



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

Análisis de la producción de micelio extrarradical y colonización intrarradical de los hongos micorrizógenos arbusculares en potreros y cultivos derivados de una selva húmeda en Los Tuxtlas, Veracruz

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

MANUEL JACOB CASARIEGO MARTÍNEZ



**DIRECTOR DE TESIS:
Dra. Irene Sánchez Gallén**

Ciudad de México, septiembre 2017



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 del alumno

Casariego
Martínez
Manuel Jacob
5219 6276
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
105000510

2. Datos del tutor

Dra.
Irene
Sánchez
Gallen

3. Datos del sinodal 1

Dr.
Arcadio
Monroy
Ata

4. Datos del sinodal 2

Dra.
María Patricia
Guadarrama
Chávez

5. Datos del sinodal 3

Dra.
Rosa Gabriela
Castaño
Meneses

6. Datos del sinodal 4

Dr.
Francisco Javier
Álvarez
Sánchez

7. Datos del trabajo escrito

Análisis de la producción de micelio extrarradical y colonización intrarradical de los hongos micorrizógenos arbusculares en potreros y cultivos derivados de una selva húmeda en Los Tuxtlas, Veracruz.

50 p
2017

“Hablar de la tierra es hablar de la vida misma”

Don Melchor.

Dedicatoria

A mi Papá y a Lula que no pudieron llegar.

A mí mamá y mis hermanas, que las amo.

A la UNAM que me dio todo.

Agradecimientos académicos

Este trabajo fue realizado gracias al proyecto Almacenes de carbono en el suelo de una selva húmeda: La contribución de los hongos micorrizógenos arbusculares, auspiciado por el programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación Tecnológica (PAPIIT-IN1168142013) de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Agradezco a la DGAPA-UNAM la beca recibida para la realización de este trabajo.

A mis sinodales por tomarse el tiempo y la dedicación de revisar, corregir y enriquecer este trabajo Dr. Arcadio Monroy, Dra. Patricia Guadarrama, Dra. Irene Sánchez Gallen, Dra. Gabriela Castaño y Dr. Javier Álvarez

Agradezco al responsable del proyecto, Dr. Francisco Javier Álvarez Sánchez, coordinador del Laboratorio de Ecología del Suelo de la Facultad de Ciencias y al personal académico que labora en éste: Dra. Irene Sánchez Gallen, Dra. María Guadalupe Barajas Guzmán, y especialmente al M. en C. Juan Carlos Peña Becerril por ayudarme en el procesamiento de los datos, y a la Biol. Karla Elvira por el asesoramiento para realizar la extracción y conteo del micelio extrarradical y de la colonización intrarradical.

Agradezco las facilidades e instalaciones proporcionadas por la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” del Instituto de Biología de la UNAM, a su directora Rosamon Coates, y a todos los responsables de su funcionamiento.

Un agradecimiento y dedicatoria especial para Eva Fernández, Daniel Hernández, Francisco Chapan, Daniel y pablo Tepox y Juan Urcilo, los propietarios de los terrenos donde se realizó este trabajo.

Agradecimientos personales.

A mi mamá que me ha apoyado y guiado en todo momento y con la cual estaré permanentemente en deuda

A mis hermanas Lore y Pau a las cuales me hacen feliz cada día.

A mis tías y tíos, Rayito, Pili, Ana, Cecilia, Hilda, Carlos Vicky, Raquel, Blanca, Roció, Chabela, Miguel, Pancho y Armando, por todo el apoyo incondicional

A mis primos Argel, Ricardo, Carlo, Rosalba, Meche, Miguelin, Tavo, Bruno, Diego, Pame, Nade, Cecy, Leo y Lalo por ser esos amigos que no se eligen pero que me han hecho reír toda la vida.

A todos los maestros que tuve a lo largo de mi vida, Tita, Fernando, Lupita, Javier, Juan Carlos e Irene por todo lo que me han aportado y sin los cuales no habría llegado hasta aquí.

A Luis, Alex y Susana, mis entrenadores y a todo el equipo de atletismo que siempre sacaron lo mejor de mí, Elihu, Oscar, Lili, Julia, Tavo, Dani, Tony, Wendy, Ale, Neto, Piña, Carlitos.

A todos mis compañeros y amigos del laboratorio de ecología del suelo por todo el apoyo en campo, laboratorio y procesamiento de datos sin los cuales este trabajo no existiría, Karla, Carla, Isaac, Irving, Alejandro, Laura, Dani, Nacho, Sally, Irma, Vivi, Carlos, Fernanda, Mauricio, América, Yesenia Thai y Eduardo.

Gracias a todos los amigos que he acumulado a lo largo de este largo camino y que han hecho de esta jornada un viaje lleno de risas y diversión, Jean-Yves, Stefan, Rodrigo, Luz, Ame, Daniel, Esteban, Edgar, Irving, Lupita, Erik, Isu, Carlos, Gabriel, Luli, Moni Poncho y Ponchis, Anabell, Karla, Verabel, Marina, Inari, Sergio y Jessie.

Y por último pero no menos valiosos, a mi pequeño y verídico grupo fraternal con los que cada día convivo y río más, con los que es Bien Difícil coincidir todos pero que están presentes cada día y siempre que el cactus lo requiere, los guerreros Tlamatini de mi vida, y con los que pasar 100 años de pobreza no importa, los que comparten sus ovejas pero no sus sillas y tienen su propia unidad de medida, con los que puedo discutir sobre el fascismo pero no de fútbol y me hacen ser más culto cada día, esos que están en primera fila con narices de payaso: Victor, Paloma, Ara, Pelu, Karina y Aban. No sé qué sería de mi vida sin ustedes.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	9
1.1. Componentes del suelo	10
1.2 Características de los hongos micorrizógenos arbusculares	11
1.3 Estructuras de los HMA	13
1.4 Efectos del uso del suelo sobre los HMA	14
1.5 Efectos de los cultivos y potreros en los HMA	15
1.6. ANTECEDENTES	17
1.6.1 Longitud del micelio extrarradical (ME).....	17
1.6.2 Porcentaje de colonización intrarradical (CI).....	17
2. OBJETIVOS	18
2.1 General	18
2. 2 Particulares	19
3. HIPÓTESIS	19
4. MÉTODO	19
4.1 Zona de estudio	19
4.2 Muestreo	20
4.3 Laboratorio	21
4. 3. 1 Cuantificación del ME y de la CI	21
4.4 Análisis del suelo	22
4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	22
5. RESULTADOS.	23
5.1 Longitud del micelio extrarradical	23
5.2 Colonización intrarradical	24
5.3 Relación entre variables bióticas y abióticas	26
5.3.1 Longitud del ME en cultivos	26
5.3.2 Longitud del ME en potreros	27
5.3.3 Porcentaje de CI en cultivos	28
5.3.4 Porcentaje de CI en potreros	28

5.4	Análisis de componentes principales	28
6.	DISCUSIÓN	32
6.1.	Longitud del ME	32
6.2.	Porcentaje de CI	34
7.	CONCLUSIONES	35
8.	LITERATURA CITADA	37
9	ANEXO	45

1. Introducción

Las selvas húmedas a nivel mundial contienen el 50% de las especies conocidas en el mundo, por lo que su valor ecológico, económico y social es difícil o imposible de calcular debido a que es un sistema complejo que opera en conjunto y a escalas de tiempo fuera del rango del hombre (Gowdy, 1997). A pesar de ello presentan altas tasas de deforestación estimadas en un 2% a nivel mundial (CIFOR, 2005) y actualmente queda menos del 50% del área que ocupaban antes del inicio de la era industrial; el área sobrante se encuentra mayormente fragmentada y generalmente conforman fragmentos de un tamaño tan reducido que pueden haber perdido su funcionalidad ecológica (Martínez-Ramos y García-Orth, 2007).

En México la principal causa de esta fragmentación es el cambio de uso de suelo, que implica la tala de la vegetación original, siendo posteriormente sustituida por potreros, los cuales aumentan en un 4.6% anual, mientras que las zonas ocupadas por selvas desaparecen en un 2.06% anual (Velázquez et al., 2001). Estas tasas de deforestación tan acelerada se deben a diversos factores entre los que se encuentran el crecimiento de los asentamientos humanos cercanos a las selvas, actividades económicas como la ganadería y los cultivos, en donde el desmonte de las selvas es impulsado por políticas públicas (von Bertrab, 2010).

La pérdida y fragmentación de la cobertura vegetal tiene consecuencias a corto, mediano y largo plazo como son la alteración de las dinámicas poblacionales de la vegetación remanente, además de los cambios en la funcionalidad del ecosistema en términos de flujo de energía, nutrientes, y agua (Forman y Gordon, 1986). Esto hace prioritario el estudio de las consecuencias del cambio de uso de suelo debido al impacto que llega a tener sobre la biodiversidad, recursos forestales y los suelos (Villar et al., 1998).

Cabe destacar que la mayoría de los estudios sobre el cambio de uso de suelo se basan en las afectaciones a la cobertura vegetal, la flora y fauna, mientras que el efecto que tienen en los suelos queda en segundo plano, aunque al verse afectados éstos, ocurren cambios que pueden representar diversos problemas con grandes consecuencias como la pérdida de fertilidad, la alteración de numerosos procesos llevados a cabo por la biota edáfica como los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno y del carbono, la descomposición de la materia orgánica, el

almacén de carbono en el suelo, la formación de micro y macro agregados y la fijación de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo (Bauhus y Khanna, 1999).

1.1. Componentes del suelo.

El suelo es una matriz heterogénea que reúne una gran diversidad de elementos bióticos y abióticos y se define como una interface en donde interactúan 4 diferentes partes: la litosfera, la atmosfera, la hidrosfera y la biosfera, esto ocasiona que sea un sistema dinámico y sensible a los cambios en los elementos de su entorno (Tarbuck y Lutgens, 2005).

Tiene dos fases principales una fase sólida compuesta de minerales y materia orgánica, y una fase porosa que se puede llenar con líquidos y gases (Jaramillo et al., 2003).

Dentro de los elementos abióticos se pueden encontrar todos los nutrientes, la roca madre, el agua y el aire, que a su vez conforman la estructura del suelo y los diferentes horizontes en conjunción con los elementos bióticos; dentro de éstos se pueden nombrar la materia orgánica, las raíces, la fauna edáfica y los microorganismos.

Todos los organismos que habitan dentro o sobre el suelo, al menos en una parte de su ciclo de vida, tienen una gran cantidad de funciones imprescindibles para el sostenimiento de toda la comunidad que está por arriba del suelo, como el aporte de materia orgánica (Cadena et al., 1998) o la estabilización de la estructura del suelo, en especial los hongos (Rillig, 2004) ya que mediante el micelio producen exudados que ayudan a degradar la celulosa, almidón o lignina (Burbano, 1989), o bien existen organismos que influyen directamente en los procesos de circulación de nutrientes como el nitrógeno, el cual es transformado para que las plantas sean capaces de absorberlo (Munevar, 1991) Por lo tanto, es muy probable que la comunidad microbiana tenga la capacidad de servir como indicador del empobrecimiento y degradación del suelo (Abril, 2003).

Los escarabajos y miriápodos son trituradores de la materia orgánica misma que es procesada por los desintegradores los cuales son todos aquellos organismos que llevan a cabo la mineralización y/o humificación de la materia orgánica, con lo cual las plantas tienen acceso a estos nutrientes. Otros organismos incrementan la superficie de absorción de las plantas, de forma que aseguran una mayor captura de nutrientes y agua. Estos últimos son los llamados

hongos micorrizógenos, dado que forman una unión entre las raíces de las plantas y el suelo, en particular en los ambientes tropicales, los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) son los que tienen una mayor importancia por su ubicuidad (Hart et al., 2003) en comparación con los hongos ectomicorrizógenos los cuales se asocian principalmente con comunidades forestales (Garibay-Orijel, et al., 2013)

1.2. Características de los hongos micorrizógenos arbusculares

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) tienen una relación mutualista con el 80% de las especies de plantas estudiadas y se encuentran presentes en todos los *phyla* como las briofitas, pteridofitas, gimnospermas y angiospermas (Smith y Read, 2008). Tienen una amplia distribución encontrándose en casi cualquier tipo de hábitat terrestre, tanto naturales como ambientes perturbados y en un gradiente muy amplio de latitudes y altitudes (Souza, 2015), en los trópicos se ha reportado que 2 de cada 3 plantas se asocian con HMA, además de promover la diversidad y coexistencia de las especies en las selvas (Molina y Horton, 2006)

Todos los HMA pertenecen al *phylum* Glomeromycota (Cuenca, 2015). Se tienen registros fósiles que indican que se originaron hace 353 a 462 millones de años (Redecker et al., 2000); al 2013 se habían descrito 234 especies a escala mundial, los cuales se clasifican en 3 órdenes (Diversisporales, Gigasporales, Glomerales) que a su vez se organizan en 11 familias (*Diversisporaceae*, *Acaulosporaceae*, *Sacculosporaceae*, *Pacisporaceae*; *Scutellosporaceae*, *Gigasporaceae*, *Intraomatosporaceae*, *Dentiscutataceae*, *Racocetraceae*; *Entrophosporaceae*, *Glomeraceae*) y dentro de estos se agrupan 26 géneros (*Tricispora*, *Otospora*, *Diversispora*, *Redeckera*, *Kuklospora*, *Acaulospora*, *Sacculospora*, *Pacispora*, *Orbispora*, *Scutellospora*, *Gigaspora*, *Intraornatospora*, *Paradentiscutata*, *Dentiscutata*, *Quatunica*, *Fuscutata*, *Cetraspora*, *Racocetra*, *Viscospora*, *Claroideoglopus*, *Entrophospora*, *Albahypha*, *Simiglopus*, *Funneliformis*, *Septoglopus*, *Glomus*) (Redecker et al., 2013).

