



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

ECOLOGÍA

**CUANTIFICACIÓN DE LA COLONIZACIÓN INTRARRADICAL Y EXTRARRADICAL
DE HONGOS MICORRIZÓGENOS ARBUSCULARES EN UN MOSAICO
HETEROGÉNEO EN EL TRÓPICO SECO DE VERACRUZ.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

CARLA CRUZ PAREDES

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. FRANCISCO JAVIER ÁLVAREZ SÁNCHEZ, FACULTAD DE CIENCIAS

**COMITÉ TUTOR: DRA. MAYRA ELENA GAVITO PARDO, CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ECOSISTEMAS Y DR. JOSÉ ALBERTO RAMOS ZAPATA, FACULTAD DE CIENCIAS**

MÉXICO, D.F. OCTUBRE, 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

ECOLOGÍA

**CUANTIFICACIÓN DE LA COLONIZACIÓN INTRARRADICAL Y EXTRARRADICAL
DE HONGOS MICORRIZÓGENOS ARBUSCULARES EN UN MOSAICO
HETEROGÉNEO EN EL TRÓPICO SECO DE VERACRUZ.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

CARLA CRUZ PAREDES

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. FRANCISCO JAVIER ÁLVAREZ SÁNCHEZ, FACULTAD DE CIENCIAS

**COMITÉ TUTOR: DRA. MAYRA ELENA GAVITO PARDO, CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ECOSISTEMAS Y DR. JOSÉ ALBERTO RAMOS ZAPATA, FACULTAD DE CIENCIAS**

MÉXICO, D.F. OCTUBRE, 2013



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/503/13

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **17 de junio de 2013** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del (la) alumno (a) **CRUZ PAREDES CARLA** con número de cuenta **512012816** con la tesis titulada "**Cuantificación de la colonización intrarradical y extrarradical de hongos micorrizógenos arbusculares en un mosaico heterogéneo en el trópico seco de Veracruz**", realizada bajo la dirección del (la) **DR. FRANCISCO JAVIER ÁLVAREZ SÁNCHEZ**:

Presidente: DR. ALEJANDRO ALARCÓN
Vocal: DR. FRANCISCO JAVIER LABORDE DOVALI
Secretario: DRA. MAYRA ELENA GAVITO PARDO
Suplente: DR. JOSÉ ALBERTO RAMOS ZAPATA
Suplente: DR. NOÉ MANUEL MONTAÑO ARIAS

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 24 de septiembre de 2013

Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa

MCAA/MJFM/ASR/mnm*

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al CONACYT por la beca otorgada para realizar los estudios de Maestría en Ciencias Biológicas

Al proyecto CONACYT-CB2010/152457 “Estructura de la vegetación y dinámica de la regeneración forestal en un mosaico heterogéneo con condiciones edáficas y topográficas contrastantes en el trópico seco del centro de Veracruz”, realizado conjuntamente con el INSTITUTO DE ECOLOGIA A.C.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas y al CONCYTEP por los apoyos otorgados para asistir al congreso ICOM 7 en Nueva Delhi.

Al comité tutorial, integrado por el Dr. Javier Álvarez Sánchez, la Dra. Mayra Gavito, y el Dr. José Alberto Ramos, por sus conocimientos e ideas aportadas para la elaboración de la tesis.

Agradecimientos personales

A mis papas y mi hermano por todo lo que me han enseñado, por su apoyo incondicional y por estar siempre a mi lado, este logro es tanto mío como suyo.

Al Dr. Javier Álvarez por abrirme las puertas de su laboratorio y darme su confianza, así como por toda su ayuda y apoyo para realizar este trabajo.

Al Dr. Javier Laborde por permitirme formar parte de este proyecto, su compañía en el campo y sus enseñanzas.

A los sinodales, Dr. Mayra Gavito, Dr. José Ramos, Dr. Javier Laborde, Dr. Alejandro Alarcón y Dr. Noé Montaña, por sus aportaciones a este trabajo.

A la Dra. Irene Sánchez, la Dra. Silvia Castillo y la Dra. Guadalupe Barajas por su ayuda en la elaboración de esta tesis y todos sus consejos.

A la M. en C. Juliana Padilla del COLPOS por su apoyo en la elaboración de los análisis de suelo para esta tesis.

A Juan Carlos Peña, gracias por tu ayuda con la tesis, con trámites, tareas y con casi todo, eres un gran amigo y maestro, gracias por hacerme andar en bici otra vez y por la amistad que me brindaste.

A Andrea por su gran ayuda en las técnicas para realizar esta tesis, y por su amistad durante este tiempo.

A todos los maestros que tuve durante la maestría M. en C. Irene Pisanty, Dra. María del Carmen Mandujano, Dra. Silke Cram, Dra. Cristina Siebe, Dr. Julio Campos, Dr. Leopoldo Galicia, Dr. Roberto Garibay, Dra. María del Pilar Rodríguez, Dra. Mayra Gavito y Dr. John Larsen por todos los conocimientos que adquirí gracias a ustedes.

A todos mis compañeros del laboratorio de Ecología de Suelos, Nacho por su compañía tanto durante la maestría como en los muestreos en campo, Esthela, Néstor, Nelly, Karla, Ana Carla, Ixtzul y Maira por su compañía, ayuda y amistad.

A las chicas de Dinámica de Comunidades, Yuriana, Gaby, Christiane, Lety, Samantha por tantos buenos momentos, comidas, paseos en bici, fiestas, y apoyo durante estos años.

A Adriana, Diana, Natalia y Jimena por su ayuda y compañía en campo.

A todo el personal de la estación biológica de CICOLMA y los ayudantes de campo Gustavo, Don Ángel, por ayudarnos con tantos kilos de suelo y a llegar a los puntos tan complicados del acahual y la selva.

A Imelda por abrirme las puertas de casa.

A mis amigas que son como mis hermanas Pili, Yun, Mari, Sofía, Vico, Eri, Adri, gracias por todos estos años de amistad y por escucharme hablar y hablar de esta tesis que no entendían, y apoyarme no solo ahora si no siempre, las quiero mucho.

A German por todo su apoyo y cariño, por todos esos momentos de felicidad que me diste gracias.

Muchas gracias a todos, cada uno me ayudo a poder terminar este trabajo ya sea directamente o simplemente escuchándome y apoyándome.

Dedicatoria

A mi mamá y mi papá que siempre me han dado todo su apoyo para cumplir mis sueños, sin ellos este trabajo no sería posible.

A mi hermano que a pesar de la distancia siempre ha estado presente

Índice

Resumen	1
Abstract.....	3
Introducción.....	5
La selva estacional.....	5
Generalidades de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)	5
El micelio extrarradical y los factores que afectan su funcionalidad	9
Efecto de los HMA en las comunidades vegetales	11
Antecedentes.....	13
Objetivo	16
Objetivo general	16
Objetivos particulares.....	16
Hipótesis	16
Métodos.....	17
Sitio de estudio	17
Ubicación	17
Clima.....	17
Suelo.....	18
Vegetación.....	19
Establecimiento de sitios de muestreo.....	20
Muestreo de vegetación.....	22
Muestreo de suelo.....	23
Peso seco y biomasa de raíces	24
Cuantificación de colonización intrarradical y extrarradical.....	24
Análisis de datos	25
Resultados	26
Descripción de los sitios.....	26
Selva.....	26
Acahual.....	27

Matorral.....	28
Pastizal	29
Micelio extrarradical	30
Colonización intrarradical.....	32
Biomasa de raíces	40
Correlaciones de la longitud de micelio con atributos de la vegetación, biomasa de raíces y propiedades del suelo.....	42
Correlaciones de la colonización intrarradical con atributos de la vegetación, biomasa de raíces y propiedades del suelo	43
Análisis multivariado	44
Temporada de lluvias.....	44
Temporada de secas	47
Discusión	50
Agrupaciones de los sitios	50
Relación de la vegetación con la producción del micelio externo	51
Relación de la vegetación con la colonización intrarradical	53
Relación de las temporadas con la producción del micelio externo y la colonización intrarradical.....	53
Relación de las propiedades del suelo con la producción del micelio externo y la colonización intrarradical.....	55
Relación de la biomasa de raíces con la producción del micelio externo y la colonización intrarradical.....	58
Conclusiones.....	60
Apéndice 1	62
Técnicas de análisis de suelos	62
Apéndice 2	63
Porcentaje de colonización intrarradical total y por estructura	63
Apéndice 3	65
Extracción y cuantificación del micelio extrarradical	65

Apéndice 4	68
Correlaciones significativas para la longitud de micelio	68
Apéndice 5	76
Correlaciones significativas para la colonización intrarradical	76
Apéndice 6	83
Imágenes	83
Literatura citada	85

Resumen

La colonización intrarradical, la longitud, la distribución espacial y la viabilidad del micelio externo de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) están relacionadas con la efectividad de esta interacción mutualista en lo que se refiere a la absorción de nutrientes y el crecimiento vegetal. Sin embargo, hasta el momento se ha documentado poco en ecosistemas tropicales sobre su variación y los factores que la explican.

El objetivo de este trabajo fue analizar los cambios en la colonización intrarradical y en la producción de micelio externo de los HMA en sitios con diferente tipo de vegetación en temporada de lluvias y secas, así como su relación características físicas y químicas del suelo.

Este estudio se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA) en el centro de Veracruz. Se establecieron parcelas permanentes en cuatro sitios que difieren en vegetación: Selva mediana subcaducifolia, acahual (17 años), matorral sobre dunas colonizadas naturalmente y pastizal sobre dunas. Se muestrearon veinte cuadros al azar para cada sitio de los cuales se obtuvieron muestras compuestas de 1 kg de suelo; de éstas se separaron 300 g de suelo seco para los análisis de pH, CE, MO, P Olsen, K^+ intercambiable, textura, N total, NH_4^+ y NO_3^- que se llevaron a cabo en el Laboratorio de Fertilidad de Suelos del Colegio de Posgraduados, Montecillos.

La tinción de raíces se realizó con la técnica de Phillips & Hayman (1970) y la estimación del porcentaje de colonización intrarradical con el método de McGonigle *et al.* (1990). La extracción del micelio externo se realizó mediante la técnica de Miller y Jastrow (1998) y la cuantificación con la técnica de Jakobsen (1998).

Además, se muestreo la vegetación de los veinte puntos para cada sitio marcando un cuadro de 10x10 m y otro de 5x5 m. En el primero se marcaron e identificaron todos los individuos con un DAP mayor a 50 mm a una altura de 1.30 m; dentro del segundo se estimó la cobertura y se identificaron los individuos mayores a 1 m

de altura, así como la cobertura de pastos, hojarasca, plántulas de dicotiledóneas y suelo desnudo.

Mediante un ANdeVA se encontraron diferencias significativas tanto entre sitios como entre temporadas ($p < 0.05$). La colonización intrarradical total fue mayor en el pastizal en lluvias (69.33%) y menor en el pastizal en secas (45.67%). La colonización por vesículas fue significativamente mayor en la selva en lluvias (23%) y menor en el acahual en secas (9.58%). Además, la colonización por arbuscúlos presentó los valores más altos en el acahual en secas (6.58%), mientras que en el pastizal en lluvias no se documentó su presencia. Por último, la producción de micelio fue mayor en el matorral en secas (9.59 m g^{-1}) y menor en el acahual en lluvias (3.87 m g^{-1}). Se encontraron correlaciones (Spearman) significativas de la longitud del micelio y la colonización por arbuscúlos con el pH, la textura, diferentes fuentes de N y la biomasa de raíces. Mediante un análisis multivariado, se agruparon por las concentraciones de nutrientes y la producción de micelio, la selva con el acahual y el matorral con el pastizal.

Las especies vegetales de ambientes donde existe una mayor riqueza y abundancia de plantas leñosas, como la selva y el acahual, presentan una mayor presión por competencia, tanto por luz como por nutrientes; por lo tanto las plantas, asignan más carbohidratos a la producción de estructuras de intercambio de nutrientes, como son los arbuscúlos. En cambio, en ambientes como el matorral y el pastizal, donde existe un dosel más abierto y un menor número de individuos y especies, aparentemente existen más requerimientos por la exploración de nutrientes como resultado de presentar suelos arenosos con pH alcalino; por este motivo es que se registró una mayor producción de micelio externo en estos sitios. En las temporadas también se observaron patrones en la funcionalidad del hongo, ya que los recursos fueron asignados a diferentes estructuras. En los tipos de vegetación estudiados las formas de N disponible parecen ser las limitantes y las que mejor explicaron la funcionalidad de la asociación en términos de la producción de micelio y la colonización intrarradical.

Abstract

The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) produce an intraradical colonization and external mycelium. Its spatial distribution and viability are related with the effectiveness of the symbiosis in terms of mineral nutrition and plant growth. However, until now its variation and the possible factors that can explain it, has been poorly assessed in tropical ecosystems.

The objective of this work was to analyze the changes of intraradical colonization and external mycelium length of AMF in sites with different vegetation in rainy and dry season. Also, their relationships with physical and chemical soil properties were analyzed.

This study was carried out in La Mancha Biological Research Station (CICOLMA) in the central part of the Veracruz state. Permanent plots were establish in four sites with different vegetation: tropical forest, secondary vegetation (17 years), shrubland in dunes and grassland in dunes. Twenty points were sampled randomly and one kilogram of soil was collected. From these samples 300 g were dried to analyze the pH, electric conductivity, organic matter, P Olsen, exchangeable K^+ , texture, total N, NH_4^+ and NO_3^- in the Laboratory of Soil Fertility at the Colegio de Posgraduados, Montecillos.

Roots were stained according to Phillips and Hayman (1970) and the percentage of mycorrhizal colonization was measured with McGonigle *et al.* (1990) method. The mycelium extraction was performed with Miller and Jastrow's (1998) modified technique and the quantification according to Jakobsen's (1998).

The vegetation was also sample in the same twenty points for each site in a 10x10 m plot and other inside of 5x5 m. In the first one all the individuals with a diameter breast height > 50 mm were marked and identified; in the second one individuals > 1 m height were identify and their cover was estimated; also the percentages of grasses, litter, seedlings and bare soil were estimated.

An analysis of variance was conducted and significant differences were found between vegetation and seasons ($p < 0.05$). The intraradical colonization in grassland at rainy season had the highest value (69.33%) and the grassland at dry season the lowest (45.67%). The colonization by vesicles was significantly higher in the forest in rainy season (23%) and lower in the secondary vegetation in dry season (9.58%). Also, the colonization by arbuscules showed the highest value in the secondary vegetation for dry season (6.58%), while in the grassland in rainy season there arbuscules were not observed. Finally, mycelium length in shrubland was the highest for dry season (9.59 m g^{-1}), whereas in the secondary vegetation for rainy season was the lowest (3.87 m g^{-1}). There were significant correlations (Spearman) of mycelium length and colonization by arbuscules with pH, texture, different sources of N and roots biomass. With a multivariate analysis, nutrient concentration and mycelium length grouped the sites, forest with secondary vegetation, and shrubland with grassland.

The plant species of the sites with greatest richness and abundance of woody plants, like forest and secondary vegetation, had a higher light and nutrients competition; so plants show more carbon allocation to the production of structures that will help to nutrient exchange like AMF arbuscules. In the other hand, in shrubland and grassland, where the canopy is open and we find lower abundance and richness, soil exploration by AMF structures is a result of the sand soils with alkaline pH; for this reason there was a higher mycelium length in this sites in comparison to forest and secondary vegetation. In the seasons there were also certain patterns observed in the functionality of the fungi, because the resources are allocated to different structures. Finally in the studied sites the available forms of N seems to be the limiting resources that explain the functionality of the interaction in terms of the mycelium length and the intraradical colonization.

Introducción

La selva estacional

Los bosques tropicales secos o selvas estacionales (SE) representan alrededor del 40% de la superficie ocupada por bosques tropicales en el mundo (Sánchez-Azofeifa *et al.* 2005; Quesada *et al.* 2009). En México, las SE son notablemente ricas en especies y su composición florística varía ampliamente de una región a otra; además se distinguen por ser el bosque tropical con mayor porcentaje de especies endémicas (Trejo y Dirzo 2002).

Varios autores coinciden en señalar a las SE como el ecosistema tropical terrestre en mayor riesgo de desaparecer y con mayor intensidad de alteración humana, debido a la enorme superficie que ha sido convertida en campos agrícolas y ganaderos en un tiempo muy corto (Sánchez-Azofeifa *et al.* 2005; Vieira y Scariot 2006; Quesada *et al.* 2009). Es por ello que el conocimiento científico de las SE primarias y de los acahuales (parches de regeneración), acerca de los mecanismos y factores que inciden en su regeneración, es crucial para su conservación y restauración.

La colonización del medio por las especies vegetales, la dispersión de semillas y la fertilidad del suelo son afectados fuertemente por la duración e intensidad de los disturbios naturales o antrópicos que pueden presentarse (Chazdon *et al.* 2007). Esto repercute en las interacciones con la biota edáfica como los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en los que se ha observado una disminución de su diversidad en zonas muy fertilizadas, con agricultura intensiva o con cambio en el uso del suelo (Allen 1987; Oehl *et al.* 2003; Gryndler *et al.* 2006; Guadarrama *et al.* 2008; Stürmer y Siqueira 2010).

Generalidades de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

Los HMA son simbioses obligados que establecen una asociación con las raíces de aproximadamente el 80% de las especies de plantas terrestres (Smith y Read 2008). Esta asociación es generalmente mutualista, aunque en estudios más

recientes se ha mostrado que existe un continuo de mutualismo a parasitismo (Hart *et al.* 2003). En la mayoría de los casos el balance beneficio-costos de la asociación es positivo, es decir, los beneficios son mayores que las pérdidas en términos de producción de biomasa.

Los HMA exploran a través de sus hifas extrarradicales el suelo, de tal manera que aumentan la superficie y la distancia de absorción de nutrientes por parte de las plantas (Schüßler *et al.* 2001), así como la absorción del agua que beneficia el estado hídrico de las plantas. Por lo tanto, las hifas extrarradicales son un factor muy importante para el hospedero en términos de la absorción de nutrientes, principalmente fósforo (P) y nitrógeno (N) (Entry *et al.* 2002). En esta relación, a cambio los HMA obtienen de las plantas los carbohidratos necesarios para su supervivencia, así como un hábitat donde pueden desarrollarse y completar su ciclo de vida.

Dependiendo de la especie de HMA puede variar la asimilación y el transporte de P y N del hongo al hospedero (Leake *et al.* 2004). Las redes miceliales poseen fosfatasas extracelulares y su diámetro les permite llegar a microporos donde los pelos radicales no llegan, así como explotar fuentes de P que no están disponibles para las plantas. A pesar de esto, no se sabe si estos hongos están directamente involucrados en la solubilización del P o ésta es facilitada por bacterias (Read y Perez-Moreno 2003). En cuanto al N, los HMA tienen un papel menos importante, ya que no poseen capacidad saprobia para obtener N de fuentes orgánicas. Sin embargo, pueden transferir N inorgánico a sus hospederos, por lo que pueden detectar parches de materia orgánica y extender sus hifas para adquirir N inorgánico y transportarlo mediante el micelio (Govindarajulo *et al.* 2005).

Las plantas aumentan la resistencia contra el estrés hídrico a través de la formación de una extensa red hifal que se forma entre las raíces de las plantas y las partículas del suelo, la cual previene la formación de huecos entre ellas y con ello la pérdida de agua; así la planta micorrizada tiene un mejor estado hídrico que las que no están colonizadas por HMA, lo cual favorece su establecimiento, productividad y supervivencia en ecosistemas con condiciones limitadas de agua

(Auge 2001). De igual manera, las hifas contribuyen a la estabilidad del suelo mediante la secreción de una proteína llamada glomalina que promueve la adhesión de partículas del suelo y materia orgánica, aumentando la capacidad del suelo de retener suficiente agua y reduciendo la erosión (Wright y Upadhyaya 1998).

Asimismo, los HMA junto con otros organismos producen compuestos húmicos que aceleran la descomposición de minerales primarios y secretan azúcares capaces de unir granos minerales y homogeneizar partículas finas del suelo, que mantienen la porosidad de éste (Rillig y Mummey 2006). La asociación HMA-planta, también brinda mayor protección contra patógenos y herbívoros (Azcón-Aguilar y Barea 1996).

Las HMA forman hifas, arbuscúlos y vesículas dentro de la raíz, así como hifas, esporas y células auxiliares en el suelo. La colonización comienza cuando las hifas infectivas producidas por propágulos, ya sean esporas, micelio extrarradical o raíces colonizadas, entran en contacto con una raíz activa. Aquí se forma un apresorio y la hifa penetra en la raíz extendiéndose de forma radial por la epidermis y exodermis. De esta manera, se desarrollan las hifas inter e intracelulares. Al llegar al cortex, las hifas se diferencian dando lugar a los arbuscúlos, las vesículas y las esporas (Bago *et al.* 1998). Una vez que se llevó a cabo la colonización intrarradical se inicia la producción de micelio extrarradical, completando el ciclo de vida de los HMA, ya que esto les permite crecer a través del sustrato y poder colonizar raíces aledañas (Harley y Smith 1983). El desarrollo y crecimiento de las hifas intrarradicales y el micelio externo, están determinados por el hongo que coloniza; es decir, el tiempo y porcentaje de colonización depende del género y la especie de HMA involucrada (Hart y Reader 2002).

La colonización de la raíz por parte de los HMA es un proceso dinámico en donde tanto la raíz como los hongos crecen y se desarrollan. La tasa a la que ocurre la colonización está influenciada no sólo por la tasa de formación de las estructuras de colonización y el crecimiento del hongo, sino también por la tasa de crecimiento del sistema radical (Smith y Read 2008). Los efectos directos de la colonización

por HMA en el crecimiento de la raíz han sido estudiados en varias especies; sin embargo, a pesar de que algunos trabajos indican que no existen cambios en las tasas de crecimiento y ramificación, se ha establecido que los cambios ocurren aunque exista poca colonización (Buwalda *et al.* 1984). Berta *et al.* (1991) demostraron que el crecimiento apical de las raíces disminuye después de la colonización por HMA y que la ramificación radicular aumenta, estimulada probablemente por la pérdida de dominancia apical en las raíces principales (Barker *et al.* 1998). Los mecanismos que ocasionan estos cambios no se conocen del todo; sin embargo, Koske y Gemma (1992) plantean que el incremento en la ramificación de las raíces y las hifas puede aumentar la posibilidad de encuentro entre raíces e hifas infectivas. Veresoglou *et al.* (2012) realizaron un meta-análisis en el que comparan los resultados obtenidos en 516 estudios para ver cómo la colonización micorrízica modifica la biomasa aérea y radical de las plantas. Ellos observaron que existe una tendencia al aumento de la biomasa en la parte aérea, este resultado favorece la visión de que el aumento de biomasa aérea seguida por la colonización es un resultado de la mejora en la nutrición vegetal.

En el suelo, los HMA presentan una extensa red de hifas integrada por las hifas de avance (Harley y Smith 1983) que son de paredes gruesas, grandes y con proyecciones angulares muy definidas. Por otra parte, a partir de las hifas de avance se desarrollan las hifas exploradoras, que forman una serie de ramificaciones de primer y segundo orden que forman la red del micelio externo (Figura 1). Cuando la micorriza se establece y la hifa termina su desarrollo, se forman estructuras ramificadas con apariencia de árbol que son las estructuras ramificadas de absorción (BAS, por sus siglas en inglés). Las hifas absorbentes son de paredes más finas y de menor tamaño, y su pequeño diámetro les permite explorar microporos del suelo y su función principal es la absorción de nutrientes (Bago *et al.* 1998).

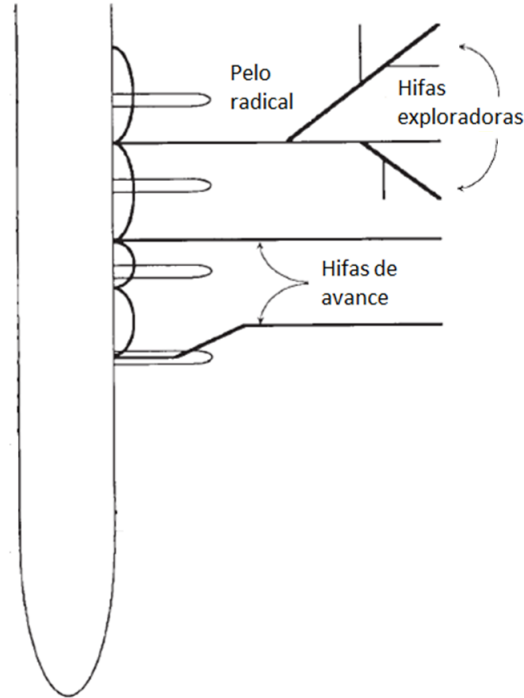


Figura 1. Representación diagramática de los tipos de hifas y su arquitectura asociada a una raíz colonizada.

El micelio extrarradical y los factores que afectan su funcionalidad

El micelio es dinámico y complejo, pero muy sensible a los disturbios y alteraciones de las propiedades del suelo, como el pH, la humedad, la temperatura, la capacidad de intercambio catiónico y la disponibilidad de nutrientes (Leake *et al.* 2004). También puede estar afectado por disturbios antrópicos como la compactación del suelo, la labranza y la contaminación por metales pesados, así como por el uso de plaguicidas (Entry *et al.* 2002).

En cuanto a la influencia de la temperatura en el micelio externo, ésta es variable y está relacionada con las especies de HMA y del hospedero, así como con la etapa de desarrollo del mismo (Entry *et al.* 2002). Jasper *et al.* (1989) realizaron uno de los primeros estudios donde se demostró la habilidad de las redes de micelio de HMA para mantener su infectividad en un clima seco y árido, comprobando que su capacidad para mantenerse infectivo en condiciones de sequía es variable dependiendo de la esporulación, el grupo taxonómico, el hospedero y si existe algún disturbio en el suelo. Brito *et al.* (2011) demostraron que el micelio

extrarradical puede mantener su infectividad en condiciones secas y con altas temperaturas. Sin embargo, los disturbios del suelo asociados con los sistemas de labranza reducen significativamente su infectividad separando gran parte del micelio extrarradical de la raíz hospedera y rompiendo las redes miceliales, por lo cual se producen hifas de menor tamaño que ya no son infectivas (Jasper *et al.* 1989). Además de la infectividad, el transporte de nutrientes se ve afectado por los disturbios, ya que se ha encontrado que existe un mejor transporte de P a la planta en sistemas sin disturbio que con disturbio (McGonigle y Miller 2000). Por lo tanto, la reducción en su infectividad puede afectar la productividad de los hospederos.

La colonización también puede ser afectada por la concentración de nutrientes en el suelo como el P y el N (Treseder y Allen 2002). Cuando las plantas se encuentran limitadas en N y P la cantidad de carbono asignada a los HMA será mayor. Sin embargo, cuando la concentración de nutrientes es alta, las plantas no invierten C en los HMA. En un experimento realizado por Grandcourt *et al.* (2004) donde crecieron especies micotróficas en diferentes concentraciones de P, mostraron que la eficiencia con la que el P es absorbido por el micelio extrarradical aumenta conforme la colonización se incrementa. Otro factor que afecta la colonización es el pH. La razón principal es que al cambiar el pH se modifica la solubilidad de varios minerales, además, el pH neutro es de los más favorables para un mejor desarrollo de los HMA (Smyle y Cook 1973).

