterior, de las condiciones como luz, temperatura, humedad y compactación del suelo (Laurance *et al.* 2001). El efecto depende de la forma de fragmento y su distancia a las zonas de selva original; esto determina el nivel de diversidad, de tal manera que a mayor distancia entre fragmentos, menor será la diversidad (Guevara *et al.* 2004b).

La deforestación y fragmentación también repercuten sobre la dinámica de los HMA. Se tienen datos que indican que en los pastizales la diversidad disminuye y la abundancia de esporas aumenta, mientras que en el interior de la selva ocurre lo contrario (Núñez 2006). A pesar de que los HMA pueden encontrarse inmersos en una matriz edáfica, que podría suponer un sistema más resistente a las alteraciones de la superficie, en muchos casos los cambios físicos, químicos y biológicos del suelo son de tal magnitud que estos hongos no pueden resistirlos, viéndose el daño reflejado en la alteración de su funcionalidad (Smith y Read 2008). Entre otros aspectos llegan a presentarse reducción en el número de esporas viables, pérdida de redes hifales, reducción de la infectividad de raíces de plantas colonizadas y/o de la colonización por ME (Brundrett 2002).

1.2.1. Grupos funcionales

Pugnaire y Valladares (2007) proponen que la alta densidad de especies reportada en las SH, podría estar más ligada a la historia evolutiva de las plantas que a cualquier otro rasgo ecológico de estos ecosistemas, en otras palabras, mucha de la diversidad de estos sistemas puede estar fuertemente ligada con los grupos funcionales dentro de las comunidades vegetales.

Los grupos funcionales de plantas se construyen a partir de la utilización de rasgos de historias de vida, lo que permite clasificaciones más flexibles que pueden variar de acuerdo con la escala de análisis y los objetivos de investigación (Diaz *et al.* 2002).

Anteriormente se pensaba que en la SH, el grado de colonización por HMA de las plantas y su dependencia estaban relacionados con el estado sucesional de la comunidad vegetal, siendo las especies pioneras las no micotróficas o micotróficas facultativas, y las especies persistentes o de estadios sucesionales tardíos aquéllas que necesitan de los HMA de manera obligada (Janos 1980). Esta teoría ha sido descartada en diferentes ocasiones, pues se ha reportado la presencia de diferentes especies vegetales y asociaciones en los distintos estadios sucesionales (Núñez 2006), particularmente se ha demostrado mayor respuesta a la colonización por HMA en plantas demandantes de luz o pioneras que en aquéllas asociadas a etapas sucesionales más avanzadas denominadas tolerantes a la sombra (Sánchez-Gallen y Guadarrama 2000); también Siqueira *et al.* (1998) y Zangaro *et al.* (2000), reportan que las especies DL presentan altas tasas de colonización y son más susceptibles a la colonización por HMA, además Kiers *et al.* (2000) señalan que son más dependientes de los HMA para su crecimiento y reproducción.

1.2.1.1. Tolerantes a la sombra

Por definición, las especies tolerantes a la sombra (TS) no requieren, necesariamente, de claros para la germinación ni para el crecimiento a tamaños reproductivos y son capaces de crecer en el bosque maduro. Suelen tener valores bajos del punto de compensación lumínica de la fotosíntesis, lo que permite su crecimiento durante periodos prolongados en el sotobosque, aunque a tasas bajas (Granados y López 2000).

Las especies TS suelen tener baja susceptibilidad al declive poblacional; en bosques primarios, por lo general, son abundantes ya que al poder desarrollarse bajo sombra tienen más lugares en el bosque donde pueden regenerarse y crecer. Suelen requerir de pocas cantidades de luz para disparar su germinación (valor bajo de saturación lumínica de la fotosíntesis), y consecuentemente tienen una tasa de crecimiento mucho menor que las DL; es característico en ellas la producción de semillas grandes, de corta viabilidad que tienden a germinar rápidamente en forma relativamente sincrónica, produciendo carpetas de plántulas de la misma edad, que

pueden permanecer latentes hasta morir o crecer a diferentes velocidades dependiendo de los recursos disponibles (Mabberley 1992).

1.2.1.2. Demandantes de luz

Las plantas que se consideran dentro de este grupo funcional (DL), suelen encontrarse asociadas a las primeras etapas sucesionales (Mabberley 1992); en las SH maduras, donde la cobertura del dosel es densa, la densidad de plántulas de las especies pioneras es baja, mientras que en zonas más abiertas, son dominantes (Granados y López 2000); esto se debe a que sus semillas germinan en los claros y las plántulas no suelen sobrevivir en la sombra. De acuerdo con Mabberley (1992) se encuentran estrictamente ligadas a las condiciones discontinuas e inestables que se generan al abrirse un claro, porque típicamente han desarrollado características funcionales que les permiten establecerse exitosamente en estos ambientes, sin embargo, no todas las pioneras poseen todas las características asociadas a este síndrome, debido a que tanto las TS como las DL son extremos de un gradiente, donde la mayoría de las especies se encuentran ubicadas más hacia uno u otro de los polos.

La capacidad de las planta para poder explotar un claro, depende en gran parte del valor de saturación lumínica de la fotosíntesis, si éste es alto las plantas presentarían altas tasas de crecimiento en condiciones de alta luminosidad, permitiéndole competir por espacio en el claro y reproducirse rápidamente mientras persiste la luz, pero limitando su crecimiento bajo la sombra (Granados y López 2000). A pesar de no tener gran capacidad para competir se trata de un grupo muy versátil, ya que utilizan los recursos que no pueden aprovechar otras especies y son capaces de tolerar condiciones del ambiente relativamente extremas (Quiroz 2006). Además presentan tasas fotosintéticas, de respiración y acumulación de carbono muy elevadas sobre todo durante la fase de plántulas (Mabberley 1992).

2. Antecedentes

Los estudios referentes a los HMA se han enfocado mayoritariamente a los efectos y desarrollo de la planta hospedera; sin embargo, su investigación reciente se ha consolidado, reconociendo que aún falta información sobre la genética, estructura y diversidad funcional de estos hongos, enfatizando las interacciones entre los simbioses (Smith y Read 2008), así como su importante papel en el ecosistema donde no puede dejarse de lado la gran influencia que tienen en la funcionalidad, estructura y composición de las comunidades epigeas (Rillig 2004, Berg 2010).

Aún no están del todo claros aspectos de la ecología básica de los HMA, incluyendo características de su colonización (Hart y Reader 2002), la relación con los rasgos de historias de vida de las plantas (Guadarrama *et al.* 1998, Peña 2005) y los morfos sexuales (Vega-Frutis 2010) de las plantas con las que se asocian o si las condiciones microambientales son determinantes (Jasso 2010). Se ha concluido que la relación con las características de historia de vida de los simbioses vegetales (Piotrowski *et al.* 2004) o la influencia de las condiciones edáficas y ambientales predominantes (Drew *et al.* 2003) pueden determinar el tipo de relación que se desarrollará, ya sea mutualista o parásita; por ejemplo, si las condiciones son estresantes, la relación mutualista puede tornarse muy estrecha (Klironomos y Hart 2002), pero al haber agua y nutrientes en abundancia el hongo puede llegar a representar un gasto mayor e innecesario para la planta (Johnson *et al.* 1997).

En ecosistemas perturbados, la importancia de los HMA puede resultar más clara ya que pueden volverse significativamente limitantes para los procesos ecosistémicos, ligado por ejemplo a la pérdida de especies vegetales (Rillig 2004), que puede afectar la complementariedad funcional de este grupo de organismos (Allen 2001).

El grupo de trabajo de Ecología del Suelo de la Facultad de Ciencias de la UNAM, se ha dedicado a determinar el papel ecológico que juegan los HMA en la regeneración y restauración de la selva húmeda de Los Tuxtlas, Veracruz,

enfocándose principalmente en los estudios a nivel de individuos y comunidades vegetales (Álvarez-Sánchez y Peña 2009).

Existen diversas conclusiones sobre los patrones de comportamiento de las comunidades de HMA en la selva húmeda de la región de Los Tuxtlas, ya sea en un continuo de selva, en fragmentos de diferente tamaño y en zonas de borde. La información señala que, en términos del número esperado de especies, la diversidad y la composición de la comunidad de HMA, no existen diferencias claras entre fragmentos de diferente tamaño (Sánchez-Gallen *et al.* 2010); por otra parte ciertos estudios marcan que existen diferencias en cuanto a la composición, riqueza (Janos 1980) y capacidad de colonización de los HMA en claros y debajo del dosel (Núñez-Castillo y Álvarez-Sánchez 2003); mientras que otros a pesar de no haber encontrado diferencias en la abundancia o riqueza de esporas, entre claros y selva, sí han visualizado patrones entre diferentes estaciones climáticas, reportando en la estación de secas, mayor número de especies y cantidad de esporas que en la de lluvias (Guadarrama y Álvarez-Sánchez 1999), información que se complementa con los estudios de Ramírez-Gerardo *et al.* (1997) que señalan que hay diferencias significativas en el número de esporas de acuerdo con la época del año en diferentes especies de árboles remanentes y los resultados de mayor colonización intrarradical (CI) en la época seca del año, obtenidos en claros, al interior de la selva y en potreros por Jasso (2010).

La dependencia que presentan las plántulas a esta asociación también es altamente variable (Gehring y Connell 2006). Peña (2005) determinó que especies TS presentan baja respuesta a la inoculación con HMA; mientras que las especies DL tienen altas tasas de colonización y en algunos casos dependencia (Siqueira *et al.* 1998, Kiers *et al.* 2000, Zangaro *et al.* 2000, Guadarrama *et al.* 2004).

De acuerdo con Kapos (1989) y Lean y Warrilow (1989), en el potrero los cambios en el ambiente se traducen en cambios en la humedad del suelo, lo cual afecta directamente a la diversidad de los microorganismos. En Los Tuxtlas se ha determinado que los cambios de uso de suelo modifican su estructura, lo que afecta

la riqueza y abundancia de HMA (Núñez 2006); por otra parte, el estudio de Jasso (2010) sugiere que también afecta la colonización extrarradical, al reportar valores muy bajos (51.39 ± 6.02 mm/g) de ME en el potrero.

Es importante considerar que en esta región existe poca información que documente el papel funcional de los HMA en términos de la respuesta del hongo en su asignación de biomasa extrarradical. Datos preliminares han destacado que existen diferencias significativas en la producción de ME entre el potrero, la selva y los claros (51.4, 123.5 y 157.19 mm/g, respectivamente) (Jasso 2010). Sin embargo, los estudios en SH que documentan las modificaciones en la colonización y producción de ME por efecto de cambios ambientales son muy pocos, y pueden llegar a ser de gran importancia para predecir cambios en la dinámica de los suelos, la estructura vegetal o los ciclos biogeoquímicos, en el marco del cambio climático global.

En general, el efecto que tiene el calentamiento sobre la biota edáfica, es un terreno poco explorado y sumamente complejo, particularmente las respuestas que puedan tener los HMA ante el calentamiento global e introducen un componente multifactorial, no evaluado hasta la fecha (Rillig *et al.* 2002).

Algunos datos preliminares señalan que la abundancia de esporas se incrementa en el suelo durante la época de secas, que corresponde al momento de mayor temperatura en la selva de Los Tuxtlas, lo que posibilita que durante la época de lluvias comience su geminación, incrementando consecuentemente la colonización de nuevas plantas (Núñez-Castillo y Álvarez-Sánchez 2003). Lo anterior de alguna manera se contrapone con lo reportado por Jasso (2010), quien encontró valores de CI mayores durante la temporada de secas en la selva, pero en el potrero registró mayor producción de ME en la época de lluvias.

El estudio de Jasso (2010) es pionero en la determinación de los porcentajes de colonización tanto intrarradical como extrarradical en la SH de Los Tuxtlas; para determinarlas, en el trabajo se realizaron muestreos de raíces y suelo rizosférico. Los resultados indican mayor colonización intra y extrarradical en el ambiente selva,

asociado a la estacionalidad reporta mayor CI en la época de secas en ambos ambientes, mientras que la producción de ME fue mayor en el potrero en lluvias y en selva durante secas. Al correlacionar ambas formas de colonización con la concentración de fósforo lábil y nitrógeno total, solamente esta última fue significativa y positiva.

En general, las investigaciones referentes a la adquisición de los nutrientes ligada a la asociación micorrízica arbuscular, se enfocan en la interface raíz-hongo y casi no se ha explorado el crecimiento y funcionamiento del ME dentro de la matriz edáfica (Drew *et al.* 2003). Además, en ecosistemas forestales se espera que el ME sea particularmente importante, ya que los árboles tienen un alto potencial de fijación de C y dependen de la eficiencia del ciclaje de nutrientes para mantener la productividad (Leake *et al.* 2004).

En lo referente a las respuestas diferenciales entre especies DL o TS ante la colonización de HMA, en la selva de Los Tuxtlas, se ha encontrado que dependiendo de la especie vegetal de la que se trate, el ambiente en donde se desarrolle y el tipo de inóculo, pueden cambiar los beneficios que los HMA representen para la asociación mutualista (Peña 2006).

Sin embargo, los datos alrededor del comportamiento funcional de los HMA son muy escasos y mucho tiene que ver con que las técnicas de evaluación de la colonización por HMA y la extracción de ME son muy laboriosas y, en muchas ocasiones, tienen un factor subjetivo muy difícil de eliminar además de que deben ser diseñadas para los diferentes tipos de suelo que se manejen, por lo que trabajos como este aportan además técnicas depuradas para algunos sitios de estudios.

El presente trabajo forma parte del proyecto “Análisis de la respuesta funcional de los hongos micorrizógenos arbusculares a los cambios ambientales en una selva húmeda: una aproximación a los efectos del cambio climático”, cuyo objetivo general es analizar la respuesta funcional de los HMA en función de las variaciones de temperatura y humedad después de la deforestación de la selva húmeda.

Por lo anterior, surgen las siguientes preguntas:

- ¿Existirá alguna relación entre la historia de vida de las plantas (DL o TS) y el desempeño de los HMA?
- ¿Se presentarán cambios en los patrones de producción de micelio extrarradical y porcentaje de colonización ligados a las variaciones de temperatura y humedad?
- ¿Qué relación hay entre las condiciones microambientales (selva y potrero) y la respuesta funcional de los HMA, con respecto a la producción de micelio extrarradical y a la colonización intrarradical?

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Analizar el cambio de la producción de micelio extrarradical y del porcentaje de colonización de los HMA asociados a dos especies arbóreas con historias de vida diferentes, en ambientes contrastantes de la selva húmeda de Los Tuxtlas.

3.2. Objetivos particulares

Asociado a las especies *Poulsenia armata* (TS) y *Trema micrantha* (DL):

- A. Analizar el cambio de la producción de micelio extrarradical y del porcentaje de colonización asociados a las variaciones de temperatura y humedad relativa.
- B. Determinar y analizar las diferencias en la producción de micelio extrarradical en selva y potrero.
- C. Determinar y analizar las diferencias en el porcentaje de colonización de HMA en selva y potrero.