Esta clasificación toma en cuenta la formación de arbusculos intrarradicales como el carácter taxonómico que los unifica (Cuenca, 2015), anexa los caracteres morfológicos de las esporas, además de las pruebas moleculares en base a diferentes secuencias de DNA y RNAm de la

subunidad grande (LSU). Con esto se busca tener una taxonomía mejor representada (Yang et al., 2014), aunque es de mencionar que aún no se tiene un consenso sobre su organización y se considera que existe una mayor diversidad de la reportada actualmente (Redecker et al., 2013).

Los HMA forman una relación mutualista obligada para completar su ciclo de vida (Souza, 2015) en la que los hongos favorecen el desarrollo y establecimiento de la planta (van der Heijden, 2004), ya que aumentan la superficie de absorción de agua y nutrientes como el Fosforo y Nitrogeno (Carpio, 2003), y la planta les provee de hasta el 20% de sus fotosintatos generados diariamente (Jakobsen, 1999). También se ha reportado que bajo condiciones estresantes como, la pérdida de la cobertura vegetal, el cambio de uso de suelo o la presencia de fertilizantes minerales, esta relación puede cambiar y los hongos pasan a un papel de parásitos al absorber los nutrientes que le da la planta sin darle a ésta algún beneficio (Blanke et al., 2012).

En ambientes con una estacionalidad marcada los HMA se ven afectados por la disponibilidad de agua en temporada de sequías, ya que al existir cambios fenológicos en las plantas el flujo de carbono hacia los HMA se ve afectado (Simard y Durall, 2004) esto puede provocar un aumento en la producción de esporas, aunque la temporalidad no ocasionan cambios en la colonización intrarradical (Camargo y Esperon, 2005), mientras que en ambientes con una escasa prestación (sequía) y una baja fertilidad del suelo la asociación con HMA aumenta el establecimiento de especies y con ello el mantenimiento de la diversidad vegetal (Hartnett y Wilson, 1999)

1.3. Estructuras de los HMA

La interacción entre las plantas y los HMA se lleva a cabo por una serie de estructuras especializadas que cumplen con diferentes funciones (Cuenca, 2015) (figura 1).

Micelio extrarradical (ME): es la estructura del hongo que se encuentra en contacto con el suelo, tienen un diámetro de entre 2 y 27 μm y su longitud varía entre 1-5 mg^{-1} y llegan a su máxima longitud ocho semanas después de la colonización (Smith y Read, 2008; Cuenca,

2015). Su principal función es la absorción de agua y nutrientes, los cuales posteriormente se movilizan a la planta. (Blanke, 2012). El ME a su vez puede formar hifas “corredoras” que se desarrollan a lo largo de las raíces y estructuras ramificadas de absorción o BAS por sus siglas en inglés (Olsson et al., 2014).

El ME interviene en distintos procesos que optimizan la calidad del suelo: la formación de micro y macroagregados lo cual mejora la estructura del suelo (Rillig et al., 2001) también influye en el secuestro de carbono en el suelo, al producir una glicoproteína llamada glomalina, la cual representa entre el 4 y 5 % del carbono total en suelos viejos y tiene un tiempo de residencia en el suelo de 6 a 42 años; (Rillig, 2004).

El ME al entrar en contacto con la raíz forma un apresorio a partir del cual empieza la colonización intraradical.

Arbúsculos. Son estructuras que invaginan las células de la planta, los cuales son estructuras características de este grupo de hongos de ahí su nombre de hongos micorrizógenos arbusculares (Cuenca, 2015). Los arbúsculos son ramificaciones de las hifas que dentro de las células de la raíz llevan a cabo el intercambio de nutrientes y metabolitos entre la planta y el hongo; esto se logra en una membrana modificada que se forma alrededor del arbúsculo, la cual cuenta con una gran cantidad de enzimas y transportadores de nutrientes (Gianinazzi-Pearson, 1996).

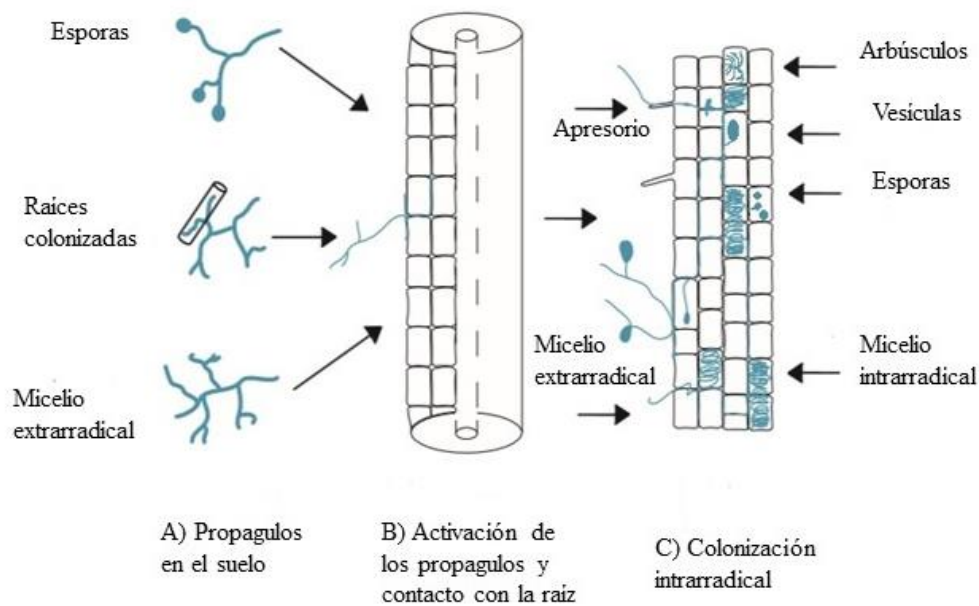


Figura 1. Esquema de estructuras intraradicales, modificado de Cuenca, (2015).

Vesículas. Son estructuras que ayudan principalmente en el almacenamiento de lípidos, además tienen un papel auxiliar como propágulos del hongo, al intervenir en la formación de esporas y ayudar en el metabolismo de ciertos nutrientes, como el fósforo, ya que almacenan gránulos de polifosfato los cuales son indispensables para el transporte de fósforo a través de la hifa y hacia la planta (Smith y Read, 2008; Cuenca, 2015).

Esporas. Los HMA como cualquier otro tipo de hongo forman esporas cuya principal función es la dispersión y resistencia en el ambiente, se forman asexualmente y son la principal unidad de supervivencia de los HMA (Souza, 2015), pueden formarse dentro o fuera de la raíz, de manera solitaria o en grupos dentro de esporocarpos, tienen un diámetro de entre 50 y 120 μm de diámetro y pueden formar tanto micelio intraradical como extraradical (Souza, 2015; Gianinazzi-Pearson, 1996)

También pueden almacenar grasas y carbohidratos. Las esporas, las esporas son utilizadas también para identificar morfológicamente a estos hongos hasta el nivel de especie y llevar a cabo análisis filogenéticos (Redecker et al., 2013) usando características como color, tamaño, separación, tipo y origen de la pared celular (Goto, et al., 2013).

1.4. Efectos del uso del suelo sobre los HMA

El cambio en el uso del suelo afecta las propiedades físicas y químicas del mismo (Bennett, 2010) al existir un aumento en la radiación que llega al suelo, aumenta la temperatura provocando una menor evapotranspiración, reduciendo la humedad del suelo, disminuyendo la infiltración y alterando la textura del suelo lo que puede causar una mayor erosión (Richter, 2016); En sistemas agrícolas o de pastoreo se ven alterados tanto la densidad aparente, como la conductividad del suelo, factores que alteran la disponibilidad de nutrientes (Zimmermann et al., 2010). Estos cambios ambientales afectan el desarrollo de los HMA provocando cambios en la producción de esporas, extensión del micelio y colonización intrarradical (Escudero y Mendoza, 2005).

Cuando se afecta el desarrollo de los HMA también se ven afectadas las funciones que llevan en el ambiente como son: la circulación de nutrientes como el carbono, nitrógeno y fósforo, la formación de micro y macroagregados y la textura del suelo. Esto puede repercutir en el establecimiento de especies de plantas tanto en ambientes naturales, deteriorados o en cultivos (Barea et al., 2005; Kennedy et al., 2002; Monroy-Ata et al., 2007).

Algunas investigaciones han indicado que la glucosa y ciertos exudados de las raíces de las plantas promueven la germinación de esporas, mientras que la presencia de una alta salinidad en el suelo, metales pesados, pH, temperatura y altas concentraciones de fósforo pueden inhibir la germinación de esporas, la formación de arbusculos, vesículas y el desarrollo del micelio intrarradical y extrarradical (Juniper y Abbott, 2006; Boddington y Dodd, 1999; Nardini et al., 2011; Bago et al., 1999; Souza, 2015). También se ha comprobado que con el aumento en la intensidad de luz, la actividad fotosintética de las plantas aumenta y con ello los fotosintatos disponibles para los HMA (Guadarrama et al., 2008), aunque un aumento por arriba de los 30° de temperatura puede afectar el desarrollo del micelio extrarradical (Barrett et al., 2014).

1.5. Efecto de los cultivos y potreros sobre los HMA

Cuando existe un cambio de uso de suelo que convierte una zona natural en potreros o cultivos hay una abrupta disminución en la diversidad de especies vegetales, y un cambio radical de las condiciones ambientales, lo cual altera las relaciones competitivas, diversidad, y funcionamiento general de los HMA; esto podría causar una reducción en la velocidad de recuperación del ecosistema perturbado (Cuenca, 2015)

En cultivos en donde existe una fertilización constante con fósforo el desarrollo del ME se ve disminuido, debido a que las plantas hospedera pueden absorber más fácilmente los nutrientes; con ello los hongos tienden a aumentar el porcentaje de colonización intrarradical lo que ocasiona que la relación mutualista pase a una fase parasitaria (Blanke et al., 2012; Bolan, 1991); otro factor que causa una disminución en la longitud del ME es el pH y se ha comprobado que a menor pH hay una menor longitud del ME (Borie et al., 2000).

El arado en los cultivos destruye las hifas presentes en el suelo, por lo que el número de propágulos disponibles disminuye, con ello existe una reducción significativa en los porcentajes de colonización intrarradical en comparación con cultivos bajo cero labranza (McGonigle et al., 1990), cabe señalar que esto se debe a que el micelio presente en el suelo es considerado el principal inóculo de HMA y el más durable (Sylvia, 1992). Por otro lado, en cultivos bajo cero labranza se ha observado un aumento en la longitud del micelio y con ello un aumento en la glomalina, presente en el suelo (Borie, 2000) con beneficios relacionados con la formación de suelo.

Por otro lado, los HMA pueden intervenir positivamente en los cultivos siendo usados correctamente, ya que al tener una complementariedad funcional tienen el potencial de colonizar plantas introducidas y generar un mayor rendimiento en los cultivos (Yang et al., 2014). Asimismo, se ha comprobado que los HMA regulan cambios fisiológicos en su hospedero, como el aumento en la producción y tamaño de frutos y en la producción de clorofila y carotenoides (Regvar et al., 2003). Para lograr esto, se puede favorecer la presencia de HMA inoculando, ya sea, los cultivos manualmente, o cultivar ciertas especies de plantas con una mayor afinidad a los HMA y con esto aumentar el número de propágulos en el ambiente y el porcentaje de colonización (Karasawa et al., 2001).