La intensidad lumínica es otro factor que influencia la colonización de HMA. En general una reducción en la intensidad de la luz inhibe el desarrollo micorrízico (Hayman 1974). Se ha sugerido que la disminución en la intensidad de luz limita el suministro de fotosintatos a las raíces y eso disminuye la colonización por HMA (Graham y Leonard 1982). Además de la intensidad lumínica, la temperatura afecta las relaciones entre la disponibilidad de P, la exudación de raíz y la colonización. Un estudio de Heinemeyer y Fitter (2004) indica que el aumento de la temperatura incrementa al triple la colonización intrarradical y casi al doble la longitud del micelio extrarradical.

Efecto de los HMA en las comunidades vegetales

En el suelo los HMA pueden colonizar simultáneamente las raíces de diferentes especies vegetales dentro de una comunidad, lo que lleva al desarrollo de una red micorrízica común (Leake *et al.* 2004). Estas redes pueden influenciar la biodiversidad, productividad y funcionamiento de las comunidades vegetales (van der Heijden *et al.* 1998, Hart *et al.* 2003).

La habilidad para desarrollar redes miceliales puede representar una característica importante de la eficiencia de los HMA. Avio *et al.* (2006) encontraron que la biomasa de las partes aéreas de los hospederos está altamente correlacionada con la longitud y densidad hifal, y que el contenido de P en los tejidos vegetales también aumenta con la biomasa hifal. Además, comprobaron que los aislados de HMA que producen más hifas provocan un aumento en la biomasa aérea confirmando que el crecimiento y el patrón de desarrollo del micelio son factores importantes en la eficiencia del hongo, y que el contenido de P en la planta está correlacionado con el tamaño de las hifas.

Estas redes miceliales también representan una fuente importante de inóculo para la colonización de plantas vecinas, debido a la ramificación de las hifas a partir de raíces colonizadas. Voets *et al.* (2009) demostraron la importancia de las redes de micelio externo para una iniciación rápida de la colonización de plántulas en condiciones *in vitro*. La red micelial ayuda al establecimiento de las plantas, permitiendo que las plántulas se establezcan más rápida y efectivamente al entrar en contacto con la red micelial, mejoran la recuperación de especies de plantas después de una perturbación y ayudan a reducir la intensidad de competencia promoviendo la diversidad de especies (Simard *et al.* 2002). No obstante, también se pueden presentar respuestas negativas para la planta al formar parte de la red micelial, principalmente en condiciones donde hay recursos limitados. van der Heijden y Horton (2009) revisaron los casos donde se ve el establecimiento de plántulas cerca de plantas adultas conectadas por redes miceliales y encontraron que en el 48% de los casos existió un beneficio, 25% respondieron negativamente y en 27% no hubo algún efecto significativo. Experimentos de competencia

muestran que no todas las especies reciben los mismos beneficios de las redes miceliales, esto se debe a que el intervalo de costo-beneficio de las plantas conectadas a la red no es el mismo para cada especie (van der Heijden y Horton 2009).

Existen efectos diferenciales en la especificidad planta-hongo en el crecimiento de diferentes especies vegetales (Álvarez-Sánchez *et al.* 2007; Álvarez-Sánchez *et al.* 2009). Vogelsang *et al.* (2006) sugirieron que la diversidad vegetal y la productividad responden tanto a la identidad del HMA como a la diversidad de éstos, y que esta identidad y la cantidad de P pueden interactuar en formas complejas para alterar propiedades a nivel comunidad. Por lo tanto, los niveles de nutrientes en el suelo interactúan para determinar la diversidad en una comunidad vegetal, así como su composición y productividad. Collins y Foster (2009) reportaron que la cantidad de recursos puede controlar las interacciones HMA-planta. Las diferencias inter e intraespecíficas en la eficiencia de los HMA y las diferencias en el aumento de P y N traslocado a los hospederos ha sido atribuido a propiedades fenotípicas y funcionales del micelio extrarradical.

También las redes miceliales pueden influenciar la productividad del ecosistema. En sustratos con pocos nutrientes su presencia aumenta la productividad primaria directamente a través de la absorción de nutrientes y mejorando la fotosíntesis. Por otro lado, la composición y la diversidad vegetal afectan procesos ecosistémicos como la productividad primaria (Rillig 2004), cuando los HMA aumentan esta diversidad también aumenta la productividad indirectamente mejorando la complementariedad con el hospedero y la eficiencia en el uso de los recursos. van der Heijden *et al.* (1998) indican que diferentes comunidades vegetales (asociadas a HMA) tienen diferencias significativas en productividad primaria y el agotamiento de fosfatos en el suelo. Además, Klironomos *et al.* (2000) demostraron que la relación riqueza-productividad está altamente influenciada por la presencia e identidad de los HMA.

Antecedentes

A pesar de la amplia distribución de los HMA, existe un nivel de complementariedad funcional entre una especie de HMA y una especie vegetal. Esto se refiere a que sólo cierta especie de hongo proporciona un beneficio óptimo a una especie determinada de planta y viceversa, a pesar de que una especie de hongo puede colonizar varias especies de plantas y una especie de planta puede ser colonizada por varias especies de hongos (van der Heijden y Sanders 2002; Hart *et al.* 2003). Esto explica que la diversidad vegetal puede estar directamente correlacionada con la diversidad fúngica, por lo que si la estructura de la comunidad de HMA se ve afectada también lo estará la estructura de la comunidad vegetal, disminuyendo el número de especies y cambiando la composición, siendo esto, a su vez, un factor determinante para la conservación de la diversidad vegetal y el mantenimiento del funcionamiento del ecosistema y la productividad vegetal (van der Heijden *et al.* 1998).

En México, gran parte de los estudios con HMA evalúan la ecofisiología y las respuestas de las plantas ante la colonización. Sin embargo, su papel en los ciclos biogeoquímicos, su importancia en la productividad y la relación que tienen con la diversidad vegetal ha recibido menor atención; además, es necesario generar más conocimiento del papel funcional de los HMA dentro de las comunidades vegetales (Montaño *et al.* 2012). El estudio de las comunidades de HMA en relación a las transformaciones que pueden presentarse en los ecosistemas naturales, es crítica para enfrentar las dificultades que existen en la restauración o regeneración de estos ecosistemas.

Existen pocos reportes del impacto que el cambio de uso de suelo y la fragmentación pueden tener en las comunidades de HMA y su relación con las comunidades vegetales. Un estudio realizado en fragmentos de diferentes tamaños de la selva húmeda en Los Tuxtlas, Veracruz (Sánchez-Gallen 2011) señala que la diversidad de plantas de un sitio suele estar estrechamente relacionada con la presencia y diversidad de los HMA, ya que la estructura de la comunidad de HMA repercute en los patrones de reclutamiento diferencial de

plántulas (Hart *et al.* 2003) y en la fertilidad del suelo (Carpenter *et al.* 2001). Además, al estudiar la comunidad de HMA en diferentes tipos de uso de suelo, se encontraron diferencias significativas en la riqueza de especies de estos sitios, observando mayor diversidad en los sitios menos perturbados (Varela *et al.* 2008). A su vez, en la selva del Amazonas Stürmer y Siqueira (2010) analizaron los cambios en la diversidad de esporas de HMA en diferentes usos de suelo, y concluyen que las actividades humanas influyen la frecuencia y abundancia de algunas especies, pero no afectan la riqueza de especies de HMA.

Pocos estudios en ecosistemas naturales analizan los cambios de la colonización de los HMA tanto en la raíz como en el suelo en diferentes comunidades vegetales. En un estudio realizado por Jasso-Flores (2010) en la selva húmeda de Los Tuxtlas, Veracruz, se reportan diferencias significativas tanto en la colonización intrarradical como en la extrarradical en zonas con diferente vegetación, al compararse la colonización en un claro de la selva, un potrero y una selva conservada. Tanto para la colonización intrarradical como la extrarradical el mayor porcentaje se encontró en el claro, seguido por la selva y por último en el potrero. Dado que su desarrollo y crecimiento están determinados por el género y especie de HMA (Hart y Reader 2002), la colonización se puede ver modificada junto con la diversidad fúngica. Como ha sido reportado en otros estudios, esta diversidad fúngica está directamente correlacionada con la diversidad vegetal, la variabilidad del ecosistema y la productividad (van der Heijden *et al.* 1998).

En este trabajo se plantea analizar las diferencias en la colonización tanto en la raíz como en el suelo en un mosaico de vegetación en una zona tropical seca o estacional al centro del estado de Veracruz sobre la costa del Golfo de México. Además, se esperan cambios en las propiedades físicas y químicas del suelo como el pH, el contenido de materia orgánica, N y P disponibles, debido a que este mosaico de vegetación va desde un pastizal sobre dunas costeras que presenta en su mayoría especies herbáceas, y una selva conservada con una gran diversidad de especies leñosas también creciendo sobre dunas. También los diferentes microclimas que se presentan en el área de estudio y la influencia del

micelio extrarradical en la agregación, actividades enzimáticas y biota del suelo, pueden producir cambios en sus propiedades. Este es un tema poco documentado para los bosques tropicales secos que puede ayudar al mejor entendimiento de su regeneración natural y restauración.

Este trabajo forma parte del proyecto CONACYT-CB2010/152457 “Estructura de la vegetación y dinámica de la regeneración forestal en un mosaico heterogéneo con condiciones edáficas y topográficas contrastantes en el trópico seco del centro de Veracruz”, realizado conjuntamente con el INSTITUTO DE ECOLOGIA A.C., cuyo objetivo general es realizar la estimación cuantitativa de los principales factores que inciden en la recuperación de la diversidad y el funcionamiento de los ecosistemas costeros. Además, pretende realizar un seguimiento a largo plazo de los cambios de la estructura, la composición de especies y la dinámica poblacional de especies arbóreas, y se pretende relacionar estos cambios de la vegetación con la disponibilidad de semillas y propágulos, con la interacción entre HMA y plantas, así como con las variaciones de fertilidad del suelo para poder traducir los resultados en propuestas y técnicas para la conservación y la restauración ecológica de la selva estacional y sus funciones, así como de sus servicios ecosistémicos. Esto es particularmente importante ya que la región centro de Veracruz ha sido intensamente deforestada y fragmentada, a causa de los usos del suelo actuales e históricos. En este contexto, en la literatura se ha documentado poco acerca de las respuestas de los HMA a través de las variaciones del micelio ante los cambios ambientales y de vegetación en mosaicos con vegetación natural.

Objetivo

Objetivo general

- Analizar la variación de la colonización intrarradical y extrarradical de los hongos micorrizógenos arbusculares en relación con la diversidad de plantas en sitios con diferente tipo de vegetación.

Objetivos particulares

- Estimar el porcentaje de colonización intrarradical y extrarradical en comunidades vegetales de selva, acahual, matorral y pastizal en temporada de lluvias y en temporada de secas.
- Analizar la relación de la colonización intrarradical y extrarradical con la diversidad vegetal.
- Analizar la relación de la colonización intrarradical y extrarradical con características físicas y químicas del suelo.

Hipótesis

Se espera que los valores de colonización intrarradical y extrarradical aumenten conforme se incrementa la diversidad vegetal.

En cuanto a la estacionalidad se espera que durante la temporada seca la colonización intrarradical sea mayor debido a que la biomasa de las raíces se reduce. De la misma manera, para mejorar la absorción de agua y reducir el estrés hídrico que se presenta en esta temporada, se favorece una mayor asignación de carbono al hongo; así, se espera que la colonización extrarradical sea mayor.

Con respecto a las propiedades del suelo se espera que cuando exista una alta disponibilidad de nutrientes (N y P) ya sea entre temporadas o tipos de vegetación, se observe una menor colonización tanto intrarradical como extrarradical.

Métodos

Sitio de estudio

Ubicación

Este estudio se realizó en el Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA) del Instituto de Ecología A.C. (INECOL) y sus alrededores. CICOLMA se ubica a 19° 35' de latitud norte y 96° 22' de longitud oeste, sobre la planicie costera del Golfo de México al centro de Veracruz, a 25 km al norte de Ciudad José Cardel, en el municipio de Actopan (Figura 2).

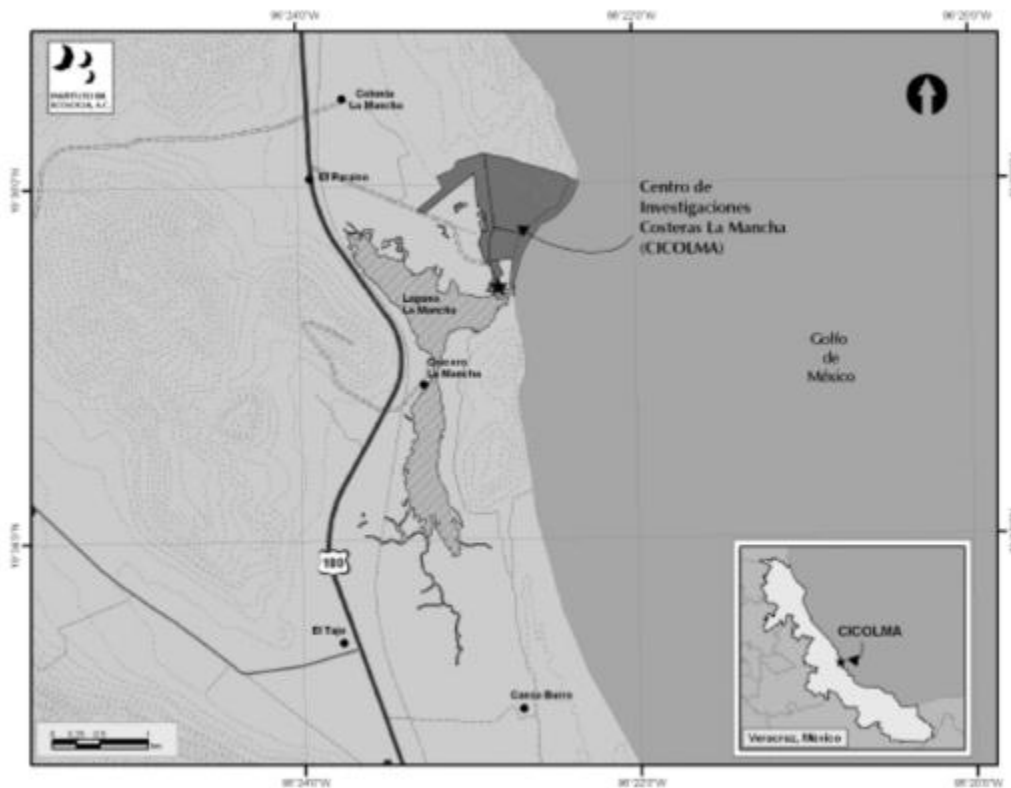


Figura 2. Ubicación del Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA) del INECOL. (Tomado de <http://www1.inecol.edu.mx/lamancha>)

Clima

El clima es Aw cálido sub-húmedo con lluvias en verano. La temperatura máxima extrema es de 34°C, la mínima extrema de 16°C y la media anual varía entre 22 y

26°C. La precipitación promedio anual oscila entre 1200 y 1500 mm anuales. Los meses con mayor precipitación promedio son junio y septiembre oscilando entre los 900 y los 1806 mm anuales. Sin embargo los datos obtenidos para el periodo de estudio de la estación climatológica ubicada en CICOLMA muestran que los valores son más bajos (Figura 3). Debido a estos regímenes de temperatura y precipitación existe una selva tropical estacional (Moreno-Casasola 1982).

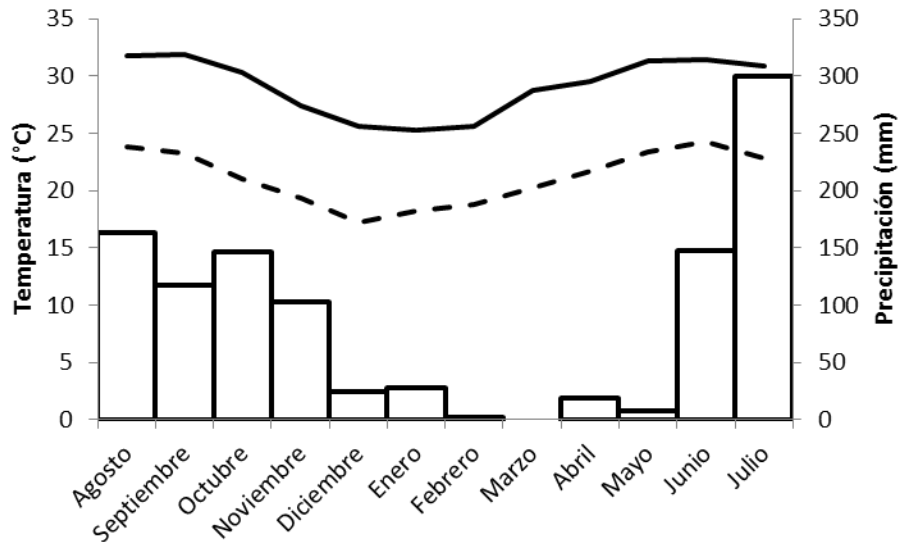


Figura 3. Promedio de los datos de temperaturas mínima (línea punteada) y máxima (línea sólida) mensual y precipitación total mensual para la estación de La Mancha, Veracruz, desde agosto del 2011 a julio del 2012 (fechas que corresponden al muestreo de este trabajo. Los datos se obtuvieron de la estación meteorológica de CICOLMA).

Suelo

En las dunas arenosas de La Mancha, los suelos se encuentran poco desarrollados. En las dunas más estabilizadas donde se ha establecido la cubierta vegetal arbórea, son rojizos, areno-arcillosos y profundos. Los suelos mejor desarrollados se encuentran en la selva mediana subcaducifolia, mientras que los menos desarrollados están en las dunas parabólicas con vegetación de dunas costeras (Castillo-Campos y Medina-Abreo 2002).

Esta zona se caracteriza por una escasez de nutrientes que constituye un factor limitante para el crecimiento de las plantas. Las principales entradas de nutrientes al sistema son la aspersión salina, precipitación, inundación por agua marina, depósito de detritus y movimiento de arena. La morfología, posición topográfica y exposición de tallos y raíces también influye en la intercepción de nutrientes (Moreno-Casasola 1982).

Se pueden distinguir tres tipos de suelo, según la clasificación FAO/UNESCO. Estos son: el arenosol cámbico, el arenosol calcárico ligeramente humificado y el arenosol lúvico. Los dos primeros presentan poco desarrollo y una alta permeabilidad por tanto una capacidad de retención de humedad baja. Además poseen poca cobertura vegetal y pocos nutrientes. El arenosol lúvico retiene mejor la humedad y contiene mayor cantidad de materia orgánica que el resto de los arenosoles (Moreno-Casasola 2006).

El pH del suelo en la reserva de la Mancha se encuentra entre 8 y 9. Las zonas móviles y de pioneras presentan los mayores valores de pH y los menores porcentajes de humedad y materia orgánica. Esta última es mayor en las hondonadas inundables y húmedas así como en los matorrales. Los nutrientes tienden a acumularse en las zonas de matorrales. Parece existir una tendencia a sustratos más ricos en nutrientes y materia orgánica conforme avanza la estabilización de la duna (Moreno-Casasola 1982).

Vegetación

La reserva tiene una superficie de 83 ha con distintos tipos de vegetación: selva mediana subcaducifolia, selva baja caducifolia, vegetación de dunas costeras (incluyendo matorrales, pastizales, zona de pioneras y arenas móviles), manchones de distinto tamaño de humedales (tulares, popales) y vegetación secundaria (acahual) en distintas fases de regeneración. Se trata de un mosaico heterogéneo y dinámico, en el que parches de vegetación en distintas fases de sucesión (primaria y secundaria) crecen muy cerca uno de otro. El área se caracteriza por poseer una alta diversidad de especies, en ella se encuentran los

últimos relictos de selva estacional desarrollada sobre suelos arenosos en la costa del Golfo de México (Moreno-Casasola 2006). En esta selva se presenta un dosel superior con especies como *Brosimum alicastrum* Sw., *Bursera simaruba* (L.), *Cedrela odorata* L., *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.), *Ficus cotinifolia* Kunth, entre otras. Por otra parte sin llegar al dosel superior, se observan especies como *Coccoloba barbadensis* Jacq., *Coccoloba humboldtii* Meissner, *Desmopsis trunciflora* (Schltdl. & Cham.) G. E. Schatz, *Bumelia celastrina* Kunth y *Nectandra salicifolia* (Kunth) Nees. Por último, el sotobosque está representado por *Crossopetalum uragoga* (Jacq.) Kuntze, *Hippocratea celastroides* (Kunth) A.C. Sm., *Jacquinia macrocarpa* Cav. subesp. *macrocarpa* y *Piper amalago* L., entre otras. Además, son muy frecuentes la lianas y los bejucos como *Agdestis clematidea* Moc. y Ses. y *Cydista aequinoctialis* (L.) Miers. (Castillo-Campos y Medina-Abreo 2002).

En esta zona los acahuales se han derivado de las selvas medianas subcaducifolias y bajas caducifolias. Su estrato arbóreo está representado por *Acacia angustissima* (Miller) Kuntze, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood. ex Mart., *Crescentia alata* Kunth, *Guazuma ulmifolia* Lam., *Sabal mexicana* Mart. y *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth. El estrato arbustivo está representado por *Acacia villosa* (Sw.) Willd., *Bernardia mexicana* Müll. Arg., *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw., *Croton guatemalensis* Lotsy y *Xylosma panamense* Turcz. Algunas de las especies herbáceas son *Acalypha arvensis* Poepp., *Calea ternifolia* Kunth var. *ternifolia*, *Euphorbia graminea* Jacq. y *Ruellia inundata* Kunth (Castillo-Campos y Medina-Abreo 2002).

Establecimiento de sitios de muestreo

Se establecieron cuatro sitios de muestreo con diferente tipo de vegetación:

Selva mediana subcaducifolia conservada, dentro de CICOLMA con un área de 35 a 40 ha en buen estado de conservación (protegido desde 1979). Los puntos de muestreo se establecieron en un sitio alejado del borde del fragmento y sin

perturbación humana aparente, dentro de una parcela de 6 ha con 200×300 m (Figura 4).

Acahual en terreno plano de poco más de 6 ha. Este sitio fue cercado en 1996, ya que era un potrero con 20 años de uso para la cría de bovinos y se sacó al ganado desde entonces para el estudio de la sucesión secundaria a largo plazo. Diecisiete años después, se tiene en el sitio un acahual con dosel cerrado y un estrato arbóreo de entre 6 y 8 m de altura. En la zona no existe ningún otro acahual de este tamaño que se pueda garantizar que no será reconvertido en potrero o campo agrícola en el mediano plazo (Figura 4).

Matorral sobre dunas colonizadas naturalmente en las que domina el arbusto *Diphysa robinoides* Benth., rodeados de pastizal natural. Este sitio incluye matorrales densos y grandes y otros de menor tamaño rodeados de pastizal (Figura 4).

Pastizal sobre dunas. El sitio corresponde a dunas semi-móviles con cobertura predominante de pastizal natural en el que crecen arbustos aislados de *Diphysa* spp. y otras especies, así como cactus de *Opuntia* spp. Una franja angosta (± 50 m de ancho) de selva mediana pasa por uno de los límites del terreno (Figura 5).



Figura 4. Ubicación aproximada de los sitios de 1) Acahual, 2) Matorral y 3) Selva.

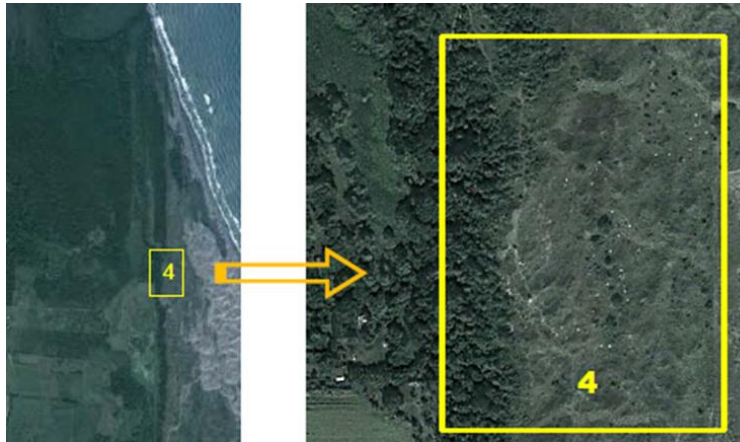


Figura 5. Ubicación del sitio 4) Pastizal en los terrenos de ProNatura.

En cada uno de los sitios se seleccionaron 20 puntos de muestreo al azar dentro de parcelas de 6 ha; para los sitios de matorral y pastizal se obtuvieron 10 en espacio abierto y 10 bajo arbustos o matorrales.

Muestreo de vegetación

Como parte del proyecto general se realizó un muestreo de vegetación por parte del equipo coordinador del proyecto mencionado anteriormente. Algunos de los datos obtenidos fueron consultados y utilizados para los análisis en esta tesis.

Para este muestreo se siguió el procedimiento propuesto por Condit (1997) con modificaciones. Se muestrearon veinte puntos al azar para cada sitio marcando un cuadro de 10×10 m y un sub-cuadro de 5×5 m (Figura 6). Dentro del cuadro de 10×10 m se marcó e identificó a toda planta leñosa enraizada en el cuadro con un DAP igual o mayor a 50 mm, y se registró el DAP a una altura de 1.30 m sobre el suelo, y se mapearon en un croquis de cada cuadro. En el sub-cuadro de 5×5 m, que se centró en el anterior, se identificó y estimó la cobertura del follaje por especie de todo arbusto o árbol con DAP menor a 50 mm y mayor a 1 m de altura (no se etiquetó ni midió el DAP). Además, se estimó en porcentaje, la cobertura sobre el suelo de plantas herbáceas no gramíneas, de pastos, hojarasca y suelo desnudo.



Figura 6. Cuadros de 10x10 m y 5x5 m.

Para árboles grandes por fuera del cuadro de 10x10 m, cuya copa estuviera por encima del sitio de muestreo del suelo, se les consideró como individuos por fuera del cuadro. A estos individuos se les midió el DAP, se marcaron, se identificaron y se midió la distancia y orientación del tronco al centro del cuadro.

Muestreo de suelo

En los mismos cuadros que se utilizaron para el muestreo de vegetación, se trazó un cuadro de 1x1 m para coleccionar una muestra compuesta formada por cinco puntos uno en el centro del cuadro y cuatro en cada esquina, dando un total de 1 kg de suelo. Este muestreo se realizó en cada sitio en dos temporadas. El primer muestreo se realizó durante la temporada de 'lluvias' en el mes de octubre del 2011, y el segundo se realizó en la temporada de 'secas' en el mes de abril del 2012. Aproximadamente 200 g de suelo seco se tamizaron con un tamiz con una apertura de 2 mm para determinar sus características físicas y químicas como: pH, conductividad eléctrica, porcentaje de materia orgánica, concentración de P disponible según Olsen, concentración de potasio (K^+) intercambiable, textura, porcentaje de N total, concentración de amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-). Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Fertilidad de Suelos en el Colegio de Posgraduados, Montecillos (ver Apéndice 1).