4. Hipótesis

- A. Debido al aumento de temperatura y disminución de humedad que restringen la disponibilidad de agua en el suelo para las plantas, se espera mayor producción de micelio extrarradical en el potrero; patrón que se acentuará en *P. armata* al tratarse de una especie tolerante a la sombra ubicada en un sitio con alta incidencia lumínica, lo que supone condiciones estresantes para la planta.
- B. Al haber mayor incidencia de luz, que aumenta la actividad fotosintética de las plantas, y asociado al aumento de temperatura, que estimula el movimiento de C a los HMA, se espera mayor colonización intrarradical principalmente en el potrero, comportamiento que se remarcará en *T. micrantha* por ser una especie demandante de luz con altas tasas metabólicas, propensa a la micorrización.
- C. Ante concentraciones bajas de P y NH₄, que pudieran limitar el desarrollo de las plantas, se espera aumento de ambos tipos de respuesta micelial.

5. Métodos

5.1. Sitio de estudio

5.1.1. Ubicación geográfica

El trabajo se realizó en la región de Los Tuxtlas localizada al SE del Estado de Veracruz, en la llanura costera del Golfo de México (Figura 1). Una de las parcelas delimitadas se ubicó dentro de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas (EBTLT) que pertenece a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y la otra en un potrero aledaño a la estación (Fotografías 1 y 2).

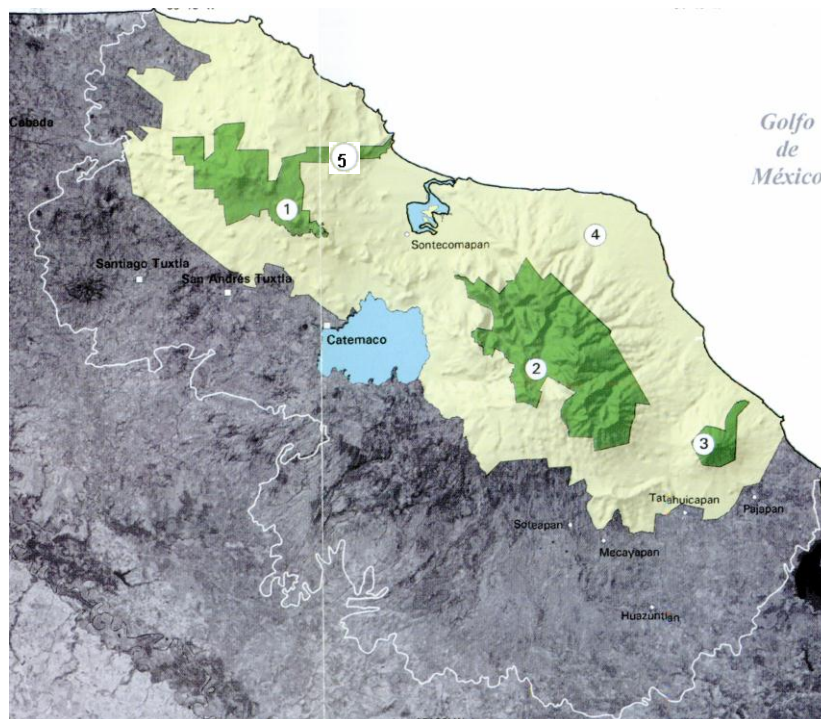


Figura 1. Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas (Tomado de Guevara *et al.* 2004; escala 1:250,000. 1. Zona Volcán San Martín Tuxtla 2. Zona Volcán Santa Marta 3. Zona San Martín Pajapan 4. Zona de amortiguamiento 5. Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas (EBTLT) de la UNAM.

La región se encuentra inmersa en un macizo volcánico en la costa del Golfo de México entre las grandes zonas aluviales formadas por las cuencas de los ríos Papaloapan y Coatzacoalcos, debido a esto, el relieve general de la región resulta de diversos procesos formadores (Sommer-Cervantes *et al.* 2003). En particular, la

EBTLT se encuentra entre los 18° 34' y 18° 36' de latitud Norte y los 95° 04' y 95° 09' de longitud Oeste, abarca una superficie de 650 ha y al encontrarse en las faldas del volcán San Martín Tuxtla la altitud varía desde 150 hasta 530 m s.n.m. (Sommer-Cervantes *et al.* 2003), aunque la mayor parte de la región se encuentra por debajo de los 200 m s.n.m. (Guevara *et al.* 2004b).



Fotografía 1 (arriba). Parcela ubicada en el interior de la selva en la EBTLT.
Fotografía 2 (abajo) Parcela ubicada en un potrero de la región.

5.1.2. Clima

El clima de la zona se considera cálido húmedo (Af(m), Am, Aw); la precipitación total anual promedio es de 4 725.2 mm, siendo de 60 mm en el mes más seco. La temperatura promedio anual es de 24.3 °C, el valor máximo alcanza 32.18 °C, principalmente en el mes de mayo y el mínimo 16.4 °C durante enero (Soto y Gama 1997).

En el Golfo de México, esta región es la de mayor precipitación durante todo el año, sin embargo es posible identificar tres temporadas: secas (marzo a mayo), lluvias (junio a octubre) y nortes (noviembre a febrero) (Soto y Gama 1997).

5.1.3. Suelos

En Los Tuxtlas se ha determinado gran diversidad de tipos de suelos, debida a las características de la región que influyen en su formación, entre las que destacan la edad de los materiales geológicos, el origen volcánico de la roca madre (basalto y andesitas en conjunto con cenizas volcánicas), la diversidad geomorfológica, las condiciones climáticas y los distintos tipos de vegetación de la sierra (Flores-Delgadillo *et al.* 1999). Los grupos más abundantes que se han determinado en la sierra son luvisoles y acrisoles (34.2%), andosoles (21%), feozems (18%) y vertisoles (13%) (Campos 2004).

Los suelos de la estación son principalmente andosoles de origen volcánico y con grado evolutivo bajo; la textura predominante es franco-arcillosa y/o limosa, siendo las arcillas tipo 1:1 las predominantes; el pH varía de 5.3 a 6.7; la capacidad de intercambio catiónico (CIC) es alta con un intervalo entre 17.7 y 29.9 meq/100 g (Peña 2005, Núñez 2006). En la región, la acumulación de materia orgánica (MO) varía, en algunos sitios es considerada alta (>11.11%) y en otros se registran valores bajos (1.64 %) (Flores-Delgadillo *et al.* 1999). Predominan los colores rojo, rojo-amarillento, pardo-oscuro y pardo-grisáceo, siendo el más común el pardo-amarillento, lo que indica abundante humedad y MO en el suelo (Campos 2004).

De acuerdo con el estudio realizado por Flores-Delgadillo *et al.* (1999), a pesar de haber homogeneidad en los procesos de formación y desarrollo de los suelos, existen ciertas diferencias características entre los suelos de zonas de pastos y aquellos que se encuentran bajo la vegetación de selva. En el primer caso, los valores de CIC son relativamente altos, varían entre 30 y 47 cmol (+) Kg⁻¹ y se deben a la alta cantidad de material amorfo y de MO; la saturación de bases es baja, indicando desaturación o eliminación de bases como Ca, Mg, Na y K, debidos a procesos de lixiviación. Por otra parte, los suelos que se desarrollan en la selva no presentan propiedades ándicas, tienen menor capacidad de fijación de fósforo (entre 59 y 68%), la textura es más fina por el aumento de arcilla lo que confiere mayor plasticidad, estructura y alta adhesividad; los valores de CIC son bajos y hay mayor saturación de bases (> del 50%); disminuye la cantidad de material amorfo; los valores de nitrógeno total son muy bajos (0.1% a 0.6%), al igual que los de carbono orgánico (< 6%).

5.1.4. Vegetación

La vegetación original de la región es selva alta perennifolia, con una mezcla de parches en diferentes estados sucesionales. El área no perturbada está compuesta por árboles gruesos y lisos que alcanzan de 30 a 40 m de altura y la mayoría presentan contrafuertes amplios; estos árboles, junto con los arbustos, lianas, palmas y epífitas son los principales componentes de la estructura y fisonomía de la vegetación. Se presenta mayor diversidad de especies herbáceas (30%), seguida de las trepadoras (19%), arbustos (18%), árboles (17%) y epífitas (16%) (Ibarra-Manríquez y Sinaca 1997).

Por otra parte, las tierras deforestadas que se encuentran alrededor de la reserva se caracterizan por ser potreros utilizados para el pastoreo y la siembra de árboles frutales; se han identificado dos tipos, aquellos dominados por pastos nativos con *Cynodon dactylon* y los dominados por pastos exóticos cultivados, principalmente *Cynodon plectostachyus* (Castillo-Campos y Laborde-Dovalí 2004).

Las especies vegetales que se utilizaron en este trabajo fueron *Poulsenia armata*, tolerante a la sombra, y *Trema micrantha*, demandante de luz, seleccionadas por ser características y representativas de la vegetación del sitio de estudio y por tener historias de vida contrastantes (Fotografías 3 y 4, respectivamente).



Fotografía 3 (izquierda). *Poulsenia armata* en la parcela de la selva. Fotografía 4 (derecha) *Trema micrantha* en la parcela del potrero.

Poulsenia armata es un árbol perennifolio que llega a medir hasta 25 m de altura y 60 cm de d.a.p.; su tronco generalmente es derecho y ocasionalmente acanalado; presenta ramas horizontales o ascendentes, y una copa densa que puede ser redonda o irregular (Pennington y Sarukhán 2005). Especie monoica que alcanza altura del dosel medio, es tolerante a la sombra y de vida larga (Gentry 1993, Aide y Rivera 1998); suele crecer en suelos de material volcánico y está asociada a otras especies tolerantes a la sombra como *Brosimum alicastrum*, *Pseudolmedia oxyphyllaria* y *Nectandra ambigens* características de estados sucesionales tardíos (Pennington y Sarukhán 2005) (Fotografía 3).

Trema micrantha es una especie arbórea cuyos individuos adultos miden de 5 a 13 m (máximo 30 m), el diámetro a la altura del pecho varía entre 6 y 20 cm,

(máximo 70 cm); su crecimiento es extremadamente rápido, hasta 7 m anuales, es de vida corta y suele ser reemplazada después de 30 años por otras especies. (Pennington y Sarukhán 2005). Para su establecimiento son indispensables claros grandes, ya que las semillas para germinar requieren de una intensidad lumínica alta; en invernadero se ha determinado que la floración ocurre a los 9 meses aproximadamente; desarrolla yemas continuamente, por lo que siempre hay formación de follaje nuevo. Se ha determinado que las raíces de esta especie presentan abundantes asociaciones con HMA y que la planta se adapta fácilmente a las condiciones de perturbación (MuseumBotanicum 1856) (Fotografía 4).

5.2. Preparación de especies vegetales

5.2.1. Sustrato

La preparación del sustrato donde se colocaron las semillas y posteriormente las plántulas, consistió en la recolección de suelo del interior de la selva, el cual fue esterilizado en autoclave por 1 hora a 100 °C, se dejó reposar durante 24 horas y nuevamente se colocó en la autoclave. El suelo estéril se mezcló con arena en una proporción 3:1 (Peña 2005).

5.2.2. Germinación

Durante la época de lluvias de 2009 se colectaron semillas de *T. micrantha* (DL), y *P. armata* (TS), las cuales fueron sembradas en el invernadero de la EBTLT. En noviembre de ese año fueron colocadas en charolas de plástico con el suelo esterilizado antes mencionado; se mantuvieron en el invernadero y fueron regadas periódicamente.

5.2.3. Inóculo

En el invernadero, se colocaron 25 charolas con suelo proveniente del interior de la selva en las que se sembraron semillas de diferentes especies de la reserva para su germinación, con el propósito de propagar HMA nativos y obtener inóculo para los

tratamientos experimentales, a lo largo del año 2009 se continuaron incorporando semillas regularmente. En enero de 2010 se colectaron muestras al azar de este inóculo para su caracterización; por otra parte, el inóculo utilizado para los tratamientos fue el proveniente de diez charolas, para ello se mezcló el suelo incluyendo las raíces de las plantas por ser ahí donde se lleva a cabo la interacción con los HMA (Quiroz 2006).

5.2.4. Inoculación con HMA

Al haber germinado las plántulas después de cuatro meses, fueron seleccionados aleatoriamente 180 individuos de cada especie para la aplicación de los diferentes tratamientos experimentales. Con la finalidad de facilitar la asignación y reconocimiento de los tratamientos se prepararon 360 bolsas de plástico negras con capacidad de 2 Kg separadas en cuatro grupos (90 bolsas $\%_{u}$) (Cuadro 1), marcadas diferencialmente con una de las siguientes claves referentes a los tratamientos: “DL” *T. micrantha* sin inóculo; “DL/M+” *T. micrantha* inoculada; “TS” *P. armata* sin inóculo; y “TS/M+” *P. armata* inoculada. Todas se llenaron con aproximadamente 1.5 Kg de mezcla de suelo estéril y arena en proporción 3:1.

Cuadro 1. Número de plantas por tratamiento de cada especie.

Tratamiento	Especies		TOTAL
	<i>Trema micrantha</i>	<i>Poulsenia armata</i>	
HMA+	90	90	180
HMA-	90	90	180
TOTAL	180	180	360

Para los tratamientos sin inóculo (HMA-) en cada una de las bolsas se sembró una plántula de *P. armata*; en el caso de *T. micrantha*, debido al reducido tamaño de los individuos, se sembraron dos de ellos en cada bolsa y fue retirado el de menor

tamaño al momento de transplantar a campo. Se siguió el mismo procedimiento en los tratamientos con inóculo (HMA+), adicionando además a cada individuo 100 g del inóculo antes mencionado.

Las plántulas permanecieron en el invernadero de marzo a agosto de 2010 para permitir que se llevara a cabo una buena inoculación por parte de los HMA. Fueron regadas periódicamente y trasplantadas al campo, durante la temporada de lluvias.

5.3. Montaje del experimento

5.3.1. Trasplante a campo

El trasplante se realizó en dos ambientes, selva y potrero, en cada uno de los cuales se delimitó una parcela de 14 por 18 m, cuyas características se describen en el Cuadro 2. En el interior de las parcelas se colocaron 135 (selva) y 129 (potrero) plantas de los cuatro tratamientos, en disposición de tres en bolillo, y fueron colocadas de manera aleatoria por tratamiento y especie (Cuadro 3); la parcela ubicada en el potrero fue cercada con alambre de púas para evitar alteraciones por ganado.

Cuadro 2. Características fisicoquímicas del suelo de los sitios.