En el caso de los pastizales o potreros, al ser ambientes donde no hay ningún tipo de manejo agrícola, la cobertura vegetal no cambia drásticamente y la extensión de micelio puede pasar por algunos cambios través del tiempo aunque su presencia es constante (Hart et al., 2001). En estos ambientes, las estructuras intrarradicales tienen un papel importante, no solo como estructuras de intercambio de nutrientes, sino como estadios de baja actividad para muchos HMA, los cuales tienen una mayor actividad en épocas de lluvias en comparación con la época de secas. Yang et al. (2014) señalan que hay una relación entre el aumento en la concentración de Nitrógeno y Fosforo en los tejidos de las plantas cultivadas, la cual es mayor en lluvias que en secas.

1.6. Antecedentes

El efecto que tiene el cambio de uso de suelo sobre los HMA se ha estudiado muy poco y la mayoría de los estudios realizados se concentran en la pérdida de diversidad de especies (Johnson, 1997), aunque se ha reportado que el cambio de uso, el cambio de temporada y la disponibilidad de nutrientes influyen en el desarrollo de los HMA (Simard y Durall, 2004; Williams, et al., 1992)

1.6.1 Longitud de micelio extrarradical (ME)

Se ha reportado que en zonas conservadas dentro de la selva de Los Tuxtlas la longitud del micelio llega a tener valores de entre $8.57 \pm 1.65 \text{ mg}^{-1}$ y $6.29 \pm 0.79 \text{ mg}^{-1}$, mientras que en potreros se encontró una longitud de $14.78 \pm 1.49 \text{ mg}^{-1}$, siendo significativas las diferencias entre sitios ($F_{1,62} = 65.93$, $P < 0.05$) (Serrano-Ysunza, 2012). Estos resultados coinciden con lo reportado por Cruz-Paredes (2013), en donde también se encontraron diferencias significativas en la longitud del ME debido al cambio de uso de suelo siendo mayores en pastizales en comparación con acahuales o sitios conservados de selva seca en Veracruz.

En cuanto a la temporalidad Cruz-Paredes (2013) y Cortes-Tello (2015) coinciden en que hay una mayor longitud del micelio en la temporada de secas en comparación con la época de lluvias, con diferencias significativas.

1.6.2 Colonización intrarradical (CI)

Se ha reportado que en la selva alta perennifolia existen diferencias significativas en los porcentajes de colonización relacionado con la temporalidad, siendo mayor en la temporada de secas, mientras que la producción de arbusculos se mantiene constante entre temporadas, con porcentajes de colonización promedio de 37.94 % (± 2.9) (Jasso Flores, 2010). Dichos resultados contradicen lo encontrado por Cortes-Tello (2015) en una selva baja caducifolia en donde menciona que no existen diferencias significativas en el cambio de temporada, aunque sí encontró diferencias entre los sitios de muestreo. El mismo autor, también reportó correlación negativa tanto de la colonización intrarradical (CI) como de la longitud de ME con el fósforo disponible.

Gryndler (2006) por otro lado, reporta que la disponibilidad de nutrientes, en suelos con rotación de cultivos sometidos a distintos tratamientos de fertilización tanto mineral como orgánica en Praga, no ocasionan diferencias significativas en los porcentajes de colonización por el uso de fertilizante. Aunque los porcentajes de colonización se vieron relacionados positivamente con la longitud del micelio extrarradical

En conjunto, las características e importancia de los HMA han motivado a los investigadores a investigar sobre los efectos de las perturbaciones antropogénicas en el desarrollo de los HMA. Es por esto que, el estudio del comportamiento de los HMA en zonas que han sido modificadas puede ayudar a conocer el impacto que tienen las condiciones ambientales provocadas por el cambio de uso del suelo y la respuesta que presentan los HMA en la relación con las plantas hospederas y el ambiente

Este estudio forma parte del proyecto PAPIIT-IN116814 titulado: “Almacenes de carbono en el suelo de una selva húmeda: la contribución de los hongos micorrizógenos arbusculares”, cuyo principal objetivo fue analizar el impacto del cambio de uso de suelo en las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo en un bosque tropical perennifolio y su efecto sobre los almacenes de carbono. Con base en el objetivo del proyecto, el objetivo general de este estudio fue:

2.0 Objetivos

2.1 Objetivo General

Analizar la producción de micelio extrarradical y la colonización intrarradical de los hongos micorrizógenos arbusculares en las plantas hospederas establecidas en dos usos de suelo y en dos temporadas en la región de Los Tuxtlas, Veracruz.

2.2 Objetivos particulares

- 1) Estimar la biomasa de micelio extrarradical en dos usos de suelo (potreros y cultivos), ambos resultado de la modificación de la selva húmeda original.
- 2) Estimar la colonización intrarradical en dos usos de suelo (potreros y cultivos).
- 3) Determinar las variaciones de la producción de micelio extrarradical y de la colonización intrarradical en dos temporadas contrastantes: secas y lluvias.

3.0 Hipótesis

Debido a la permanencia de la cobertura vegetal en potreros, existirá una mayor longitud de micelio extrarradical y una mayor colonización intrarradical con respecto a los cultivos donde hay un manejo del suelo que segmenta el micelio extrarradical y limita la posibilidad de colonizar.

Se espera que a menor disponibilidad de agua y nutrientes exista una mayor longitud del micelio extrarradical, aunque una vez establecida la colonización, ésta se mantenga constante entre temporadas.

4.0 Métodos

4.1 Sitios de estudio

Este estudio se llevó a cabo en la Reserva de la Biosfera de Los Tuxtlas, Veracruz, la cual es una área natural protegida, bajo la administración de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP); se estableció formalmente el 23 de noviembre de 1998 mediante un decreto presidencial, tiene un área de aproximadamente 155 122 ha en la región

de Los Tuxtlas, al sur de Veracruz (von Bertrab, 2010), entre los 18°30' y 18°40' latitud norte y los 95°03' y 95°10' longitud oeste; tiene una cordillera volcánica con substrato de rocas ígneas mezclado con cenizas volcánicas; los suelos tienen alto contenido de materia orgánica y presentan perfiles con horizontes poco desarrollados; presenta una precipitación anual de 4725 mm y una temperatura anual de 27°C (Guevara et al., 1994), con una altitud que va desde el nivel del mar hasta cimas de 1 680 ms.n.m., tiene presencia de especies tropicales y de zonas templadas distribuidas en relación con la altitud (Castillo-Campos, 2004) y se clasifica como selva alta perennifolia (Miranda y Hernández, 1963), la cual a causa de la presión demográfica ha sido sustituida en ciertas áreas por cultivos. Dichos cultivos muy frecuentemente, como consecuencia del desgaste del suelo y la baja en la producción, son sustituidos por potreros para la crianza de ganado.

En los sitios de cultivo se siembra por temporal, se utiliza una yunta para la labranza de la tierra, y se ocupan distintos tipos de fertilización tanto orgánica (sobrantes de la cosecha anterior) como mineral para el aporte de Nitrógeno, Fosforo y Potasio, además del uso de herbicidas, e insecticidas. El ciclo de cultivo es: maíz en la época de lluvias y sandía o chile en época de secas; dichos cultivos tienen distintos propósitos, mientras que el maíz se ocupa para auto-consumo, el chile y la sandía se cosechan con la intención de venta.

Este uso continuo de la tierra es una de las causas de erosión y posterior abandono de los sitios, los cuales suelen ser transformados a potreros en donde es posible encontrar diferentes especies de pastos ya sea locales (*Paspalum conjugatum* y *Axonopus compressus*) o introducidos como el pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*) y el pasto insurgente (*Brachiaria brizantha*). Los pastos introducidos se han vuelto populares en la región debido a que presentan una mayor resistencia a periodos de sequía, y son capaces de crecer en condiciones adversas (Guevara et al., 1994).

4.2 Muestreo

Se seleccionaron cinco sitios de muestreo por cada uso de suelo, es decir cinco potreros y cinco cultivos derivados de la selva húmeda por cada temporada (anexo 4), un criterio esencial de selección fue la disponibilidad de los propietarios para hacer este estudio, y

tomando un mínimo de 100 m de distancia entre sitios aledaños, y cuidando que todos los sitios tuvieran por lo menos 0.1ha para poder realizar el muestreo (figura 2).

En cada sitio, se trazó un cuadro de 30 x 35 m y dentro de él se ubicaron cinco puntos de manera aleatoria a través del uso de coordenadas cartesianas, tanto para la temporada de secas (abril, 2015) como la de lluvias (agosto 2015).

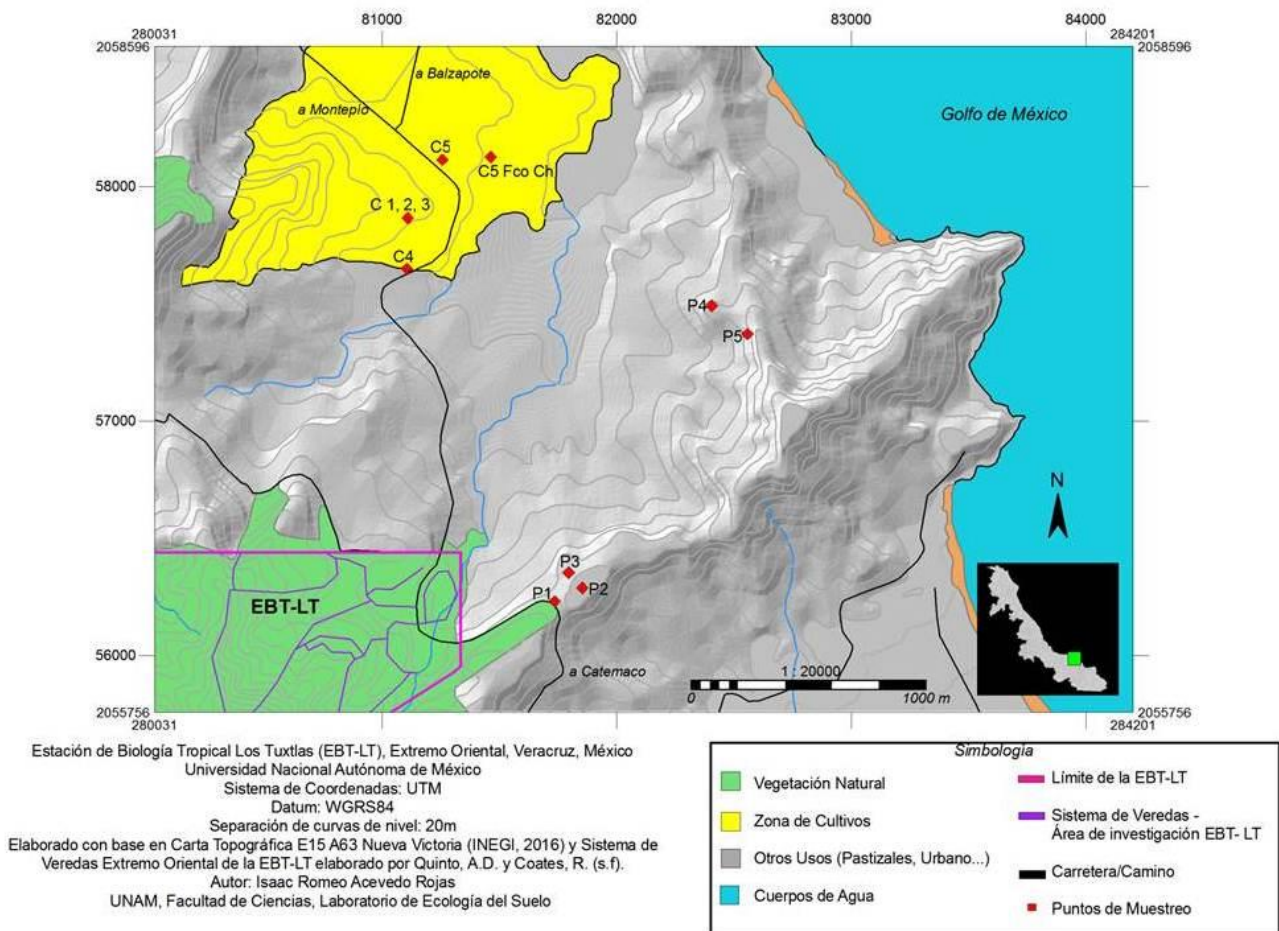


Figura 2. Mapa modificado de Acevedo-Rojas (2017), donde se marcan los puntos utilizados para el muestreo, donde: P (potreros) y C (cultivos).

En cada punto se colectó una muestra de suelo con ayuda de un nucleador de 15 cm de diámetro y 20 cm de largo (aproximadamente 3 400 cm³), colectando alrededor de 1 kg por

muestra de suelo en total 100 muestras 50 para la temporada de lluvias y 50 para la temporadas de secas.