Además 300 g de suelo húmedo se mantuvieron en refrigeración a 3°C para utilizarse para cuantificar la colonización tanto intrarradical como extrarradical y para obtener los pesos secos de cada una de las muestras procesando un total de 80 muestras por temporada.

Peso seco y biomasa de raíces

Para calcular el peso seco se tomaron 5 g de suelo de cada una de las muestras (160 muestras en total) y se secaron en una estufa a 80 °C durante 48 horas hasta peso constante. Posteriormente, se pesaron y se calculó la pérdida de humedad de cada una de las muestras por el método gravimétrico.

Para estimar la biomasa de raíces para cada una de las muestras, se tomaron 50 g de suelo seco. Con ayuda de tamices de diferentes aperturas (2 mm, 1 mm y 0.46 mm), se separaron las raíces y se colocaron en bolsas de papel de estraza para secarlas a 80 °C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, se pesaron y separaron en dos categorías, raíces finas (<2mm) y raíces gruesas (>2mm), para obtener la biomasa de raíces por/gramo de suelo.

Cuantificación de colonización intrarradical y extrarradical

Para calcular la colonización intrarradical, se separaron las raíces finas de las muestras de suelo y se tiñeron según la técnica de Phillips y Hayman (1970) (ver Apéndice 2). Las raíces teñidas se cortaron en segmentos de 2 cm. Posteriormente se colocaron 20 segmentos por laminilla y se fijaron con PVLG (alcohol polivinílico). La estimación del porcentaje de colonización total y por estructura (hifas, esporas, arbusculos y ovidos) se llevó a cabo a través del método de McGonigle *et al.* (1990) (ver Apéndice 2). Para la extracción del micelio extrarradical de las muestras de suelo se aplicó la técnica de Miller y Jastrow (1998) modificada (ver Apéndice 3). La cuantificación del micelio extrarradical (metros de micelio por gramo de suelo) del suelo muestreado se realizó con la técnica de Jakobsen (1998) (ver Apéndice 3).

Análisis de datos

Se analizó si los porcentajes de colonización intrarradical y la producción de micelio mostraban correlaciones con la riqueza y abundancia de plantas leñosas, la biomasa de raíces, el pH, la conductividad eléctrica, el porcentaje de materia orgánica, la concentración de P disponible, la concentración de K^+ intercambiable, la textura, el porcentaje de N total, y las concentraciones de NH_4^+ y NO_3^- . Se utilizaron correlaciones de Spearman con un valor de significancia de $p < 0.05$. Los análisis fueron realizados en el programa STATISTICA versión 8.0.

Además, se realizaron pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk test) y homogeneidad (Hartley F-max, Cochran C y Bartlett Chi-Sqr.) de varianzas con los datos obtenidos. Los datos que no cumplieron con estos supuestos se transformaron a logaritmo natural, éstos fueron: la producción de micelio extrarradical y el porcentaje de colonización intrarradical por arbusculos. Se realizó un análisis de varianza (ANDeVA) para determinar si existían diferencias significativas en la producción de micelio extrarradical y el porcentaje de colonización intrarradical total y por estructura, considerando dos factores: tipo de vegetación (con cuatro niveles: selva, acahual, matorral y pastizal), y temporada (con dos niveles: lluvias y secas). Solo en caso de encontrar diferencias significativas en el ANDeVA se realizó una prueba de comparación múltiple de Tukey con un valor de significancia de $p < 0.05$. Los análisis fueron realizados en el programa STATISTICA versión 8.0.

También se realizó un análisis multivariado de correspondencia sin tendencia (DECORANA) utilizando un índice de similitud de Bray-Curtis y un método divisivo politético de dos vías (TWIN-SPAN) con los datos de colonización intrarradical, producción de micelio, riqueza y abundancia de plantas leñosas, pH, la conductividad eléctrica, porcentaje de materia orgánica, concentración de P disponible, concentración de K^+ intercambiable, textura, porcentaje de N total, y concentraciones de NH_4^+ y NO_3^- . Este análisis se realizó con el programa PC-ORD versión 4.0.

Resultados

Descripción de los sitios

Selva

De acuerdo con las características físico-químicas del suelo evaluadas, la selva presentó los valores más altos de materia orgánica, y de NO₃ (Cuadro 1). En cuanto a la vegetación, este sitio tuvo el mayor número de especies de plantas leñosas, así como una alta abundancia de individuos. Además, se encontró que *Nectandra salicifolia* es la especie más frecuente y la más abundante (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características físicas y químicas del suelo ($\bar{X} \pm DE$, n=20); y datos generales de riqueza y abundancia de especies leñosas que corresponden a 20 cuadros de 10x10 m de la selva en el Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA), Veracruz.

	SUELO	
	LLUVIAS	SECAS
pH	7.97 ± 0.16	8.04 ± 0.27
CE (mmhos/cm)	0.25 ± 0.06	0.28 ± 0.13
M.O. (%)	3.19 ± 1.69	3.22 ± 1.62
N total (%)	0.14 ± 0.09	*0.14 ± 0.08
P Olsen (ppm)	5.95 ± 2.49	6.41 ± 4.93
K (meq/100g)	0.26 ± 0.15	*0.38 ± 0.12
NO ₃ (ppm)	17.21 ± 5.72	27.37 ± 8.75
NH ₄ (ppm)	14.44 ± 4.58	12.16 ± 5.83
Arena (%)	85.33 ± 8.14	84.83 ± 6.49
Limo (%)	7.84 ± 4.22	7.49 ± 3.44
Arcilla (%)	6.83 ± 4.21	7.68 ± 3.42

*n=10

VEGETACIÓN	
Riqueza	43
Abundancia	173
Especie más frecuente	<i>Nectandra salicifolia</i> (16)
Especie más abundante	<i>Nectandra salicifolia</i> (48)

Acahual

El acahual presentó valores altos de contenido de materia orgánica y de concentración de NO_3^- principalmente en la temporada seca (Cuadro 2). En cuanto a la vegetación es el sitio que tiene mayor abundancia de individuos, y las especies más frecuentes son *Bursera simaruba* y *Diphysa robinoides*, mientras que la más abundante es *Leucaena leucocephala* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo ($\bar{X} \pm \text{DE}$, n=20); y datos generales de riqueza y abundancia de especies leñosas que corresponden a 20 cuadros de 10x10 m del acahual en el Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA), Veracruz.

	SUELO		VEGETACIÓN	
	LLUVIAS	SECAS	Riqueza	Abundancia
pH	8.04 ± 0.31	7.94 ± 0.23	35	176
CE (mmhos/cm)	0.25 ± 0.12	0.27 ± 0.08	Especie más frecuente <i>Bursera simaruba</i> y <i>Diphysa robinoides</i> (7)	
M.O. (%)	3.04 ± 1.41	3.63 ± 1.90		
N total (%)	0.19 ± 0.10	*0.15 ± 0.04	Especie más abundante <i>Leucaena leucocephala</i> (30)	
P Olsen (ppm)	5.70 ± 2.85	3.08 ± 2.79		
K (meq/100g)	0.32 ± 0.13	*0.48 ± 0.08	Pasto más abundante <i>Panicum maximum</i>	
NO_3 (ppm)	19.28 ± 7.82	34.66 ± 9.95		
NH_4 (ppm)	15.92 ± 4.50	11.10 ± 2.34		
Arena (%)	85.28 ± 6.18	83.43 ± 5.34		
Limo (%)	7.59 ± 2.65	7.54 ± 2.17		
Arcilla (%)	7.13 ± 3.99	9.03 ± 3.59		

*n=10

Matorral

En el caso del matorral los valores de pH del suelo son un poco más elevados que en los sitios anteriores; también presenta valores más altos de porcentaje de arena (Cuadro 3). En este caso la riqueza de especies es muy baja. Al igual que en el acahual, las especies más frecuentes son *Bursera simaruba* y *Diphysa robinoides* pero la más abundante fue *Tecoma stans* (Cuadro 3)

Cuadro 3. Características físicas y químicas del suelo ($\bar{X} \pm DE$, n=20); y datos generales de riqueza y abundancia de especies leñosas que corresponden a 20 cuadros de 10x10 m del matorral en el Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA), Veracruz.

	SUELO	
	LLUVIAS	SECAS
pH	8.37 ± 0.21	8.48 ± 0.19
CE (mmhos/cm)	0.16 ± 0.06	0.16 ± 0.04
M.O. (%)	1.26 ± 0.63	0.84 ± 0.71
N total (%)	0.04 ± 0.04	*0.05 ± 0.03
P Olsen (ppm)	5.60 ± 2.21	4.87 ± 4.14
K (meq/100g)	0.18 ± 0.11	*0.22 ± 0.08
NO ₃ (ppm)	12.25 ± 5.29	16.28 ± 5.62
NH ₄ (ppm)	13.87 ± 10.21	13.98 ± 5.55
Arena (%)	93.58 ± 3.75	92.08 ± 4.52
Limo (%)	2.59 ± 2.67	3.64 ± 4.15
Arcilla (%)	3.83 ± 1.79	4.28 ± 1.16

*n=10

VEGETACIÓN	
Riqueza	12
Abundancia	49
Especie más frecuente	<i>Bursera simaruba</i> y <i>Diphysa robinoides</i> (6)
Especie más abundante	<i>Tecoma stans</i> (13)
Pasto más abundante	<i>Schizachyrium scoparium</i> var. <i>littoralis</i>

Pastizal

En el pastizal se registraron los valores más altos de porcentaje de arena, así como de P inorgánico y de pH (Cuadro 4). En relación con la vegetación la abundancia de individuos es baja al igual que la riqueza de especies. Nuevamente la especie *Diphysa robinoides* fue la más frecuente. Las especies de pasto del género *Cenchrus* son *C. tribuloides* o *C. brownii* (Cuadro 4).

Cuadro 4. Características físicas y químicas del suelo ($\bar{X} \pm DE$, n=20); y datos generales de riqueza y abundancia de especies leñosas que corresponden a 20 cuadros de 10x10 m del pastizal en el Centro de Investigaciones Costeras La Mancha (CICOLMA), Veracruz.

	SUELO		VEGETACIÓN	
	LLUVIAS	SECAS	Riqueza	Abundancia
pH	8.39 ± 0.22	8.48 ± 0.23	15	35
CE (mmhos/cm)	0.15 ± 0.02	0.14 ± 0.03		
M.O. (%)	0.79 ± 0.53	0.66 ± 0.48	Especie más frecuente	<i>Diphysa robinoides</i> (4)
N total (%)	0.04 ± 0.04	*0.03 ± 0.02	Especie más abundante	<i>Karwinskia humboldtiana</i> (5)
P Olsen (ppm)	6.49 ± 2.41	6.47 ± 4.27	Pasto más abundante	<i>Cenchrus</i> sp., <i>Aristida tehuacanensis</i> , <i>Melinis repens</i>
K (meq/100g)	0.11 ± 0.05	*0.15 ± 0.07		
NO ₃ (ppm)	11.75 ± 5.55	17.66 ± 8.65		
NH ₄ (ppm)	10.41 ± 4.73	14.16 ± 4.76		
Arena (%)	95.27 ± 0.78	95.80 ± 0.96		
Limo (%)	1.71 ± 0.92	1.13 ± 0.34		
Arcilla (%)	3.18 ± 1.21	3.23 ± 1.19		

*n=10

Micelio extrarradical

El análisis de varianza mostró diferencias significativas para la producción de micelio extrarradical entre los tipos de vegetación ($F_{3,152}= 117.20$; $p < 0.001$) (Figura 7) y las temporadas ($F_{1,152}= 51.15$; $p < 0.001$) (Figura 8). Además, hubo diferencias significativas en la interacción entre el tipo de vegetación y la temporada ($F_{3,152}= 4.81$; $p = 0.003$), siendo mayor en el matorral en secas (9.59 m/g) y menor en el acahual en lluvias (3.87 m/g) (Figura 9). Algunas imágenes del micelio se muestran en el Apéndice 6.

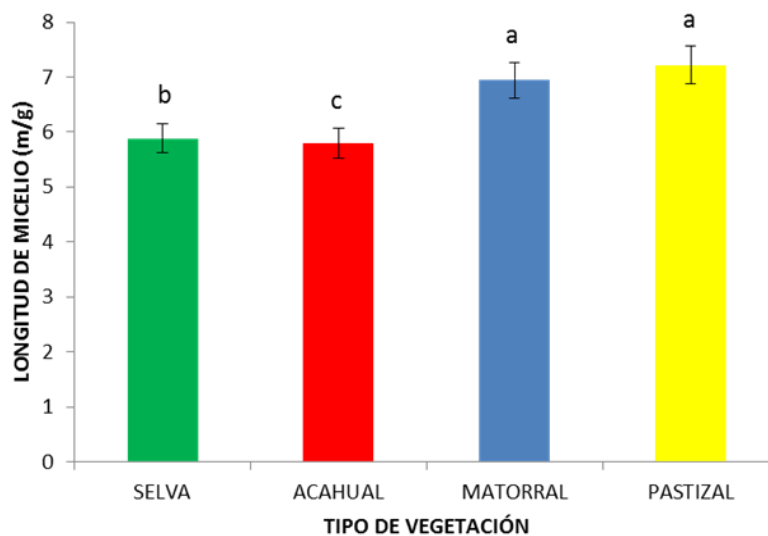


Figura 7. Producción de micelio extrarradical ($\bar{X} \pm EE$) en los tipos de vegetación. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

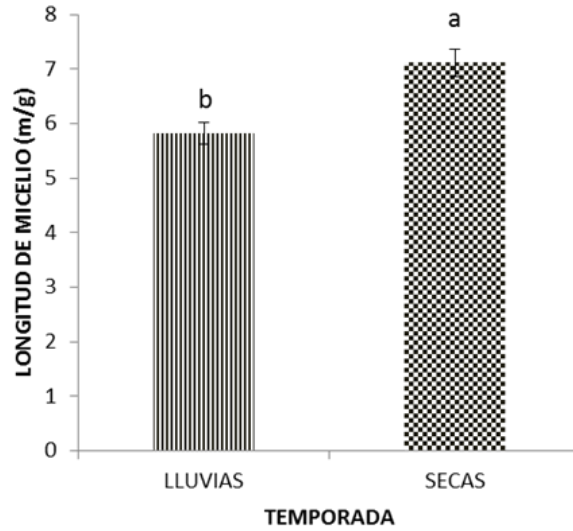


Figura 8. Producción de micelio extraradical ($\bar{X} \pm EE$) en las temporadas. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

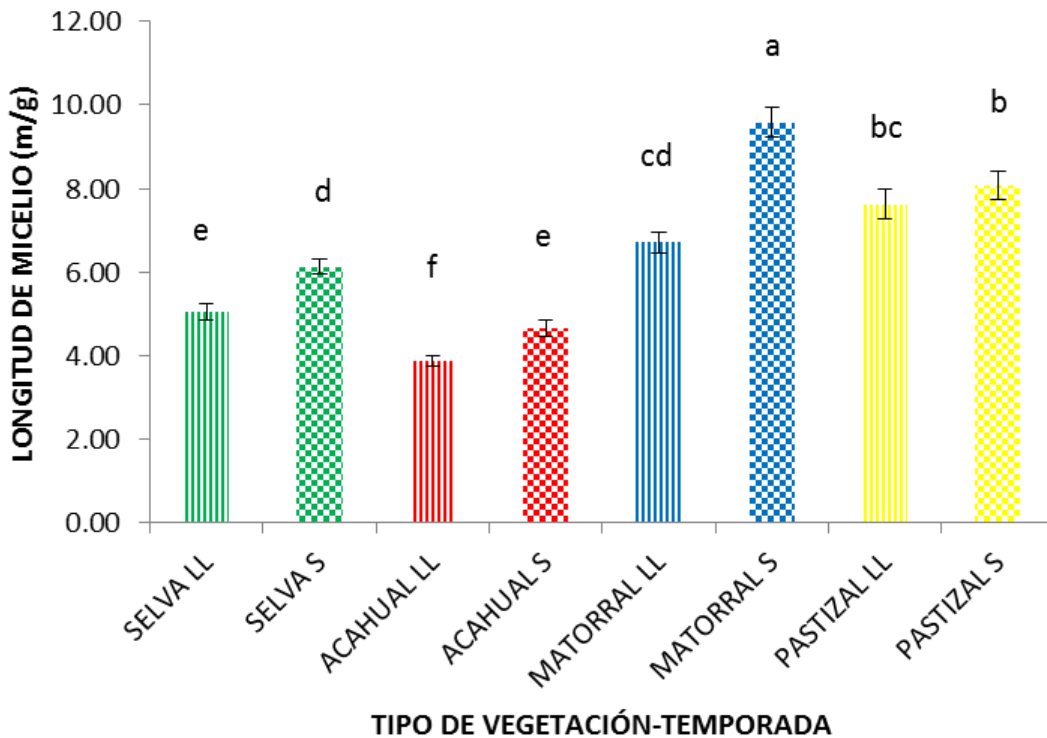


Figura 9. Producción de micelio extraradical ($\bar{X} \pm EE$) para secas (S) y para lluvias (LL) en todos los tipos de vegetación. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Colonización intrarradical

El análisis de varianza mostró diferencias significativas para el porcentaje de colonización total en entre los tipos de vegetación ($F_{3,152} = 6.78$; $p < 0.001$) (Figura 10) y las temporadas del año ($F_{1,152} = 60.12$; $p < 0.001$) (Figura 11). También hubo diferencias significativas en la interacción entre el tipo de vegetación y la temporada ($F_{3, 152} = 5.06$; $p = 0.002$), siendo mayor en el pastizal en lluvias (69.33%) y menor en el pastizal en secas (45.67%) (Figura 12). Las imágenes de la colonización intrarradical se muestran en el Anexo 6.

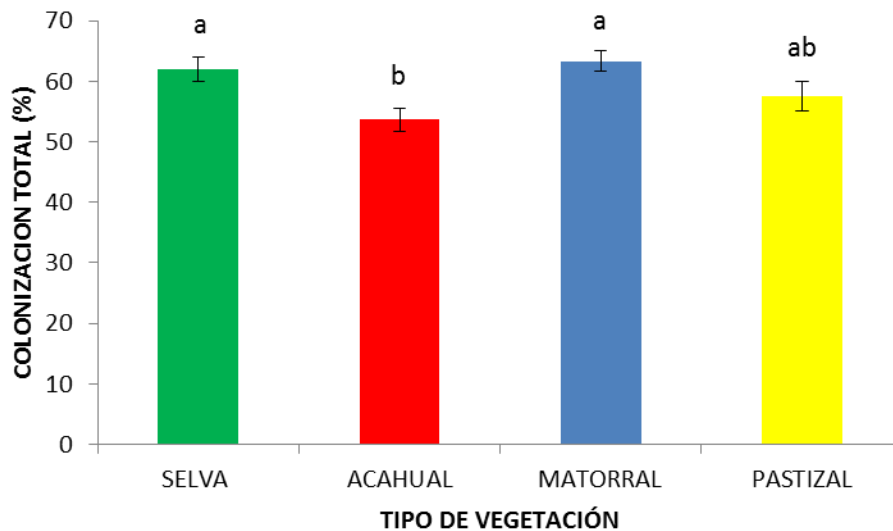


Figura 10. Porcentaje de colonización micorrízica total ($\bar{X} \pm EE$) en los tipos de vegetación. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

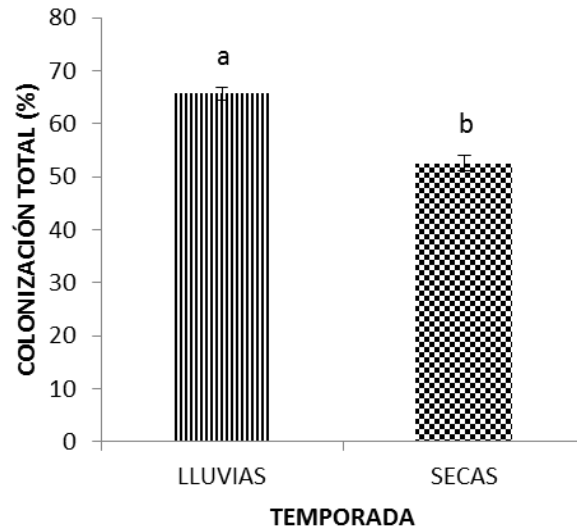


Figura 11. Porcentaje de colonización micorrízica total ($\bar{X} \pm EE$) en las temporadas. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

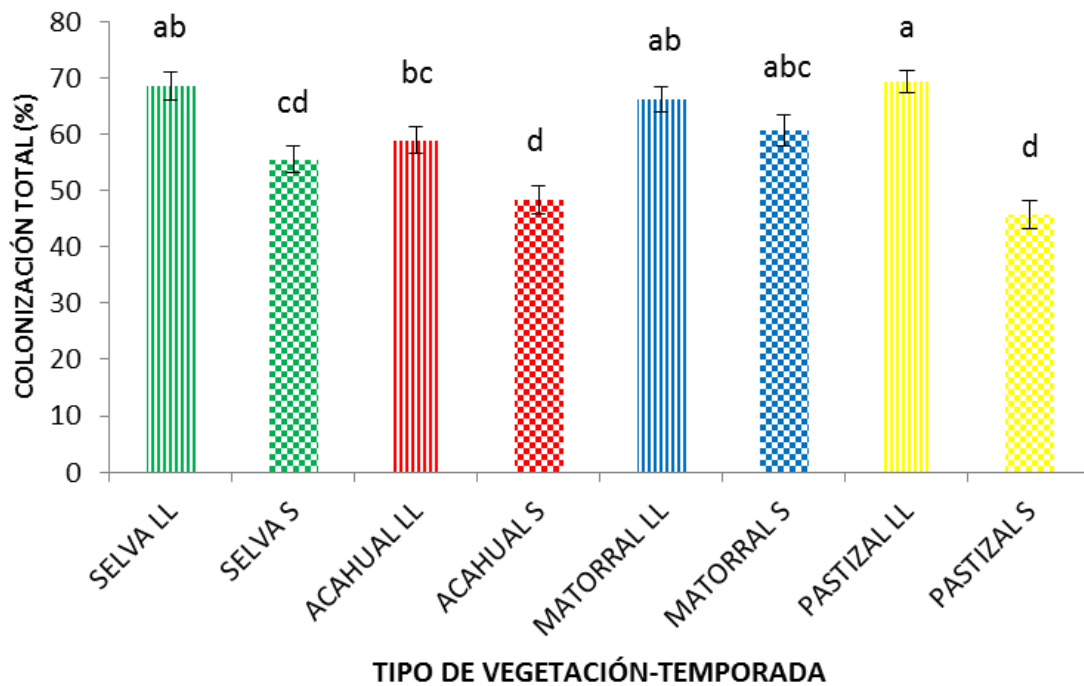


Figura 12. Porcentaje de colonización micorrízica total ($\bar{X} \pm EE$) para secas (S) y para lluvias (LL) en todos los tipos de vegetación. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Para el porcentaje de colonización por hifas, al igual que la colonización total, los resultados mostraron diferencias significativas entre los tipos de vegetación ($F_{3,152}= 6.78$; $p < 0.001$) (Figura 13) y las temporadas del año ($F_{1,152}= 60.12$; $p < 0.001$) (Figura 14). Así como para la interacción entre el tipo de vegetación y la temporada ($F_{7, 152}= 5.06$; $p= 0.002$) (Figura 15)

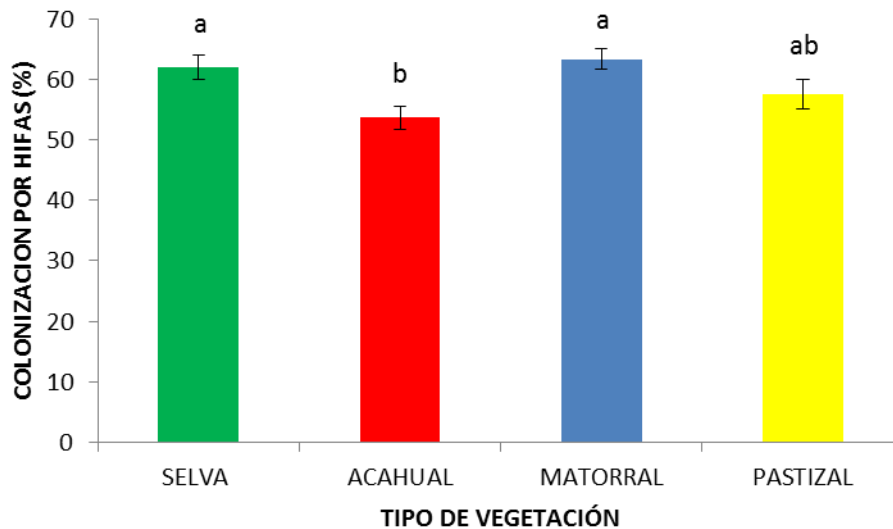


Figura 13. Porcentaje de colonización por hifas ($\bar{X} \pm EE$) en los tipos de vegetación. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

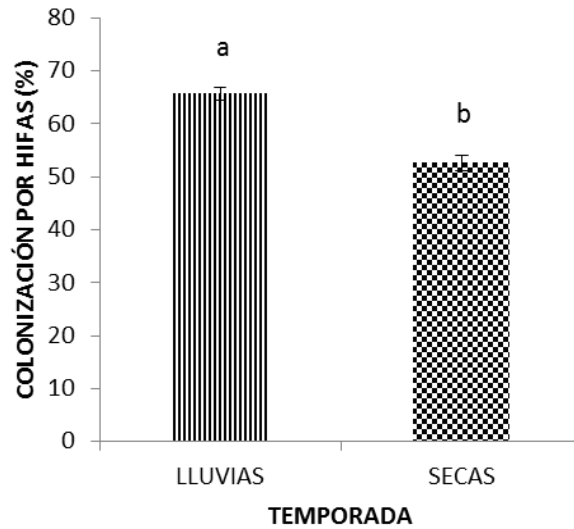


Figura 14. Porcentaje de colonización por hifas ($\bar{X} \pm EE$) en las temporadas. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

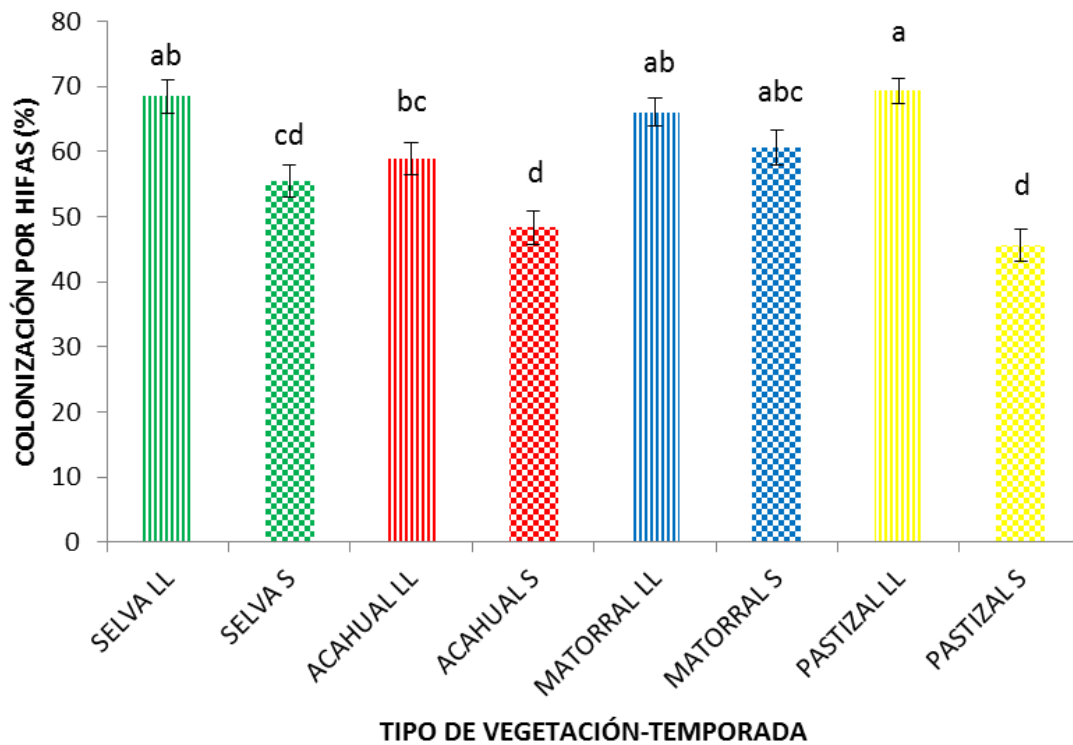


Figura 15. Porcentaje de colonización por hifas ($\bar{X} \pm EE$) para secas (S) y para lluvias (LL) en todos los tipos de vegetación. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Para el porcentaje de colonización por vesículas el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los tipos de vegetación ($F_{3,152}= 3.02$; $p= 0.03$) (Figura 16) y las temporadas ($F_{1,152}= 8.67$; $p= 0.003$) (Figura 17). Del mismo modo se encontraron diferencias significativas en la interacción entre el tipo de vegetación y la temporada ($F_{3,152}= 7.01$; $p<0.001$), siendo mayor en la selva en lluvias (23%) y menor en el acahual en secas (9.58%) (Figura 18).

