



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE GEOLOGÍA
MANEJO INTEGRAL DE ECOSISTEMAS

**PAPEL DE LOS HONGOS MICORRIZÓGENOS ARBUSCULARES EN
SERVICIOS DE REGULACIÓN EN UN PEDREGAL SUJETO A
RESTAURACIÓN ECOLÓGICA EN LA RESERVA DEL PEDREGAL DE LA
UNAM**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

KARLA VALLADARES SAMPERIO

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. MARÍA DEL PILAR ORTEGA
LARROCEA**
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. LEOPOLDO GALICIA SARMIENTO
INSTITUTO DE GEOGRAFÍA, UNAM

DRA. ALMA DELFINA LUCÍA OROZCO SEGOVIA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, CD.MX. OCTUBRE 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Lic. Ivonne Ramírez Wence
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 11 de abril de 2016, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **VALLADARES SAMPERIO KARLA**, con número de cuenta **301164366**, con la tesis titulada **"PAPEL DE LOS HONGOS MICORRIZÓGENOS ARBUSCULARES EN SERVICIOS DE REGULACIÓN EN UN PEDREGAL SUJETO A RESTAURACIÓN ECOLÓGICA EN LA RESERVA DEL PEDREGAL DE LA UNAM."**, realizada bajo la dirección de la DRA. MARÍA DEL PILAR ORTEGA LARROCEA:

Presidente: DRA. SILKE CRAM HEYDRICH
Vocal: DR. ROBERTO GARIBAY ORIGEL
Secretario: DR. LEOPOLDO GALICIA SARMIENTO
Suplente: DRA. ROSALVA GARCÍA SÁNCHEZ
Suplente: DRA. SARA LUCÍA CAMARGO RICALDE

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 14 de junio de 2016.

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por brindarme la oportunidad de seguir mis estudios de posgrado con el fin de lograr un crecimiento profesional y personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada N° 270120 para la realización de mis estudios de posgrado.

Esta tesis contó con el financiamiento de los proyectos DGAPA-PAPIIT IT101812 y DGAPA-PAPIME PE108915 y se realizó en las instalaciones del Invernadero, Laboratorios Microcosmos Bioedáfico y Microscopía del Departamento de Edafología del Instituto de Geología de la UNAM.

A la Dra. María del Pilar Ortega Larrocea, directora de esta tesis, por darme la oportunidad de realizar esta investigación y contribuir a mi formación académica; por su apoyo a través de sus aportaciones, recomendaciones y el tiempo dedicado para poder concluir este trabajo. Agradezco me haya brindado su calidez humana y haya fomentado en mi la ética y responsabilidad en todo momento.

Al Dr. Leopoldo Galicia Sarmiento del Instituto de Geografía de la UNAM, por su colaboración académica que ayudó a enriquecer este trabajo a través de sus comentarios y sugerencias; así mismo, por la confianza que depositó en mí, el tiempo que me dedicó y el apoyo sincero que me brindó siempre de forma incondicional.

A la Dra. Alma Delfina Lucía Orozco Segovia del Instituto de Ecología de la UNAM, por su colaboración académica y el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo, con la finalidad de mejorarlo a través de sus comentarios y sugerencias.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Al Instituto de Geología de la UNAM, por acogerme durante mis estudios de maestría y otorgarme el privilegio de hacer uso de las instalaciones para poder concluir mi trabajo de investigación.

A la M. en C. Kumiko Shimada Miyasaka del Laboratorio de Edafología Ambiental (LEA) del Instituto de Geología de la UNAM, por el espacio brindado en las actividades de laboratorio y su apoyo técnico en el análisis de los suelos.

A la M. en C. Iris Suárez Quijada del Laboratorio de Microcosmos Bioedáfico del Instituto de Geología de la UNAM, por su apoyo técnico, el espacio brindado en las actividades de laboratorio, su tiempo, disponibilidad para resolver mis dudas y sobre todo, brindarme su amistad sincera.

A la M. en C. Genoveva Villalobos Contreras y el M. en C. Miguel Rivera Lugo por su apoyo técnico en la identificación de las especies vegetales.

A Néstor Tunal por su apoyo en las actividades de campo realizadas para llevar a cabo la presente investigación.

A mis compañeros del laboratorio de Microcosmos Bioedáfico del Instituto de Geología, por brindarme su cálida amistad desde el primer momento que llegué, apoyarme siempre que lo necesité y pasar buenos momentos que nunca olvidaré.

A todos mis amigos que he hecho a lo largo de toda mi vida, porque de cada uno he aprendido cosas excelentes que me han ayudado a volverme una mejor persona. Mil gracias por todos los ratos de felicidad que he compartido al lado de cada uno de ellos.

A todos, mi más sincero agradecimiento.

ÍNDICE

LISTADO DE FIGURAS Y CUADROS	I
RESUMEN	II
ABSTRACT	III
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVO GENERAL	5
III. OBJETIVOS PARTICULARES	5
IV. ANTECEDENTES	6
4.1 Generalidades de los hongos micorrizógenos arbusculares.....	6
4.2 Factores que contribuyen a la estabilización del suelo.....	9
4.3 Contribución de los HMA en el secuestro de carbono.....	16
4.4 Beneficios de los HMA en las comunidades de plantas.....	20
V. HIPÓTESIS	22
VI. METODOLOGÍA	23
6.1 Zonas de estudio.....	23
6.2 Localización de la vegetación y caracterización de la composición florística del Geopedregal.....	24
6.3 Muestreo de suelos y rizósferas.....	25
6.4 Determinación del índice de estabilidad de agregados por el método Yoder.....	25
6.5 Determinación de densidad aparente (método del cilindro) y textura de los suelos.....	27
6.6 Preparación de muestras para análisis de C y N total en suelo.....	27
6.7 Extracción y cuantificación de micelio externo de HMA.....	27
6.8 Volumen de raíces.....	29
6.9 Porcentaje de colonización micorrízica.....	29
6.10 Determinación de biomasa.....	30
6.11 Preparación de muestras para análisis de C y N total foliar.....	31
VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	32
VIII. RESULTADOS	33
8.1 Determinación de la estabilidad de agregados.....	33
8.2 Densidad aparente y textura de los suelos.....	34
8.3 Carbono y nitrógeno total en suelo.....	35
8.4 Cuantificación de micelio externo.....	38
8.5 Volumen de raíces.....	39
8.6 Porcentaje de colonización micorrízica.....	39
8.7 Determinación de biomasa.....	40
8.8 Porcentaje de carbono y nitrógeno total foliares.....	42
IX. DISCUSIÓN	45
X. CONCLUSIONES	52
XI. LITERATURA CITADA	53
ANEXO 1.....	61
ANEXO 2.....	63
ANEXO 3.....	68
ANEXO 4.....	71
ANEXO 5.....	73
ANEXO 6.....	76
ANEXO 7.....	78

ANEXO 8.....	80
ANEXO 9.....	81
ANEXO 10.....	82
ANEXO 11.....	83
ANEXO 12.....	84
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	85

LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

- Figura 1.** Estructuras intra-radicales de los HMA.
- Figura 2.** Esporas de HMA, mostrando distintos tipos de colores, paredes y formas.
- Figura 3.** Micelio de los HMA.
- Figura 4.** Fotografía al microscopio óptico de un macroagregado del suelo.
- Figura 5.** Descripción general de los procesos físicos, químicos y biológicos que intervienen en la formación y estabilización de los agregados en el suelo.
- Figura 6.** Micelio extra-radical y esporas de HMA sobre una raíz.
- Figura 7.** Relación entre el contenido de proteínas relacionadas con la glomalina y el porcentaje de agregados estables al agua en diferentes tipos de suelos de Chile.
- Figura 8.** Flujo de carbono actual a través de la biosfera.
- Figura 9.** Relación entre la longitud de micelio extra-radical de los HMA colonizando raíces de *Lolium perenne* y el diámetro de los agregados estables al agua.
- Figura 10.** Localización del Geopedregal dentro del campus universitario de la UNAM, MÉXICO, CDMX. (a) y vista satelital del Geopedregal (b).
- Figura 11.** Vista satelital de los sitios de estudio MUAC y Universum dentro del campus universitario de la UNAM, México, CDMX.
- Figura 12.** Cámara de humectación para la determinación del índice de estabilidad de agregados (a) y funcionamiento de la cámara de humectación (b).
- Figura 13.** Equipo automatizado Wet Sieving Apparatus para determinar los agregados estables al agua (a) y procedimiento del método Yoder para estimar el índice de estabilidad de agregados (b).
- Figura 14.** Fracción estable de los agregados de 2 mm resultante del proceso de determinación de agregados por el método Yoder.
- Figura 15.** Extracción y cuantificación de micelio externo: (a) equipo de filtración Millipore®, (b) montaje de membranas para su observación al microscopio.
- Figura 16.** Análisis de microfotografías con el programa Image Pro-Plus® para la cuantificación de micelio externo obtenido de la rizósfera de: (a) *B. cordata* y (b) *B. ternifolia*.
- Figura 17.** Montaje de raíces de *B. cordata* para su observación al microscopio y obtención del porcentaje de colonización micorrízica.
- Figura 18.** Vesículas e hifas observadas en raíces de *B. cordata* (a) y *B. ternifolia* (b).
- Figura 19.** Molino Frizt para molido de tejidos de las plantas.
-
- Cuadro 1.** Carbono en Mg ha⁻¹ de las rizósferas de *B. cordata* y *B. ternifolia* en los tres sitios de estudio.
- Cuadro 2.** Nitrógeno en Mg ha⁻¹ de las rizósferas de *B. cordata* y *B. ternifolia* en los tres sitios de estudio.
- Cuadro 3.** Biomasa aérea total estimada para los árboles de *B. cordata* en cada uno de los sitios estudiados.
- Cuadro 4.** Correlaciones entre las variables cuantificadas (superior valor de r²).

RESUMEN

Se realizó un estudio en tres zonas con distinto manejo en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, con el objeto de cuantificar indicadores de servicios ecosistémicos como índice de estabilidad de agregados, densidad aparente, carbono (C) y nitrógeno (N) total en suelo, micelio externo de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), volumen de raíces, colonización micorrízica arbuscular, biomasa y carbono y nitrógeno foliar en dos especies de plantas representativas del matorral xerófilo: *Buddleja cordata* Kunth (árbol) y el arbusto *Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schltld. Las zonas seleccionadas fueron el matorral conservado del Sendero Ecológico frente al museo Universum y dos pedregales con distinta perturbación ubicados al lado de la avenida Insurgentes Sur, enfrente del Museo Universitario de Arte (MUAC) y el Geopedregal, localizado en el estacionamiento de los Institutos de Geología y Geografía de la Ciudad Universitaria. El índice de estabilidad de agregados, contenido de C y N, el ratio C/N en suelo y micelio externo fueron mayores en las rizósferas de ambas especies con respecto a sus tratamientos fuera de la rizósfera; aunque, no se encontraron diferencias significativas atribuibles a los sitios de estudio ni a las especies. La densidad aparente y el volumen de raíces fueron mayores en el Geopedregal y similares entre especies. La mayor colonización micorrízica se presentó en Universum y en las raíces de *B. cordata*. Se determinó la biomasa en ambas especies con cosecha total para *B. ternifolia* y estimación alométrica para el *B. cordata*, encontrándose diferencias significativas para ambas especies. Los contenidos foliares de C fueron mucho mayores en *B. cordata* que en *B. ternifolia* y de manera contraria los de N, lo que indica que estos nutrientes brindan distintas propiedades a la materia orgánica del suelo. El contenido de micelio externo de los HMA no presentó, en este ecosistema, una correlación estadísticamente significativa con algunos de los parámetros edáficos como el índice de estabilidad de agregados, por lo que la agregación en estos suelos es multifactorial; sin embargo, el micelio externo fue más abundante en la rizósfera de *B. cordata* en el sitio más conservado, por lo que se concluye que la importancia de estos hongos, es relevante en la conservación de la salud del suelo y las propiedades que regulan los ciclos biogeoquímicos.

PALABRAS CLAVE: micelio externo, estabilidad de agregados, captura de carbono, matorral xerófilo.

ABSTRACT

A study was conducted in three fields with different management in the Ecological Reserve Pedregal of San Angel, with the objective to quantify indicators of ecosystem services as the index of aggregate stability, apparent density, carbon (C) and nitrogen (N) in soil, external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), volume of roots, colonization mycorrhizal arbuscular, biomass, carbon and nitrogen leaf in two species of representative plants of desert scrub *Buddleja cordata* Kunth (tree) and the bush *Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schltld. The selected fields were the preserved ecological scrub path in front of the Universum Museum and two bushes with different disturbance located beside Insurgentes Sur Avenue, in front of the University Museum of Contemporary Art (MUAC) and Geopedregal, located in the parking of Geology and Geography Institutes from the University City. The index of aggregate stability, content of C and N, the C/N ratio in soil and external mycelium were higher in the rhizosphere of both species with respect to their treatment outside the rhizosphere; although, no significant differences were found in the study sites and species. The apparent density and volume of roots were higher in the Geopedregal and similar among species. The highest mycorrhizal colonization was presented in Universum and roots of *B. cordata*. Biomass was determined in both species with total harvest for *B. Ternifolia* and allometric estimate for *B. cordata*, significant differences were found for both species. Foliar contents of C were much higher in *B. cordata* compared with *B. Ternifolia* and contrary those of N, indicating that these nutrients provide different properties to soil organic matter. The content of external mycelium of the AMF was not presented, in this ecosystem, a statistically significant correlation with some of the soil parameters such as aggregate stability index, so the aggregation in these soils is multifactorial; however, the external mycelium was more abundant in the rhizosphere of *B. cordata* in the preserved site, therefore it is concluded that the importance of these fungi in this ecosystem, is relevant to the conservation of soil health and properties regulating biogeochemical cycles.

KEYWORDS: external mycelium, aggregate stability, carbon sequestration, desert scrub.

I. INTRODUCCIÓN

Los seres humanos han transformado los ecosistemas a tasas muy aceleradas con el fin de satisfacer la demanda de servicios indispensables para su desarrollo. Esto se observa, con mayor frecuencia en las grandes ciudades como lo es la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM), que cuenta todavía con áreas naturales importantes que proporcionan servicios ecosistémicos a la población capitalina (Nava *et al.*, 2009). Se entiende por servicios ecosistémicos a todos aquellos beneficios, tanto tangibles como intangibles, que las poblaciones humanas obtienen de los ecosistemas naturales o transformados. Estos se clasifican en servicios de provisión, regulación, culturales y de soporte (MEA, 2016). Ejemplo de ello, son el mantenimiento de la calidad del aire, la recarga de mantos acuíferos, la calidad y fertilidad de los suelos, la preservación de la biodiversidad, el control biológico de plagas, la captura de dióxido de carbono (CO₂) y otros beneficios sociales, culturales, estéticos, recreativos y educativos (Campos *et al.*, 2005). Los seres vivos regulan la mayor parte de los servicios ecosistémicos y entre ellos, los microorganismos del suelo dada su capacidad para contribuir en los ciclos biogeoquímicos y transferencias de energía entre los diversos compartimentos terrestres. Estas transferencias y procesos se regulan a través de muy diversas interacciones, que juegan un papel preponderante en el mantenimiento de los ecosistemas. Entre estas interacciones, destacan las micorrizas que se encuentran ampliamente extendidas en toda la superficie terrestre y que se forman con las raíces de al menos el 90% de las plantas vasculares (Rillig, 2004). La función más importante de las micorrizas en los ecosistemas es asistir a las plantas en la adquisición de nutrientes en el suelo, incrementando la absorción de fósforo (P), nitrógeno (N) y otros nutrientes (Hu, 2008). Existen varios tipos de micorrizas y la más abundante se asocia con el 80% de las plantas y es la formada por los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) (Brundrett, 2009). Mediante esta asociación, los HMA reciben carbohidratos fijados en el proceso de la fotosíntesis que varía considerablemente entre especies vegetales, ecosistemas y estados fenológicos (Smith y Read, 2008). El incremento en la tasa fotosintética y, por tanto, la fijación de C de las plantas micorrizadas en los ecosistemas, ha sido plenamente demostrado (Gianinazzi *et al.*, 2010). Se considera que los HMA proveen servicios regulatorios importantes en los ecosistemas que pueden ser directos, como la fijación de C en las estructuras fúngicas y exudados micorrizosféricos, o indirectos, a través de los diversos beneficios conocidos que brindan a las plantas y en su aportación

en la estabilidad de los agregados del suelo que contribuyen a evitar su erosión, previenen la mineralización rápida de la materia orgánica y permiten una elevada tasa de infiltración y recarga del manto acuífero (Cotler y Ortega-Larrocea, 2006). Los HMA incrementan la estabilidad de los agregados a través de la acción combinada de las hifas extra-radicales que se extienden desde las raíces micorrizadas afectando las características fisicoquímicas del suelo a través de sus exudados (Miller y Jastrow, 2000). Entre éstos se encuentra la glomalina, una sustancia proteínica hidrofóbica e insoluble, que evita la disgregación hídrica de los agregados (Bedini *et al.*, 2009). Esta proteína tiene un tiempo de residencia en el suelo de 6 a 42 años y contribuye hasta con el 15% del depósito total de carbono orgánico del suelo (COS) estable (Borie *et al.*, 2008). La materia orgánica (MO), estabilizada en el interior de los agregados, está menos expuesta a la degradación, contribuyendo a la estabilidad del C en el suelo (Hu, 2008). Un aumento de las hifas de HMA en el suelo, está correlacionada con un incremento en la proporción de agregados que son esenciales para el mantenimiento de la porosidad del suelo, favoreciendo el intercambio de gases e infiltración del agua y facilitando los ciclos biogeoquímicos (Wilson *et al.*, 2009).

Una importante área natural que ofrece servicios ecosistémicos dentro de la ZMCM es la Reserva del Pedregal de San Ángel (REPSA). La REPSA forma parte del Eje Neovolcánico y es una de las áreas de mayor riqueza florística del Valle de México. Su origen se remonta a la erupción volcánica del Xitle hace unos 1670 +/- 35 años (Siebe, 2000). El enfriamiento desigual de la lava originó heterogeneidad superficial, dando lugar a microambientes con diversas condiciones de humedad, temperatura y exposición a la luz (sitios planos, oquedades, grietas, paredes, hondonadas, promontorios y cuevas) (Santibáñez *et al.*, 2009). Castillo-Argüero y colaboradores (2007) reconocieron la heterogeneidad ambiental espacial, resultante de la variación de los factores abióticos que influyen en el establecimiento, desarrollo y supervivencia de los organismos, y que se reflejan en sus patrones de distribución y abundancia. La heterogeneidad temporal determina la complejidad de las interacciones entre los factores bióticos y abióticos y los procesos sucesionales. Nava y colaboradores (2009) identificaron en la REPSA cinco servicios ambientales de provisión (recursos genéticos, especies ornamentales, especies medicinales, alimento y madera), tres de regulación (regulación de la cantidad y calidad del agua, polinización y regulación del clima), cuatro culturales (herencia cultural, belleza escénica, investigación científica y recreación) y tres de soporte

(producción primaria, reciclaje de nutrientes, flujos de energía y cadenas tróficas). Sin embargo, ninguno de ellos ha sido, hasta el momento, cuantificado o evaluado con indicadores precisos para ningún microambiente ni zona de la REPSA. Dada su alta diversidad biológica y los servicios ecosistémicos que provee a la ZMCM, la REPSA fue decretada como reserva adquiriendo el estatus de zona ecológica inafectable. Actualmente el área que comprende la REPSA es de 237 ha, divididas en tres zonas núcleo (oriente, poniente y sur-oriente), con una superficie de 171 ha y 66 ha de zonas de amortiguamiento (Peralta y Prado, 2009). En el matorral xerófilo que cubre la mayor parte de su superficie, dominan las formas de crecimiento arbustiva y herbácea, donde las familias vegetales mejor representadas son Asteraceae, Poaceae, Fabaceae y Euphorbiceae, entre otras, todas formadoras de asociaciones micorrízicas del tipo arbuscular (Castillo-Argüero *et al.*, 2009). El suelo es incipiente y a veces inexistente, de modo que la roca volcánica está expuesta en muchos lugares por lo que su profundidad varía de 0 a 30 cm, con un promedio de 4.5 cm. La pedogénesis es de transporte eólico (a través del acarreo de partículas por el viento) y orgánica (por la acumulación de MO de la cubierta vegetal) (Cano-Santana, 1994b). Taxonómicamente, el suelo es un Leptosol mólico (IUSS, 2007), de textura migajón-arenosa, con alto porcentaje de macroporos que favorecen una elevada aireación e infiltración de agua. El suelo orgánico; aunque rico en algunos nutrientes (Suárez, 2010), tiene un bajo contenido de P por la intemperización basáltica, favoreciendo el papel de los HMA en la absorción de minerales y retención de agua, en la escasa cobertura edáfica.

Hernández *et al.* (2003) generaron el primer listado de los HMA en la REPSA, donde registraron cinco de los seis géneros descritos para estos hongos (anteriores a su reclasificación taxonómica con bases moleculares por Schüßler y Walker, 2010). Se describieron 12 especies en el género *Glomus*, nueve en *Acaulospora*, dos en *Scutellospora*, una en *Entrophospora* y una en *Gigaspora*. Posteriormente, Sandoval (2006) cuantificó la variación estacional y espacial en la colonización por HMA en siete especies de plantas de la REPSA (*Verbesina virgata* Cav., *Echeveria gibbiflora* DC., *Senecio praecox* (Cav.)DC., *Buddleja cordata* Kunth., *Rynchelytrum repens* (Willd.) C. E. Hubb., *Opuntia tomentosa* Salm-Dycky *Piqueria trinervia* Cav. y encontró que todas las especies estaban micorrizadas de un 23 a 90%. Al comparar los factores estacionalidad, micro-ambiente y especie, encontró diferencias significativas en la colonización únicamente entre especies vegetales. El porcentaje de colonización con

respecto a la forma de crecimiento, varió de menor a mayor de hierbas a árboles, respectivamente. Así que el conocer la capacidad de diferentes especies vegetales de la REPSA para el secuestro de C inmovilizado en estructuras fúngicas que perduran a largo plazo, en el suelo, es importante para poder llevar a cabo acciones de restauración inmediatas con especies que, rápidamente, permitan también recuperar las funciones ecológicas de los suelos.

II. OBJETIVO GENERAL

Conocer la contribución de los HMA en la captura de C a través del índice de estabilidad de agregados y el micelio externo en la rizósfera de *B. cordata* y *B. ternifolia* en tres zonas dentro de la REPSA.

III. OBJETIVOS PARTICULARES

- Comparar el índice de estabilidad de agregados, densidad aparente, así como contenido de C y N total en las rizósferas de *B. cordata* y *B. ternifolia*.
- Comparar la abundancia de micelio externo de HMA, volumen de raíces y el porcentaje de colonización micorrízica en las rizósferas de *B. cordata* y *B. ternifolia*.
- Calcular la biomasa total, así como el contenido de C y N total foliar para *B. cordata* y *B. ternifolia*.

IV. ANTECEDENTES

4.1 Generalidades de los hongos micorrizógenos arbusculares

Los hongos desempeñan un papel muy importante en muchos procesos microbiológicos y ecológicos, influyendo en la fertilidad del suelo, como degradadores de la MO y en la transformación de los minerales; así como en la salud y nutrición de las plantas (Smith y Read, 2008). Los hongos son heterótrofos por absorción y requieren fuentes externas de C como energía, para lo cual han adoptado diferentes estrategias que les permiten obtener éste y otros elementos necesarios para su metabolismo. Algunos han adquirido la capacidad de ser saprobios, parásitos o mutualistas (Finlay, 2008). Una de estas estrategias es asociarse con las raíces de las plantas para formar lo que se conoce como “micorriza”. Un ejemplo de hongos formadores de simbiosis micorrízica son los HMA, biótrofos obligados (Olsson y Johnson, 2005), y componentes funcionales de los ecosistemas terrestres de casi todo el mundo. Datos de secuencias paleobotánicas y moleculares sugieren que las primeras plantas terrestres formaron asociaciones con los HMA hace unos 460 millones de años (Redecker *et al.*, 2000); sin embargo, con base en registros fósiles se calcula que el origen de estos hongos microscópicos ocurrió hace aproximadamente 600 millones de años, manejándose la hipótesis de que éstos fueron un valioso instrumento para que las plantas logaran colonizar el ambiente terrestre (Finlay, 2008).

Dentro del phylum Glomeromycota, al que pertenecen los HMA, se han descrito alrededor de 200 especies, clasificadas en cuatro órdenes: *Glomerales*, *Diversisporales*, *Paraglomerales* y *Archaeosporales*; 11 familias y 17 géneros (Schüßler y Walker, 2010). Históricamente, muchas especies de este phylum se han descrito y nombrado con base en la morfología de sus esporas, pero se ha observado que no es suficiente para conocer su verdadera filogenia, por lo que, recientemente se está recurriendo al análisis de los genes para circunscribir los taxa (Reyes, 2011).

Estos hongos crecen en suelos de todo el mundo y establecen relaciones simbióticas con al menos el 80% de las plantas terrestres y, aunque se conocen ampliamente sus múltiples efectos en los ecosistemas terrestres, su relativa contribución en los procesos ecosistémicos es aún poco comprendida. Los HMA están siendo considerados no únicamente como simbiosiontes de las plantas, sino como componentes esenciales de la productividad de los ecosistemas y la diversidad vegetal (Wilson *et al.*, 2009).