Se seleccionó una muestra de suelo de cada punto de colecta y se enviaron al laboratorio de fertilidad de suelos y química ambiental en el Colegio de Postgraduados para analizar las propiedades químicas y edáficas de donde se obtuvieron los datos de pH, C total, porcentaje de materia orgánica, nitrógeno total, nitratos, nitritos, fósforo y la textura del suelo.

4.3 Laboratorio

4.3.1 Cuantificación de micelio extrarradical y estructuras intrarradicales

De cada muestra se separaron aproximadamente 10 g de raíces y se pesaron 30 g de suelo, las cuales fueron colocadas en bolsas separadas y en refrigeración a 3°C hasta su procesamiento. Ya en el laboratorio, los 30 g de suelo por muestra, se tamizaron con un tamiz de 22 mm de apertura, y de este suelo se separaron dos muestras de 5 g de las cuales una se utilizó para obtener el peso seco y la otra se procesó usando la técnica de Miller y Jastrow (1998), considerando las modificaciones por Jasso (2010) y Sánchez de Prager et al. (2010) (Anexo 1). Posteriormente, por cada membrana se llevó a cabo la cuantificación del micelio extrarradical mediante la técnica de Jakobsen (1998) (Anexo 2).

También se realizó la cuantificación de la presencia de cada una de las estructuras fúngicas presentes en las raíces para así determinar el porcentaje de colonización intrarradical por estructura para lo cual se tiñeron las raíces por el método de tinción con azul de tripano y posteriormente se evaluó el porcentaje de colonización de acuerdo a la técnica de Phillips y Hayman (1970) (Anexo 3).

4.4 Análisis del suelo

En cultivos se encontraron los valores más bajos de carbono total, materia orgánica, nitrógeno total y fosforo también se encontraron en cultivos, en el caso de los nitratos la menor concentración se encontró en potreros y no existieron diferencias significativas en el caso del amonio (Acevedo-Rojas, 2017) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Concentración promedio (± 1 D.E.) de algunos parámetros del análisis edáfico de los dos usos de suelo en las temporadas de secas y lluvias (Acevedo-Rojas, 2017).

	Uso	pH	C total %	M.O%	Nt%	P (mg kg ⁻¹)	NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)	NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)
Lluvias	Cultivo	5.4	3.5	5.92	0.33	0.82	9.2	23.27
	Potrero	5.81	3.7	6.08	0.32	1.72	6.52	22.48
Secas	Cultivo	5.32	3.48	5.04	0.32	1.3	23.74	27.71
	Potrero	5.77	3.82	7.2	0.35	1.51	11.63	32.54

4.5 Análisis estadístico

Se analizaron los datos obtenidos de la colonización intrarradical y la longitud de micelio con ayuda del programa de análisis estadístico R (2015) con el cual se aplicó un análisis de varianza. Para esto se transformaron los datos obtenidos de la cuantificación de la longitud del micelio extrarradical con logaritmo natural para normalizarlos, mientras que el conteo de estructuras intrarradicales se normalizaron con logaritmo base 10. También se realizaron correlaciones utilizando la longitud de micelio y los datos de colonización intrarradical con respecto a las propiedades químicas del suelo (pH, C total, porcentaje de materia orgánica, nitrógeno total, nitratos, nitritos, fosforo); se graficaron las correlaciones significativas.

También se realizó un análisis multivariado de componentes principales utilizando el programa de análisis estadístico, STATISTICA (2011) con el que se analizaron la respuesta de la longitud del micelio extrarradical y la colonización intrarradical contra las variables ambientales (pH, porcentaje de materia orgánica, nitrógeno total, nitratos, nitritos, fosforo).

5.0 Resultados.

5.1 Longitud del micelio extrarradical

Respecto a la longitud de micelio, se encontraron diferencias significativas entre los potreros y cultivos ($F_{1, 296} = 995.639$, $p < 0.05$), encontrando una mayor longitud en los potreros con una longitud promedio de $15.46 (\pm 5.1) \text{ (m g}^{-1}\text{)} (\pm 1\text{E.E.})$ mientras que en cultivos fue de $5.39 (\pm 41.76) \text{ (m g}^{-1}\text{)} (\pm 1\text{E.E.})$ (Figura 3 a). En el caso de la temporada no se encontraron diferencias significativas ($F_{1, 296} = 2.5$, $p = 0.104$) (Figura 3 b).

Por otro lado la interacción entre uso de suelo y temporada fue significativa ($F_{3, 296} = 122.94$, $p < 0.001$), encontrando 4 grupos significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$), en donde la mayor longitud de micelio se presentó en el potrero en la temporada de lluvias $20.69 (\pm 4.39 \text{ m g}^{-1})$, seguido por el potrero en la temporada de secas $10.44 (\pm 1.89 \text{ m g}^{-1})$, después el cultivo en temporada de secas $6.38 (\pm 0.70 \text{ m g}^{-1})$ y por último el cultivo en la época de lluvias $4.4 (\pm 0.38 \text{ m g}^{-1})$ (Figura c).

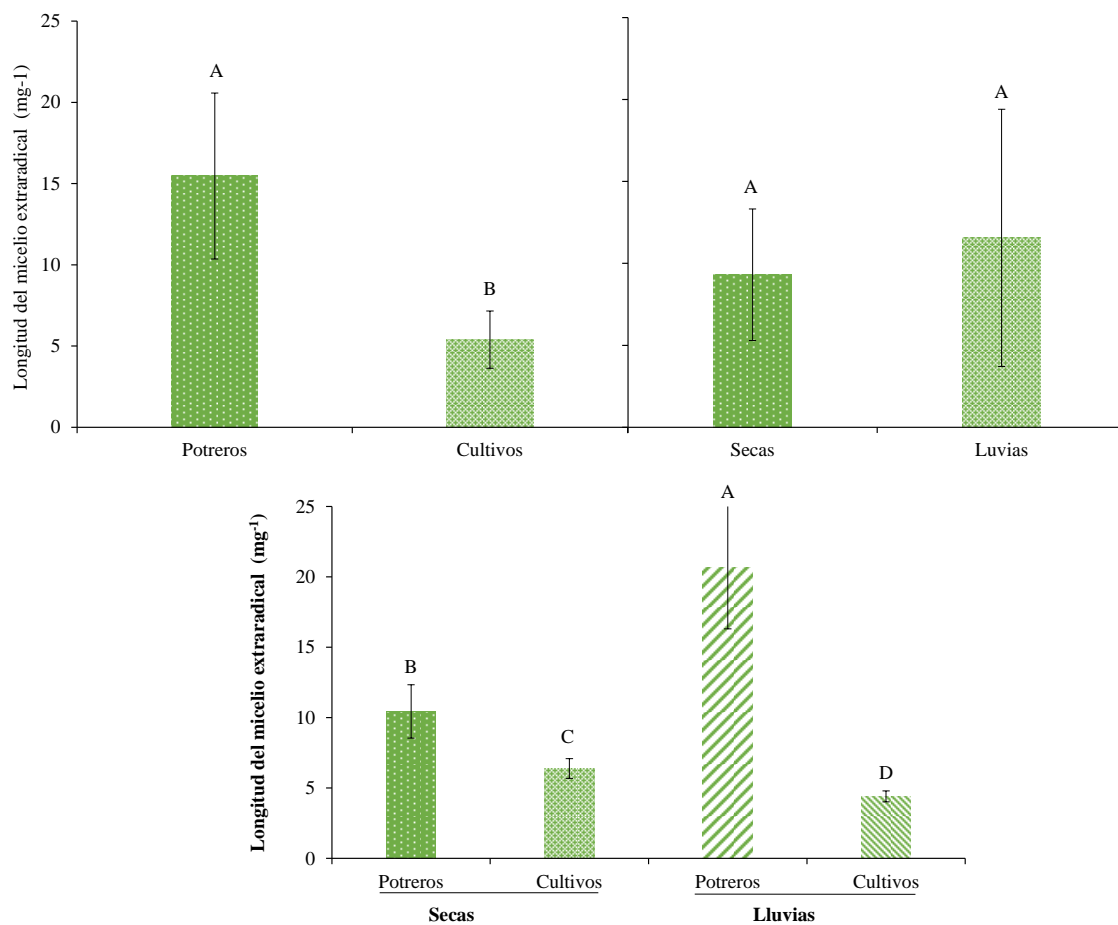


Figura 3.a) Longitud promedio del micelio extrarradical (mg^{-1}) ($\pm 1\text{E.E}$) comparando dos usos de suelo, b) Longitud promedio del micelio extrarradical (mg^{-1}) ($\pm 1\text{E.E}$) comparando dos temporadas c) Longitud promedio del micelio extrarradical (mg^{-1}) ($\pm 1\text{E.E}$) comparando la interacción temporada \times uso. Las letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

5.2 Porcentaje de colonización intrarradical

En el caso de los potreros se encontró un porcentaje de colonización promedio de $89.92 (\pm 5.6 \%) (\pm 1\text{E.E})$, mientras que en cultivos fue de $86.61 (\pm 5.8 \%) (\pm 1\text{E.E})$. Los resultados del ANOVA indicaron que el cambio de uso de suelo genera diferencias significativas ($F_{1, 296} = 20.501, p < 0.05$) siendo mayor en los potreros (Figura 4, a). El cambio de temporada, también

generó diferencias significativas ($F_{1, 296} = 25.886$, $p < 0.05$), siendo mayor en la época de lluvias con un valor promedio de $90.16 (\pm 6.23 \%)$, mientras que en la época de secas el promedio fue de $86.43 (\pm 6.65 \%)$ (Figura 4, b).

Por último, la interacción entre temporada y uso de suelo fue significativa ($F_{3, 296} = 4.754$, $p = 0.030$) (Figura 4, c). En donde se encontraron tres grupos diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$), de nuevo coincide que el potrero en época de lluvias tuvo el mayor promedio con $91.04 (\pm 5.63 \%)$ y diferente significativamente del cultivo en secas en donde se encontró el promedio más bajo con $83.95 (\pm 5.87 \%)$, mientras que no existieron diferencias significativas entre potrero secas $88.90 (\pm 6.54 \%)$ y cultivo lluvias $89.28 (\pm 6.70 \%)$.

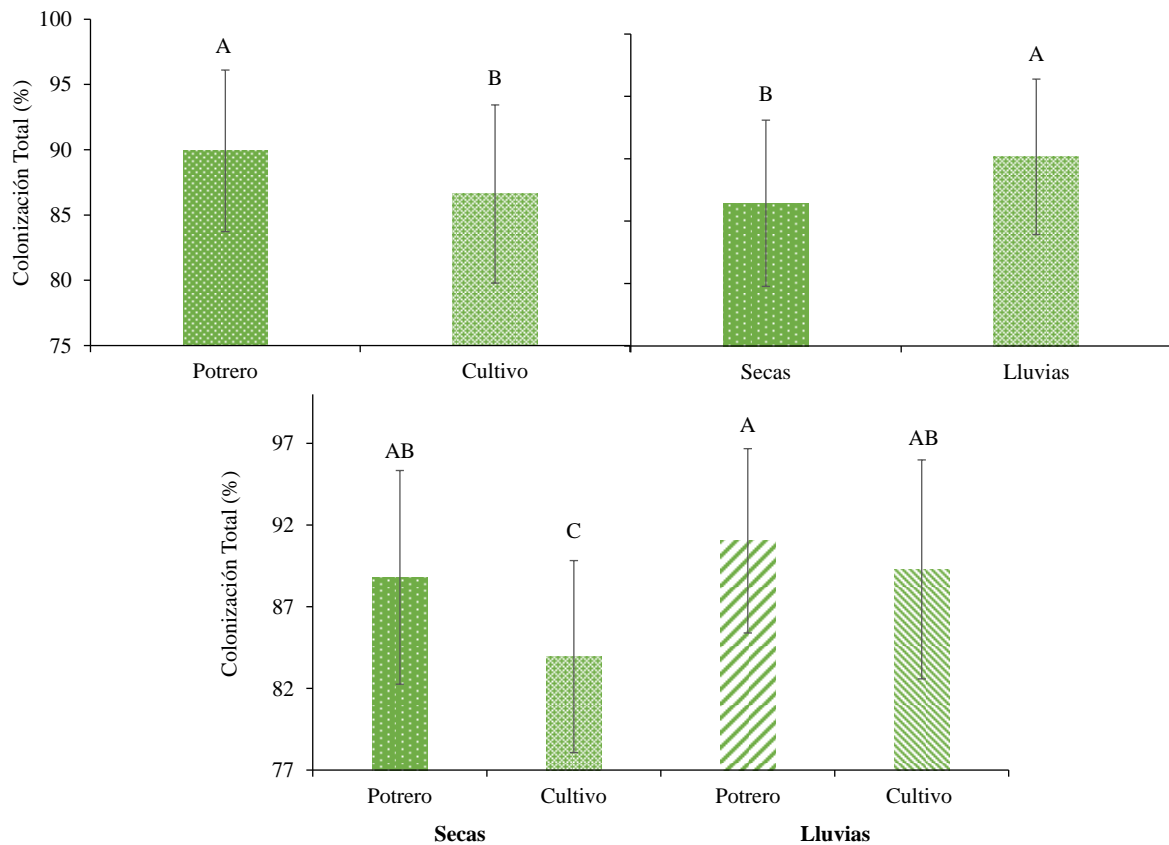


Figura 4. Porcentaje de colonización total promedio (± 1 E.E.), letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). a) Comparación entre uso de suelo, b) comparación entre temporadas, c) Interacción temporada \times uso.

