



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Análisis de la producción de micelio extrarradical
de hongos micorrizógenos arbusculares
durante la sucesión en una selva de Los Tuxtlas, Veracruz,
México.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
Biólogo**

P R E S E N T A:

Becerril Pombo Alejandro Abel

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Francisco Javier Álvarez Sánchez
Ciudad Universitaria, CD. MX., 2017





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de datos del Jurado

1. Datos del alumno

Becerril

Pombo

Alejandro Abel

55 63 65 47 79

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

309013543

2. Datos del tutor

Dr.

Francisco Javier

Álvarez

Sánchez

3. Datos del sinodal 1

Dra.

Yolanda

Nava

Gutiérrez

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Rosalva

García

Sánchez

5. Datos del sinodal 3

Dr.

Julio

Campo

Alves

6. Datos del sinodal 4

Dra.

Sara Lucía

Camargo

Ricalde

7. Datos del trabajo escrito

Análisis de la producción de micelio extrarradical de hongos micorrizógenos arbusculares durante la sucesión en una selva de Los Tuxtlas, Veracruz, México.

62 p.

2017

Agradecimientos

A mi querida madre Diana por apoyarme a lo largo de la carrera, ya fuera con apoyo moral en noches de desvelo, o ayudándome económicamente con las salidas al campo, materiales para laboratorio, o incluso con las botas que me sirvieron para ir a muestrear a Los Tuxtlas.

A mi pareja Junuen A. Bustamante, por empujarme cuando estaba agotado, ayudarme a encontrar el camino muchas veces, hacerme entrar en razón cuando me quería rendir, hacerme sonreír, y pasar buenos ratos mientras este trabajo estaba siendo realizado. ¡Lo logré, Juni!

A mis amigos Mike, Dago y Fercho por acompañarme a lo largo de mi vida, y mi trayectoria escolar, ya que la vida no sería tan divertida sin ellos

Mi querido cuerpo que tan bien me ha funcionado a pesar del estrés, la ansiedad, los piquetes de insectos, las mordidas de garrapatas, arañas, y más, durante el trabajo en campo y el trabajo en laboratorio.

A la selva y a la naturaleza en general, que muchas veces ignoramos, y que no deja de dar sorpresas y está llena de cosas por descubrir; ¡aves, insectos, árboles, y, por supuesto, hongos de todo tipo!

A la UNAM, y a la Facultad de Ciencias, por darme la oportunidad de estudiar y superarme, para poder llegar a este punto, que es una victoria a nivel personal, ya que nada es imposible si hay motivación y un objetivo claro.

Gracias a todos en el Laboratorio de Ecología del suelo por su ayuda, apoyo, y consejos para seguir adelante, procesar las muestras, y por acompañarme durante la realización de este trabajo, en especial al Dr. Javier Álvarez por ser paciente, abrirme las puertas al laboratorio y guiarme; a la Dra. Irene Sánchez y al Mtro. Juan Carlos Peña por sus consejos, a Isaac Romeo Acevedo por su ayuda y compartir de sus datos, a Manuel Casariego por ayudarme a aprender a realizar conteos y técnicas de extracción, a Irvin Mendoza, a Laura Gabriela Santiago y a Irma Cervantes por ser excelentes compañeros de laboratorio y en las salidas al campo.

A los sinodales del jurado, integrados por el Dr. Francisco Javier Álvarez Sánchez, la Dra. Sara Lucía Camargo Ricalde, la Dra. Yolanda Nava Gutiérrez, la Dra. Rosalva García Sánchez, y el Dr. Julio Campo Alves por las aportaciones a este trabajo.

Al personal de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, por su apoyo en la realización de estudios en la zona, por darnos la bienvenida en los muestreos, y mantener las instalaciones en buen estado.

Al proyecto PAPIIT IN-116814 “Almacenes de carbono en el suelo de una selva húmeda: la contribución de los hongos micorrizógenos arbusculares” por el financiamiento y becas otorgados para la realización de este trabajo.

Índice

Resumen.....	1
1. Introducción.....	3
1.1 Selva húmeda.....	3
1.2 Sucesión Ecológica y regeneración.....	4
1.3 Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA).....	7
1.4 Micelio extrarradical y colonización intrarradical.....	9
1.5 Efectos de los HMA en los ecosistemas.....	13
2. Objetivos.....	15
2.1 Objetivo General.....	15
2.2 Objetivos Particulares.....	15
3. Hipótesis.....	15
4. Material y Método.....	16
4.1 Zona de estudio.....	16
4.2 Vegetación.....	18
4.3 Suelo.....	18
4.4 Muestreo.....	19
4.5 Análisis del desempeño de los HMA.....	21
4.6 Análisis estadístico.....	21
5. Resultados.....	23
5.1 Producción de micelio.....	23
5.2 Colonización intrarradical.....	24
5.3 Correlaciones.....	25
5.4 Análisis multivariado.....	25
6. Discusión.....	32
6.1 Variación estacional en la producción de micelio de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA).....	32

6.2 Relación entre las propiedades físico-químicas del suelo y el uso del suelo con la producción de micelio de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA).....	33
6.3 HMA en la sucesión ecológica.....	35
7. Conclusiones.....	37
8. Literatura citada.....	38
9. Anexos.....	48
9.1 Extracción de micelio extrarradical.....	48
9.2 Cuantificación de micelio extrarradical.....	49
9.3 Preparación y cuantificación de la colonización intrarradical.....	50
9.4 Contribución de cada variable en el Análisis de Componentes Principales.....	51
9.5 Tablas de características del sitio de estudio.....	53
9.6 Imágenes.....	57

Resumen

Los estudios referentes a los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) se han enfocado al efecto sobre el huésped y a los cambios sobre el desarrollo de estos, mientras que aspectos relacionados con su funcionalidad, los cambios del medio y su papel en las selvas húmedas han sido poco explorados; así mismo, no se ha explorado como la interacción entre el hongo y la planta cambia a lo largo de una sucesión ecológica, ni el papel que los HMA tienen en la funcionalidad ecológica de un bosque secundario.

Este trabajo tuvo como objetivo analizar el cambio en la Producción de micelio (TL) y en la Colonización intrarradical (CI) durante diferentes temporadas, en sitios de selva y bosques secundarios (acahuales) de diferentes edades. Los sitios estudiados se encuentran ubicados en la región de Los Tuxtlas, Veracruz, cercanos a la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz.

Para realizar este trabajo se tomaron muestras de suelo azar dentro de sitios de selva y bosques secundarios; de estas muestras se extrajo el micelio extrarradical con la técnica de Miller y Jastrow modificada por Jasso (2010) y Sánchez-Praeger (2010), y se tiñeron raíces con el procedimiento de Phillips y Hayman (1970); posteriormente se realizó un conteo de hifas con la técnica de Jacobsen (1998) y se realizó un conteo de estructuras intrarradicales para obtener los datos para las pruebas estadísticas.

Para los análisis estadísticos se comprobó normalidad de los datos de TL y CI con la prueba de Shapiro-Wilk; posteriormente, se realizaron ANOVAS de dos vías para buscar diferencias significativas en TL y CI, considerando la temporada y el uso de suelo como factores de variación. Cuando se presentaron diferencias significativas se realizó una prueba *post hoc* de Tuckey ($P \leq 0.05$); también se realizaron correlaciones con la prueba de Spearman, y, por último, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) para determinar cuáles factores explican TL y CI.

Los resultados del trabajo indican que la producción de micelio es significativamente más alta en la temporada de secas que en la de lluvias ($F_{9, 80} = 40.5$; $p \leq 0.001$). El ANOVA mostró que existen diferencias significativas en la interacción sitio-temporada ($F_{9, 80} = 2.28$; $p \leq 0.03$); siendo diferentes estadísticamente el acahual de 5 años en la temporada de lluvias y el acahual de 50 años de edad en la temporada de secas; también mostró que no existen diferencias significativas entre los sitios de selva 2, 3, 5, y el sitio de acahual de 18 años durante la temporada de lluvias, y son diferentes al acahual de 50 años durante la temporada de secas, por otro lado, el ANOVA mostró que no hay diferencias significativas entre temporadas en la colonización intrarradical ($F_{1, 98} = 0.003$; $p \leq 0.95$).

Los análisis de correlación mostraron que la longitud del micelio se correlacionó positivamente con el porcentaje de materia orgánica ($r=0.571$; $p \leq 0.008$), carbono disponible ($r=0.589$; $p \leq 0.006$), y el amonio (N-NH_4) ($r=0.476$; $p \leq 0.033$) durante la temporada de lluvias. Sin embargo no se encontraron correlaciones en la temporada de secas para la longitud del micelio, tampoco se encontraron correlaciones entre las propiedades físico-químicas del suelo y la colonización intrarradical, ni en la temporada de lluvias, ni en la de secas.

Por último, el análisis de componentes principales (APC) mostró que, durante la temporada de lluvias, en la longitud de micelio, los primeros dos factores del análisis explicaron en 79.62% la variación; las variables que explicaron en mayor proporción la variación de los datos fueron el carbono y el amonio. Para la colonización intrarradical, los primeros dos factores del análisis explicaron en 81.86% la variación; las variables que explicaron en mayor proporción la variación de los datos fueron el carbono, el nitrógeno y el amonio.

El análisis de componentes principales (APC) agrupó sitios de selva y acahual en la temporada de lluvias, lo que muestra que la producción de micelio y la colonización intrarradical no depende totalmente del sitio; sin embargo, existen sitios completamente distintos a los demás, como la selva 1 y el acahual de 27 años.

Por otro lado, durante la temporada de secas, en la longitud de micelio, los primeros tres factores del análisis explicaron en 85.32% la variación; las variables que explicaron en mayor proporción la variación de los datos fueron el carbono, el nitrógeno, y los nitratos; el amonio tiene una contribución negativa. Para la colonización intrarradical, los primeros dos factores del análisis explicaron en 84.82% la variación; las variables que explicaron en mayor proporción la variación de los datos fueron el carbono, el nitrógeno y nitratos; el amonio tiene una contribución negativa.

El análisis de componentes principales agrupó sitios de selva y acahual en la temporada de secas, lo que muestra que la producción de micelio y la colonización intrarradical no depende totalmente del sitio; sin embargo, el acahual de 27 años quedó separado de otros sitios.

Los resultados indican que la temporada y el uso de suelo tienen efectos importantes sobre la Producción de micelio y la Colonización intrarradical, sin embargo, se puede observar que existen otros factores que están teniendo influencia sobre el desempeño de los HMA, desde factores abióticos y bióticos, como la comunidad vegetal y el estado sucesional de los bosques secundarios.

1. Introducción

1.1. Selva húmeda

La selva húmeda ocupa únicamente el 7% de la superficie total de la Tierra y en ellas se encuentra alrededor del 50% de toda la biodiversidad mundial (Raven, 1988; Wilson, 1988; Wright, 2005).

En México, representan el 17% de toda la flora del país, con más de 5000 especies vegetales registradas (Soberón *et al.*, 2008); además, desempeñan un papel importante en la regulación del clima nivel global (Laurance, 2004), de las propiedades del suelo, y de sistemas hidrológicos a niveles locales y regionales (Jordan, 1985).

Las selvas húmedas son ecosistemas con un grado de complejidad alto, que se pueden dividir en diferentes estratos con características particulares, cada uno con una comunidad única con adaptaciones particulares, las cuales están conformadas por un gran número de especies (Bourgeron, 1983; Ibarra y Sinaca, 1997). Los estratos que componen una selva húmeda se pueden clasificar de la siguiente manera:

- A) El estrato emergente. Contiene un bajo número de especies arbóreas de gran tamaño, denominadas emergentes, que crecen por arriba de los 45 metros, siendo más altos que el dosel general (Bourgeron, 1983; Denslow, 1987).
- B) Dosel. El dosel es el estrato que forma un techo a través del cual se regula la entrada de luz, la temperatura, y la humedad (Bourgeron, 1983). En este estrato se pueden encontrar árboles de hasta 45 metros de altura (Denslow, 1987).
- C) Sotobosque. La comunidad vegetal que se encuentra en este estrato es muy distinta a la del dosel, debido a que solamente el 5% de la luz es capaz de alcanzar este estrato (Bourgeron, 1983; Denslow, 1987).
- D) El suelo. Se estima que sólo del 2% al 5% de la luz puede llegar a este estrato (Bourgeron, 1983); en el suelo de los bosques tropicales se puede encontrar una gran cantidad de materia orgánica, que proveniente de estratos superiores. Además en el suelo se lleva a cabo el reciclaje de nutrientes (Moreira *et al.*, 2011); por último, en este estrato se pueden encontrar diversas interacciones entre organismos.

Las selvas húmedas son altamente vulnerables; el cambio climático, los cambios de uso de suelo, y la introducción de especies son factores de riesgo para estos ecosistemas. Desde la segunda mitad del siglo pasado, la deforestación y los cambios de usos de suelo aumentaron exponencialmente debido al manejo ineficiente, crecimiento poblacional e industrias como la maderera (Bierregaard *et al.*, 1992); en el caso de México, se presenta una tasa anual de pérdida de cobertura del 2% (Masera *et al.*, 1997). La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales reportó que en el año 2000 la tasa de estimada anual de deforestación de las selvas fue de 510 mil hectáreas por año (SEMARNAT 2008).

El cambio de uso de suelo representa la mayor amenaza para las selvas húmedas, ya que al eliminar la cobertura vegetal y modificar las propiedades del suelo, las condiciones climáticas, físicas, y químicas se modifican considerablemente, fragmentando la cobertura vegetal y dejando un mosaico discontinuo de vegetación, con fragmentos de vegetación original rodeados por cultivos o potreros (Guevara *et al.*, 2004), lo que cambia la dinámica del ecosistema de forma significativa (Ysunza, 2012); estos cambios de uso del suelo también afectan, de forma directa, a la biota del suelo, cambiando su composición y abundancia, a causa de la alteración en las propiedades físicas y químicas del suelo (Sturmer, 2011).

1.2. Sucesión ecológica y regeneración

Tras disturbios como eventos de deforestación y cambios de uso de suelo, los ecosistemas tienen la capacidad de regenerarse, y recuperar su funcionalidad y estructura original a través de una sucesión ecológica (Figura 1), la cual se puede definir como un proceso observable de cambio de especies y estructura en un ecosistema a través del tiempo (Sahney, 2008). Por otro lado, la regeneración de un ecosistema se puede definir como el proceso por el que, en un espacio dado, se produce la aparición de nuevos individuos de distintas especies forestales sin intervención antropogénica (Serrada-Hierro, 2003); en este sentido, se puede decir que para que ocurra un proceso de sucesión ecológica, debe existir la capacidad de regeneración.

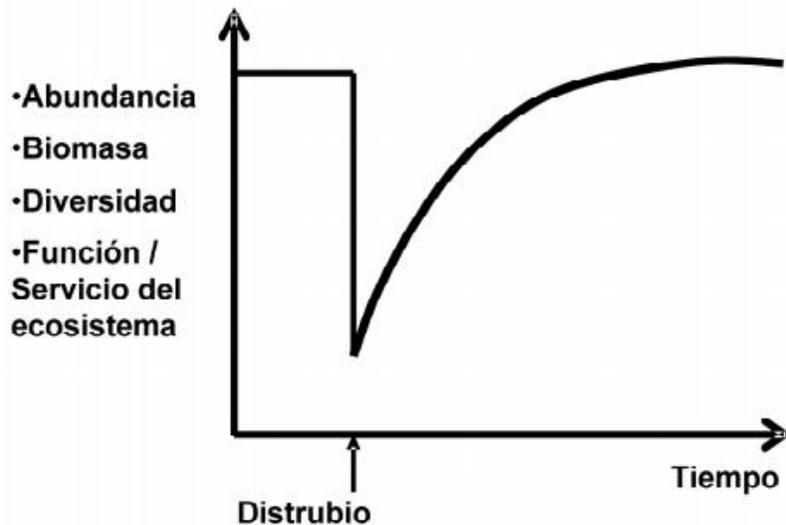


Figura 1. Trayectoria hipotética de un proceso de sucesión ecológica; las capacidades de regeneración conducen, con el tiempo, a la recuperación de la estructura, comunidad, y funcionamiento de un ecosistema (modificado de Martínez-Ramos, 2007).

Durante una sucesión, los cambios ecológicos ocurren de manera natural y suceden a lo largo del tiempo, y especies que en algún momento son clave para el funcionamiento del ecosistema pueden desaparecer o ser reemplazadas con otras conforme el ecosistema se recupera (Etherington, 1997). Los cambios que presenta un ecosistema y la velocidad con la que estos ocurren en una sucesión dependen de las características del disturbio; es decir, su origen (si este es antropogénico o natural), la intensidad, la frecuencia y la extensión, así como la disponibilidad de propágulos regenerativos (Grubb, 1985; Pickett y White, 1985; Pickett *et al.*, 1987; Guadarrama *et al.*, 2006).

La sucesión puede ser primaria o secundaria dependiendo de las condiciones en las cuales ocurren; se puede hablar de sucesión primaria cuando se establecen organismos provenientes de otros sistemas aledaños en un ambiente sin una cobertura vegetal previa (Walker y del Moral, 2011). Por otro lado, la sucesión secundaria ocurre en ambientes con un ecosistema establecido, afectado por disturbios naturales o antropogénicos que causan la pérdida total o parcial de la cobertura vegetal y en la que existen propágulos disponibles para colonizar (Cook *et al.*, 2005).