	Selva	Potrero
pH	5.2	5.6
M.O. (%)	12.8	6.5
CIC (cmoles+Kg ⁻¹)	34.1	26.6
Fe (ppm)	146.4	69.9
P _{Bray I} (ppm)	5.7	4.7

NH ₄ (ppm)	10.4	13.2
-----------------------	------	------

Cuadro 3. Número de individuos de cada tratamiento que fueron trasplantados a campo en los dos microambientes

Tratamiento	Selva	Potrero
<i>T. micrantha</i> HMA+	34	29
<i>T. micrantha</i> HMA-	35	35
<i>P. armata</i> HMA+	33	34
<i>P. armata</i> HMA-	33	31
TOTAL	135	129

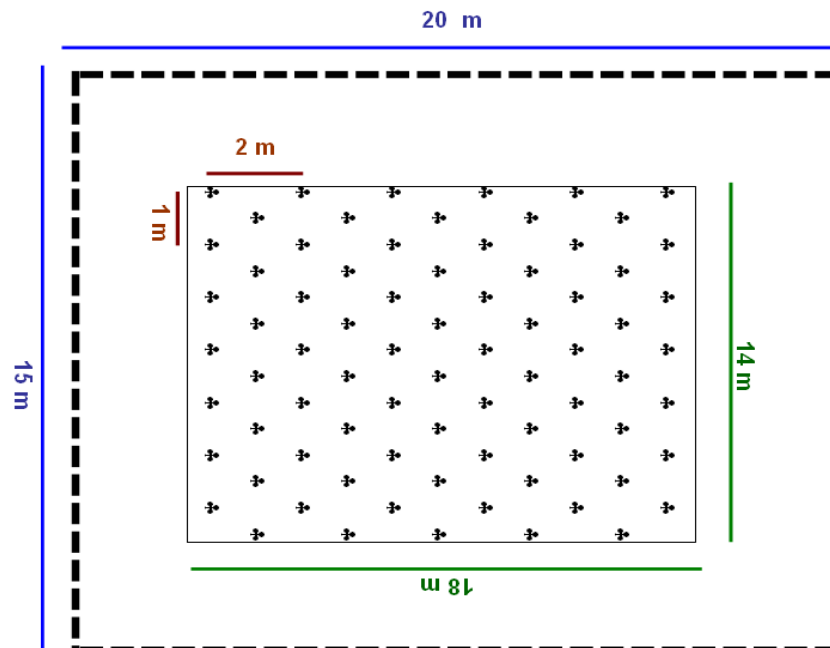


Figura 2. Distribución de las plántulas en las parcelas.

5.4. Cosechas

El trasplante a campo en agosto de 2010 fue considerado T_0 , en este momento se realizó la evaluación del desempeño de los HMA a través de la medición de la producción de ME y el porcentaje de CI de cinco réplicas de cada uno de los tratamientos, para comprobar la colonización. A lo largo de los ocho meses siguientes (agosto 2010 a abril 2011), se realizaron cosechas bimensuales para determinar los porcentajes de colonización de todos los tratamientos ubicados en los dos ambientes. En cada cosecha se colectaron cinco plántulas de cada tratamiento y se evaluaron las variables antes mencionadas.

Durante todo el periodo de cosechas se monitorearon y registraron datos de temperatura ambiente (TAP), a 30 cm de altura, temperatura del suelo (TPS) a 5 cm de profundidad y humedad relativa (HR). Estos registros fueron obtenidos con los equipos: HOBO U23 Pro v2 External Temperature Data Logger - U23-00 y HOBO U23 Pro v2 Temperature/Relative Humidity Data Logger - U23-001. Los datos se procesaron con el programa HOBOWare Pro version: 3.3.0 (tomado de Software.informer 2012).

En cada parcela, se tomaron muestras compuestas de suelo de para determinar sus características fisicoquímicas generales; además se tomaron muestras de suelo asociadas a cada individuo cosechado, con el fin de realizar análisis de fósforo (P_{Bray}) y amonio (NH_4) en la zona de la rizósfera. Los análisis se realizaron siguiendo los procedimientos del Laboratorio de Fertilidad del Colegio de Postgraduados, Montecillos (ver Apéndice 1).

5.5. Evaluación del desempeño de los HMA

La extracción del ME de las muestras de suelo se realizó con la técnica de Miller y Jastrow (1998), considerando modificaciones realizadas por Jasso (2010) y Sánchez de Prager (2010) (ver Apéndice 2).

La cuantificación del ME del suelo se realizó con la técnica de Jakobsen (1998), considerando modificaciones realizadas por Jasso (2010) (ver Apéndice 3).

La tinción, observación y cuantificación de la CI (total) por los HMA se realizó con el método descrito por Phillips y Hayman (1970) (ver Apéndice 4).

5.6. Análisis estadístico

Para ambas especies, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias significativas en la producción de ME y porcentaje de CI, asociadas al tratamiento de inoculación previa al trasplante y al sitio. Fue necesario transformar los datos de ME de *P. armata* a logaritmo natural, para obtener su normalidad; los otros datos no fueron transformados. Únicamente se reportan los casos que fueron significativamente diferentes luego de aplicar una prueba *pos hoc* de Tukey.

Por tratamiento se realizaron regresiones lineales entre la producción de ME y el porcentaje de CI de cada cosecha y los valores promedio obtenidos de TAP, TPS, HR. También se realizó este análisis entre las variables ME y CI, y las concentraciones de P_{Bray} y NH_4 asociadas a la rizósfera de cada individuo cosechado. En todos los casos sólo se reportan las regresiones significativas.

Los análisis fueron realizados en el programa STATISTICA versión 8.0.

6. Resultados

6.1. *Poulsenia armata*

6.1.1. Producción de Micelio Extrarradical

El análisis de varianza para la producción de ME de *P. armata*, presentó diferencias significativas en el tratamiento de inoculación ($F_{1,62} = 65.93$; $p < 0.001$), siendo mayor la producción en los tratamientos HMA+ (12.50 ± 2.04 m/g) que los HMA- (8.57 ± 1.65 m/g) (Figura 3); también fue significativa entre sitios ($F_{1,62} = 198.30$; $p < 0.001$), donde la parcela del potrero registró mayor producción (14.78 ± 1.49 m/g) que la de selva (6.29 ± 0.79 m/g) (Figura 4) (Fotografía 5) .

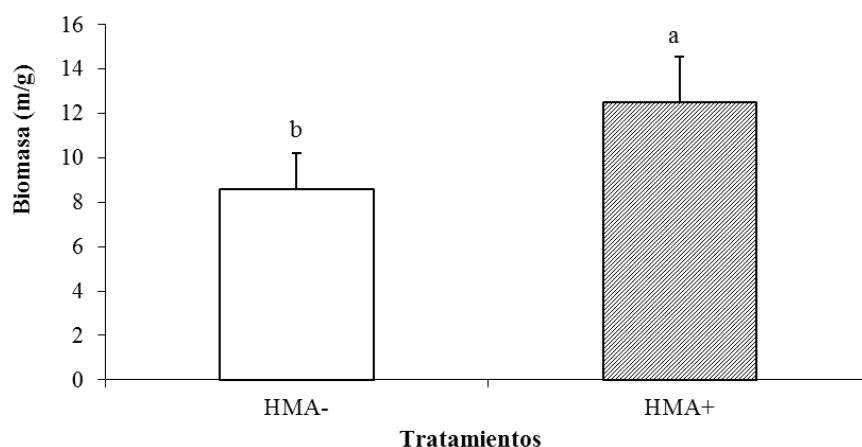


Figura 3. Producción de ME (promedio +1EE) en *Poulsenia armata* por tratamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey.

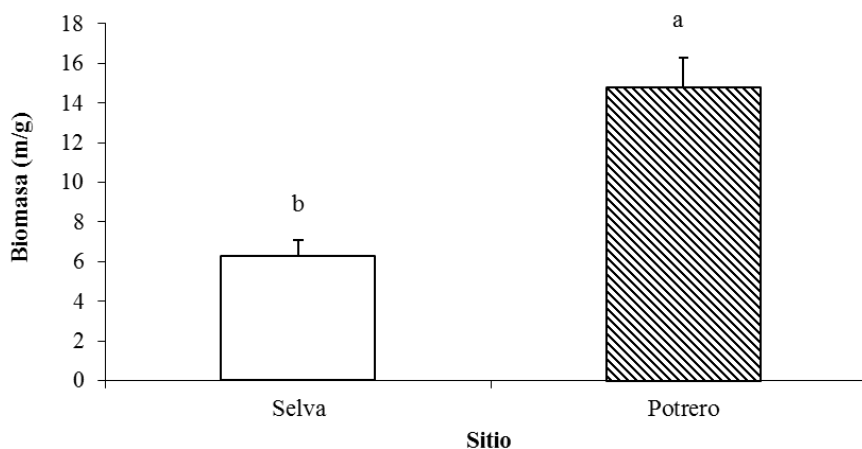


Figura 4. Producción de ME (promedio +1EE) en *Poulsenia armata* por sitio. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey.

Los análisis de regresión lineal no fueron significativos para la producción de ME (biomasa fúngica) en función de la Temperatura Ambiente Promedio (TAP), la Temperatura Promedio del Suelo (TPS), ni la Humedad Relativa Promedio (HR).

Únicamente fue significativa la regresión lineal en función de la concentración de NH_4 en el suelo para el tratamiento HMA+ en potrero ($R^2 = 0.30$; $F_{1,10} = 5.607$, $p < 0.04$) (Figura 5).

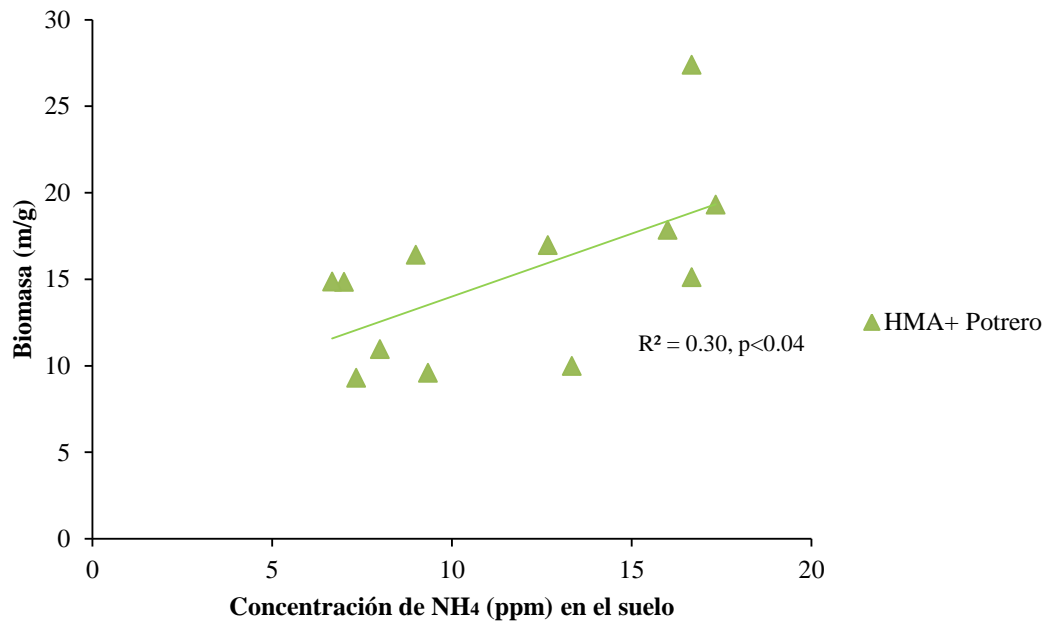
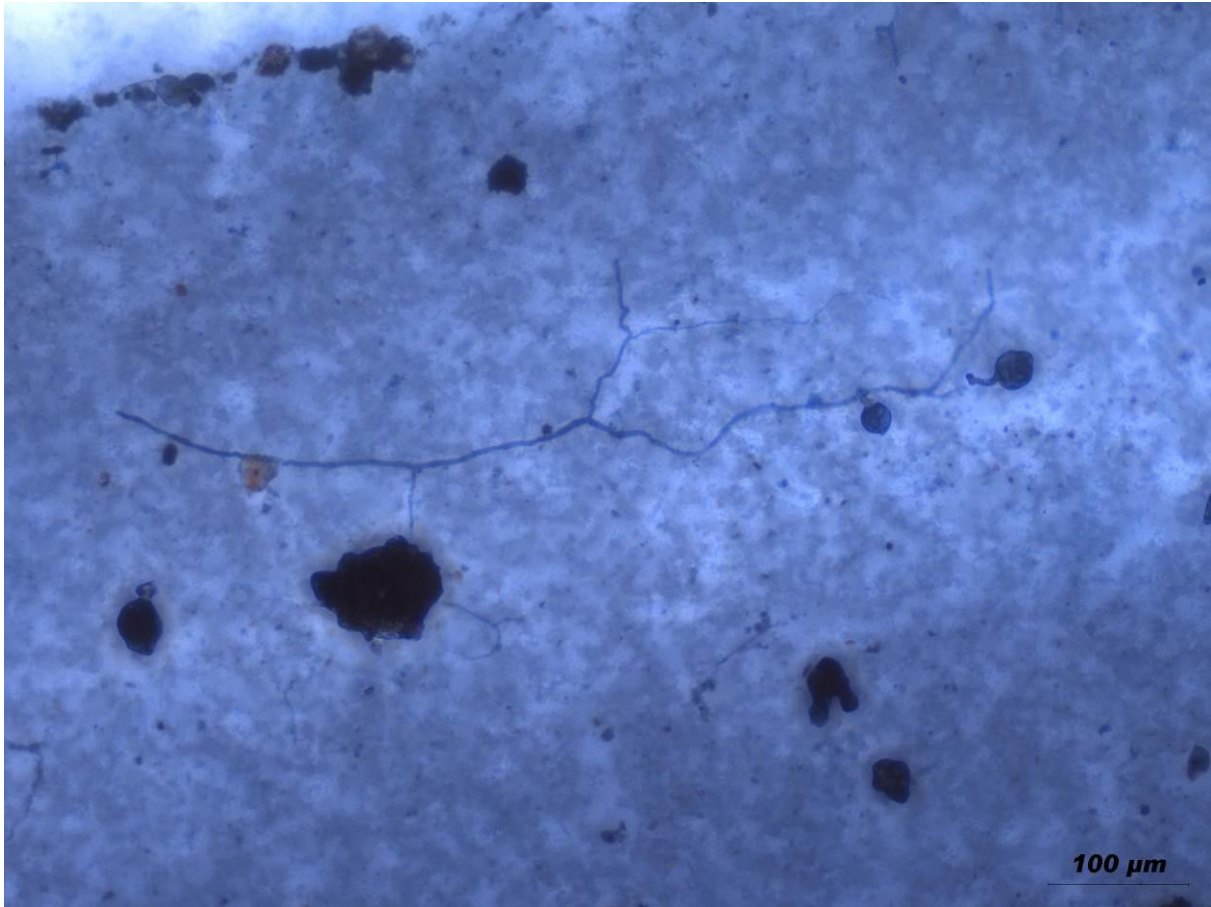


Figura 5. Relación entre la concentración de NH_4 en el suelo y la producción de ME de *Poulsenia armata*.



Fotografía 5. Micelio extrarradical asociado a *Poulsenia armata* (50x).

6.1.2. Colonización Intrarradical

En la CI total en *P. armata*, hubo diferencias significativas asociadas al tratamiento de inoculación ($F_{1,59} = 57.64$; $p < 0.001$), siendo mayor en los tratamientos HMA+ ($54.02 \pm 3.6\%$) y menor en los HMA- ($37.45 \pm 2.6\%$) (Figura 6) (Fotografía 6).