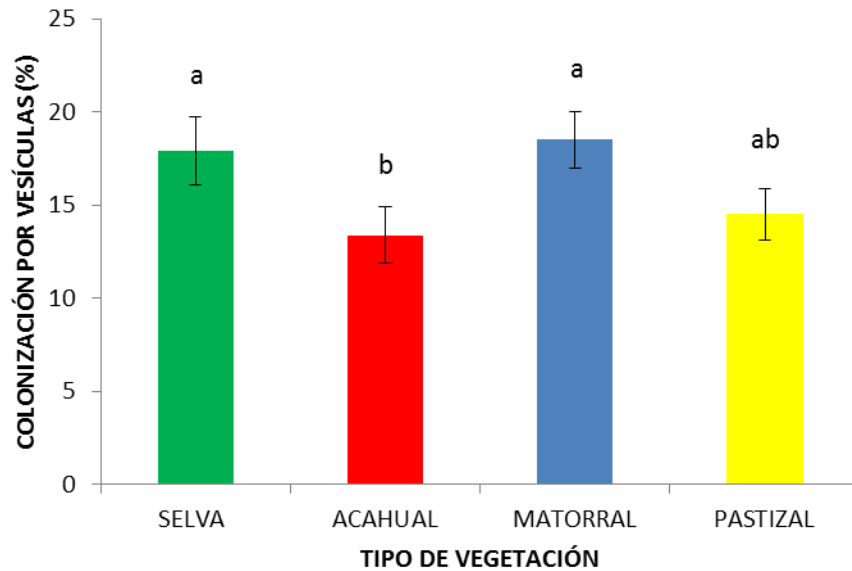


Figura 16. Porcentaje de colonización por vesículas ($\bar{X} \pm EE$) en los tipos de vegetación. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p<0.05$).

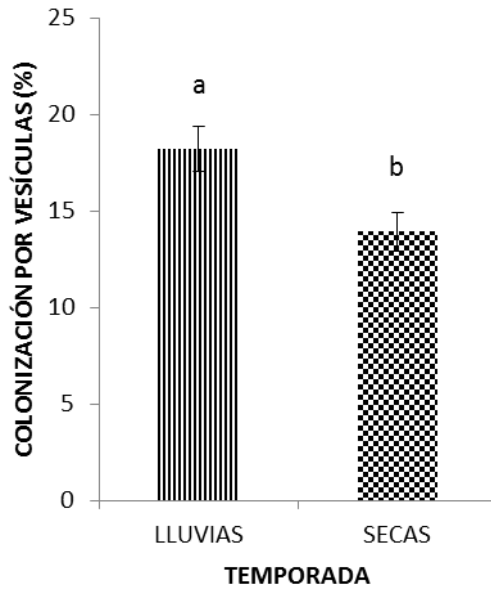


Figura 17. Porcentaje de colonización por vesículas ($\bar{X} \pm EE$) en las temporadas. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

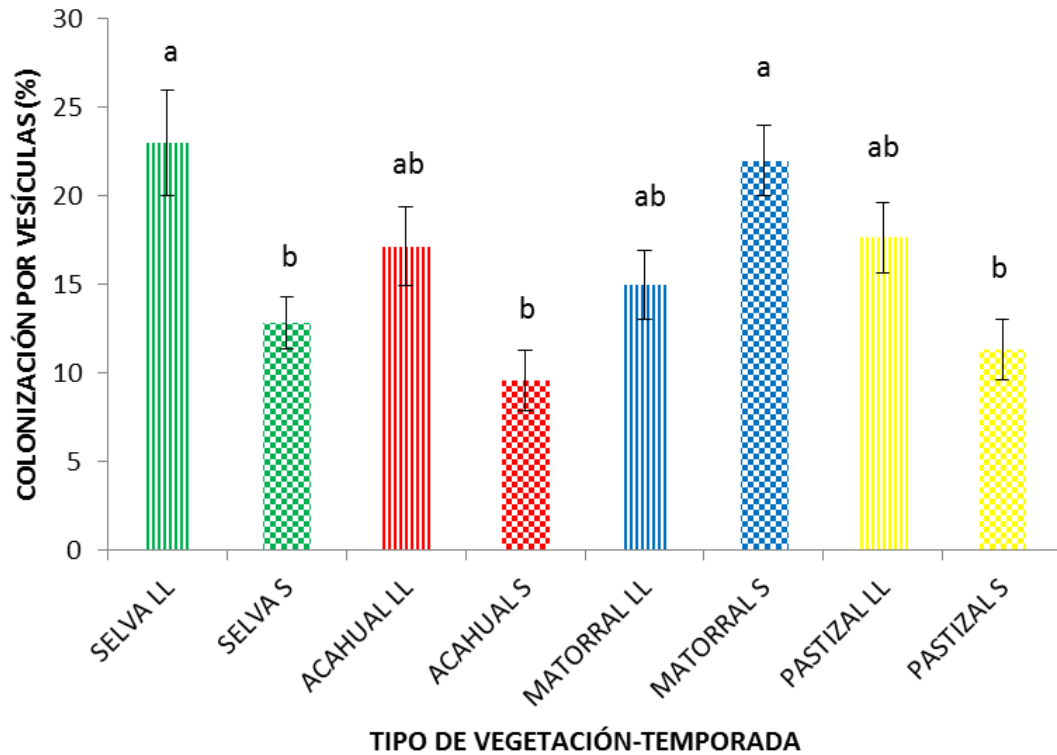


Figura 18. Porcentaje de colonización por vesículas ($\bar{X} \pm EE$) para secas (S) y para lluvias (LL) en todos los tipos de vegetación. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

En cuanto al porcentaje de colonización por arbusculos, el análisis de varianza presentó diferencias significativas entre los tipos de vegetación ($F_{3,152}= 14.93$; $p< 0.001$) (Figura 19) y las temporadas ($F_{1,152}= 44.75$; $p< 0.001$) (Figura 20). También se encontraron diferencias significativas para la interacción entre el tipo de vegetación y la temporada ($F_{3,152}= 6.52$; $p<0.001$), siendo mayor en el acahual en secas (6.58%), mientras que en el pastizal en lluvias no se documentó la presencia de arbusculos (Figura 21).

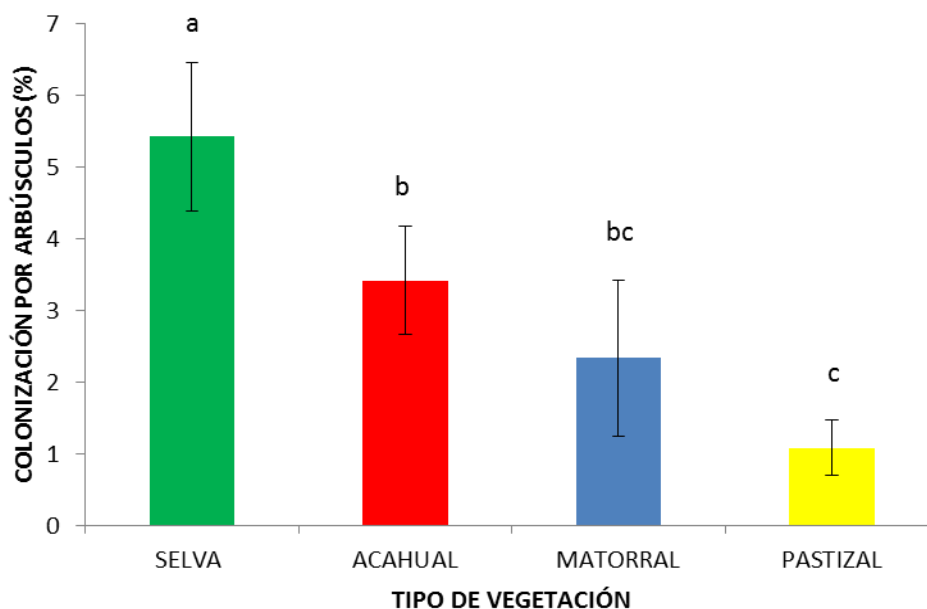


Figura 19. Porcentaje de colonización por arbusculos ($\bar{X} \pm EE$) en los tipos de vegetación. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p<0.05$).

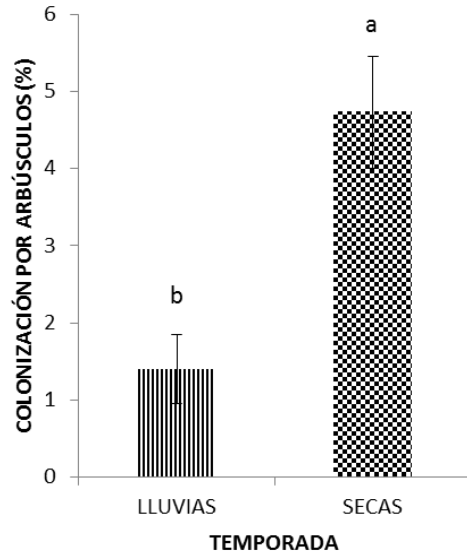


Figura 20. Porcentaje de colonización por arbusculos ($\bar{X} \pm EE$) en las temporadas. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

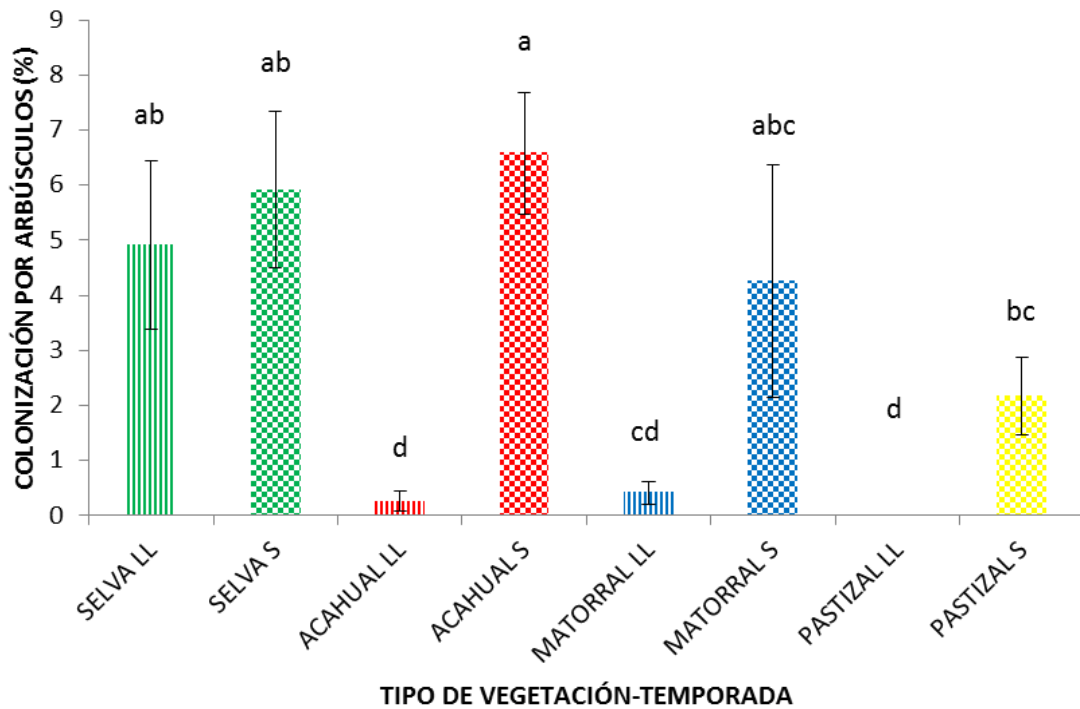


Figura 21. Porcentaje de colonización por arbusculos ($\bar{X} \pm EE$) para secas (S) y para lluvias (LL) en todos los tipos de vegetación. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Biomasa de raíces

El análisis de varianza mostró diferencias significativas para la biomasa total de raíces entre los tipos de vegetación ($F_{3,152}= 6.33$; $p < 0.001$) (Figura 22) y las temporadas del año ($F_{1,152}= 5.3$; $p = 0.02$) (Figura 23), los valores más altos se encontraron en el pastizal y en lluvias mientras que los más bajos en las selva y en secas.

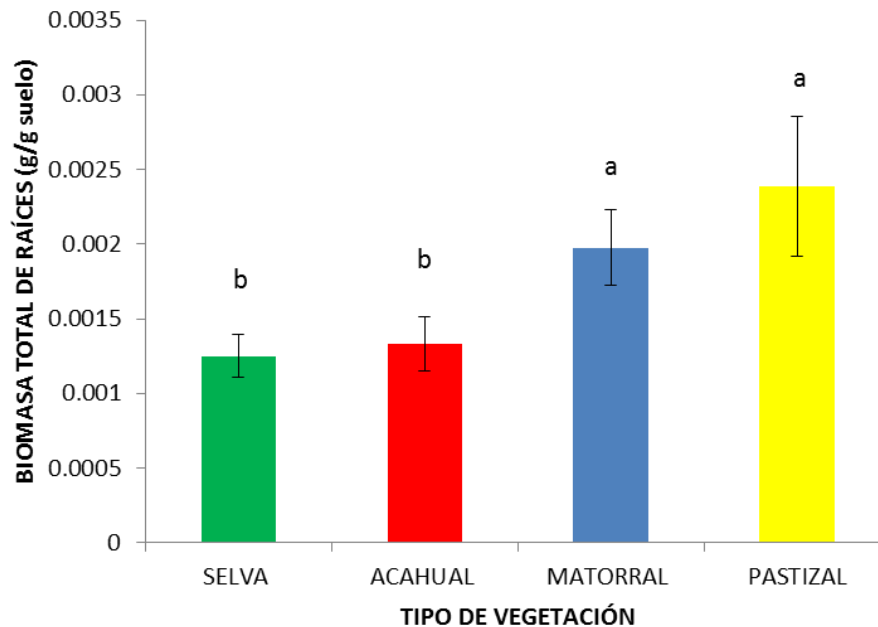


Figura 22. Biomasa total de raíces ($\bar{X} \pm EE$) en los tipos de vegetación. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

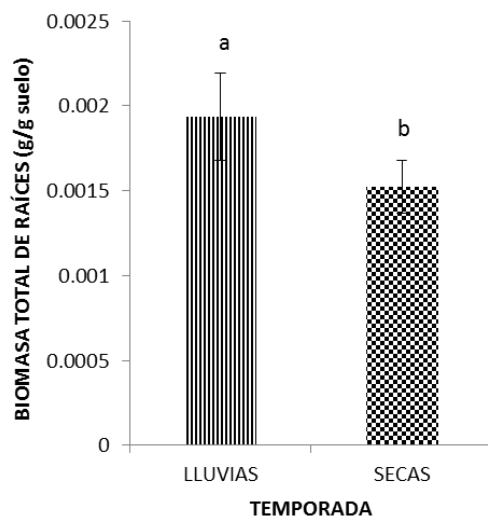


Figura 23. Biomasa total de raíces ($\bar{X} \pm EE$) en las temporadas. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

En cuanto a la biomasa de raíces finas, sólo se encontraron diferencias significativas entre los tipos de vegetación ($F_{3,152} = 12.04$; $p < 0.001$), siendo mayor en pastizal y menor en selva (Figura 24).

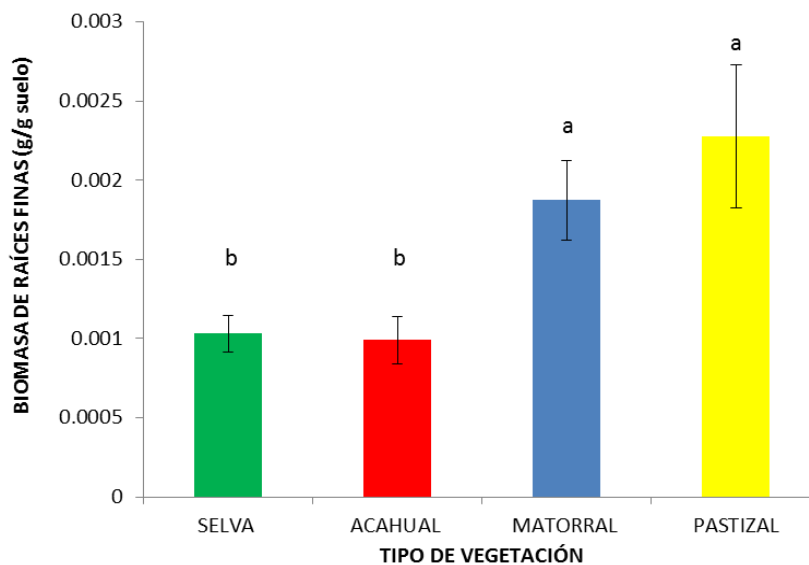


Figura 24. Biomasa de raíces finas ($\bar{X} \pm EE$) en los tipos de vegetación. Letras distintas muestran diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Correlaciones de la longitud de micelio con atributos de la vegetación, biomasa de raíces y propiedades del suelo

Los análisis de correlación de Spearman (Cuadro 5) mostraron que existen correlaciones significativas negativas de la longitud de micelio con la riqueza de especies de plantas leñosas tanto en temporada de lluvias como en secas, así como con la abundancia de plantas leñosas. En cuanto a las correlaciones de la longitud de micelio con las propiedades del suelo, se encontraron que fueron significativas negativas con la conductividad eléctrica, la materia orgánica, el N total, el NO_3^- , el K^+ intercambiable, y los porcentajes de limo y arcilla. Además, se encontraron correlaciones significativas positivas para ambas temporadas con el pH y el porcentaje de arena. En cuanto al NH_4^+ sólo se encontró una correlación significativa negativa en la temporada de lluvias. Con respecto a la biomasa de raíces, se encontraron correlaciones significativas positivas con la longitud del micelio para ambas temporadas con la biomasa total y la biomasa de raíces finas. Las gráficas de las correlaciones se muestran en el Apéndice 4.

Cuadro 5. Correlaciones significativas (R) de la longitud de micelio con las propiedades físicas y químicas del suelo y atributos de la vegetación ($p < 0.05$)

(n=80).	Lluvias	Secas
pH	0.57	0.69
Conductividad eléctrica	-0.55	-0.55
Materia orgánica	-0.59	-0.66
N total	-0.60	*-0.66
NO_3^-	-0.47	-0.66
NH_4^+	-0.40	
K^+ intercambiable	-0.50	*-0.69
Arena	0.60	0.53
Limo	-0.63	-0.53
Arcilla	-0.46	-0.55
Riqueza vegetal	-0.53	-0.54
Abundancia vegetal	-0.61	-0.60
Biomasa total de raíces	0.32	0.33
Biomasa de raíces finas	0.48	0.39

*n=40

Correlaciones de la colonización intrarradical con atributos de la vegetación, biomasa de raíces y propiedades del suelo

Las correlaciones para el porcentaje de colonización intrarradical (Cuadro 6) mostraron que solamente existe una correlación significativa negativa del N total con la colonización total en la temporada de lluvias. Además, la colonización por arbusculos presentó correlaciones significativas positivas en ambas temporadas con la materia orgánica, el N total, y el porcentaje de limo, y correlaciones negativas en ambas temporadas con el porcentaje de arena. En la temporada de lluvias se encontró una correlación negativa significativa con el pH y positiva con la conductividad eléctrica, mientras que en la temporada de secas fueron negativas con el fósforo y el NH_4^+ , y positivas con el K^+ intercambiable y el porcentaje de arcilla. En cuanto a la vegetación se observaron correlaciones significativas positivas con la colonización por arbusculos, en ambas temporadas, con la riqueza y la abundancia de plantas leñosas. Las gráficas de las correlaciones se reportan en el Apéndice 5.

Cuadro 6. Correlaciones significativas (R) de la colonización intrarradical con las propiedades físicas y químicas del suelo y atributos de la vegetación ($p < 0.05$) (n=80).

	Lluvias	Secas
Colonización total		
N total	-0.27	
Colonización por arbusculos		
pH	-0.30	
Conductividad eléctrica	0.34	
Materia orgánica	0.36	0.31
N total	0.25	*0.39
NH_4		-0.23
P Olsen		-0.24
K intercambiable		*0.33
Arena	-0.25	-0.32
Limo	0.27	0.31
Arcilla		0.30
Riqueza vegetal	0.54	0.30
Abundancia vegetal	0.40	0.37

*n=40

Análisis multivariado

Temporada de lluvias

A partir de un índice de similitud de 37% se formaron tres grupos (Figura 25). Estos grupos se pueden ver con más claridad en la ordenación. La ordenación de la temporada de lluvias presentó una raíz característica en el primer eje de 0.059 y en el segundo eje de 0.020, lo que muestra que el primer eje explica la mayor parte de la variación entre los puntos (Figura 26).

El primer grupo se encuentra en el lado izquierdo del eje 1 y está formado en su mayoría por puntos de la selva y del acahual; este grupo está asociado con las estructuras del hongo relacionadas con el intercambio de nutrientes como son los arbusculos. El segundo grupo se encuentra en el lado derecho del eje 1 y está formado principalmente por puntos del matorral y del pastizal; las estructuras de exploración como las hifas y el micelio están explicando este grupo. Por último, el tercer grupo se encuentra en la parte inferior del eje 2 y está formado por puntos tanto de la selva como del acahual; en este caso la concentración de NH_4^+ en el suelo es el factor que se asocia a este grupo (Figura 26).

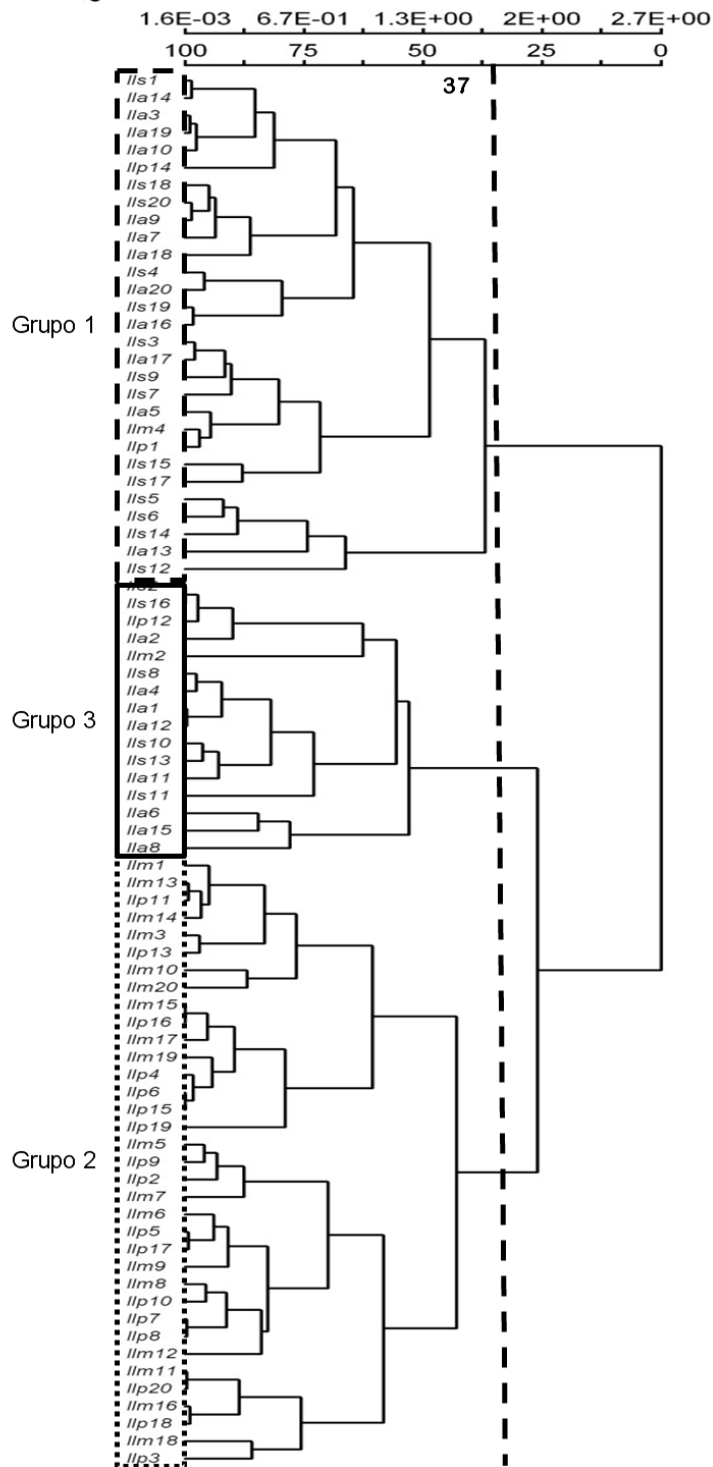


Figura 25. Resultados de la clasificación para la temporada de lluvias, donde: las dos primeras letras indica la temporada (Il= lluvias), la tercera el tipo de vegetación (s= selva, a= acahual, m= matorral, p= pastizal) y el número el cuadro muestreado.