En una sucesión secundaria, el banco de semillas, así como los parches de vegetación circundantes, en caso de existir, influyen en la regeneración, llevando a una sucesión secundaria y, subsecuentemente, a un bosque secundario (Guariguata y Ostertag, 2001); estos se pueden considerar un estado sucesional que surge tras un disturbio que involucra la pérdida de vegetación original. Los bosques secundarios son altamente dinámicos y se caracterizan por tener una comunidad vegetal cambiante (Breugel, 2007); se puede llegar a encontrar una gran diversidad de especies vegetales en un bosque secundario, desde especies arbóreas que permanecen en estados tardíos de la sucesión, hasta especies arbustivas que se consideran pioneras (Guariguata *et al.*, 1997). En México, Centroamérica y Sudamérica, los bosques secundarios que se originan a partir de tierras utilizadas para la agricultura, se conocen tradicionalmente como acahuals.

En el caso de las selvas húmedas, se ha observado que la disponibilidad de propágulos y la disponibilidad de microhábitats propicios para el desarrollo de los bosques secundarios y son dos factores sumamente importantes que actúan como controladores de la sucesión ecológica (Uhl, 1987; Guadarrama *et al.*, 2006; Martínez-Ramos y García-Orth, 2007), por lo que la sucesión en las selvas húmedas es un proceso dinámico, debido a la alta diversidad de especies involucradas y las propiedades del suelo tras el disturbio, como compactación, disponibilidad de nutrientes y la capacidad de reclutamiento de especies colonizadoras (Bazzaz, 1980).

La capacidad de regeneración de una selva húmeda se ve afectada por diversos factores que ocurren antes de que ésta inicie; en estudios realizados en La Selva Lacandona, Chiapas, por Martínez-Ramos y García-Orth (2007), se determinó que la historia del sitio; es decir, su uso previo al proceso de regeneración, es importante para regular la velocidad y magnitud de los procesos de regeneración y sucesión ecológica, ya que el uso de suelo altera las propiedades físicas de éste, puede introducir especies, reduce el número de propágulos, y altera, en diferentes grados, la comunidad vegetal nativa circundante.

Durante la sucesión ocurren una serie de cambios en el paisaje que muestran diferentes estados de funcionalidad ecológica, durante cada uno de estos estadios sucesionales hay un gran recambio de especies vegetales que pueden servir como indicadores del estado de regeneración. Es importante mencionar que los paisajes pueden ser alterados permanentemente, incluso después de una sucesión de origen natural, ya que, en muchos casos, especies que no son nativas pueden ser reclutadas y volverse parte de la sucesión (Prach, 1999).

Sin embargo, el recambio de especies no sólo ocurre con especies vegetales, la biota del suelo también sufre una serie de cambios, desde estructurales hasta funcionales; entre los factores que determinan las modificaciones en la comunidad del suelo se puede hablar de la diversidad de microambientes y la disponibilidad de recursos (Maharning, 2009).

La formación y las condiciones de los microambientes están determinadas por muchos factores bióticos y abióticos, como las propiedades físicas y químicas del suelo, la presencia de determinados organismos que se encuentran sobre o debajo del suelo, ya sean plantas u organismos como los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) (Wardle, 2004).

Varela *et al.* (2009) estudiaron el efecto de los cambios de uso de suelo en Los Tuxtlas sobre los HMA, y determinaron que estos pueden llegar a tener efectos significativos en la diversidad de los HMA a nivel regional; además, los cambios de uso del suelo modifican la producción de esporas por parte de estos organismos, afectando así la capacidad de los HMA de colonizar plantas y presentarse en medios alterados (Sturmer y Siqueira, 2011). Esto indica que la biota del suelo es susceptible a las actividades del hombre, y que los efectos de los disturbios en una sucesión modifican la abundancia y diversidad de los organismos del suelo.

1.3. Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

La micorriza es una asociación mutualista que se establece entre el 80% de las plantas y hongos del phylum Glomeromycota (Smith y Read, 2008). Los hongos son biótrofos obligados (Sturmer, 2011), benefician al huésped ya que funcionan como una extensión de las raíces de éste (Schüßler *et al.*, 2001), favoreciendo la absorción de nutrientes y la retención de agua, en un medio con diferencias físicas y químicas denominado rizósfera, en el cual hongo y planta interactúan (Hawkes *et al.*, 2007); además, los HMA pueden proteger al huésped de patógenos e incrementando la salud de la planta (Jeffries y Barea, 2001; Sikes, 2010).

El phylum Glomeromycota contiene tres clases (*Archaeosporomycetes*, *Glomeromycetes*, y *Paraglomeromycetes*), cinco ordenes (*Archaeosporales*, *Diversisporales*, *Gigapsorales*, *Glomerales*, y *Paraglomerales*), 14 familias, 29 géneros, y aproximadamente 230 especies descritas hasta ahora (Schüßler *et al.*, 2001; Spain *et al.*, 2006; Oehl *et al.*, 2011).

Ya que la especie de HMA puede determinar las tasas de asimilación y transporte de nutrientes como el fósforo y nitrógeno (Leake *et al.*, 2004; Zangaro *et al.*, 2003), se han reconocido siete tipos de interacciones mutualistas entre los hongos micorrizógenos y plantas de acuerdo a la forma en la cual el hongo penetra en la raíz del huésped, y las estructuras que el hongo forma dentro de la raíz (Guadarrama *et al.*, 2004). En zonas tropicales el tipo de micorriza más común es la micorriza arbuscular (Redecker, 2006).

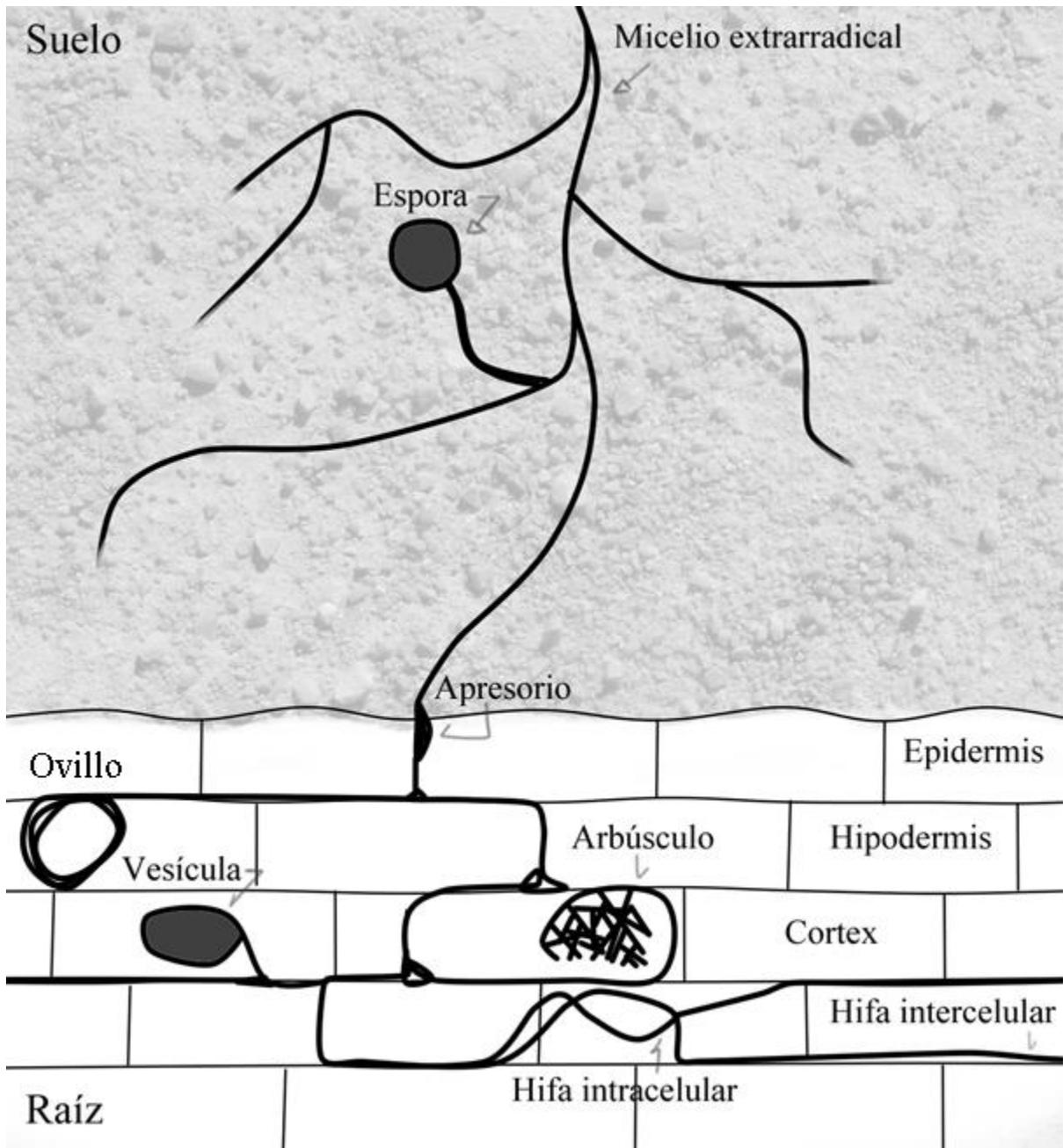


Figura 2. Esquema que muestra las estructuras que forman los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) dentro de la raíz del huésped. Perspectiva lateral: suelo-raíz.

1.4. Micelio extrarradical y Colonización intrarradical

Los HMA operan a través de dos fases en las cuales existe un intercambio de nutrientes; una de estas fases se desarrolla fuera de la raíz del huésped, y se encarga de la búsqueda y absorción de nutrientes del medio a través de la producción de micelio extrarradical; mientras que la otra se lleva a cabo dentro de las raíces del huésped, e involucra el desarrollo de estructuras especializadas que permiten el intercambio de nutrientes con la planta y el almacén de carbohidratos, a este desarrollo de estructuras se le conoce como colonización intrarradical (Smith y Read, 2008; Figura 2).

En la fase que ocurre fuera de la raíz del huésped, los HMA desarrollan una red a partir de dos tipos de hifas distintos, las hifas de avance y las hifas de exploración; las primeras, o hifas de avance, se caracterizan por ser de gran tamaño, con paredes gruesas y con proyecciones angulares definidas; en tanto que , las hifas de exploración son más finas, y forman ramificaciones continuamente para formar la red de micelio extrarradical (Harley y Smith, 1983; Smith y Read, 2008); una vez que las hifas de exploración se establecen y terminan de formar una red, se forman estructuras denominadas estructuras ramificadas de absorción (Figura 3), las cuales son hifas absorbentes con la capacidad de aprovechar nutrientes en los microporos del suelo debido a su pequeño tamaño (Bago *et al.*, 1998).

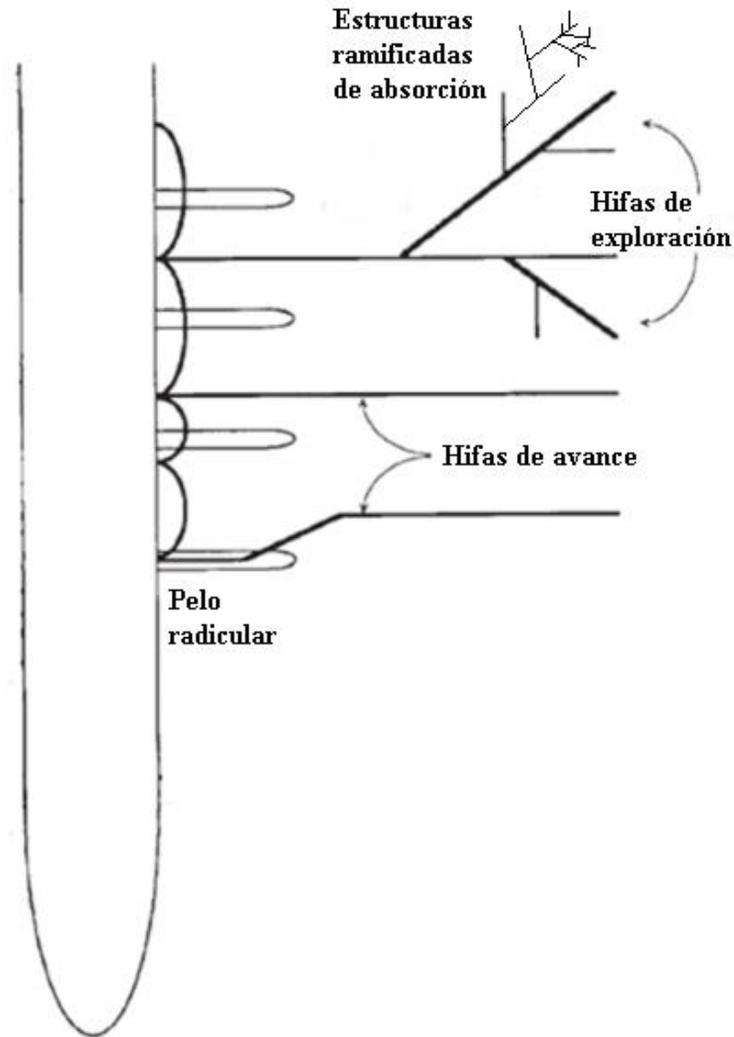


Figura 3. Diagrama donde se muestran los tipos de hifas, así como su estructura, asociados a una raíz (modificado de Smith y Read, 2008).

El micelio extrarradical es una estructura muy importante en términos de absorción de nutrientes, principalmente fósforo y nitrógeno (Entry *et al.*, 2002), ya que la red de micelio extrarradical es la estructura más dinámica de la interacción y con mayor diversidad funcional (Leake *et al.*, 2004); los HMA exploran el medio a través del micelio extrarradical, aumentando la superficie y distancia de absorción de nutrientes por parte de las plantas (Schüßler *et al.*, 2001). El micelio extrarradical también puede llegar a ser responsable de cambiar las propiedades físicas del suelo, ya que es la estructura que interactúa con el medio, por lo que los HMA son muy importantes en procesos de sucesión ecológica y la formación de suelos (Zangaro *et al.*, 2003), debido a que los HMA producen proteínas como la glomalina, que mantiene unidas las partículas minerales y orgánicas formando agregados, brindando estabilidad al suelo y reduciendo la pérdida de nutrientes en el ambiente (Wright y Upadhyaya, 1998; Lovelock *et al.*, 2004).

El micelio extrarradical es una estructura fina, de entre 2 y 27 μm de diámetro (Smith y Read, 2008), que sale de la raíz y forma redes que aumentan la absorción de nutrientes y la retención de agua; es decir que el micelio extrarradical es sumamente importante para la funcionalidad del hongo, ya que éste es el medio a través del cual el hongo transporta nutrientes del suelo hacia la planta (Smith y Smith 2011).

La producción de micelio se ve afectada por factores físicos y químicos (Segun, 2011), como, por ejemplo, el pH, la humedad, la temperatura, el grado de compactación, la cantidad de agregados, la porosidad del suelo, la capacidad de intercambio catiónico, y la disponibilidad de nutrientes (Leake *et al.*, 2004; Ibekwe *et al.*, 2008). Si bien el micelio es dinámico y complejo, es muy sensible a disturbios y modificaciones del medio, los cuales pueden afectar su producción.

El pH es particularmente importante ya que modifica la disponibilidad de nutrientes disponibles en el suelo y la respuesta que el hongo tiene en el medio, provocando respuestas de estrés en niveles muy ácidos o básicos (Clark *et al.*, 1999; Frey y Schuepp 1993; Van Aarle, 2004), y la humedad, ya que el exceso de humedad en el suelo es perjudicial para la relación simbiótica (Lodge, 1989; Entry *et al.*, 2002); mientras que la respuesta ante estrés hídrico moderado parece favorecer la relación simbiótica, al incrementar la absorción de agua a través de las hifas (Al-Karaki y Al-Raddad, 1997; Davies *et al.*, 1993; Augé, 2001).

Por otro lado, dentro de la raíz del huésped ocurre la colonización intrarradical, la cual es un proceso dinámico que se desarrolla tanto el hongo como la planta, y puede ocurrir de diversas formas dependiendo de la cantidad y el tipo de propágulo encontrado en el suelo, ya sean esporas, fragmentos de raíz infectada o por hifas en el suelo (Guadarrama *et al.*, 2006), siendo la colonización a través de fragmentos de raíz infectada y micelio la más efectiva, debido a que la germinación de esporas requiere de condiciones específicas (Smith y Read, 2008).

Los HMA responden a la presencia de los exudados y compuestos volátiles de las raíces en el suelo, los cuales estimulan el desarrollo y la ramificación del micelio, ya que funcionan como un medio de señalización, que le permiten a los HMA crecer en dirección a estas (Smith y Read, 2008); el proceso de colonización y desarrollo de los HMA inicia con una serie de procesos de señalización y reconocimiento químico entre la raíz de la planta y el hongo (Giovannetti, 1998).

Una vez que el HMA ha logrado establecer contacto con la planta, el hongo comienza a desarrollar estructuras dentro de las raíces del huésped y se forma un compartimiento a partir de la unión de la membrana de ambos organismos, sin que se mezcle el citoplasma de éstos (Bonfante y Perotto, 1995).