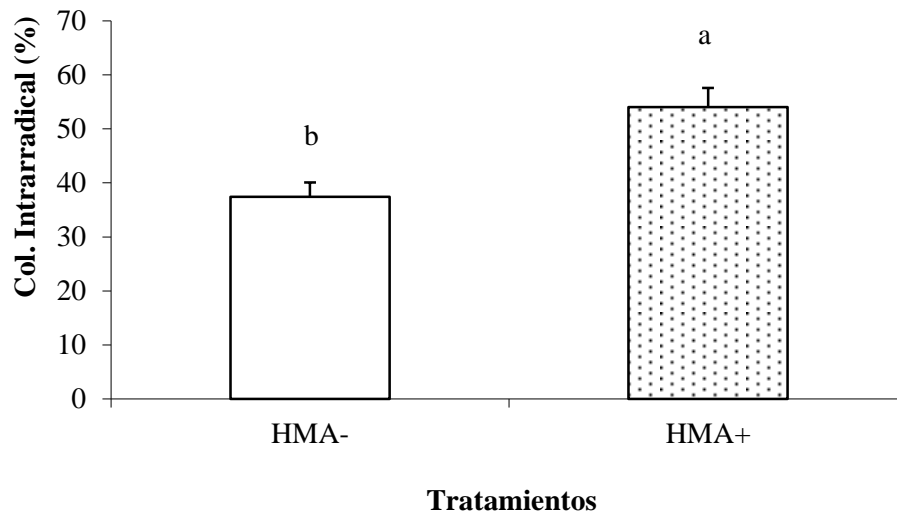


Figura 6. CI total (promedio +1EE) de *Poulsenia armata* por tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey.

En función de los factores ambientales, los análisis de regresión lineal fueron significativos para los tratamientos HMA+ en selva y HMA- en potrero relacionados, respectivamente, con la TAP ($R^2 = 0.51$; $F_{1,10} = 12.33$, $p < 0.006$ y $R^2 = 0.75$; $F_{1,10} = 33.31$, $p < 0.0001$) (Figura 7); con la TPS ($R^2 = 0.54$; $F_{1,10} = 13.99$, $p < 0.004$ y $R^2 = 0.77$; $F_{1,10} = 37.91$, $p < 0.0001$) (Figura 8); y con la HR ($R^2 = 0.77$; $F_{1,10} = 38.49$, $p < 0.0001$ y $R^2 = 0.76$; $F_{1,10} = 36.58$, $p < 0.0001$); con esta última también se relacionó el tratamiento HMA+ en el potrero ($R^2 = 0.30$; $F_{1,10} = 5.81$, $p < 0.04$) (Figura 9).

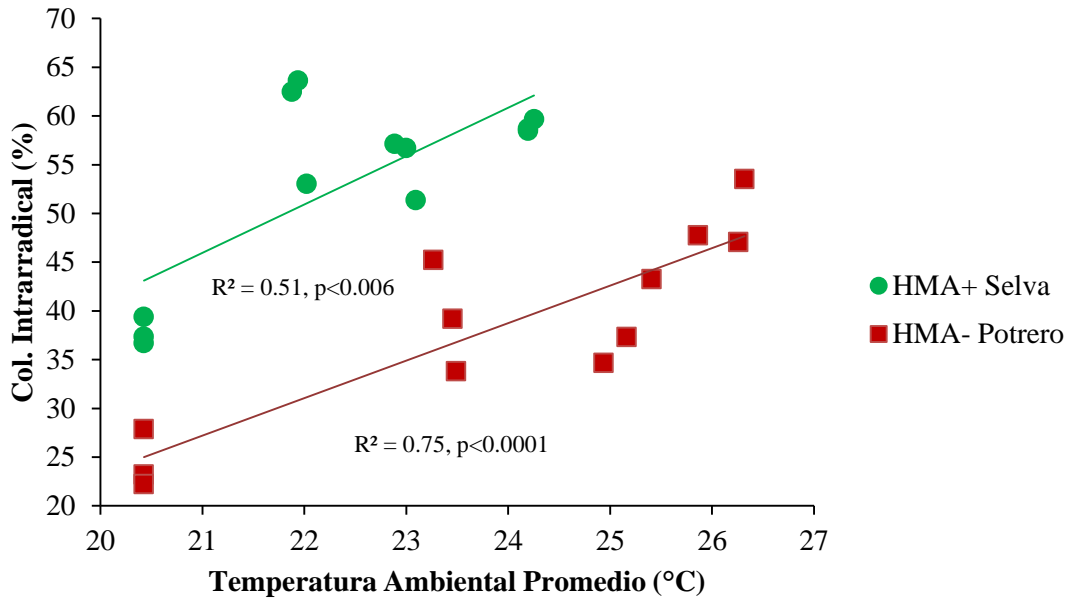


Figura 7. Relación entre la temperatura ambiental promedio y la CI de *Poulsenia armata*.

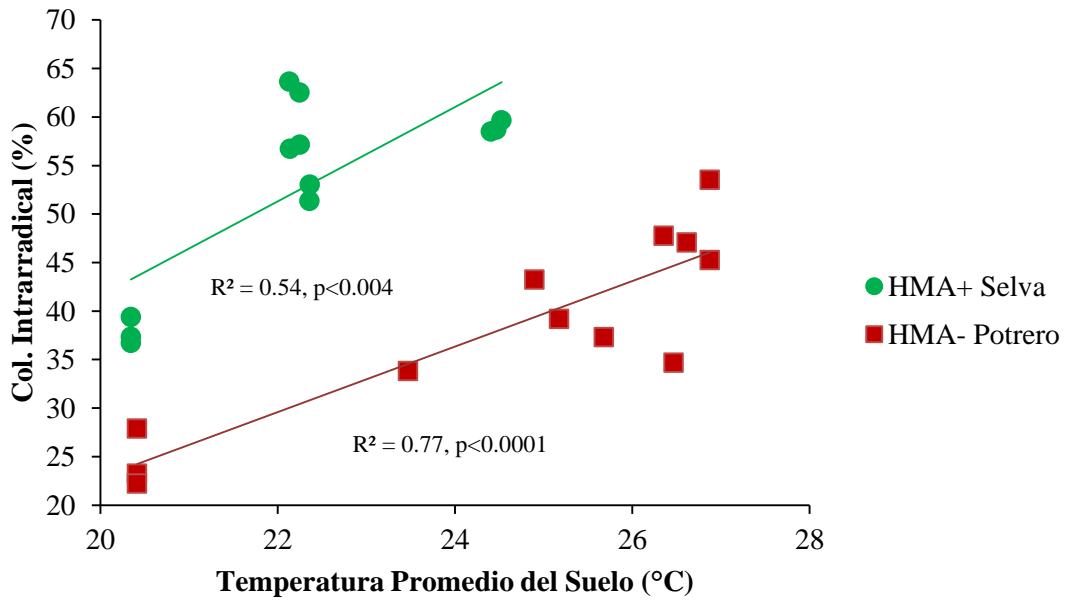


Figura 8. Relación entre la temperatura promedio del suelo y la CI de *Poulsenia armata*.

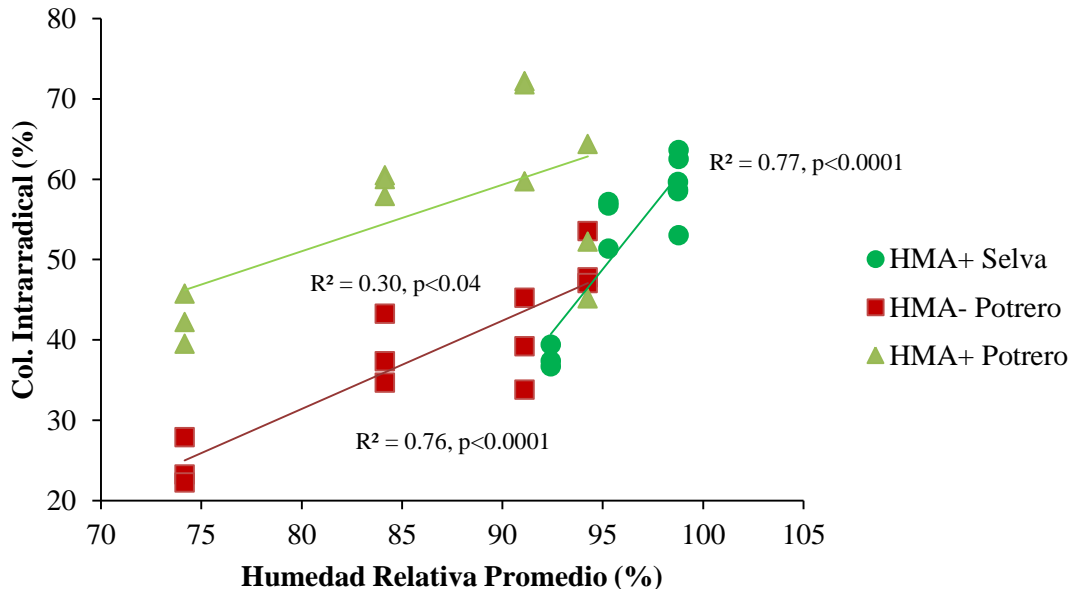


Figura 9. Relación entre la humedad relativa promedio y la CI de *Poulsenia armata*.

También fue significativa la regresión lineal en función de la concentración de P en el suelo en los dos tratamientos del potrero, siendo positiva para el tratamiento HMA- ($R^2 = 0.66$; $F_{1,10} = 22.26$, $p < 0.0008$) y negativa en el tratamiento HMA+ ($R^2 = 0.34$; $F_{1,10} = 6.79$, $p < 0.03$) (Figura 10).

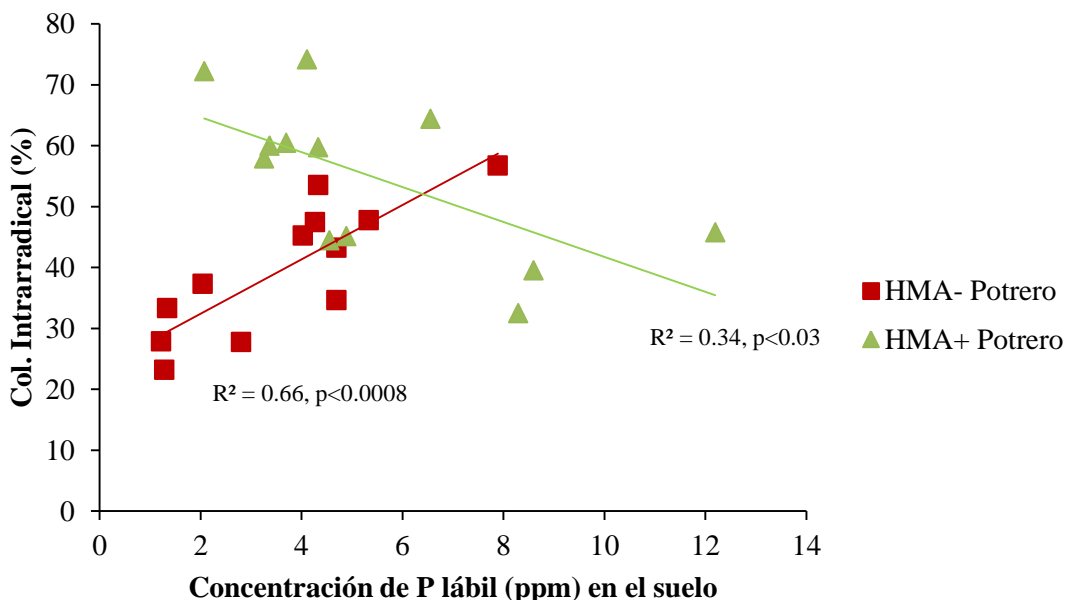
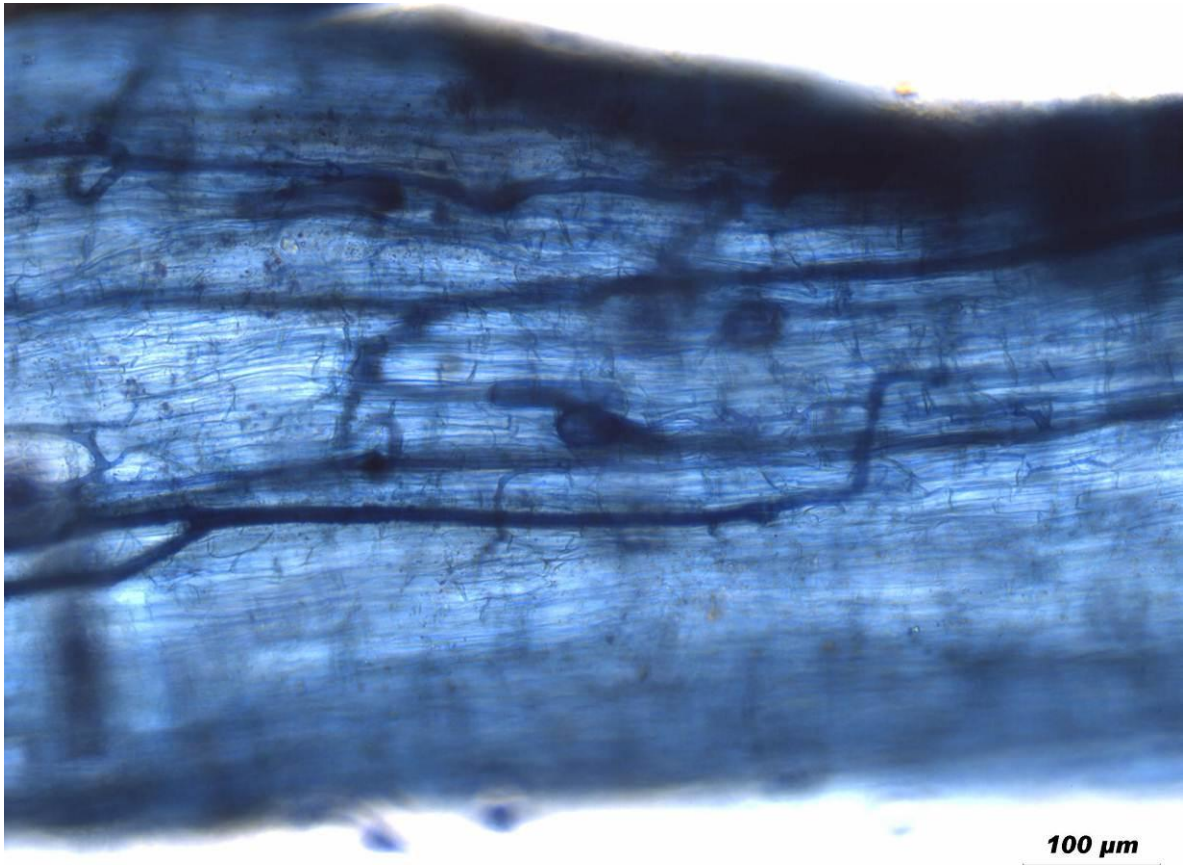


Figura 10. Relación entre la concentración de P lábil en el suelo y la CI de *Poulsenia armata*.



Fotografía 6. Colonización intrarradical de *Poulsenia armata* (50x).

6.2. *Trema micrantha*

6.2.1. Producción de Micelio Extrarradical

En la selva todo los individuos de *T. micrantha* murieron al haber transcurrido dos meses desde el trasplante; por lo tanto no fue posible realizar comparaciones entre sitios al contarse únicamente con datos del potrero.

En cuanto al ME, hubo diferencias significativas de producción atribuidas al tratamiento de inoculación ($F_{1,32} = 7.09$; $p < 0.05$), siendo mayor la producción en el tratamiento HMA+ (14.56 ± 1.22 m/g) y menor en HMA- (10.47 ± 0.44 m/g) (Figura 11) (Fotografía 7).