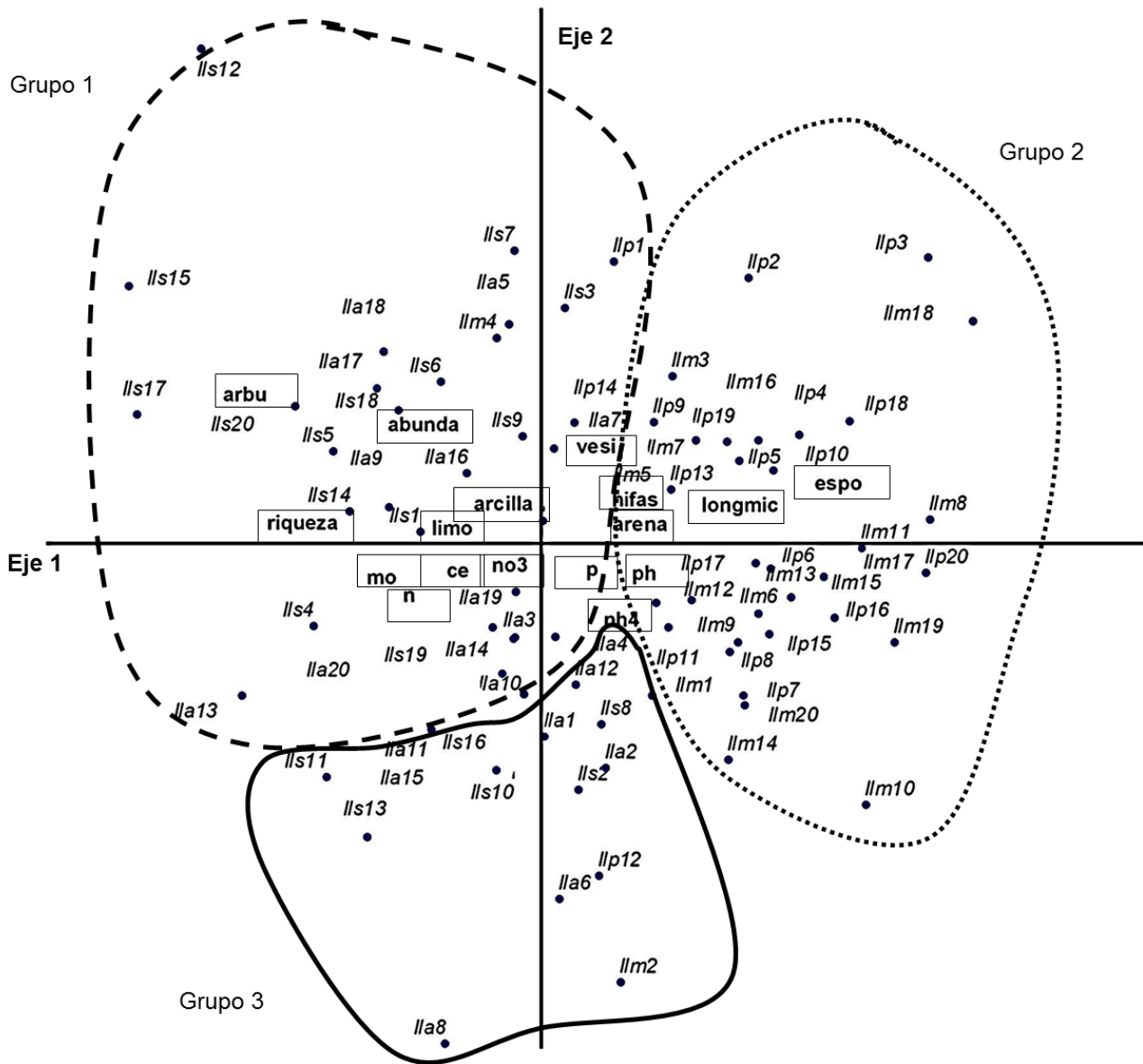


Figura 26. Resultados de la ordenación para la temporada de lluvias, donde: las dos primeras letras indica la temporada (ll= lluvias), la tercera el tipo de vegetación (s= selva, a= acahual, m= matorral, p= pastizal) y el número el cuadro muestreado.

Temporada de secas

A partir de un índice de similitud de 37% se formaron cuatro grupos (Figura 27). Estos grupos se pueden ver con más claridad en la ordenación. La ordenación de la temporada de secas presentó una raíz característica en el primer eje de 0.062 y en el segundo eje de 0.032, lo que muestra que el primer eje explica la mayor parte de la variación entre los puntos (Figura 28).

En este caso el análisis definió cuatro grupos. El primero se encuentra en el extremo izquierdo del eje 1 y se conforma, en su mayoría, por puntos del matorral; este grupo está asociado con la producción de micelio. El segundo grupo abarca una parte del lado izquierdo del eje 1 y, en su mayoría, la parte inferior del eje 2 y está formado principalmente por puntos del pastizal; este grupo también está explicado por estructuras de exploración como el micelio. El tercer grupo se encuentra del lado derecho del eje 1 y está formado por puntos tanto de la selva como del acahual; en este caso, al igual que en la ordenación de lluvias, este grupo está asociado con estructuras del hongo relacionadas con el intercambio de nutrientes como son los arbusculos. Por último, el cuarto grupo se encuentra en el extremo derecho del eje 1, al igual que el anterior, este grupo está formado por puntos de selva y acahual y está más relacionado a la concentración de NO_3^- en el suelo (Figura 28).

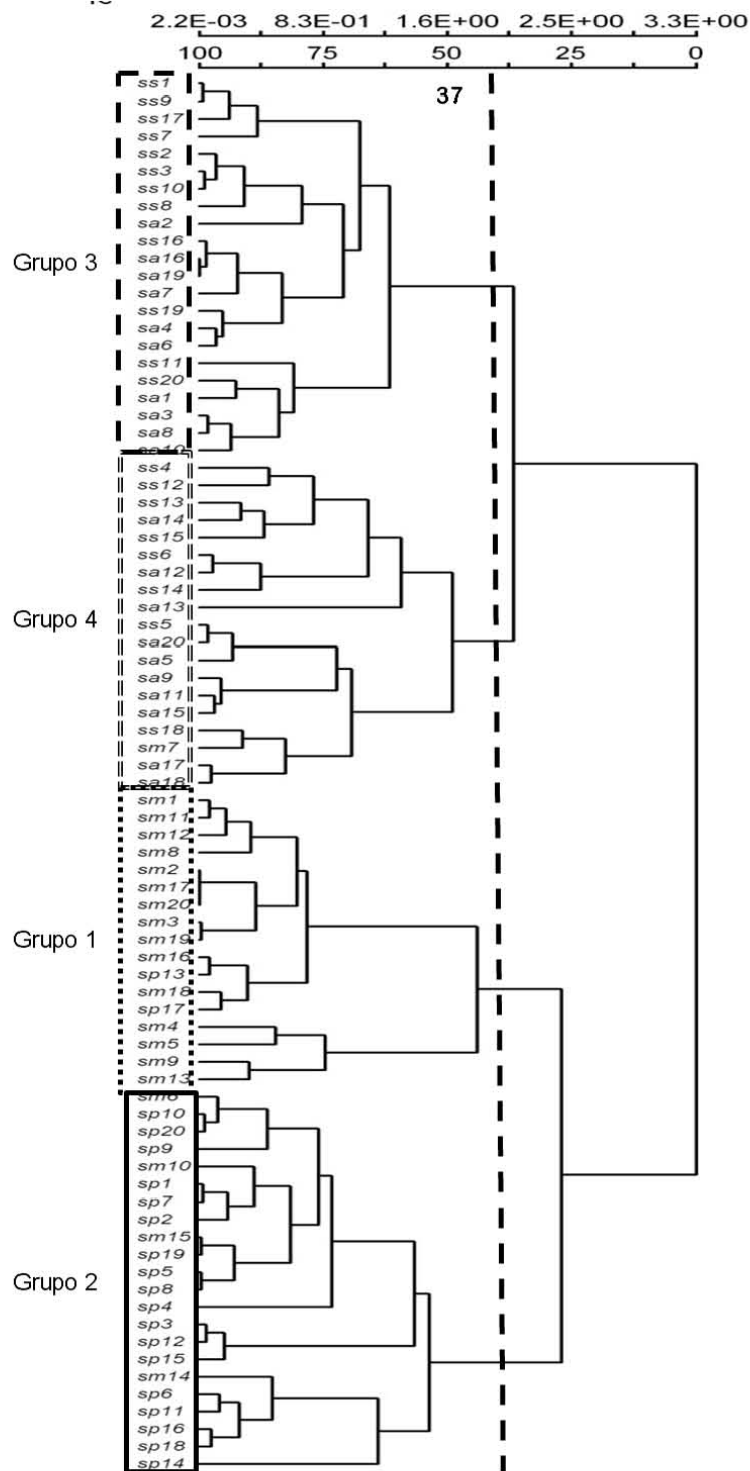


Figura 27. Resultado de la clasificación para la temporada de secas donde: la primera letra indica la temporada (s= secas), la segunda el tipo de vegetación (s= selva, a= acahual, m= matorral, p= pastizal) y el número el cuadro muestreado.

Discusión

Recientemente se ha apreciado la importancia de estudiar las interacciones micorrízicas a diferentes niveles de organización desde individuos hasta poblaciones, comunidades y ecosistemas (Johnson *et al.* 2006). Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) se estudian desde varios aspectos como son la producción de las esporas, colonización intrarradical, producción de micelio extrarradical o su diversidad genética. Se ha considerado que el porcentaje de colonización intrarradical no es un predictor de la funcionalidad mutualista, sin embargo, medidas detalladas de las estructuras fúngicas tanto intrarradicales como extrarradicales pueden ser útiles para ligar la estructura con la función micorrízica (Jonhson *et al.* 2006). A diferencia de la colonización intrarradical, el estudio de la producción de micelio se ha evaluado en pocas ocasiones en sistemas naturales debido a la complejidad de su extracción del suelo (Leake *et al.* 2004).

Tanto la colonización intrarradical como la producción de micelio externo pueden variar tanto en la forma en que crecen las hifas, como en su densidad, dependiendo del tipo de suelo, estatus nutrimental, pH, y variaciones estacionales en la temperatura ambiente (Smith y Smith 2012). En este estudio, se encontraron diferencias en la producción de micelio extrarradical y en la colonización intrarradical en los diferentes tipos de vegetación y, en las temporadas que se estudiaron. El sitio de estudio ha presentado cambios de uso de suelo y alteraciones al paisaje para su transformación en cultivos y potreros; debido a esto, y a sus condiciones edáficas y ambientales (topografía y microclima) contrastantes, presenta diferentes tipos de vegetación (Moreno-Casasola 1982).

Agrupaciones de los sitios

Los tipos de vegetación que se estudiaron en este trabajo se pueden agrupar, considerando las similitudes que presentaron en los factores bióticos y edáficos estudiados, en la selva con el acahual, y el matorral con el pastizal. Esto se confirma en la ordenación, donde se agruparon selva con acahual tanto en la

temporada de lluvias como en la de secas y matorral con pastizal en la temporada de lluvias, aunque se separaron en la temporada de secas. La selva y el acahual, que son los dos tipos de vegetación más forestales del estudio, fueron agrupados tanto por la colonización por arbusculos como por la disponibilidad de NO_3^- y NH_4^+ ; esto puede atribuirse a una mayor competencia por nutrientes y cambios en la radiación en estos ambientes (Janos 1980; Smith *et al.* 2010). Algunos cuadros del matorral y el pastizal se agruparon junto con la selva y el acahual, en estos cuadros se reportó una mayor abundancia de plantas leñosas (entre seis y doce individuos). Por otro lado, el matorral y el pastizal, que tienen alta cobertura de pastos y matorrales aislados dominados por arbustos o árboles de talla modesta, fueron agrupados principalmente por la producción de micelio; en el caso de la temporada seca estos ambientes se separan por completo lo que sugiere que cada uno tiene un funcionamiento independiente ligado a las propiedades del suelo, su vegetación y los resultados observados con respecto a la colonización y producción de micelio de los HMA.

Relación de la vegetación con la producción del micelio externo

Varios autores mencionan que la diversidad vegetal y de HMA están relacionadas (Janos 1980; van der Heijden *et al.* 1998; Hartnett y Wilson 2002; van der Heijden y Sanders 2002; Collins y Foster 2009). van der Heijden *et al.* (1998) demostraron que la riqueza de especies de HMA, así como el incremento en la longitud del micelio en el suelo, están relacionados con un mejor uso de los recursos disponibles en el sistema, lo cual aumenta la productividad y a su vez la diversidad vegetal. Además, Janos (1980) propone que conforme avanza la sucesión aumentan los porcentajes de colonización por HMA, ya que las especies vegetales que se establecen en etapas tardías de la sucesión son mejores competidoras debido a una menor disponibilidad de recursos. En contradicción a la hipótesis planteada en este trabajo, la producción de micelio extrarradical no incrementó conforme aumentó la riqueza de especies leñosas, pues los valores más altos de longitud de micelio se encontraron en el pastizal y en el matorral que son los sistemas con menor riqueza de especies leñosas. A pesar de existir una menor

diversidad de plantas leñosas en estos sitios, la mayoría de las especies que se encuentran en ellos son micorrízicas, además aquí existe una mayor biomasa de pastos con una alta densidad de raíces lo que favorece la asociación micorrízica (Corkidi y Rincón 1997). Se ha sugerido que la diversidad vegetal y la productividad responden más a la identidad de los HMA que a la diversidad de éstos (Vogelsang *et al.* 2006); es muy probable que ello esté ocurriendo en estos tipos de vegetación. El crecimiento vegetal varía con la especie de HMA y a su vez, el crecimiento del hongo con la identidad del hospedero (van der Heijden *et al.* 1998). En este sentido, Johnson *et al.* (2006) explican que existe una enorme variación en la función micorrízica entre diferentes combinaciones de genotipos de especies de plantas y hongos.

La alta producción de micelio en el matorral y pastizal también puede explicarse como resultado de una mayor intensidad lumínica en estos sitios debido a que existe una menor cobertura vegetal, lo que podría favorecer el aumento en la actividad fotosintética de las plantas y más carbohidratos disponibles para el desarrollo de los HMA (Guadarrama *et al.* 2008). En el matorral de La Mancha se ha reportado un valor de luz fotosintéticamente activa (PAR) trece veces mayor que en el sotobosque de la selva y en el acahual (Mesa-Sierra, datos no publicados), además la cobertura vegetal del matorral es tres veces menor a la de la selva y el acahual (Mesa-Sierra, datos no publicados). Por esto, las plantas pioneras de crecimiento rápido y demandantes de luz tienen una mayor colonización que plantas de lento crecimiento y tolerantes a la sombra como las encontradas en la selva y en el acahual (Zangaro *et al.* 2012). Tanto en la selva como en el acahual, los sitios con la menor producción de micelio, existe una mayor competencia por luz aumentando la translocación de carbono a las partes aéreas y disminuyéndola a las raíces así limitando la disponibilidad de carbono para el micelio (Rillig *et al.* 2002).

Relación de la vegetación con la colonización intrarradical

La colonización intrarradical total no mostró un patrón claro relacionado a un aumento en la diversidad vegetal. En este caso, tanto sitios con alta riqueza y abundancia de plantas leñosas como la selva, y sitios con baja riqueza y abundancia como el matorral, presentaron una alta colonización intrarradical promedio ($62\% \pm 2.1$ y $63\% \pm 1.76$, respectivamente). En la selva, se ha observado que la asociación micorrízica ayuda a disminuir la competencia que muchos individuos experimentan, mejorando su supervivencia (Janos 1980; Sánchez-Gallén y Guadarrama 2000). En cuanto a la colonización por arbusculos, estos valores coinciden con la hipótesis planteada. Los porcentajes más altos se encontraron en los ambientes con una mayor diversidad vegetal como lo son la selva y el acahual. Estos resultados coinciden con el estudio de Núñez-Castillo y Álvarez-Sánchez (2003) que se llevó a cabo en la selva húmeda de Los Tuxtlas, Veracruz, en el que se reporta una mayor colonización por arbusculos en sitios de selva, con dosel cerrado y mayor número de individuos, que en claros de la selva, lo que se atribuye como una respuesta a una mayor competencia por nutrientes. En este sentido, Janos (1980) y Smith *et al.* (2010) señalan que en ecosistemas como la selva existe mayor competencia tanto por luz como por nutrientes, por lo que los HMA mejoran la absorción de nutrientes disminuyendo la competencia.

Relación de las temporadas con la producción del micelio externo y la colonización intrarradical

Considerando las temporadas, tanto la producción de micelio como la colonización intrarradical por arbusculos fueron mayores durante la temporada de secas, mientras que la colonización intrarradical total, por hifas y por vesículas fueron mayores en la temporada de lluvias. Las diferencias que se observan en la producción de micelio y en la colonización intrarradical entre ambas temporadas pueden deberse principalmente a la disponibilidad de agua y la fenología de la planta hospedera (Zangaro *et al.* 2012).

Brito *et al.* (2011) indican que el micelio extrarradical puede mantener su infectividad en condiciones como las que se presentan en el sitio de estudio durante la temporada de secas. De esta manera, el micelio es importante para el desempeño de las plantas bajo condiciones de estrés hídrico. Existen pocos estudios que han examinado cambios en la producción del micelio debido a cambios en la precipitación y la temperatura (Lutgen *et al.* 2003); en algunos de ellos se ha observado que el micelio disminuye en condiciones secas (Staddon *et al.* 2003); sin embargo, también existen estudios en los que la producción de micelio aumentó en estas condiciones (Bethlenfalvay *et al.* 1988; Davies *et al.* 1992; Khalvati *et al.* 2005). Neumann *et al.* (2009) comprobaron que cuando el estrés por sequía es temporal o espacialmente limitado, el mantenimiento de micelio funcional en el suelo seco puede ser de gran importancia para la conservación de la simbiosis, siempre y cuando no existan condiciones de baja disponibilidad de P, ya que el suministro de fotosintatos se puede reducir por parte de la planta. Además, Miller *et al.* (1995) reportan que en temporada de secas el micelio permanece mientras que la producción de raíces se reduce; por lo tanto, el micelio puede facilitar las respuestas adaptativas de crecimiento en condiciones limitadas por disponibilidad de agua.

En el caso de la colonización por arbusculos, su incremento puede deberse a que es la estructura donde ocurre el mayor intercambio de nutrientes entre las plantas y los HMA, (Smith y Read 2008) y en la temporada de secas las plantas están limitadas no sólo por el estrés hídrico, sino por una baja disponibilidad de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo; por lo tanto es necesaria la translocación de carbono al hongo para la producción de los arbusculos (Miller *et al.* 1995).

Por el contrario, los porcentajes de colonización total, por hifas y por vesículas, tuvieron valores más altos en la temporada de lluvias. Esto puede reflejar una alta actividad micorrízica relacionada con una mayor actividad metabólica de las plantas al existir más disponibilidad de agua (Lugo *et al.* 2003). En esta temporada, las plantas pueden asignar mayor cantidad de fotosintatos a la parte radical (Carballar-Hernández *et al.* 2013) aumentando así la producción de raíces

(Allen *et al.* 1998; Zangaro *et al.* 2012) y, por lo tanto, la colonización por HMA. Este resultado coincide con estudios previos donde se ha observado mayor colonización intrarradical en la temporada de lluvias en ecosistemas tropicales (Sigüenza *et al.* 1996; Allen *et al.* 1998; Núñez-Castillo y Álvarez-Sánchez 2003; Diagne *et al.* 2006).

Relación de las propiedades del suelo con la producción del micelio externo y la colonización intrarradical

La disponibilidad y el balance de nutrientes en el suelo son factores importantes para medir la función mutualista (Hayman 1982; Johnson 2010). Por lo tanto, las diferentes propiedades del suelo pueden ser factores importantes que influyan en el desarrollo del micelio. En este estudio, la producción de micelio presentó correlaciones negativas con el NO_3^- , el N total y la MOS en ambas temporadas, y con el NH_4^+ en la temporada de lluvias. Al igual que la producción de micelio, la colonización intrarradical total se correlaciona negativamente con el porcentaje de N total; esto concuerda con la literatura y los resultados esperados. Un meta-análisis realizado por Treseder (2004) mostró que en la mayoría de los casos, cuando se presentan altos niveles de N y P disminuyen la biomasa micorrízica. En un estudio de Dai *et al.* (2013) observaron que la longitud de micelio extrarradical disminuyó significativamente cuando aumentó la materia orgánica en el suelo. También Hu *et al.* (2013) reportaron que la longitud del micelio disminuyó con la disponibilidad de N. Por lo tanto, esto sugiere que la producción del micelio es sensible a la fertilidad del suelo reduciéndose cuando hay mayor disponibilidad de nutrientes (Dai *et al.* 2013; Hu *et al.* 2013). Además, Infante (2011) reportó para suelos de selva en La Mancha, que dominan procesos anaeróbicos en los que predominan una fase de oxidación de Fe. En estos casos, la degradación de celulosa proveniente del material vegetal en descomposición, es resultado de un proceso de fermentación por microorganismos (Stevenson y Cole 1999). Quizá estas condiciones de saturación de agua, anaerobias y de acumulación de celulosa se estarían presentando en nuestros sitios de estudio, las cuales se han

reportado inhiben la actividad de los HMA (Gryndler *et al.* 2009) y podrían explicar la correlación negativa con la MOS en este estudio.

Del mismo modo que la producción de micelio, la colonización intrarradical se observó negativamente afectada por la concentración de N en el suelo, ya que se encontraron correlaciones negativas de la colonización total con el N total en temporada de lluvias y de la colonización por arbusculos con el NH_4^+ en la temporada seca. Además se observó una correlación negativa con la concentración de P en esta misma temporada. Esto coincide con lo reportado por varios autores (Treseder y Allen 2002; Johnson *et al.* 2006; Johnson *et al.* 2010; Smith *et al.* 2010; Smith y Smith 2012) que indican que cuando las plantas se enriquecen con nutrientes al adquirirlos con mayor facilidad del suelo, tienden a translocar más fotosintatos a la parte aérea disminuyendo la translocación a las raíces, dando como resultado una reducción de la biomasa de HMA. No obstante, si existe poca disponibilidad de nutrientes en el suelo, como P y N, se translocan más fotosintatos al hongo a cambio de estos nutrientes (Johnson 2010). A diferencia de las otras estructuras, la colonización intrarradical por arbusculos, presentó correlaciones positivas significativas con la MOS y el N total en ambas temporadas (Cuadro 6); esta diferencia con respecto a los resultados observados con el micelio puede ser resultado del papel de los arbusculos como estructura de intercambio (Miller *et al.* 1995; Johnson *et al.* 2003; Smith y Read 2008) a diferencia del micelio que es una estructura de exploración (Miller *et al.* 1995; Leake *et al.* 2004).

Cuadro 7. Correlaciones significativas (R) de la longitud de micelio y la colonización intrarradical con diferentes formas de N ($p < 0.05$) (n=80)

	Lluvias	Secas
Longitud de micelio		
Materia orgánica	-0.59	-0.66
N total	-0.60	*-0.66
NO ₃ ⁻	-0.47	-0.66
NH ₄ ⁺	-0.40	
Colonización total		
N total	-0.27	
Colonización por arbusculos		
Materia orgánica	0.36	0.31
N total	0.25	*0.39
NH ₄		-0.23

*n=40

La textura del suelo presentó correlaciones con la producción de micelio; con el porcentaje de arena fue positiva, mientras que con los porcentajes de limo y arcilla fue negativa. En otros estudios se ha reportado que el suelo arenoso favorece la producción del micelio debido a una mejor aireación (Gaur y Adholeya 2000). Además, los poros que se forman en suelos más arenosos pueden permitir un mejor crecimiento del micelio externo (Smith y Smith 2012). Por otro lado, en este tipo de suelos los nutrientes se lixivian con mayor facilidad, por lo tanto, una mayor producción de micelio favorece la retención de estos nutrientes en suelos arenosos (Hu *et al.* 2013).

También, se encontró una correlación positiva entre el pH del suelo y la producción de micelio. Los valores de pH en el sitio de estudio son más elevados en comparación con los valores encontrados en un ecosistema similar en México en la región de Chamela, Jalisco, cuyos valores de pH son entre 6 y 7 (Maass *et al.* 1988). Esta correlación puede deberse a que el pH afecta la movilización y disponibilidad de nutrientes (van Aarle *et al.* 2002) por lo tanto, se podría requerir una mayor producción de micelio para obtener estos nutrientes (Schüßler *et al.* 2001). Además, en este sitio, por su cercanía al mar, puede existir una acumulación de sales, que al pueden lavarse de los suelos más arenosos del

matorral y el pastizal que tienen una CE de la mitad de la del acahual y la selva (Gavito, comunicación personal).

El paisaje heterogéneo de la zona de estudio presenta diferentes tipos de textura del suelo, valores de pH y porcentajes de materia orgánica, que pueden afectar diferencialmente la proporción y disponibilidad de nutrientes en el suelo. Debido a esto, la densidad de micelio varía a lo largo de estos ecosistemas. Los resultados confirman lo anterior, siendo la producción de micelio en el matorral en temporada de secas casi tres veces mayor que en el acahual en temporada de lluvias. Además, las diferentes propiedades del suelo afectaron tanto negativamente como positivamente la producción de micelio, ya que éste se correlacionó positivamente con el pH y con el porcentaje de arena, mientras que con el porcentaje de materia orgánica, N total, limo y arcilla y las concentraciones de NH_4^+ y NO_3^- las correlaciones fueron negativas.

Relación de la biomasa de raíces con la producción del micelio externo y la colonización intraradical

En relación con las raíces, tanto la biomasa total como la de raíces finas se correlacionaron positivamente con la longitud del micelio. Las raíces pueden servir como una estructura guía para la exploración del micelio (Bago *et al.* 1998). Además, esto coincide con el hecho de que la mayor producción de raíces y la mayor producción de micelio se encontraron en los mismos sitios, es decir el matorral y el pastizal. Sin embargo, en relación con las temporadas, hubo mayor producción de raíces en lluvias a diferencia del micelio que fue mayor en secas ya que la producción de raíces es importante para el inicio de la colonización intraradical y el desarrollo externo empieza hasta después y aumenta progresivamente. Además, las raíces se van muriendo por la sequía y el micelio externo se va a descomponiendo más lento que las raíces (Gavito, comunicación personal). Las raíces también son importantes en el transporte de nutrientes (Kellman 1990; Smith *et al.* 2010), y uno de los nutrientes que puede estar siendo absorbido directamente por las raíces es el P ya que no se encontró ningún tipo de

correlación con este nutriente y el micelio externo ya que los valores de este son muy similares en todos los sitios.

Conclusiones

A diferencia de la hipótesis planteada, los resultados mostraron que la riqueza de especies leñosas en los tipos de vegetación no explica directamente la funcionalidad de la asociación micorrízica arbuscular evaluada mediante la producción de micelio y la colonización intrarradical, con excepción de la colonización por arbusculos que aumentó con una mayor diversidad de plantas leñosas. Las variaciones observadas en las condiciones bióticas, edáficas y ambientales particulares de cada sitio están limitando la disponibilidad de recursos y determinando esta funcionalidad.

Las especies vegetales de ambientes donde existe una mayor riqueza y abundancia de plantas leñosas, como la selva y el acahual, presentan una mayor presión por competencia, tanto por luz como por nutrientes; por lo tanto las plantas, asignan más carbohidratos a la producción de estructuras de intercambio de nutrientes, como son los arbusculos. En cambio, en ambientes como el matorral y el pastizal, donde existe un dosel más abierto y un menor número de individuos y especies, aparentemente existen más requerimientos por la exploración de nutrientes como resultado de presentar suelos arenosos con pH alcalino; por este motivo es que se registró una mayor producción de micelio externo en estos sitios.