Las estructuras intrarradicales que se encuentran dentro de la raíz se desarrollan en un ambiente controlado por la homeostasis de la planta (Smith y Smith, 2011); cuando la hifa penetra en la raíz, ésta se extiende de forma radial por la epidermis y la exodermis, desarrollando hifas y micelio inter e intra celular; posteriormente, los HMA comienzan a desarrollar las demás estructuras de la colonización (Bonfante y Perotto, 1995), las cuales se mencionan a continuación:

- A) Arbúsculos. Los arbúsculos son ramificaciones sucesivas que son sumamente importantes, ya que en estas estructuras se lleva a cabo la transferencia de nutrientes entre el hongo y la planta; el hongo recibe carbohidratos simples producto de la fotosíntesis y la planta nutrientes como el fósforo (Smith y Read, 2008). Los arbúsculos duran entre 4 y 10 días antes de degradarse, pero se forman continuamente dentro de la raíz (Jacquelinet-Jeanmoungin *et al.*, 1987; Sanders *et al.* 1997). A pesar de modificar la membrana de la planta (Bonfante y Perotto, 1995), estos no entran en contacto con el citoplasma de las células vegetales, forman un medio específico con un pH ácido, que contiene material modificado de la pared celular de la planta (Smith y Smith, 1990; Balestrini y Bonfante, 2005).
- B) Vesículas. Son hifas que se especializan para almacenar grandes cantidades de lípidos, generalmente se encuentran conectadas a micelio; se pueden encontrar de forma intra o intercelular y son muy comunes en los géneros *Glomus*, *Acaulospora*, y *Entrophospora* (Brundrett *et al.*, 1996; Smith y Read, 2008).
- C) Esporas. Son las estructuras de resistencia y propagación, dispersadas mediante diversos mecanismos (Smith y Read, 2008). Son estructuras de gran tamaño (en promedio, 50 y 300 μm de diámetro) (Brundrett *et al.*, 1996), que contienen una gran cantidad de glicógeno y lípidos, dentro de una gruesa pared de quitina. Las esporas de los HMA contienen miles de núcleos (Hosny *et al.*, 1998).
- D) Ovillos. Estas estructuras son enrollamientos de las hifas, que se cree que también tienen una función de intercambio de nutrientes con el huésped; sin embargo, se presentan en menor frecuencia que los arbúsculos (Smith y Smith, 1997).

Existen dos tipos de colonización intrarradical. La tipo *Arum* y la tipo *Paris*; la tipo *Arum* se presenta frecuentemente en especies vegetales con ciclos de vida rápidos, que se pueden considerar pioneras; en los casos en los cuales se presenta este tipo de colonización, el hongo coloniza rápidamente la raíz por medio de hifas intercelulares que se ramifican dicotómicamente en el lumen de la célula vegetal para desarrollar arbusculos (Smith y Smith, 1997; Dickinson, 2004); por otro lado, la colonización tipo *Paris* es lenta, con tasas de desarrollo intercelular más bajas; en ésta, los arbusculos se presentan extensivamente y se extienden directamente entre células de la corteza de la raíz (Smith y Smith, 1997; Smith y Read, 2008). La existencia de dos tipos distintos de colonización intrarradical, cuyo tipo de desarrollo está relacionado con el ciclo de vida del huésped, nos indica que los HMA están adaptados a diferentes estados sucesionales.

Los estudios referentes a los HMA se han enfocado mayoritariamente a los efectos sobre la planta hospedera y al desarrollo de ésta, así como a la colonización intrarradical (Smith y Read, 2008). Muchos de los estudios relacionados a la funcionalidad de los HMA en ambientes controlados, si bien nos ofrecen información importante acerca de estos organismos, como sus respuestas a diversas condiciones, no nos indican como los HMA funcionan en un ecosistema y bajo condiciones de disturbio.

En el caso de las selvas húmedas, existen estudios previos realizados en torno a los HMA; Serrano-Ysunza (2012), en Los Tuxtlas, Veracruz, determinó que la producción del micelio extrarradical tiene relación con la temperatura, humedad, y el metabolismo de la planta huésped, y que hay mayor producción de micelio extrarradical en zonas con dosel ausente o abierto, lo cual se corrobora con lo encontrado por Cruz-Paredes (2013), en un estudio realizado en el trópico seco de Veracruz, donde se determinó que en las zonas con un dosel abierto existe menos competencia por los nutrientes disponibles, por lo que habrá una mayor cantidad de micelio extrarradical para la búsqueda de nutrientes. Por otro lado, Jasso-Flores (2010), en Los Tuxtlas, Veracruz, reportó diferencias significativas tanto en la producción de micelio extrarradical, como en la colonización intrarradical entre diferentes ambientes. Si bien estos estudios nos ofrecen información acerca de los HMA en ambientes de selva húmeda, existen muy pocos estudios enfocados a la producción de micelio extrarradical, y como éste afecta los procesos de regeneración y sucesión ecológica.

1.5.Efectos de los HMA en los ecosistemas

Los HMA son ecológicamente relevantes ya que proveen muchos servicios ecosistémicos a distintas escalas (Chaudhary *et al.*, 2008); son responsables de muchas funciones en los ecosistemas; por ejemplo, mejoran la absorción de recursos, aumentan la productividad y diversidad de la comunidad vegetal, y el reciclaje de nutrientes como el carbono, el fósforo, el nitrógeno, y el zinc (Newsham *et al.* 1995; van der Heijden *et al.*, 1998; Miller y Jastrow, 2000; Johnson *et al.*, 2006; Smith, 2011).

Es tal la importancia ecológica de los HMA que autores como Johnson (2010) indican que la relación entre éstos y las plantas está ligada completamente con la evolución de diversos grupos o familias de plantas, así como estar directamente involucrados con los cambios en la comunidad vegetal, ya que aumentan las tasas de supervivencia de las especies huésped y permiten el establecimiento de especies dependientes de los HMA, las cuales pueden desplazar a las especies colonizadoras no dependientes (van der Heijden *et al.*, 1998; Klironomos *et al.*, 2000).

Los HMA se presentan en grandes números, en parte, por la baja especificidad de colonización, el gran número de propágulos, y la variedad de métodos de inoculación (Guadarrama *et al.*, 2006); un sólo aislamiento de HMA tiene suficiente infectividad para colonizar diferentes especies de plantas, vincularlas y funcionar como una red de intercambio de nutrientes como el carbono, nitrógeno y fósforo, así como agua, entre ellas (Simard y Durall, 2004), siendo limitados por factores ambientales como la estacionalidad, factores bióticos como la comunidad vegetal, o factores físico-químicos en el suelo, como la disponibilidad de nutrientes y la complementariedad funcional de la planta con el hongo (Guadarrama *et al.*, 1998; Kiers *et al.*, 2000; Allen, 2001).

Si bien los HMA son capaces de colonizar un gran número de especies vegetales, parece ser que existen efectos diferenciales dependiendo de la especie del hongo y de la planta (Álvarez-Sánchez *et al.*, 2007; Álvarez-Sánchez *et al.*, 2009). Vogelsang *et al.* (2006) sugieren que la diversidad y productividad vegetal responden a la especie y a la diversidad de los HMA en el suelo, lo cual se corrobora con experimentos realizados por van der Heijden *et al.* (1998) y Klironomos *et al.* (2000), donde se encontró que la diversidad de la comunidad vegetal y la diversidad de los HMA está correlacionada, debido a lo que se conoce como complementariedad funcional (Rillig *et al.*, 2002).

A pesar de los estudios realizados y la amplia gama de conocimiento acerca de la sucesión, no se ha estudiado a fondo el cambio de los HMA durante una sucesión, ni su importancia durante este proceso. La falta de estudios directamente relacionados con el desempeño de los HMA durante los procesos de regeneración, deja un hueco de información que no ha sido explorado y que puede ser vital para entender mejor como se llevan a cabo estos procesos; así como los factores ambientales que afectan el desarrollo y la funcionalidad de los HMA.

2. **Objetivos**

2.1. Objetivo general

- Evaluar la producción de micelio extrarradical y la colonización intrarradical de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en una selva húmeda, en bosques secundarios con distintas edades, en dos estaciones del año en la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas, Veracruz, México.

2.2. Objetivos particulares

- Evaluar las diferencias en la producción de micelio y colonización intrarradical entre los bosques secundarios de distintas edades y las diferencias entre la funcionalidad de estos sitios con base en su edad y la estación (lluvias y secas).

- Evaluar las diferencias en la producción de micelio y colonización intrarradical entre los bosques secundarios de distintas edades y las selvas con base en las diferencias en las propiedades del suelo, como son nutrientes, pH, y temperatura.

3. **Hipótesis**

Se espera que la producción de micelio y la colonización intrarradical sean mayores en la temporada de secas, debido a un aumento en la dependencia micorrícica provocada por el aumento de temperatura y la disminución de humedad, por lo que la estacionalidad de la precipitación debería tener un efecto importante sobre los HMA.

En cuanto a los bosques secundarios (acahuales), se espera que la edad de estos tenga un efecto sobre la producción de micelio y la colonización intrarradical, debido a que los cambios en el medio que ocurren durante la sucesión modifican las propiedades físico-químicas del suelo (como son el pH, la disponibilidad de nutrientes, la compactación y la porosidad del suelo) y cambian la comunidad vegetal, por lo que se espera que en los sitios de bosque secundario más antiguos, se presente una mayor producción de micelio y colonización, debido a que las especies vegetales que se desarrollan en estos suelen ser especies más dependientes de la relación con los HMA.

4. Material y método

4.1. Zona de estudio

Los Tuxtlas se encuentra al sureste del estado de Veracruz, en la llanura costera del Golfo de México (figura 4); la Reserva de la Biosfera se encuentra inmersa en un macizo volcánico en la costa, entre las zonas aluviales formadas por las cuencas de los ríos Papaloapan y Coatzacoalcos, debido a esto, el relieve general de la región es resultado de varios procesos geológicos, en particular el vulcanismo (Sommer-Cervantes *et al.*, 2003).

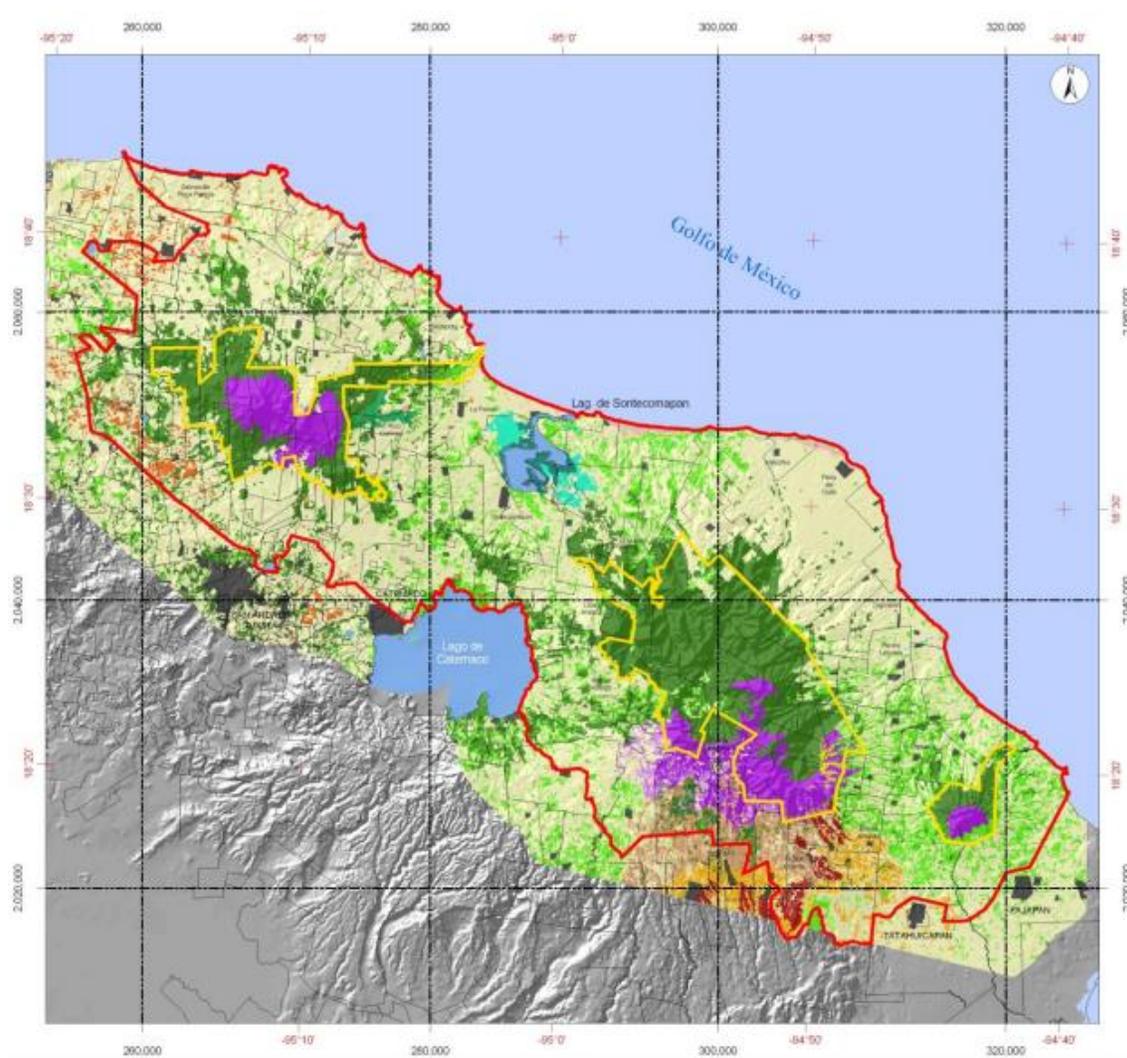


Figura 4. Reserva de la Biosfera de Los Tuxtlas, Veracruz. El color morado corresponde a bosque mesófilo de montaña, el verde oscuro corresponde a bosque tropical perennifolio, el verde claro corresponde a vegetación secundaria de bosque tropical perennifolio y el color claro que corresponde a pastizales no naturales (Tomado de la CONANP, 2011).

El clima de la región de Los Tuxtlas se considera cálido húmedo (Af (m)); la precipitación anual promedio es de 4725.2 mm anuales, siendo de 60 mm en el mes más seco. La temperatura máxima es de 32 °C, la temperatura mínima es de 16.4 °C y la temperatura promedio es de 24.3 °C (Soto y Gama, 1997). Particularmente en la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, donde se realizó éste trabajo, se registra una precipitación máxima de 5000 mm entre los meses de Agosto y Octubre, así como una temperatura máxima de 32 °C y una temperatura mínima de 20 °C en el mes de Enero (Figura 5).

Estación de Biología Tropical, Los Tuxtlas 1996-2015

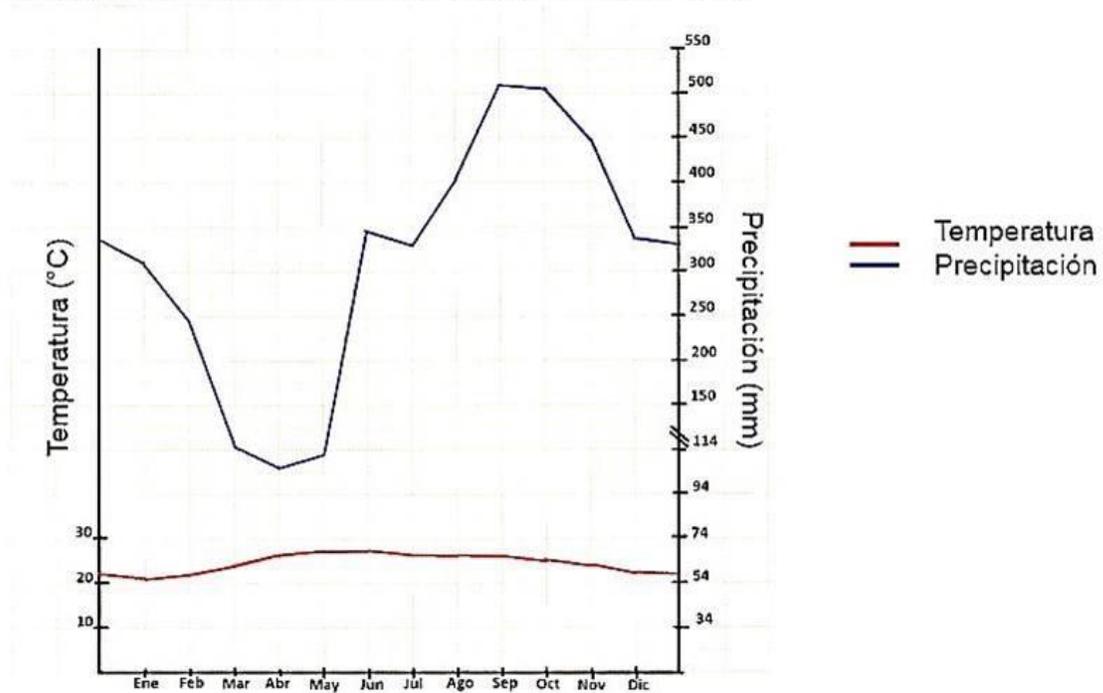


Figura 5. Climograma realizado con los datos de clima registrados en la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, se puede apreciar que existe una estacionalidad marcada a lo largo del año (Tomado de Baleón, en proceso).

La deforestación en Los Tuxtlas es una amenaza grave, ya que la cubierta forestal, actualmente, se ha reducido a fragmentos de vegetación natural (Dirzo y García, 1992). En el caso de Los Tuxtlas, el paisaje está formado por fragmentos o parches de selva, de acahuales, cultivos y extensiones continuas de potreros (Guevara, 1995); la cobertura forestal de la reserva se redujo de 46.38% en 2007 a 45.79% en 2011 (70,996 h), en tanto que los pastizales, cultivos, asentamientos humanos y suelos sin vegetación sumaron 82,145 h, que equivalen al 53% del territorio decretado como Reserva. En el periodo 2007-2011 hubo una pérdida de cubierta forestal de 928 hectáreas. La tasa de deforestación estimada para este periodo fue de 0.32 % por año, con una pérdida de 232 hectáreas promedio por año (CONANP, 2011).

4.2. Vegetación

El tipo de vegetación original de la región es la selva tropical perennifolia, aunque también se encuentran zonas con bosque mesófilo de montaña, dunas costeras y manglares (CONANP, 2011) que se encuentran mezclados con remanentes y parches en distintos estados sucesionales, producto de los diversos cambios de uso de suelo en la región. Las zonas no perturbadas están compuestas por distintos tipos de formas de crecimiento; desde arbustos, palmas y lianas, hasta árboles de gran tamaño que alcanzan de 30 a 40 m de altura y cuentan con contrafuertes amplios. La diversidad de especies herbáceas es la más alta (30%), seguida de especies trepadoras (19%), arbustivas (18%), árboles (17%) y epífitas (16%) (Ibarra y Sinaca, 1997).