La micorriza arbuscular (MA) es un tipo de asociación endosimbiótica caracterizada por la formación de estructuras intracelulares, arbusculos (figura 1a), los cuales se forman de la ramificación de las hifas dentro de las células corticales de las raíces y forman estructuras parecidas a arbolitos microscópicos que funcionan como sitios de intercambio de nutrientes entre la planta y el hongo (Rillig, 2004). En muchas ocasiones, al colonizar la planta intra-radicalmente el hongo desarrolla unas estructuras denominadas vesículas (figura 1b), donde se almacenan sustancias de reserva (lípidos) y en algunas especies como *Glomus intraradices*, también puede formar esporas.

Las esporas de los HMA son células reproductoras producidas asexualmente, que permiten la dispersión y supervivencia por largo tiempo en condiciones adversas. La producción de esporas puede ser individualmente en el suelo, en el interior de las raíces de la planta hospedera o bien en esporocarpos en o cerca de la superficie del suelo (Reyes, 2011). En su mayoría son de forma globosa, pero algunas especies suelen presentar formas ovaladas u oblongas; de ellas, se desprende una hifa de sostén que, en conjunto, dan la apariencia de un globo con su hilo colgando. Son multinucleadas, contienen gotas de lípidos, presentan diferentes colores: blancas, amarillas, pardas, magenta, etc., y su tamaño puede variar de 20 a 50 μm y en las más grandes de 200 a 1000 μm (Brundrett *et al.*, 1996), lo cual puede ayudar en la identificación del hongo (figura 2).

Otra de las estructuras presentes en este tipo de micorrizas son las hifas (intra o extracelulares) (figuras 3 a y b), que en el suelo cumplen una variedad de funciones como son la generación de esporas (para propagación en tiempo y espacio), la formación de una red hifal para la exploración, absorción de nutrientes y dispersión, que ayudan a mejorar la estructura del suelo y aumentan el volumen de traslocación de C en el suelo por medio de la inmovilización por biomasa (Rillig, 2004 y Wilson *et al.*, 2009).

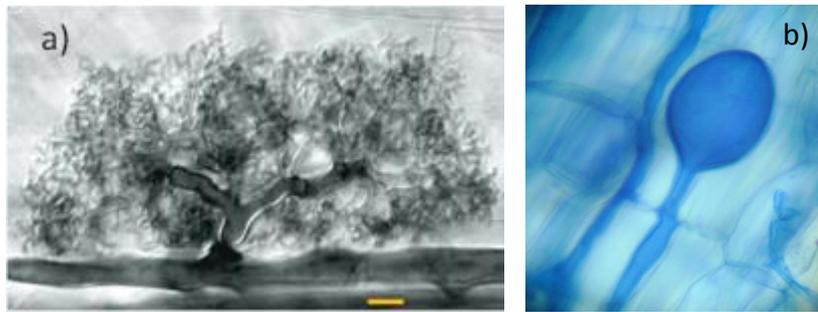


Figura 1. Estructuras intra-radicales de los HMA. a) arbúsculo y b) vesícula en raíces de *B. cordata* a un aumento de 400x. Imágenes tomadas de: <http://mycorrhizas.info> (a) y Valladares, 2013 (b).

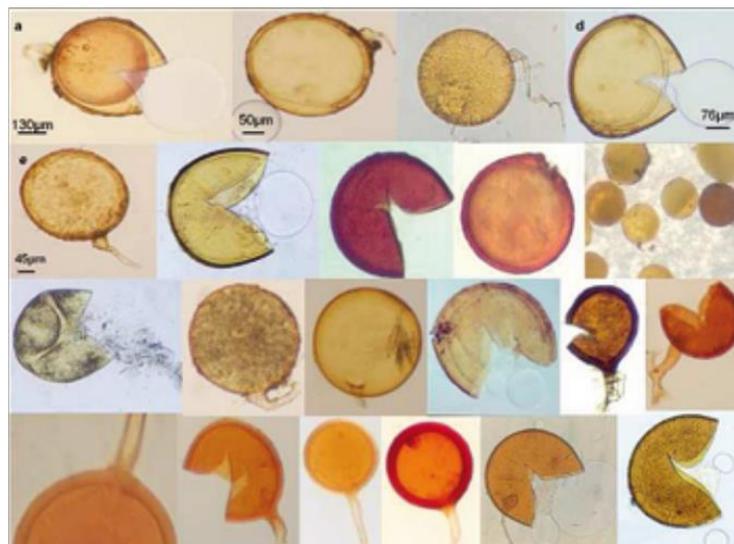


Figura 2. Diferentes esporas de HMA, mostrando distintos tipos de colores, paredes y formas (Reyes, 2011).

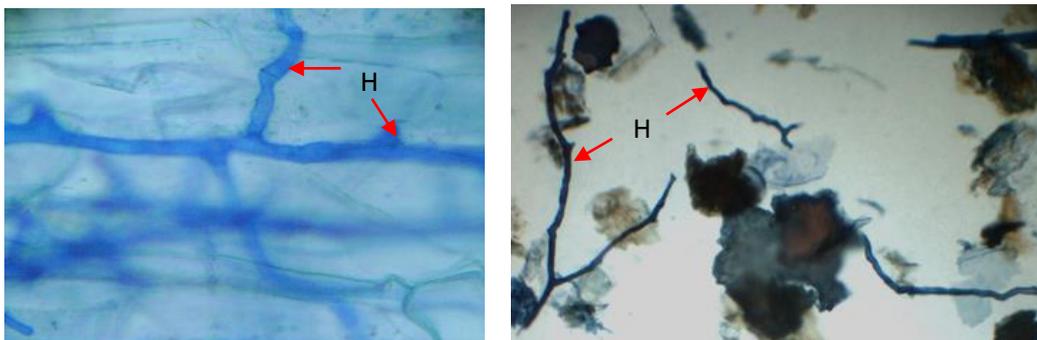


Figura 3. Micelio de los hongos micorrizógenos arbusculares: a) hifas intra-radicales de raíces de *B. cordata* a un aumento de 400x (H) y b) hifas extra-radicales de raíces de *B. ternifolia* a un aumento de 200x (H). Imágenes: Valladares, 2013.

4.2 Factores que contribuyen a la estabilización del suelo

La estructura del suelo se puede definir como la disposición de las partículas primarias y compuestos orgánicos en agregados con la consecuente formación de los espacios porosos; ésta desempeña un papel fundamental en una amplia gama de procesos, incluyendo el intercambio de gases y agua, el ciclaje de nutrientes y le proporciona resistencia a la erosión. La estructura en un suelo se puede ver afectada por algunas propiedades como la textura, contenido de COS; así como por la actividad de la biota edáfica (Siddiky *et al.*, 2012).

Los agregados son definidos como unidades secundarias o conjuntos estables de partículas de suelo enlazadas o cementadas por sustancias orgánicas, óxidos de hierro, carbonatos, arcillas o sílice (figura 4), y son el resultado de procesos físicos, químicos y biológicos; así como de factores tales como la textura, contenido de MO, humedad del suelo, condiciones climáticas e impacto de las actividades antropocéntricas (González-Chávez *et al.*, 2004).

El desarrollo de los agregados en el suelo se puede ver en un modo jerárquico. Tisdall y Oades (1982) propusieron un modelo para la agregación, dependiendo del tamaño de los mismos: los agregados mayores a 2000 μm (macroagregados) se mantienen unidos por una fina red de raíces e hifas en suelos con altos contenidos de CO (>2%). Los agregados entre 20 a 250 μm (microagregados) consisten en partículas de 2-20 μm de diámetro unidas entre sí por agentes cementantes como la MO, óxidos cristalinos y aluminio-silicatos. Los agregados estables al agua son partículas menores a 2 μm de diámetro, se encuentran unidos entre sí con fuerza por la persistencia de vínculos orgánicos, por lo que ayudan a proteger el suelo de diversos factores que puedan contribuir a su deterioro (Fayos-Boix *et al.*, 2001). Hillel (1982), mencionó que los agregados del suelo son estables cuando las partículas individuales se mantienen unidas durante diferentes condiciones (humedecimiento, secado, congelamiento, descongelamiento o actividad microbiana). Las características de un suelo con agregados estables son: adecuada infiltración, aireación, capacidad de retención de agua, menor encostramiento de su superficie y mayor resistencia a la erosión (González-Chávez *et al.*, 2004).

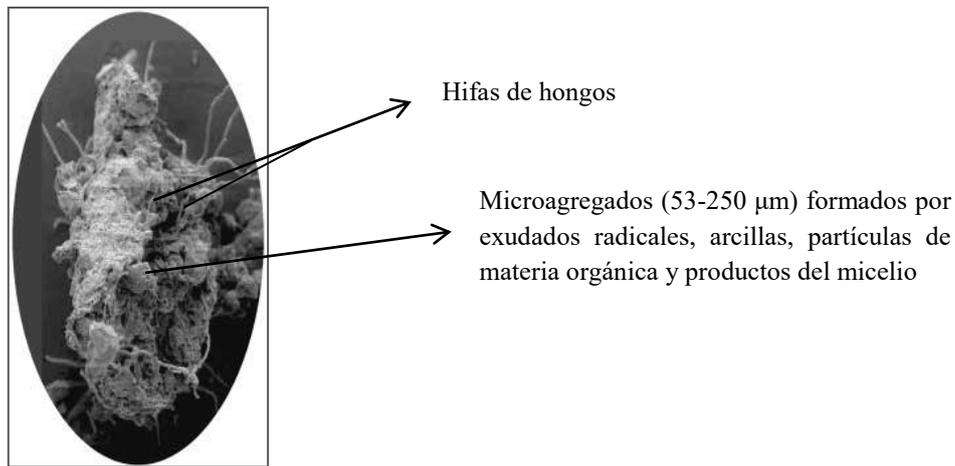


Figura 4. Fotografía al microscopio óptico de un macroagregado del suelo, donde se muestra la intervención de las hifas de los hongos en la formación de microagregados. Imagen transformada de Rillig y Mummey (2006).

Tisdall y Oades (1982) señalaron que la formación de agregados en el suelo se produce, principalmente, como resultado de fuerzas físicas; mientras que la estabilización de los agregados del suelo es producido por una serie de factores, en particular, la cantidad y la calidad de agentes estabilizantes inorgánicos y orgánicos (Martínez *et al.*, 2008) (figura 5). Sin embargo, la expansión-contracción del material arcilloso es indispensable para la agregación del suelo (Amézketa, 1999). Las fuerzas físicas incluyen ciclos de humedecimiento y secado, congelación y descongelación, compresión y la acción mecánica de la fauna del suelo, principalmente lombrices, termitas y hormigas (González-Chávez *et al.*, 2004). Los agentes estabilizantes inorgánicos incluyen principalmente atracción entre partículas arcillosas y cationes polivalentes como calcio (Ca^{2+}), hierro (Fe^{3+}), aluminio (Al^{3+}); además de óxidos e hidróxidos de Fe y Al, carbonatos de Ca y magnesio (Mg). Los agentes estabilizadores orgánicos pueden considerarse en tres grupos principales con base en la edad y la degradación de la MO: agentes de unión transitoria, temporal y persistente (Martínez *et al.*, 2008). Los agentes de unión transitoria pueden ser descompuestos rápidamente por los microorganismos del suelo e incluyen polisacáridos microbianos y derivados de las plantas. Dentro de los aglutinantes temporales se encuentra el micelio de los hongos, principalmente arbusculares y las raíces de las plantas que ejercen su acción por medio de cuatro mecanismos: (1) la fuerza física raíz/penetración, (2) rizodeposición, (3) descomposición de las raíces y (4) entrelazamiento de partículas del suelo por las raíces. Los agentes aglutinantes persistentes consisten en materiales húmicos resistentes

asociados a cationes polivalentes y polímeros. Estos materiales húmicos parecen estar protegidos físicamente dentro de agregados de arcilla y limo (Amézketa, 1999; Rillig, 2006).

Agentes estabilizadores orgánicos e inorgánicos

Como se mencionó anteriormente, el contenido de CO en el suelo tiene implicaciones en su estructura, éste se distribuye de manera heterogénea en los suelos habiendo en consecuencia zonas donde la agregación es más intensa que en otras. Esto se debe a la amplia variedad de la naturaleza química de los compuestos orgánicos presentes en los suelos tales como los polisacáridos, carbohidratos, lípidos, lignina y sustancias húmicas que determinan las tasas de formación y descomposición; además de inducir efectos transitorios o prolongados de su residencia en el suelo (Borie *et al.*, 2008).

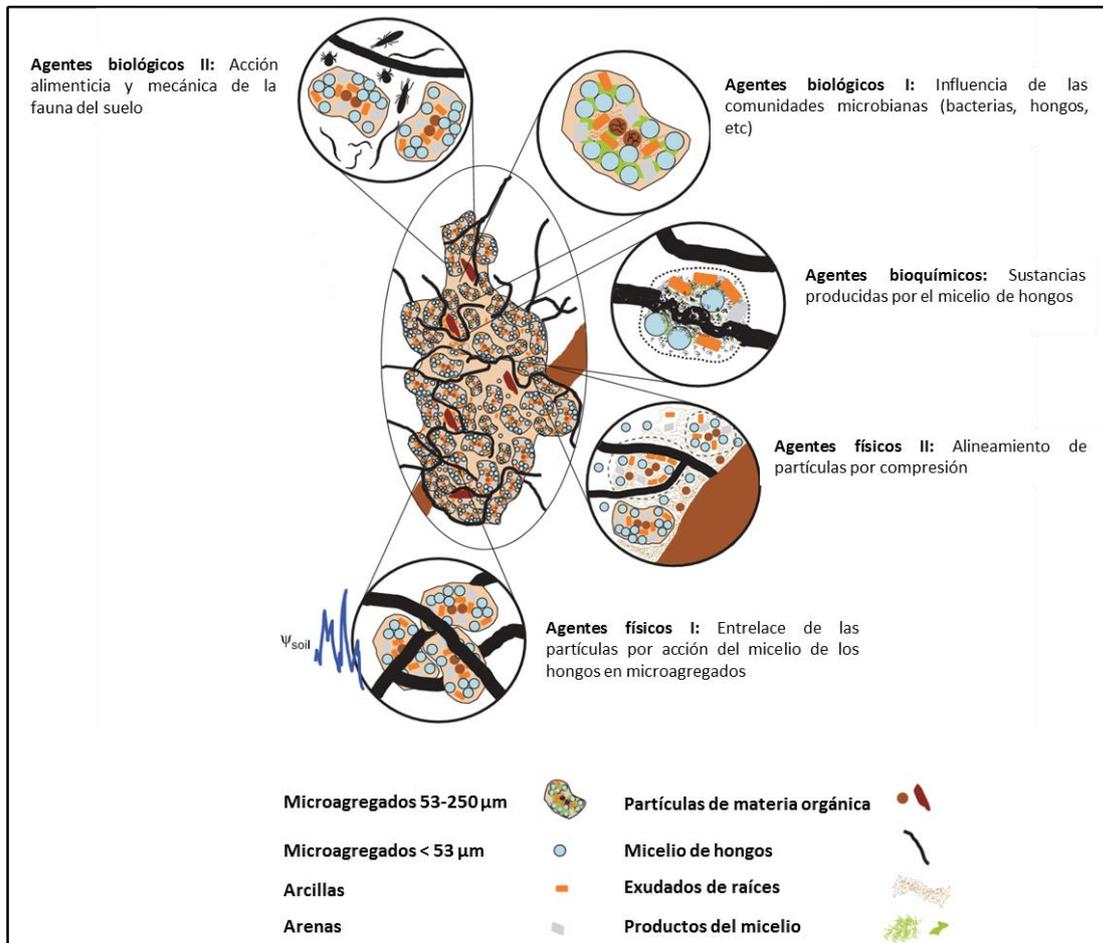


Figura 5. Descripción general de los procesos físicos, químicos y biológicos que intervienen en la formación y estabilización de los agregados en el suelo. Imagen tomada y modificada de Rillig y Mummey (2006).

La mayoría de estos compuestos y en particular las sustancias húmicas, se caracterizan por ser recalcitrantes, es decir, que poseen una composición química muy compleja que puede ser resistente a la descomposición por parte de algunos microorganismos del suelo. Esta característica de las sustancias húmicas, le confiere protección físico-química contra la degradación de la comunidad microbiana (Martínez *et al.*, 2008). Chorover y colaboradores (2004) encontraron que componentes alifáticos y aromáticos de la MO dominan los ácidos húmicos en etapas posteriores al desarrollo del suelo y además, permanecen hasta 100 años sin degradarse, en suelos erosionados volcánicos de Hawái (Dignac *et al.*, 2005). Por lo tanto, el recubrimiento de las partículas minerales con materiales recalcitrantes tales como ácidos húmicos y ácidos fúlvicos, contribuye a mantener las partículas unidas por un mayor periodo de tiempo, evitando los procesos de degradación. La MO también aporta grandes cantidades de C al suelo y es considerada como la fracción ligera o como MO simple, siendo un factor importante en la formación de los agregados a través de la producción de polisacáridos por los microorganismos, al metabolizar la MO (Borie *et al.*, 2008).

Los cationes y el contenido de arcillas minerales favorecen la estructura del suelo ayudando en la formación de agregados estables. Los cationes polivalentes como el Al^{3+} y el Fe^{3+} , que habitualmente se encuentran en suelos ácidos, mejoran la agregación a través de la formación de puentes entre minerales inorgánicos y/o arcillas y COS, de tal forma que los agregados con contenidos de arcillas, Al y óxidos o hidróxidos de Fe, promoverán la incorporación de CO mediante la formación de complejos órgano-minerales, lo que les conferirá estabilidad (Matus *et al.*, 2006). El efecto de las arcillas sobre las propiedades del suelo dependerán de su mineralogía; las arcillas esmectíticas, por ejemplo, son más eficientes en la agregación en comparación con otras, debido a su gran superficie específica, alta capacidad de intercambio catiónico y, en consecuencia, alta capacidad de interacción físico-química, resultando en una mayor agregación y estabilidad de agregados. Sin embargo, su efecto en los suelos es difícil de evaluar, ya que, por lo general, los contienen en una mezcla de arcillas, por lo que su comportamiento se modifica por la asociación con otros minerales (Borie *et al.*, 2008).

Agentes estabilizadores aglutinantes biológicos

Otro de los factores que intervienen en la estructura y agregación del suelo son los biológicos, los cuales incluyen raíces de plantas, fauna del suelo y microorganismos,

principalmente (Rillig y Mummey, 2006). Se ha evidenciado que la estabilidad de los agregados se mejora con la presencia de raíces por medio de diferentes efectos: (1) unir las partículas finas de suelo en agregados estables, incluso cuando la raíz haya muerto; (2) reorientar las partículas de arcilla paralelas al eje de la raíz y con ello arrastrar partículas de suelo que posteriormente se adhieren a las raíces y (3) suministrar exudados orgánicos al suelo, los cuales sustentan una gran población microbiana en la rizósfera; además de proporcionarle alimento a la fauna del suelo (Amézketa, 1999). El patrón de enraizamiento, las funciones de las raíces y su fisiología son responsables de la capacidad que tengan para modificar la estructura del suelo. Por ejemplo, las herbáceas son mejores en la estabilización de los agregados debido al hecho de que contienen mayor biomasa de raíces finas que enlazan las partículas de suelo. Por lo tanto, el tipo de ecosistema y los cambios en la comunidad de plantas también estarán afectando la estructura del suelo (Piotrowski *et al.*, 2004). Los principales procesos por los cuales las raíces afectan la agregación en el suelo, pueden ser agrupados en cinco categorías: (1) penetración de raíces; (2) modificación del régimen hídrico; (3) producción de exudados; (4) entrelazamiento de agregados causados por las raíces y (5) descomposición de raíces muertas (Six *et al.*, 2004; Bronick y Lal, 2005).

La fauna del suelo también juega un papel importante en el proceso de agregación: las lombrices de tierra, larvas de insectos y otros animales más grandes pueden contribuir a la estructura gracias a su comportamiento de alimentación, ya que estos animales incorporan cantidades considerables de materia orgánica en forma de gránulos fecales, lo que aumenta el área y accesibilidad para su utilización por otros organismos y, por lo tanto, para su descomposición en el suelo (Siddiky *et al.*, 2012). Las madrigueras de las lombrices de tierra, nemátodos, termitas, hormigas, colémbolos, arañas y las larvas de diversos escarabajos y polillas pueden favorecer la creación de bioporos promoviendo de esta manera la infiltración del agua, el intercambio gaseoso y el crecimiento de las raíces (Amézketa, 1999).

Los exudados de las bacterias, hifas de hongos saprobios y en particular de HMA, son los agentes que más impulsan la agregación. Estos últimos fueron considerados como agentes de unión temporales por Tisdall y Oades (1982), quienes encontraron una correlación entre la biomasa microbiana y los agregados estables al agua (macroagregados). Estos microorganismos producen enzimas responsables de la mineralización de compuestos de alto peso molecular y liberan polisacáridos que unen

las partículas de suelo estabilizando los agregados. Estos mucilagos son considerados agentes de unión transitorios debido a que pueden ser descompuestos rápidamente por otros microorganismos. De estos microorganismos, los hongos y en particular los HMA, son los agentes que mayoritariamente contribuyen en la agregación a través de su micelio; su intervención se reconoce como indirecta (pasiva) mediante el efecto físico de la red de hifas, o directa (activa) por la capacidad de cementación de compuestos extracelulares liberados (Rillig y Mummey, 2006).

Los productos fúngicos contenidos en las hifas o esporas son secretados al medio ambiente y, secundariamente, al suelo a través de la descomposición; dichos productos son considerados como un importante mecanismo de agregación del suelo (Purin y Rillig, 2007). Recientemente, los HMA han recibido una gran atención debido al descubrimiento de proteínas relacionadas con la glomalina (PRG) (figura 6), cuya concentración en el suelo ha sido correlacionada con la estabilidad de agregados, el contenido de MO en el suelo y la longitud del micelio extra-radical (Purin y Rillig, 2007).



Figura 6. Micelio extra-radical y esporas de HMA sobre una raíz, todas recubiertas de glomalina que se observa de color verde fluorescente. Imagen tomada de: <https://www.ars.usda.gov>

La glomalina es una glicoproteína con elevado peso molecular, su estructura química aún se desconoce; aunque, se ha documentado que está compuesta por un complejo de aminoácidos, carbohidratos y hierro (<5%) (Seguel *et al.*, 2008). Esta proteína protege a las hifas durante el transporte de nutrientes desde la planta hasta el extremo de las

mismas y desde el suelo hasta la planta. Una vez que las hifas dejan de transportar nutrientes y senescen, la glomalina contenida en sus células se libera y se acumula en el suelo, representando el 5% del contenido de C y N edáfico. Una vez en el suelo, actúa como aglutinante de partículas minerales y MO, lo cual reduce la ruptura de los agregados durante los eventos de humedecimiento y secado del suelo, por lo cual su relación con la estabilidad de agregados y estructura del suelo se considera directa (figura 7) (Grümberg *et al.*, 2010).

Al ser una proteína insoluble en agua y con carácter hidrofóbico, forma una capa alrededor de los agregados protegiendo a la MO contenida de la mineralización y reduciendo la ruptura de los agregados por la fuerza erosiva del agua y el viento; con ello se logra un mejor intercambio de gases y un eficiente drenaje de agua (González *et al.*, 2004). Por ser una molécula compleja, estable y resistente a la descomposición, su extracción requiere de un tratamiento drástico, pudiendo durar en los suelos de 7 a 42 años dependiendo de las condiciones ambientales, el tipo de ecosistema o el manejo agrícola al que estén sometidos los suelos (Purin y Rillig, 2007). De hecho, se ha sugerido que la glomalina puede usarse como un indicador de los efectos del cambio de uso de suelo. Sin embargo, la proliferación de HMA y, por tanto, la producción de glomalina es limitada en suelos con alta disponibilidad de P y por algunas prácticas comunes en la agricultura como la fumigación, fertilización y el uso de plaguicidas, afectando negativamente el establecimiento y funcionalidad de los HMA y, por tanto, la producción de glomalina (Rillig, 2004).

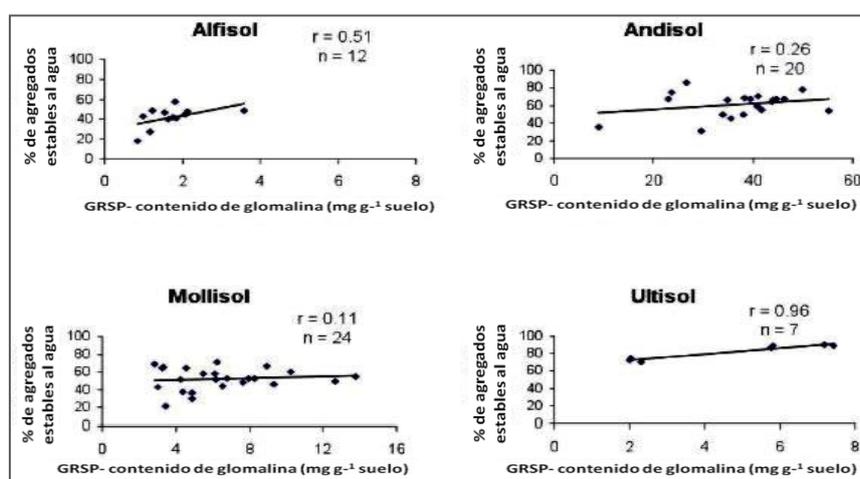


Figura 7. Relación entre el contenido de proteínas relacionadas con la glomalina y el porcentaje de agregados estables al agua en diferentes tipos de suelos de Chile. Imagen tomada y modificada de Borie y colaboradores (2008).