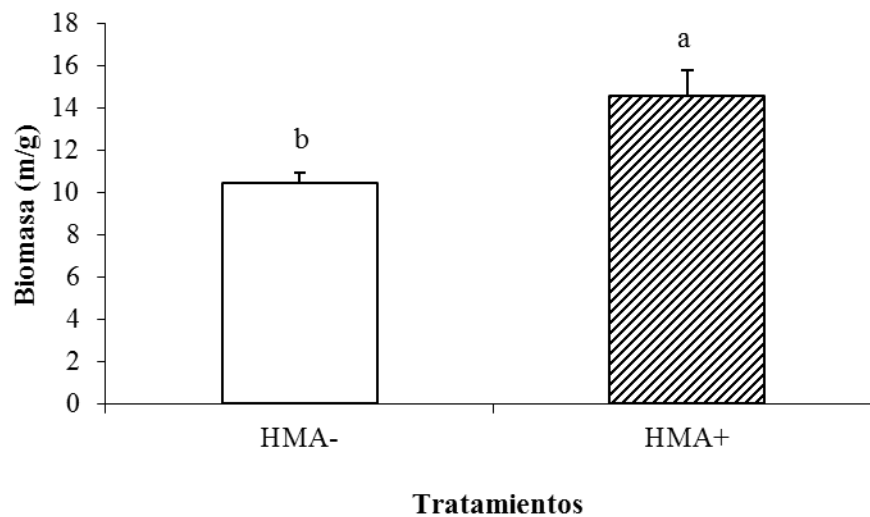


Figura 11. ME (promedio +1EE) por tratamiento de *Trema micrantha*. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey.

Fueron significativas y negativas las regresiones lineales del tratamiento HMA- en potrero con las tres variables ambientales TAP ($R^2 = 0.29$; $F_{1,10} = 5.40$, $p < 0.04$) (Figura 12), TPS ($R^2 = 0.36$; $F_{1,10} = 7.26$, $p < 0.02$) (Figura 13), y HR ($R^2 = 0.36$; $F_{1,10} = 7.25$, $p < 0.02$) (Figura 14).

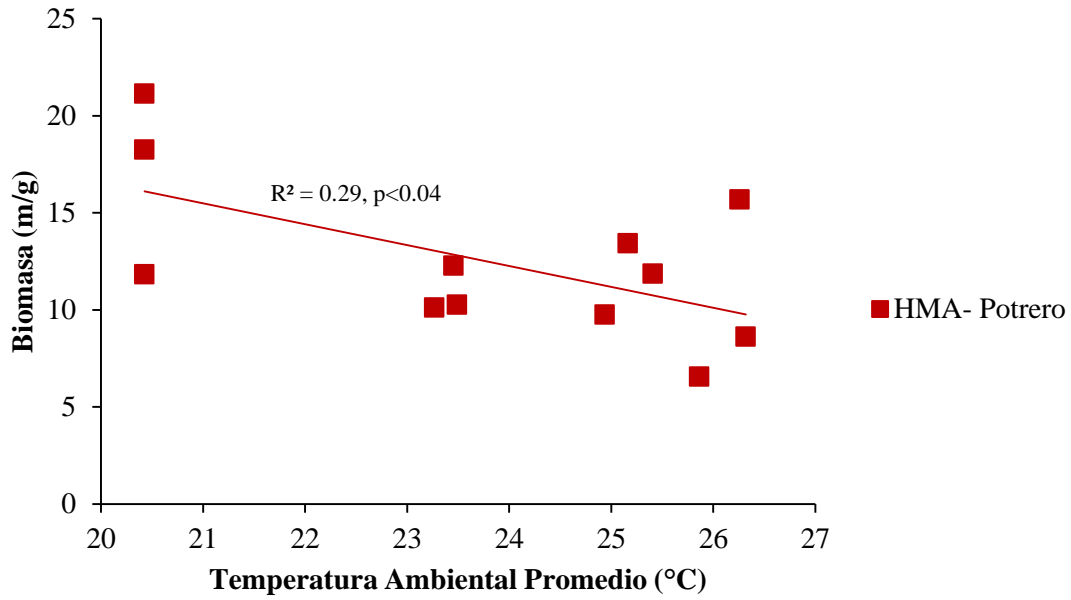


Figura 12. Relación entre la temperatura ambiente promedio y la producción de ME de *Trema micrantha*.

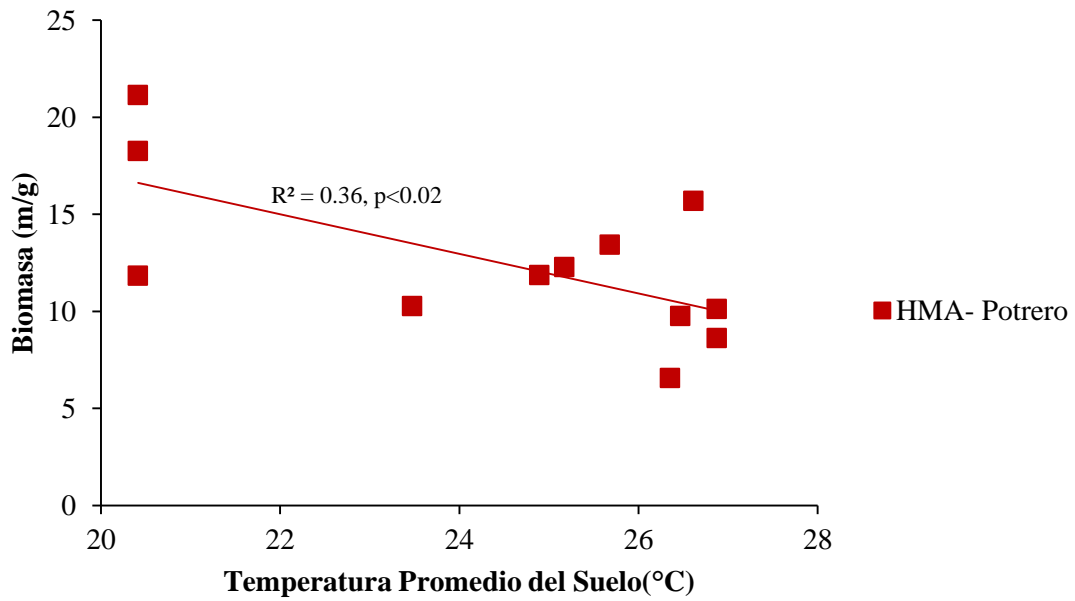


Figura 13. Relación entre la temperatura promedio del suelo y la producción de ME de *Trema micrantha*.

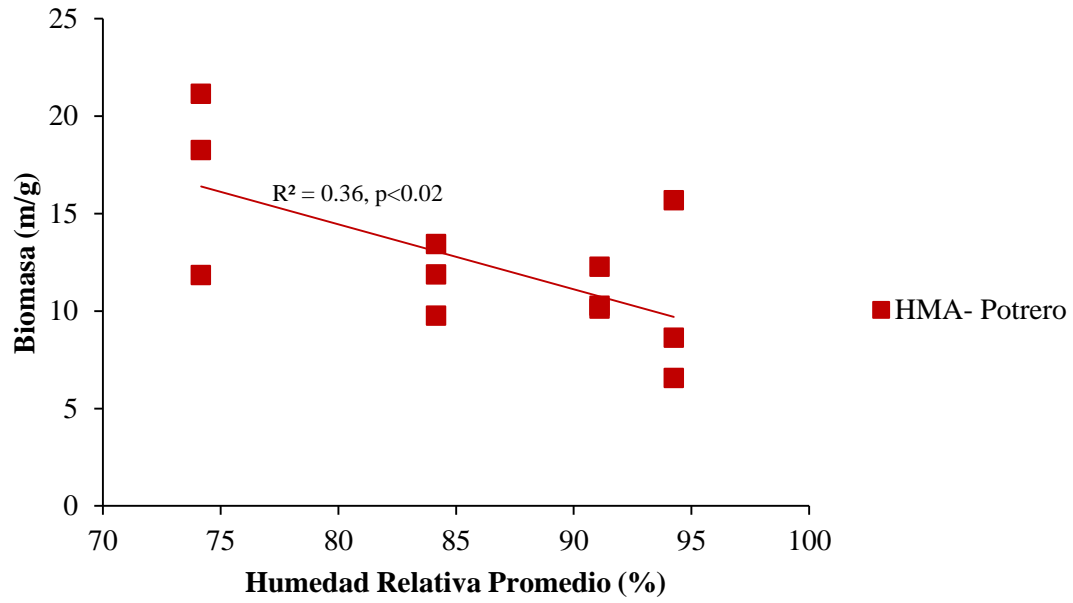
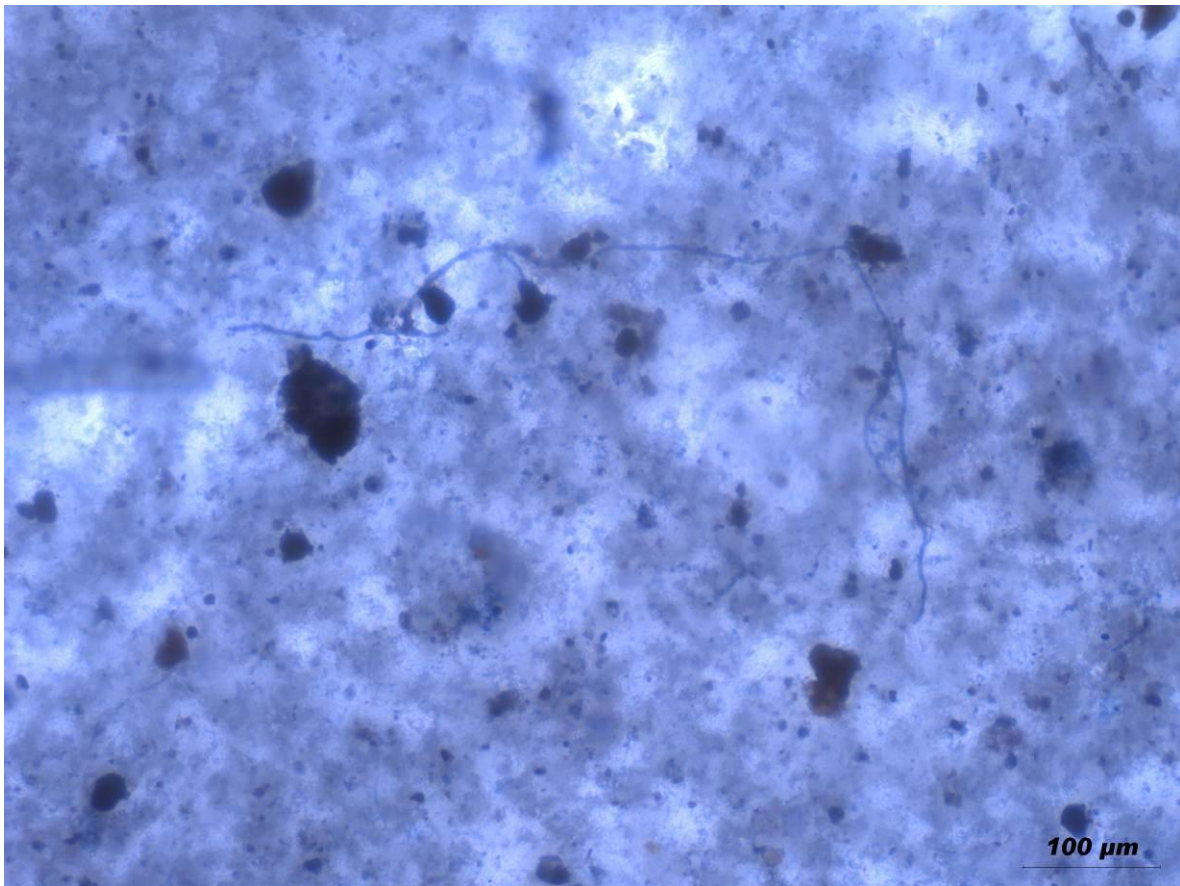


Figura 14. Relación entre la humedad relativa promedio y la producción de ME de *Trema micrantha*.



Fotografía 7. Micelio extrarradical asociado a *Trema micrantha* (25x).

6.2.2. Colonización Intrarradical

El porcentaje de CI total también tuvo diferencias significativas asociadas al tratamiento con HMA ($F_{1,31} = 21.16$; $p < 0.001$), siendo mayor en los tratamientos HMA+ ($70.86 \pm 2.33\%$) y menor en los HMA- ($58.95 \pm 6.51\%$) (Figura 15).

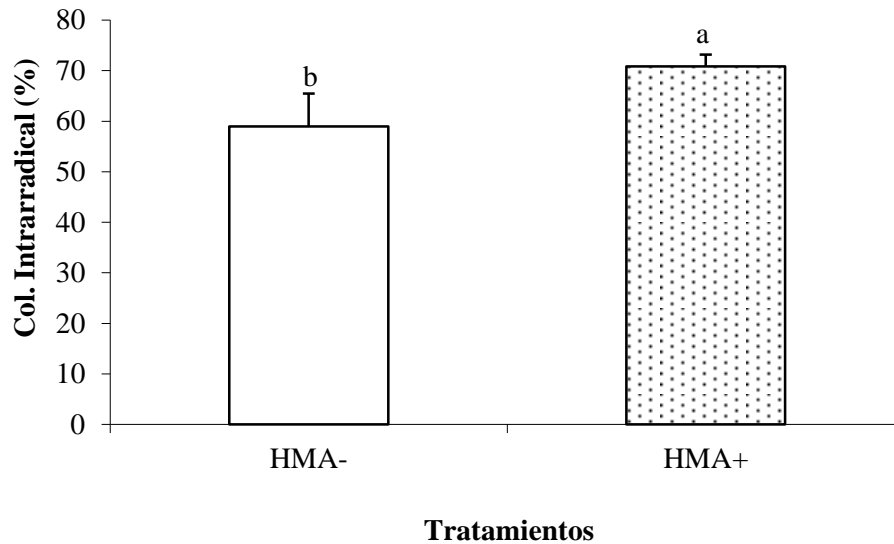


Figura 15. Porcentaje de CI (promedio+1EE) por tratamiento en *Trema micrantha*. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey.

En el caso de la CI, los análisis de regresión lineal fueron significativos y positivos para el tratamiento HMA- en potrero con la TPS ($R^2 = 0.34$; $F_{1,10} = 6.73$, $p < 0.03$) (Figura 16); y asociadas con la HR los tratamientos HMA+ ($R^2 = 0.40$; $F_{1,10} = 8.24$, $p < 0.01$) y HMA- ($R^2 = 0.60$; $F_{1,10} = 17.69$, $p < 0.002$) ambos en el potrero (Figura 17).