En las zonas que han sufrido cambio de uso de suelo, por lo general para ser utilizadas como potreros o siembra de árboles o arbustos frutales, se han introducido especies de pastos exóticos como *Cynodon plectostachyus*; aunque, también hay zonas con pastos nativos como *Cynodon dactylon* (Castillo-Campos y Laborde, 2004). Por otro lado, algunas de las especies que se pueden encontrar durante las sucesiones en etapas tempranas se encuentran *Trema micrantha* y *Astrocaryum mexicanum*; entre las especies que se pueden encontrar tarde durante una sucesión están *Nectandra ambigens*, *Brosimum alicastrum*, y *Pseudolmedia glabrata*, entre otros (Pennington y Sarukhan, 2005).

Actualmente, en la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas, la vegetación original remanente, que incluye diferentes tipos de vegetación, ocupa el 17.2%, los acahuales y cultivos representan el 8.7%, y el 74% restante representa potreros y asentamientos urbanos (Castillo-Campos y Laborde, 2004).

4.3. Suelo

En la Reserva de la Biosfera existe una gran diversidad de suelos, debido a las características de la región; predominan los suelos de origen volcánico, siendo de basalto, andesitas, y cenizas volcánicas, afectadas por el clima de la región, el tiempo de formación, y los distintos tipos de vegetación que se encuentran en la zona (Flores-Delgadillo *et al.*, 1999).

Los tipos de suelo que se pueden encontrar en la región son acrisoles (34.2%), andosoles (21%), feozems (18%) y vertisoles (13%) (Campos, 2004); en la estación los suelos que predominan son los andosoles. Se sabe que los sitios estudiados en este trabajo tienen variabilidad estacional ya que los nutrientes se presentan en diferente concentración dependiendo de la temporada (Tabla 1), además, los sitios también presentan variabilidad textural (Tabla 2).

Tabla 1. Propiedades físico-químicas ($\bar{x} \pm EE$) del suelo de los sitios de estudio. Los promedios son de los cinco sitios de selva y de acahual (modificado de Acevedo, en preparación).

Promedio por temporada					
Lluvias 2014	Selva	Acahual	Secas 2015	Selva	Acahual
pH (H ₂ O)	6.09 ± 0.10	5.79 ± 0.08	pH (H ₂ O)	5.99 ± 0.09	5.36 ± 0.05
%C	4.02 ± 0.15	3.70 ± 0.34	%C	4.65 ± 0.27	3.49 ± 0.15
%MO	6.92 ± 0.38	3.70 ± 0.45	%MO	7.77 ± 0.58	5.92 ± 0.30
%N	0.38 ± 0.06	0.31 ± 0.02	%N	0.41 ± 0.03	0.32 ± 0.01
Nitrato (mg kg ⁻¹)	15.32 ± 1.69	1.72 ± 0.71	Nitrato (mg kg ⁻¹)	13.75 ± 0.70	9.19 ± 0.68
Amonio (mg kg ⁻¹)	27.80 ± 1.46	22.47 ± 1.77	Amonio (mg kg ⁻¹)	28.29 ± 2.07	23.26 ± 2.09

Tabla 2. Clasificación textural del suelo en dos usos de suelo, selva y acahual, analizados (Acevedo, en preparación).

Uso de suelo	% arena	% limo	% arcilla	Clasificación textural
Selva	24	31	45	Arcillosa
acahual	35	27	38	franco arcillosa

4.4. Muestreo de suelo para la extracción de micelio

Se tomaron muestras de suelo de 5 sitios de acahual (Figura 6) y 5 sitios de selva (Figura 7); en los sitios se tomaron 5 muestras de 1 kg al azar en un cuadrante de 30 por 35 metros, retirando la hojarasca, y tomando los primeros 20 centímetros desde la superficie del suelo. Esto se realizó durante la temporada de lluvias del 2014 (10 al 14 de agosto) y la temporada de secas del 2015 (6 al 12 de abril).



Figura 6. El sitio de acahual de 5 años del cual se tomaron las muestras de suelo; la comunidad vegetal está compuesta por plantas como lianas y palmas, que permiten una gran entrada de luz.



Figura 7. Un sitio de selva del cual se tomaron muestras de suelo; la comunidad vegetal presenta árboles de gran tamaño, que permiten que poca luz llegue al suelo.

Los 5 sitios de selva son caracterizados por presentar un buen grado de preservación, y se consideran sitios con el ecosistema original; por otro lado, los sitios de bosque secundario fueron utilizados como potreros o zonas de cultivo; estos presentan diferentes edades y estados sucesionales. El bosque secundario más joven, denominado FCO, es de 5 años de edad, seguido por EVA, de 18 años, TEP, de 24 años, ALE, de 27 años, y DARWIN de 50 años; todos los sitios se encuentran dentro o alrededor de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas (Figura 8).

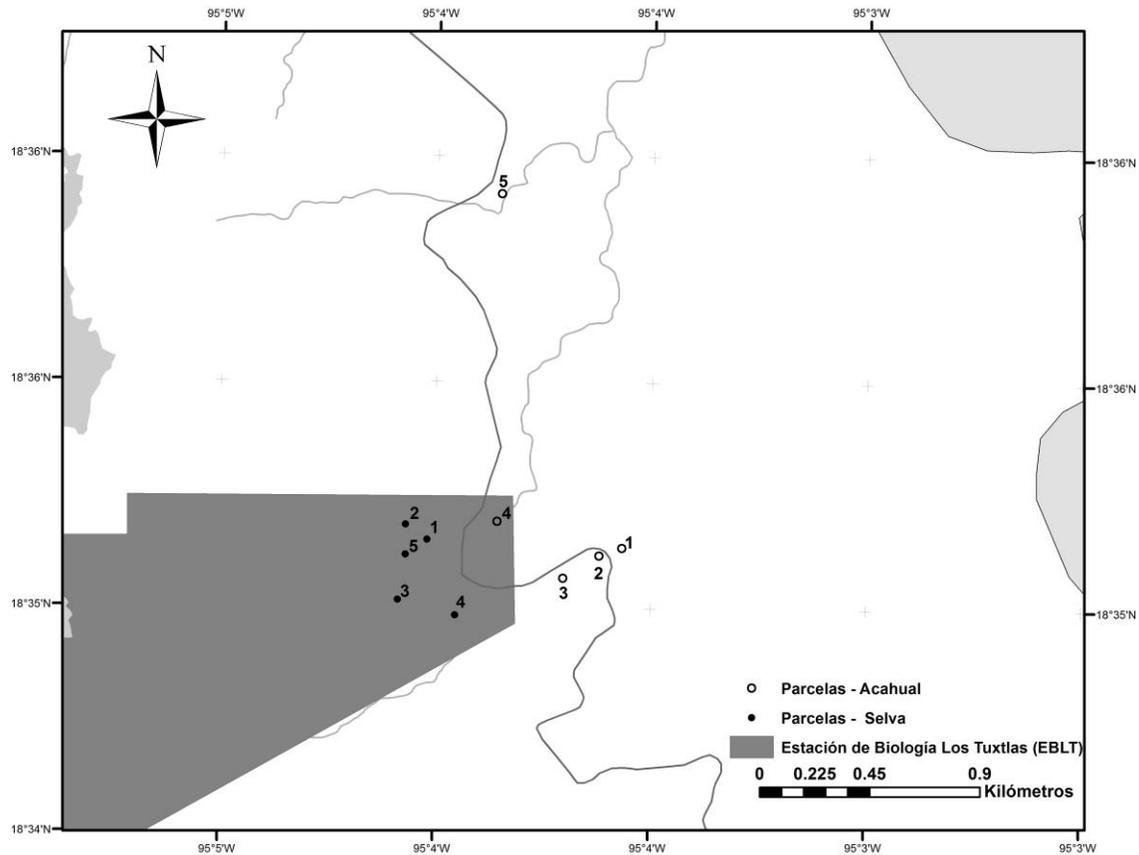


Figura 8. Ubicación de la zona de estudio, se observa la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, del Instituto de Biología de la UNAM (18°35'6.70"N, 95° 4'28.89"W), la colecta de muestras se realizó en los sitios circundantes a la estación: los sitios de selva están representados por puntos negros, mientras que los sitios de acahual están representados por puntos blancos. El acahual 1 corresponde al sitio FCO, el 2 corresponde a EVA, el 3 corresponde a TEP, el 4 corresponde a DARWIN y el 5 corresponde a ALE.

Para la colecta de las muestras, se utilizaron nucleadores manuales de 20 cm de largo por 15 cm de diámetro, colocando las muestras en contenedores de plástico marcados para su posterior pre-procesamiento y separación con ayuda de tamices en el laboratorio de la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas (EBTROLOTU) (Figura 8), separando 40 gramos de suelo por punto. Las muestras se mantuvieron en refrigeración hasta el regreso a la Facultad de Ciencias, UNAM, en la Ciudad de México (CDMX).

4.5. Análisis de desempeño de los hongos micorrizógenos arbusculares HMA

La extracción de micelio se realizó con la técnica de Miller y Jastrow modificada por Jasso (2010), y Sánchez-Praeger (2010) (Anexo 1). Una vez obtenidas las muestras de micelio extraído del suelo, se observó bajo el microscopio óptico y se realizó un conteo de hifas en las intersecciones de la matriz impresa en las membranas de nitrocelulosa, de acuerdo a la técnica de Jacobsen (1998) (Anexo 2).

Para medir la colonización intrarradical, se realizó la técnica de tinción de micelio con el procedimiento de Phillips y Hayman (1970) (Anexo 3).

4.6. Análisis Estadístico

Utilizando la prueba de Shapiro-Wilk, se determinó que tanto los datos de Longitud de micelio (TL) y Colonización intrarradical (CI) fueron normales. Posteriormente, se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías para determinar si existían diferencias significativas en la producción de micelio y en la colonización intrarradical, considerando la temporada y el uso de suelo como factores de variación.

Cuando se prestaron diferencias significativas debidas a un factor o a la interacción de factores, se aplicó una Prueba *post hoc* de Tuckey ($p \leq 0.05$), con el fin de identificar cuál o cuáles tratamientos eran diferentes.

También se realizaron correlaciones con la Prueba de Spearman entre la producción de micelio y colonización intrarradical con pH, carbono disponible, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, nitratos (N-NO₃) y amonio (N-NH₄), durante lluvias o secas, en los distintos usos de suelo, considerando de manera separada las temporadas.

Para analizar cuales factores son los que explican la Longitud de micelio y la Colonización intrarradical, se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA por sus siglas en inglés) para la temporada de lluvias y la temporada de secas por separado, considerando pH, carbono, nitrógeno, nitrato (N-NO₃), amonio (N-NH₄), y la temperatura (T).

Para todos los análisis, se utilizó el programa STATISTICA versión 8.0

5. Resultados

5.1. Producción de micelio

El Análisis del ANOVA mostraron que la producción de micelio es significativamente más alta en la temporada de secas que en la de lluvias ($F_{9, 80} = 40.5$; $p \leq 0.001$) (Figura 9). Imágenes del micelio extrarradical teñido con azul de tripano se pueden observar en el anexo 6.

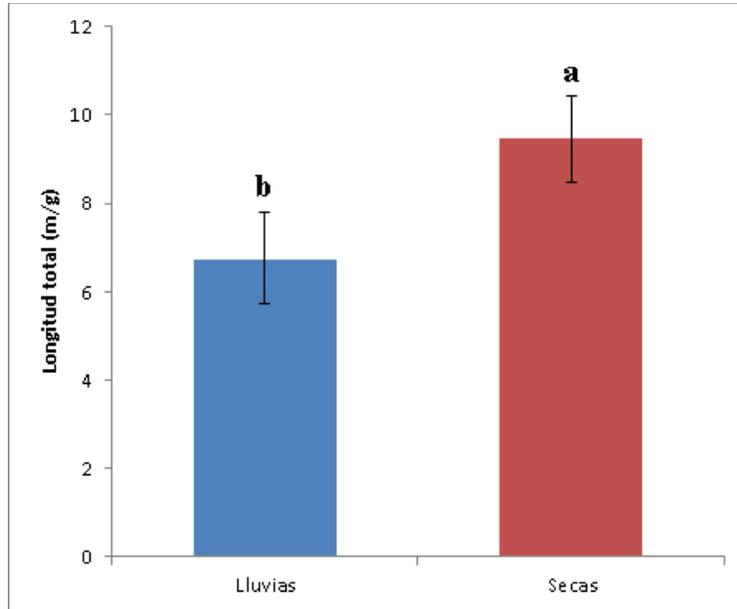


Figura 9. Producción total ($\bar{x} \pm EE$) de micelio por temporada. De acuerdo a la Prueba de Tuckey, letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

El ANOVA mostró que existen diferencias significativas en la interacción sitio-temporada ($F_{9, 80} = 2.28$; $p \leq 0.03$) (Figura 10); siendo diferentes estadísticamente el acahual de 5 años en la temporada de lluvias y el acahual de 50 años de edad en la temporada de secas; también mostró que no existen diferencias significativas entre los sitios de selva 2, 3, 5, y el sitio de acahual de 18 años (EVA) durante la temporada de lluvias, y son diferentes al acahual de 50 años durante la temporada de secas.

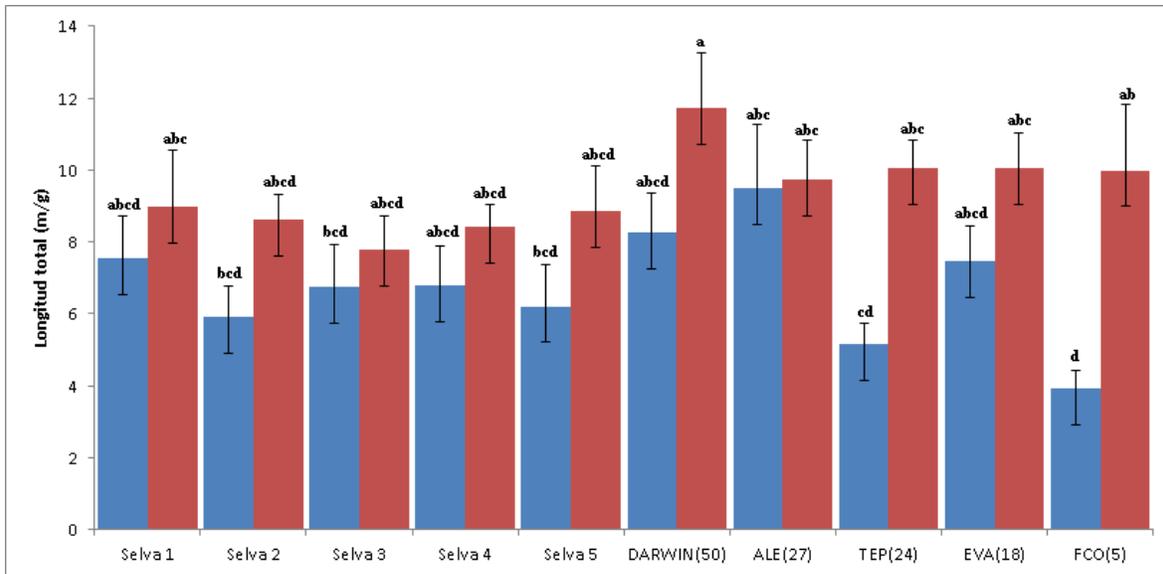


Figura 10. Producción total ($\bar{x} \pm EE$) de micelio en los diferentes usos de suelo, en las dos temporadas (la temporada de lluvias se presenta en azul, y la temporada de secas en rojo). De acuerdo la Prueba de Tuckey, letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

5.2. Colonización intrarradical

El ANOVA mostró que no hay diferencias significativas entre temporadas en la colonización intrarradical ($F_{1, 98} = 0.003$; $p \leq 0.95$) (Figura 11). Algunas imágenes de estructuras intrarradicales se pueden observar en el anexo 6.

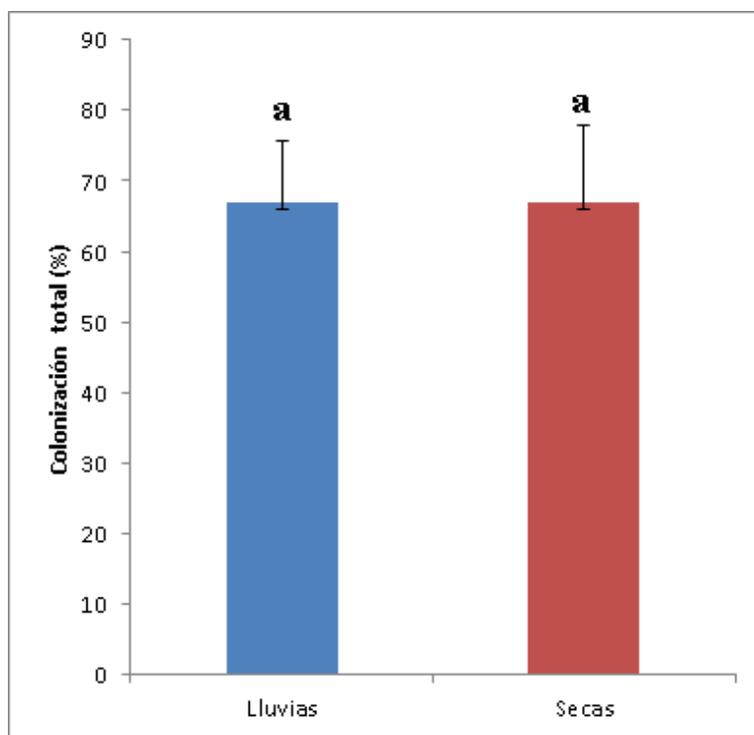


Figura 11. Porcentaje de colonización intrarradical total ($\bar{x} \pm EE$) en ambas temporadas; de acuerdo a la prueba de Tuckey, letras iguales indican que no hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

5.3. Correlaciones

Los análisis de correlación mostraron que la longitud del micelio está correlacionada positivamente con la concentración de materia orgánica ($r=0.571$; $p \leq 0.008$), carbono disponible ($r=0.589$; $p \leq 0.006$) y el amonio ($N-NH_4$) ($r=0.476$; $p \leq 0.033$), durante la temporada de lluvias. No se encontraron correlaciones significativas en la temporada de secas para la longitud del micelio.