4.3 Contribución de los HMA en el secuestro de carbono

El suelo puede almacenar de 1500-2000 Gigatoneladas (Gt) de C dependiendo de la profundidad del mismo. En contraste, la vegetación, principalmente perenne, contiene 600 a 700 Gt de C (figura 8); por lo tanto, la vegetación y el suelo pueden actuar como sumideros de carbono atmosférico (Michael, 2006). Antes del desarrollo de la industria en los siglos XIX y XX, la deforestación y cultivo de la tierra eran las principales fuentes de emisión de CO₂ como gas de efecto invernadero, contribuyendo de 1.7 a 2 Gt de C al año a través de la deforestación de 10 a 15 millones de hectáreas en el Hemisferio Sur (Chapin *et al.*, 2011).

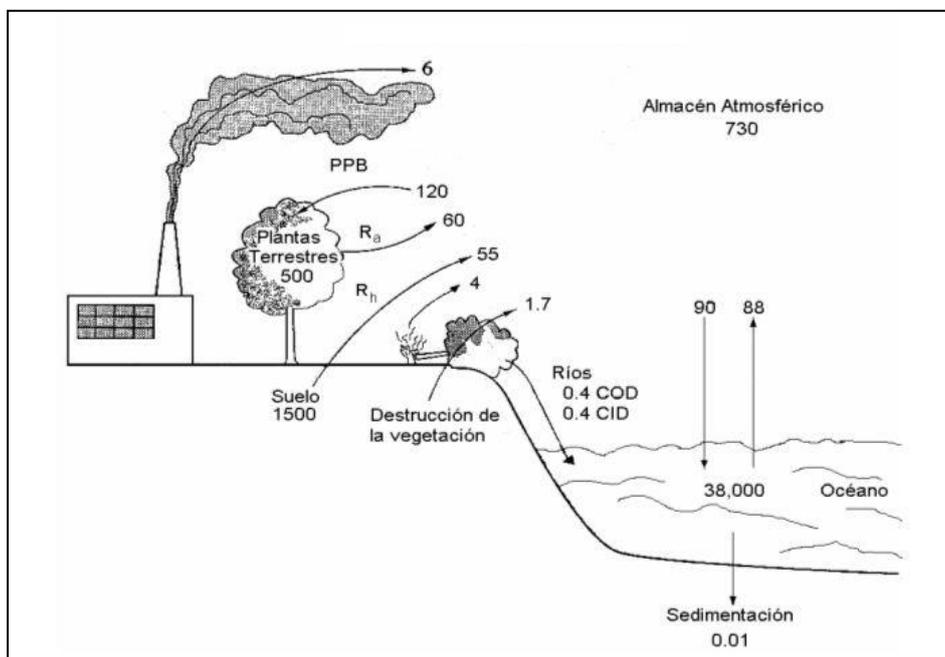


Figura 8. Flujo de carbono actual a través de la biosfera, donde se muestra la cantidad de C en Gt almacenado en los diferentes compartimentos y la importancia de los suelos como sumideros de C en los ecosistemas terrestres. PPB = producción primaria bruta; Ra = respiración autótrofa; Rh = respiración heterótrofa; COD = carbono orgánico disuelto; CID = carbono inorgánico disuelto. Fuente: Imagen tomada de <http://www2.inecc.gob.mx>

Alrededor de 2 Gt de C existentes en el planeta forman parte del CO₂, que se encuentra almacenado en los sumideros terrestres; es decir en la biosfera continental (vegetación + suelo); por lo tanto, la biosfera actúa también como un sumidero de C natural y el desafío, hoy en día, es incrementarlo con ayuda de la intervención humana (Michael, 2006). En la actualidad, se ha hecho énfasis en la capacidad de la vegetación para

promover el secuestro de C gracias a dos distintas formas en las que opera: (1) productividad primaria elevada (obtención de grandes cantidades de C) y (2) por descomposición lenta (salida lenta de C), lo cual ocurre, generalmente, a nivel de individuos (Figuroa-Navarro *et al.*, 2005). En los diferentes biomas, los factores ambientales determinan algunas características en la vegetación que les permiten la persistencia en regímenes específicos de temperatura, precipitación y disponibilidad de luz. En muchos ecosistemas, cuando los recursos del suelo son bajos (principalmente N y P), se limita el crecimiento de las plantas; solamente las especies vegetales que poseen características especiales para hacer un mayor uso de los recursos serán dominantes y favorecerán la conservación del C y el ciclaje de nutrientes en el suelo (Aerts y Chapin, 2000). Por otro lado, las características de la comunidad que promueven la disponibilidad de nutrientes y que soportan la productividad primaria, se pueden combinar con otras que favorecen la estabilización del suelo a través de la descomposición lenta de la MO y su incorporación al mismo. Estas combinaciones dependen de la coexistencia de las plantas con diferentes tasas de crecimiento; así como de la distribución espacial de los recursos y la perturbación de las estructuras subterráneas y aéreas (Hooper *et al.*, 2005).

En términos de secuestro del C en el suelo, éste se mejora al maximizar el balance entre las entradas y salidas del mismo en el suelo, lo cual depende directamente de la eficiencia de los descomponedores, las interacciones de la biota edáfica, la absorción de nutrientes minerales por parte de las plantas, así como de una interacción eficiente entre las fracciones orgánicas y minerales a través del perfil del suelo (Martínez *et al.*, 2008). Por lo tanto, se considera que las asociaciones entre plantas con algunos microorganismos del suelo, desempeñan un papel importante en la entrada y pérdida de C en el suelo; así como en su estabilización (De Deyn *et al.*, 2008). De estos microorganismos, los hongos y en especial los HMA, influyen en el flujo y la retención del C fotosintético a nivel de la rizósfera por medio de su micelio, principalmente el extra-radical. Se ha sugerido que las redes fúngicas de los HMA que se extienden a través del suelo pueden transportar C entre las plantas que se encuentran vinculadas en una red micorrízica común (Gianinazzi *et al.*, 2010). Otros estudios reportaron que la traslocación de C en los hongos ocurre, principalmente en su micelio y puede ser importante para reducir el costo de C de algunas plantas micorrizadas en una comunidad (Olsson *et al.*, 2010).

El micelio extra-radical es una extensión física del sistema de raíces que incrementa la superficie del área en la cual los nutrientes son absorbidos y puede formar una fracción significativa de la biomasa microbiana en suelos estimada en 700-900 kg ha⁻¹ (Finlay, 2008). De la longitud micelial en el suelo, los HMA contribuyen con una enorme proporción, de un 20 hasta un 30% de la biomasa microbiana, lo cual ha quedado demostrado en diversos estudios donde se compara la raíz con el área de la superficie por unidad de volumen de las hifas de HMA que puede ser aproximadamente 100 veces mayor. Esta cantidad de hifas varía en los ecosistemas y presenta valores promedio comunes de 0.5 a 5 m de hifas por gramo de suelo en suelos cultivados y hasta 20 m en suelos no perturbados (González *et al.*, 2004). Este incremento se logra gracias al pequeño diámetro de la hifa que le permite penetrar los espacios porosos más pequeños del suelo que, generalmente, son inaccesibles para las raíces de las plantas. Sin embargo, la biomasa y composición de las comunidades de HMA varía con respecto al ecosistema y al manejo al que este se encuentre sometido (Kivlin *et al.*, 2011).

Los HMA ayudan en la retención del C a través de su inmovilización gracias a la intervención física de su micelio extra-radical y producción de proteínas relacionadas con la glomalina (PRG). Éstas actúan como un agente cementante o estabilizador del suelo a largo plazo, gracias a que forman agregados estables en el suelo (Olsson *et al.*, 2010), los cuales protegen al C de la degradación microbiana (mineralización propiamente dicha o respiración edáfica). Un incremento en la agregación es considerado como un mecanismo importante para aumentar el secuestro de C edáfico en el tiempo y, por lo tanto, reducen las concentraciones de carbono a nivel de biosfera (Wilson *et al.*, 2009).

Los HMA cuentan con la ventaja de ser dotados de un abastecimiento constante directo de CO desde su hospedero, consumiendo aproximadamente el 20% del C de la planta con respecto a otros hongos y microorganismos del suelo (González *et al.*, 2004; Olsson *et al.*, 2005). Se ha demostrado que compuestos de alto peso molecular como las PRG producidas por las hifas, pueden contribuir de manera significativa, al flujo total de CO₂ en el suelo de un bosque, ya que el micelio extra-radical distribuye el C derivado de la fotosíntesis al suelo, haciéndolo disponible para otros microorganismos y contribuye a su retención en el mismo (Cheng y Baumgartner, 2006; Finlay, 2008). En consecuencia, se sugiere que sus hifas pueden permanecer viables por mayor tiempo, incluso algunos meses después de que su hospedero ha muerto (Rillig y Mummey, 2006). Su

participación en el flujo del C, se considera de mayor importancia, ya que estos hongos exudan compuestos carbonados al suelo constantemente. Lo anterior, está bien documentado para los pastizales que desempeñan una función importante con respecto a los cambios en las emisiones de C globales, actuado como sumideros y donde las hifas de los HMA actúan como un mecanismo de captura de éste (Wilson *et al.*, 2009).

Los primeros trabajos sobre agregación de suelos fueron de Miller y Jastrow (1990), quienes encontraron una relación entre la longitud y la densidad de hifas de HMA colonizando raíces de *Lolium perenne* L. y el diámetro medio de los agregados estables al agua (figura 9). Tisdall (1991) infirió que las hifas de los HMA juegan un papel relevante en la agregación del suelo debido, principalmente a dos mecanismos: (1) una acción mecánica que participa en la unión de las partículas y (2) una acción cementante por la presencia de polisacáridos extracelulares.

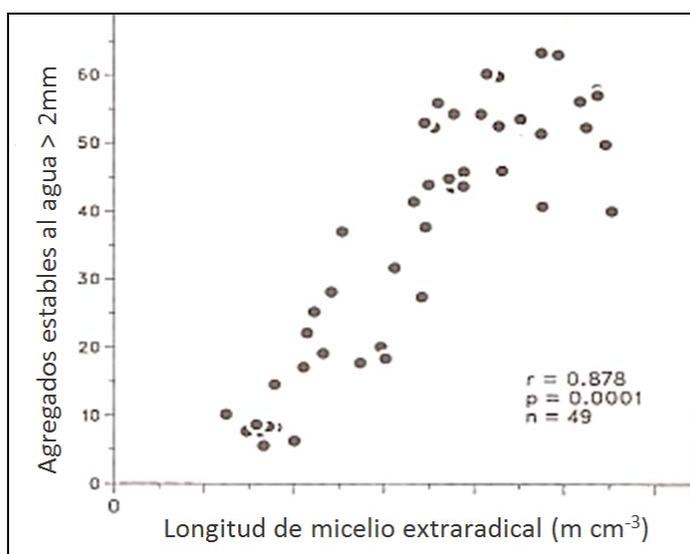


Figura 9. Relación entre la longitud de micelio extra-radical de los HMA colonizando raíces de *Lolium perenne* y el diámetro de los agregados estables al agua. Imagen tomada y modificada de Miller y Jastrow (1990).

Sin embargo, las hifas extra-radicales de los HMA pueden resultar severamente afectadas por la alteración del suelo como consecuencia de la fragmentación de la red, principalmente, por cambio en su uso. Estudios recientes refieren que existe una mayor densidad de micelio extra-radical y, por lo tanto, mayor cantidad de agregados estables al agua, en suelos donde no se ha alterado su estructura, como es el caso de la labranza reducida y cero labranza, con respecto a la labranza convencional. Esto impacta, de

manera directa, en la cantidad de C que se puede retener en estos suelos por medio de su inmovilización y traslocación en la rizósfera (Borie *et al.*, 2000).

4.4 Beneficios de los HMA en las comunidades de plantas

Los HMA no sólo contribuyen a mejorar las propiedades físicas y químicas del suelo, sino también tienen impactos positivos en la vegetación. Pietikäinen y Kytöviita (2007) demostraron que en un sistema donde las plantas compiten por los nutrientes, la presencia de HMA mejora el nivel competitivo de las plántulas. Esto ocurre al momento de su establecimiento en presencia de plantas adultas en procesos de sucesión, debido a que los HMA ayudan a una mayor captación de recursos útiles a las plántulas como agua y nutrientes, principalmente de P.

Atkidson y colaboradores (2003), encontraron que estos hongos repercuten en el desarrollo de las raíces de *Trifolium repens* y al mismo tiempo aumentan su tiempo de vida en el suelo. También sugieren que esta asociación puede influir en el nivel competitivo de las plantas dentro de las comunidades, ya que aumentan la calidad de sus raíces y esto se ve reflejado en una mayor obtención de recursos que puede generar exclusión de otras especies. Otra estrategia de aumentar el nivel competitivo de las plantas hospedadas, es gracias al intercambio de nutrientes por medio de redes micorrízicas que generan diferentes especies de hongos. Esto ha quedado demostrado únicamente para ectomicorrizas, gracias a las observaciones hechas en experimentos donde se utilizaron microcosmos transparentes y auto-radiografía; aunque para el caso de la micorriza arbuscular ha sido poco estudiada esta función (Pérez y Read 2004).

Los HMA pueden causar cambios en la composición vegetal, lo cual puede conducir a cambios en la microbiota del suelo asociada con diferentes especies de plantas (Rillig, 2004). Johnson y colaboradores (2003) demostraron que las comunidades microbianas difieren de forma significativa con la composición de la comunidad vegetal y la abundancia de HMA. Del mismo modo, los recursos captados por el hospedero pueden estar influenciados por las comunidades microbianas (Olsson *et al.*, 2010). Los HMA intervienen en la productividad primaria (PP) a través de la fotosíntesis por parte de la hoja; así como de toda la planta. No toda la PP se transfiere a la planta, el flujo respiratorio se resta para obtener la productividad primaria neta (PPN). Los HMA pueden alterar las tasas de respiración de las plantas y así afectar la PPN (Olsson *et al.*, 2010). Por ejemplo, se ha determinado que los HMA aumentan la tasa de respiración de

las raíces. De igual forma, se ha encontrado que el porcentaje de C asimilado por las plantas que se utiliza en la respiración de la micorriza es del 15%; aunque, estos estudios se concentran en el efecto en plantas individuales y no a nivel de ecosistema (Rillig, 2004).

Estos antecedentes ponen de manifiesto que la capacidad de retener C fotosintético de los HMA, estará en función no sólo de la biomasa de las especies vegetales, sino también de su efectividad para traslocar el C fotosintético a sus hospederos micorrízicos y al suelo a través de los exudados de las raíces micorrizadas, lo cual es un factor determinante en la agregación del suelo (Piotrowski *et al.*, 2004).

V. HIPÓTESIS

Los HMA contribuyen a la inmovilización del carbono en el suelo a través de la participación de su micelio externo en la estabilidad de agregados, ambos parámetros serán diferentes en las rizósferas de dos especies vegetales dominantes de la reserva, *B. cordata* y *B. ternifolia*, por lo que cada especie tendrá distinta capacidad para secuestrar carbono.

El segundo sitio de estudio llamado MUAC, se encuentra ubicado en el Circuito Mario de la Cueva, frente al Museo Universitario de Arte Contemporáneo (MUAC) en la Zona Cultural de Ciudad Universitaria, y el tercer sitio de estudio nombrado Universum, se localiza en el Sendero ecológico ubicado en el Circuito Cultural, de Ciudad Universitaria, frente al Museo de la Ciencias (Universum) (figura 11).

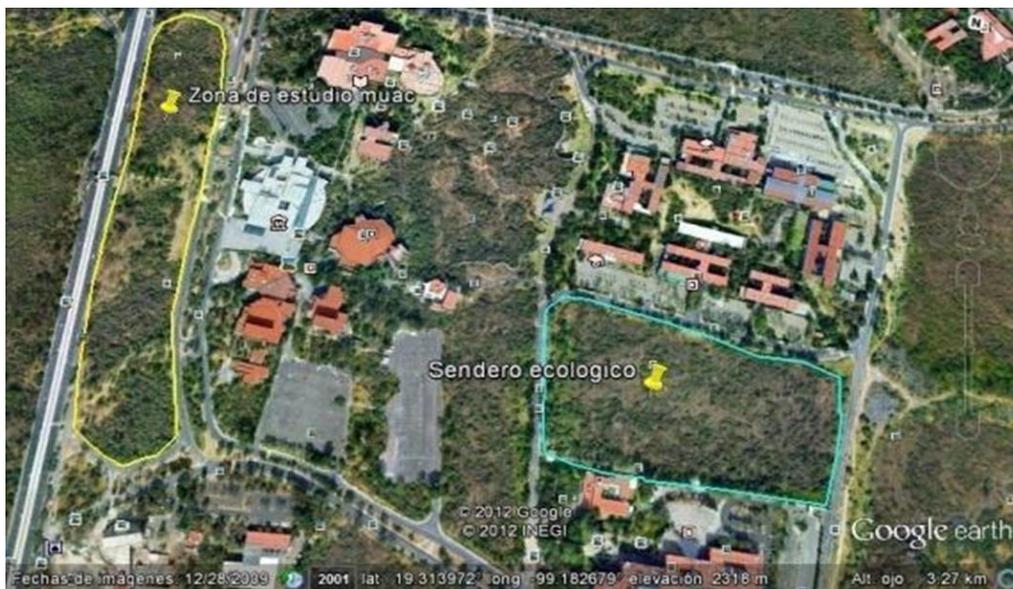


Figura 11. Vista satelital de los sitios de estudio MUAC y Universum dentro del campus universitario de la UNAM, Ciudad de México. Imagen tomada de: Google earth.

6.2 Localización de la vegetación y caracterización de la composición florística del Geopedregal

Previo a realizar el muestreo de las rizósferas se obtuvo un mapa topográfico del Geopedregal proporcionado por la Dirección General de Obras y Conservación de la UNAM, el cual fue georeferenciado con Global Mapper y, posteriormente, procesado con Google Earth®, el software Arc View 3.2 y Corel Draw con la finalidad de observar la distribución de las especies arbóreas y arbustivas más representativas en este sitio.

Se recolectaron especies vegetales de los tres estratos (arbóreo, arbustivo y herbáceo) conservándose ejemplares de herbario para ser determinados taxonómicamente por un especialista con el fin de conocer su abundancia en este sitio. Se encontró que la especie arbórea más abundante en el Geopedregal, el sitio a restaurar, fue *Buddleja cordata*

Kunth con 22 individuos distribuidos principalmente en hondonadas y en el sitio plano; *Bouvardia ternifolia* (Cav.) Schldtl fue la especie más representativa con 38 individuos concentrados, en su mayoría, en el sitio plano (Anexo 1). Con base en esto, se decidió que estas dos especies eran las más idóneas para ser estudiadas en esta investigación.

6.3 Muestreo de suelos y rizósferas

En cada una de las tres zonas de estudio, se eligieron cuatro individuos de *B. ternifolia* con una altura entre 1.20 a 1.50 m y un número de tallos de 4 a 6. De *B. cordata* también se seleccionaron cuatro individuos conforme a su distribución (localizados en sitios planos) y cuatro fuera de la rizósfera de cada una de las especies vegetales, con la finalidad de contar con datos comparativos. Se tomaron un total de 48 muestras de suelo, asegurándose de quitar la mayor parte de mantillo al momento de la recolecta.

El muestreo de los agregados se realizó haciendo un corte en el suelo de 10 cm de largo, 6 cm de ancho y 4 cm de profundidad con la intención de poder obtener una porción completa de suelo para colocarlo dentro de un envase de tetrapack de 250 mL. El envase se manipuló lo menos posible para no dañar los agregados y en el laboratorio se puso a secar el suelo en charolas de papel aluminio a temperatura ambiente. Ya secos, se pasaron por un tamiz de 8 mm eliminando la mayor parte de hojas, semillas, raíces y rocas. Cada muestra fue guardada en bolsas plásticas herméticas para realizar los análisis de estabilidad de agregados, porcentaje de C y N total, textura y cuantificación de micelio externo. Las raíces obtenidas de las muestras de suelo rizosférico de *B. ternifolia* y *B. cordata*, fueron guardadas por separado en bolsas plásticas para realizar, posteriormente, el porcentaje de colonización micorrízica y conocer el volumen que ocupaban en el suelo.

6.4 Determinación del índice de estabilidad de agregados por el método Yoder

De las muestras obtenidas en campo y almacenadas previamente, se pesaron 4 g de suelo y se colocaron en un tamiz de 0.25 mm junto con su replica. En un cámara de humectación, los suelos se hidrataron por aproximadamente dos horas y una vez que la muestra cambió de color completamente, fue indicador que estaba humedecida en su totalidad (figura 12 a y b). Posteriormente, se acomodaron los tamices en un equipo automatizado (Wet Sieving Apparatus) para cuantificar estabilidad de agregados, llenando las bases metálicas con agua y poniéndolo en funcionamiento durante tres minutos. Al finalizar este tiempo, la fracción de suelo retenida en el tamiz se recuperó y se colocó en el tamiz de la fracción siguiente 0.5 mm, teniendo cuidado que no hubiera

pérdida de suelo. Se repitió el mismo procedimiento para todas las fracciones hasta llegar a 2 mm (figura 13 a y b). El suelo retenido en el tamiz de 2 mm se recuperó y se puso a secar en la estufa a 100 °C hasta peso constante para posteriormente realizar los cálculos y obtener el índice de estabilidad de agregados (Anexo 3). Este mismo procedimiento se hizo para cada una de las muestras rizosféricas y fuera de la rizósfera de ambas especies en los tres sitios de estudio.

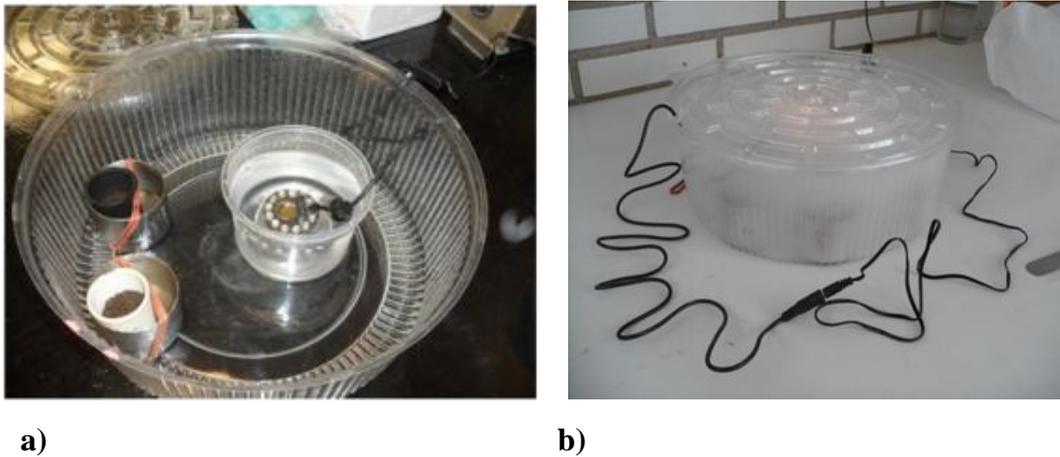


Figura 12. Cámara de humectación para la determinación de la estabilidad de agregados (a) y funcionamiento de la cámara de humectación (b). Fotos: Valladares, 2012.

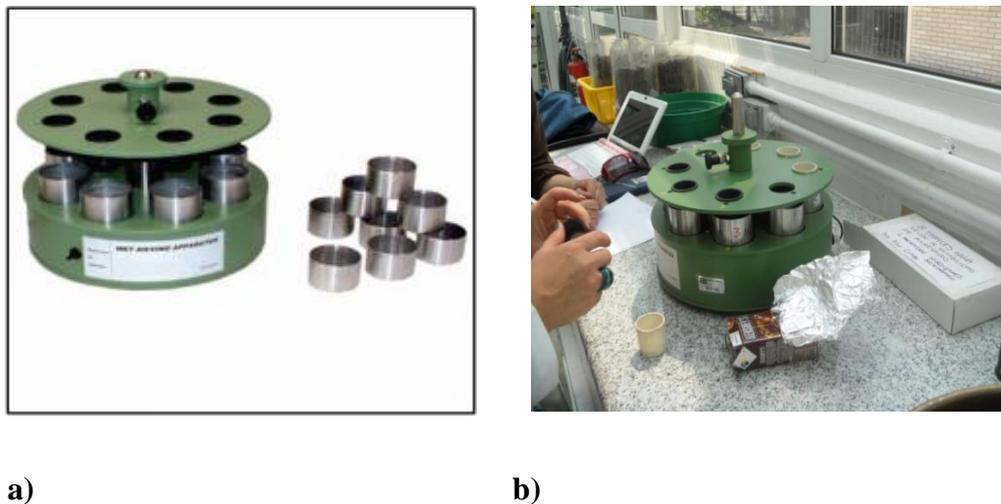


Figura 13. Equipo automatizado Wet Sieving Apparatus para determinar los agregados estables al agua (a) y procedimiento del método Yoder para estimar el índice de estabilidad de agregados (b). Imagen (a) tomada de: <http://www.soilmoisture.com>. Foto (b): Valladares, 2012.

6.5 Determinación de densidad aparente (método del cilindro) y textura de los suelos

Con ayuda de un cilindro metálico de 5x5cm, se obtuvo una muestra de suelo inalterado de las rizósferas de *B. cordata* y *B. ternifolia* para cada uno de los tres sitios de estudio (un total de 24 muestras); una vez en el laboratorio, se colocaron en una cápsula de porcelana teniendo cuidado que no hubiera pérdida de suelo y, posteriormente, se tomó su peso en una balanza analítica. Inmediatamente las muestras pusieron a secar en la estufa a 105°C hasta peso constante para después realizar los cálculos correspondientes (Anexo 4). El análisis de partículas (textura de los suelos) se llevó a cabo en el Laboratorio de Edafología Ambiental (LEA), del Instituto de Geología, de la UNAM por el método de la pipeta.