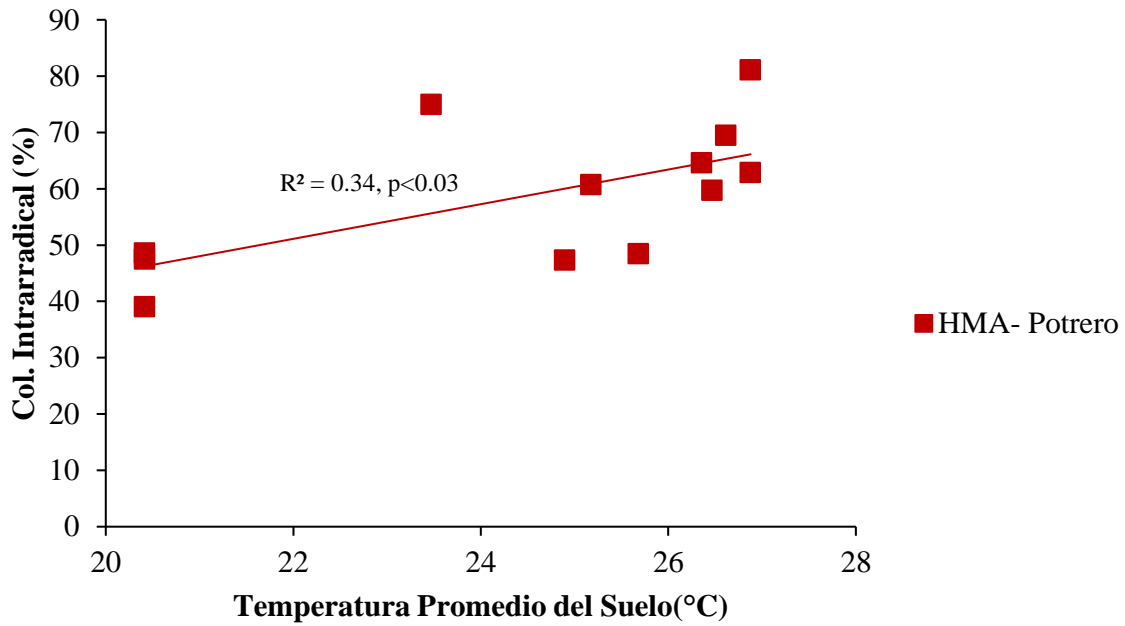


Figura 16. Relación entre la temperatura promedio del suelo y la CI de *Trema micrantha*.

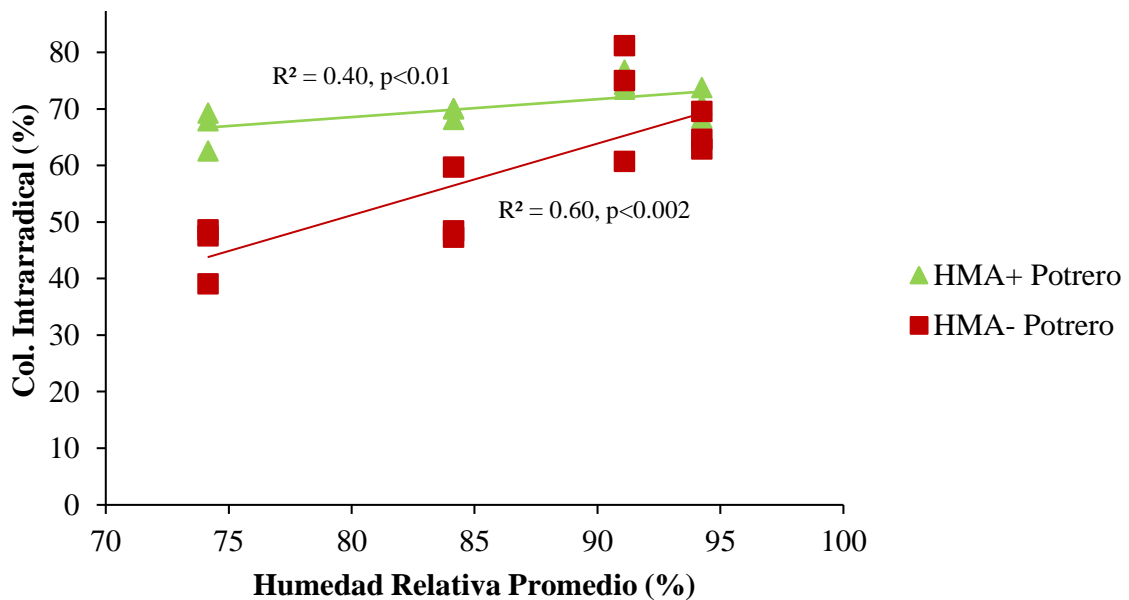
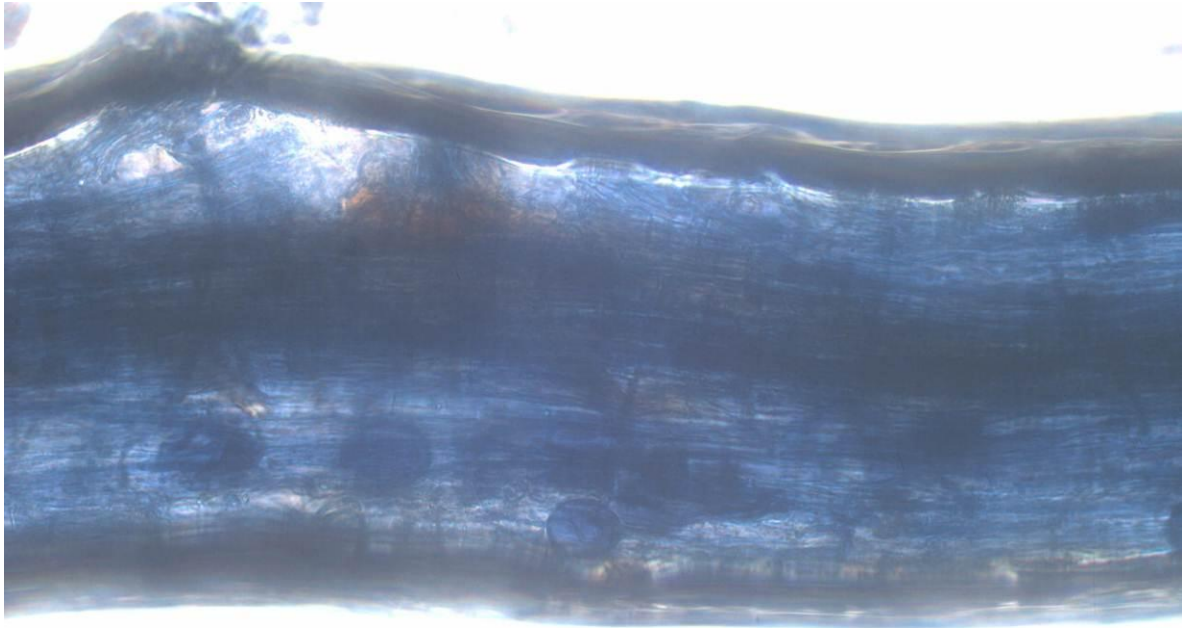


Figura 17. Relación entre la humedad relativa promedio y la CI de *Trema micrantha*.



50 μ m

Fotografía 8. Colonización intrarradical de *Trema micrantha* (50x).

7. Discusión

El estudio ecológico de los HMA presenta fuertes retos, debidos principalmente a la matriz edáfica en la que se desarrollan estos organismos, lo que conduce a la necesidad de realizar procedimientos de extracción complejos, que no aseguran la total representación de lo que en realidad ocurre en su interior (Sánchez-Gallen 2011).

En la selva húmeda existen variaciones considerables en las tasas de colonización (intra y extrarradical) de los HMA, probablemente ligadas a diversos factores y condiciones, como las diferentes estrategias de colonización de las familias de hongos (Hart y Reader 2002), variaciones en la composición de la comunidad fúngica o cambios en la asignación de C de la planta hospedera (Rillig *et al.* 2002), a lo que se suma la variabilidad de la dependencia de éstas a la asociación (Gehring y Connell 2006) y los cambios en las características del suelo y factores ambientales que fomentan o inhiben su desarrollo (van Aarle *et al.* 2002). Cada uno de estos factores actúa por separado o en conjunto ocasionando una gran variabilidad de respuestas y comportamientos.

Los métodos convencionales de estimación de la colonización HMA no son universales para todas las especies, posiblemente por las diferencias en las estrategias de la CI o en la estructura y distribución de hifas extrarradicales, características de cada familia (Hart y Reader 2002). En este trabajo, ambas especies presentaron diferencias significativas, tanto en la producción de ME como en la CI, entre los tratamientos micorrizados (HMA+) y no micorrizados (HMA-); en todos los casos se reportaron los valores más altos asociados a la presencia previa de inóculo, lo que sugiere un mejor desempeño del hongo. Aunque, en general, no se han reportado resultados asociados al desempeño de los HMA posterior a un trasplante a campo; debe considerarse que el comportamiento del tratamiento HMA+

refleja la continuación de la interacción al momento del trasplante, mientras que el tratamiento HMA- implica la formación de la asociación en el sitio, por lo que podríamos pensar que los requerimientos de ambos mutualistas al momento del trasplante fueron diferentes reportándose así respuestas y patrones distintos.

La complejidad de los ambientes naturales puede llevar a variaciones cuantitativas en la extensión de la colonización de diferentes HMA, particularmente se han observado diferencias relacionadas con las estaciones y el sitio de crecimiento (Smith y Read 2008), como los ambientes selva y potrero que aquí se estudian; sin embargo, aún existen interrogantes sobre el papel que juegan los factores ambientales en la actividad y desarrollo de los HMA (Jansa *et al.* 2009).

Las hipótesis planteadas en este trabajo no pudieron ser contrastadas en el caso de *T. micrantha*, ya que los individuos ubicados en selva no sobrevivieron. En el caso de la producción de ME, *P. armata* sí presentó mayor producción de biomasa extrarradical en el potrero, sin embargo los valores de *T. micrantha*, en este sitio, fueron más altos, y en ninguna de las especies la producción se relacionó de manera lineal con las variables ambientales. Por otra parte, los porcentajes más altos de CI, sí se reportaron en *T. micrantha* y el aumento de esta variable en ambas especies se relacionó positivamente con el aumento de temperatura en la mayoría de los tratamientos. A continuación se detallan las explicaciones a estos comportamientos.

La CI de *P. armata* se relacionó de manera positiva con la TAP y TPS, en los tratamientos HMA+ en selva y HMA- en potrero; el tratamiento HMA- de *T. micrantha* también mostró este comportamiento relacionado con la TPS. Esto sugiere que el aumento de temperatura estimula el movimiento de carbono hacia los HMA debido al incremento de la actividad fotosintética del hospedero, como proponen Rillig *et al.*

(2002) ya que al aumentar la producción de C de la planta, el nutriente puede ser almacenado en las estructuras de reserva del hongo lo que se traduce en un aumento del porcentaje de CI; esto podría concordar con los resultados de Jasso (2010) que reporta aumento en la colonización durante la temporada de secas, cuando la temperatura es mayor.

Por otra parte, se ha propuesto que la intensidad de la luz es un factor importante para predecir la CI en especies de selva húmeda que sean micotróficas facultativas u obligadas, debido a que los HMA dependen de las plantas para la obtención de energía, por lo que bajos niveles de luz podrían resultar en porcentajes de colonización más bajos de los que podrían alcanzarse en zonas con mayor incidencia lumínica (Gehring y Connell 2006), razón que podría relacionarse con los valores tan altos de los dos tratamientos de *T. micrantha* en el potrero (HMA+: $70.86 \pm 2.33\%$ y HMA-: $58.95 \pm 6.51\%$) donde la incidencia lumínica es mayor.

El aumento en la HR mostró una relación positiva con la CI, en casi todos los tratamientos de *P. armata* (excepto HMA- en selva), y en todos los de *T. micrantha*; este comportamiento podría atribuirse a que el aumento de humedad propicia la germinación de las esporas en el suelo, aumentando así la colonización de las plantas por las esporas que ya se encuentran en sitio. En la región se ha establecido que la cantidad de esporas aumenta en la temporada de secas, permitiendo que durante las lluvias, cuando la HR se eleva, comiencen su geminación (Núñez-Castillo y Álvarez-Sánchez 2003).

En el caso de *P. armata*, no se encontraron relaciones lineales entre la producción de ME y las variables ambientales; las investigaciones de Fujiyoshi *et al.* (2000) sugieren que el ME se desarrolla más rápido que las estructuras intrarradicales de la colonización del hongo lo que se refleja en la disminución de la

proporción micelio externo/interno con el transcurso del tiempo, por esta razón podría ser más difícil apreciar patrones relacionados con la extensión de la colonización en el suelo. Sin embargo, en el caso de *T. micrantha*, la producción de ME en el tratamiento no inoculado, mostró un patrón constante en cuanto a que se registraron relaciones lineales negativas con los tres factores ambientales. Al respecto es conveniente considerar que la asignación de biomasa que confiere la planta a sus órganos aéreos o hipógeos (y por ende la posibilidad de traslocar C al huésped) depende de su ontogenia y de los factores ambientales a los cuales está sometida (Poorter y Nagel 2000); en este sentido, la teoría del equilibrio funcional sugiere que las plantas asignarán mayor biomasa hacia la raíz o el vástago en función, respectivamente, de la deficiencia de recursos en el suelo o por arriba de éste (Camargo y Rodríguez 2006). Al no ser el objetivo de este trabajo la respuesta de la planta, no se cuenta con elementos para establecer esta relación, sin embargo podemos pensar, que en este caso existen factores ambientales por arriba del suelo que ejercen mayor presión a los órganos aéreos de la planta, por lo que no se asignan recursos suficientes a las raíces como para desarrollar mayor cantidad de ME.

En respuesta a la disminución de humedad, el ME puede crecer de manera rápida y oportunista ante aumentos mínimos de ésta, produciendo esporas (Augé 2001), las cuales germinarán ante condiciones apropiadas de humedad y temperatura (Smith y Read 2008). Este comportamiento oportunista podría explicar las tendencias observadas de disminución de la biomasa extrarradical (con el aumento de HR) y el incremento en la CI (con el aumento de TPS y HR), aunque haría falta analizarlo a lo largo del año para determinar la secuencia de las variaciones y corroborar el papel de la estacionalidad.

Únicamente se reportan regresiones significativas relacionadas con la concentración de nutrientes en *P. armata* en el potrero. La CI en el tratamiento

HMA+ disminuyó con el aumento de la concentración de P lábil en el suelo, lo que concuerda con lo encontrado por varios autores (Smith y Read 2008, Johnson 2010) y lo ya reportado en Los Tuxtlas (Guadarrama *et al.* 2004, Luna 2009), esto sugiere que al haber P disponible, la planta puede obtenerlo directamente del suelo sin necesidad de apoyarse en los HMA, evitando así los gastos energéticos que implica la consolidación de la relación y el crecimiento hifal. Sin embargo este comportamiento no siempre se presenta (Smith y Read 2008) como en el caso del tratamiento HMA-; es importante considerar la diferencia que marcan los tratamientos de inoculación previa, ya que las plántulas inoculadas, por haber establecido la relación desde el invernadero, al momento del trasplante pueden haber contenido mayor cantidad de P, mientras que las no inoculadas podrían tener un requerimiento mayor del nutriente en el campo, de manera tal que les produjera mayor beneficio establecer la asociación

También el tratamiento HMA+ en potrero mostró un aumento de la producción de ME asociada a la concentración de NH_4 , sugiriendo que este nutriente no es incorporado fácilmente por la planta (Leigh *et al.* 2009) por lo que para ello se propicia la producción de biomasa extrarradical. Varios estudios señalan que, en suelos secos y donde el flujo de nutrientes está restringido, el N inorgánico que se encuentra en forma de nitrato (NO_3^-) o amonio (NH_4^+) es absorbido por el ME, que representa una vía muy efectiva estimada entre el 7 y 49%, dentro de él es convertido en arginina, llega a las estructuras fúngicas intrarradicales donde se rompe el aminoácido y se transporta a la planta donde es asimilado en proteínas (Leake *et al.* 2004, Johnson 2010).