Asimismo, no se encontraron correlaciones entre las propiedades físico-químicas (como son el pH, carbono, nitrógeno, fósforo, nitrato y amonio) del suelo y la colonización intrarradical, ni en la temporada de lluvias, ni en la de secas.

5.4. Análisis multivariado

Temporada de lluvias

El análisis de componentes principales (ACP) mostró que, en la longitud de micelio, los primeros dos factores del análisis explicaron en 79.62% la variación (Tabla 3A); las variables que explicaron en mayor proporción la variación de los datos fueron el carbono y el amonio ($N-NH_4$) (Figura 12).

Para la colonización intrarradical, los primeros dos factores del análisis explicaron en 81.86% la variación (Tabla 3B); las variables que explicaron en mayor proporción la variación de los datos fueron el carbono, el nitrógeno, y el amonio (N-NH₄) (Figura 13).

Tabla 3. Autovalores, porcentaje acumulado, y autovectores para la Longitud de micelio y la Colonización intrarradical durante la temporada de lluvias; los componentes principales (CP) son los que mejor explican la variación.

A) Longitud de micelio - Lluvias			
		CP1	CP2
Autovalores		4.02	1.55
% acumulado		57.46	79.62
Autovectores			
TL			
pH		8.389	
C		12.469	
N		11.756	
N-NO ₃		6.746	
N-NH ₄		12.475	
T			10.553
B) Colonización intrarradical - Lluvias			
		CP1	CP2
Autovalores		3.94	1.78
% acumulado		56.37	81.86
Autovectores			
Cl			7.927
pH		8.309	
C		11.984	
N		11.122	
N-NO ₃		7.198	
N-NH ₄		13.027	
T			13.199

El análisis de componentes principales (APC) agrupó sitios de selva y acahual en la temporada de lluvias, lo que muestra que la producción de micelio (Figura 12) y la colonización intrarradical (Figura 13) no dependen totalmente del sitio. Sin embargo, existen sitios completamente distintos a los demás, como la selva 1 (S1), y el acahual de 27 años (ALE).

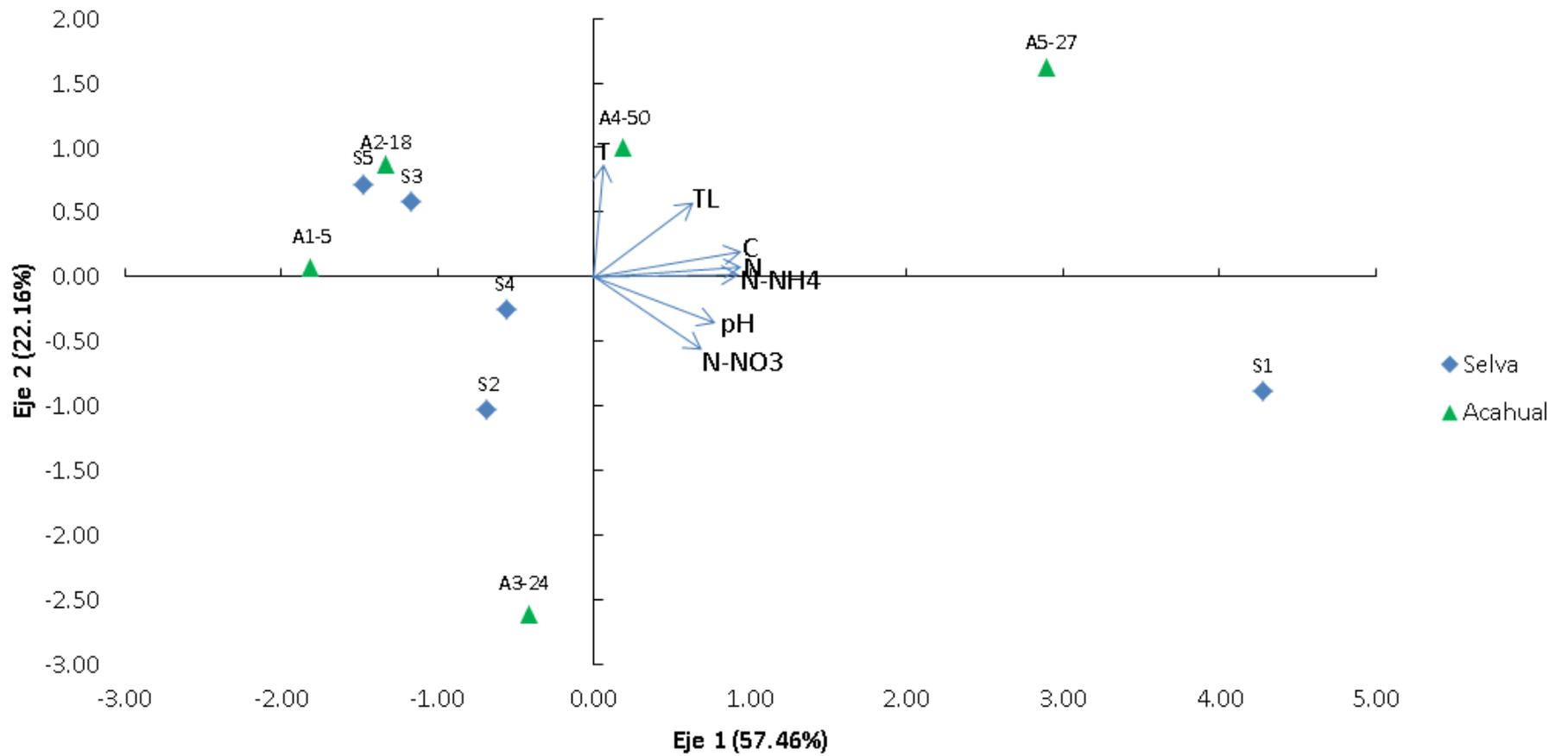


Figura 12. Resultados del análisis de componentes principales (ACP) para las propiedades del suelo, la temperatura y la Longitud del micelio en la temporada de lluvias.

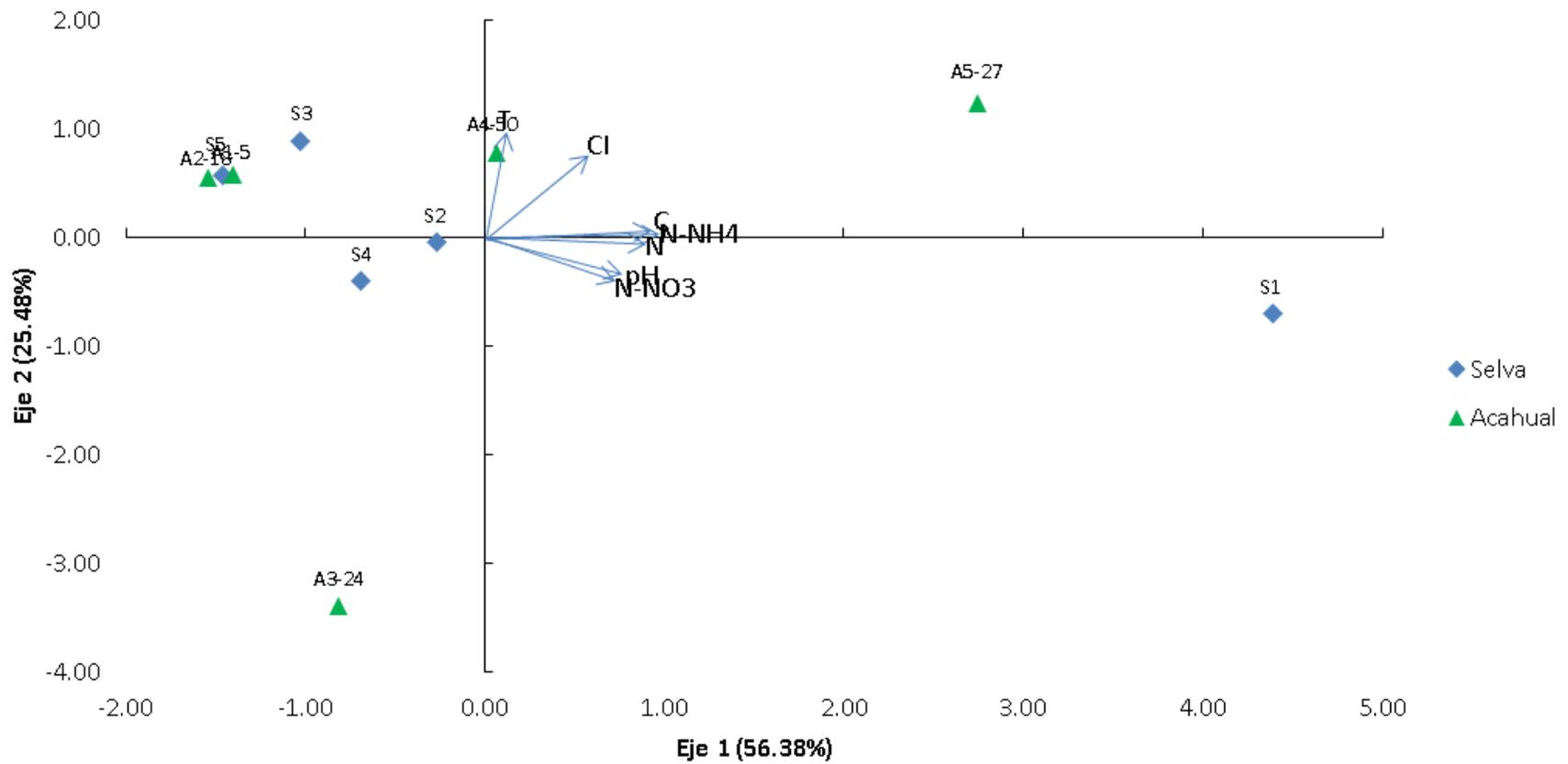


Figura 13. Resultados del análisis de componentes principales (ACP) para las propiedades del suelo, la temperatura, y la Colonización intrarradical en la temporada de lluvias

Temporada de secas

El análisis de componentes principales (ACP) mostró que, en la Longitud de micelio, los primeros tres factores del análisis explicaron en 85.32% la variación (Tabla 4A); las variables que explicaron en mayor proporción la variación de los datos fueron el carbono, el nitrógeno y los nitrato (N-NO₃); el amonio (N-NH₄) tiene una contribución negativa (Figura 14). Para la Colonización intrarradical, los primeros dos factores del análisis explicaron en 84.82% la variación (Tabla 4B); las variables que explicaron en mayor proporción la variación de los datos fueron el carbono, el nitrógeno y nitratos (N-NO₃); el amonio (N-NH₄) tiene una contribución negativa (Figura 15).

Tabla 4. Autovalores, porcentaje acumulado, y Autovectores para la Longitud de micelio y la Colonización intrarradical durante la temporada de secas; los componentes principales (CP) son los que mejor explican la variación.

A) Longitud de micelio - secas				
	CP1	CP2	CP3	
Autovalores	3.02	1.83	1.11	
% acumulado	43.24	69.44	85.32	
Autovectores				
TL		12.204		
pH				-9.8059
C	13.564			
N	13.647			
N-NO ₃	10.114			
N-NH ₄		7.315		
T				
B) Colonización intrarradical - secas				
	CP1	CP2	CP3	
Autovalores	3.07	1.85	1	
% acumulado	43.97	70.45	84.82	
Autovectores				
Cl		-10.74682		
pH		6.755144		
C	13.432835			
N	13.657082			
N-NO ₃	10.165864			
N-NH ₄				-7.113944
T		7.27925		

El análisis de componentes principales (APC) agrupó sitios de selva y acahual en la temporada de secas, lo que muestra que la producción de micelio (Figura 14) y la Colonización intrarradical (Figura 15) no depende totalmente del sitio. Sin embargo, el acahual de 27 años (ALE), quedó separado de otros sitios.

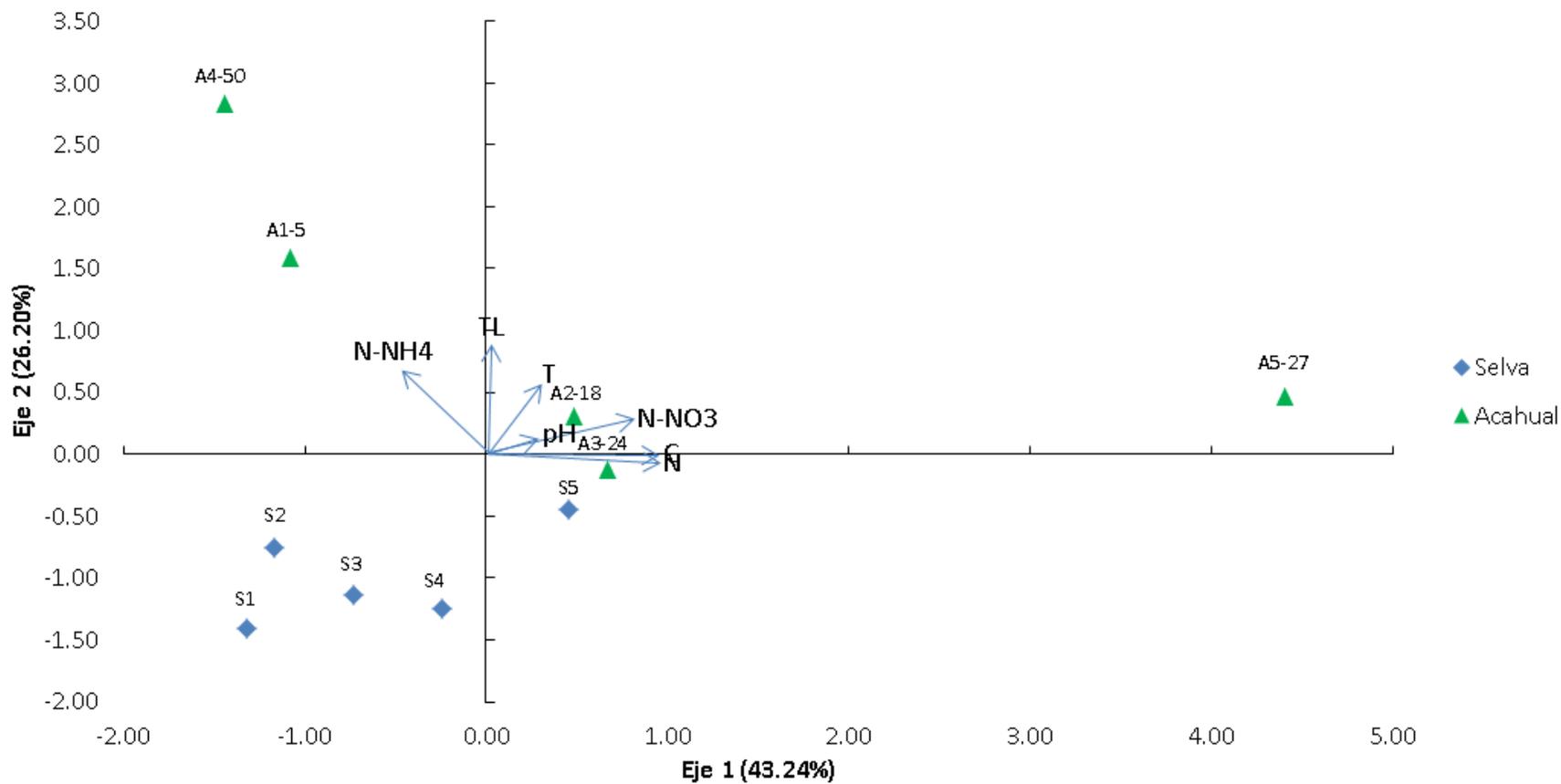


Figura 14. Resultados del análisis de componentes principales (ACP) para las propiedades del suelo, la temperatura y la Longitud del micelio en la temporada de secas.