6.6 Preparación de muestras para análisis de C y N total en suelo

De las muestras obtenidas en campo y almacenadas previamente, se pesó 2 g de suelo y se pulverizó perfectamente en un mortero de ágata hasta que la muestra se tornara homogénea. Las muestras fueron guardadas en bolsas plásticas herméticas para su posterior análisis. Este mismo procedimiento se realizó para cada una de las muestras rizosféricas y fuera de la rizósfera de ambas especies en los tres sitios de estudio. El análisis para la obtención del porcentaje de C y N total se llevó a cabo por medio del método de oxidación por combustión catalítica, en el Laboratorio de Edafología Ambiental (LEA), del Instituto de Geología de la UNAM.

6.7 Extracción y cuantificación de micelio externo HMA

La cuantificación y extracción de micelio externo de HMA se realizó en la fracción estable de los agregados de 2mm resultante del proceso de determinación de agregados (figura 14). La muestra se pasó por un tamiz de 38µm y se lavó las veces que fuera necesario hasta haber eliminado la mayor cantidad de arcillas. Una vez limpia la muestra, se aforó a 250 mL y se batió en una licuadora para esquimo a velocidad alta durante 30 segundos e inmediatamente se decantó y se dejó sin mover durante un minuto. Pasado este tiempo, se tomó una alícuota de 5 mL y se vertió en el equipo de filtración con las membranas correspondientes, el cual se conectó al vacío enjuagando la muestra con agua. Se añadió 2 mL de azul de Tripán, dejando teñir la membrana durante cinco minutos (figura 15 a). Pasado este tiempo, se retiraron las membranas y se montaron en un portaobjetos para su posterior observación (figura 15 b) a un aumento de 200x. Se tomaron fotografías de 25 campos al azar distribuidos en toda el área del

filtro para analizarlas posteriormente con el programa Image pro-plus 6 sobreponiendo una cuadrícula de 500 x 500 micras y marcando el micelio que se encontraba únicamente dentro de la cuadrícula, para de esta manera obtener la longitud de micelio en cada campo y realizar los cálculos correspondientes (figura 16) (Anexo 5). Este mismo procedimiento se realizó para cada una de las muestras rizosféricas y fuera de la rizósfera de ambas especies en los tres sitios de estudio.

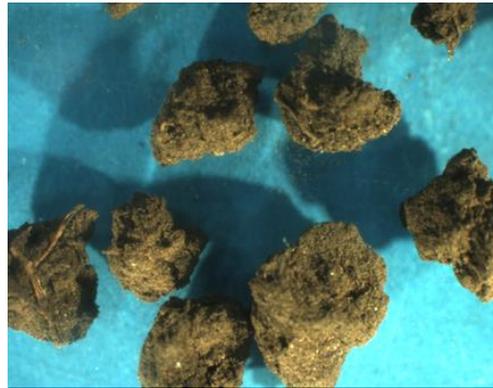
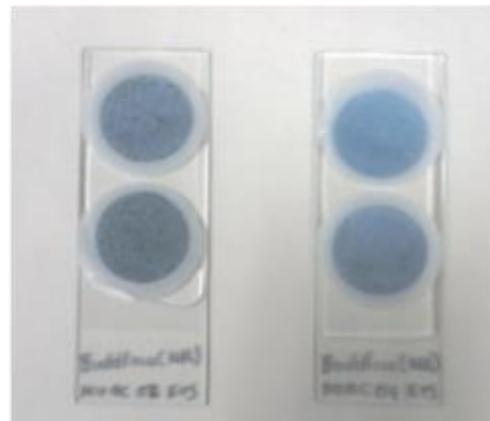


Figura 14. Fracción estable de los agregados de 2mm resultante del proceso de determinación de agregados por el método Yoder. Foto: Valladares, 2013.

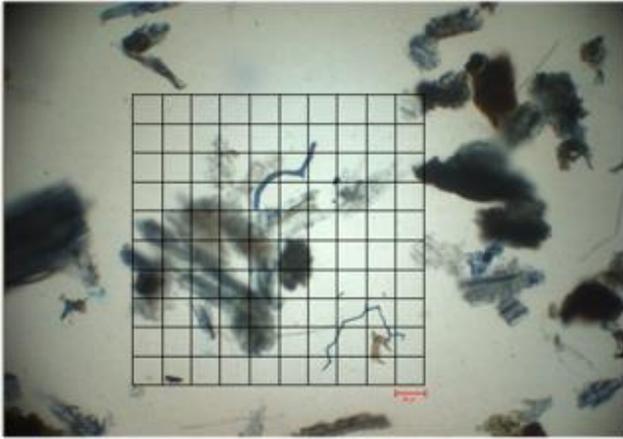


a)

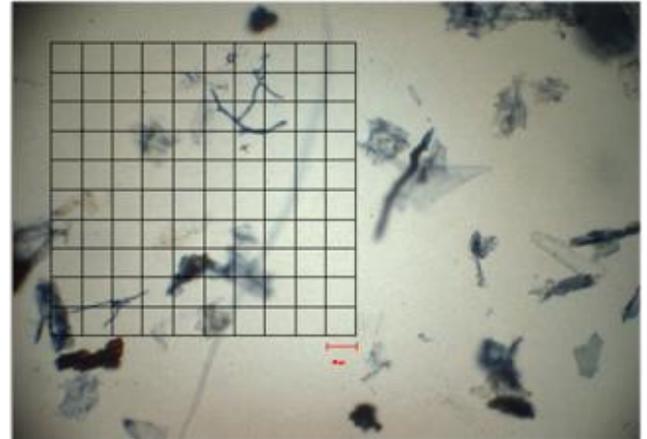


b)

Figura 15. Extracción y cuantificación de micelio externo: (a) equipo de filtración Millipore®, (b) montaje de membranas para su observación al microscopio. Fotos: Valladares, 2013.



a)



b)

Figura 16. Análisis de microfotografías con el programa Image Pro-Plus® para la cuantificación de micelio externo obtenido de la rizósfera de: **(a)** *B. cordata* y **(b)** *B. tenifolia*. Fotos: Valladares, 2013.

6.8 Volumen de raíces

Las raíces que se ocuparon para llevar a cabo este procedimiento fueron las que se extrajeron en un inicio de las muestras rizosféricas de *B. cordata* y *B. tenifolia* que se recolectaron de campo. Las raíces se lavaron sobre un tamiz de 0.47 mm las veces que fueran necesarias hasta observarlas limpias. Posterior a esto, se midió su desplazamiento en un volumen conocido de agua (50 mL) para conocer el volumen que estas ocupan en el suelo (Anexo 6). Las muestras de raíces fueron puestas a secar en charolas de papel aluminio a temperatura ambiente y guardadas en bolsas plásticas para obtener posteriormente el porcentaje de colonización micorrízica.

6.9 Porcentaje de colonización micorrízica

Las muestras de raíces que se utilizaron para la medición del volumen radicular fueron utilizadas para obtener el porcentaje de colonización micorrízica. Estas se agregaron a una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% dejándose reposar a temperatura ambiente durante 48 horas, para el caso de las raíces de *B. cordata* y 24 horas para las de *B. tenifolia*. Una vez aclaradas se neutralizaron con ácido clorhídrico (HCl) al 10% durante 30 minutos. Ya neutralizadas, las raíces se colocaron en un tamiz de 37 μ m y se lavaron al chorro de agua para su posterior tinción en una solución de azul de Tripán, donde se dejaron reposar durante 24 horas. Pasado este tiempo, las raíces se cortaron en secciones de dos centímetros aproximadamente y se montaron en un portaobjetos (10

raíces por laminilla) para su observación al microscopio bajo un aumento de 200x (figura 17), sobreponiendo una lámina con 10 líneas trazadas horizontalmente y localizando en cada uno de los 100 puntos de intersección la presencia de estructuras micorrízicas (esporas, hifas, vesículas o arbuscúlos) (figura 18 a y b) (Anexo 7).

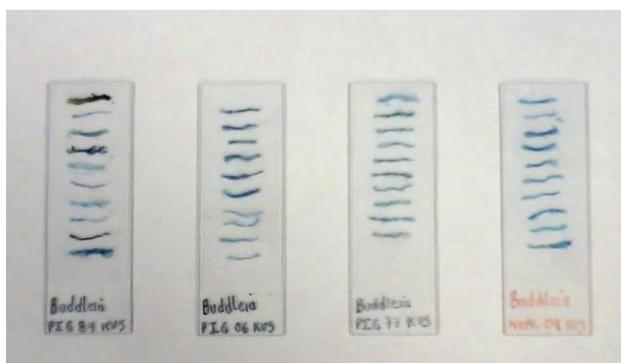
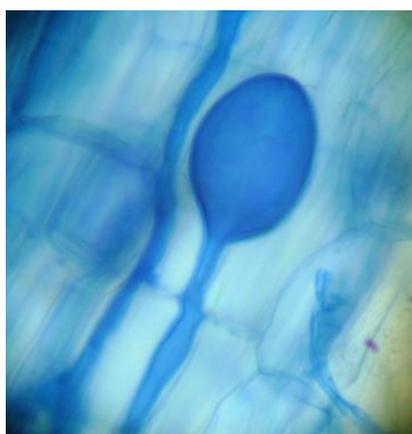


Figura 17. Montaje de raíces de *B. cordata* para su observación al microscopio y obtención del porcentaje de colonización micorrízica. Foto: Valladares, 2013.



a)



b)

Figura 18. Vesículas e hifas observadas en raíces de *B. cordata* (a) y *B. ternifolia* (b) a un aumento de 400x. Foto: Valladares, 2013.

6.10 Determinación de biomasa

Para los arbustos de *B. ternifolia*, se sacrificaron los cuatro individuos muestreados de las rizósferas para cada uno de los tres sitios de estudio. Se llevaron inmediatamente al laboratorio para obtener su peso fresco y posteriormente, se separaron las hojas de los tallos y se colocaron en la estufa a 60°C hasta obtener su peso constante y así registrar su peso en seco.

Para los árboles de *B. cordata*, se midió el diámetro del tronco a la altura del pecho (1.30 m) y se cortaron algunas ramas de los árboles muestreados de las rizósferas para las tres zonas de estudio, con la finalidad de determinar el contenido de N y C foliar. En el laboratorio, se tomó su peso fresco; se separaron las hojas de los tallos para ser secadas a 60°C hasta peso constante y obtener su peso en seco.

Para calcular la biomasa de *B. cordata* y con ello estimar la cantidad de C capturado, se utilizó la ecuación alométrica propuesta por Cano-Santana (1994a), específica para esta especie y se sustituyeron los datos:

$$\text{Biomasa total} = 260.343 (\text{DAP})^{1.036}$$

donde:

DAP= diámetro a la altura del pecho (1.30m)

6.11 Preparación de muestras para análisis de C y N total foliar

Las hojas que fueron separadas de las muestras de las especies vegetales para la obtención de la biomasa fueron puestas en la estufa a 60° C y, posteriormente, pulverizadas en un molino para planta marca Frizt® (figura 19) con el fin de cuantificar la cantidad de C y N totales en ambas especies y en los distintos sitios de muestreo. El análisis se llevó a cabo por medio del método de oxidación por combustión catalítica, en el Laboratorio de Edafología Ambiental (LEA), del Instituto de Geología de la UNAM.



Figura 19. Molino Frizt para molido de tejidos de las plantas. Foto: Valladares, 2013.

VII. ANALISIS ESTADÍSTICOS

Se realizó el test de normalidad Skewness-Kurtosis con el paquete estadístico Stata 11.1 para conocer la distribución de los datos y aquellos que no se ajustaron a una distribución normal fueron transformados con la finalidad de lograr un cambio en la escala de medición y así obtener la normalidad.

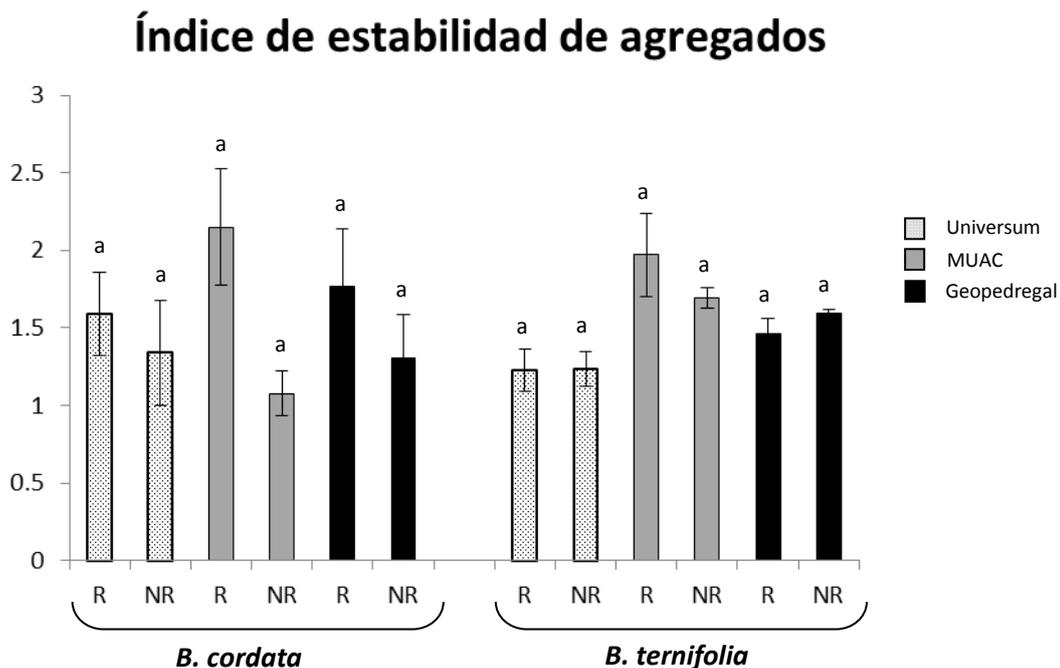
Los datos de porcentaje de colonización micorrízica, C y N tanto en suelo como foliar fueron transformados por el arcoseno. Los datos de estabilidad de agregados se cambiaron logarítmicamente (\log_{10}) y finalmente los de micelio externo se transformaron con raíz cuadrada.

Habiendo ajustado todos los datos a la normalidad, se procedió evaluarlos mediante una ANOVA de tres vías y se compararon las medias mediante la prueba Tukey con ayuda del paquete estadístico Minitab 17. Se corrieron correlaciones entre las variables para observar dependencia entre ellas.

VIII. RESULTADOS

8.1 Determinación de la estabilidad de agregados

Los resultados de estabilidad de agregados se ponderan con el indicador del índice de estabilidad de agregados (Gráfica 1). El ANOVA no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los suelos de las rizósferas de ambas especies y los suelos fuera de las rizósferas de estas ($P_F= 0.0781$). Tampoco se hallaron diferencias entre los tres sitios de estudio ($P_F= 0.7653$), ni entre las especies de plantas ($P_F= 0.0732$). Sin embargo, el índice de estabilidad fue mayor en el MUAC, tanto en el suelo de la rizósfera de *B. ternifolia* (1.97) como para la de *B. cordata* (2.15); y de forma contraria, en Universum se encontró un menor índice de estabilidad para ambas especies (1.22 para *B. ternifolia* y 1.59 para *B. cordata*).

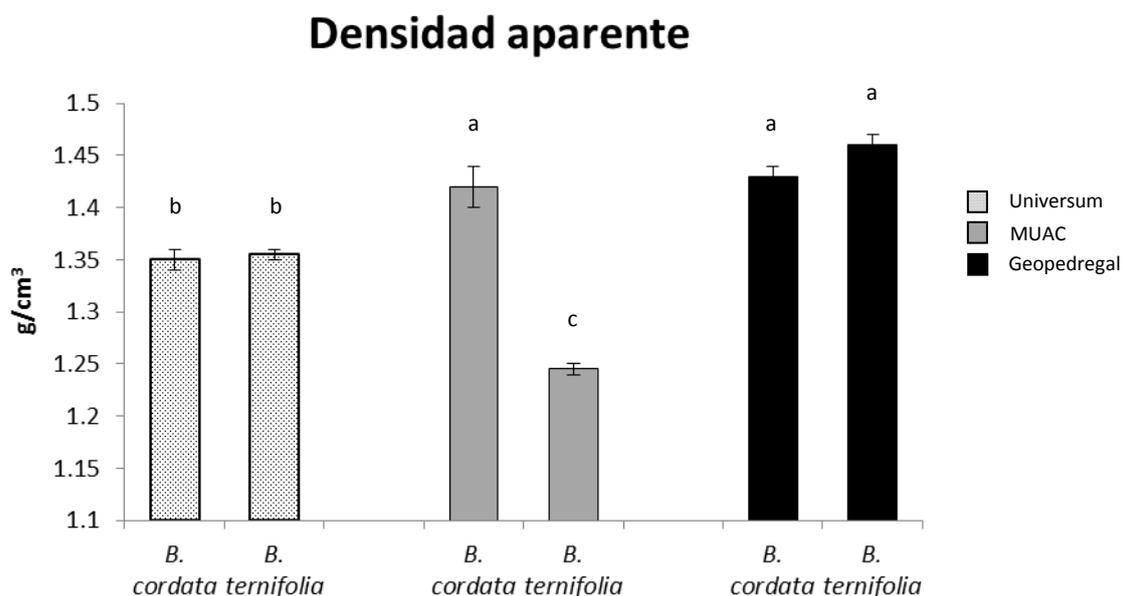


Gráfica 1. Índice de estabilidad de agregados de *B. cordata* y *B. ternifolia* para las tres zonas de estudio. Las barras indican el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P < 0.05$).

8.2 Densidad aparente y textura de los suelos

En la gráfica 2, se presentan los promedios de la densidad aparente para los tres sitios de estudio y las diferentes especies. El ANOVA mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las rizósferas de ambas especies de plantas ($P_F=0.1979$); sin embargo, los sitios de estudio sí presentaron una ligera diferencia ($P_F=0.05$). La densidad aparente fue mayor en el Geopedregal para ambas especies de plantas (*B. cordata* con 1.43 g/cm^3 y *B. ternifolia* con 1.46 g/cm^3); Universum presentó valores iguales para ambas especies de plantas (1.35 g/cm^3) y por último el MUAC mayor densidad aparente para la rizósfera de *B. cordata* (1.42 g/cm^3) comparada con la de *B. ternifolia* (1.24 g/cm^3).

Los análisis de textura indicaron suelos francos con una composición en el Geopedregal de 25.8% de arenas, 55.1% de limos y 19.1% de arcillas, dando como resultado una textura franco-arenosa. Los suelos del MUAC se constituyeron de un 23.8% de arenas, 45.9% de limos y 30.3% de arcillas que se traduce en una textura franco-arcillosa; por último, los de Universum estuvieron compuestos por 6% de arena, 63.6% de limos y 30.7% de arcilla que conforma la textura franco-arcillo-limosa.



Gráfica 2. Densidad aparente para las rizósferas de *B. cordata* y *B. ternifolia* en los tres sitios de estudio. Las barras indican el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P<0.05$).

8.3 Carbono y nitrógeno total en suelo

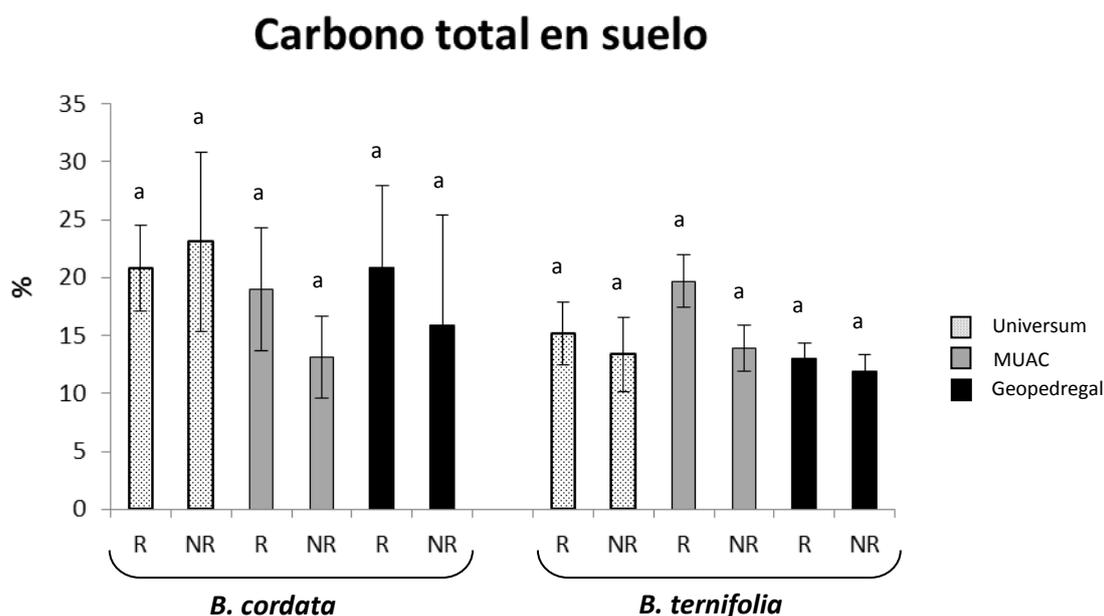
Los resultados de C y N totales en Mg ha^{-1} se pueden observar en los Cuadros 1 y 2. Para el caso del C, el ANOVA reveló que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las rizósferas de las especies y fuera de ellas ($P_F=0.2710$), tampoco en los sitios de estudio ($P_F= 0.4747$) ni entre las especies ($P_F= 0.2516$). De forma general, los agregados de las rizósferas de *B. cordata* fueron los que presentaron los mayores porcentajes de C total (19.02% para el MUAC y 20.88% en el Geopedregal), a excepción de Universum donde fue mayor para el tratamiento fuera de la rizósfera (23.09%), comparados con los agregados de las rizósferas de *B. ternifolia* (15.18% en Universum, 19.69% en el MUAC y 13.00% para el Geopderegal (Gráfica 3).

En cuanto al porcentaje de N total, el comportamiento fue similar al del C, ya que con el ANOVA no se encontraron diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos de rizósferas ($P_F= 0.2782$), de especies ($P_F= 0.5398$) ni entre los tres sitios de estudio ($P_F= 0.5601$) (Gráfica 4). Sin embargo, los mayores porcentajes de N total en agregados se presentaron para la rizósfera de *B. cordata* en los tres sitios de estudio (1.53%), comparados con su tratamiento fuera de la rizósfera (1.65%) y la rizósfera de *B. ternifolia* (1.33%). En general, los tratamientos fuera de la rizósfera presentaron una menor concentración de N a excepción de *B. cordata* en Universum, donde el N fue mayor en el tratamiento fuera de la rizósfera (1.77%). Las correlaciones indicaron que el contenido de C y N total de los agregados tienen una relación directamente proporcional y estadísticamente significativa (Cuadro 4).

En la Gráfica 5, se presenta la relación entre el C y el N donde las diferencias estadísticamente significativas fueron únicamente entre especies ($P_F= 0.0064$) y no entre sitios ($P_F= 0.3564$) ni tipos de rizósferas ($P_F= 0.3542$). La rizósfera de *B. cordata* presentó los valores más altos para los tres sitios de estudio ($\bar{x}=13.22$), en comparación con la rizósfera de *B. ternifolia* ($\bar{x}= 12.30$) y los tratamientos fuera de la rizósfera ($\bar{x}= 12.85$).

Cuadro 1. Carbono en Mg ha⁻¹ de las rizósferas de *B. cordata* (R) y zona fuera de la misma (NR) y de *B. ternifolia* en los tres sitios de estudio.