En las temporadas también se observaron patrones en la funcionalidad del hongo. Los recursos fueron asignados a diferentes estructuras dependiendo de la estacionalidad. En lluvias se observaron más hifas y vesículas, mientras que en secas más arbusculos y micelio externo. Además, el matorral y el pastizal, a pesar de ser ambientes muy similares en la temporada de lluvias, en secas se comportan de manera distinta por una mayor producción de micelio en el matorral debido a las diferencias en el microambiente que se puede producir en los arbustos aislados que se localizan en este sitio y no el pastizal; mientras que la selva y el acahual se separan de estos ambientes porque su producción de micelio es menor tanto en lluvias como en secas.

En los tipos de vegetación estudiados las formas disponibles de N inorgánico parecen ser las limitantes y las que mejor explicaron la funcionalidad de la asociación en términos de la producción de micelio y la colonización intrarradical; en este sentido las correlaciones negativas del NH_4^+ y el NO_3^- con el micelio, y negativa del amonio con la colonización por arbusculos sustentan la hipótesis.

Finalmente, la disponibilidad de P sólo tuvo una correlación negativa significativa con la colonización por arbusculos en la temporada de secas, por lo que se concluye que éste nutriente puede ser adquirido directamente por las raíces y el hongo no contribuye significativamente a la translocación de P a la planta.

Apéndice 1

Técnicas de análisis de suelos

Aproximadamente 200 g de suelo seco se tamizó con un tamiz con una apertura de 2mm para determinar sus características fisicoquímicas. Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Fertilidad de Suelos en el Colegio de Posgraduados, Montecillos.

Todos los análisis fueron realizados siguiendo protocolos básicos (Etchevers 1992). La concentración de N total se obtuvo por digestión húmeda con la mezcla ácido sulfúrico-salicílico y una destilación semi-micro Kjeldahl por arrastre de vapor y titulación con ácido sulfúrico 0.05 N (Bremner 1965). En cuanto al nitrógeno inorgánico, NH_4 y NO_3 se obtuvieron mediante la extracción con KCl 2 N, destilación por arrastre de vapor, con óxido de magnesio y aleación de Devarda. (Bremner 1965). El contenido de materia orgánica se obtuvo por medio de una digestión húmeda (Walkley y Black 1934). La concentración de P inorgánico se estimó mediante la extracción del fósforo con NaHCO_3 0.5 M pH 8.5 y determinación colorimétrica (Olsen *et al.* 1954). La concentración de K intercambiable se determinó mediante la extracción con NH_4OAc 1N pH 7, y por fotometría de llama (Knudsen *et al.* 1989).

La textura se estimó mediante dispersión con hexametáfosfato de sodio y carbonato de sodio (Etchevers 1992); la determinación del pH se realizó en agua (relación 1:2) (Bates 1964) y la conductividad eléctrica se realizó en agua, relación 1:5, con una medición con el puente de conductividad (Jackson 1982).

Apéndice 2

Porcentaje de colonización intrarradical total y por estructura

Para la colecta de raíces se tomaron muestras compuestas de suelo, separando la hojarasca. Las muestras se mantuvieron en refrigeración 3°C hasta el momento de procesarse. Posteriormente se separaron las raíces finas de toda la muestra.

Una vez obtenidas las raíces se llevó a cabo la tinción de éstas por la técnica de Phillips y Hayman (1970) de la siguiente manera:

Se lavaron las raíces con agua corriente para quitar el suelo.

Se cortaron y colocaron en rejillas marcadas con la identificación de cada muestra, esto se hizo en dos o tres rejillas dependiendo la cantidad de raíces encontradas en la muestra.

Las rejillas se colocaron en un vaso de precipitados de un litro para realizar el tratamiento químico.

Se cubrieron las rejillas con KOH al 10% y se metieron en autoclave durante una hora a una temperatura de 100 °C, las raíces están listas cuando se doblan al tomarlas con una aguja y se les observa blanquecinas o transparentes; enseguida se enjuagaron con agua corriente.

Cuando las raíces aún estaban pigmentadas se les adicionó una solución de H₂O₂ (agua oxigenada) por 3 a 5 minutos. Transcurrido este tiempo se enjuagaron con agua corriente.

Posteriormente se cubrieron las raíces con HCl al 10% por 10 minutos.

Se escurrió el HCl y sin enjuagar las raíces, se añadió la solución de azul de tripano al 0.05% durante 24 horas a temperatura ambiente.

Transcurrido este tiempo se escurrió el colorante con ayuda de un tamiz y se enjuagó el exceso de colorante en agua corriente y se guardaron las raíces en lactoglicerol hasta su revisión.

La cuantificación de la colonización se realizó con la técnica de McGonigle *et al.* (1990) de la siguiente manera:

Se colocaron entre 20 y 25 segmentos de raíces de aproximadamente 2 cm de largo en un portaobjetos, y se cubrieron con un cubreobjetos con alcohol polivinílico, y se dejaron secar durante 5 días.

Se observaron en el microscopio óptico con el objetivo de 20X y se verificaron las estructuras con el objetivo de 40X.

Las preparaciones se observaron empezando en uno de los extremos del primer segmento de raíz.

A partir de ahí se movió la platina, de manera horizontal sobre una línea, hacia el resto de los segmentos de raíz, haciendo observaciones con el objetivo de 20X. Al llegar al último segmento, la platina se movió verticalmente hasta la parte media del segmento y se repitió el procedimiento. Nuevamente, al llegar al último segmento de raíz se movió una vez más verticalmente hasta el extremo del portaobjetos y se repitió el procedimiento.

Al terminar de revisar se contaron con aproximadamente 60 campos observados. Al observar cada campo se anotó un número uno si se encuentra alguna estructura fúngica (hifa, vesícula, arbusculo, espora, ovillo) y un cero de no encontrarla.

El porcentaje de colonización total y por cada estructura se estimó aplicando la siguiente fórmula:

- $$\text{Porcentaje de colonización total} = \frac{\text{número de campos colonizados}}{\text{número total de campos observados}} \times 100$$

Apéndice 3

Extracción y cuantificación del micelio extrarradical

La extracción del micelio extrarradical se llevó a cabo mediante la técnica de Miller y Jastrow (1998) considerando las modificaciones realizadas por Jasso (2010) y Sánchez de Prager *et al.* (2010). Este procedimiento se detalla a continuación:

Se debe considerar que las muestras tienen que permanecer en refrigeración (3°C) hasta el momento de la extracción.

Se tomaron 5 g de suelo húmedo tamizado a través de un tamiz con una apertura de 2mm

La muestra se colocó en un matraz Erlenmayer de vidrio de 500 ml

Se agregaron 250 ml de agua y 31 ml de hexametáfosfato de sodio.

La solución se agitó vigorosamente para deshacer los agregados del suelo

Una vez que se mezcló la solución del suelo, el matraz se colocó en la agitadora por una hora y media como mínimo, a 180 rpm aproximadamente.

Después de este tiempo, mientras la agitación sigue en curso, se tomó una alícuota de 12 ml de la solución del suelo, evitando tomar el precipitado, y se colocaron en un matraz de 500 ml con 250 ml de agua y 31 ml de hexametáfosfato.

Nuevamente se colocó el matraz en la agitadora a 180 rpm aproximadamente durante 20 minutos.

Se tomaron cuatro alícuotas de 5 ml de la solución del suelo, tomando en cuenta las mismas consideraciones que el paso anterior. Las alícuotas se pasaron a través de un tamiz con una apertura de 0.037mm, descartando lo que pasó a través del tamiz.

Se preparó la bomba de vacío colocando una membrana de nitrocelulosa de 45 μm de apertura en triplicado por cada muestra. El tamiz se colocó sobre el embudo de la bomba y se lavó con abundante agua con la bomba encendida para que se filtrara.

Una vez filtrada la muestra se apagó la bomba y se quitó el vacío y se agregaron 5 ml de azul de tripano al 0.05%. Se dejó tiñendo la membrana durante 10 minutos para que se tiñera el micelio que quedó en ella.

Transcurrido este tiempo se encendió la bomba para quitar el colorante y, sin apagar la bomba, se retiró el embudo del equipo y hasta que se removiera el exceso de humedad.

Se apagó la bomba y se montaron las membranas con ayuda de unas pinzas sobre un portaobjetos con alcohol polivinílico, se dejaron secar durante 24 horas. Al día siguiente se colocó un cubreobjetos con alcohol polivinílico tratando de no producir burbujas.

Posteriormente la cuantificación se realizó mediante la técnica de Jakobsen (1998). Se observaron 70 campos en vez de 25 a lo largo de la membrana evitando las orillas de esta.

Para la cuantificación del micelio extrarradical en la muestra del suelo se consideraron:

- Longitud de la unidad de la rejilla en el ocular de 10x10 sobre el filtro usando un objetivo micrométrico (a):
 - $a = 0.05$ (mm)
- Longitud total de la hifa observada sobre el área de filtrado cubierta por 70 campos de observación (H):
 - $H = (11/14) \cdot N \cdot a$ (mm)
 - 11/14 = constante
 - N = número total de interseptos en 70 campos de observación
- Área filtrable sobre la membrana de nitrocelulosa (FA):

- $FA = \pi \cdot r^2$ (mm²)
 - r= radio del área de captación/filtrado
 - r= 9.5 mm
- Área total examinada o área contable (CA)
 - $CA = (10 \cdot a)^2 \cdot C$ (mm²)
 - C= número total de campos observados
 - C= 70
- Longitud total de la hifa sobre el área filtrable (HL)
 - $HL = (H/CA) \cdot FA$ o $HL = H \cdot FA/CA$ (mm)
- Total de hifas en la muestra de suelo (TL)
 - $TL = (HL \cdot [(12+250+31)/20] \cdot [(250+31)/12]) / (p)$
 - p= peso seco en g de la muestra de suelo 5 g utilizada
 - 250 ml es el volumen de agua donde la muestra fue suspendida
 - 31 ml el volumen utilizado de hexametáfosfato de sodio en las dos disoluciones
 - 12 y 20 ml son las alícuotas de las disoluciones pipeteadas del suelo

Apéndice 4

Correlaciones significativas para la longitud de micelio

Los análisis de correlación de Spearman mostraron que existen correlaciones negativas de la longitud de micelio en temporada de lluvias y secas con la riqueza (R=-0.53, R=-0.54; $p < 0.05$) (Figura A4-1) y la abundancia de plantas leñosas (R=-0.61, R=-0.60; $p < 0.05$) (Figura A4-2)

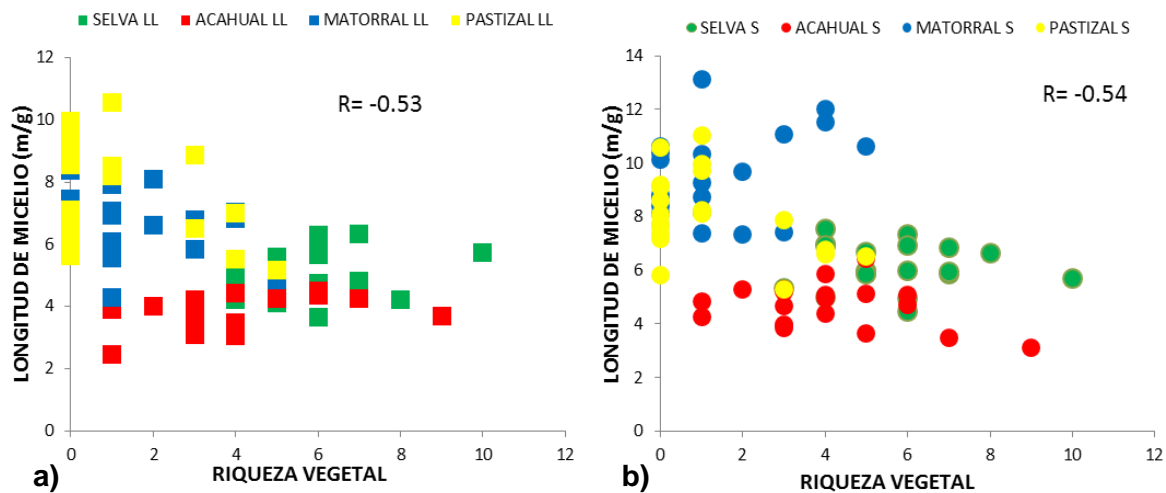


Figura A4-1. Correlación entre la longitud de micelio y la riqueza de especies de plantas leñosas en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

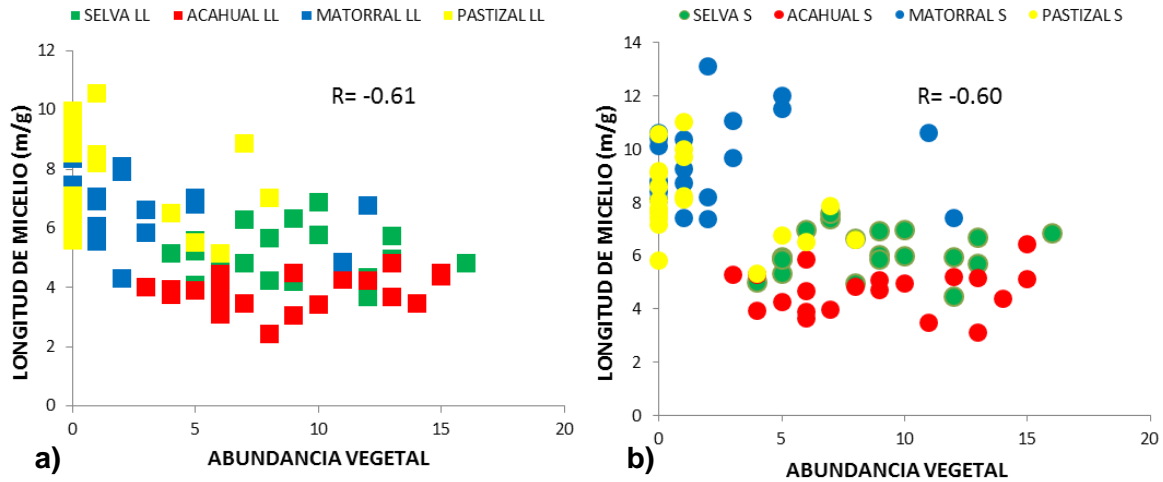


Figura A4-2. Correlación entre la longitud de micelio y la abundancia de plantas leñosas en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

En cuanto a las características del suelo, se encontraron correlaciones significativas para ambas temporadas con el pH ($R=0.57$, $R=0.69$; $p<0.05$) (Figura A4-3), la conductividad eléctrica ($R=-0.55$, $R=-0.55$; $p<0.05$) (Figura A4-4), el porcentaje de materia orgánica ($R=-0.59$, $R=-0.66$; $p<0.05$) (Figura A4-5), el porcentaje de N total ($R=-0.60$, $R=-0.66$; $p<0.05$) (Figura A4-6), la concentración de NO_3^- ($R=-0.47$, $R=-0.66$; $p<0.05$) (Figura A4-7), la concentración de K^+ intercambiable ($R=-0.50$, $R=-0.69$; $p<0.05$) (Figura A4-8), y los porcentajes de arena ($R=0.60$, $R=0.53$; $p<0.05$) (Figura A4-9), limo ($R=-0.63$, $R=-0.53$; $p<0.05$) (Figura A4-10) y arcilla ($R=-0.46$, $R=-0.55$; $p<0.05$) (Figura A4-11). En cuanto al NH_4^+ solo se encontró correlación significativa en la temporada de lluvias ($R=-0.40$; $p<0.05$) (Figura A4-12).

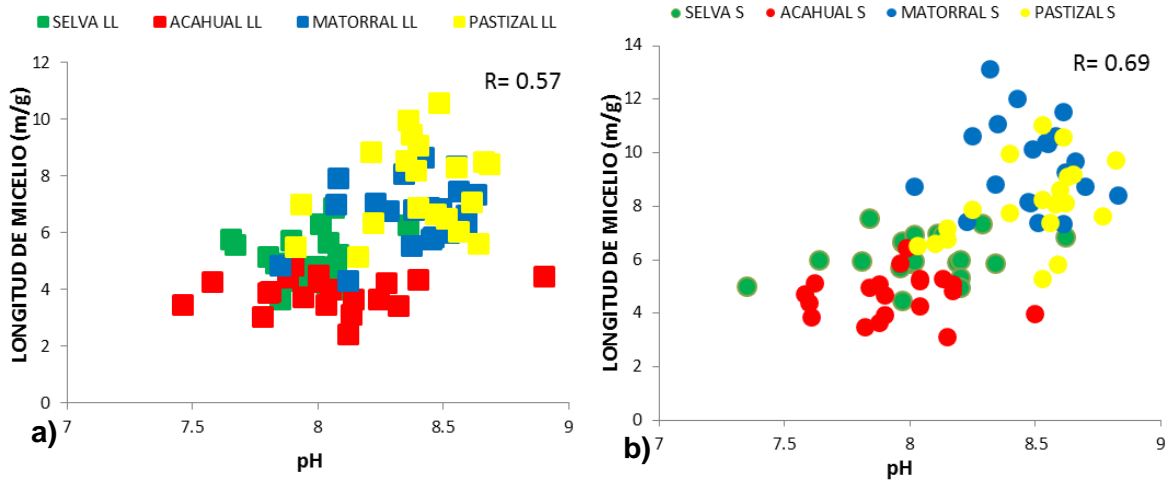


Figura A4-3. Correlación entre la longitud de micelio y el pH en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

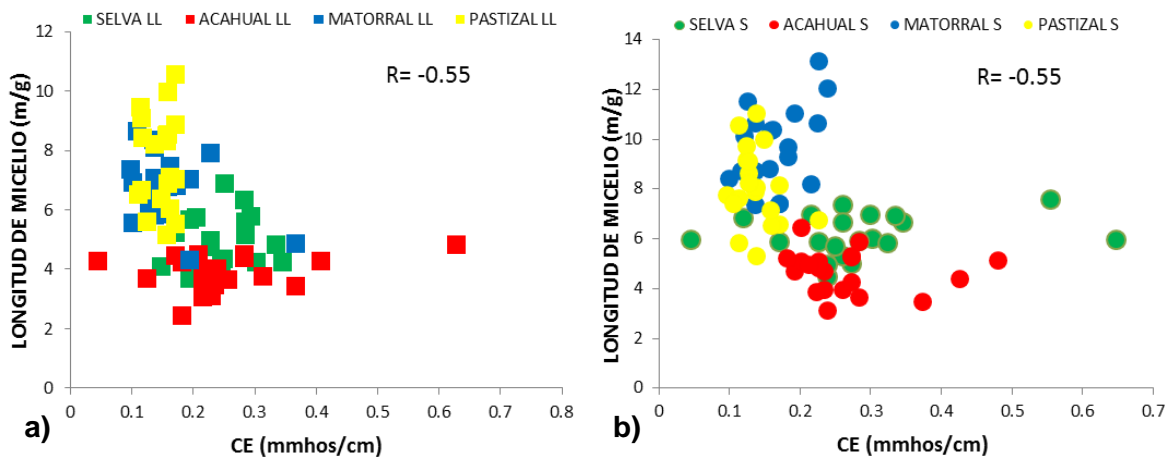


Figura A4-4. Correlación entre la longitud de micelio y la conductividad eléctrica en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

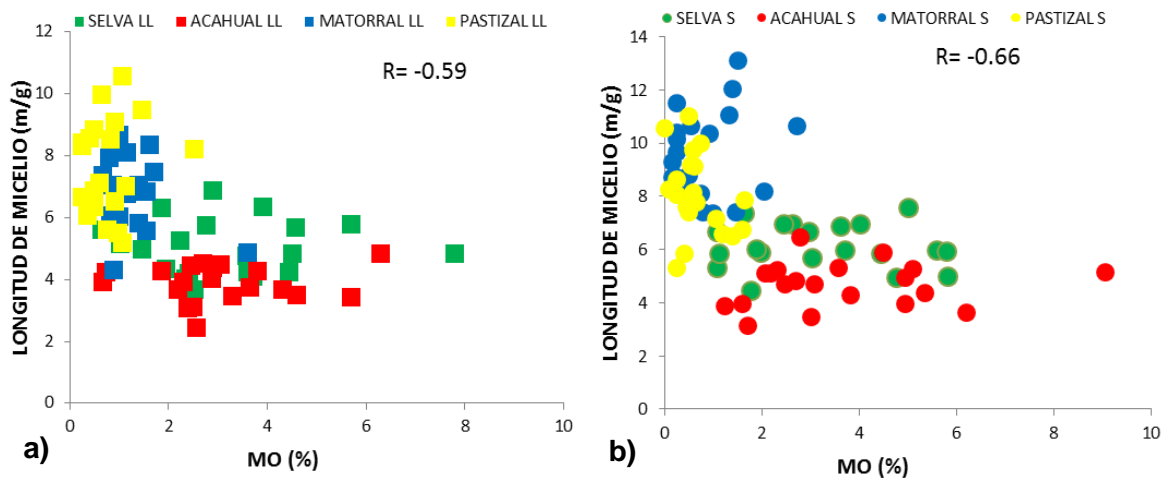


Figura A4-5. Correlación entre la longitud de micelio y el porcentaje de materia orgánica en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

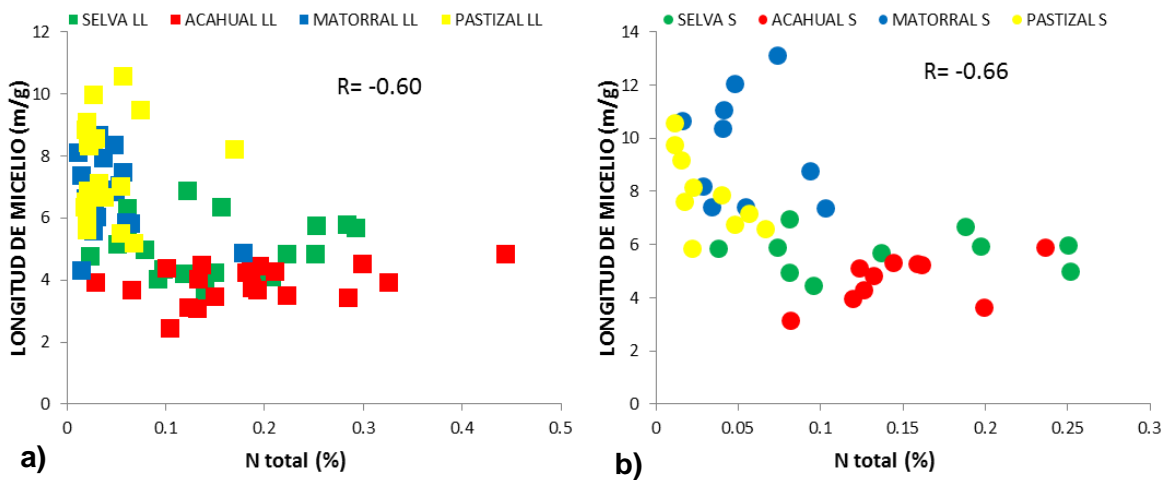


Figura A4-6. Correlación entre la longitud de micelio y el porcentaje de N total en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=10 por tipo de vegetación y temporada).

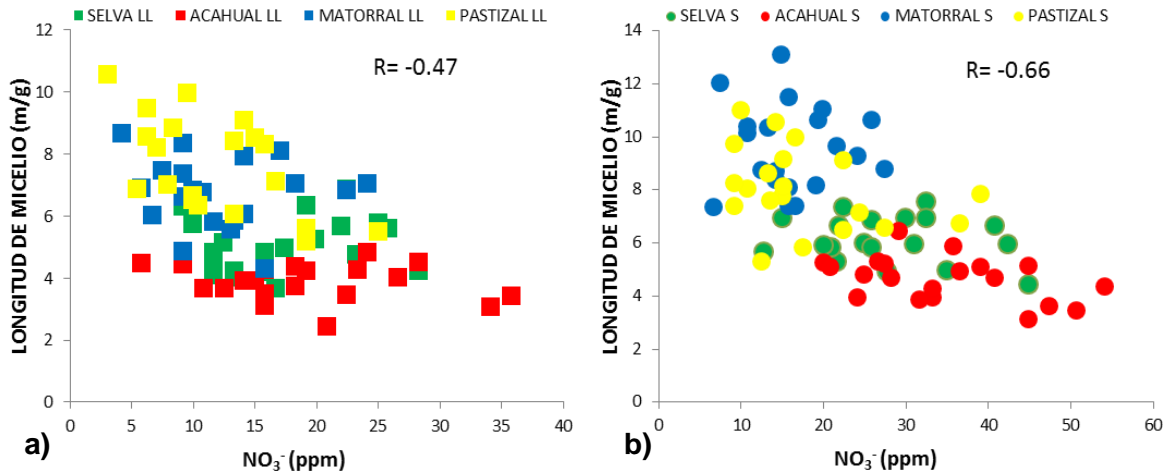


Figura A4-7. Correlación entre la longitud de micelio y la concentración de NO₃⁻ en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

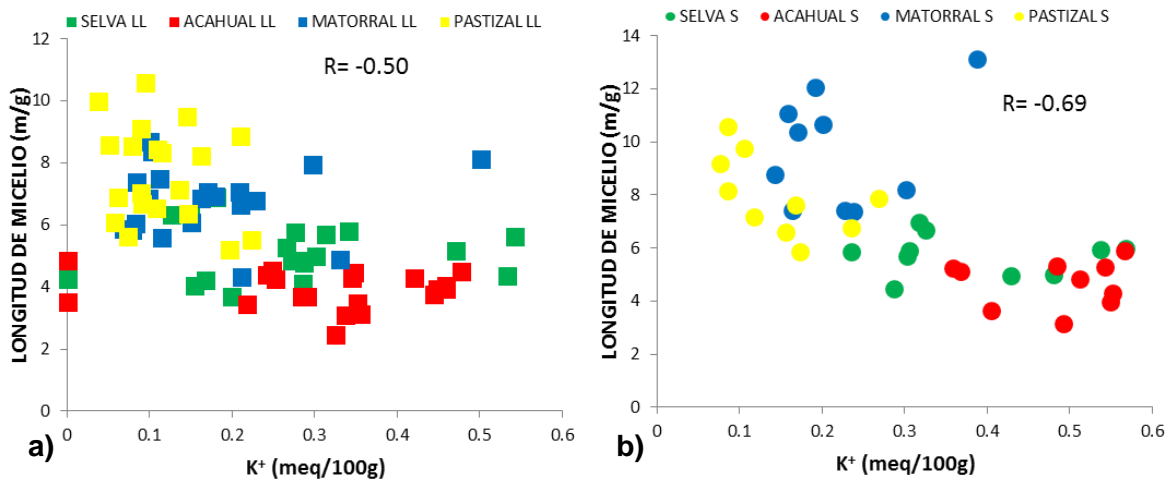


Figura A4-8. Correlación entre la longitud de micelio y la concentración de K⁺ intercambiable en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=10 por tipo de vegetación y temporada).