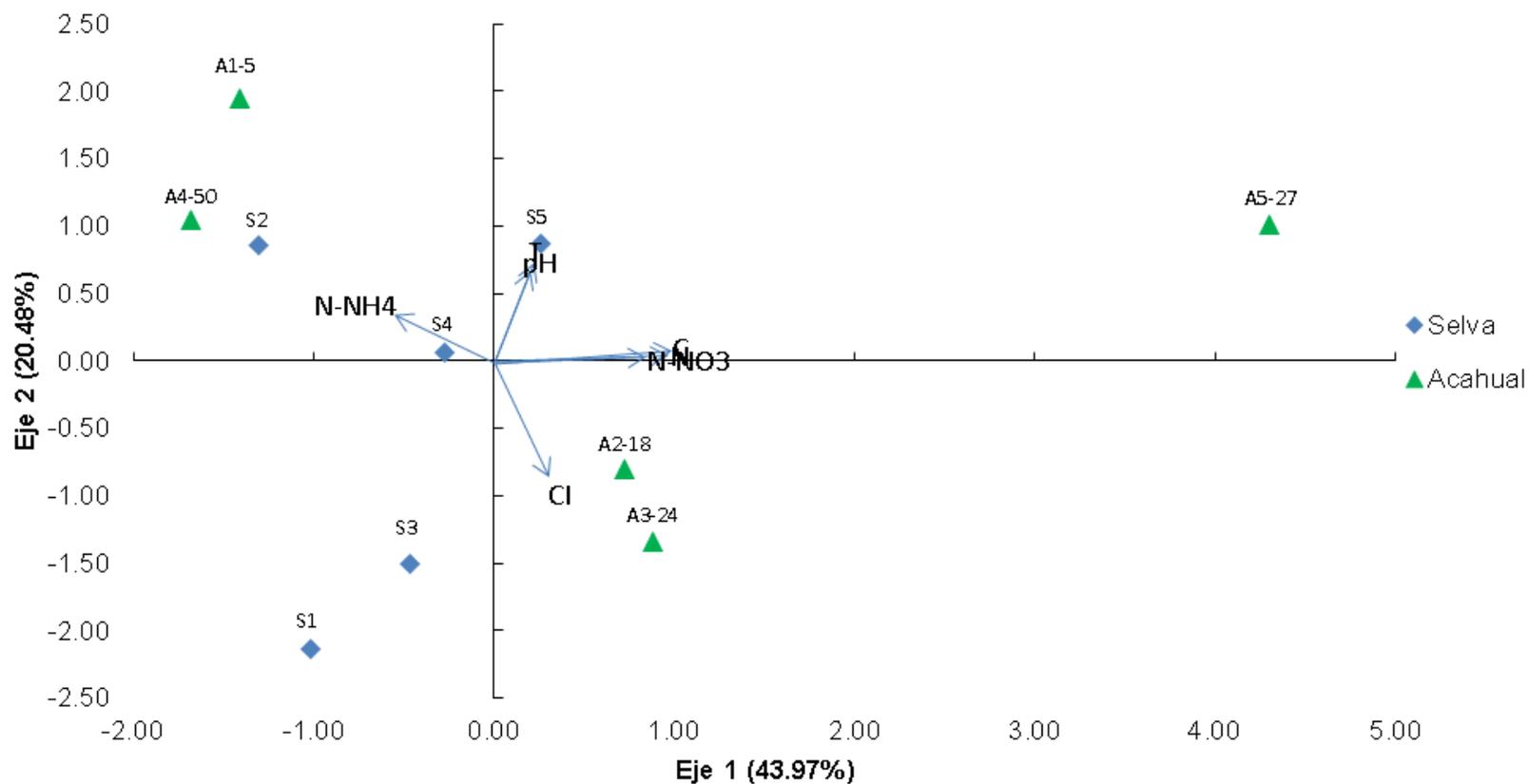


Figura 15. Resultados del análisis de componentes principales (ACP) para las propiedades del suelo, la temperatura, y la Colonización intrarradical en la temporada de secas.

6. Discusión

6.1. Variación estacional en la producción de micelio de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

Nuestra primera hipótesis se cumplió parcialmente, ya que la estacionalidad de la precipitación parece tener un efecto importante en la producción de micelio, ya que las diferencias significativas encontradas indican que los cambios que ocurren en el medio entre temporadas, causan que la funcionalidad de los HMA durante la temporada de lluvias disminuya; sin embargo, la colonización intrarradical parece no verse afectada por la estacionalidad, lo cual se observa en la falta de diferencias significativas entre temporadas.

El principal cambio entre temporadas, en la zona de estudio, es la precipitación; hay estudios que indican que el exceso de humedad en el suelo es perjudicial para la relación simbiótica (Lodge, 1989; Entry *et al.*, 2002); mientras que la respuesta ante estrés hídrico moderado parece favorecer la relación simbiótica, al incrementar la absorción de agua a través de las hifas (Al-Karaki y Al-Raddad, 1997; Davies *et al.*, 1993). Los HMA pueden afectar la funcionalidad de la planta huésped en condiciones de humedad anormalmente bajas o altas (Augé, 2000). En este estudio, se puede apreciar que la producción de micelio durante la temporada de lluvias fue menor a la de secas, esto se puede deber al aumento de humedad que ocurre durante la temporada de lluvias; Augé (2000) encontró que el exceso de agua en el suelo podría causar condiciones de anoxia que provocarían respuestas de estrés en el hongo, lo que causa un decremento en la producción de micelio. Otro cambio que ocasiona el aumento en la precipitación es que la tasa de descomposición de la materia orgánica incrementa (Barajas y Álvarez Sánchez, 2003); además, hay una mayor lixiviación de nutrientes como el nitrógeno (Sexton *et al.*, 1998; Andersson y Saetre, 2000).

Otro factor, cuya variación está relacionada con la estacionalidad, es la temperatura; los HMA forman interacciones en temperaturas que van de los 18 hasta los 40 °C, siendo 30 °C la temperatura óptima (Schenck y Smith 1982). Los efectos de la temperatura están relacionados con la fotosíntesis del huésped, lo cual incrementa la transferencia de carbono al hongo (Rillig *et al.*, 2002) y las tasas de transpiración en el sistema radicular, cambiando la dependencia del huésped o incrementando la competencia por nitrógeno con otras especies que forman relaciones con las plantas, como las bacterias (Zhang *et al.*, 1995). En los sitios estudiados, se puede registrar una variación de hasta siete grados centígrados (Acevedo, en preparación), es posible que la temperatura esté afectando las interacciones en la temporada de lluvias, ya que, en algunos casos, se registran temperaturas menores al rango de temperatura óptimo mencionado por Schenck y Smith (1982).

Sin embargo, la Colonización intrarradical se mantiene igual entre temporadas, por lo que en este caso la hipótesis no se cumplió. En otros estudios realizados en Los Tuxtlas, Veracruz (Jasso, 2010; Ysunza 2012), se ha mencionado que la Colonización intrarradical tiene variaciones significativas con base al aumento de la temperatura, durante la temporada de secas; sin embargo, Cruz-Paredes (2013) también mencionó que la Colonización intrarradical se incrementa debido a la humedad en el suelo, durante la temporada de lluvias. En el caso de este estudio, la ausencia de cambios en la Colonización intrarradical entre las temporadas climáticas, podría explicarse, más bien, por las propiedades del suelo, como se menciona más adelante, y no por el microclima.

6.2. Relación entre las propiedades físico-químicas del suelo y el uso del suelo con la producción de micelio de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

Los sitios con bosques secundarios (acahual) que se compararon con las selvas, fueron utilizados principalmente para cultivos antes de ser abandonados. La adición de fertilizantes y residuos orgánicos ocasionan cambios en el medio que modifican el resultado de la interacción entre los HMA y las plantas (Carrenho *et al.* 2007), ya que los suelos con una fertilidad baja limitan el desarrollo de la planta e incrementan su dependencia a la interacción con los HMA (Siqueira y Saggin, 1995). Por otro lado, en suelos con fertilidad alta ocurre lo opuesto, ya que las plantas limitan el desarrollo en los sistemas radiculares y su dependencia a los HMA disminuye, ya que la planta tiene mayor facilidad para absorber nutrientes (Sánchez y Salinas 1981). Acevedo (en preparación) demostró que las propiedades físico-químicas se modifican de acuerdo al uso del suelo; sin embargo, para sitios de selva y bosques secundarios, comprobó que estos presentan microclimas semejantes (en términos de humedad relativa, y temperatura), así como propiedades físico-químicas (Textura, pH, materia orgánica, carbono total), siendo el nitrato (N-NO₃) y el amonio (N-NH₄) aquellos compuestos que presentaron diferencias entre selvas y bosques secundarios.

La producción de micelio y la colonización intrarradical están relacionadas con las propiedades físico-químicas del suelo (Hayman, 1982; Johnson, 2010), ya que la proporción en la cual se encuentran diversos nutrientes en el suelo puede ser determinante para la forma en la cual se lleva a cabo la interacción entre el hongo y la planta (Fritter, 2006). La concentración de fósforo en el suelo es muy importante para la relación mutualista, ya que determina la dependencia de la planta, y la utilidad del hongo para el huésped (Johnson, 2010). En los sitios estudiados, los niveles de fósforo fueron extremadamente bajos (Acevedo, en preparación), por lo que no fueron considerados para las pruebas estadísticas realizadas en este estudio; sin embargo, se puede argumentar que los bajos niveles de fósforo causan que la dependencia de la planta a los HMA incremente, ya que los suelos con baja fertilidad favorecen la interacción (Siqueira y Saggin, 1995); esto puede hacer que el hongo asigne más recursos a la producción de micelio para lograr

absorber el fósforo de forma más eficiente (Carrenho *et al.*, 2007). Los resultados concuerdan con un análisis realizado por Treseder (2004), quien reportó que cuando se presentan altos niveles de fósforo, la biomasa de los HMA en el suelo disminuye.

Los resultados de las correlaciones de este estudio no coinciden con los resultados de Cruz-Paredes (2013) ni con los de Cortés-Tello (2015) en torno a la funcionalidad de los HMA en sitios similares a los de selva estudiados en este trabajo, ya que no se encontraron correlaciones negativas en la longitud de micelio con el nitrógeno total ni los nitratos como fue en su caso; por el contrario, se encontraron correlaciones positivas con el amonio en la temporada de lluvias. En los resultados del ACP se observa que, en todos los casos, en el componente principal uno son el amonio y el nitrato los que explican la mayor parte de la variación. Por otra parte, el ACP también nos mostró que entre temporadas, la proporción de la variación explicada por propiedades físico-químicas, (en particular el pH, y el amonio) y la funcionalidad de los HMA cambia. En el caso de la temporada de lluvias, son el amonio, carbono y nitrógeno total de las variables que mejor explican la variación de los datos, mientras que en la temporada se secas fueron el nitrato, nitrógeno total y el carbono.

Otro factor que afecta a los HMA es el pH, que tiene efectos tanto en la producción de micelio extrarradical como en la colonización intrarradical, ya que causa cambios en la disponibilidad de nutrientes y en la respuesta del hongo (Clark *et al.*, 1999; Frey y Schuepp 1993). Van Aarle (2004) realizó experimentos para medir el crecimiento de los HMA, tanto para colonización intrarradical, como para la producción de micelio extrarradical, y encontró que estos parecen tener un óptimo desempeño en un pH de seis; niveles de pH muy altos o muy bajos causan respuestas de estrés en los HMA, lo que inhibe su actividad. La falta de diferencias significativas en la colonización intrarradical se puede explicar con base en las propiedades suelo, en particular el pH, el cual se encuentra entre 5.7 y 6.5 en ambas temporadas (Acevedo, en preparación), con poca variación entre los sitios. Esto probablemente podría explicar el que en la colonización intrarradical no se observaran diferencias significativas, siendo el pH óptimo para el desarrollo de los HMA de 6, según lo reportado por Van Aarle (2002).

Por otro lado, los resultados del ACP muestran que, durante la temporada de lluvias, se observa un agrupamiento muy similar entre los distintos usos de suelo, ya sea considerando la producción de micelio o la Colonización intrarradical. Los sitios de selva y acahual quedan agrupados, a excepción del acahual de 27 años y la selva uno; es posible que esto se deba a valores altos de amonio (N-NH_4), ya que en la selva uno se reporta un valor de 65 ppm; mientras que en el acahual de 27 años se reporta un valor de 52 ppm (Acevedo, en preparación), ambos valores son altos en comparación a todos los demás sitios. En el caso de la temporada de secas se observa un patrón similar para los análisis multivariados con ambas estructuras; sin embargo, el único sitio que se separa de la agrupación es el acahual de 27 años, lo cual se podría deber a la cantidad de carbono y nitritos elevada (N-NO_3)

(10.0% y 52 ppm, respectivamente) (Acevedo, en preparación), que parecen tener con los demás sitios. Los agrupamientos indican que existe una similitud grande entre los sitios estudiados, siendo sólo dos (el sitio de selva uno, y el acahual de 27 años) los que se separaron de los demás (las selvas dos, tres, cuatro, cinco y los acahuales de 5, 18, 24 y 50 años).

Así, lo anterior demuestra que no se cumplió nuestra segunda hipótesis, es decir, los bosques secundarios no se comportaron de acuerdo a un gradiente sucesional por sus valores de longitud de micelio. Esto nos indica, una vez más que existen otros factores, además de la temporada, como los usos de suelo y las propiedades físico-químicas del suelo que están regulando la funcionalidad de los HMA y por lo tanto la producción de micelio.

Chaudhary *et al.* (2008) mencionan que las propiedades del suelo son un factor determinante en la distribución espacial de los HMA, ya que es posible que su patrón de distribución sea similar en todos los sitios, resultando en una funcionalidad similar. Además, se sabe que los HMA son responsables de muchas funciones en los ecosistemas, como, por ejemplo, un aumento en la productividad y diversidad de la comunidad vegetal, y el reciclaje de nutrientes (Newsham *et al.* 1995; van der Heijden *et al.*, 1998; Miller y Jastrow, 2000; Johnson *et al.*, 2006).

6.3. HMA en la sucesión ecológica

Se observa que hay sitios tanto de selva como de acahual que no presentan diferencias significativas entre sí, incluso entre las temporadas climáticas; así, el acahual más viejo es significativamente distinto al más joven, pero los demás no se comportaron de acuerdo a un gradiente sucesional.

Janos (1980) discute como es que los HMA tienen influencia sobre la sucesión vegetal, ya que en su trabajo menciona que las especies vegetales no dependientes son las primeras que colonizan, por lo que causan que la actividad de los HMA disminuya y se presenten en números bajos en el sitio. La baja cantidad de HMA (referida en número de esporas) en el suelo, también se puede relacionar al manejo del sitio previo a ser abandonado; en estudios realizados por Guadarrama *et al.* (2006) en un bosque seco secundario, en el estado de Oaxaca, se encontró que los propágulos mediante los cuales los HMA logran persistir tras disturbios relacionados a prácticas agrícolas, se encuentran abundantemente en los suelos, sin embargo estos no son infectivos o las especies colonizadoras no son dependientes.

No obstante, conforme avanza la sucesión, las propiedades del suelo y la comunidad vegetal cambian, las plantas que son dependientes comienzan a colonizar, y cambia la funcionalidad de estos en el ecosistema. En este estudio, se puede observar que los bosques secundarios más jóvenes presentan una cantidad menor de micelio; mientras que en los

acahuales más viejos, se puede observar que se presentan cantidades de micelio iguales o incluso mayores a los sitios conservados de selva. Entonces, pareciera ser que el esperado patrón sucesional mencionado en nuestra hipótesis, se ajusta solamente en las fases iniciales de la sucesión, y que con el paso del tiempo, adquieren mayor importancia la estequiometría del sitio, es decir, el balance entre la disponibilidad de nutrientes y su uso por la relación planta-HMA (Johnson, 2010).

Se puede mencionar que el recambio de especies vegetales observado en campo coincide con lo mencionado por Janos (1980) en relación a la comunidad vegetal y como esta se modifica a lo largo de una sucesión; a pesar de que no fue posible obtener datos de vegetación, en los bosques secundarios más jóvenes se pueden encontrar especies arbustivas, lianas o herbáceas con ciclos de vida rápidos; en contraste, en los más viejos y las selvas, se pueden encontrar especies leñosas, con ciclos de vida más lentos, además, la mayoría de las especies encontradas en los bosques secundarios más jóvenes desaparecen totalmente. Es posible que el incremento en la cantidad de micelio encontrado en los bosques secundarios de edades más avanzadas esté reflejando cambios biogeoquímicos que ocurren conforme la sucesión ecológica avanza.

El papel de los HMA en la sucesión es, posiblemente, más importante de lo que piensa, y sin embargo, muy pocos estudios los consideran (Klironomos, 2000), por lo que es importante realizar estudios en los cuales se consideren conjuntamente con las propiedades del suelo y la temporalidad (Chaudhary, 2008), como se hizo en este trabajo.

7. Conclusiones

De acuerdo a la hipótesis planteada, la estacionalidad de la precipitación debería tener un efecto importante sobre la Producción de micelio y la Colonización intrarradical, siendo la temporada de secas la más productiva para los HMA, sin embargo, los resultados indican que la estacionalidad solo afecta la Producción de micelio; el micelio se produjo en mayor cantidad durante la temporada de secas.

Por otro lado, se observó que la edad del sitio afecta el desempeño de los HMA, siendo los bosques secundarios más antiguos aquellos en los cuales se presentó una mayor cantidad de micelio, esto nos indica que la funcionalidad de los HMA posiblemente esté relacionada con las propiedades físico-químicas del suelo, más que con el estado sucesional.

Estos resultados nos demuestran la importancia del factor temporada y uso de suelo sobre el desempeño de los HMA en lo que se refiere a la producción de micelio. Se debe resaltar que para sitios de selva húmeda no existen estudios de este tipo, por lo que estos pueden ser pioneros para proyectos en el futuro que nos ayuden a comprender mejor el papel de los HMA en la dinámica de la selva.

8. Literatura Citada.

- Allen, M. F. 2001. Modeling arbuscular mycorrhizal infection: is % infection an appropriate variable. *Mycorrhiza* 10:255-258.
- Al-Karaki, G.N., y Al-Raddad, A. 1997. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on growth and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Mycorrhiza* 7, 83-88.
- Álvarez-Sánchez, J., Guadarrama, P., Sánchez-Gallen, I., y Olivera, D. 2007. Restauración de ambientes deteriorados derivados de la selva tropical húmeda: el uso de los hongos micorrizógenos arbusculares. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 80:59-68.
- Álvarez-Sánchez, J., Sánchez-Gallen, I., y Guadarrama, P., 2009. Analyses of ecophysiological traits of tropical rain forest seedlings under arbuscular mycorrhization: Implications in ecological restoration. *Soil Biology, Symbiotic Fungi*, 8: 293-305.
- Andersson, S., Nilsson, S., y Saetre, P. 2000. Leaching of dissolved organic carbon (DOC) and dissolved organic nitrogen (DON) in mor humus as affected by temperature and pH. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(1), 1-10.
- Augé, R. M. 2000. Stomatal behavior of arbuscular mycorrhizal plants. In: Kapulnik, Y., Douds, D.D. Eds., *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands 384 pp.
- Augé, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11:3-42.
- Bago, B., Azcón-Aguilar, C., Goulet, A., y Piche, Y. 1998. Branched absorbing structures (BAS): a feature of the external mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 139: 375-388.
- Balestrini, R., y Bonfante, P. 2005. The interface compartment in arbuscular mycorrhizae: a special type of plant cell wall? *Plant Biosystems*, 139: 8-15.
- Barajas-Guzmán, G., y Álvarez-Sánchez, J. 2003. The relationships between litter fauna and rates of litter decomposition in a tropical rain forest. *Applied Soil Ecology*, 24(1), 91-100.