5.3 Relación entre variables bióticas y abióticas

5.3.1 Longitud del micelio extrarradical (ME) en cultivos

Al relacionar los factores abióticos de cada uso de suelo con la longitud del micelio extrarradical y la colonización intrarradical se encontró que la relación entre longitud del micelio extrarradical y el pH fue lineal significativa e inversamente proporcional, mientras que con los nitratos fue directamente proporcional (Cuadro 3, Figura 5).

Cuadro 3. Resumen de los valores obtenidos de la regresión lineal entre la longitud del micelio y las variables edáficas analizadas en cultivos, los datos sombreados indican correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Longitud del micelio extrarradical en cultivos				
	F	P	R ²	EE
pH	4.998	0.0308	0.217	0.3172
Carbono total	1.107	ns	0.057	0.348
Materia organica	0.097	ns	0.0054	0.357
Nitrogeno total	1.891	ns	0.095	0.341
NO ₃ ⁻	7.644	0.012	0.082	0.3
NH ₄ ⁺	1.611	ns	0.298	0.343

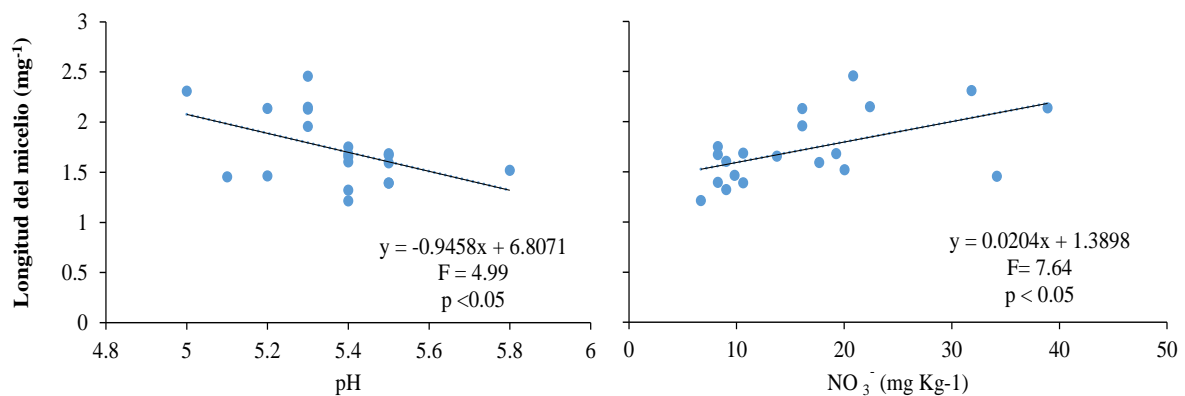


Figura 5. Relaciones significativas entre la longitud de micelio en cultivos y: a) pH y b) NO₃.

5.3.2 Longitud del ME en potreros

En el caso de los potreros al relacionar los factores abióticos con la longitud de micelio también se encontró una relación significativa entre la longitud del micelio extrarradical y el nitrógeno total, el amonio y los nitratos, en los tres casos la relación fue lineal e inversamente proporcional (Cuadro 4, Figura 6).

Cuadro 4. Resumen de los valores obtenidos de la regresión lineal entre la longitud del micelio y las variables edáficas analizadas en potreros los datos sombreados indican correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Longitud de micelio extrarradical en potrero				
	F	P	R ²	EE
pH	0.36	ns	0.22	0.35
Carbono total	2.21	ns	0.066	0.33
Materia organica	3.95	ns	0.19	0.32
Nitrogeno total	4.507	0.049	0.21	0.319
NO ₃ ⁻	8.72	0.009	0.35	0.29
NH ₄ ⁺	6.85	0.018	0.29	0.3

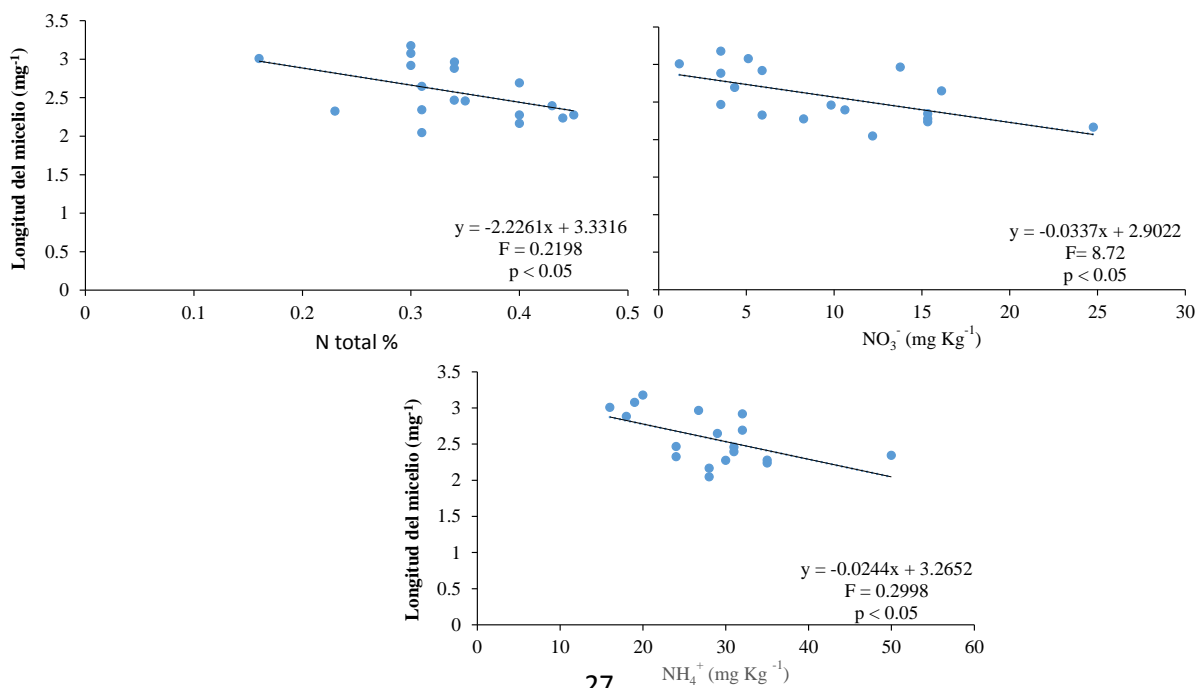


Figura 6. Relaciones significativas entre la longitud de micelio en potreros y: a) NH_4^+ , b) NO_3^- y c) nitrógeno total.

5.3.3 Porcentaje de colonización intrarradical en cultivos

Con respecto a la colonización intrarradical (CI) al relacionar los factores abióticos en cada uso de suelo solo se encontró una relación con los factores abióticos en el caso de los cultivos siendo ésta significativa lineal e inversamente proporcional con el nitrógeno total, mientras que con los nitratos fue directamente proporcional. Por otro lado, en potreros no se encontró ninguna relación con los factores abióticos (Cuadro 5, Figura 7).

Cuadro 5. Resumen de los valores obtenidos de la regresión lineal entre la colonización intrarradical y las variables en los cultivos. Los datos sombreados indican correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Colonización total en cultivos				
	F	P	R ²	EE
pH	0.61	ns	0.033	0.037
Carbono total	1.28	ns	0.06	0.036
Materia orgánica	2.52	ns	0.12	0.035
Nitrógeno total	4.517	0.047	0.2	0.03
NO_3^-	8.384	0.009	0.31	0.031
NH_4^+	0.83	ns	0.044	0.03

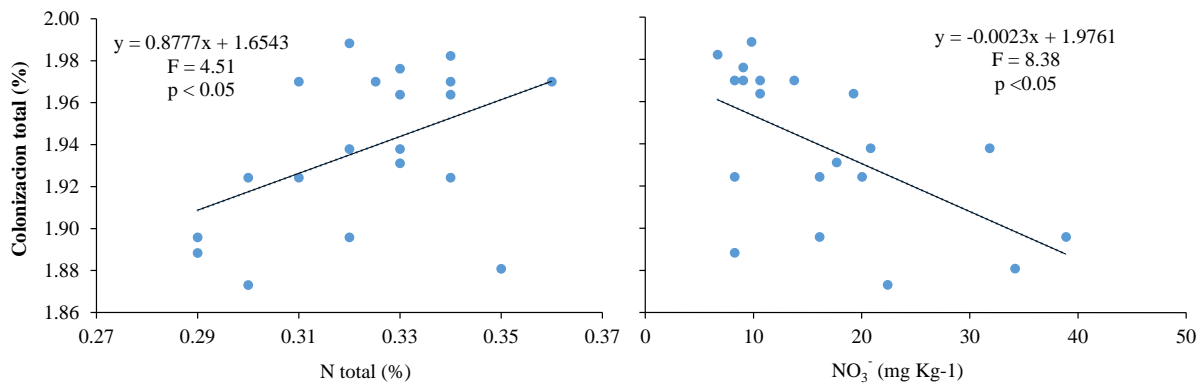


Figura 7. Relaciones significativas entre la longitud de micelio en cultivos y; a) Regresión entre la colonización intrarradical y el nitrógeno total, b) Regresión entre la colonización intrarradical y los nitratos.

5.3.4 Porcentaje de Colonización intrarradical en potreros

En el caso de los cultivos no se encontró ninguna relación significativa entre las variables abióticas y la colonización intrarradical.

Cuadro 6. Resumen de los valores obtenidos de la regresión lineal entre la colonización intrarradical y las variables los datos sombreados indican correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Colonización total en potreros				
	F	P	R ²	EE
pH	1.23	ns	0.071	0.029
Carbono total	0.12	ns	0.007	0.031
Materia organica	0.84	ns	0.05	0.03
Nitrogeno total	0.38	ns	0.023	0.03
NO ₃ ⁻	1.34	ns	0.07	0.02
NH ₄ ⁺	2.33	ns	0.12	0.029

5.4 Análisis multivariado de componentes principales

Al realizar un análisis multivariado de componentes principales con la finalidad de observar las variables que más influyen en el desarrollo del ME y la CI, se encontró que al igual que en las regresiones el pH y el contenido de nitrógeno en el suelo ya sea como nitrógeno total, amonio o nitratos son componentes de los principales factores que afectan le desarrollo del ME y de la CI, y además se agregaron otras variables a los factores principales como el porcentaje de materia orgánica y en conjunto, la suma de los 3 factores principales, explican el 80.44 % de los datos.

Cuadro 8. Resumen de los valores de la contribución de las variables a los factores obtenidos del análisis multivariado de componentes principales; los datos sombreados indican las variables que aportaron más a los factores utilizando 0.15 como límite mínimo.

Contribución de las variables								
Variable	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7	Factor 8
TLIn	0.177257	0.008616	0.164069	0.232055	0.129324	0.081166	0.049474	0.158039
CT log10	0.262810	0.001089	0.101868	0.006045	0.000385	0.006797	0.012730	0.608276
pH	0.203922	0.015138	0.046012	0.285444	0.028099	0.269754	0.030268	0.121363
M.O%	0.070097	0.284828	0.024747	0.008761	0.089821	0.000625	0.461236	0.059885
N total	0.005032	0.351376	0.049464	0.088777	0.031039	0.066942	0.404883	0.002487
N-No3	0.131836	0.100060	0.159243	0.042078	0.140589	0.387824	0.014046	0.024324
N-NH4	0.025213	0.189354	0.288504	0.001074	0.414092	0.051448	0.007538	0.022778
Arcilla	0.123833	0.049539	0.166093	0.335768	0.166650	0.135444	0.019825	0.002848

Cuadro 7. Resumen de los Eigenvalues obtenidos del análisis multivariado de componentes principales.