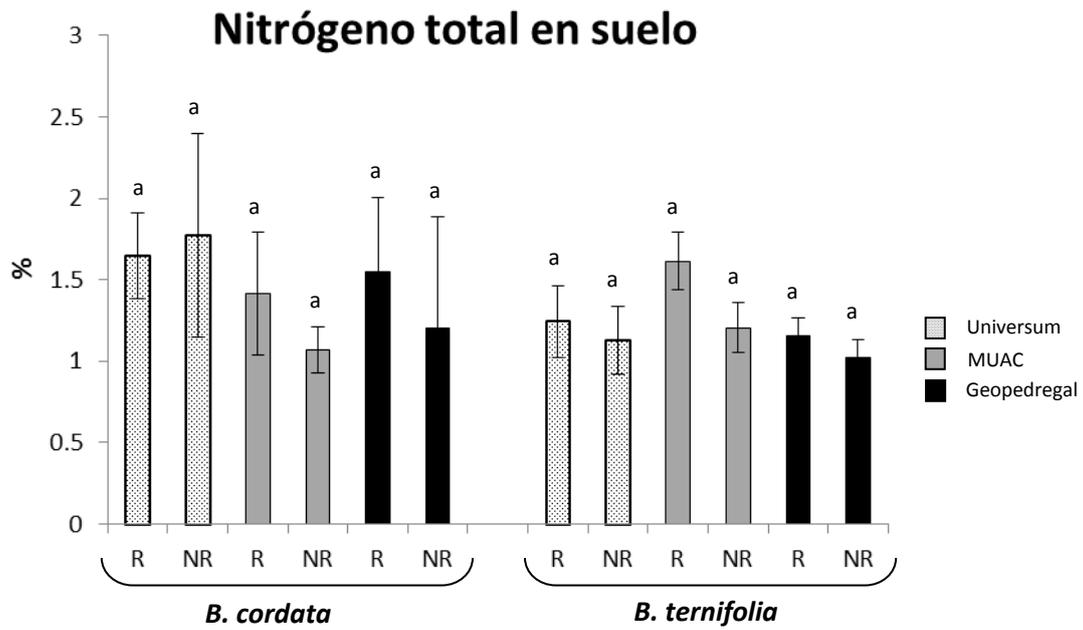
Especie	Universum Mg ha ⁻¹	MUAC Mg ha ⁻¹	Geopedregal Mg ha ⁻¹
<i>B. cordata</i> (R)	2.15 (± 0.15)	1.99 (± 0.31)	2.17 (± 0.26)
<i>B. cordata</i> (NR)	3.47 (± 0.29)	2.47 (± 0.13)	1.88 (± 0.51)
<i>B. ternifolia</i> (R)	1.71 (± 0.23)	3.33 (± 0.23)	1.97 (± 0.14)
<i>B. ternifolia</i> (NR)	1.84 (± 0.40)	1.68 (± 0.16)	2.32 (± 0.22)



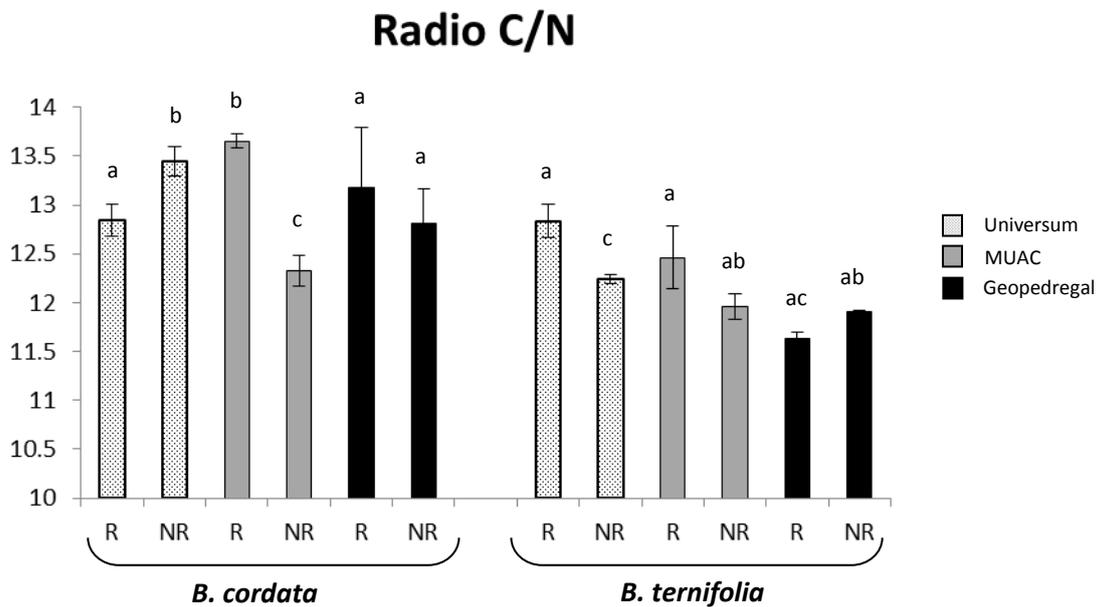
Gráfica 3. Porcentaje de C total en el suelo de las rizósferas de *B. cordata* y *B. ternifolia* en los tres sitios de estudio. Las barras representan el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas (P<0.05).

Cuadro 2. Nitrógeno en Mg ha⁻¹ de las rizósferas de *B. cordata* (R) y zonas fuera de la rizósfera (NR) y de *B. ternifolia* en los tres sitios de estudio.

Especie	Universum Mg ha ⁻¹	MUAC Mg ha ⁻¹	Geopedregal Mg ha ⁻¹
<i>B. cordata</i> (R)	0.16 (±0.011)	0.14 (±0.022)	0.16 (±0.013)
<i>B. cordata</i> (NR)	0.26 (±0.024)	0.20 (±0.008)	0.14 (±0.036)
<i>B. ternifolia</i> (R)	0.13 (±0.019)	0.26 (±0.011)	0.17 (±0.012)
<i>B. ternifolia</i> (NR)	0.15 (±0.032)	0.14 (±0.012)	0.19 (±0.018)



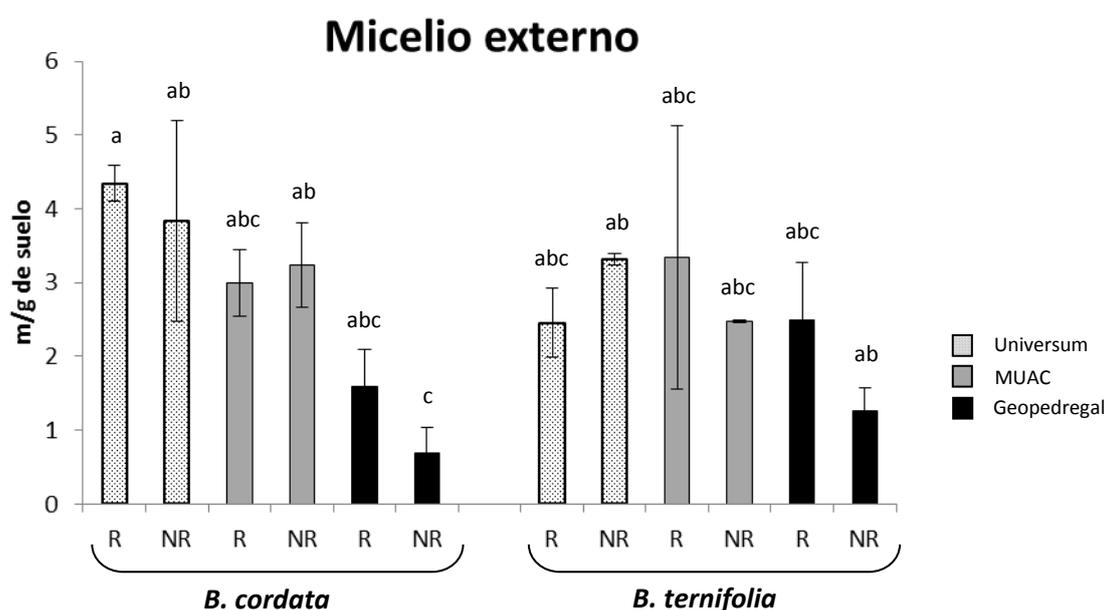
Gráfica 4. Porcentaje de N total en agregados de las rizósferas de *B. cordata* y *B. ternifolia* en las tres zonas de estudio. Las barras indican el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P < 0.05$).



Gráfica 5. Radio C/N de las rizósferas de *B. cordata*, *B. ternifolia* y sus respectivos tratamientos fuera de la rizósfera en los tres sitios de estudio. Las barras representan el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P < 0.05$).

8.4 Cuantificación de micelio externo

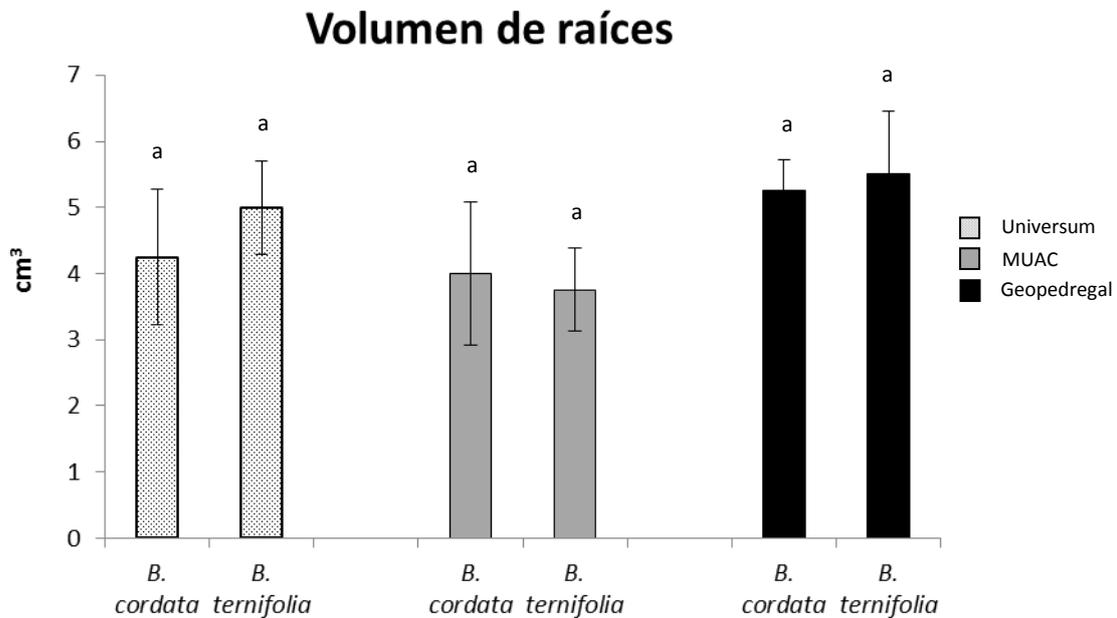
Los valores obtenidos de micelio externo (Gráfica 6) mostraron diferencias estadísticamente significativas únicamente entre los tres sitios de estudio ($P_F=0.0069$); entre especies no se encontraron diferencias ($P_F= 0.6118$) y tampoco entre las rizósferas y los tratamientos fuera de ellas ($P_F= 0.5185$). La rizósfera de *B. cordata* presentó mayor cantidad de micelio externo en Universum (4.35 m/g de suelo) y el Geopedregal (1.59 m/g de suelo) con respecto a los tratamientos fuera de la rizósfera (3.84 m/g de suelo en Universum y 0.68 m/g de suelo para el Geopedregal), excepto para el MUAC, donde el tratamiento fuera de la rizósfera tuvo mayor cantidad de micelio externo (3.23 m/g de suelo). La rizósfera de *B. ternifolia* presentó un patrón similar al de *B. cordata*, encontrando mayor longitud de micelio en las rizósferas de *B. ternifolia* del MUAC y Geopedregal (3.34 y 2.49 m/g de suelo) comparadas con sus tratamientos fuera de la rizósfera (2.47 m/g de suelo para MUAC y 1.27 m/g de suelo en el Geopedregal), salvo para Universum, donde el micelio externo fue mayor en el tratamiento fuera de la rizósfera (3.31 m/g de suelo).



Gráfica 6. Longitud de micelio externo de HMA para *B. cordata* y *B. ternifolia* en los tres sitios de estudio. Las barras indican el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P<0.05$).

8.5 Volumen de raíces

Con respecto al volumen de raíces, el ANOVA no mostró diferencias estadísticamente significativas entre las especies ($P_F= 0.7088$) ni los sitios de estudio ($P_F= 0.2041$). La especie *B. ternifolia* presentó un mayor volumen de raíces similar en los sitios Universum (5cm^3) y Geopedregal (5.5 cm^3), mientras que en el MUAC el volumen de raíces fue menor para esta especie (3.75 cm^3). Para el caso de *B. cordata* en los sitios Universum y MUAC se obtuvo un volumen radicular muy semejante, 4.25 cm^3 para el primer sitio y 4 cm^3 para el segundo, entre tanto que en el Geopedregal el volumen de raíces fue ligeramente mayor (5.25 cm^3), siendo este sitio el que presentó mayor volumen de raíces para ambas especies de plantas (Gráfica 7).

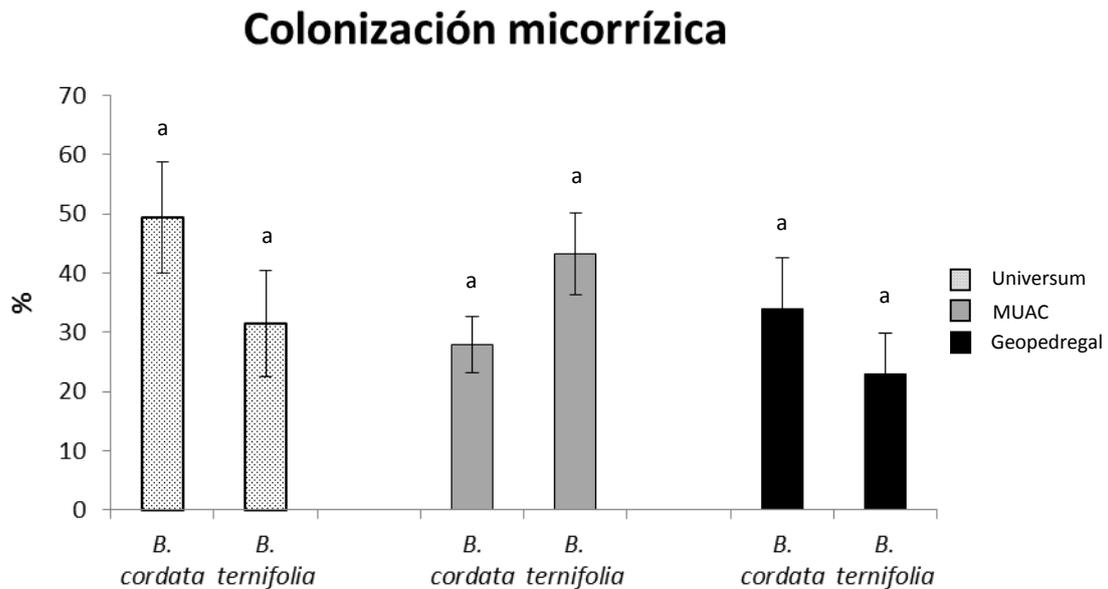


Gráfica 7. Volumen de raíces en cm^3 para las rizósferas de *B. cordata* y *B. ternifolia* para los tres sitios de estudio. Las barras representan el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P<0.05$).

8.6 Porcentaje de colonización micorrízica

En la Gráfica 8, se muestran los resultados del porcentaje de colonización micorrízica arbuscular. El ANOVA no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tres sitios de estudio ($P_F= 0.3510$), ni tampoco entre ambas especies de plantas ($P_F= 0.4973$). Las raíces de *B. cordata* de Universum presentaron el 49.5 % de colonización

micorrízica, mientras que en el MUAC y el Geopedregal dicho porcentaje fue mucho más bajo, 28% para el primero y 34% para el segundo sitio. Con respecto a las raíces de *B. ternifolia*, se encontró un mayor porcentaje de raíces colonizadas en el MUAC (43.2%), comparado con Universum (31.5%) y el Geopedregal (23%), donde el porcentaje fue mucho menor.

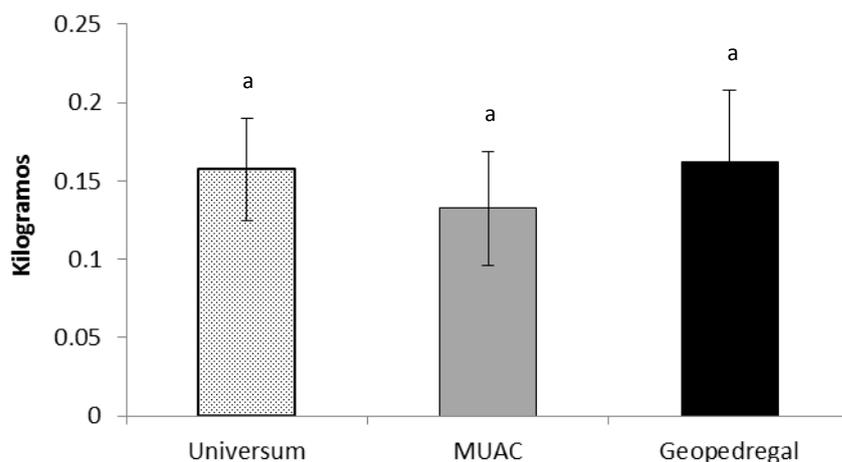


Gráfica 8. Porcentaje de colonización micorrízica de HMA en raíces de *B. cordata* y *B. ternifolia* de los tres sitios de estudio. Las barras indican el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P < 0.05$).

8.7 Determinación de biomasa

Los resultados de biomasa para la especie *B. ternifolia* fueron muy similares para las tres zonas estudiadas (Gráfica 9); no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P_F = 0.8414$); aunque, esta fue muy semejante en Universum y el Geopedregal (0.15 Kg y 0.16 Kg respectivamente), mientras que en el MUAC la biomasa resultó ser ligeramente menor (0.13 Kg).

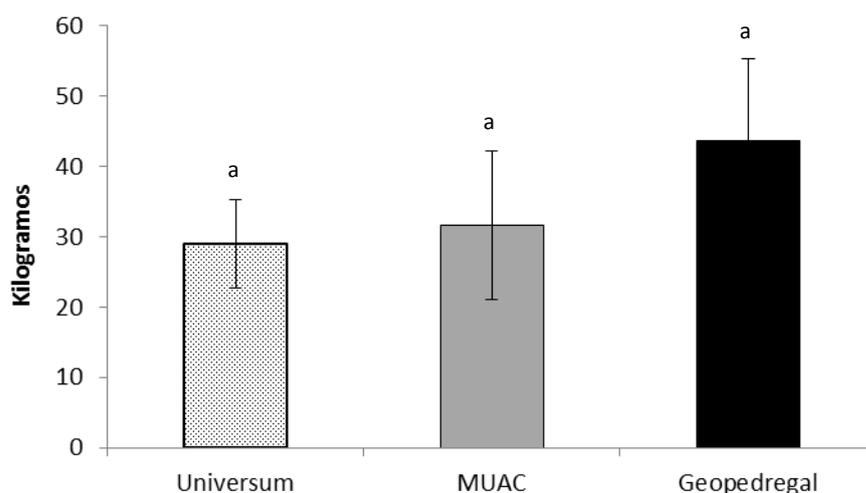
Biomasa *B. ternifolia*



Gráfica 9. Biomasa seca total de *B. ternifolia* para las tres zonas de estudio. Las barras indican el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P < 0.05$).

Para la biomasa de *B. cordata* tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tres sitios de estudio ($P_F = 0.5544$); sin embargo, los árboles del Geopedregal mostraron una mayor biomasa (43.56 Kg), a este sitio le siguió el MUAC, donde el promedio de la biomasa de los árboles fue de 31.6 Kg y finalmente, los individuos situados en Universum con un promedio de 28.95 Kg de biomasa (Gráfica 10).

Biomasa *B. cordata*



Gráfica 10. Biomasa total de *B. cordata* para los árboles medidos en los tres sitios de estudio. Las barras indican el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P < 0.05$).

En el Cuadro 3 se presenta la biomasa estimada por hectárea para la especie *B. cordata*, en cada uno de los tres sitios de estudio. Se observa que el Geopedregal tiene árboles que poseen 45% más biomasa que los que se sitúan en el MUAC y 30% más biomasa que los encontrados en el Universum, esto debido, principalmente, a su reducido diámetro y altura, lo cual estará influyendo directamente en su capacidad para poder retener carbono.

Cuadro 3. Biomasa aérea total estimada para los árboles de *B. cordata* en cada uno de los sitios estudiados

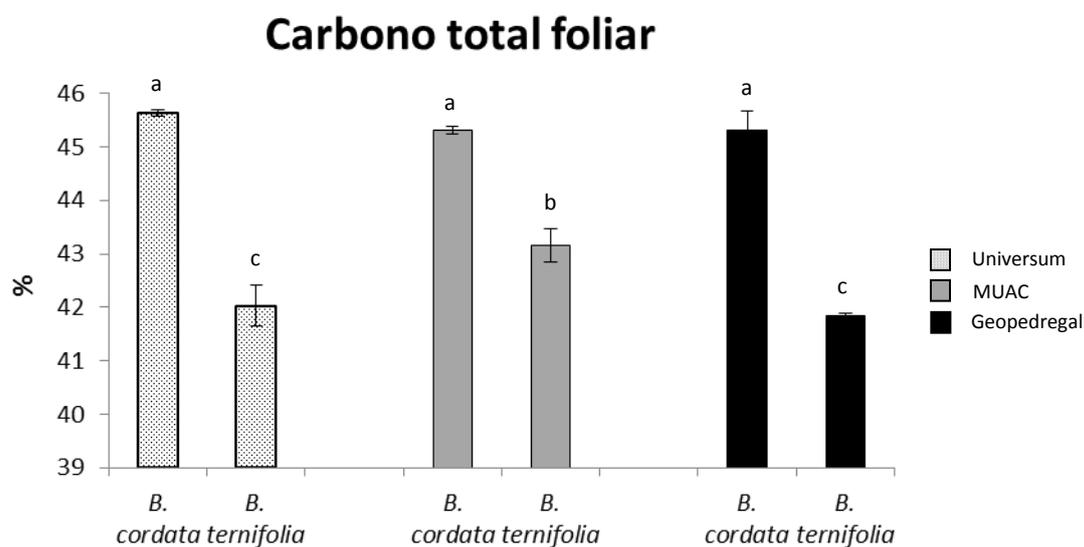
Sitio	No. de individuos	Altura (m)	Diámetro a la altura del pecho (cm)	Biomasa (Mg ha ⁻¹)
Geopedregal	22	2.92	62.8	0.967
MUAC	30	2.22	29.7	0.537
Universum	30	2.41	32.5	0.676

8.8 Porcentaje de carbono y nitrógeno total foliares

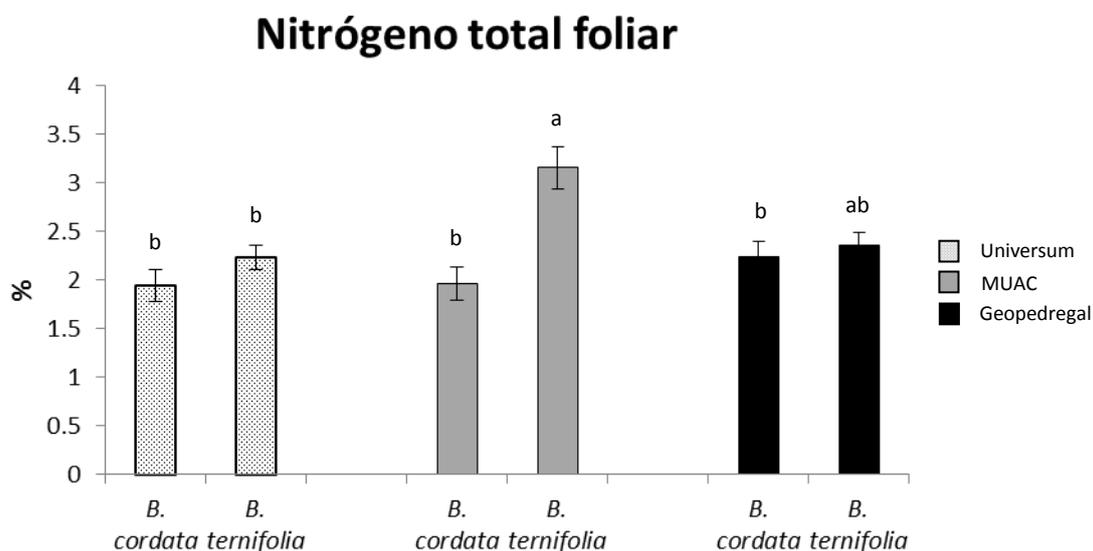
La Gráfica 11 muestra la concentración de C total foliar. El ANOVA mostró que sólo existieron diferencias significativas entre especies ($P_F= 0.0001$), siendo los árboles de *B. cordata* los que presentaron mayores porcentajes de C foliar ($\bar{x}=45.42\%$) que los arbustos de *B. ternifolia* ($\bar{x}= 42.34\%$). En el caso de los sitios de estudio, las diferencias no fueron significativas ($P_F= 0.0984$). Se encontró una relación altamente significativa entre el contenido de C de las hojas de ambas especies y la biomasa (Cuadro 4).

Por otro lado, el porcentaje de N total foliar fue similar al de C, encontrándose diferencias significativas únicamente entre especies ($P_F= 0.0043$) y no entre los tres sitios de estudio ($P_F= 0.1481$) (Gráfica 12). Para los tres sitios de estudio, las hojas de *B. ternifolia* tuvieron un mayor contenido de N con respecto a los árboles de *B. cordata*. El MUAC fue el sitio donde se obtuvo el mayor porcentaje para *B. ternifolia* (3.15%) comparado con Universum y el Geopedregal donde se obtuvieron valores muy parecidos (2.23% y 2.35% respectivamente). Para los árboles de *B. cordata*, el contenido de N no varió entre sitios de estudio, aunque en el Geopedregal fue

ligeramente mayor (2.24%) con respecto a Universum y al MUAC, donde fue casi idéntico (1.94% y 1.96% respectivamente).



Gráfica 11. Porcentaje de C foliar para los árboles de *B. cordata* y arbustos de *B. ternifolia* en los tres sitios muestreados. Las barras representan el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P < 0.05$).



Gráfica 12. Porcentaje de N total foliar para los árboles de *B. cordata* y arbustos de *B. ternifolia* en los tres sitios de estudio. Las barras representan el error estándar. Letras distintas representan diferencias significativas ($P < 0.05$).

Cuadro 4. Correlaciones entre las variables cuantificadas (superior valor de r²).