Se han hecho diferentes investigaciones que relacionan el desarrollo de las especies vegetales con los HMA. En general, las conclusiones apuntan a que el comportamiento de estos hongos depende estrechamente de la especie vegetal que colonizan. Se considera que dependiendo del hospedero, el efecto de la asociación

puede cambiar de mutualista a parásito (Piotrowski *et al.* 2004), el crecimiento de la biomasa extrarradical varía (Gehring 2003), así como el aporte de C para la esporulación (Lovelock *et al.* 2003); además, la complementariedad funcional entre los simbioses promueve la colonización por una u otra especie de HMA (Allen 2001). Además, las especies vegetales pueden alterar de manera diferente la fertilidad y características físicas y químicas del suelo que, de manera indirecta, afectan el desempeño de los HMA, sin embargo esta área ha sido muy poco explorada en especies tropicales (Lovelock *et al.* 2003).

En la selva de Los Tuxtlas se han realizado algunos estudios con especies con historias de vida contrastantes (DL y TS), y los resultados señalan que las plantas demandantes de luz tienen mayor respuesta ante la inoculación con hongos micorrizógenos que las tolerantes a la sombra (Sánchez-Gallen y Guadarrama 2000, Peña 2005, Álvarez-Sánchez *et al.* 2009), aunque las últimas dependen más de la asociación para su crecimiento.

Poulsenia armata es una planta TS, por lo tanto, al crecer en el potrero fue sometida a una situación de estrés ocasionada por las condiciones ambientales diferentes a las que predominan dentro de la selva (mayor temperatura, menor humedad, falta de cobertura vegetal, mayor intensidad lumínica) donde se desarrolla naturalmente. Por esta condición, la relación mutualista se pudo haber tornado mucho más estrecha lo que se vio reflejado en una mayor producción de biomasa fúngica en el potrero (14.78 ± 1.49 m/g) que en la selva; además Drew *et al.* (2003) sugieren que el ME tiene la capacidad de adaptarse a cambios del ambiente, al modificar su crecimiento y morfología en función del tamaño de los poros del suelo, lo que podría sugerir adaptabilidad de los HMA asociados a *P. armata* que les permitió el desarrollo del ME de manera significativa; por otra parte, en este ambiente hay una alta densidad de pastos, que podrían ser hospederos de los HMA y aumentar la cantidad de ME

Trema micrantha en el potrero presentó los valores más elevados de colonización extrarradical (14.56 ± 1.22 m/g) e intrarradical ($70.86 \pm 2.33\%$); resultado que podría ser atribuible a las altas tasas metabólicas características de su ciclo de vida, y concuerda con los reportes de mayor susceptibilidad y dependencia a los HMA de las especies DL en general (Siqueira *et al.* 1998, Kiers *et al.* 2000, Zangaro *et al.* 2000) y, en particular, en la selva de Los Tuxtlas (Sánchez-Gallen y Guadarrama 2000, Jasso 2010), además, se ha determinado que las raíces de ésta presentan abundantes asociaciones con los HMA y que la planta puede crecer en condiciones de disturbio (MuseumBotanicum. 1856) como fue el potrero. Sin embargo, el factor luz resultó crucial para su desarrollo, ya que todos los individuos ubicados en la selva murieron a los dos meses de haber sido trasplantados, sin importar el tratamiento de inoculación.

En general las plantas DL, crecen más rápido (altas tasas fotosintéticas, alta producción de biomasa) en ambientes con mayor luminosidad (Rozendaal *et al.* 2006), como el potrero, además reiterativamente se han reportado altas tasas de colonización y en ocasiones dependencia a HMA, asociadas a este grupo funcional (Guadarrama *et al.* 2004). Por otra parte, la rápida tasa de intercambio de nutrientes que presentan los HMA (Allen 1991), sugiere que éstos pueden ser grandes reservorios del carbono que asimilan las plantas hospederas; en el caso particular de las plantas DL, el hongo juega un papel muy importante en el flujo del C del suelo (Fujiyoshi *et al.* 2000). A estas características podrían atribuírseles los niveles elevados de ambos tipos de colonización en los dos tratamientos en el potrero, lo cual coincide con la hipótesis planteada en este trabajo.

8. Conclusiones

- Se observaron valores más altos en los tratamientos HMA+ tanto en la producción de ME como en la CI.
- Las relaciones lineales con los factores ambientales fueron más claras en el potrero; particularmente en la CI que incrementó con el aumento de la temperatura y humedad en varios tratamientos.
- Únicamente *P. armata* presentó relaciones lineales con las concentraciones de nutrientes; en el potrero la CI presentó con la concentración P_{Bray} positiva con HMA- y negativa con HMA+; mientras que la producción de ME fue positiva en función de NH_4 para el tratamiento HMA+, lo que podría sugerir que en el potrero hay limitación de N.
- Los valores más elevados de producción de ME y CI, en ambos tratamientos, fueron los de *T. micrantha*, lo que se atribuye a las altas tasas metabólicas características de su ciclo de vida y al probable incremento en la actividad fotosintética de las plantas ubicadas en potrero. Sin embargo, los valores de ME reportados para *P. armata* también son altos, principalmente en potrero, donde la situación de estrés debió de ser crucial para su desarrollo.

9. Literatura Citada

- Aide TM y Rivera E (1998) Geographic patterns of genetic diversity in *Poulsenia armata* (Moraceae): implications for the theory of Pleistocene refugia and the importance of riparian forest. *Journal of Biogeography* **25**:695-705.
- Albertsen A, Ravnskov S, Green H, Jensen DF y Larsen J (2006) Interactions between the external mycelium of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and other soil microorganisms as affected by organic matter. *Soil Biology & Biochemistry* **38**:1008-1014.
- Allen MF (1991) *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Allen MF (2001) Modeling arbuscular mycorrhizal infection: is % infection an appropriate variable. *Mycorrhiza* **10**:255-258.
- Álvarez-Sánchez FJ y Peña JC (2009) La micorriza arbuscular como una herramienta en la restauración ecológica. *En*: F. J. Álvarez-Sánchez, (ed.) *Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas*. Facultad de Ciencias. UNAM., México, D.F. Pp. 7-20
- Augé RM (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* **11**:3-42.
- Bago B, C. A-A, Schachar-Hill Y y Pfeffer PE (2000) El micelio externo de las micorrizas arbusculares como puente simbiótico entre la raíz y su entorno. *En*: A. Alarcón and R. Ferrera-Cerrato, (eds.) *Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. Mundi Prensa, México. Pp. 78-92.
- Berg MP (2010) Spatio-temporal structure in soil communities and ecosystem processes. *En*: H. A. Verhoef y P. J. Morin, (eds.) *Community ecology. Processes, models and applications*. Oxford University Press, Oxford.
- Bray RH y Kurtz LT (1945) Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science* **59**:39-45.
- Brundrett MC (2002) Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* **154**:275-304.
- Camargo ID y Rodríguez N (2006) Nuevas perspectivas para el estudio de la asignación de biomasa y su relación con el funcionamiento de plantas en ecosistemas neotropicales. *Acta Biológica Colombiana* **11**(1): 75-87.
- Camargo-Ricalde SL (2002) Dispersal, distribution and establishment of arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **71**:33-44.
- Campos CA (2004) El suelo. *En*: S. Guevara, J. Laborde-Dovalí y G. Sánchez-Ríos, (eds.) *Los Tuxtlas. El paisaje de la sierra*. Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea. , Xalapa, Ver. Pp. 181-192.
- Carrillo R (2009) Degradación del suelo: Conceptos generales. *En*: F. J. Álvarez-Sánchez, (ed.) *Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas*. Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F. Pp. 121-158.
- Castillo-Campos G y Laborde-Dovalí J (2004) La vegetación. *En*: S. Guevara, J. Laborde-Dovalí y G. Sánchez-Ríos, (eds.) *Los Tuxtlas. El paisaje de la sierra*. Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea, Xalapa, Ver. Pp. 231-265.
- Coalpaert J y van Tichelen K (1996) Mycorrhizas and environmental stress. *En*: J. Frankland, N. Magan, and G. Gadd, (eds.) *Fungi and environmental change*. Cambridge University Press, Cambridge. Pp. 109-128.
- Díaz S, Gurvich D, Pérez Harguindeguy N y Cabido M (2002) ¿Quién necesita tipos funcionales de plantas? *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* **37** (1-2):135-140.

- Drew EA, Murray RS, Smith SE y Jakobsen I (2003) Beyond the rhizosphere: growth and function of arbuscular mycorrhizal external hyphae in sands of varying pore sizes. *Plant and Soil* **251**:105-114.
- Etchevers BDJ (1992) Manual de métodos para análisis de suelos, plantas, agua y fertilizantes. Análisis rutinarios en estudios y programas de fertilidad. Laboratorio de fertilidad de suelos. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México. 125 p.
- Flores-Delgadillo L, Sommer-Cervantes I, Alcalá-Martínez JR y Álvarez-Sánchez FJ (1999) Estudio morfogénico de algunos suelos de la región de Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* **16**:81-88.
- Fujiyoshi M, Nakatsubo T, Ogura S y Horikoshi T (2000) Estimation of mycelial biomass of arbuscular mycorrhizal fungi associated with the annual legume *Kummerowia striata* by ergosterol analysis. *Ecological Research* **15**:121-131.
- Gehring CA (2003) Growth responses to arbuscular mycorrhizae by rain forest seedlings vary with light intensity and tree species. *Plant Ecology* **167**:127-139.
- Gehring CA y Connell JH (2006) Arbuscular mycorrhizal fungi in the tree seedlings of two Australian rain forests: occurrence, colonization, and relationships with plant performance. *Mycorrhiza* **16**:89-98.
- Gentry AH (1993) A field guide to woody plants of northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru). Conservation International, Washington, D. C.
- Granados D y López G (2000) Sucesión ecológica: dinámica del ecosistema. Universidad Autónoma de Chapingo., México.
- Guadarrama P y Álvarez-Sánchez FJ (1999) Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, Mexico. *Mycorrhiza* **8**:267-270.
- Guadarrama P, Álvarez-Sánchez FJ y Estrada-Torres A (2004) Phosphorus dependence in seedlings of a tropical pioneer tree: the role of arbuscular mycorrhizae. *Journal of Plant Nutrition* **27**:1-6.
- Guadarrama P, Sánchez-Gallen I y Álvarez-Sánchez FJ (1998) Ecología de hongos micorrízicos arbusculares en la selva y pastizales de Los Tuxtlas en Veracruz. *En: R. R. Zulueta, A. M. A. Escalona y A. D. Trejo, (eds.) Avances de la investigación micorrízica en México. Universidad Veracruzana, México. Pp. 27-45*
- Guadarrama P, Sánchez-Gallen I, Álvarez-Sánchez FJ y Ramos J (2004) Hongos y plantas: beneficios a diferentes escalas. *Revista Ciencias. Facultad de Ciencias, UNAM.* **73**:39-45.
- Guevara S, Laborde-Dovalí J y Sánchez-Ríos G (2004a) La deforestación. *En: S. Guevara, J. Laborde-Dovalí y G. Sánchez-Ríos, (eds.) Los Tuxtlas. El paisaje de la sierra. Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea, Xalapa, Ver. Pp. 85-109.*
- Guevara S, Laborde J y Sánchez-Ríos G (2004b) La fragmentación. *En: S. Guevara, J. Laborde-Dovalí, and G. Sánchez-Ríos, editors. Los Tuxtlas. El paisaje de la sierra. Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea., Xalapa. Pp. 111-134*
- Hart MM y Reader RJ (2002) Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* **153**:335-344.
- Hawkes CV, DeAngelis KM y Firestone MK (2007) Root Interactions with Soil Microbial Communities and Processes. *En: Z. G. Cardon and J. L. Whitbeck, (eds.) The Rhizosphere An Ecological Perspective. Elsevier Academic Press, Londres. Pp. 212.*
- Ibarra-Manríquez G y Sinaca S (1997) Fanerógamas. *En: E. González, R. Dirzo, and R. Vogot, (eds.) Historia natural de Los Tuxtlas. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad. Instituto de Biología e Instituto de Ecología. UNAM, México, D.F. Pp. 165.*

- Jakobsen I (1998) Extraction and quantification of soil hyphae. Working well for soils with up to 20% clay content. Development and function of the mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi Workshop., Uppsala Sweden.
- Janos DP (1980) Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* **12**:56–64.
- Jansa J, Oberholzer HR y Egli S (2009) Environmental determinants of the arbuscular mycorrhizal fungal infectivity of Swiss agricultural soils. *European Journal of Soil Biology* **45**:400–408.
- Jasso FRI (2010) Determinación de la colonización intraradical y extraradical de hongos micorrizógenos arbusculares en una selva alta perennifolia. Facultad de Ciencias, UNAM., México, D.F.
- Johnson N (2010) Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytologist* **185**:631-647.
- Johnson NC, Graham JH y Smith FA (1997) Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist* **135**:575-585.
- Kapos V (1989) Effects of isolation on the water status of forest patches in the Brazilian Amazon. *Journal of Tropical Ecology* **5**:173-185.
- Kiers ET, Lovelock CE, Krueger EL y Herre EA (2000) Differential effects of tropical arbuscular mycorrhizal fungal inocula on root colonization and tree seedling growth: implications for tropical forest diversity. *Ecology Letters* **3**:106-113.
- Klironomos JN y Hart MM (2002) Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza* **12**:181-184.
- Laurance WF, Pérez-Salicrup D, Delamônica P, Fearnside PM, D'Angelo S, Jerozolinski A, Pohl L y Lovejoy TE (2001) Rain forest fragmentation and the structure of Amazonian liana communities. *Ecology* **82**:105-116.
- Leake J, Johnson D, Donnelly D, Muckle G, Boddy B y Read D (2004) Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany* **82**:1016-1045.
- Lean J y Warrilow DA (1989) Simulation of the regional climatic impact of Amazon deforestation. *Nature* **324**:411-413.
- Leigh J, Hodge A y Fitter AH (2009) Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phytologist* **181**:199–207.
- Lovelock CE, Andersen K y Morton JB (2003) Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. *Oecologia* **135**:268-279.
- Lovelock CE, Wright SF y Nichols KA (2004) Using glomalin as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal growth: an example from a tropical rain forest soil. *Soil Biology & Biochemistry* **36**:1009-1012.
- Luna W (2009) Estructura y potencial de inóculo de hongos micorrizógenos arbusculares en fragmentos de diferentes tamaños de una selva alta perennifolia. Tesis de licenciatura (Biología) Facultad de Ciencias, UNAM., México, D.F.
- Mabberley D (1992) Tropical rain forest ecology. 2da edn. Chapman and Hall, Nueva York.
- Manson PA, Musoko MO y Last FT (1992) Short-term change in vesicular-arbuscular mycorrhizal spore populations in a Terminalia plantation in Cameroon *En: D. J. Read, D. H. Lewis, A. H. Fitter e I. J. Alexander, (eds.) Mycorrhizas in Ecosystems. C.A.B International, Cambridge. Pp. 261-267.*
- Masera O, Ordóñez MJ y Dirzo R (1997) Carbon emissions from Mexican forest: current situation and long-term scenarios. *Climatic Change* **35**:265-295.
- Miller RM y Jastrow JD (1998) Extraction and quantification of external mycorrhizal hyphae. *En: M. Kling, (ed.) Development and function of the mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi. Second International Conference on Mycorrhizae. Preconference*