Matriz de correlación de los Eigenvalues				
Factor	Eigenvalue	% Total	EV. Acumulado	% acumulado
1	3.114648	38.93310	3.114648	38.9331
2	2.179274	27.24092	5.293922	66.1740
3	1.141309	14.26636	6.435231	80.4404
4	0.630323	7.87903	7.065553	88.3194
5	0.390491	4.88114	7.456044	93.2006
6	0.266438	3.33047	7.722482	96.5310
7	0.187686	2.34608	7.910169	98.8771
8	0.089831	1.12289	8.000000	100.0000

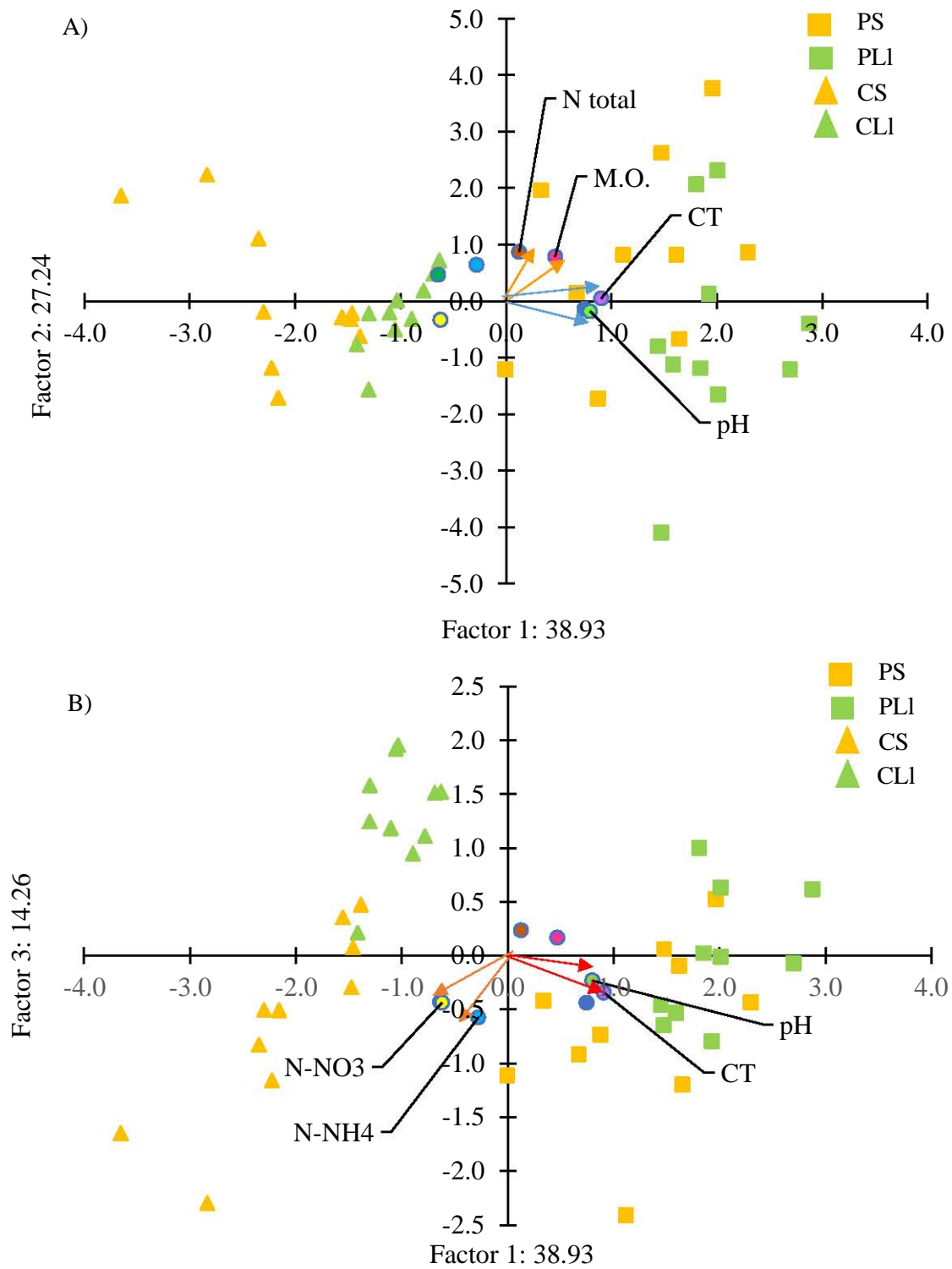


Figura 8. PS) Potrero secas, PLI) Potrero lluvias, CS) Cultivo secas, CLI) Cultivo Lluvias.

A) Grafica comparando el factor 1 contra el factor 2; En donde se explica el 66.17% de la variación de los datos, siendo las variables que más aportan al factor 1, CI, y pH, mientras que al factor 2 lo componen principalmente, materia orgánica y Nitrógeno total.

B) Grafica comparando el factor 1 contra el factor 3; En donde se explica el 80.44% de la variación de los datos, acumulado al factor 2; Siendo las variables que más aportan al factor 1 CI, y pH, mientras que al factor 3 lo componen principalmente N-NO₃ y N-NH₄.

6. DISCUSIÓN

6.1. Longitud del micelio extrarradical (ME)

En condiciones de estrés ambiental debido al uso de suelo diferente al original, el desarrollo de los HMA se ve afectado ocasionando cambios en la longitud del micelio o en el porcentaje de colonización (Kothamasi, 2001). Se encontró una mayor longitud de micelio extrarradical en los potreros en comparación con los cultivos sin importar la temporada; esto puede estar relacionado con la identidad de las especies y el manejo que se hace tanto en potreros como en cultivos.

En los potreros predominan especies micotróficas, como son los pastos y plantas herbáceas, las cuales en su mayoría son perenes, con lo cual se garantiza un suministro constante de fotosintatos hacia los HMA por lo que no tienen una limitante en cuanto a carbono se refiere para poder seguir creciendo y producir más micelio (Newsham et al., 1995; Puschel et al., 2008).

En el caso de los cultivos, la producción de ME fue menor y esto puede estar relacionado con la rotación de especies cultivadas. En este caso, tanto el maíz, la sandía y el chile se han reportado como plantas micotróficas (Evans y Miller, 1990; Poulton et al., 2001; Wang y Shi, 2008), sin embargo pueden tener diferencias en la afinidad por establecer una relación con los HMA (Smith, 2003). Por lo que, el manejo que se aplica en los cultivos puede ser una de las principales razones en la disminución del ME, dado que cada seis meses se utiliza el arado y se remueve el suelo, lo que conlleva la ruptura de la red de hifas presentes en el suelo, esto reduce la longitud del ME y los porcentajes de CI (McGonigle et al., 1990).

Debido al acoplamiento con el desarrollo vegetal por parte de los HMA, en las plantas de los cultivos se presenta un desarrollo fenológico similar, en donde tienden a asignar menos recursos a micelio cuando la planta entra en la fase de maduración de los frutos (Gavito y Varela, 1993), momento en el que se encontraban cuando se muestreó en la época de lluvias.

Por otro lado, el que no se encontraran diferencias significativas en la longitud del micelio entre temporadas (secas y lluvias) podría estar ligado a la alta permanencia del mismo, a través del tiempo, debido a su baja tasa de descomposición en el suelo (Rillig, 2004), y al hecho de que la relación simbiótica entre la planta y los HMA se mantiene a través del tiempo y una vez que se alcanza cierta longitud la producción de micelio podría disminuir, tal cual ocurre con la colonización (Gavito, 1998).

La mayor longitud se encontró en el potrero y la menor longitud en cultivos, ambas en la temporada de lluvias, estos extremos se podrían explicar debido al acoplamiento fenológico que sigue la relación entre los HMA y las plantas, en donde la disponibilidad de recursos es aprovechada por la planta para desarrollarse con lo cual favorecería el desarrollo de los HMA en los potreros, mientras que en cultivos al estar madurando los frutos al momento del muestreo existiría una baja en los nutrientes disponibles para los HMA (Blanke, 2012; Gavito y Varela, 1993), esto sumado a la baja cantidad de propágulos disponibles en cultivos explicaría la baja en la longitud de micelio encontrado (Borie, 2000).

Por otro lado, la falta de diferencias significativas en época de secas, tanto en potrero como en cultivo, puede ser consecuencia del estrés hídrico ya que ha sido probado que favorece la asociación de las plantas con los HMA con lo cual la planta destina recursos hacia el crecimiento radical, lo que aumentaría la longitud de ME y con ello la superficie de contacto, la absorción de agua y nutrientes (van der Heijden, 2004).

Al analizar los factores edáficos se encontró que en los potreros la longitud del ME tenía una tendencia a disminuir relacionada con la disponibilidad de nitrógeno total, nitratos o amonio, mientras que en cultivos se encontró una tendencia a aumentar la longitud cuando aumentan los nitratos, esto concuerda con lo encontrado por (Gryndler et al., 2006) el encontrar estas

diferencias podrían estar indicando un umbral en donde dependiendo de la concentración es el efecto que tiene sobre la longitud de micelio (Williams et al. 1992)

mientras que el análisis de componentes principales no muestra un factor principal que afecte el desarrollo si no varios factores que aportan una variación al desarrollo de los HMA entre los más importantes el pH, la materia orgánica y el nitrógeno disponible, por lo que se podría interpretar que aunque la longitud de micelio responde a la concentración de nitrógeno, hay que considerar la interacción con otros factores simultáneos que pueden alterar la longitud, incluida la historia de vida de los diferentes HMA presentes en cultivos y potreros. (Sasvári et al., 2012; Williams et al. 1992; Wang y Shi, 2008)

6.2. Colonización intrarradical (CI)

A diferencia de la longitud de micelio, la colonización intrarradical (CI) sí presentó diferencias significativas en cuanto al uso de suelo, la temporada y la interacción temporada × uso. Existen diferentes causas por las cuales la colonización intrarradical puede verse modificada por el uso de suelo y la temporada.

En el caso del uso de suelo, la CI fue mayor en los potreros, lo cual coincide con la longitud de micelio encontrada, por lo que podría suponerse que existe un gran intercambio de nutrientes entre planta y hongo lo cual incrementaría el porcentaje de colonización y la longitud del micelio extrarradical (Zangaro, 2007).

En cuanto al cambio de temporada, la época de lluvias tuvo la mayor CI promedio, en este caso las diferencias generadas por la temporalidad pueden estar relacionadas con el incremento en la productividad por parte de la cobertura vegetal (Richter, et al., 2002). Durante la temporada de lluvias hay mayor disponibilidad de agua y de nutrientes, esto permite que las plantas tengan una mayor producción de biomasa foliar, lo que trae como consecuencia una mayor producción de fotosintatos, lo que provoca un aumento en la interacción entre la planta y los HMA, lo cual coincidiría con lo reportado por Guadarrama (2008) quien menciona que en sitios recientemente abandonados y con una mayor cantidad de

luz, la actividad fotosintética puede aumentar y con ello aumentar tanto la longitud de micelio como la colonización intrarradical.

Con la interacción uso \times temporada aunque se encontraron diferencias significativas solo existieron 3 grupos diferentes: potreros en época de lluvias con el valor más alto, un grupo intermedio formado por potrero en secas y cultivo en lluvias, y con el valor más bajo cultivo en época de secas.

Lo cual podría estar explicado por el manejo en cada uno de los sitios, en donde los valores de colonización aumentan en la época de lluvias en cultivos debido a la disponibilidad de nutrientes y en los potreros se ven reducidos debido a la disminución en los recursos destinados al crecimiento (Santos-González et al., 2007).

Las diferencias entre el cultivo en época de secas y el potrero en época de lluvias podría estar explicado por el manejo que se lleva en cada uno de los sitios, en donde la baja disponibilidad de agua y nutrientes esté reduciendo los porcentajes de colonización en los cultivos (Palmiotto et al., 2004), mientras que la disponibilidad de agua y nutrientes como el N en los potreros esté provocando una mayor productividad en los potreros lo que aumentaría la colonización intrarradical (Bai et al., 2013).

Se ha visto en otros estudios que la fertilización orgánica E inorgánica disminuye la colonización intrarradical (Gryndler et al., 2006), lo cual concuerda con la relación negativa encontrada entre el amonio y la colonización intrarradical. Por otro lado, la disponibilidad de nitrógeno total tuvo un efecto positivo en la colonización intrarradical, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Bai et al. (2013) en donde además los autores no encontraron correlación con ninguna otra propiedad del suelo.

7. Conclusiones

Se encontró la mayor longitud de micelio en potreros lo cual refuta la hipótesis planteada que suponía que la falta de nutrientes y agua favorecería el desarrollo del micelio. Por lo que, la baja disponibilidad de nutrientes y la falta de un hospedero continuo afecta severamente el desarrollo de los HMA;

El cambio de temporada no tuvo el efecto esperado en la hipótesis planteada, ya que en la temporada de lluvias se encontraron los mayores porcentajes de colonización intraradical y los valores más altos de longitud de micelio extraradical, sin embargo no se presentaron diferencias significativas entre temporadas.