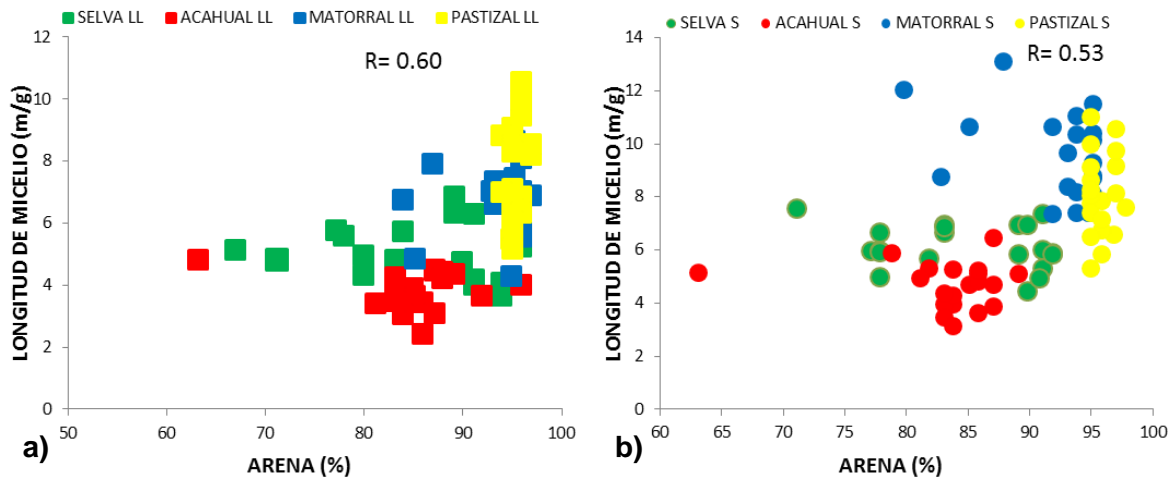


Figura A4-9. Correlación entre la longitud de micelio y el porcentaje de arena en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

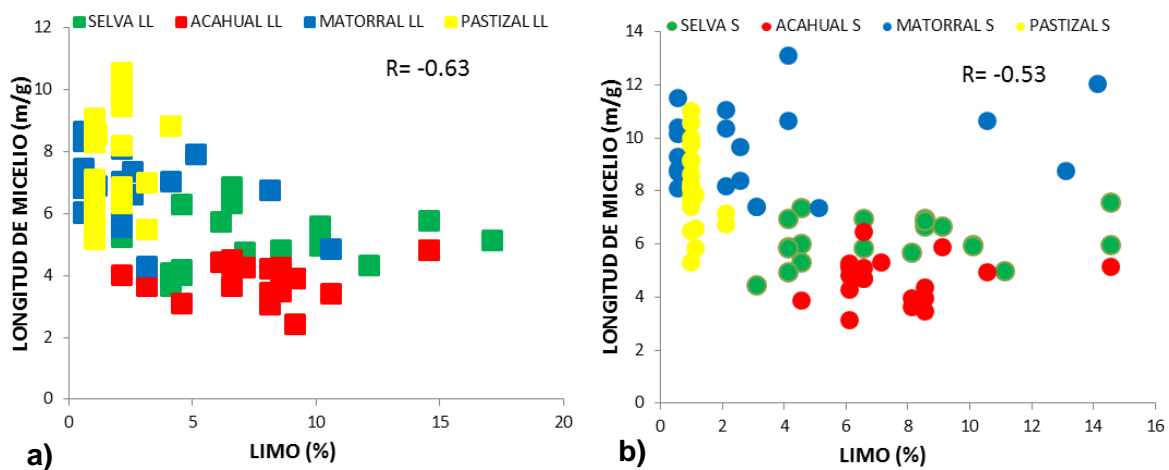


Figura A4-10. Correlación entre la longitud de micelio y el porcentaje de limo en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

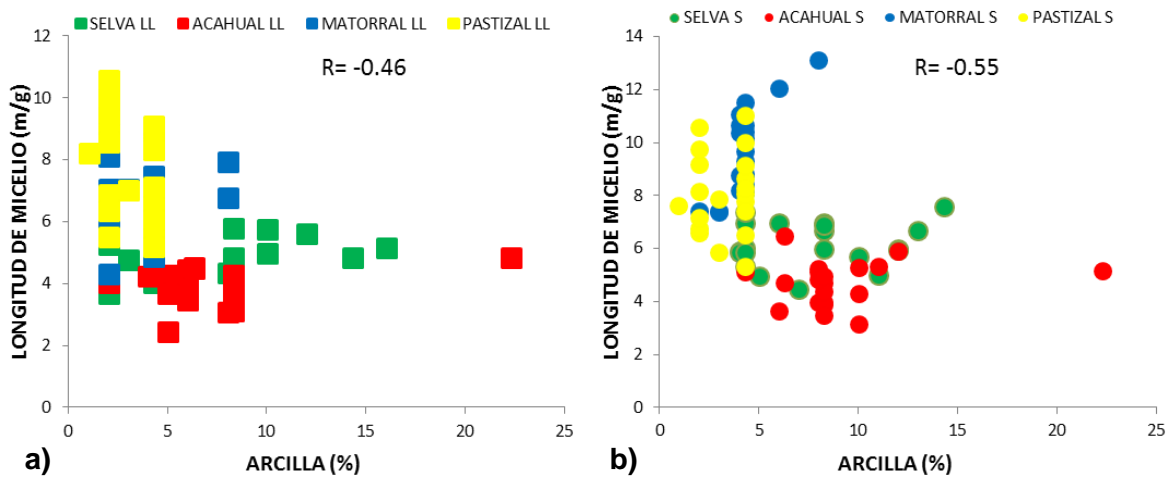


Figura A4-11. Correlación entre la longitud de micelio y el porcentaje de arcilla en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

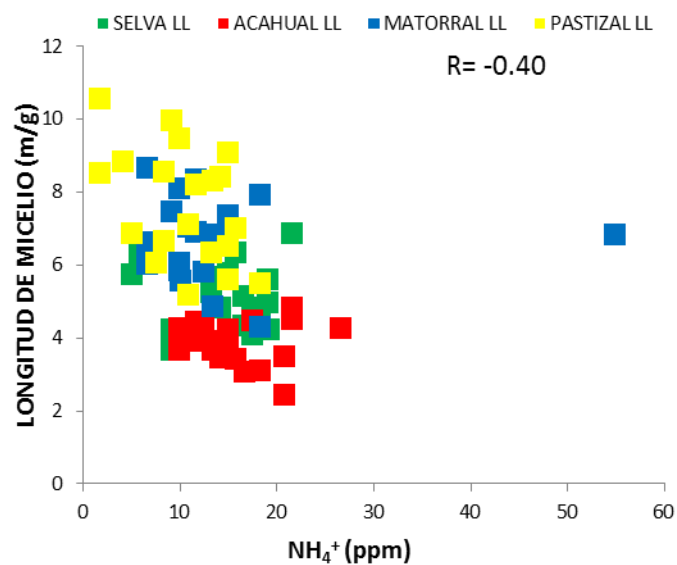


Figura A4-12. Correlación entre la longitud de micelio y la concentración de NH₄⁺ en el suelo en temporada de lluvias (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

Con respecto a la biomasa de raíces se encontraron correlaciones significativas en ambas temporadas de la longitud de micelio con la biomasa total (R=0.32, R=0.33; p<0.05) (Figura A4-13) y la biomasa de raíces finas (R=0.48, R=0.39; p<0.05) (Figura A4-14).

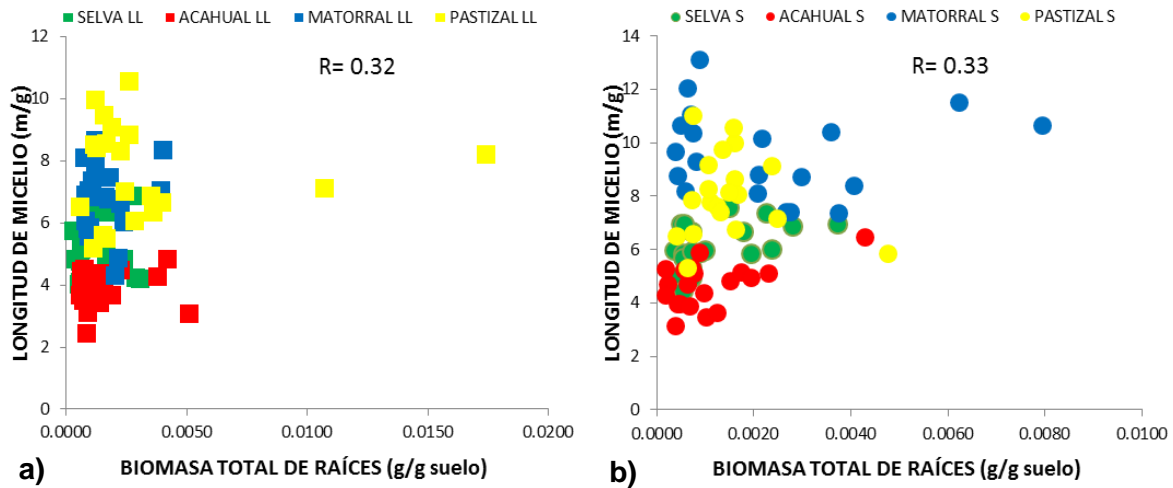


Figura A4-13. Correlación entre la longitud de micelio y la biomasa total de raíces en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

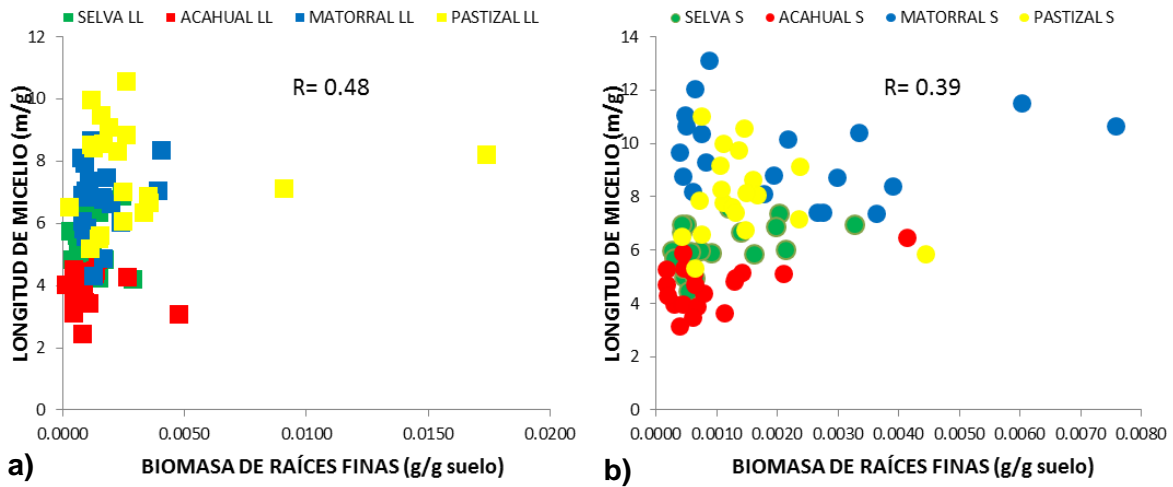


Figura A4-14. Correlación entre la longitud de micelio y la biomasa de raíces finas en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

Apéndice 5

Correlaciones significativas para la colonización intrarradical

Los análisis de correlación de Spearman mostraron que solamente el porcentaje de N total presenta correlación significativa con la colonización intrarradical total en la temporada de lluvias ($R=-0.27$; $p<0.05$) (Figura A5-1). Además la colonización por arbusculos presentó correlaciones significativas en ambas temporadas con el porcentaje de materia orgánica ($R=0.36$, $R=0.31$; $p<0.05$) (Figura A5-2), el de N total ($R=0.25$, $R=0.39$; $p<0.05$) (Figura A5-3), el de arena ($R=-0.25$, $R=-0.32$; $p<0.05$) (Figura A5-4), y el de limo ($R=0.27$, $R=0.31$; $p<0.05$) (Figura A5-5). En la temporada de lluvias se encontraron correlaciones significativas con el pH ($R=-0.30$; $p<0.05$) (Figura A5-6) y la conductividad eléctrica ($R=0.34$; $p<0.05$) (Figura A5-7); mientras que en la temporada de secas con la concentración de P inorgánico ($R=-0.24$; $p<0.05$) (Figura A5-8), la concentración de NH_4^+ ($R=-0.23$; $p<0.05$) (Figura A5-9), la concentración de K^+ intercambiable ($R=0.33$; $p<0.05$) (Figura A5-10), y el porcentaje de arcilla ($R=0.30$; $p<0.05$) (Figura A5-11)

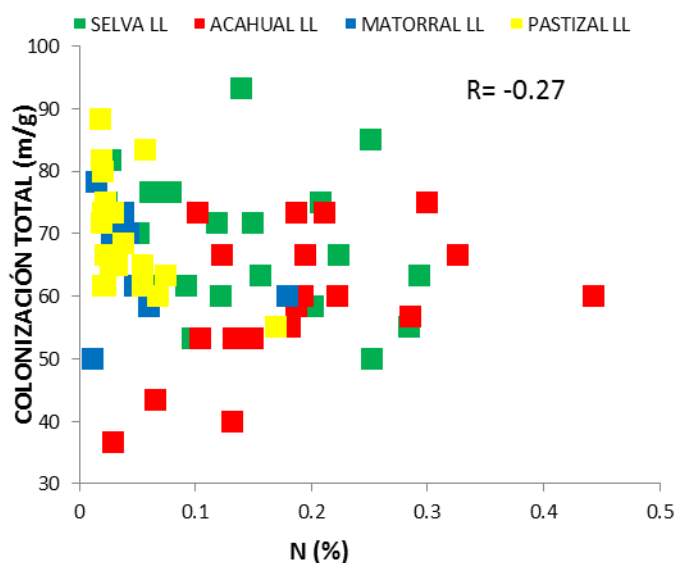


Figura A5-1. Correlación entre porcentaje de colonización total y el porcentaje de N total del suelo en temporada de lluvias (n=10 por tipo de vegetación y temporada).

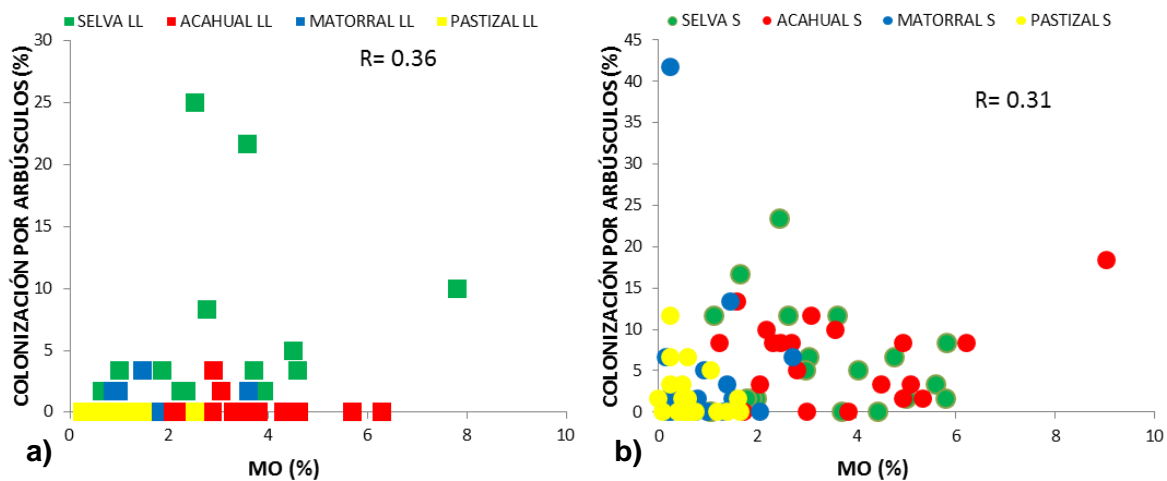


Figura A5-2. Correlación entre porcentaje de colonización por arbusculos y porcentaje de materia orgánica del suelo en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

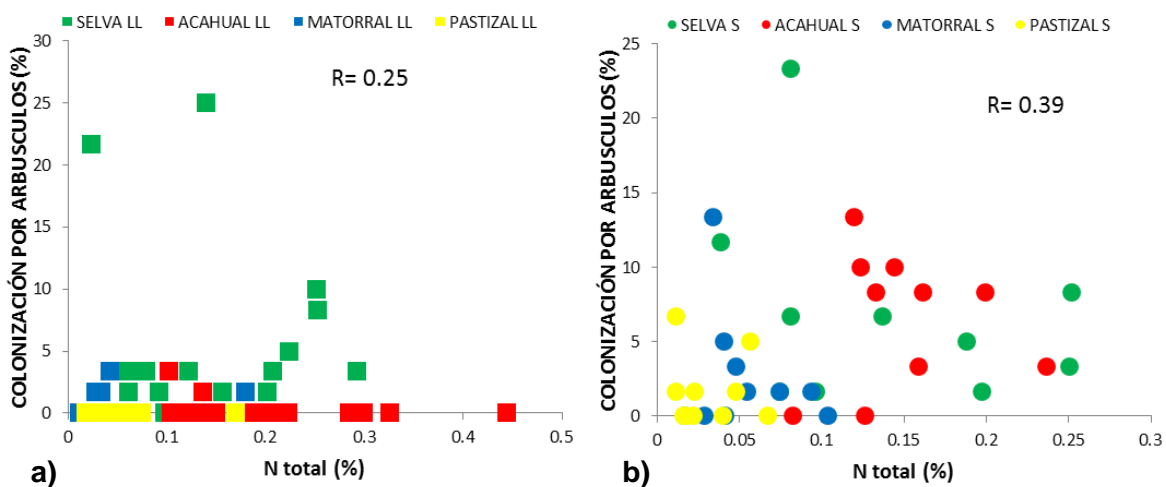


Figura A5-3. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbusculos y el porcentaje de N total en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=10 por tipo de vegetación y temporada).

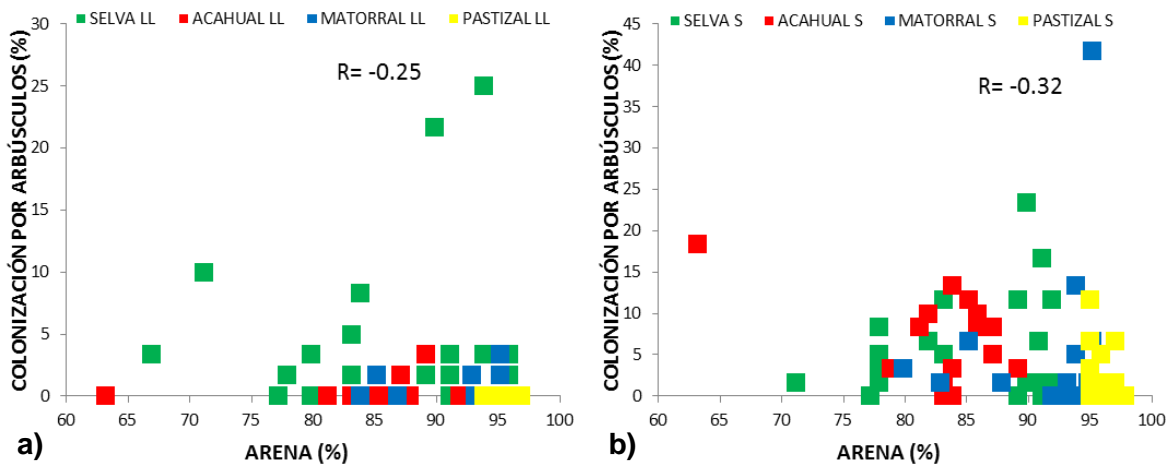


Figura A5-4. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbusculos y el porcentaje de arena en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

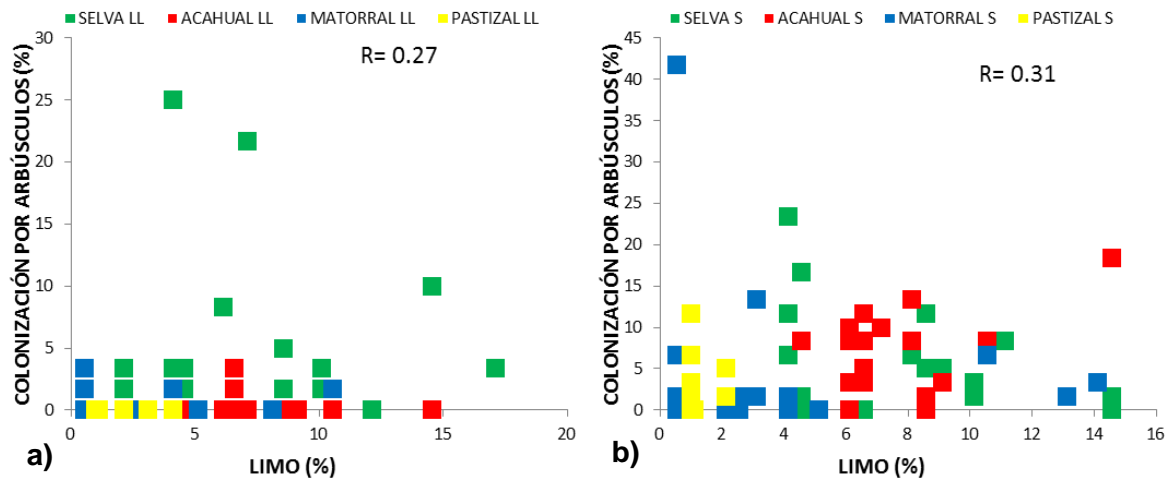


Figura A5-5. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbusculos y el porcentaje de limo en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

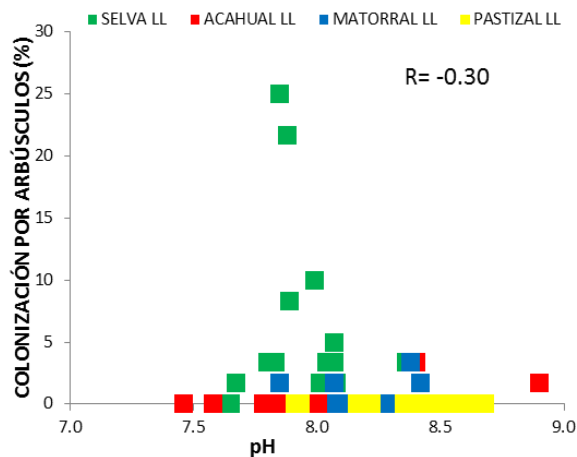


Figura A5-6. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbúsculos y el pH del suelo en temporada de lluvias (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

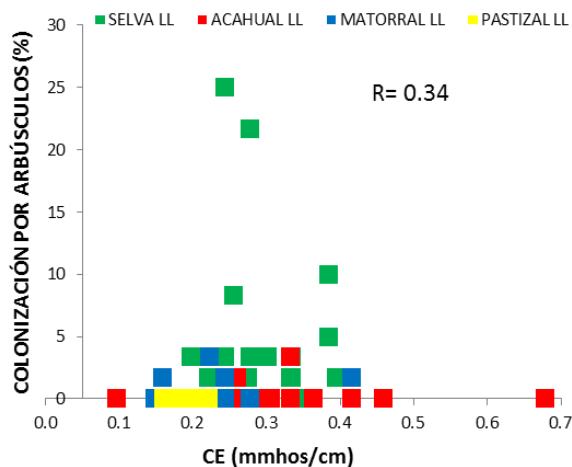


Figura A5-7. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbúsculos y la conductividad eléctrica en temporada de lluvias (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

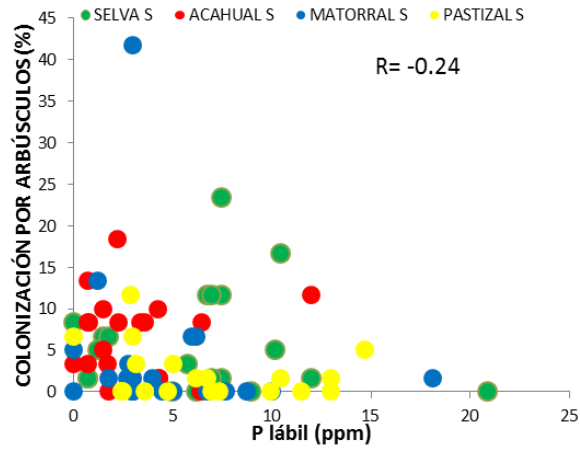


Figura A5-8. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbusculos y la concentración de P lábil en temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

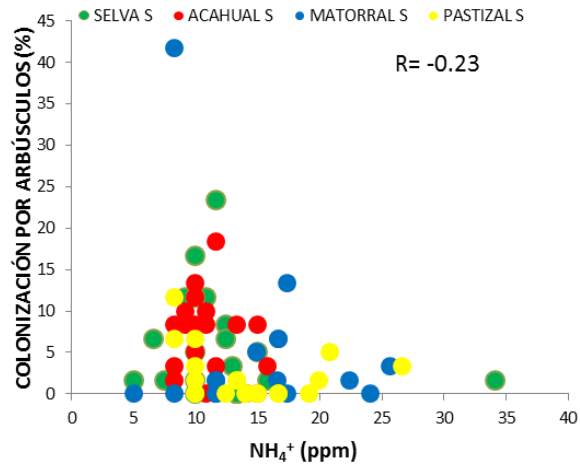


Figura A5-9. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbusculos y la concentración de NH₄⁺ en temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

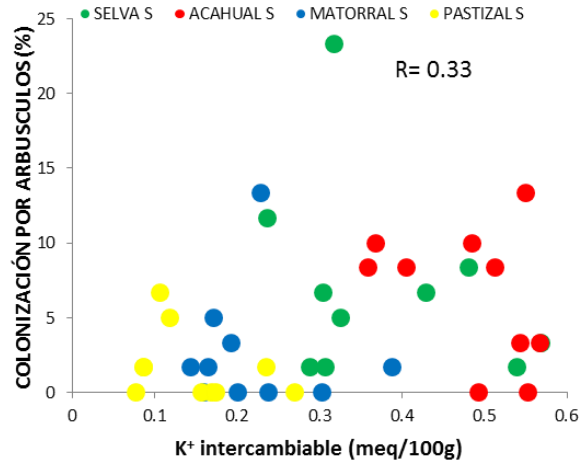


Figura A5-10. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbusculos y la concentración de K^+ intercambiable en temporada de secas (n=10 por tipo de vegetación y temporada).

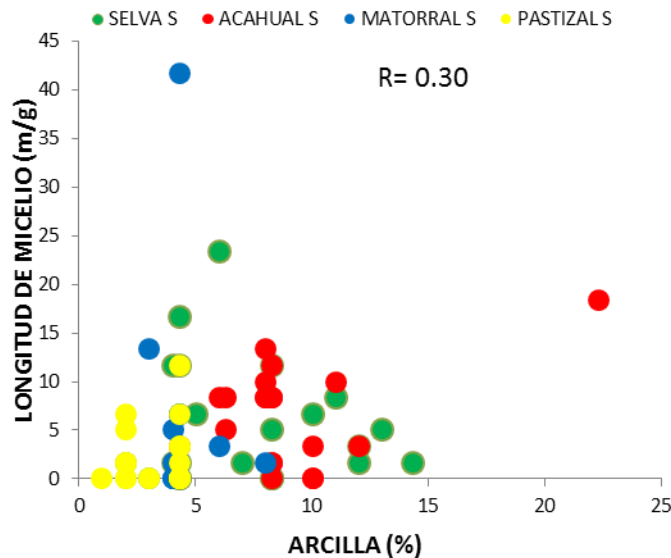


Figura A5-11. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbusculos y el porcentaje de arcilla en temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

En cuanto, a la vegetación se observaron correlaciones significativas entre la colonización por arbusculos y la riqueza ($R=0.54$, $R=0.30$; $p<0.05$) (Figura A5-12)

y abundancia de plantas leñosas ($R=0.40$, $R=0.37$; $p<0.05$) en ambas temporadas (Figura A5-13).