- Workshop Method Manual. Department of Microbiology, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Miller RM y Jastrow JD (2000) Mycorrhizal fungi influence soil structure. *En: K. Y. and D. D.D.Jr, (eds.) Arbuscular mycorrhizas: physiology and function.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. Pp. 3–18.
- Moreno DM (2010) Estimación del balance hídrico en Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Maestría (Ecología y Ciencias Ambientales). Facultad de Ciencias, UNAM., México, D.F.
- MuseumBotanicum. (1856) *Trema micrantha* (L.) Blume (1856). CONABIO 2.
- Nottingham AT, Turner BL, Winter K, van der Heijden MGA y Tanner E (2010) Arbuscular mycorrhizal mycelial respiration in a moist tropical forest. *New Phytologist* **186**:957–967.
- Núñez-Castillo O y Álvarez-Sánchez FJ (2003) Arbuscular mycorrhizae of the palm *Astrocaryum mexicanum* in disturbed and undisturbed stands of a Mexican tropical forest. *Mycorrhiza* **13**:271-276.
- Núñez, Castillo O (2006) Efecto de borde en una selva húmeda tropical. Implicaciones en las comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares. Tesis de Maestría (Ecología y Ciencias Ambientales). Facultad de Ciencias, UNAM., México, D.F.
- Olsson PA, Thingstrup I, Jakobsen I y Baath E (1999) Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biology & Biochemistry* **31**:1879–1887.
- Pennington TD y Sarukhán JK (2005) Árboles tropicales de México. 3ra edn. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, México D.F.
- Peña JC (2005) Efecto de los hongos Micorrizógenos arbusculares (HMA) en el crecimiento y supervivencia de plántulas de especies persistentes en el borde de una selva tropical húmeda. Tesis de Maestría (Restauración Ecológica). Facultad de Ciencias, UNAM., México, D.F.
- Phillips JM y Hayman DS (1970) Improve procedures for clearing roots staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of British Mycological Society* **55**:159-161.
- Piotrowski JS, Denich T, Klironomos JN, Graham JM y Rillig MC (2004) The effects of arbuscular mycorrhizas on soil aggregation depend on the interaction between plant and fungal species. *New Phytologist* **164**:365–373.
- Poorter H y Nagel O (2000) The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**(12): 1191-1191.
- Pugnaire F y Valladares F (2007) *Functional plant ecology.* 2da edn. CRC Press, E.U.A.
- Quiroz A (2006) Restauración de sistemas tropicales deteriorados con especies pioneras derivados de una selva tropical húmeda: la influencia de las micorrizas arbusculares. . Tesis de Maestría (Restauración Ecológica). Facultad de Ciencias, UNAM., México, D.F.
- Ragupathy S y Mahadevan A (1993) Distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizae in the plants and rhizosphere soils of the tropical plains, Tamil Nadu, India. *Mycorrhiza* **3**:123-136.
- Ramírez-Gerardo M, Álvarez-Sánchez FJ, Guadarrama P y Sánchez-Gallen I (1997) Estudio de hongos micorrizógenos arbusculares bajo árboles remanentes en un pastizal tropical. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **61**:15-20.
- Ramos-Zapata J, Guadarrama-Chávez P y Navarro-Alberto JA (2008) Estimación del número de propágulos infectivos de hongos micorrizógenos arbusculares(HMA). *En: F. J. Álvarez-Sánchez and A. Monroy-Ata, (eds.) Técnicas de estudio de las*

- asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración. Las prensas de ciencias, México, D.F. Pp. 17-18.
- Read DJ (1999) Mycorrhiza - The State of the Art. *En: A. K. Varma and B. Hock, (eds.) Mycorrhiza: structure, function, molecular biology, and biotechnology.* Springer, Freising. Pp. 704.
- Rillig MC (2004) Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecology Letters* **7**:740-754.
- Rillig MC, Wright SF, Shaw MR y Field CB (2002) Artificial climate warming positively affects arbuscular mycorrhizae but decreases soil aggregate water stability in an annual grassland. *Oikos* **97**:52-58.
- Rozendaal DMA, Hurtado VH y Poorter L (2006) Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. *Functional Ecology* **20**:207-216.
- Sánchez-Gallen I (2011) Análisis de la comunidad de plántulas, en relación con la de hongos micorrizógenos arbusculares en fragmentos de vegetación remanente de una selva húmeda. Tesis de doctorado en Ciencias. Facultad de Ciencias, UNAM., México, D.F.
- Sánchez-Gallen I, Álvarez-Sánchez FJ y Benítez J (2010) Structure of the advanced regeneration community in a tropical rain forest fragments of Los Tuxtlas, México. *Biological Conservation* **143**:2111-2118.
- Sánchez-Gallen I y Guadarrama P (2000) Influencia de la micorriza arbuscular en el crecimiento de plántulas de la selva húmeda tropical de los Tuxtlas, Veracruz. *En: A. Alarcón and R. Ferrera-Cerrato, (eds.) Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular.* IRENAT-Colegio de Postgraduados. Montecillo. Mundi Prensa, México, D.F. Pp. 69-77.
- Sánchez de Prager M, Posada-Almanza R, Velásquez-Pomar D y Narváez-Castillo M (2010) Metodología básica para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular. Taller de Publicaciones Divulgación Académica y Cultural., Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Colombia.
- Schroeder MS y Janos DP (2004) Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas. *Plant and Soil* **264**:335-348.
- Schüßler A y Walker C (2010) The Glomeromycota- a species list, Gloucester.
- SEMARNAT (2008) Tasas estimadas de deforestación según tipo de vegetación. Base de datos estadísticos, México, D.F.
- Simard S y Durall D (2004) Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. *Journal of Botanic* **82**:1140-1165.
- Simard S, Durall D y Jones M (2002) Carbon and nutrient fluxes within and between mycorrhizal plants. *Mycorrhizal ecology* **157**:33-74.
- Singh R y Adholeya A (2002) Plant and fungal responses to colonization. *En: A. K. Sharma y B. N. Johri, (eds.) Arbuscular mycorrhizae: interactions in plants, rhizosphere and soils.* Science Publishers, Inc. , Enfield (NH). Pp. 213-230.
- Siqueira JO, Carbone MA, Curi N, da Silva SC y Davide AC (1998) Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in Southeastern Brazil. *Forest Ecology and Management* **107**:241-252.
- Smith SE y Read D (2008) Mycorrhizal symbiosis. 3ra edición. Academic Press, Inglaterra.
- Soberón J, Halffter G y Llorente-Bousquets J, editores (2008) Conocimiento actual de la biodiversidad. 1ª edición. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
- Software.informer [En línea] disponible en: <http://hoboware.software.informer.com/>
(Revisado 22 de junio de 2012)

- Sommer-Cervantes I, Flores-Delgadillo L y Gutiérrez-Ruiz M (2003) Caracterización de los suelos de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas. *En*: F. J. Álvarez-Sánchez and E. Naranjo-García, (eds.) *Ecología del suelo en la selva tropical húmeda de México*. Instituto de Ecología, A.C., Instituto de Biología y Facultad de Ciencias, UNAM., Xalapa. Pp. 21-22.
- Soto M y Gama L (1997) Climas. *En*: E. González, R. Dirzo, and R. Vogot, (eds.) *Historia Natural de Los Tuxtlas*. Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 7-23.
- Thrall PH, Hochberg ME, Burdon JJ y Bever JD (2006) Coevolution of symbiotic mutualists and parasites in a community context. *Trends in Ecology and Evolution* **22**:120-126.
- van Aarle IM, Olsson PA y Söderström B (2002) Arbuscular mycorrhizal fungi respond to the substrate pH of their extraradical mycelium by altered growth and root colonization. *New Phytologist* **155**:173-182.
- Vega-Frutis MR (2010) Interacción micorrízico-arbuscular en especies dioicas en bosques tropicales: patrones fenológicos en función de la expresión sexual de las plantas. Tesis de doctorado. Instituto de Ecología, A.C., Xalapa.
- Zangaro W, Bononi VLR y Trufen SB (2000) Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. *Journal of Tropical Ecology* **16**:603-622.

APÉNDICE 1

Técnicas de análisis de nutrientes

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Fertilidad del Colegio de Postgraduados.

La concentración de Fósforo disponible (P_{Bray}), se realizó de acuerdo con la técnica establecida por Bray y Kurtz (1945).

La determinación de la concentración de Amonios (NH_4) se llevó a cabo por digestión húmeda con la mezcla ácida sulfúrico-salicílico, y destilación semi-micro Kjeldahl por arrastre de vapor y titulación con ácido sulfúrico 0.05 N, de acuerdo con los métodos usados por el Laboratorio de Edafología y Fertilidad de Suelos del Colegio de Postgraduados (Etchevers 1992).

APÉNDICE 2

Extracción de Micelio Extrarradical

Se realizó con la técnica de Miller y Jastrow *et al.* (1998) considerando modificaciones realizadas por Jasso (2010) y Sánchez de Prager *et al.* (2010) Los pasos a seguir de este procedimiento se detalla a continuación:

- a. Se toman 5g de suelo húmedo previamente tamizados en tamiz del número 10.
- b. La muestra se coloca en un matraz Erlenmayer de vidrio de 500 ml.
- c. Se le adicionan 250 ml de agua y 31 ml de hexametáfosfato de sodio.
- d. La solución se agita vigorosamente para deshacer los agregados.
- e. El frasco se coloca en la agitadora de plancha durante una hora y media a 180 rpm aproximadamente, tapándolo con papel aluminio.
- f. Durante este tiempo puede armarse el equipo de la bomba de vacío que se utilizará posteriormente.
- g. Una vez transcurrido el tiempo de agitación se toman dos alícuotas de 6 ml de la solución del suelo y se colocan en otro matraz de 500 ml. Las muestras se toman con la agitación en curso y evitando que provenga del fondo del recipiente.
- h. A los 12 ml de solución se le adicionan 250 ml de agua y 31 ml de hexametáfosfato.
- i. Nuevamente se coloca el matraz cubierto en el agitador de plancha a aproximadamente 180 rpm durante 20 minutos.
- j. Se toman cuatro alícuotas de 5 ml de la solución, tomando en cuenta las mismas consideraciones que el paso anterior. Todas las alícuotas se pasan a través de un tamiz del número 400, descartando lo que pasa a través del tamiz.

- k. Se coloca en la bomba de vacío una membrana de nitrocelulosa de 45 μm de apertura. Sobre el embudo de la bomba se lava con abundante agua lo que no pasa a través del tamiz con la bomba encendida.
- l. Una vez filtrada la muestra se apaga la bomba y se agregan 5 ml de azul de tripano al 0.05%. Se deja que el tinte filtre solo o que transcurran 10 minutos para dar tiempo a que se tiña el micelio.
- m. Transcurrido este tiempo se enciende la bomba para quitar el exceso de colorante, sin apagar la bomba se retira el embudo del equipo y se espera a que se remueva el exceso de humedad.
- n. Para finalizar se apaga la bomba y se monta la membrana sobre un portaobjetos con PVGL como medio de montaje, se deja secar por 30 minutos y luego se coloca un cubreobjetos.

APÉNDICE 3

Cuantificación de Micelio Extrarradical

Para realizar la cuantificación se utilizó la técnica de Jakobsen (1998). Las modificaciones que se realizaron fueron el número de observaciones por portaobjeto que pasaron de 25 a 70. Para los cálculos se determinó la longitud de la unidad de la rejilla en el ocular de 10x10 sobre el filtro usando un objetivo micrométrico resultando 0.05 mm (a).

Para el cálculo total del ME en la muestra del suelo se consideraron:

Longitud total de la hifa observada sobre el área de filtrado cubierta por 70 campos de observación (H):

$$H = (11/14) \cdot N \cdot a \quad (\text{mm})$$

Donde: 11/14 = constante

N = número total de interseptos en 70 campos de observación

a = unidad de rejilla (0.05 mm)

a. Área filtrable sobre la membrana de nitrocelulosa (FA):

$$FA = \pi \cdot r^2 \quad (\text{mm}^2)$$

Donde: r = radio del área de captación/filtrado

(en este trabajo r = 9.5 mm)

b. Área total examinada o área contable (CA)

$$CA = (10 \cdot a)^2 \cdot C \quad (\text{mm}^2)$$

Donde: C = número total de campos observados (en este trabajo = 70)

a = unidad de rejilla (0.05 mm)

c. Longitud total de la hifa sobre el área filtrable (HL)

$$HL = (H/CA) \cdot FA \quad (\text{mm}) \quad \text{o} \quad HL = H \cdot FA/CA$$

d. Total de hifas en la muestra de suelo (TL)

$$TL = (HL \cdot [(12+250+31)/20] \cdot [(250+31)/12]) / (p)$$

Donde: p = peso seco en g de la muestra de suelo 5 g utilizada, 250ml es el volumen de agua donde la muestra fue suspendida, 31ml el volumen utilizado de hexametáfosfato de sodio en las dos disoluciones. 12 y 20ml son las alícuotas de las disoluciones pipeteadas del suelo.

APÉNDICE 4

Tinción y cuantificación de la Colonización Intrarradical

El método utilizado para la tinción de raíces micorrizadas fue el de tinción con Azul de Tripano, descrito por Phillips y Hayman (1970) en el cual el procedimiento a seguir es el siguiente:

- a. Lavar las raíces con abundante agua corriente.
- b. Colocar fragmentos largos de raíces finas de cada individuo en su respectiva rejilla.
- c. Poner las rejillas con las raíces en un recipiente para su tratamiento químico, procurando que éstas no lleguen hasta el tope.
- d. Se cubren las raíces con solución de KOH al 10%.
- e. Meter el recipiente en autoclave durante 20 minutos a 15 lb de presión
- f. Se lavan las rejillas con agua corriente, utilizando preferiblemente un tamiz adecuado para evitar pérdidas durante el enjuague y se recupera el KOH para desecharlo correctamente.
- g. En caso de no haberse desteñido lo suficiente, a las raíces que sea necesario se les adiciona agua oxigenada al 10%, por 5 minutos máximo.
- h. Nuevamente se lavan con agua corriente y se agrega una solución de HCl al 1N durante 10 a 15 minutos.
- i. Se decanta el HCl sin lavar con agua y se adiciona Azul de Tripano al 0.05% hasta que cubra totalmente las rejillas; se dejan teñir toda una noche.
- j. Por último se montan las raíces en portaobjetos calculando cortar fragmento de la misma longitud (aproximadamente 1.5 cm) tratando de colocar entre 15 y 20 fragmentos de raíz por preparación.
- k. La determinación del porcentaje de colonización, se basa en la observación microscópica de segmentos teñidos de raíces. Se hacen tres barridos (arriba, medio y abajo) con el objetivo 20x; se cuantifican tanto los campos de observación que presentan estructuras fúngicas (hifas, vesículas, esporas, ovillos y arbusculos), como los segmentos no colonizados.
- l. Se obtienen los porcentajes de colonización total y por estructura.