De acuerdo al análisis de componentes principales no existió un nutriente claramente limitante en el desarrollo de los HMA, tanto para el micelio extraradical como para la colonización intraradical.

8. Literatura citada.

- Abril, A. (2003). *¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas?* Ecología Austral, 13, 195–204.
- Acevedo-Rojas, I. (2017). *Cambio de uso de suelo en la selva húmeda de Los Tuxtlas y su efecto en el microclima y propiedades físico-químicas del suelo*. Facultad de ciencias, UNAM.
- Bago B., Pfeffer P.E., Douds D.D., Brouillette J., Be´card G. y Shachar-Hill Y. (1999) *Carbon metabolism in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices as revealed by nuclear magnetic resonance spectroscopy*. Plant Physiology 121: 263–271
- Bai, G., Bao, Y., Du, G., y Qi., Y. (2013). *Arbuscular mycorrhizal fungi associated with vegetation and soil parameters under rest grazing management in a desert steppe ecosystem*. Mycorrhiza, 23(4), 289–301.
- Barea, J. M., Pozo, M. J., Azcón, R., y Azcón-Aguilar, C. (2005). *Microbial co-operation in the rhizosphere*. Journal of Experimental Botany, 56(417), 1761–1778.
- Barrett, G., Campbell, C. D. y Hodge, A. (2014). *The direct response of the external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi to temperature and the implications for nutrient transfer*. Soil Biology and Biochemistry, 78, 109–117.
- Barrett, G., Campbell, C. D., y Hodge, A. (2014). *The direct response of the external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi to temperature and the implications for nutrient transfer*. Soil Biology and Biochemistry, 78, 109–117.
- Bauhus J. y Khanna P. K. (1999) *The significance of microbial biomass in forest soils*. In: Rastin, N. and Bauhus, J. (eds.) *Going Underground - Ecological Studies in Forest Soils*. Research Signpost, Trivandrum, India, 77-110
- Bennett, A. F., y Saunders, D. A. (2010). *Habitat fragmentation and landscape change*. In *Conservation Biology for All* (pp. 88–106). oxford university press.
- Blanke, V., Bassin, S., Volk, M., y Fuhrer, J. (2012). *Nitrogen deposition effects on subalpine grassland: The role of nutrient limitations and changes in mycorrhizal abundance*. Acta Ecologica, 45, 57–65.
- Boddington, C. L., y Dodd, J. C. (1999). *Evidence that differences in phosphate metabolism in mycorrhizas formed by species of Glomus and Gigaspora might be related to their life-cycle strategies*. New Phytologist, 142(3), 531–538.

- Bolan N.S. (1991) *A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants*. Plant and Soil 134:189-207
- Borie, F. R., Rubio, R., Alfredo, M., y Carlos, C. (2000). *Relacion entre densidad de hifas de hongos micorrizógenos arbusculares y produccion de glomalina con las características físicas y químicas de suelos bajo cero labranza*. Revista Chilena de Historia Natural, 73, 749–756.
- Camargo Ricalde, S. L., y Esperón Rodríguez, M. (2005). *Efecto de la heterogeneidad espacial y estacional del suelo sobre la abundancia de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares en el valle semiárido de Tehuacán-Cuicatlán, México*. Revista de Biología Tropical, 53(3-4), 339-352.
- Castillo-Campos, G., y Laborde D., J. (2004). *La vegetación. Los Tuxtlas: El Paisaje de La Sierra*, 231–266.
- CIFOR [Center for International Forestry Research]. (2005). *State of the World's Forests. Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Roma.
- Cortes Tello, K. E. (2015). *Análisis de la producción de micelio extrarradical y colonización intrarradical por hongos micorrizógenos arbusculares en una selva baja caducifolia en Yucantán, Mexico*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cruz Paredes, C., (2013). *Cuantificación de la colonización intrarradical y extrarradical de hongos micorrizógenos arbusculares en un mosaico heterogéneo en el tropico seco de Veracruz*. Tesis de Maestria. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cuenca, G. (2015). *Las Micorrizas Arbusculares: Aspectos teóricos y aplicados* (Ediciones IVIC). Caracas, Venezuela: Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), pp. 432
- Daft, M. J., y Okusanya, B. O. (1973). *Effect of endogone mycorrhiza on plant growth*. New Phytol, 72, 975–983.
- Evans, D. G., y Miller, M. H. (1990). *The role of the external mycelial network in the effect of soil disturbance upon vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of maize*. New Phytologist, 114, 65–71.
- Forman, R.T.T. y M. Godron. 1986. *Landscape ecology*. John Wiley & Sons, New York, 19: 619
- Friese CF, Allen MF. 1991. *The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture*. Mycologia 83: 409–418

- Garibay-orijel, R., Morales-marañón, E., Domínguez-gutiérrez, M., y Flores-García, A. (2013). *Caracterización morfológica y genética de las ectomicorrizas formadas entre Pinus montezumae y los hongos presentes en los bancos de esporas en la Faja Volcánica Transmexicana*. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84, 153–169.
- Gavito, M. E., y Miller, M. H. (1998). *Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop management practices*. *Plant and Soil*, 198(2), 185–192.
- Gavito, M. E., y Varela, L. (1993). Seasonal dynamics of mycorrhizal associations in maize fields under low input agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 45(3–4), 275–282.
- Gianinazzi-Pearson V. (1996). *Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the root of the symbiosis*. *Plant Cell* 8:1871-1883.
- Goto, B. T., Carneiro Costa, M. C., y Maia, L. C. (2009). *Glomus halonatum* Rose & Trappe (*Glomeromycota*) in South America : comments on the morphological characteristics of the species. *Acta Botanica Brasileña*, 23(4), 1167–1170.
- Gowdy, J. M. (1997). *The Value of Biodiversity: markets, society, and ecosystems*. *Land Economics*, 73(1), 25–41.
- Gryndler, M., Larsen, J., Hřselová, H., Řezáčová, V., Gryndlerová, H., y Kubát, J. (2006). *Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment*. *Mycorrhiza*, 16(3), 159–166.
- Gryndler, M., Larsen, J., Hřselová, H., Řezáčová, V., Gryndlerová, H., y Kubát, J. (2006). *Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment*. *Mycorrhiza*, 16(3), 159–166.
- Guadarrama, P., Castillo-Argüero, S., Ramos-Zapata, J. A., Camargo-Ricalde, S. L., y Álvarez-Sánchez, J. (2008). *Propagules of arbuscular mycorrhizal fungi in a secondary dry forest of Oaxaca, Mexico*. *Revista de Biología Tropical*, 56(1), 269–277.
- Guevara, S., Laborde J. y Sánchez-Ríos, G. (2004). *La fragmentación. Los Tuxtlas: El Paisaje de La Sierra*, 42, 1663.
- Hart, M. M., Reader, R. J. y Klironomos, J. N. (2014). *Life-History Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to their strategies successional dynamics*, *Mycologia* 93(6), 1186–1194.

- Hart, M. M., y Reader, R. J. (2002). *Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi*. *New Phytologist*, 153, 335–344.
- Hartnett, D. C., y Wilson, G. W. T. (1999). *Mycorrhizae influence plant community structure and diversity in tallgrass prairie*. *Ecology*, 80(4), 1187–1195.
- 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.
- Jakobsen, I. (1999). *Transport of phosphorus and carbon in arbuscular mycorrhizas*. In: *Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology*, 2nd edn (eds Varma, A. y Hock, B.) Springer, Berlin, pp. 305–332.
- Jaramillo V.J., Kauffman J.B., Rentería-Rodríguez L.Y., Cummings D.L., Ellingson L.J. (2003) *Biomass, carbon and nitrogen pools in Mexican tropical dry forest landscapes*. *Ecosystems*. 6,609–629.
- Jasso Flores, R. I. (2010). *Determinación de la colonización intrarradical y extrarradical de hongos micorrizógenos arbusculares en una selva alta perennifolia* Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Juniper S. y Abbott L. K. (2006) *Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi*. *Mycorrhiza*, 16:371–379.
- Karasawa, T., Kasahara, Y. y Takebe, M. (2001). *Variable response of growth and arbuscular mycorrhizal colonization of maize plants to preceding crops in various types of soils*. *Biology and Fertility of Soils*, 33(4), 286–293.
- Kennedy, T.A., Naem, S., Howe, K.M., Knops, J.M.H., Tilman, D. & Reich, P. (2002) *Biodiversity as a barrier to ecological invasion*. *Nature*, 417, 636–638.
- Kothamasi, D., Kuhad, R. C. y Babu, C. R. (2001). *Arbuscular Mycorrhizae in plant survival strategies*. *Tropical Ecology*, 42(1), 1–13.
- Lovera, Milagros y Cuenca, Gisela. (2007). *Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una sabanasábana natural y una sabanasábana perturbada de la Gran Sabana, Venezuela*. *Interciencia*, 32(2), 108-114.
- Martínez-Ramos, M. y García-Orth, X. (2007). *Sucesión ecológica y restauración de las selvas húmedas*, *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 80, 69–84.

- McGonigle, T. P., Evans, D. G. y Miller, M. H. (1990). *Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiments*. *New Phytologist.*, 116, 629–636.
- Miranda, F. y Hernández-X., E. (1963) *Los tipos de vegetación de México y su clasificación*. Sociedad Botánica de México, A.C.
- Molina, R., y Horton, T. R. (2006). *Mycorrhiza specificity: its role in the development and function of common mycelial networks*. En Selosse, M., Richard, F., He, X., Y Simard, S. (Ed.), *Ecological Studies: Mycorrhizal networks* (Vol. 21, pp. 1–40). New York: Springer International publishing.
- Monroy-Ata, A., Estevez-Torres, J., García-Sánchez, R. y Ríos-Gómez, R. (2007). *Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 80, 49–57.
- Nardini, C. B., Di Salvo, L. P. y García de Salmone, I. E. (2011). *Micorrizas arbusculares : asociaciones simbióticas e indicadores de calidad ambiental en sistemas de cultivos extensivos*. *Revista Argentina de Microbiología*, 43, 311.
- Newsham, K. K., Fitter, A, y Watkinson, A, R. (1995). *Arbuscular Mycorrhiza Protect an Annual Grass from Root Pathogenic Fungi in the Field*. *Journal of Ecology*, 83(6), 991–1000.
- Olson, J. M., Misana, S., Campbell, D. J., Mbonile, M., y Mugisha, S. (2004). *The Spatial Patterns and Root Causes of Land Use Change in East Africa*. (LUCID) Project Working Paper, 47, 38.
- Palmiotto, P. a., Davies, S. J., Palmiotto, P. a, Vogt, K. a., Davies, S. J., Vogt, K. A. y Ashton, P. S. (2004). *Soil related habitat specialization in dipterocarp rain forest tree species*. *Journal of Ecology*, 92, 609–623.
- Pedraza, R. O., Teixeira, K. R. S. y Scavino, A. F. (2010). *Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos*. Revisión. *Corpica Ciencia Y Tecnologia*, 11, 155–164.
- Phillips J.M. y Hayman D.S. (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.
- Poulton, J. L., Koide, R. T., y Stephenson, A. G. (2001). *Effects of mycorrhizal infection, soil phosphorus availability and fruit production on the male function in two cultivars of *Lycopersicon esculentum**. *Plant, Cell and Environment*, 24, 841–849.

- Püschel, D., Rydlová, J., y Vosátka, M. (2008). *Does the sequence of plant dominants affect mycorrhiza development in simulated succession on spoil banks ?* Plant Soil, 302, 273–282.
- R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL, <https://www.R-project.org/>.
- Redecker, D., Morton, J. B., & Bruns, T. D. (2000). *Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales)*. Molecular Phylogenetics and Evolution, 14(2), 276–284.
- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S. L., Morton, J. B. y Walker, C. (2013). *An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota)*. Mycorrhiza, 23(7), 515–531.
- Regvar, M., Vogel-mikuz, K. y Severkar, T. (2003). *Effect of AMF inoculum from field isolates on the yield of green pepper parsley carrot and tomato*, Folia Geobotanica (2), 223–234.
- Richter, B. S., Tiller, R. L., y Stutz, J. C. (2002). *Assessment of arbuscular mycorrhizal fungal propagules and colonization from abandoned agricultural fields and semi-arid grasslands in riparian floodplains*. Applied Soil Ecology, 20, 227–238.
- Richter, M. (2016). *Microclimate in the Tropics*. In *Tropical forestry handbook* (pp. 413–427).
- Rillig, M. C. (2004). *Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation*. Microbial Ecology, 84, 355–363.
- Rillig, M. C., Wright, S. F., Nichols, K. A., Schmidt, W. F., Margaret, S., Geochemistry, I. Y Berkeley, L. (2001). *Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils*, 233(1999), 167–177.
- 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.
- Sanchez-Azofeifa, G. A., Quesada, M., Rodríguez, J. P., Jafet, M., Stoner, K. E., Castillo, A. y Calvo-Alvarado, J. C. (2005). *Research Priorities for Neotropical Dry Forests*, Biotropica, 37(4), 477–485.
- Santos-González, J. C., Finlay, R. D., y Tehler, A. (2007). *Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities in roots in a seminatural grassland*. Applied and Environmental Microbiology, 73(17), 5613–5623.