- Bazzaz, F. A. y Pickett, S. T. A. 1980. Physiological Ecology of Tropical Succession: A Comparative Review. *Annual Review: Ecologic Systems*, 11:287-310.
- Bierregaard, R. O., Lovejoy, T. E., Kapos, V., y Hutchings, R. W. 1992. The Biological Dynamics of Tropical Rainforest Fragments. *BioScience*, 42(11).
- Bonfante, P., y Perotto, S. 1995. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytologist*, 130, pp. 3-21.
- Bourgeron, P. S. 1983. Spatial Aspects of Vegetation Structure. En: Golley. F. B., Tropical Rain Forest Ecosystems. Structure and Function. *Ecosystems of the World*. Elsevier Scientific. Pp. 29-47.
- Breugel, M. 2007. Dynamics of Secondary Forests. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.
- Brundrett, M. C., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., y Malajcuk, N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. *Canberra, Australia: ACIAR Monograph*.
- Campos, C. A. 2004. El Suelo En: S. Guevara, J. Laborde-Dovalí y G. Sánchez-Ríos, (eds.) Los Tuxtlas. El Paisaje de la Sierra. Instituto de Ecología A.C. y Unión Europea. Xalapa, Ver. Pp. 181-192.
- Carrenho, R., Trufem, S. F., Bononi, V. L., y Silva, E. S. 2007. The effect of different soil properties on arbuscular mycorrhizal colonization of peanuts, sorghum and maize. *Acta Botanica Brazil*, 21(3), 723-730.
- Castillo-Campos, G., y Laborde-Dovalí, J. 2004. La vegetación. En: S. Guevara, J. Laborde-Dovalí y G. Sánchez-Ríos, (eds.) Los Tuxtlas, El Paisaje de la Sierra. Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea, Xalapa, Ver. Pp. 121-158.
- Chaudhary, V., Lau, M. y Johnson, N. 2008. Macroecology of Microbes- Biogeography of the Glomeromycota. En: Varma, A. (Ed.). *Mycorrhiza*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 529-565.
- Clark, R., Zeto, S., y Zobel, R. 1999. Arbuscular mycorrhizal fungal isolate effectiveness on growth and root colonization of *Panicum virgatum* in acidic soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(13), 1757-1763.

- CONANP. 2011. Actualización de la Tasa de Cambio del Uso del Suelo en La Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas (Informe Final). Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, Dirección Regional Planicie Costera y Golfo de México.
- Cook, W. M., Yao, J., Foster, B. L., Holt, R. D., y Patrick, L. B. 2005. Secondary Succession in an experimentally fragmented Landscape: Community Patterns across Time and Space. Ecological Society of America. *Ecology*, 86(5), pp. 1277-1279.
- Davies, F.T. Jr., Potter, J.R., y Linderman, R.G. 1993. Drought resistance of mycorrhizal pepper plants independent of leaf P concentration response in gas exchange and water relations. *Plant Physiology* 87, 45-53.
- Denslow, J. S. 1987. Tropical Rainforest Gaps and Tree Species Diversity". *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18: 431.
- Dickinson, S. 2004. The *Arum-Paris* continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 163, Pp: 187-200.
- Entry, J. A., Rygielwicz, P. T., Watrud, L. S., y Donnelly, P. K. 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of Arbuscular mycorrhizas. *Advances in Environmental Research*, 7(1), 123-138.
- Etherington, J. R., y Bazzaz, F. A. 1997. Plants in Changing Environments. *The Journal of Ecology*, 85(6), 923.
- Flores-Delgadillo, L., Sommer-Cervantes, I., Alcalá-Martínez, J. R. y Álvarez-Sánchez, F. J. 1999. Estudio morfogenético de algunos suelos de la región de Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 16:81-88.
- Fitter, A. H. 2006. What is the link between carbon and phosphorus fluxes in arbuscular mycorrhizas? A null hypothesis for symbiotic function. *New Phytologist*, 172(1), 3-6.
- Frey, B., y Schuepp, H. 1993. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. *New Phytologist* (124), 221230.
- Gehring, C. A., y Connell, J. H. 2006. Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the tree seedlings of two Australian rain forests: occurrence, colonization, and relationships with plant performance. *Mycorrhiza* 16:89-98.

- Giovannetti, M., y Cristiana, S. 1998. Meeting a non-host: the behaviour of AM fungi. Springer-Verlag.
- Grubb, P. J. 1985. Plant population and vegetation in relation to habitat, disturbance and competition: problems of generalization. En: White, J. (Ed). *The Population Structure of Vegetation*, Pp: 595-621, Dr. W. Junk, Dordrecht, Holanda.
- Guadarrama, P., Sánchez-Gallen, I., y Álvarez-Sánchez, F. J. 1998. Ecología de hongos micorrízicos arbusculares en la selva y pastizales de Los Tuxtlas en Veracruz. En: Zulueta, R. R., Escalona A. M. A., y Trejo, A. D. (eds.) *Avances de la investigación Micorrízica en México*. Universidad Veracruzana, México. Pp: 27-45.
- Guadarrama, P., Sánchez-Gallen, I., Álvarez-Sánchez, F. J., y Ramos, J. 2004. Hongos y Plantas: Beneficios a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. *Revista Ciencias*. Facultad de Ciencias, UNAM. 73:39-45.
- Guadarrama, P., Castillo-Argüero, S., A. Ramos-Zapata J., L. Camargo-Ricalde S., y Álvarez-Sánchez J. 2006. Propagules of arbuscular mycorrhizal fungi in a secondary dry forest of Oaxaca, Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 56(1).
- Guevara, S. 1995. Connectivity: key in maintaining tropical rainforest landscape diversity: A case study in Los Tuxtlas, México. En: Halladay, P y A Glimour (Eds.) *Conserving biodiversity outside protected areas. The role of traditional agro-ecosystems. IUCN Forest Conservation Programme*. Pp. 63-94.
- Guariguata, M. R., y Ostertag, R. 2001. Neotropical secondary forest succession: changes in structural and functional characteristics. *Forest Ecology and Management*, 148(1-3), 185-206.
- Guariguata, M. R., Chazdon, R. L., Denslow, J. S., Dupuy, J. M., y Anderson, L. 1997. Structure and floristics of secondary and old-growth forest stands in lowland Costa Rica. *Plant ecology* 132:107-120.
- Guevara, S., Laborde, J., y Sánchez-Ríos, G. 2004. La fragmentación. En: S. Guevara, J. Laborde-Dovalí, y G. Sánchez-Ríos (Eds.). *Los Tuxtlas. El paisaje de la sierra*. Instituto de Ecología, A. C. y Unión Europea., Xalapa. Pp: 111-134.
- Harley, J. L., y Smith, S. E. 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic Press, New Jersey, USA.

- Hawkes, C. V., DeAngelis, K. M., y Firestone, M. K. 2007. Root interactions with soil microbial communities and processes. En: Z. G. Cardón and J. L. Whitbeck, (Eds.) *The Rhizosphere: and Ecological Perspective*. Elsevier Academic Press, London. Pp. 212.
- Hayman, D. S. 1982. Influence of soils and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72: 1119-1125.
- Hosny, M., Gianinazzi, P. V., y Duhieu, H. 1998. Nuclear DNA content of 11 fungal species in Glomales. *Genome*, 41(3), pp: 422-428.
- Ibarra-Manríquez, G., y Sinaca, S. 1997. Fanerógamas. En: E. González, R. Dirzo, and R. Vogot, (eds.) *Historia Natural de Los Tuxtlas*. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad. Instituto de Biología e Instituto de Ecología, UNAM, México, D.F. Pp.165.
- Ibekwe, V.I., Azubuike, P.I., Ezeji, E. U., y Chinakwe, E. C. 2008. Effects of Nutrient Sources and Environmental Factors on the Cultivation and Yield of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Pakistan Journal of Nutrition* 7 (2): 349-351.
- Jacquelinet-Jeanmougin, J., Gianinazzi-Pearson, V., y Gianinazzi, S. 1987. Endomycorrhizas in the Gentianaceae. En: Ultrastructural aspects of symbionts relationships in *Gentiana lutea* L. *Symbiosis*, 3, Pp.269-286.
- Janos, D. P. 1980. Mycorrhizae Influence Tropical Succession. *Biotropica*, 12(2), 56.
- Jasso, Isela. 2010. Determinación de la colonización interradsical y extraradsical de hongos micorrizógenos Arbusculares en una selva alta perennifolia. *Tesis UNAM*. 71 pp.
- Jeffries, P., y Barea, J. M. 2001. Arbuscular micorriza – a key component of sustainable plant-soil ecosystems. En: B. hock, ed. *The mycota IX*. Fungal associations. Berlin, Alemania: Springer-Verlag. Pp. 95-113.
- Johnson, N. C. 2010. Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytologist*, 185(3), 631-647.
- Johnson, N. C., Hoeksma, J. D., Bever, J. D., Chaudhary, V. B., Gehring, C., Klironomos, J., Koide, R., Miller, R.M., Moore J., Moutoglis, P., Schwarts, M., Simard, S., Swenson, W., Umbanhowar, J., Wilson, G., y Zabinski, C. 2006. From Lilliput to Brobdingnag: Extending Models of Mycorrhizal Function across Scales. *BioScience*, 56 (11), 889.

- Jordan, C. F. 1985. *Nutrient Cycling in Tropical Forest Ecosystems*. John Wiley e Hijos, Chichester.

- Kiers, E. T., Lovelock, C. E., Krueger, E. L., y Herre, E. A. 2000. Differential effects of tropical arbuscular mycorrhizal fungal inocula on root colonization and tree seedling growth: implications for tropical forest diversity. *Ecology Letters* 3: 106-113.

- Klironomos, J. N., McCune, J., Hart, M., y Neville, J. 2000. The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity. *Ecology Letters*, 3(2), 137-141.

- Laurance, W. F. 2004. Forest-climate interactions in fragmented tropical landscapes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 359:345-352.

- Leake, J., Johnson, D., Donnelly, D., Muckle, G., Boddy, B., y Read, D. 2004. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany* 82:1016-1045.

- Lodge, D. J. 1989. The influence of soil moisture and flooding on formation of VA-endo- and ectomycorrhizae in *Populus* and *Salix*. *Plant and Soil*, 117(2), 243-253.

- Lovelock, C. E., Wright, S. F., y Nichols K. A. 2004. Using glomalin as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal growth: an example from a tropical rainforest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 36:1009-1012.

- Martínez-Ramos, M., y García-Orth, X. 2007. Sucesión Ecológica y Restauración de las Selvas Húmedas. *Boletín de la Sociedad Botánica Mexicana*, 80:69-84.

- Miller R. M. y Jastrow J.D. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. En: Kapulnik Y. y Douds Jr. D.D. (Eds.). *Arbuscular Mycorrhizas: physiology and function*. Kluwer Academic Press, Dordrecht (Netherlands), pp: 9-18.

- Moreira, A., Fageria, N. K., Garcia y Garcia, A. 2011. Soil Fertility, Mineral Nitrogen, and Microbial Biomass in Upland Soils of the Central Amazon under Different Plant Covers. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 42 (6): 694–705.

- Oehl, F., Sieverding, E., Palenzuela, J., Ineichen, K., y Alves da Silva, G. 2011. Advances in *Glomeromycota* taxonomy and classification. *IMA Fungus*, 2(2), 191-199.

- Pennington, T.D., y Sarukhan J. K. 2005. *Árboles Tropicales de México*, 3ra ed. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, México D.F.

- 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. *Transactions of The British Mycological Society* 55: 158-160.

- Pickett, S. T. A., y White, P. S. 1985. Patch Dynamics: A Synthesis. En: Pickett, S. T. A., y White, P. S. (Eds.). *The Ecology of Natural Disturbance and Patch Dynamics*, Pp:371-383, Academic Press, New York.

- Pickett, S. T. A., Collins, S. L., y Armesto, J. J. 1987. A hierarchical consideration of causes and mechanisms of succession. *Vegetatio*, 69:109-114.

- Prach, K., y Pyšek, P. 1999. How do species dominating in succession differ from others? *Journal of Vegetation Science*, 10(3), 383-392.

- Read, D. J. 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47: 376-391.

- Raven, P. H. 1988. Our diminishing tropical forests. En: Wilson, E. O., *Biodiversity*. National Academy Press, Washington, DC. Pp: 119-122.

- Redecker, D., y Raab, P. 2006. Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. Institute of Botany, University of Basel, Hebelstraße.

- Rillig, M. C., Wright, S. F, Shaw, M. R., y Field, C. B. 2002. Artificial Climate warming positively affects arbuscular mycorrhizae but decreases soil aggregate water stability in annual grassland. *Oikos* 97:52-58.

- Sahney, S., y Benton, M.J. 2008. Recovery from the most profound mass extinction of all time. *Proceedings of the Royal Society: Biological* 275 (1636): 759–65.

- Sánchez Gallen I. 2011. Análisis de la comunidad de plántulas, en relación con la de Hongos Micorrizógenos Arbusculares en fragmentos de vegetación remanente en una selva húmeda. Tesis de doctorado en ciencias. Facultad de ciencias, UNAM, CDMX.

- Sánchez, P.A. y Salinas, J.G. 1981. Low-input technology for managing oxisols and ultisols in tropical America. *Advances in Agronomy* 34: 279-406.

- Schenck, N.C., y Smith, G.S. 1982. Responses of six species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and their effects on soybean at four soil temperatures. *New Phytologist* 92, 193-201.

- Schüßler A., Schwarzott, D., y Walker C. 2001. A new fungal phylum, The *Glomeromycota*: Phylogeny and Evolution. *Mycological Research* 105:1413-1421

- Segun, G. J., y Olusegun, R. A. 2011. Effect of Environmental and Nutritional Factors on Mycelial Biomass Yield of Ten Wild Nigerian Mushrooms During Cellulase and Amylase Production. Department of Botany and Microbiology, University of Ibadan, Ibadan. Nigeria.

- Serrada-Hierro, R. 2003. Regeneración Natural: situaciones, Concepto, Factores y Evaluación. Universidad Politécnica de Madrid, España.

- Sexton, B., Moncrief, J., Rosen, C., Gupta, S., y Cheng, H. 1998. Optimizing Nitrogen and Irrigation Inputs for Corn Based on Nitrate Leaching and Yield on a Coarse-Textured Soil. *Journal of Environment Quality*, 27(1), 247

- Sikes, B. A. 2010. When do arbuscular mycorrhizal fungi protect plant roots from pathogens? Department of Integrative Biology; University of Guelph; Guelph, Ontario, Canada.

- Simard, S. y Durall, D. 2004. Mycorrhizal Networks: a review of their extent, function, and importance. *Journal of Botany*, 82: 1140-1165.

- Siqueira, J.O. y Saggin-Júnior, O.J. 1995. The importance of mycorrhizal association in natural low-fertility soils. Pp:240-280. En: Anais do Simpósio Internacional sobre Estresse Ambiental. Belo Horizonte 1992: EMBRAPA/ CNPMS, Sete Lagoas.

- Smith, S. E. y Read, D. J. 2008. Mycorrhizal symbiosis (tercera edición). *Academic press, London*.

- Smith, F. A., y Smith, S. E. 1990. Solute transport at the interface: ecological implications. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 28: 475-478.

- Smith, F. A., y Smith, S. E. 1997. Structural diversity in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 137, p Pp: 373-388.

- Smith, S. E., y Smith, F. A. 2011. Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales. *Annual Review of Plant Biology*, 62:227-50.
- Sommer-Cervantes, I., Flores-Delgadillo, L., y Gutiérrez-Ruiz, M. 2003. Caracterización de los suelos en la estación de biología tropical Los Tuxtlas. Instituto de Biología y Facultad de ciencias, UNAM. *Ecología del Suelo en la Selva Tropical Húmeda*, Pp: 19-48.
- Soto M., y Gama L. 1997. *Historia natural de Los Tuxtlas*. UNAM.
- Stürmer S. L., y Siqueira J. O. 2011. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza*, 21 (4) p. 225-267.
- Spain, J. L., Sieverding, E., Oehl, F. 2006. *Appendicispora*, a new genus in the arbuscular mycorrhizal-forming *Glomeromycetes*, with a discussion of the genus *Archaeospora*. *Mycotaxon* 97: 163-182.
- Trappe, J. M. 1987. Phylogenetic and ecological aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. En: Safir, G. R. (ed) *Ecophysiology of VA mycorrhizal plants*. CRC Press, Boca Raton, Fla. Pp 5-25.
- Uhl, C. 1987. Factors controlling succession following slash-and-burn agriculture in Amazonia. *Journal of Ecology* 75:377-407.
- Varela, L., D. Trejo, F.J. Álvarez-Sánchez, I. Barois, E. Amora-Lazcano, P. Guadarrama, L. Lara, D. Olivera, I. Sánchez-Gallén, W. Sangabriel, y R. Zulueta. 2009. Land use and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Mexican tropical ecosystems: preliminary results. Pp:99-112. En: *Below-Ground Biodiversity in Sierra de Santa Marta, Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico*, Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México
- Wardle, D. A. 2004. Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota. *Science* 304(5677), 1629-1633.
- Walker, L. R., y del Moral, R. 2011. Primary Succession. En: eLS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- Wright, S. J. 2005. Tropical forests in a changing environment. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(10), 553-560.