	Índice est	Densidad	C Suelo	N Suelo	Radio C/N	Micelio	Vol raíces	Colonización	Biomasa	C foliar	N foliar
Índice estabilidad	1.0000										
Densidad aparente	0.0192	1.0000									
C Suelo	0.2172	-0.0744	1.0000								
N Suelo	0.2205	-0.0170	0.9850	1.0000							
Radio C/ N Suelo	0.1737	-0.3414	0.5745	0.4483	1.0000						
Micelio externo	0.1859	-0.0024	0.2862	0.3216	-0.0473	1.0000					
Volumen raíces	0.0781	0.4387	-0.0334	0.0309	-0.0779	0.0531	1.0000				
Colonización	0.3289	-0.6500	0.2473	0.2439	0.0161	0.2516	-0.2419	1.0000			
Biomasa	-0.0491	0.1866	0.0398	-0.0717	0.3728	-0.0382	-0.1340	-0.0041	1.0000		
C Foliar	0.3638	0.1149	0.2353	0.1539	0.4327	0.1598	-0.1644	0.2720	0.6816	1.0000	
N Foliar	0.0276	-0.2846	0.0366	0.1351	-0.3796	0.0714	-0.1089	0.0344	-0.4109	-0.3990	1.0000

IX. DISCUSIÓN

La REPSA representa un remanente de matorral xerófilo de gran valor para la conservación de la biodiversidad de especies. Desafortunadamente el que esté dentro de la Ciudad de México, ha propiciado que su extensión se reduzca al menos 10% del área original, afectando los diversos servicios ambientales que ofrece, entre ellos la captura de C. La captura de C se ve favorecida gracias a la interacción entre los HMA y algunas especies vegetales que habitan este ecosistema, dentro de las cuales las más abundantes que forman dicha interacción son *B. ternifolia* y *B. cordata* (Hernández-Cuevas *et al.*, 2003; Castillo-Argüero *et al.*, 2004). En la captura de C intervienen factores del suelo como la agregación, que a su vez, está influenciada por el contenido de MO, que se sabe que ayuda en la unión de partículas minerales de suelo, reduciendo la capacidad de humectación de los agregados; además de proporcionarles resistencia mecánica en el suelo (Hamza y Anderson 2005). En esta investigación no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la estabilidad de agregados; aunque, fue ligeramente mayor en la rizósfera de *B. cordata* coincidiendo con una menor densidad aparente y mayor contenido de C y N. Si bien, se sabe que existe una relación directa entre el nivel total de MO en el suelo y la estabilidad de agregados, son algunas fracciones de MO y no la cantidad de ésta las que están influyendo en la estabilidad estructural de los agregados (Mbah *et al.*, 2007). Aunque en este estudio no se realizaron determinaciones de la calidad de la MO, el índice de estabilidad más alto se dio en la rizósfera de *B. cordata* para los tres sitios comparados y se debe a que es una especie arbórea que produce más biomasa, la cual se traduce en mayor cantidad de MO que puede ser incorporada al suelo (Braghirolli *et al.*, 2012).

Otro de los factores que pueden estar influyendo en la agregación en este ecosistema es la calidad y cantidad del dosel que llega al suelo en forma de restos orgánicos y se va incorporando a éste a manera de MO. En este estudio, se encontraron diferencias significativas en cuanto a la cantidad de C y N total foliar entre especies, siendo *B. cordata* la que presentó mayor porcentaje de C en sus hojas. Además, de contener en su rizósfera una mayor abundancia de restos orgánicos sin descomponer, parcialmente descompuestos y en proceso de descomposición que son más ricos en C. Esto puede estarle confiriendo a la rizósfera un mejor funcionamiento tanto físico, químico y biológico, comparado con la rizósfera de *B. ternifolia* y los respectivos tratamientos fuera de la rizósfera (Flores *et al.*, 2007). Se ha reportado que bajo el dosel tanto de

árboles como de arbustos, se acumula mayor cantidad de MO, lo que hace que los nutrientes estén disponibles al mejorar la mineralización y favorecer, incluso, el crecimiento de otras especies. Bird y colaboradores (2002) realizaron un estudio en el cual midieron el secuestro de C en el suelo y la heterogeneidad espacial de la estabilidad de agregados del suelo de la herbácea *Bouteloua eripoda* (Torr.) Torr. (Poaceae) y el árbol *Prosopis glandulosa* Torr. (Fabaceae), determinando que las variables estudiadas, como la estabilidad de agregados, C proveniente de carbonatos, COS, N, relación C:N y la glomalina fueron mayores bajo el dosel arbóreo comparadas con el área influenciada de la herbácea. Estos resultados concuerdan con los encontrados dentro de este estudio, puesto que en la rizósfera de *B. cordata* se encontraron mayor cantidad de restos orgánicos, mayor contenido de C total así como un ratio C:N mayor, al igual que el índice de estabilidad en todos los sitios estudiados, comparada con la rizósfera de *B. ternifolia*, inclusive en los tratamientos fuera de la rizósfera. Esto puede deberse, principalmente, a la incorporación de residuos orgánicos que tienen un efecto mejorador sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos. Al incorporar los residuos vegetales, se promueve la actividad microbiana y, por lo tanto, se estimula la producción de polímeros que actúan como agentes estabilizadores de la estructura del suelo. Estos productos de la degradación de los restos orgánicos, vegetales y animales, actúan conjuntamente con los polisacáridos producidos por los microorganismos del suelo en la estabilización de los agregados formados por la acción mecánica. Se dice que estos polisacáridos poseen propiedades adhesivas, cuya actividad como agente fisicoquímico entre las partículas se debe a su longitud y estructura flexibles que contribuyen a incrementar su área de contacto. En contraste a esto, se ha encontrado que los bajos contenidos de MO en los suelos, por lo general, incrementa la susceptibilidad de estos a la compactación por lo que se afecta su porosidad, aireación, capacidad de retención de humedad; así como la densidad aparente, entre otras propiedades (Rivero *et al.*, 1998). Este efecto rizosférico puntual no varió entre los sitios de estudio ni entre especies, donde la relación C:N, mayor en la rizósfera de *B. cordata* puede indicar que la velocidad de mineralización de la MO es mucho más lenta que en la rizósfera de *B. ternifolia*. Esto podría atribuirse, principalmente, a la calidad de los residuos orgánicos. Bajo el dosel de *B. cordata*, se acumulan, además de la hojarasca, restos orgánicos de ramas e incluso pedazos de corteza que poseen contenidos mayores de lignina que dificulta su descomposición por parte de los microorganismos. Es por ello que la mineralización es más rápida en las rizósfera *B. ternifolia*, ya que los aportes de restos

orgánicos son, principalmente, de la parte foliar de las especies que ahí se establecen. Los residuos orgánicos frescos no tendrán la misma velocidad de descomposición, los últimos productos de la transformación de la MO del suelo (sustancias húmicas) tienen un efecto pequeño, pero a largo plazo, en la estabilidad de agregados (Kay y Angers 2000); mientras que residuos frescos, cuya descomposición genera polisacáridos como productos secundarios, poseen un efecto mayor sobre la estabilidad en el corto plazo.

Por otro lado, se sabe que las hifas de los HMA desempeñan un papel muy importante en la agregación de los suelos y el matorral de la REPSA no es la excepción; la longitud del micelio externo fue mayor en las rizósferas de *B. cordata* como de *B. ternifolia* con valores promedio que van desde 1.6 m/g de suelo hasta 4.34 m/g, comparados con los tratamientos fuera de la rizósferas, donde se cuantificaron valores de 0.6 m/g a 2.4 m/g. Aunque en este estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, los resultados concuerdan con los encontrados para el índice de estabilidad, lo cual sugiere la capacidad que tienen estos hongos para mejorar la estructura y, por lo tanto, la calidad de los suelos, debido principalmente a el desarrollo extensivo de las hifas extraradicales que enlaza las partículas de suelo para crear un esqueleto estructural que participa en la adherencia de sus partículas de suelo (González-Chávez *et al.*, 2004). Wilson y colaboradores (2009) observaron una gran correlación entre la agregación del suelo, la abundancia de las densidades de HMA y la retención de C a largo plazo en un estudio de campo. Se han encontrado correlaciones positivas entre las proteínas relacionadas con la glomalina y la longitud de hifas y se han proporcionado evidencias en relación con una disminución de los agregados en suelos cultivados debido a los efectos mecánicos que ejerce la labranza, lo cual ocasiona la destrucción de los propágulos de HMA (Puget *et al.*, 2000; Ashagrie *et al.*, 2007 y Lawal *et al.*, 2009). Miller y Jastrow, en 1990, mencionaron que el proceso de agregación ha sido identificado no sólo como un mecanismo por el cual el suelo resiste las fuerzas erosivas del aire y del agua, sino también como un mecanismo trascendental por el cual el suelo acumula MO y C. La acumulación ocurre porque los residuos orgánicos son encapsulados por arcilla, limo y bioproductos protectores durante el proceso de agregación. En zonas semiáridas como este matorral, Rillig y colaboradores, en 1999, observaron que los valores altos de CO₂ estimulan a los hongos a producir más glomalina lo que ocurre con la respiración microbiana en ecosistemas como éste que su productividad se mantiene del ciclaje de nutrientes, ya que el suelo es incipiente. Por

otro lado, el manejo también está relacionado; por ejemplo Fokom y colaboradores, en el 2012, encontraron diferencias significativas entre la concentración de C de un ecosistema perturbado y uno inalterado, además de una estabilidad de agregados más débil en las muestras de suelo perturbado; mientras que la estabilidad de agregados en el ecosistema conservado fue la más fuerte. En este trabajo, las tendencias no han sido tan claras debido al hecho que ninguno de los suelos en estos sitios está sujeto a algún tipo de manejo.

Por su parte, en cuanto al volumen de raíces no se hallaron diferencias entre especies y sitios de estudio. El sistema radical de *B. ternifolia* es más denso y de raíces finas que intensifican los efectos de disgregación mecánica, agregación física por empaquetamiento y química por producción de sustancias mucilaginosas. Además, la continua muerte de sus raicillas, promueve una mayor productividad microbiana y un aumento de MO, lo que da como resultado una mayor cantidad de agregantes. Este mayor volumen de raíces se presentan en mayor proporción en la zona fuera de la rizósfera, donde las raicillas también crecían en contraste con las de *B. cordata* que fue muy localizada debido a su propia arquitectura y composición (Acevedo-Sandoval *et al.*, 2001). El impacto del crecimiento de las raíces sobre la estructura del suelo es diferente, modificando los parámetros físicos y químicos del suelo como su densidad aparente, humedad relativa, porosidad y pH, entre los más importantes (Torres *et al.*, 2013). Este impacto de la vegetación sobre las propiedades del suelo se observó en la densidad aparente que fue ligeramente menor en las rizósferas de ambas especies. Las raíces de estas dos especies están ocupando un mayor volumen de suelo que está afectando, de manera positiva, a su estructura por medio de su tamaño, distribución, la cantidad y tamaño de poros que logran formar, los cuales se reordenan mejorando el drenaje e incrementando los potenciales mátricos de la rizósfera.

Si bien las raíces de las plantas están interviniendo con la creación de poros y la producción de carbohidratos para mejorar la calidad del suelo, también lo hacen sirviendo como sitios hospederos para los HMA; estas influyen diferencialmente sobre los hongos, ya que las raíces como *B. cordata* con diámetro entre 0.2 a 1 mm, por lo general, permiten una agregación más directa; mientras que las raíces con diámetro menor a 0.2 mm como el caso de *B. ternifolia* favorecen el crecimiento de HMA y otros organismos.

Por otro lado, la biomasa que pueden capturar estas especies implica un reservorio en los almacenes de C y puede verse afectado por el manejo de las distintas zonas de la REPSA. En este estudio, se observó que la biomasa de estas dos especies no fue distinta en los tres sitios de estudio; aunque, algunas diferencias se comenzaron a observar para *B. ternifolia*, donde la producción de biomasa fue muy semejante en el sitio más conservado Universum y en el pedregal en restauración (Geopedregal). El MUAC fue el sitio con menor producción de biomasa siendo un camellón con disturbio al lado de la Avenida de los Insurgentes Sur. Para *B. cordata*, la producción de biomasa fue mayor en el Geopedregal y casi igual en el MUAC y Universum, estas diferencias pueden deberse, principalmente, a la topografía del terreno, teniendo hondonadas y grietas ligeramente más extensas en el Geopedregal que en los otros dos sitios muestreados, por lo que la acumulación de suelo permitió el desarrollo de árboles más robustos. Cano-Santana (1994a) encontró que la biomasa en el estrato arbóreo de la REPSA fue significativamente más alta en las hondonadas o sitios abruptos (612.2 -755.8 g/m²) que en los sitios planos (188.1-227.1 g/m²). Se continúa reafirmando que la heterogeneidad del relieve en este ecosistema influye de manera determinante en la distribución espacial de la biomasa de las plantas que conforman el matorral xerófilo de la REPSA, pudiendo favorecer que la cantidad de biomasa generada en los sitios abruptos sea de casi el doble que en la de los sitios planos. La topografía más accidentada favorece la presencia de un mayor número de árboles, más altos y con mayor cobertura, así como una mayor diversidad de plantas, en general. De toda esta diversidad de especies, *B. cordata* es la especie dominante con respecto a su densidad, frecuencia y cantidad de biomasa (37%).

A pesar de que la biomasa es un buen parámetro para estimar la productividad de un ecosistema, esta variable no se utiliza mucho debido a la inversión de recursos que se requiere para su cálculo, sobre todo para las especies arbóreas. La importancia de la obtención de la biomasa radica en que ésta puede traducirse en cuánto O₂ se está produciendo y cuánto C se está capturado de la atmósfera; así como cuanta energía tienen disponible otros organismos de la cadena alimenticia para su funcionamiento dentro del ecosistema. Es por ello que el uso de ecuaciones que permitan estimar la biomasa de las plantas, a partir de medidas de fácil obtención (como la cobertura, altura o el diámetro del fuste), resultan ser de valiosa utilidad a un menor costo y con una exactitud cercana a la obtenida por el método de cosecha total. Se puede decir que el diámetro a la altura del pecho, generalmente, es un buen parámetro para estimar la

biomasa de árboles, sobre todo de bosques templados y bosques tropicales (Martinez-Yrizar *et al.*, 1992). Sin embargo, para los árboles de menor altura como *B. cordata*, tal medida no es la mejor, en parte porque muchos individuos se ramifican por debajo de la altura del pecho de manera natural (ya que en ocasiones está considerada dentro del estrato arbustivo y no en el arbóreo), por lo que lo más recomendable es utilizar el diámetro del tronco a los 30 cm del suelo (Cano-Santana, 1994a). La biomasa aquí obtenida sugiere valores más bajos que los registrados anteriormente, por lo que el error en las estimaciones debidas a los factores de relieve y crecimiento intrínseco pueden estar sujetos a una mayor variabilidad en los criterios de medición.

Nguyen (2003) mencionó que aproximadamente el 50% del C fijado en la fotosíntesis se asigna a la parte subterránea y se reparte entre el crecimiento de las raíces, además de la respiración de la rizósfera. Este C se utiliza para el mantenimiento de las plantas que establecen simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos. Los estudios demuestran, claramente, el efecto de los HMA en la acumulación de biomasa para diferentes especies de árboles y sólo unos pocos han demostrado el efecto de estos hongos sobre las plantas leñosas en el campo. Los efectos, en cada estrato de vegetación, se suman a escala en la comunidad de plantas y las diferencias de formas de crecimiento se traduce en diferentes composiciones de la comunidad de plantas; el cambio de la productividad primaria neta que, a su vez, también controla la cantidad de C que entra al sistema (Rillig y Mummey, 2006). Los estudios han demostrado una correlación positiva entre la cantidad de HMA, agregación y las reservas de C en el suelo. En las comunidades de chaparral, se observó una relación entre las concentraciones de CO₂, la longitud total de hifas y la longitud de hifas asociadas a los agregados estables al agua. Del mismo modo, la cantidad de micelio se correlacionó con el C y N orgánico en el suelo, por lo tanto, el papel de los HMA en el aumento de la agregación es uno de los procesos que protegen a compuestos ricos en C de la degradación microbiana (Wilson *et al.*, 2009; Rillig y Mummey, 2006).

El hecho de no haber encontrado diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de las variables aquí estudiadas pudo deberse principalmente al tamaño de la muestra, que influye directamente sobre el valor de P y su significancia. Manterola Pineda (2008) mencionaron que mientras mayor sea el tamaño de una muestra, más fácil será detectar diferencias entre las variables en estudio; por lo tanto, cuando las diferencias son pequeñas se requiere de muestras de gran tamaño. Así, el tamaño de la

muestra afecta la significancia estadística a través del error estándar que se hace más pequeño cuantas más muestras se tenga (Romero, 2012).

Por lo tanto resulta fundamental el cuidado y planteamiento del diseño experimental, tomando en consideración los criterios de selección y la estimación del tamaño de la muestra, puesto que mientras más grande es el tamaño de la muestra, mayor es la precisión y por ende, se reduce la variabilidad del azar.

X. CONCLUSIONES

Las variables de estudio para determinar si las rizósferas de *B. cordata* y *B. ternifolia* aportaban o modificaban de manera diferencial la estabilidad de los agregados en el suelo, la densidad aparente, el contenido de C y N en suelo, el micelio externo de HMA, el volumen de raíces y el porcentaje de colonización micorrízica por HMA, no fueron de manera contundente significativas entre las especies, la zona de influencia de las rizósferas ni entre sitios de estudio. Esto deja claro que el suelo somero de este ecosistema y las limitaciones en su distribución en el relieve, no permiten diferenciar de manera clara cuál es la contribución de cada una de ellas en el espacio. Se vio claramente al procesar las muestras, donde los tratamientos fuera de la rizósfera de cada especie, contenían una abundancia similar en las densidades radicales y por ende, en los demás factores que influyen la retención de C en el suelo y los beneficios que brinda al mismo. Por otro lado, el tamaño muestral debido a la complejidad de los análisis, no permitió discernir estas influencias multifactoriales. Sin embargo, en términos intrínsecos a las especies arbórea y arbustiva, para el C y N foliar así como la biomasa, las diferencias fueron claras entre ambas especies.

La abundancia y distribución espacial de *B. cordata* y *B. ternifolia* así; como sus características, se ven influenciadas principalmente por la topografía tan accidentada del terreno, encontrándose en hondonadas y grietas, principalmente, manchones de *B. cordata* y en los sitios planos y expuestos una mayor cantidad de individuos de *B. ternifolia*. Este es un factor determinante para la producción de biomasa de estas dos especies, así como para las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, entre las que destacan la estructura que está influenciada por la cantidad de agregados, la densidad aparente, el contenido de C y N así como el tipo de biota que se puede encontrar.

La estructura de comunidades tiene un impacto importante en la capacidad de las especies de capturar, almacenar y hacer disponible el C, así como en los efectos indirectos sobre la estabilidad de los agregados y la cantidad de micelio de HMA asociados por lo que se puede concluir que ambas especies contribuyen de manera importante a mantener estas propiedades brindando con ello, servicios ecosistémicos de soporte y regulación.

XI. LITERATURA CITADA

- Acevedo-Sandoval, O., Velázquez-Rodríguez, A., Flores-Román, D. 2001. Agregación por especies vegetales y abonos orgánicos en tepetates fracturados en condiciones de invernadero. *Terra Latinoamericana*. **19**: 363-373.
- Aerts, R. y Chapin, F.S. 2000. The mineral nutrition of wild plants revised: a re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research* **30**:1-67.
- Amézketa, E. 1999. Soil aggregate stability. A review. *Journal of Sustainable Agriculture* **14**: 83-151.
- Ashagrie, Y., Zech, W., Guggenberger, G., Mamo, T. 2007. Soil aggregation and total and particulate organic matter following conversion of native forest to continuous cultivation in Ethiopia. *Soil and Tillage Research*. **94**: 101-108.
- Atkinson, D., Black, K.E., Forbes, P.J., Hooker, J.E., Baddeley, J.A., Watson, C.A. 2003. The influence of arbuscular mycorrhizal colonization and environment on root development in soil. *European Journal of Soil Science*. **54**:751-757.
- Bedini, S., Pellegrino, L., Avio, L., Pellegrini, S., Bazzoffi, P., Argese, E., Giovannetti, M. 2009. Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus moseae* and *Glomus intraradices*. *Soil Biology and Biochemistry*. **41**: 1491-1496.
- Bird, S.B., Herrick, J.E., Wander, M.M., Wright, S.E. 2002. Spatial heterogeneity of aggregate stability and soil carbon in semi-arid rangeland. *Environmental Pollution* **116**: 445-455.
- Borie, F., Rubio, R., Morales, A. 2000. Relación entre densidad de hifas de hongos micorrizógenos arbusculares y producción de glomalina con las características físicas y químicas de suelos bajo cero labranza. *Revista Chilena de Historia Natural* **73**:749-756.
- Borie, F., Rubio, R., Morales, A. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi and soil aggregation. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* **8**: 9-18.
- Bronick, C.J., Lal, R. 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma* **124**: 3-22.
- Braghirolli, L.F., Sgrott, A.F., Pescador, R., Alexandre, U., Stürmer, S.L. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi in riparian forest restoration and soil carbon fixation. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* **36**: 733-743.

- Brundrett, M., Bougler, N., Dell, B., Grove, T., Malajczuk, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra, Australia. Pp. 141-186.
- Brundrett, M.C. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* **320**: 37–77.
- Campos, J., Alpizar, F., Louman, B., Parrota, J. 2005. An integrated approach to forest ecosystem services. En: Pp. 97-116. Mery G., Alfaro R., Kanninen M., Lobovikov M. (Eds). *Forest in the Global Balance-Changing Paradigms*. World Series, Finlandia.
- Cano-Santana, Z. 1994a. La Reserva del Pedregal como ecosistema. En: Pp. 149-158. Rojo, A. (Ed). *Reserva ecológica “El Pedregal” de San Ángel: ecología, historia natural y manejo*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Cano-Santana, Z. 1994b. Flujo de energía a través de *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Acrididae) y productividad primaria neta aérea en una comunidad xerofita. Tesis de Doctorado. Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado, Colegio de Ciencias y Humanidades y Centro de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. 195 p.
- Castillo-Argüero, S., Montes-Cartas, G., Romero-Romero, M.A., Martínez-Orea, Y., Guadarrama-Chávez, P., Sánchez-Gallén, I., Núñez-Castillo, O. 2004. Dinámica y conservación de la flora del matorral xerófilo de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (D.F., México). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. **74**: 51-75.
- Castillo-Argüero, S., Martínez-Orea, Y., Romero-Romero, M.A., Guadarrama-Chávez, P., Núñez-Castillo, O., Sánchez-Gallén I., Meave, J.A. 2007. La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: aspectos florísticos y ecológicos. Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. D.F. 294 p.
- Castillo-Argüero, S., Martínez-Orea, Y., Meave, J., Hernández-Apolinar, M., Núñez-Castillo, O., Santibáñez-Andrade, G., Guadarrama-Chávez, P. 2009. Flora: susceptibilidad de la comunidad a la invasión de malezas nativas y exóticas. En: Pp. 107-117, Lot A., Cano-Santana, Z. (Eds.). *Biodiversidad del Ecosistema del Pedregal de San Ángel*. Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel-

Coordinación de la Investigación Científica, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

- Chapin III, F. Stuart, Matson, Pamela A., Vitousek, Peter. 2011. Principles of terrestrial ecosystem ecology. En: Pp 97-122, Carbon input to terrestrial ecosystems. Springer-Verlag New York, Inc. USA.
- Cheng, X., Baumgartner, K. 2006. Effects of mycorrhizal roots and extraradical hyphae on N₁₅ uptake from vineyard cover crop litter and the soil microbial community. *Soil Biology Biochemistry* **38**: 2665-2675.
- Chorover, J., Amistadi, M.K., Chadwick, O.A. 2004. Surface charge evolution of mineral-organic complexes during pedogenesis in Hawaiian basalt. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **68**: 4859-4876.
- Cotler H., Ortega-Larrocea, M. P. 2006. Effect of land use on soil erosion in a Mexican tropical dry forest. *Catena* **65**: 107-117.
- De Deyn, B.G., Cornelissen H.C.J., Bardgett, D.R. 2008. Plant functional traits and soil carbon sequestration in contrasting biomes. *Ecology Letters* **11**: 516-531.
- Dignac, M.F., Bahari, H., Rumpel, C., Rasse, D.P., Bardoux, G., Balesdent, J., Girardin, C. Chenu, C., Mariotti, A. 2005. Carbon-13 natural abundance as a tool to study the dynamics of lignin monomers in soil: an appraisal at the Closeaux experimental field. *Geoderma* **128**: 3-17.
- Fayos-Boix, C., Calvo-Cases, A., Imeson, A.C., Soriano-Soto, M.D. 2001. Influence of soil properties on the aggregation of some Mediterranean soils and the use of aggregate size and stability as land degradation indicators. *Catena* **44**: 47-67.
- Figueroa-Navarro, C., Etchevers-Barral, J.D., Velázquez-Martínez. A., Acosta-Mireles, M. 2005. Concentración de carbono en diferentes tipos de vegetación de la Sierra Norte de Oaxaca. *Terra Latinoamericana* **23**:57-64.
- Finlay, R.D. 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* **59**: 1115-1126.
- Flores, E., Frías, J., Jurado, P., Olalde, V., Figueroa, J., Valdivia, A., García, E. 2007. Efecto del gatuño sobre la fertilidad del suelo y la biomasa herbácea en pastizales del centro de México. *Terra Latinoamericana* **25**: 311-319.
- Fokom, R., Adamou, S., Teugwa, M.C., Begoude Boyogueno, A.D., Nana, W.L., Ngonkeu, M.E.L., Tchameni, N.S., Nwaga, D., Tsala Ndzomo, G., Amvam Zollo, P.H. 2012. Glomalin related soil protein, carbon, nitrogen and soil aggregate

- stability as affected by land use variation in the humid forest zone of south Cameroon. *Soil Tillage Research* **120**: 69-75.
- Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M., Van Tuinen, D., Redecker, D. Wipf, D. 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza* **20**: 519-530.
- González-Chávez, M.C.A., Gutiérrez, M.C., Wright, S. 2004. Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. *Terra Latinoamericana* **22**: 507-514.
- Grümberg, B., Conforto, C., Rovea, A., Boxler, M., March, G., Luna, C., Meriles, J., Vargas Gil, S. 2010. La glomalina y su relación con la productividad del cultivo de maíz. *Informaciones agronómicas del Cono Sur. Instituto de la Potasa y el Fósforo* **47**: 23-25.
- Hamza, M.A., Anderson, W.K. 2005. Soil compaction in cropping systems: a review of the nature, causes and possible solutions. *Soil Tillage* **82**: 121-145.
- Hernández, C.L., Castillo, A.S., Guadarrama, C.P., Martínez, O.Y., Romero, R.M.A., Sánchez, G.I. 2003. Hongos micorrizógenos arbusculares del Pedregal de San Ángel. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 82 p.
- Hillel, D. 1982. *Introduction to soil physics*. Academic Press, San Diego, CA. 392 p.
- Hooper, D.U., Chapin III, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Neem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J., Wardle, D.A. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* **75**: 3-35.
- Hu, P. 2008. Impact of mycorrhizal fungi and nematodes on growth of *Andropogon gerardii* Vit. soil microbial components and soil aggregation. Master of Science. Kansas State University. 193 p.
- IUSS (International Union in Soil Sciences) Grupo de Trabajo WRB. 2007. Base Referencial Mundial Del Recurso Suelo. Primera actualización 2007. Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos No. 103. FAO, Roma.
- Johnson, N: C., Rowland, D.L., Corkidi, L., Egerton-Warburton, L.M., Allen, E.B. 2003. Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semiarid grasslands. *Ecology* **84**: 1895-1908.
- Johnson, D., Vandenkoornhuysse, P.J., Leake, J.R., Gilbert, L., Booth, R.E., Grime, J. P. 2004. Plant communities affect arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community composition in grassland microcosms. *New Phytologist* **161**: 503-515.