- Sasvári, Z., Magurno, F., Galanics, D., Hang, T. T. N., Ha, T. T. H., Luyen, N. D. y Posta, K. (2012). *Isolation and Identification of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from Agricultural Fields of Vietnam*. American Journal of Plant Sciences, 3(12), 1796–1801.
- Smith, S. E., Smith, F. A., y Jakobsen, I. (2003). Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiology*, 133(1), 16–20.
- Smith, S.E. y D. Read. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. 3a. edición. Academic Press, Elsevier Ltd., Nueva York. 787
- Souza, T. (2015). *Handbook of Arbuscular Mycorrhizal Fungi*. Switzerland: Springer International publishing.
- StatSoft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.
- Sylvia, D. (1992). *Quantification of External Hyphae of Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Fungi*. En: *Techniques for mycorrhizal research methods in Microbiology*. Academic Press. Harcourt Brace y Company Publishers, Norris, J. R. (Ed.). London. pp. 9-17.
- Tarbut E.J., Lutgens F.K., y Tasa, D., (2005). *Ciencias de la Tierra*. Prentice Hall.
- van der Heijden, M. G. A. (2004). *Arbuscular mycorrhizal fungi as support systems for seedling establishment in grassland*. *Ecology Letters*, 7(4), 293–303.
- Velázquez, A., Mas, J. F., Diaz-Gallegos, J. R., Mayorga-Saucedo, R., Alcantara, P. C., Castro, R. y Palacio, J. L. (2002). *Patrones y tasas de cambio de uso del suelo en México*, *Gaceta Ecológica*, 62, 21–37.
- Villar, S. C., Mendoza, P. M. y Ogneva-himmelberger, Y. (1998). *Cambios en el uso del suelo y deforestación en el sur de los estados de Campeche y Quintana Roo , México*. Boletín del Instituto de Geografía, UNAM. Investigaciones Geográficas 38, 41-56.
- Von Bertrab, T. A. (2010). *Conflicto social alrededor de la conservación en la reserva de la biosfera los Tuxtlas: un análisis de intereses, posturas y consecuencias*. *Nueva Antropología*, 23(72), 55–81.
- Wang, F. Y., y Shi, Z. Y. (2008). *Biodiversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in China: a Review*. *Advances in Environmental Biology*, 2(1), 31–39.
- Williams, S., Vestberg, M., Uosukainen, M., Dodd, J., y Jeffries, P. (1992). *Effects of fertilizers and arbuscular mycorrhizal fungi on the post-vitro growth of micropropagated strawberry*. *Agronomie*, 12(10), 851–857.

- Williams, S., Vestberg, M., Uosukainen, M., Dodd, J., y Jeffries, P. (1992). *Effects of fertilizers and arbuscular mycorrhizal fungi on the post-vitro growth of micropropagated strawberry*. *Agronomie*, 12(10), 851–857.
- Yang, C., Ellouze, W., Navarro-Borrell, A., Taheri Esmaeili, A., Klabi, R., Dai M. y Hamel, C. (2014). *Mycorrhizal Fungi: Use in Sustainable Agriculture and Land Restoration*. *Mycorrhizal Fungi*: (Vol. 41). New York: Springer International publishing, 89-113
- Zaller, J. G., Frank, T. y Drapela, T. (2011). *Soil sand content can alter effects of different taxa of mycorrhizal fungi on plant biomass production of grassland species*. *European Journal of Soil Biology*, 47(3), 175–181.
- Zamarripa, N., Patterson, A., Sánchez-Gallen, I. y Álvarez- Sánchez, J. (2013). *Seedling growth of rainforest species inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi: an analysis of the size fragment effect*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 16(16), 377–389
- Zangaro, W., Nishidate, F. R., Vandresen, J., Andrade, G., Nogueira, M. A., Zangaro, W., Nogueira, M. A. (2007). *Root mycorrhizal colonization and plant responsiveness are related to root plasticity, soil fertility and successional status of native woody species in southern Brazil*. *Journal of Tropical Ecology*, 23(1), 53–62.
- Zimmermann, B., Papritz, A., y Elsenbeer, H. (2010). *Geoderma Asymmetric response to disturbance and recovery : Changes of soil permeability under forest – pasture – forest transitions*. *Geoderma*, 159(1–2), 209–215.

9. Anexos

Anexo 1. Extracción y cuantificación del micelio extrarradical.

Técnica de de Miller y Jastrow considerando las modificaciones por Jasso (2010) y Sánchez-Preager et al. (2010)

Una vez que se obtuvo la muestra de 5 g se colocara en un matraz Erlenmayer de vidrio d 500 ml, al que se agregó 250 ml de agua y 31 ml de hexametáfosfato de sodio, la cual se mezcló con un agitador de vidrio hasta deshacer los agregados del suelo.

Una vez que se mezcló la muestra, se coloca el matraz en la agitadora por una hora y media como mínimo a 180 r.p.m.

Transcurrido ese tiempo, mientras la agitación esté en curso se toma una alícuota de 12 ml de la solución del suelo, evitando tomar el precipitado, se coloca en un matraz de 500 ml con 250 ml de agua y 31 ml de hexametáfosfato.

Nuevamente se coloca el matraz en la agitadora a 180 r.p.m. durante 20 min.

Después de transcurrir este periodo se toman cuatro alícuotas de 5 ml de la solución del suelo, con cuidado de no tomar del precipitado, y mientras se encuentra en movimiento.

Las alícuotas tomadas las se pasan por un tamiz con una apertura de 0.037mm colectando lo que pasó a través del tamiz, este remanente se coloca en una membrana de nitrocelulosa de 45µm de apertura, esto se realiza por triplicado para cada muestra y a través de una bomba de vacío para acelerar el tiempo de filtrado.

Una vez que haya filtrado la muestra, se le coloca a cada muestra 5 ml de azul de tripano al 0.05% durante 10 min para que se tiña el micelio que quedó depositado en la membrana.

Las membranas de nitrocelulosa teñidas se montan sobre un portaobjetos con alcohol polivinílico, con la ayuda de pinzas para evitar el contacto con el azul de tripano y se mantienen durante 24 horas secando, antes de colocar un cubreobjetos con alcohol polivinílico.

Anexo 2.

Cuantificación del micelio extrarradical. Técnica de Jakobsen (1998).

Por cada membrana se seleccionan 70 campos, cuatro por cada cuadro de la membrana cuadrículada, y usando una rejilla en el ocular del microscopio óptico se contabilizan por cada campo el número de intersecciones líneas-hifa, para posteriormente aplicar el dato a la siguiente fórmula y así obtener la longitud de micelio.

$$TL = \frac{\left(HL \times \left[\frac{(12 + 250 + 31)}{20} \right] \right) \times \left[\frac{(250 + 31)}{12} \right]}{p}$$

Donde:

HL (longitud total de la hifa observada sobre el área de filtrado (FA) cubierta por **70** campos de observación) (mm) = (11/14) · N · a

11/14= constante

N= número total de interseptos en 70 campos de observación

a (longitud total de la unidad de la rejilla en el ocular de 10×10 sobre el filtro usando un objetivo micrométrico) = 0.05 mm

p = peso seco en g de la muestra de 5g de suelo húmeda utilizada

250 ml = volumen de agua donde la muestra fue suspendida

31 ml = volumen utilizado de hexametáfosfato de sodio en las dos disoluciones

12 y 20 ml son las alícuotas de las disoluciones pipeteadas del suelo

Área filtrable sobre la membrana de nitrocelulosa (FA):

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

r= radio del área de captación/filtrado = 9.5 mm

Área total examinada o área contable (CA)

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

C= número total de campos observados (en este caso es C= 70)

Longitud total de la hifa sobre el área filtrable ($HL \text{ g}\cdot\text{m}^{-1}$)

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

Anexo 3.

Tinción y cuantificación de estructuras intrarradicales (Técnica de Phillips y Hayman, 1970).

Se lavan las raíces con abundante agua corriente para remover el exceso de tierra; Una vez limpias se colocan fragmentos largos de raíces finas de cada sitio de muestreo en una rejilla histológica, las cuales se colocan en un recipiente para posteriormente agregar KOH al 10% hasta cubrir las totalmente y dejarlas reposar durante 24 horas.

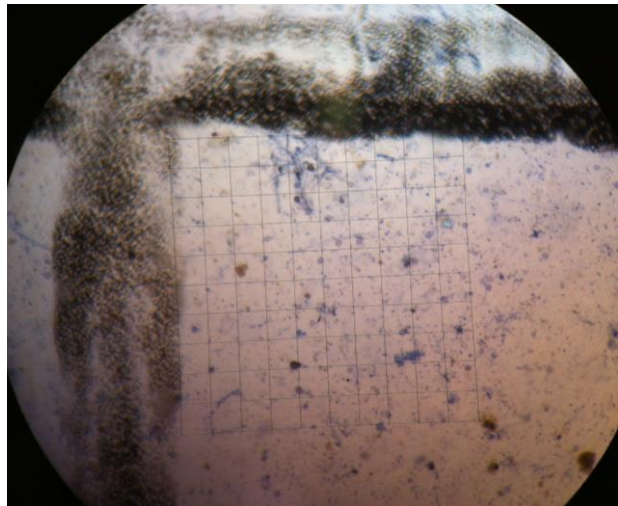
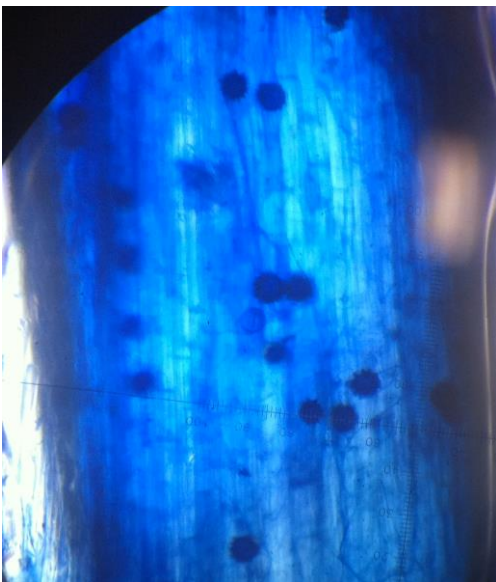
Transcurrido este tiempo se lavan las rejillas con agua corriente, con cuidado de coleccionar el KOH para desecharlo posteriormente; Una vez que se han lavado se puede agregar agua oxigenada al 10% si es que las raíces se encuentran muy pigmentadas.

Después del lavado se agrega una solución de HCL a 10%, durante 15 min, transcurrido el tiempo, se retira el HCL y sin enjuagar las raíces se adiciona una solución de azul de tripano al 0.05%; Disuelto en una mezcla de ácido láctico, glicerina y agua en una proporción 1:2:1, hasta cubrir por completo las raíces y se dejan teñir durante 24 horas, pasado el tiempo se retira la solución de azul de tripano y se sustituye por una solución de lactoglicerol en la que se pueden mantener hasta el montaje en el portaobjetos, para lo cual se colocan de 20 a 25 raíces finas de una longitud de 1-2 cm y se cubren con un cubreobjetos.

Una vez montadas las raíces en el portaobjetos se determina el porcentaje de colonización, a través de la observación al microscopio de las raíces, para lo cual se observan con el objetivo de 20x, y se cuentan 75 campos repartidos a lo largo de las diferentes raíces, dentro de los cuales se observan la presencia o ausencia de las estructuras fúngicas como hifas, vesículas, esporas, ovillos y arbusculos.

Anexo 4.

Imágenes



Imágenes 1,2,3,4. 1) Raíces montadas en el portaobjetos para determinar el porcentaje de colonización intraradical, 2) membranas de nitrocelulosa montadas para determinar la longitud del micelio extraradical, 3) estructuras intraradicales de HMA observadas a 20x, 4) micelio extraradical observado a 20x sobre la membrana de nitrocelulosa



Imágenes 5,6, 5) cultivo de maíz, 6) potrero con el paisaje fragmentado de la selva al fondo