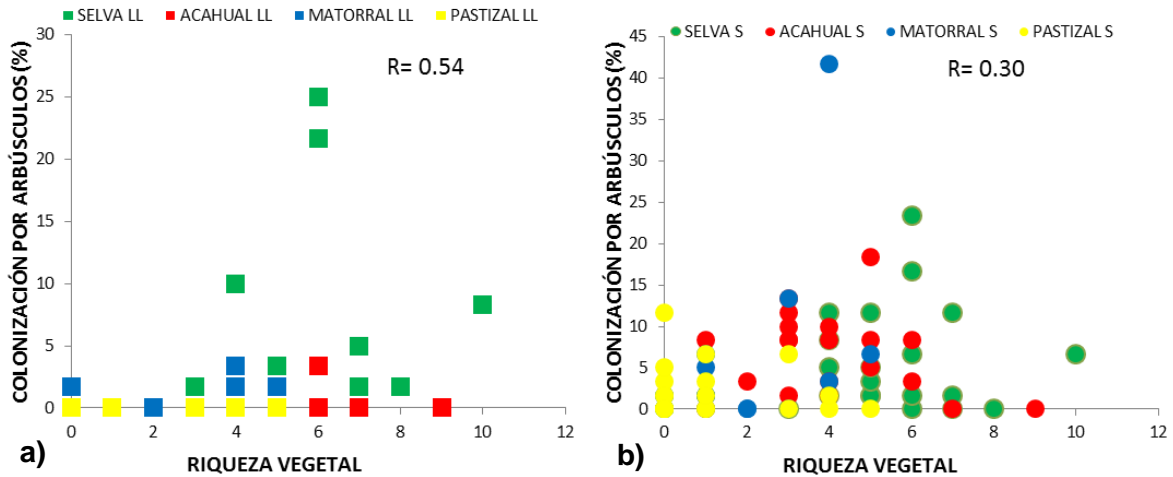


Figura A5-12. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbusculos y la riqueza de especies de plantas leñosas en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

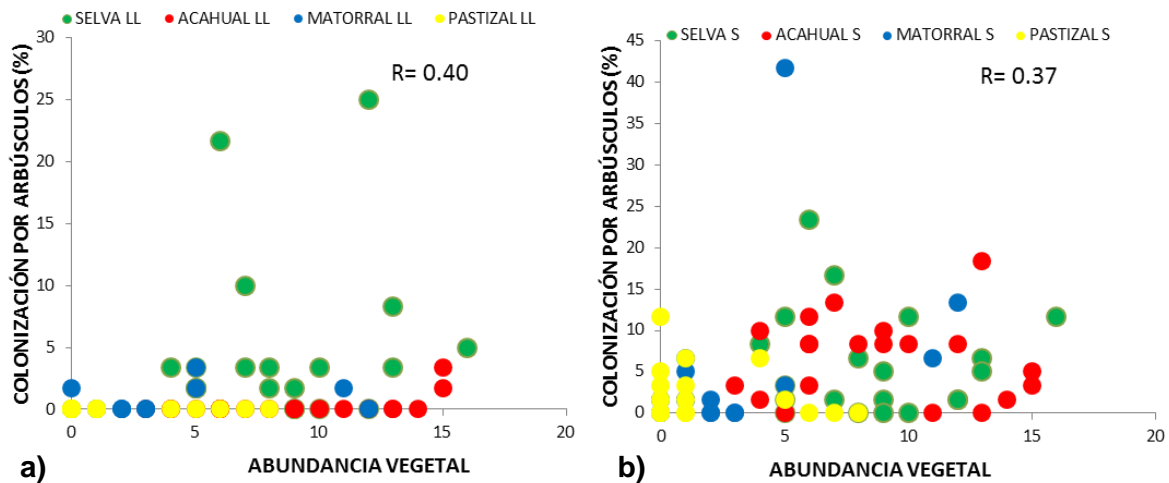


Figura A5-13. Correlación entre el porcentaje de colonización por arbusculos y la abundancia de plantas leñosas en a) temporada de lluvias y b) temporada de secas (n=20 por tipo de vegetación y temporada).

Apéndice 6

Imágenes

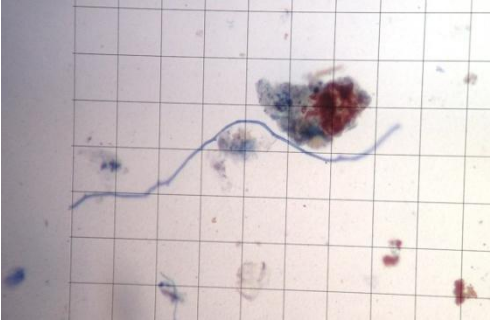


Imagen 1. Micelio extrarradical extraído de suelo de matorral durante la temporada de secas (20X)

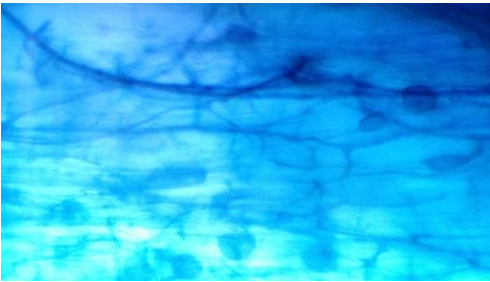


Imagen 2. Colonización intrarradical por hifas y vesículas en raíces de la selva colectadas en lluvias (40X)

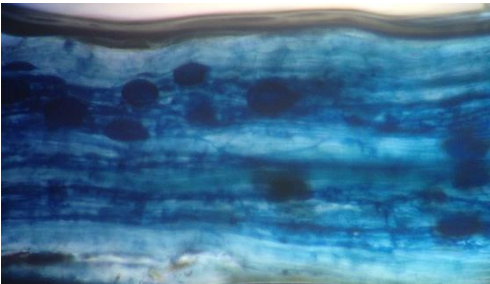


Imagen 3. Colonización intrarradical por hifas y vesículas en raíces de acahual colectadas en secas (20X)

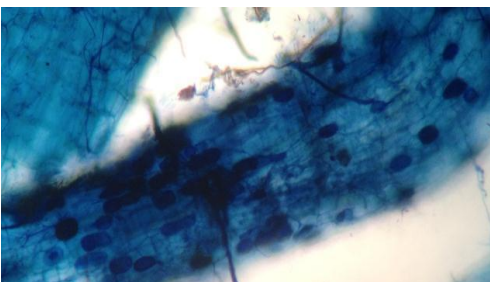


Imagen 4. Colonización intrarradical por hifas y vesículas en raíces de matorral colectadas en secas (20X).

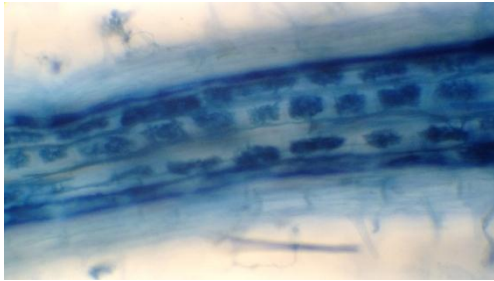


Imagen 5. Colonización intrarradical por arbusculos e hifas en raíces de pastizal colectadas en secas (20X)



Imagen 6. Colonización intrarradical por arbusculos e hifas en raíces de acahual colectadas en secas (100X)

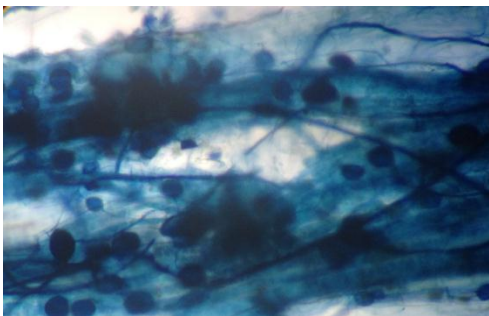


Imagen 7. Colonización intrarradical por esporas, hifas y vesículas en raíces de pastizal colectadas en temporada de secas (20X).

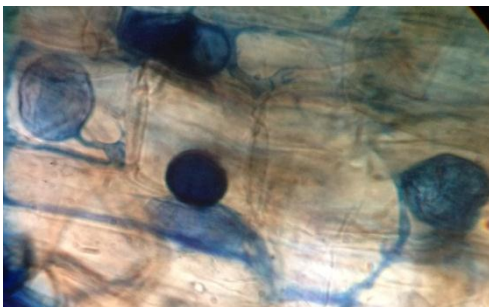


Imagen 8. Colonización intrarradical por esporas hifas y vesículas en raíces de pastizal colectadas en lluvias (40X)

Literatura citada

- Allen, E.B., Rincón, E., Allen, M.F., Pérez-Jiménez, A. y Huante, P. 1998. Disturbance and seasonal dynamics of mycorrhizae in a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica* 30: 261-274.
- Allen, M. 1987. Re-establishment of mycorrhizas on Mount St. Helens: Migration vectors. *Transactions of the British Mycological Society* 88: 413-417.
- Álvarez-Sánchez, J., Guadarrama P., Sánchez-Gallen, I. y Olivera D. 2007. Restauración de ambientes deteriorados derivados de la selva tropical húmeda: el uso de los hongos micorrizógenos arbusculares. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 80: 59-68.
- Álvarez-Sánchez, J., Sánchez-Gallen, I. y Guadarrama P. 2009. Analyses of ecophysiological traits of tropical rain forest seedlings under arbuscular mycorrhization: Implications in ecological restoration. *Soil Biology Symbiotic Fungi* 8: 293-305.
- Augé, R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
- Avio, L., Pellegrino, E., Bonari, E. y Giovannetti, M. 2006. Functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungal isolates in relation to extraradical mycelial networks. *New Phytologist* 172: 347-357.
- Azcón-Aguilar, C. y Barea, J.M. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens- an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6: 457-464.
- Bago, B., Azcon-Aguilar C., Goulet, A. y Piche, Y. 1998. Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 139: 375-388.
- Barker, S.J., Tagu, D. y Delp, G. 1998. Regulation of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbioses. *Plant Physiology* 116: 1201-1207.
- Bates, R.G. 1964. Determination of pH: theory and practice. Wiley, New York, N.Y.

- Berta, G., Tagliasacchi, A.M., Fusconi, A., Gerlero, D., Trotta, A. y Scannerini, S. 1991. The mitotic cycle in root apical meristems of *Allium porrum* L. is controlled by the endomycorrhizal fungus *Glomus* sp. strain E3. *Protoplasma* 161: 12-16.
- Bethlenfalvay, G.J., Brown, M.S., Ames, R.N. y Thomas R.S. 1988. Effects of drought on host and endophyte development in mycorrhizal soybeans in relation to water use and phosphate uptake. *Physiologia Plantarum* 72: 565-571.
- Bremner, S.M. 1965. Total nitrogen. Black C.A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis Agronomy*, 9Am. Soc. of Agronomy, Madison, Wisconsin U.S.A.
- Brito, I., De Carvalho, M. y Goss, M.J. 2011. Summer survival of arbuscular mycorrhiza extraradical mycelium and the potential for its management through tillage options in Mediterranean cropping systems. *Soil Use and Management* 27: 350-356.
- Buwalda, J.G., Stribley, D.P. y Tinker, P.B. 1984. The development of endomycorrhizal root systems. The detailed pattern of development of infection and the control of infection level by host in young leek plants. *New Phytologist* 96: 411-427.
- Carballar-Hernández, S., Palma-Cruz, F.J., Hernandez-Cuevas, L. y Robles, C. 2013. Arbuscular mycorrhizal potential and mycorrhizal fungi diversity associated with *Agave potatorum* Zucc. in Oaxaca, Mexico. *Ecological Research* 28: 217-226.
- Carpenter, F.L., Palacios, S., González, F. y Schroeder, M. 2001. Land use and erosion of a Costa Rican Ultisol affect soil chemistry, mycorrhizal fungi and early regeneration. *Forest Ecology and Management* 144: 1-17.
- Castillo-Campos, G. y Medina-Abreo, M.E. 2002. Árboles y arbustos de la Reserva Natural de La Mancha, Veracruz. INECOL, Xalapa, Ver.
- Chazdon, R.L., Letcher, S. G., van Breugel, M., Martínez-Ramos, M., Bongers, F. y Finegan, B. 2007. Rates of change in tree communities of secondary neotropical forests following major disturbances. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences* 362: 273-289.

- Collins, C.D. y Foster, B.L. 2009. Community-level consequences of mycorrhizae depend on phosphorus availability. *Ecology* 90: 2567-2576.
- Condit, R. 1997. *Tropical Forest Census Plots: Methods and Results from Barro Colorado Island, Panama and a Comparison with Other Plots*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg and R.G. Landes Company Georgetown, TX, U.S.A.
- Corkidi, L. y Rincón, E. 1997. Arbuscular mycorrhizae in a tropical sand dune ecosystem on the Gulf of Mexico: I. Mycorrhizal status and inoculum potential along a successional gradient. *Mycorrhiza* 7: 9-15.
- Dai, J., Hu, J., Lin, X., Yang, A., Wang, R., Zhang, J., y Wong, M.H. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungal diversity, external mycelium length, and glomalin-related soil protein content in response to long-term fertilizer management. *Journal of Soil Sediments* 13: 1-11.
- Davies, F.T., Potter, J.R. y Linderman, R.G. 1992. Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and extraradical hyphae development of pepper plants independent of plant size and nutrient content. *Journal of Plant Physiologist* 139: 289-294.
- Entry, J.A., Rygielwicz, P.T., Watrud, L.S. y Donnelly, P.K. 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. *Advances in Environmental Research* 7: 123-138.
- Etchevers, J.D. 1992. Manual de Métodos para análisis de suelos, plantas, aguas y fertilizantes. Análisis rutinarios en estudios y programas de fertilidad. Laboratorio de Fertilidad, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. México.
- Feddermann, N., Finlay, R., Boller, T. y Elfstrand, M. 2010. Functional diversity in arbuscular mycorrhiza- the role of gene expression, phosphorus nutrition and symbiotic efficiency. *Fungal Ecology* 3: 1-8.
- Gaur, A. y Adholeya, A. 2000. Effects of the particle size of soilless substrates upon AM fungus inoculum production. *Mycorrhiza* 10: 43-48.

- Govindarajulu, M., Pfeffer, P.E., Jin, H., Abubaker, J., Douds, D.D., Allen, J.W., Bücking, H., Lammers, P.J. y Shachar-Hill, Y. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature* 435: 819-823.
- Graham, J.H. y Leonard, R.T. 1982. Interaction of light intensity and soil temperatura with phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *New Phytologist* 91: 683-690.
- Grandcourt, A., Epron, D., Montpied, P., Louisanna, E., Bereau, M., Garbaye, J. y Guehl, J.M. 2004. Contrasting responses to mycorrhizal inoculation and phosphorus availability in seedlings of two tropical rainforest tree species. *New Phytologist* 161: 865-875.
- Gryndler, M., Hršelová, H., Cajthaml, T., Havránková, M., Řezáčová, M., Gryndlerová, H. y Larsen, J. 2009. Influence of soil organic matter decomposition on arbuscular mycorrhizal fungi in terms of asymbiotic hyphal growth and root colonization. *Mycorrhiza* 19:255-266.
- Gryndler, M., Larsen, J., Hršelová, 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* 16:159-66.
- 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: 269-277.
- Harley, J.L. y Smith, S.E. 1983. *Mycorrhizal simbiosis*. London: Academic Press. New Jersey USA.
- 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.
- Hart, M.M., Reader, R.J. y Klirnomos, J.N. 2003. Plant coexistence mediated by arbuscular mycorrhizal fungi. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 418-423.

- Hartnett, D.C. y Wilson, G.W.T. 2002. The role of mycorrhizas in plant community structure and dynamics: lessons from grasslands. *Plant and Soil* 244: 319-331.
- Hayman, D.S. 1974. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature. *New Phytologist* 73: 71-80.
- Hayman, D.S. 1982. Influence of soils and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72: 1119-1125.
- Heinemeyer, A. y Fitter, A.H. 2004. Impact of temperature on the arbuscular mycorrhizal (AM) symbiosis: growth responses of the host plant and its AM fungal partner. *Journal of Experimental Botany* 55: 525-534.
- Hu, Y., Rillig, M.C., Xiang, D., Hao, Z., Chen, B. 2013. Changes of AM fungal abundance along environmental gradients in the arid and semi-arid grasslands of Northern China. *Plos One* 8: 1-8.
- Infante, D. 2011. Estructura y dinámica de las selvas inundables de la Planicie Costera Central del Golfo de México. Tesis Doctorado. Instituto de Ecología, A.C. 174 pp.
- Jackson, R.D., 1982. Canopy Temperature and Crop Water Stress, *Advances in Irrigation*, vol. I, Academic Press, New York.
- 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, Suecia.
- Janos, D.P. 1980. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12: 56-64.
- Jasper, D.A., Abbott, L.K. y Robson, A.D. 1989. Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 112: 93-99.
- Jasso-Flores, R.I. 2010. Determinación de la colonización intrarradical y extrarradical de hongos micorrizógenos arbusculares en una selva alta perennifolia. *Tesis licenciatura*. Facultad de Ciencias, UNAM.

- Johnson, N.C. 2010. Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytologist* 185: 631-647.
- Johnson, N.C., Hoeksema, J.D., Bever, J.D., Chaudhary, V.B., Gehring, C., Klironomos, J., Koide, R., Miller, R.M, Moore, J., Moutoglis, P., Schwartz, M., Simard, S., Swenson, W., Umbanhowarl, J., Wilson, G. y Zabinski, C. 2006. From lilliput to brobdingnag: extending models of mycorrhizal function across scales. *BioScience* 56: 889-900.
- Johnson, N.C., Rowland, D.L., Corkidi, L., Egerton-Warburton, L.M. y Allen, E.B. 2003. Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semiarid grasslands. *Ecology* 84: 1895-1908.
- Kellman, M. 1990. Root proliferation in recent and weathered sandy soils from Veracruz, Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 6: 355-370.
- Khalvati, M.A., Hu, Y., Mozafar, A. y Schmidhalter, U. 2005. Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress. *Plant Biology* 7: 706-712.
- Klironomos, J.N., McCune, J., Hart, M. y Neville, J. 2000. The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity. *Ecology Letters* 3: 137-141.
- Knudsen, D., Peterson, G.A. y Pratt, P.F. 1989. Lithium, sodium and potassium. In: *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. Ed. By A. L. Page, R.H. Miller y D.R. Keeney. Series Agronomy 9. 2 ed. 225-246 pp.
- Koske, R. y Gemma, J.N. 1992. Fungal reactions to plants prior to mycorrhizal formation. *Mycorrhizal Functioning: An Integrative Plant-Fungal Process*. Ed. MF Allen Chapman and Hall, London, UK.
- Leake, J., Johnson, D., Donnelly, D., Muckle, G., Boddy, L., 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.

- Lugo, M.A., González Maza, M.E. y Cabello, M.N. 2003 Arbuscular mycorrhizal fungi in a mountain grassland II: Seasonal variation of colonization studied, along with its relation to grazing and metabolic host type. *Mycologia* 95: 407-415.
- Maass, J.M, Jordan, C.F. y Sarukhan, J. 1988. Soil erosion and nutrient losses in seasonal tropical agroecosystems under various management techniques. *Journal of Applied Ecology* 25: 595-607.
- McGonigle, T.P. y Miller, M.H. 2000. The inconsistent effect of soil disturbance on colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi: a test of the inoculum density hypothesis. *Applied Soil Ecology* 14:147-155.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G., Fairchild G.L. y Swan, J.A. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495-501.
- Miller, R.M. y Jastrow, J.D. 1998. Extraction and quantification of external mycorrhizal hyphae. 2nd International Conference on Mycorrhizae. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suecia.
- Miller, R.M., Reinhardt, D.R. y Jastrow, J.D. 1995. External hyphal production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities. *Oecologia* 103: 17-23.
- Montaña, N.M, Alarcón, A., Camargo-Ricalde, S.L., Hernández-Cuevas, L.V., Alvarez-Sanchez, J., Gonzalez-Chavez, M.C.A., Gavito, M.E., Sanchez-Gallen, I., Ramos-Zapata, J., Guadarrama, P., Maldonado-Mendoza, I.E., Castillo-Argüero, S., Garcia-Sanchez, R., Trejo, D. y Ferrera-Cerrato, R. 2012. Research on arbuscular mycorrhizae in Mexico: an historical synthesis and future prospects. *Symbiosis* 57: 111-126.
- Moreno-Casasola, P. 1982. Ecología de la vegetación de dunas costeras: factores físicos. *Biotica* 7: 577-602.
- Moreno-Casasola, P. 2006. Entornos veracruzanos: La costa de La Mancha, 1ª ed. Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Ver. México.

- Núñez-Castillo, O. y Álvarez-Sánchez, F.J. 2003 Arbuscular mycorrhizae of the palm *Astrocaryum mexicanum* in disturbed and undisturbed stands of a Mexican tropical forest. *Mycorrhiza* 13: 271-276.
- Neumann, E., Schmid, B., Römheld, V. y George, E. 2009. Extraradical development and contribution to plant performance of an arbuscular mycorrhizal symbiosis exposed to complete or partial rootzone drying. *Mycorrhiza* 20: 13-23.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mader, P., Boller, T. y Wiemken A. 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2816-2824.
- Olsen, S., Cole, C., Watanabe, F. y Dean, L. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular Nr 939, US Gov. Print. Office, Washington, D.C.
- Phillips, J.M, y D.S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.
- Quesada, M., G.A. Sanchez-Azofeifa, M. Alvarez-Anorve, K.E. Stoner, L. Avila Cabadilla, J. Calvo-Alvarado, A. Castillo, M.M. Espirito-Santo, M. Fagundes, G.W. Fernández, J. Gamon, M. Lopezaraiza-Mikel, D. Lawrence, P. Morellato, J. Powers, F.S. Neves, V. Rosas-Guerrero, R. Sayago y G. Sanchez-Montoya. 2009. Succession and Management of Tropical Dry Forests in the Americas: Review and new perspectives. *Forest Ecology and Management* 258: 1014-1024.
- Read, D.J. y Perez-Moreno, J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems- a journey towards relevance? *New Phytologist* 157: 475-492.
- Rillig, M.C. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science* 84: 355-363.
- Rillig, M.C. y Mummey, D.L. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171: 41-53.

- Sanchez-Azofeifa, G.A., Quesada, M., Rodriguez, J.P., Nassar, J.M., Stoner, K.E., Castillo, A., Garvin, T., Zent, E.L., Calvo-Alvarado, J.C., Kalacska, M.E.R., Fajardo, L., Gamon, J.A. y Cuevas-Reyes, P. 2005. Research priorities for neotropical dry forests. *Biotropica* 37: 477-485.
- 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*. Facultad de Ciencias UNAM.
- 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: Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Taller de Publicaciones Divulgación Académica y Cultural., Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Colombia. 260 pp.
- Schüßler, A., Schwarzott, D. y Walker, C. 2001. A new fungal phylum the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413-1421.
- Simard, S. W., Durall, D. y Jones, M. 2002. Carbon and nutrient fluxes within and between mycorrhizal plants. *Mycorrhizal Ecology* 157: 33-74.
- Smith, S.E, Facelli, E., Pope, S. y Smith, F.A. 2010. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. *Plant Soil* 326: 3-20.
- Smith, S.E. y Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3^{ed}. Academic Press, London. 800 pp.
- Smith, S.E. y Smith, F.A. 2012. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. *Mycologia* 104: 1-13.
- Smyle, R.W. y Cook, R.J. 1973. Relationship between take-all of wheat and rhizosphere pH in soils fertilized with ammonium vs nitrate-nitrogen. *Phytopathology* 63: 882-890.

- Staddon, P.L., Thompson, K., Jakobsen, I., Grime, J.P., Askew, A.P. y Fitter, A.H. 2003. Mycorrhizal fungal abundance is affected by longterm climatic manipulation in the field. *Global Change Biology* 9:186-194.
- Stevenson, F.J. y Cole, M.A. 1999. *Cycles of Soil*. JohN Wiley & Sons, Inc. 2th Ed. New York. 427 pp.
- Stürmer, S.L. y Siqueira, J.O. 2010. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza* 21: 255-267.
- Trejo, I. y Dirzo R. 2002. Floristic diversity of Mexican seasonally dry tropical forests. *Biodiversity and Conservation* 11: 2063-2048.
- Treseder, K.K. 2004. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO in field studies. *New Phytologist* 164: 347-355.
- Treseder, K.K. y Allen, M.F. 2002. Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizal fungi: a model and field test. *New Phytologist* 155: 507-515.
- van Aarle, I.M., Olsson, P.A. 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.
- van der Heijden, M.G.A. y Horton, T.R. 2009. Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. *Journal of Ecology* 97: 1139-1150.
- van der Heijden, M.G.A. y Sanders, I.R. 2002. *Mycorrhizal ecology*. Heidelberg: Springer-Verlag. Berlin, Alemania. 469 pp.
- van der Heijden, M.G.A., Klironoms, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P. Streitwolf-Engel R., Boller, T., Wiemken, A. y Sanders, I.R. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69-72.
- Varela, L., Estrada-Torres A., Álvarez-Sánchez, J. y Sánchez-Gallen, I. 2008. Catalogo ilustrado de hongos micorrizogenos arbusculares de la Reserva de la

Biosfera de Los Tuxtlas. México: SEMARNAT-CONACYT. GEF.TSBF.CIAT. Instituto de Ecología, A.C. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

- Veresoglou, S.D., Menexes, G. y Rillig, M.C. 2012. Do arbuscular mycorrhizal fungi affect the allometric partition of host plant biomass to shoots and roots? A meta-analysis of studies from 1990 to 2010. *Mycorrhiza* 22: 227-235.
- Vieira, D.L.M. y Scariot, A. 2006. Principles of natural regeneration of tropical dry forests for restoration. *Restoration Ecology* 14: 11-20.
- Voets, L., de la Providencia, I.E., Fernandez, K., IJdo, M., Cranenbrouck, S. y Declerck, S. 2009. Extraradical mycelium network of arbuscular mycorrhizal fungi allows fast colonization of seedlings under in vitro conditions. *Mycorrhiza* 19: 347-356.
- Vogelsang, K.M., Reynolds, H.L. y Bever, J.D. 2006. Mycorrhizal fungal identity and richness determine the diversity and productivity of a tallgrass prairie system. *New Phytologist* 172: 554-562.
- Walkley, A. y Black, I. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposal modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-37.
- Wright, S.F. y Upadhyaya, A. 1998. A survey of soils aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*. 198: 97-107.
- Zangaro, W., Rostirola L.V., Bochi de Souza, P., Alves, R., Azevedo, L.E., Rondina, A.B. y Nogueira, M.A. 2012. Root colonization and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern Brazil. *Mycorrhiza* 23: 221-33.