- Kay, B.D., Angers, D.A. 2000. Soil structure. En: M.E. Sumner (Ed), Handbook of soil science. CRC Press, New York. 229-275 p.
- Kivlin S.N., Hawkes C.V., Treseder K.K. 2011. Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry* **43**: 2294-2303.
- Lawal, H.M., Ogunwale, J.O., Uyovbisere, E.O. 2009. Changes in soil aggregates stability and carbon sequestration mediated by land use practices in a degraded dry savanna alfisol. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* **10**: 423-429.
- Manterola D.C., Pineda N.V. 2008. El valor de “p” y la “significación estadística”. Aspectos generales y su valor en la práctica clínica. *Revista Chilena de Cirugía* **60**: 86-89.
- Martínez H.E., Fuentes J.P., Acevedo H.E. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal* **8**: 68-96.
- Martínez-Yrizar, Y.A., Sarukhán, A.J., Pérez, J.E., Rincón, M.J.M., Solís, M.A., Cervantes, L. 1992. Above-ground phytomas os a tropical deciduous forest on the coast of Jalisco, México. *Tropical Ecology* **8**: 87-96.
- Matus, F., Amigo, X., Kristiansen, S.A. 2006. Aluminium stabilization controls organic carbon levels in Chilean volcanic soils. *Geoderma* **132**: 158-168.
- Mbah, C.N., Anikwe, M.A.N., Onweremadu, E.U., Mbagwu, J.S.C. 2007. Soil organic matter and carbohydrate contents of a dystic leptosol under organic waste management and their role in structural stability of soil aggregates. *International Journal of Soil Science* **2**: 268-277.
- MEA (Millennium Ecosystem Assessment). 2016. Ecosystem and human well-being: A framework for assessment. Island Press, USA. Consultado en: <http://www.millenniumassessment.org>, 7sept. 2016.
- Michael, R. 2006. Global change and carbon cycle: the position of soils and agriculture. En: Soil erosion and carbon dynamics. Roose, E., Lal, R., Feller, C., Barthes, B., Stewart, B. Eds. Taylor and Francis Group. Francia. 351 p.
- Miller, R.M. y Jastrow J.D. 1990. Hierarchy or root and mycorrhizal fungal interactions with soil aggregation. *Soil Biology and Biochemistry* **22**: 579-584.
- Miller, R.M., Jastrow, J.D. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. En: Pp. 3-18, Kapulnik, Y., Douds, D.D. (Eds). *Arbuscular Mycorrhizas: Molecular Biology and Physiology*. Kluwer Academic, Dordrecht.
- Nava, L.M., Jujnovsky, J., Salinas, G.R., Álvarez, S.J., Almeida, L.L. 2009. Servicios ecosistémicos. En: Pp. 51-59. Lot, A., Cano, S.Z. (Eds). *Biodiversidad del*

- ecosistema del Pedregal de San Ángel. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Nguyen, C. 2003. Rhizodeposition of organic C by plants: mechanism and controls. *Agronomy* **23**: 375-396.
- Olsson, P.A., Johnson, N. 2005. Tracking carbon from the atmosphere to the rhizosphere. *Ecology Letters* **8**: 1264-1270.
- Olsson, P.A., Rham, J., Aliasgharzag, N. 2010. Carbon dynamics in mycorrhizal symbioses is linked to carbon cost and phosphorous benefits. *Microbial Ecology* **72**: 123-131.
- Peralta, H.A., Prado, M.J. 2009. Los límites y la cartografía. Servicios ecosistémicos. En: 29-35 Pp. Lot, A., Cano, S.Z. (Eds.). Biodiversidad del ecosistema del Pedregal de San. Ángel (Eds). Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Pérez, M. J. y Read J. D. 2004. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia* **29**: 239-247.
- Pietikäinen, A., Kytöviita, M. M. 2007. Defoliation changes mycorrhizal benefit and competitive interactions between seedlings and adult plants. *Journal of Ecology* **95**: 639-647.
- Piotrowski, J.S., Denich, T., Klironomos, J.N., Graham, J.M., Rillig, M.C. 2004. The effects of arbuscular mycorrhizas on soil aggregation depend on the interaction between plant and fungal species. *New Phytologist* **164**: 365-373.
- Puget, D., Cheny, C., Balesdent, J. 2000. Dynamics of soil organic matter associated with particle-size fractions of water-stable aggregates. *European Journal of Soil Science* **4**: 595-605.
- Purin, S., Rillig, M.C. 2007. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin: limitations, progress, and a new hypothesis for its function. *Pedobiology* **51**: 123-130.
- Redecker D., Kodner R., Graham L.E. 2000. Glomalean fungi from the Ordovician. *Science* **289**: 1920-1921.
- Reyes, J.I., 2011. La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizósfera: comunidad microbiológica dinámica del suelo. Depto. de Biología, División de CBS. UAM-Iztapalapa. *Contactos* **81**: 17-23.
- Rillig, M.C., Wright, S.F., Allen, M.E., Field, C.B. 1999. Rise carbon dioxide changes soil structure. *Nature* **400**: 628-630.

- Rillig, M.C. 2004. Arbuscular mycorrhiza and terrestrial ecosystems processes. *Ecology Letters* **7**: 740-754.
- Rillig, M.C., Mummey, D. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* **171**: 41-53.
- Rivero, C., Paolini, J., Senisi, N., D'Orazio, V. 1998. Efecto de la incorporación de los residuos orgánicos de *Crotalaria juncea* sobre la calidad de la materia orgánica de un suelo. *Revista de la Facultad de Agronomía (Maracay, Venezuela)* **23**: 77-94.
- Romero S.N. 2012. La revolución en la toma de decisiones estadísticas: el p-valor. *Revista de Estudios Interdisciplinarios en Ciencias Sociales* **14**: 439-446.
- Sandoval, G.I. 2006. Variación estacional y espacial en la colonización por hongos micorrizógenos arbusculares en algunas especies vegetales de la Reserva del Pedregal de San Ángel. México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 71 p.
- Santibáñez, A.G., Castillo, A.S., Zavala, H.J.A., Martínez, O.Y., Hernández, A.M. 2009. La heterogeneidad ambiental en un matorral xerófilo. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **85**: 71-79.
- Schüßler, A., Walker, C. 2010. The Glomeromycota: a species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Edinburgh. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. Electronic version freely available online at www.amf-phylogeny.com. 8 septiembre del 2016.
- Seguel, A., Rubio, R., Carrillo, R., Espinosa, A., Borie, F. 2008. Niveles de glomalina y su relación con características químicas y biológicas del suelo (Andisol) en un relicto de bosque nativo del sur de Chile. *Bosque* **1**: 11-22.
- Siddiky, R.K., Schaller, J., Caruso, T., Rillig, M.C. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi and collembola non-additively increase soil aggregation. *Soil Biology and Biochemistry* **47**: 93-99.
- Siebe, C. 2000. Age and anchaological implications of Xitle volcano, southwestern basin of Mexico-City. *Journal Volcanology Geotherm. Research* **104**: 45-64.
- Six, J., H. Bossuyt, S. Degryze, and K. Denef. 2004. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil & Tillage Research* **79**: 7-31.
- Smith, S.E., Read, D.J., 2008. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, Inglaterra. 787 p.

- Suárez, Q.I. 2010. Alternativas simbióticas y asimbióticas de conservación (micropropagación y reintroducción) de *Dichromanthus aurantiacus* (Orquidaceae), como especie modelo en la reserva ecológica El Pedregal de San Ángel. Tesis de Maestría. Instituto de Geología. Universidad Nacional Autónoma de México. 148 p.
- Tisdall, J.M., Oades, J.M. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science* **33**: 141–163.
- Tisdall, J.M. 1991. Fungal hyphae and structural stability of soil. *Australian Journal of Soil Research* **29**: 729-743.
- Torres, G.C.A., Etchevers, B.J., Fuentes, P.M., Govaerts, B., De León, G.F., Herrera, J.M. 2013. Influencia de las raíces sobre la agregación del suelo. *Terra Latinoamericana* **31**: 71-84.
- Wilson, G.W., Rice, C.W., Rillig, M.C., Springer, A., Harnett, D.C. 2009. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecology Letters* **12**: 452-461.

ANEXO 1. Localización y caracterización de la vegetación en uno de los sitios de estudio

Se caracterizó en el Geopedregal a la vegetación para sacar las especies más abundantes. Se tomaron las coordenadas geográficas de cada uno de los elementos arbóreos y arbustivos (más representativos) con ayuda de un GPS (marca Garmin®) y los datos resultantes se procesaron en una base de datos guardada en formato Excel y se ubicaron utilizando el mapa topográfico de la Dirección General de Obras de la UNAM (Figura 1, Cuadro 1 y 2).

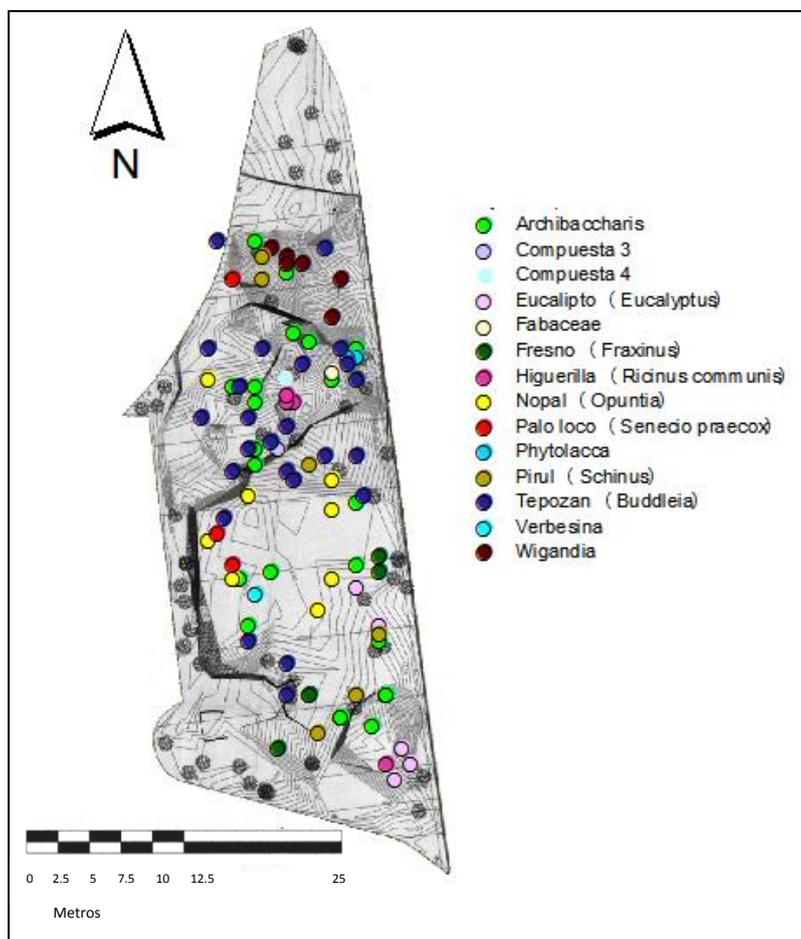


Figura 1. Distribución de árboles y arbustos en uno de los sitios de estudio, Geopedregal. Mapa topográfico generado por la Dirección General de Obras de la UNAM y modificado por Valladares (2012).

Cuadro 1. Listado de especies vegetales determinadas en el Geopedregal en el año 2012.

POLIPOLIOPSIDA	
Familia	Especie
Polypodiaceae	<i>Polypodium polypodioides</i> (L.) Watt
Adiantaceae	<i>Cheilantes</i> sp.
MAGNOLIOPSIDA	
Anacardiaceae	<i>Schinus molle</i> L.
Asteraceae	<i>Eupatorium pichinchense</i> Kunth
Asteraceae	<i>Montanoa tomentosa</i> Cerv.
Asteraceae	<i>Stevia jorullensis</i> H.B.K.
Asteraceae	<i>Senecio praecox</i> (Cav.) DC.
Asteraceae	<i>Tithonia tubaeformis</i> (Jacq.) Cass.
Asteraceae	<i>Verbesina virgata</i> Cav.
Brassicaceae	<i>Lepidium sordidum</i> A. Gray
Cactaceae	<i>Opuntia tomentosa</i> Salm-Dyck
Crasulaceae	<i>Echeveria mucronata</i> (Bak.) Schl.
Crasulaceae	<i>Talinum paniculatum</i> (Jacq.) Gaertn.
Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i> L.
Geraniaceae	<i>Geranium semanii</i> Peyr.
Hydrophyllaceae	<i>Wigandia urens</i> (Ruiz et Pav.) Kunth
Lamiaceae	<i>Salvia mexicana</i> L.
Loganiaceae	<i>Buddleia sessiliflora</i> Kunth
Onagraceae	<i>Oenothera rosea</i> L'Her. ex. Aiton
Passifloraceae	<i>Passiflora subpeltata</i> Ortega
Plumbaginaceae	<i>Plumbago pulchella</i> Boiss.
Resedaceae	<i>Reseda luteola</i> L.
Rubiaceae	<i>Bouvardia ternifolia</i> (Cav.) Schtdl.
Phytolaccaceae	<i>Phytolacca icosandra</i> L.
LILIOPSIDA	
Poaceae	<i>Rhynchelytrum</i> sp.
Amarilidaceae	<i>Zephyranthes longifolia</i> Hemsl.

Cuadro 2. Especies arbóreas y arbustivas más abundantes en el Geopedregal.

Estrato	Planta	Microambiente	N. de individuos
Árboreo	<i>Buddleja cordata</i>	Hondonada y sitio plano	22
	<i>Schinus molle</i>	Plano y hondonada	6
	<i>Fraxinus</i>	Plano	5
	<i>Eucalyptus</i>	Plano	5
	<i>Senecio praecox</i>	Promontorio	4
	<i>Wigandia urens</i>	Promontorio y grieta	7
	<i>Ricinus communis</i>	Hondonada	4
Arbustivo	<i>Bouvardia ternifolia</i>	Sitio plano	38
	<i>Archibaccharis</i> sp.	Plano, Promontorio y hondonada	25
	<i>Opuntia tomentosa</i>	Sitio plano	8
	<i>Verbesina virgata</i>	Sitio plano	5
	<i>Phytolacca icosandra</i>	Hondonada	2

ANEXO 2. Caracterización micro-ambiental

Se reconocieron los microambientes dentro del Geopedregal para calcular el número de dispositivos necesarios para cubrir el registro micro-ambiental en cada uno de ellos. Se realizó la calibración de los sensores ambientales HOBO® y una vez calibrados, se procedió a colocarlos en el Geopedregal de tal manera que, en todos los microambientes se registraran datos tanto de temperatura, humedad relativa e intensidad luminosa (Cuadro 1). Los sensores se programaron para tomar lecturas cada 30 min dando seguimiento a los datos registrados, lo cual se realizó descargando la información de cada sensor, de manera semanal, para formar una base de datos con el fin de observar las diferencias entre los microambientes (Cuadros 2, 3, 4, 5 y 6).

Cuadro 1. Variables ambientales registradas en cada microambiente reconocido en el Geopedregal, durante el año 2012.

Microambientes identificados	Variables ambientales cuantificadas
Promontorio	Temperatura e intensidad luminosa
Plano*	Temperatura, humedad relativa del ambiente, intensidad luminosa, precipitación, humedad relativa del suelo a 9 y 20 cm de profundidad, y radiación fotosintéticamente activa
Hondonada	Temperatura, humedad relativa del ambiente e intensidad luminosa
Pared	Temperatura, humedad relativa del ambiente e intensidad luminosa
Grieta	Temperatura e intensidad luminosa
Oquedad	Temperatura y humedad relativa del ambiente

*Sitio donde se midió el mayor conjunto de variables ambientales debido a que es donde se concentraron la mayoría de las especies de plantas, incluyendo las especies seleccionadas para este estudio.

Cuadro 2. Temperaturas promedio, máximas y mínimas en los diferentes microambientes del Geopedregal registradas durante los años 2012-2013.

Mes	Temperatura promedio (°C)														
	Grieta/Promontorio	Max	Min	Hondonada	Max	Min	Oquedad	Max	Min	Pared	Max	Min	Sitio plano	Max	Min
Octubre	20.3 (±6.2)	45.4	5.4	17.0 (±6.7)	31.1	1.9	15.8 (±3.6)	25.3	7.2	18.4 (±4.2)	31.1	8.7	17.1 (±8.5)	35.3	-0.7
Noviembre	17.7 (±7.8)	40.7	5	14.9 (±6.5)	34	2.5	13.9 (±3.8)	23.6	5.4	16.4 (±4.0)	28	8.3	14.7 (±8.8)	33.6	-1.4
Diciembre	17.4 (±9.0)	37.7	3.9	14.0 (±8.1)	31.5	1.6	13.1 (±4.7)	24.1	4.4	17.0 (±5.5)	32.2	8.1	13.8 (±12.2)	49.1	-3.4
Enero	17.0 (±7.9)	39.5	4.5	14.1 (±7.3)	32.7	1.5	13.6 (±4.3)	25.1	5.5	16.8 (±6.3)	37.8	6.6	14.2 (±10.5)	51.7	-1.3
Febrero	20.2 (±10)	43.9	5	16.0 (±9.4)	38.5	-0.3	15.8 (±5.3)	33.2	6.4	20.0 (±8.2)	44.7	7.8	16.5 (±13.3)	48.5	-7.1
Marzo	15.6 (±8.8)	43.2	-0.3	12.1 (±8.2)	35.2	-3.8	13.0 (±6.0)	34.5	2	16.2 (±6.9)	40.1	3.4	12.2 (±10.4)	38.9	-7.4
Abril	21.5 (±7.5)	42	9.5	20.2 (±7.3)	37.2	7.3	19.1 (±5.6)	36	10	22.1 (±6.4)	40.2	11.5	21.9 (±10.4)	40.6	3.2
Mayo	21.6 (±6.8)	40.6	9.1	20.3 (±6.5)	37.5	6.9	19.1 (±4.7)	33.4	10.1	21.6 (±5.5)	41	11.2	22.3 (±8.7)	38.4	3.5
Junio	20.5 (±6.0)	38.8	10.5	16.6 (±5.7)	39	9.5	18.3 (±4.0)	34.3	11.3	20.8 (±5.4)	42	12.5	21.6 (±7.5)	37.8	6
Julio	19.7 (±6.2)	38.8	10.4	17.9 (±4.6)	35.3	9.5	16.4 (±2.7)	29.4	11.2	19.0 (±4.1)	36.8	12.2	21.8 (±6.9)	34.6	6.5
Agosto	19.1 (±5.7)	39.8	9.6	16.8 (±3.6)	32	8.6	16.0 (±2.4)	29.3	10.9	18.3 (±3.4)	32.6	11.7	20.0 (±6.4)	35.2	6.6
Septiembre	18.0 (±4.7)	38.2	10.5	16.6 (±2.8)	29.8	10.1	15.9 (±1.9)	29.3	11.7	17.7 (±3.1)	29.9	11.8	18.6 (±5.2)	33.4	8.3
Octubre	20.3 (±7.0)	39.3	10.4	18.2 (±5.5)	39.6	9	15.8 (±2.9)	30	10.6	19.7 (±4.2)	32.5	12.3	19.0 (±7.0)	32.8	7.1

Cuadro 3. Humedades relativas promedio, máximas y mínimas en los diferentes microambientes del Geopedregal registradas durante el año 2012-2013.

Mes	Humedad relativa promedio (%)											
	Hondonada	Max	Min	Oquedad	Max	Min	Pared	Max	Min	Sitio plano	Max	Min
Octubre	62 (±25.9)	99.4	4.7	68 (±15.0)	94.2	25.3	60 (±19.2)	97.7	1	65 (±28.9)	99.7	3.4
Noviembre	63 (±23.9)	99.1	9.2	64 (±15.1)	93.6	25.3	58 (±17.6)	96	12.6	65 (±28.7)	99.9	8.3
Diciembre	56 (±24.3)	94.7	10.4	57 (±13.9)	80.2	26.8	47 (±15.7)	77.2	10.6	60 (±31.4)	99.7	3.2
Enero	56 (±22.2)	95.7	7.4	55 (±13.1)	87.8	22.9	48 (±17.1)	82.8	1	58 (±27.8)	99.6	4.8
Febrero	44 (±22.7)	99.2	6	44 (±13.9)	85.3	16.7	36 (±18.2)	86.3	3.4	48 (±30.0)	100	1
marzo	35 (±22.9)	95.8	1	35 (±15.3)	90.1	11	27 (±17.8)	79.9	1	38 (±27.7)	99.4	1
Abril	43 (±24.9)	99.6	1	43 (±20.1)	94.8	1	38 (±21.7)	96.4	1.2	45 (±28.8)	100	1
Mayo	55 (±26.6)	100	3.1	44 (±26.0)	93.7	1	53 (±24.0)	98.8	3.9	57 (±29.9)	100	1.7
Junio	69 (±25.9)	100	1	68 (±23.0)	96.1	1	67 (±24.9)	99.8	4.6	70 (±27.4)	100	1.8
Julio	79 (±20.4)	100	12.3	72 (±19.1)	88	1	75 (±18.8)	98.7	13.3	79 (±23.0)	100	20.4
Agosto	87 (±15.3)	100	38.6	77 (±12.9)	90.8	1	78 (±16.8)	98.6	31.9	81 (±21.0)	100	31.9
Septiembre	95 (±8.9)	100	44.3	75 (±13.5)	92.9	33.9	87 (±13.9)	99.5	35.2	88 (±17.8)	100	29.4
Octubre	62 (±10.1)	100	40.7	68 (±8.6)	91.3	42.4	60 (±18.9)	98.2	21.6	65 (±24.5)	100	23.5

Cuadro 4. Intensidades luminosas promedio, máximas y mínimas en los diferentes microambientes del Geopedral registradas durante el año 2012-2013.

Mes	Intensidad luminosa promedio (Luxes)											
	Grieta/promontorio	Max	Hondonada	Max	Pared	Max	Sitio plano	Max				
Octubre	9329	220446	19232	231468	5393	176357	40551	209424				
Noviembre	26054	198401	12966	170846	2196	154312	33857	286580				
Diciembre	28130	198401	14863	154312	4704	176357	33502	198401				
Enero	22505	187379	17900	198401	8464	187379	24307	176357				
Febrero	34719	231468	24386	209424	13981	220446	39394	198401				
Marzo	16483	209424	20002	198401	11222	2204456	41777	231468				
Abril	20205	220446	13497	154312	10765	187379	41132	253513				
Mayo	18311	187379	13619	220446	78523	187379	41049	231468				
Junio	15080	187379	12244	187379	83046	209424	38334	253513				
Julio	19979	198401	9872	121245	67105	170846	41251	220446				
Agosto	17410	242490	4847	88178	52924	198401	30828	231468				
Septiembre	11911	209424	5455	187379	51566	231468	19335	198401				
Octubre	9330	187379	19219	159823	53932	159823	40551	176357				

Cuadro 5. Precipitación promedio mensual registrada en el Geopedregal con un pluviómetro local durante un año (2012-2013).

Mes	Precipitación (mm)
Octubre	1.2
Noviembre	2.5
Diciembre	0.5
Enero	1.0
Febrero	2.0
Marzo	1.2
Abril	21.2
Mayo	65.5
Junio	57.8
Julio	121.8
Agosto	156.2
Septiembre	57.2
Octubre	33.8
Total	522

Cuadro 6. Humedad relativa promedio del suelo (9 y 20 cm de profundidad) registrada durante octubre del 2012 hasta octubre del 2013.

Mes	Humedad relativa a 9 cm (m ³ /m ³)	Humedad relativa a 20 cm (m ³ /m ³)
Octubre	0.044 (±0.026)	0.059 (±0.057)
Noviembre	0.075 (±0.011)	0.058 (±0.022)
Diciembre	0.013 (±0.008)	0.027 (±0.005)
Enero	0.016 (±0.009)	0.031 (±0.026)
Febrero	0.044 (±0.015)	0.046 (±0.038)
Marzo	0.058 (±0.028)	0.044 (±0.034)
Abril	0.079 (±0.043)	0.079 (±0.042)
Mayo	0.115 (±0.071)	0.106 (±0.055)
Junio	0.146 (±0.044)	0.229 (±0.045)
Julio	0.276 (±0.009)	0.228 (±0.024)
Agosto	0.285 (±0.018)	0.189 (±0.015)
Septiembre	0.298 (±0.009)	0.175 (±0.018)
Octubre	0.279 (±0.007)	0.151 (±0.014)

ANEXO 3. Determinación de agregados estables al agua por el método Yoder

Propósito

Determinar la estabilidad de los agregados del suelo de distintas fracciones después de ser sometidos de forma mecánica al agua.