- Van Aarle, I. M., Olsson, P. A., y Soderstrom, B. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to the substrate pH of their extraradical mycelium by altered growth and root colonization. *New Phytologist*, 155(1), 173-182.
- Van der Heijden, G. A., Klironomos, J. N., Ursic, M., Moutoglis, P., Engel, R. S., Boller, T., Wiemken, A., y Sanders, I. A. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396, 69-72.
- Vogelsang, K. M., Reynolds, H. L., y Bever, J. D. 2006. Mycorrhizal fungal identity and richness determine the diversity and productivity of a tallgrass prairie system. *New Phytologist* 172: 554-562.
- Wetzel, P. R. y Valk, A. G. 1996. Vesicular – arbuscular mycorrhizae in prairie pothole wetland vegetation in Iowa and North Dakota. *Canadian Journal of Botany*, 74(6), 883-890.
- Wilson, E. O. 1988. The current State of Biological diversity. En: Cody, M. L., y Diamond, J. M. (eds). *Ecology and Evolution of Communities*. Belknap Press, Cambridge, M. A.
- Wright, S. F., y Upadhyaya, A. 1998. A survey of soils aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by the hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 198, Pp:97-107.
- Zangaro, W., Nisizaki, S. M., Domingos, J. C., y Nakano, E. M. 2003. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 19(03), 315-324.
- Zhang, F., Hamel, C., Hormozdyark, K., Smith, D.L. 1995. Root-zone temperature and soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] vesicular-arbuscular mycorrhizae, development and interactions with the nitrogen fixing symbiosis. *Environmental Experimental Botany* 35, 287-298.

9. Anexos

9.1. ANEXO 1

Extracción de micelio Extrarradical

Se realizó la técnica de Miller y Jastrow *et al.* (1998), con modificaciones realizadas por Jasso (2010) y Sánchez-Preager (2010). La técnica se describe a continuación:

- Las muestras de suelo se tamizan para separar agregados, raíces y cualquier otro material de gran tamaño, en particular rocas; de este tamizado se toman 5 gramos de suelo.
- Los 5 g de suelo se colocan en matraces de vidrio de 500 mL.
- Una vez que el suelo se encuentra en el matraz, se agregan 250 mL de agua y 31 mL de hexametáfosfato de sodio y se colocan en una cicladora a 250 revoluciones por minuto durante 90 minutos.
- Transcurrido ese tiempo, se toman alícuotas de 12 mL y se colocan en matraces de 500 mL, a las alícuotas se les agregan 250 mL de agua y 31 mL de hexametáfosfato de sodio utilizando una pipeta de vidrio, y se colocan en la cicladora a 250 revoluciones por minuto durante 20 minutos.
- Posteriormente, se toman 20 mL de cada matraz utilizando una pipeta de plástico, y se pasan por un tamiz número .400 para detener el micelio en este.
- El tamiz con el micelio se enjuaga sobre una bomba de vacío con membranas de nitrocelulosa; una vez enjuagado el micelio sobre las membranas, se enciende la bomba de vacío por 10 minutos, una vez transcurridos estos, se agrega azul de tripano al 0.05 % y se deja teñir por 10 minutos.

Transcurridos éstos, se filtra el azul de tripano y se retiran las membranas de nitrocelulosa, para ser fijadas en un portaobjetos esmerilado con PVLG, el cual se deja secar por 48 horas y posteriormente se cubre con un cubreobjetos de 24 por 50 milímetros

9.2. ANEXO 2

Cuantificación de Micelio Extrarradical

La cuantificación se realizó con la técnica de Jacobsen (1998), con la modificación de que el número de observaciones pasaron de 25 a 70. Para calcular la longitud total del micelio (TL), se consideraron:

(H) longitud total de la hifa observada sobre el área de filtrado, cubierta por 70 campos de observación: $H = (11/14) \bullet N \bullet a$ (mm)

Donde:

- $11/14$ = constante
- N = número total de intersecciones en 70 campos de observación
- a = unidad de la rejilla (0.05 mm)

(FA) Área filtrable sobre la membrana de nitrocelulosa: $FA = \pi \bullet r^2$ (mm²)

Donde:

- r = radio del área de filtrado (9.5 mm en este trabajo)

(CA) Área total examinada: $CA = (10 \bullet a)^2 \bullet C$ (mm²)

Donde:

- C = número total de campos observados (70 en este trabajo)
- a = unidad de rejilla (0.05 mm)

(HL) Longitud de la hifa en el área filtrable: $HL = (H/CA) \bullet FA$ (mm)

(TL) Longitud total de las hifas en la muestra de suelo

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

Donde:

- p = peso seco de la muestra de suelo (5g)

250 equivale a 250 mL utilizados para suspender la muestra, 31 equivale a 31 mL de hexametáfosfato de sodio utilizado en las soluciones, 12 y 21 equivalen a 12 y 21 mL pipeteados de las disoluciones.

9.3. ANEXO 3

Preparación y cuantificación de la colonización intrarradical

El método que se utilizó para la tinción y procesamiento de raíces fue descrito por de Phillips y Hayman (1970). El método se describe a continuación:

- Separar y limpiar las raíces obtenidas de cada sitio con agua para retirar cualquier remanente de suelo que estuviera adherido a ellas, una vez lavadas, se colocan en rejillas histológicas, marcándolas por sitio y temporada para su posterior análisis.
- las raíces se sumergen en una solución de KOH al 10% y se meten a una autoclave durante 15 minutos a 90 grados centígrados esto con el fin de ablandarlas y quitarles cualquier pigmentación.
- Posteriormente se sumergen en una solución de HCL and 10% durante 10 minutos.
- Después, las raíces se colocan en una solución de lactoglicerol con azul de tripano durante 24 horas, transcurrido este tiempo, se mantienen sumergidas en lactoglicerol hasta que son montadas.
- Para ser montadas, se toman fragmentos de 2 cm de largo, revisando que las raíces no fueran estelas vasculares. Se montan las raíces en portaobjetos esmerilados, y se utiliza PVLG para fijarlas.
- Posteriormente se observan las preparaciones bajo el microscopio óptico, utilizando el objetivo 20x, y analizando cada segmento de raíz detenidamente en busca de estructuras fúngicas (micelio, vesículas, ovillos, arbusculos, o esporas).
- Se registran tanto los campos que contengan estructuras como los que no, ya que todo se toma en cuenta para los porcentajes de colonización, ya que se obtienen porcentajes de colonización por estructura y totales.

9.4. Anexo 4

Contribución de cada variable en al Análisis de Componentes Principales:

Tabla 1. Contribución de cada variable en la temporada de lluvias, para la longitud del micelio.

Factor-variable correlations (factor loadings), based on correlations (PCA)							
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7
TL	0.623349	0.582244	-0.001653	-0.493641	0.163502	-0.038435	-0.023106
pH	0.766540	-0.365759	0.350607	-0.192327	-0.340721	0.043459	-0.027235
C	0.934670	0.180739	-0.211078	0.055547	-0.164550	-0.102975	0.091680
N	0.907274	0.059290	-0.351703	0.083327	0.042787	0.202010	-0.007880
N-NO3	0.687267	-0.550388	0.346580	0.020806	0.318968	0.012064	0.047956
N-NH4	0.934514	0.020917	-0.018161	0.319267	0.060295	-0.116189	-0.082761
T	0.062155	0.859463	0.441364	0.240694	-0.021316	0.062805	0.018051

Tabla 2. Contribución de cada variable en la temporada de lluvias, para la Colonización intrarradical.

Factor-variable correlations (factor loadings), based on correlations (PCA)							
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7
CI	0.561697	0.745010	0.269388	0.114960	0.183975	0.092893	-0.034578
pH	0.762849	-0.342671	0.342258	-0.425431	0.021669	-0.024498	-0.037890
C	0.916001	0.061612	-0.339683	-0.140082	0.009253	0.112213	0.097269
N	0.882571	-0.070258	-0.405031	0.088408	0.122526	-0.169196	-0.025031
N-NO3	0.710023	-0.421292	0.487714	0.270152	-0.023993	-0.050086	0.066701
N-NH4	0.955183	0.032838	-0.109863	0.138134	-0.213317	0.066660	-0.073820
T	0.120949	0.961307	0.122890	-0.111630	-0.129722	-0.124509	0.036981

Tabla 3. Contribución de cada variable en la temporada de secas, para la Longitud del micelio.

Factor-variable correlations (factor loadings), based on correlations (PCA)							
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7
TL	0.019563	0.924296	0.127538	-0.072453	0.340737	-0.084904	0.021656
pH	0.282377	0.109765	-0.828593	-0.470693	-0.008434	0.005020	-0.000636
C	0.974508	-0.027178	0.097966	0.014461	-0.075503	-0.168290	-0.075945
N	0.977555	-0.100240	0.093869	0.016684	-0.111319	-0.039663	0.106228
N-NO3	0.841483	0.285422	0.353607	-0.209601	0.024945	0.199813	-0.030379
N-NH4	-0.489038	0.715647	0.227524	-0.220495	-0.383631	-0.033475	0.003681
T	0.307267	0.602729	-0.462257	0.561314	-0.099219	0.060228	-0.008836

Tabla 4. Contribución de cada variable en la temporada de secas, para la colonización intrarradical.

Factor-variable correlations (factor loadings), based on correlations (PCA)							
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7
CI	0.295527	-0.867514	-0.005566	0.123257	0.369688	0.090302	-0.006016
pH	0.199298	0.687868	0.544592	-0.338875	0.271706	0.043238	-0.002845
C	0.969796	0.078869	-0.068513	-0.026741	-0.148200	0.123380	0.103346
N	0.977903	0.043406	-0.032331	-0.028420	-0.146400	0.063261	-0.120553
N-NO3	0.843752	0.023600	-0.415123	-0.239470	0.160825	-0.178235	0.014837
N-NH4	-0.540923	0.330774	-0.705943	-0.275909	0.090789	0.122672	-0.014793
T	0.223204	0.713964	-0.181136	0.616677	0.165315	-0.000351	-0.002292

9.5.ANEXO 5

Tabla 1. Tabla con las distintas características pertenecientes a la zona de estudio a partir de las coberturas según CONABIO.

Cobertura	Categoría	Descripción
Clima	Am(f)	Cálido húmedo
Hipsometría	De 0 a 200m	Muy cercano a nivel del mar
Humedad en el suelo	300 a 350 días de humedad	Údico, húmedo.
Precipitación anual media	3500 a 4000 mm	Mucha precipitación a lo largo del año.
Temperatura media anual	24°C a 26°C	Zona cálida
Tipo de suelo	Luvisol órtico.	Suelo desarrollado, con poca materia orgánica, poca acidez y muy profundo.
Tipo de vegetación	Selva alta perennifolia	Bosque de latifoliadas siempre verde
Uso de suelo	Suelo agrícola	Deteriorado por actividad agrícola

Variable ambiental	Valores	Descripción
Temperatura	temperatura anual media 24.2°C	La media de todas las temperaturas medias semanales.
	Variación diurna media 8.8°C	La media de todos los rangos de temperatura diurnas semanales.
	uniformidad de temperatura anual 0.49	La gama media diurna (parámetro 2) dividido por el Rango de temperatura anual (parámetro 7).
	Estacionalidad térmica 0.8	El Coeficiente de Variación de temperatura (C de V) como la desviación estándar de las temperaturas medias semanales expresadas como porcentaje de la media de esas temperaturas.
	Temperatura máxima del mes más cálido 33°C	La temperatura más alta de cualquier temperatura máxima semanal.
	temperatura mínima del mes más frío 15.1°C	La temperatura más baja de cualquier temperatura mínima semanal.
	Rango de temperatura anual 18°C	La diferencia entre la temperatura máxima del período más cálido y la temperatura mínima del período más frío.
	la temperatura media del trimestre más lluvioso del año 25.7 Agosto-	El trimestre más lluvioso del año es determinado (la semana próxima), y se calcula que la temperatura media de este período.

	Octubre	
	la temperatura media del trimestre más seco del año 24.1 Marzo- Mayo	El trimestre más seco del año se determina (en la semana próxima), y se calcula que la temperatura media de este período.
	la temperatura media del trimestre más cálido del año 26.6 Agosto- Noviembre	El trimestre más cálido del año es determinado (a la semana más cercano), y se calcula que la temperatura media de este período.
	la temperatura media del trimestre más frío del año 20.9 Marzo- Mayo	El trimestre más frío del año se determina (en la semana próxima), y se calcula que la temperatura media de este período.
Precipitación	Precipitación anual 2009 mm,	La suma de todas las estimaciones de precipitación mensual.
	precipitación de la semana más húmedo 101mm	La precipitación de la semana o mes más húmedo, dependiendo del paso de tiempo.
	precipitación de la semana menos húmeda 0mm	La precipitación de la semana o mes más seco, dependiendo de la etapa de tiempo.
	estacionalidad de la precipitación 78	El Coeficiente de Variación (C de V) es la desviación estándar de las estimaciones de precipitación semanales expresadas como porcentaje de la media de las estimaciones

	<p>la precipitación media del trimestre más lluvioso del año 1008 Agosto- Octubre</p>	<p>El trimestre más lluvioso del año es determinado (la semana próxima), y la precipitación total durante este periodo se calcula.</p>
	<p>la precipitación media del trimestre más seco del año Marzo- Mayo 88</p>	<p>El trimestre más seco del año se determina (en la semana próxima), y la precipitación total durante este periodo se calcula.</p>
	<p>la precipitación media del trimestre más cálido del año 568 Agosto- Octubre</p>	<p>El trimestre más cálido del año es determinado (a la semana más cercano), y la precipitación total durante este periodo se calcula.</p>
	<p>la precipitación media del trimestre más frío del año 205 Marzo- Mayo.</p>	<p>El trimestre más frío del año se determina (en la semana próxima), y la precipitación total durante este periodo se calcula.</p>

9.6. Anexo 6

Imágenes

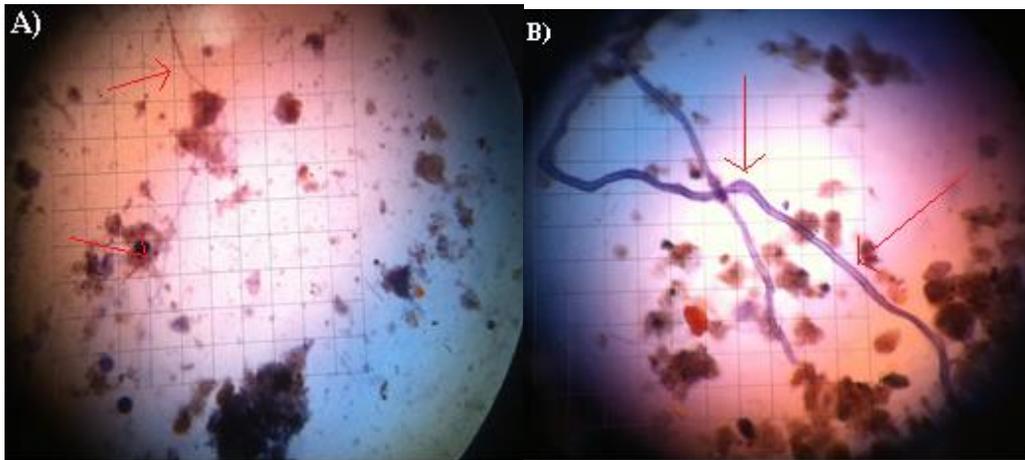


Figura 21: Fragmentos de micelio extrarradical teñidos con azul de tripano sobre membranas de nitrocelulosa. En A) (20x) y B) (40x) se señala micelio.

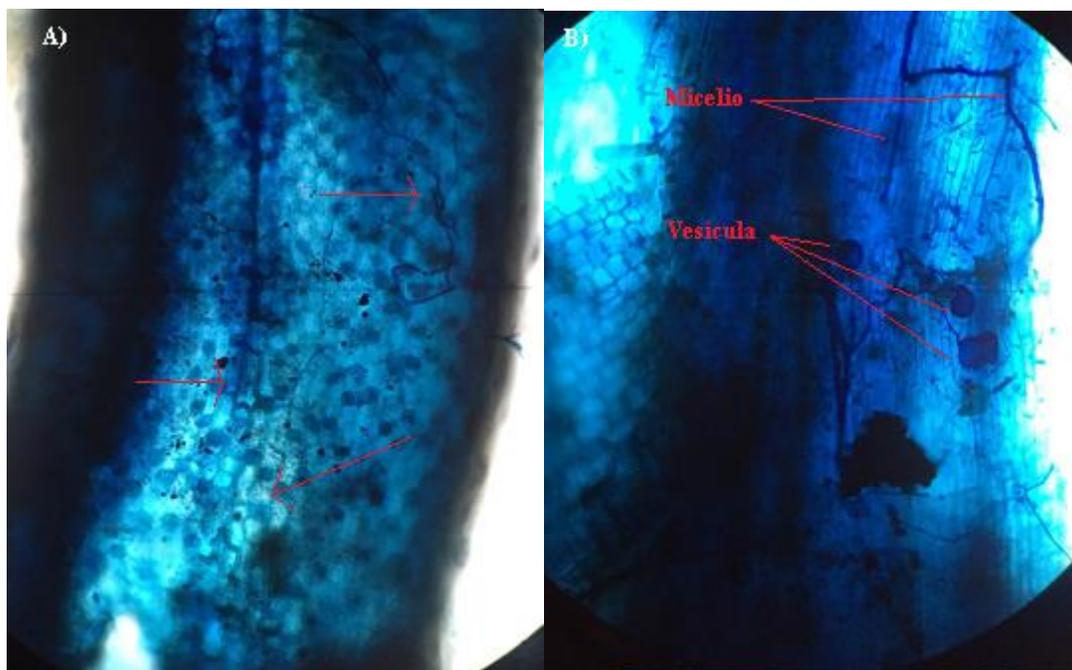


Figura 22: Estructuras intrarradicales observadas dentro de la raíz (20x). En A) se señala micelio intrarradical y en B) se señalan vesículas y micelio intrarradical.