Principio

La agregación del suelo es el proceso mediante el cual las partículas minerales y orgánicas se unen formando agregados, debido a la acción de fuerzas naturales, exudados radicales y la actividad microbiana. La estabilidad de agregados se utiliza como una estimación de la capacidad del suelo para mantener la arquitectura de la fracción sólida cuando es sometida a la acción de fuerzas tales como la lluvia, viento, humedecimiento y secado del suelo, etc. Al ser una característica edáfica dinámica, es considerada un indicador sensible de tendencias hacia la recuperación o degradación de los suelos.

Técnicas relacionadas

-PRESOPS MCC recolecta de suelo en campo para determinación de agregados

Equipo y material

Equipo:

- 1 equipo para determinación de estabilidad de agregados (WET SIEVING APPARATUS).
- 1 balanza analítica con precisión 0.01 g.
- 1 estufa de secado
- 1 sonificador
- 1 humificador

Material:

- Tamiz de 8 mm
- Tamiz de 1 mm
- 1 frasco de vidrio de 100 mL para cada fracción así como para su repetición. De cada uno se deberá saber previamente su peso a peso constante (PC).
- 1 recipiente de plástico de 500 mL.
- 1 charola para pastel transparente.
- 1 piceta de 500 mL.
- 1 gendarme

- 1 desecador
- 1 pipeta de 10 mL.

Reactivos

- Agua destilada.
- Solución de hexametáfosfato de sodio (35.7 %)
-

Muestra

La muestra recolectada de campo se disgrega cuidadosamente y completamente sobre el tamiz de 8 mm tratando de quitar la mayor parte de restos orgánicos grandes como hojas, tallos, semillas raíces y se almacena en bolsas plásticas para su posterior uso.

Procedimiento

1. En una balanza analítica se pesa una muestra homogénea de suelo de 4 g y se coloca sobre el tamiz de 0.25 mm (se hace el mismo procedimiento para la réplica de la muestra).
2. Los dos tamices son colocados dentro de una cámara de humectación por aproximadamente 2 hrs (en el caso de un suelo orgánico) y una vez que la muestra cambia de color completamente indica que se ha humedecido en su totalidad (se observa ligeramente lustrosa pero no brilla, si brilla indica que el agua ha llenado todos sus poros y los agregados se pueden reblandecer) se procede a colocar los tamices en el equipo Wet Sieving Apparatus llenando las bases metálicas con agua y se pone en funcionamiento durante 3 min.
3. Pasando este tiempo la fracción de suelo retenida en el tamiz se recupera y se coloca en el tamiz de la siguiente fracción 0.5 mm (teniendo cuidado de no haya pérdida de suelo), se repite el mismo procedimiento para todas las fracciones hasta llegar a la de 2 mm.
4. El sobrante en cada una de las bases se recupera con una pipeta por separado en un frasco de vidrio con la menor cantidad de agua posible. El suelo retenido en el tamiz de 2 mm se recupera en un frasco de vidrio con ayuda de una pipeta con el mínimo de agua posible y se coloca en la estufa a 100°C hasta PC rotulándose con el número de muestra y el tamaño de fracción, este suelo corresponde a la fracción de agregados que resistieron a la acción erosiva del agua. Sin embargo, partículas grandes del tamaño de las arenas pueden confundirse con agregados de menor tamaño, por lo que es necesario hacer un ajuste de los pesos eliminando esta fracción.
5. A la fracción final seca se le agregan 100 mL de agua corriente más 12 mL de hexametáfosfato de sodio al 37.5%, el frasco se sumerge en un baño ultrasónico procurando que el nivel del agua exterior supere el interior y así garantizar que las ondas viajen en toda el agua dentro del frasco. Se deja actuar 5 min a

temperatura ambiente y se recupera la muestra una vez que el aparato hay finalizado (no meter los dedos cuando esté en funcionamiento). La muestra recuperada se vacía en un tamiz de 1 mm y se disgrega cuidadosamente bajo el grifo de agua (no tirar a la tarja para evitar que esta se tape), las rocas minúsculas y las arenas disueltas se recuperan nuevamente en el frasco y se llevan a sequedad a PC a 100°C.

Cálculos

% Agregados de la fracción x mm (A) estables en agua (G)= 100- (D-E)

Índice de estabilidad de agregados = la suma de todas las fracciones / peso inicial de suelo

$$\text{MWD (MEAN WEIGHT DIAMETER)} = \sum (a_i w_i)$$

donde:

a_i = tamaño de la abertura del tamiz

w_i = peso parcial / peso total de la muestra (4g)

Peso parcial= peso de los agregados- peso de las arenas

Referencias:

Klute, A. 1986. Methods of Soil Analysis: Physical and Mineralogical Methods (Agronomy, N. 9). Amer. Society of Agronomy, 2a edición.

Lobo, L.D y Pulido, M.M. 2011. Métodos e índices para evaluar la estabilidad estructural de los suelos. Venesuelos 14:22-37.

ANEXO 4. Determinación de la densidad aparente (método del cilindro)

Propósito

Determinar la densidad aparente en muestras inalteradas de suelos. El conocimiento de la densidad aparente es importante para poder calcular el volumen de poros en el suelo. Además es necesario conocer la densidad aparente para poder calcular el contenido de compuestos del suelo en base a un volumen definido.

Principio

Sacar con un cilindro una muestra inalterada de un volumen definido en el campo, secarla a 105°C en la estufa para eliminar el agua, cuantificar la masa sólida del suelo por gravimetría y relacionarla con el volumen.

Técnicas relacionadas

- PRESOPLEA Muestreo
- PRESOPLEA Balanza
- PRESOPLEA Estufa
- PRESOPLEA Levantamiento morfoedafológico

Equipo y material

- Cilindros de metal o plástico de un volumen definido (107 cm³)
- Nucleador para cilindros
- Marro de hule
- Espátula
- Papel aluminio
- Estufa
- Cajas de Petri
- Balanza analítica con precisión de 0.01 g
- Desecador

Reactivos

No aplica

Muestra

Muestra inalterada del suelo (PRESOP-LEA levantamiento morfoedafológico).

Procedimiento

Regresando del campo se desempacan las muestras quitando las cubiertas de aluminio cuidado teniendo cuidado de que no haya pérdida de muestra. Las muestras se colocan

en capsulas de porcelana y se ponen a secar en la estufa a 105°C hasta peso constante, colocándose en un desecador para posteriormente anotar su peso (Peso Y). Antes de realizar los cálculos primero es necesario conocer el peso de la cápsula de porcelana (Peso X).

Cálculos

a) Densidad aparente:

La densidad aparente (d.a.) es el cociente de la diferencia entre el peso X menos el peso Y (peso Z) y el volumen del cilindro con el que se tomaron las muestras. Los cálculos se realizan de la siguiente manera:

$$\text{d.a. (g/cm}^3\text{)} = \frac{\text{Peso Y} - \text{Peso X} = \text{Peso Z}}{\text{Volumen del cilindro (107 cm}^3\text{)}}$$

Referencia:

Schlichting, E., H-P. Blume y K. Stahr. 1995. Bodenkundliches Praktikum. Pareys Studentexte 81, 2a. Edición, p. 96-97.

ANEXO 5. Extracción y cuantificación de micelio externo de hongos micorrizógenos arbusculares

Propósito

Describir el procedimiento para la extracción y cuantificación del micelio externo de los hongos micorrizógenos arbusculares.

Principio

La extracción del micelio externo de hongos y en particular de los hongos micorrizógenos arbusculares que se encuentran en el suelo se realiza mediante su dispersión y suspensión en agua después de agitarse en una solución dispersante de arcillas y romper los conjuntos hifales en una alícuota.

Técnicas relacionadas

- PRESOPMCC Recolecta de muestras rizosféricas para HMA
- PRESOPMCC Tinción de raíces
- PRESOP MCC Alcohol polivinílico

Equipo y material

- Gendarme
- Tamiz de 38 μm
- Botellas de plástico con tapa de 250 mL
- Probeta de 100 mL
- Agitador
- Vaso de precipitados de 250 mL
- Licuadora para esquimos
- Micropipeta de 5 mL
- Puntillas para micropipeta
- Bomba de vacío
- Kit de filtración 1225 Sampling Manifold
- Membranas para filtración (Millipore; tipo RA; tamaño de poro 1.2 μm)

Reactivos

Solución de hexametáfosfato de sodio al 35.7 %
Azul de Tripán

Muestra

Se utiliza la muestra que se guarda para calcular el peso de las arenas en el método de determinación de agregados.

Procedimiento

a) Extracción del micelio externo

1. La muestra se pasa por un tamiz de 38 μm enjuagando perfectamente sobre un recipiente para evitar tener pérdidas de suelo. Se lava las veces que sea necesario hasta haber eliminado la mayor cantidad de arcillas.
2. Una vez limpia la muestra se vacía en una probeta de 100 mL y se afora hasta 50ml vertiendo esta solución en un vaso para esquimo. Se tiene que repetir el paso anterior hasta completar los 250 ml en el vaso para esquimo enjuagando la probeta de modo que no quede suelo en la misma sin sobrepasar el volumen estrictamente de 250 ml.
3. Batirlo en la licuadora para esquimo a alta velocidad por 30 segundos, inmediatamente decantar la muestra en un matraz erlenmeyer de 300 mL, con un tapón de hule tajarla perfectamente y dejarla sin mover durante un minuto, evitando cualquier vibración en la mesa de trabajo.
4. Con la ayuda de una pipeta, tomar 5 mL sumergiendo la puntilla a una profundidad de 4 cm de la superficie de agua. Esta alícuota se vierte en el equipo de filtración al que previamente se le coloca la membrana correspondiente.
5. El equipo de filtración se conecta al vacío enjuagándose con agua destilada una sola vez; ya enjuagada la muestra se añaden 2 mL de azul de Tripán y se deja tiñendo la membrana por cinco minutos. Transcurridos los cinco minutos y viendo que la membrana se encuentra teñida, esta se enjuaga con agua destilada en el mismo dispositivo.
6. Con la ayuda de unas pinzas, se retira cuidadosamente la membrana y se monta en un portaobjetos para su posterior observación. El mismo procedimiento se realiza para la segunda repetición, colocando la membrana junto con la primera en el mismo portaobjetos.
7. Una vez secas las membranas se adiciona alcohol polivinílico poniendo un cubreobjetos sobre las mismas.
8. A un aumento de 200x se toman fotografías de 25 campos escogidos al azar y distribuidos en toda el área del filtro para analizarlas posteriormente con el programa Image Pro-Plus 6 sobreponiendo una cuadrícula de 500 x 500 μm en cada fotografía y marcando el micelio que se encuentra únicamente dentro de la cuadrícula y de esta manera obtener la longitud de micelio en cada campo. El micelio externo se observara teñido de color azul, reconociendo en el caso de los HMA un micelio aceptado o cenocítico (cuando joven) y con una apariencia tipo tortuosa. En caso de observar micelio viejo, éste puede ser septado pero los septos no son regulares.

Cálculos

Una vez que se conoce la longitud total (mm) de las hifas en el área filtrada estimada por los 25 campos observados, el siguiente paso fue calcular el área filtrada (FA) en mm²

$$FA = \pi r^2$$

Posteriormente se calculó el área del filtro por los 25 campos (área contada = CA)

$$CA = (10 \times \text{campo})^2 \times 25 \text{ (mm}^2\text{)}$$

También se requiere de calcular la longitud de la hifa en el filtro (HL):

$$HL = (H / CA) \times FA \text{ (mm)}$$

Por último se calcula la longitud total de hifas en la muestra del suelo (TL)

$$TL = (HL / 5 \text{ ml}) \times 250 \text{ ml} / 4 \text{ g (mm/g)}$$

En donde 4 g es el peso de la muestra del suelo en seco, 250 ml es el volumen de agua destilada donde se suspendió la muestra de suelo y 5 ml es la alícuota sustraída por la pipeta y vaciada sobre el filtro

Referencias

Tennant, D. 1975. A test of a modified line intersects method of estimating root length. J. Ecol. 63:995-1001.

ANEXO 6. Cuantificación de la biomasa radical

Propósito

Obtener el volumen de raíces de una muestra de suelo.

Principio

El desplazamiento del volumen al sumergir raíces en un cilindro con un volumen conocido de agua, permite conocer con exactitud el volumen que ocupan estas en el suelo.

Técnicas relacionadas

- PRESOPMCCP Recolecta, extracción, selección y preservación de raíces.

Equipo y material

- Probetas volumétricas de 10,20 o 50 mL
- Bandeja de plástico grande
- Tamiz de 0.47 mm de apertura
- Pinzas de disección
- Papel secante
- Cubeta
- Guantes de látex
- Dos palos de madera de 30 cm o mayores

Reactivos

- Agua corriente

Procedimiento

1. La muestra de suelo se coloca en una bandeja cubriéndola en su totalidad con agua. Con guantes se desbaratan los agregados y terrones de suelo con cuidado, procurando que todo el suelo quede desintegrado.
2. Se coloca el tamiz sobre una cubeta con cuidado de que no caiga, fijándolo con dos palos de madera. La muestra de la bandeja se pasa por este tamiz las veces que sean necesarias hasta observar las raíces limpias.
3. Con ayuda de las pinzas se recolectan las raíces cuidando de no dejar raicillas en el mismo y se colocan en papel secante. El agua utilizada para el lavado del suelo que queda en la bandeja se elimina en un jardín o zona destinada para residuos de suelo inocuos. Nunca vaciar a la tarja con el suelo porque se tapa.

4. Dependiendo de la abundancia radical, se selecciona una probeta volumétrica de 10, 20 o 50 mL. Se llena a la mitad del volumen con agua corriente y se colocan dentro las raíces. Se anota el volumen de agua desplazado por las raíces en decimas de mL.
5. Se sacan las raíces de la probeta y se colocan de nuevo en papel secante.

Cálculos

Volumen radical= Volumen de agua final con las raíces en la probeta – Volumen inicial sin raíces

ANEXO 7. Porcentaje de colonización micorrízica

Propósito

Obtener el porcentaje de colonización de hongos micorrízicos en raíces de una muestra de suelo.

Principio

En porcentaje de colonización de las raíces permite conocer el grado de ocupación de un hongo micorrízico arbuscular en una raíz y la identificación de las distintas estructuras presentes para determinar su abundancia y estado fenológico.

Equipo y material

- Microscopio óptico
- Mica laminada

Reactivos

- No aplica

Procedimiento

La evaluación de la colonización de las raíces se realiza contando bajo 200 aumentos todas las raíces de la preparación y localizando los 100 puntos de intersección donde había colonización. Así se logra verificar el número de estructuras de hongos micorrízicos en cada una de las raíces (10 raíces por laminilla) por lo que esto representa un porcentaje.

1. Una vez montadas las raíces en la laminilla, se extiende sobre esta una placa o mica transparente que tiene dibujada una rejilla. La rejilla debe tener 10 líneas trazadas horizontalmente.
2. A continuación se observa de manera cuidadosa y ordenada cada una de las líneas horizontales que conforman la rejilla, anotando:
 - a) Los contactos que se producen entre las raíces y las líneas anteriores.
 - b) Los puntos anteriores que además de contacto (intersección) presentan colonización por hongo (espora, hifa, vesícula o arbusculo).
3. Se calcula el sumatorio de todas las intersecciones producidas y de todas aquellas que además contaban con presencia fúngica.

Cálculos

El porcentaje de colonización radicular (CR) se obtiene a partir del cociente: Ni/Ti , donde:

Ni= número de intersecciones infectivas

Ti= Total de intersecciones producidas

Referencias

Phillips, J.M y Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55: 158-161.

ANEXO 8. Índice de estabilidad de agregados en las rizósferas de *Buddleja cordata* y *Bouvardia ternifolia* en los tres sitios de estudio para cada una de las muestras analizadas.

<i>Buddleja cordata</i> (R)	Universum	MUAC	Geopedregal
Muestra 1	1.32	3.12	1.23
Muestra 2	2.23	1.95	2.87
Muestra 3	1.79	2.21	1.48
Muestra 4	1.02	1.32	1.48
<hr/>			
<i>Buddleja cordata</i> (NR)			
Muestra 01	1.68	0.93	1.02
Muestra 02	1.00	1.22	1.59
<hr/>			
<i>Bouvardia ternifolia</i> (R)			
Muestra 1	1.12	1.66	1.56
Muestra 2	1.26	2.32	1.62
Muestra 3	0.94	2.51	1.49
Muestra 4	1.58	1.39	1.17
<hr/>			
<i>Bouvardia ternifolia</i> (NR)			
Muestra 01	1.35	1.76	1.62
Muestra 02	1.12	1.63	1.57

ANEXO 9. Cuantificación de micelio externo de HMA (m/g de suelo) de las rizósferas de *Buddleja cordata* y *Bouvardia ternifolia* en los tres sitios de estudio para cada una de las muestras analizadas.

<i>Buddleja cordata</i> (R)	Universum	MUAC	Geopedregal
Muestra 1	4.55	3.76	0.75
Muestra 2	4.69	2.99	2.46
Muestra 3	4.51	1.74	2.44
Muestra 4	3.63	3.49	0.72
<hr/>			
<i>Buddleja cordata</i> (NR)			
Muestra 01	2.48	2.66	0.31
Muestra 02	5.20	3.81	1.03
<hr/>			
<i>Bouvardia ternifolia</i> (R)			
Muestra 1	3.80	1.55	2.54
Muestra 2	2.08	2.86	3.38
Muestra 3	1.65	8.49	0.30
Muestra 4	2.28	0.46	3.75
<hr/>			
<i>Bouvardia ternifolia</i> (NR)			
Muestra 01	3.23	2.46	0.96
Muestra 02	3.39	2.49	1.58

ANEXO 10. Porcentaje de colonización micorrízica en las raíces de *Buddleja cordata* y *Bouvardia ternifolia* en los tres sitios de estudio para cada una de las muestras analizadas.

<i>Buddleja cordata</i> (R)	Universum	MUAC	Geopedregal
Muestra 1	64	25	32
Muestra 2	55	42	50
Muestra 3	57	24	43
Muestra 4	22	21	11
<hr/>			
<i>Bouvardia ternifolia</i> (R)			
Muestra 1	44	60	13
Muestra 2	27	49	38
Muestra 3	8	32	31
Muestra 4	47	32	10

ANEXO 11. Carbono en Mg ha⁻¹ de las rizósferas de *Buddleja cordata* y *Bouvardia ternifolia* en los tres sitios de estudio para cada una de las muestras analizadas.

<i>Buddleja cordata</i> (R)	Universum	MUAC	Geopedregal
Muestra 1	2.81	3.45	1.35
Muestra 2	1.85	2.09	2.93
Muestra 3	2.31	0.94	1.41
Muestra 4	1.64	1.48	3.00
<hr/>			
<i>Buddleja cordata</i> (NR)			
Muestra 01	2.76	2.80	3.15
Muestra 02	4.19	2.15	0.62
<hr/>			
<i>Bouvardia ternifolia</i> (R)			
Muestra 1	1.13	2.99	1.55
Muestra 2	0.96	4.47	2.57
Muestra 3	2.02	2.59	1.60
Muestra 4	2.74	3.29	2.19
<hr/>			
<i>Bouvardia ternifolia</i> (NR)			
Muestra 01	0.85	1.28	2.87
Muestra 02	2.84	2.09	1.78

ANEXO 12. Nitrógeno en Mg ha⁻¹ de las rizósferas de *Buddleja cordata* y *Bouvardia ternifolia* en los tres sitios de estudio para cada una de las muestras analizadas.

<i>Buddleja cordata</i> (R)	Universum	MUAC	Geopedregal
Muestra 1	0.21	0.25	0.12
Muestra 2	0.14	0.15	0.21
Muestra 3	0.19	0.07	0.12
Muestra 4	0.13	0.11	0.19
<hr/>			
<i>Buddleja cordata</i> (NR)			
Muestra 01	0.20	0.22	0.23
Muestra 02	0.32	0.18	0.05
<hr/>			
<i>Bouvardia ternifolia</i> (R)			
Muestra 1	0.09	0.24	0.13
Muestra 2	0.07	0.32	0.22
Muestra 3	0.16	0.23	0.14
Muestra 4	0.22	0.27	0.19
<hr/>			
<i>Bouvardia ternifolia</i> (NR)			
Muestra 01	0.07	0.11	0.24
Muestra 02	0.23	0.17	0.15

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Anova Índice de estabilidad sitio-especie-suelo

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	.13693157	4	.034232892	2.28	0.0834
sitio	.085648027	2	.042824014	2.85	0.0732
especie	.001364202	1	.001364202	0.09	0.7653
suelo	.04991934	1	.04991934	3.32	0.0781
Residual	.466127565	31	.015036373		
Total	.603059135	35	.017230261		

Number of obs = 36
 Root MSE = .122623
 R-squared = 0.2271
 Adj R-squared = 0.1273

Anova Densidad aparente sitio-especie

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	.035350003	3	.011783334	3.55	0.0672
sitio	.028816671	2	.014408336	4.35	0.0527
especie	.006533332	1	.006533332	1.97	0.1979
Residual	.026516678	8	.003314585		
Total	.061866681	11	.005624244		

Number of obs = 12
 Root MSE = .057572
 R-squared = 0.5714
 Adj R-squared = 0.4107

Anova C total en agregados sitio-especie-suelo

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	.158203534	4	.039550883	1.04	0.4040
sitio	.058229586	2	.029114793	0.76	0.4747
especie	.052057257	1	.052057257	1.36	0.2516
suelo	.047916691	1	.047916691	1.26	0.2710
Residual	1.18245598	31	.038143741		
Total	1.34065951	35	.038304557		

Number of obs = 36
 Root MSE = .195304
 R-squared = 0.1180
 Adj R-squared = 0.0042

Anova N total en agregados sitio-especie-suelo

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	.081518922	4	.02037973	0.70	0.6005
sitio	.03459007	2	.017295035	0.59	0.5601
especie	.011256835	1	.011256835	0.38	0.5398
suelo	.035672016	1	.035672016	1.22	0.2782
Residual	.907775404	31	.029283078		
Total	.989294326	35	.028265552		

Number of obs = 36
 Root MSE = .171123
 R-squared = 0.0824
 Adj R-squared = -0.0360

Anova Radio C/N sitio-especie-suelo

		Number of obs =	36	R-squared =	0.2720
		Root MSE =	.030398	Adj R-squared =	0.1780
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	.010701167	4	.002675292	2.90	0.0381
sitio	.001971336	2	.000985668	1.07	0.3564
especie	.007912413	1	.007912413	8.56	0.0064
suelo	.000817418	1	.000817418	0.88	0.3542
Residual	.028646082	31	.000924067		
Total	.039347249	35	.001124207		

Anova Micelio externo sitio-especie-suelo

		Number of obs =	36	R-squared =	0.2860
		Root MSE =	.458955	Adj R-squared =	0.1939
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	2.61595622	4	.653989055	3.10	0.0293
sitio	2.47072148	2	1.23536074	5.86	0.0069
especie	.055376761	1	.055376761	0.26	0.6118
suelo	.089857977	1	.089857977	0.43	0.5185
Residual	6.52982722	31	.210639588		
Total	9.14578343	35	.261308098		

Anova Volumen de raíces sitio-especie

		Number of obs =	24	R-squared =	0.1521
		Root MSE =	1.61632	Adj R-squared =	0.0249
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	9.375	3	3.125	1.20	0.3366
sitio	9	2	4.5	1.72	0.2041
especie	.375	1	.375	0.14	0.7088
Residual	52.25	20	2.6125		
Total	61.625	23	2.67934783		

Anova Colonización micorrízica sitio-especie

		Number of obs =	24	R-squared =	0.1184
		Root MSE =	.179637	Adj R-squared =	-0.0139
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	.0866496	3	.0288832	0.90	0.4609
sitio	.071229208	2	.035614604	1.10	0.3510
especie	.015420392	1	.015420392	0.48	0.4973
Residual	.645386704	20	.032269335		
Total	.732036304	23	.031827665		

Anova Biomasa aérea sitio-especie

		Number of obs = 24		R-squared = 0.6674	
		Root MSE = 13.5894		Adj R-squared = 0.6175	
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	7411.03653	3	2470.34551	13.38	0.0001
sitio	242.255577	2	121.127789	0.66	0.5298
especie	7168.78095	1	7168.78095	38.82	0.0000
Residual	3693.41867	20	184.670934		
Total	11104.4552	23	482.8024		

Anova C foliar sitio-especie

		Number of obs = 24		R-squared = 0.8914	
		Root MSE = .006382		Adj R-squared = 0.8751	
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	.00668686	3	.002228953	54.72	0.0000
sitio	.000212598	2	.000106299	2.61	0.0984
especie	.006474262	1	.006474262	158.93	0.0000
Residual	.000814724	20	.000040736		
Total	.007501584	23	.000326156		

Anova N total foliar sitio-especie

		Number of obs = 24		R-squared = 0.4213	
		Root MSE = .074767		Adj R-squared = 0.3344	
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	.081378757	3	.027126252	4.85	0.0107
sitio	.023523644	2	.011761822	2.10	0.1481
especie	.057855113	1	.057855113	10.35	0.0043
Residual	.111802217	20	.005590111		
Total	.193180974	23	.008399173		