

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**Comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares
asociados a plantas medicinales del Bosque Templado
de Agua Escondida Taxco, Guerrero.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA

PRESENTA

CHÁVEZ HERNÁNDEZ CECILIA GABRIELA

DIRECTORA DE TESIS

DRA. ROSALVA GARCÍA SÁNCHEZ

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN ECOLOGÍA VEGETAL



CIUDAD DE MÉXICO

2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
PRESENTE.**

Comunico a usted que la alumna **CHÁVEZ HERNÁNDEZ CECILIA GABRIELA**, con número de cuenta **309231752**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **04 de junio de 2019** a las **09:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

PRESIDENTE Dr. ARCADIO MONROY ATA

VOCAL Dra. ROSALVA GARCÍA SÁNCHEZ

SECRETARIO Dr. ELOY SOLANO CAMACHO

SUPLENTE Biól. MARCO ANTONIO HERNÁNDEZ MUÑOZ

SUPLENTE M. en C. EDUARDO CHIMAL SÁNCHEZ

El título de la tesis que presenta es: **Comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares asociados a plantas medicinales del Bosque Templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero.**

Opción de titulación: Tesis.

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad de México, a 29 de abril de 2019

DR. VICENTE JESUS HERNÁNDEZ ABAD
DIRECTOR
DIRECCIÓN



VO. BO.
Dr. JOSÉ LUIS GÓMEZ MÁRQUEZ
JEFE DE CARRERA

RECIBÍ
OFICINA DE EXÁMENES
PROFESIONALES Y DE GRADO

DEDICATORIA

A mi padre **Fernando Chávez Ordoñez** y a mi madre **María Catalina Hernández Martínez** porque desde el momento en que supieron de mi existencia siempre buscaron las maneras de ofrecerme lo mejor. Ustedes han trabajado duro y sin importar lo cansados que puedan terminar siempre tienen una sonrisa que ofrecer a su familia. Ahora les digo que las ayudas que me han brindado formaron bases de gran importancia y soy consciente de eso.

“No cabe duda que el reino de los hongos es asombroso, y siendo real, ofrece un mayor número de sorpresas que las que tuvo Alicia en el imaginario país de las maravillas. Seguramente que muchos de sus secretos se revelarán en el futuro próximo a los científicos que los estudiamos, para beneficio de la ciencia y sus aplicaciones tecnológicas, pero otras más seguirán ocultas para atraer a un número creciente de jóvenes que responden al llamado de la ciencia por sí misma”

José Ruíz Herrera



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la **Universidad Nacional Autónoma de México** por abrirme las puertas de su casa desde hace más de ocho años cuando tuve la fortuna de ingresar al CCH Vallejo y permitirme recorrer nuevos caminos, vivir nuevas historias y construir nuevos sueños.

A la **Facultad de Estudios Superiores Zaragoza** por sorprenderme desde el primer día que pisé sus instalaciones y brindarme todas las oportunidades para crecer académicamente y nunca limitarme.

A los mejores **biólogos, maestros y doctores** que conforman la carrera de Biología, quienes a partir de su vocación me enseñaron lo maravillosa y exacta que es la naturaleza de la cual jamás se termina de aprender.

A la Dra. **Rosalva García Sánchez** por abrirme las puertas de su laboratorio y brindarme siempre su apoyo. Gracias por ser una extraordinaria mujer que además de enseñar a sus alumnos, los motiva, aconseja e insiste en todo momento para que persigan y logren sus sueños.

Al Mtro. **Eduardo Chimal Sánchez** por el apoyo incondicional en la elaboración de esta tesis desde la determinación de las especies de HMA, enseñarme a fotografiar correctamente las especies inventariadas, construcción del anteproyecto hasta la inspección absoluta de este escrito. Gracias por ser un excelente maestro que desde un inicio junto con la Dra. Rosalva me impulsaron a ir más allá de sólo realizar una tesis, haciéndome participé en el VIII Simposio Nacional y V Reunión Iberoamericana de la Simbiosis Micorrízica y en el artículo *Acaulospora alpina* y *Ambispora fennica*, dos registros nuevos de hongos micorrizógenos arbusculares para México. Siempre les estaré eternamente agradecida.

A mis sinodales, el Dr. **Arcadio Monroy Ata**, Dr. **Eloy Solano Camacho** y Biól. **Marco Antonio Hernández Muñoz** por aceptar ser parte de mi comité y brindarme el tiempo necesario para la revisión y corrección de este escrito. Gracias al Dr. Arcadio por sus valiosos consejos, al Dr. Eloy por el compromiso que de él surge

con sus alumnos de transmitirles siempre algún aprendizaje y al Biól. Marco por su amabilidad y palabras de aliento que sin duda alguna significaron mucho para mí.

A mi padre **Fernando Chávez Ordoñez** a quien le estaré agradecida toda mi vida por preocuparse siempre por mí. Gracias porque desde pequeña te ocupaste en mi formación académica y aunque hubo regaños hoy comprendo lo fundamentales que fueron en mi formación. Gracias por tus consejos y por ser un gran ejemplo de lucha y esfuerzo.

A mi madre **María Catalina Hernández Martínez** por ser una excelente mamá. Gracias por abrigarme cuando tenía frío, por aliviarme cuando me sentía enferma, por motivarme cuando creí que ya no podía, por ayudarme siempre que lo necesito, por regañarme cuando en verdad lo merecía y por enseñarme con el ejemplo a volar por los caminos correctos.

A mi hermano **Fernando Enrique Chávez Hernández** por crecer junto conmigo, compartir y hacer más ameno los malos momentos, ser mi compañero de aventuras, escucharme siempre, divertirme con tus tonterías, apoyarme siempre, pero sobre todo por ser un gran hermano.

A mi hermana **María Guadalupe Chávez Álvarez** porque a través de sus batallas me ha permitido aprender y decidir que es lo quiero y no quiero en mi vida, gracias por habernos tenido paciencia cuando éramos pequeños y enseñarme que siempre se puede si en verdad se lucha por lo que se quiere.

A mi sobrina **Daniela Chávez Álvarez** porque a pesar de las dificultades que se te han presentado siempre te recordaré como aquella niña hermosa, noble, risueña, amorosa, caritativa y soñadora que fuiste. Te quiero mucho y siempre estaré para ti.

A mi hermoso y amoroso **Mario Enrique Sainz Moreno** porque desde que te conocí he sido inmensamente feliz. Gracias por haber llegado en el momento indicado, enseñarme lo maravilloso que es amar, alentarme cuando creí que ya no podía terminar, comprenderme y nunca juzgarme por mis decisiones. TE AMOOOOOOOOOOO CON TODO MI CORAZÓN.

CONTENIDO

RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	2
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Micorrizas	4
2.2 Tipos de micorrizas	5
2.3 Hongos micorrizógenos arbusculares	7
2.4 Taxonomía de los HMA	8
2.5 Desarrollo y morfología	9
III. ANTECEDENTES	12
IV. HIPÓTESIS	14
V. OBJETIVOS	14
5.1 General	14
5.2 Particulares	14
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	15
6.1 Zona de estudio	15
6.2 Campo	17
6.3 Laboratorio	17
6.4 Análisis estadístico	20
VII. RESULTADOS	22
7.1 Composición de especies de HMA	22
7.2 Riqueza de especies de HMA	25
7.3 Densidad de esporas de HMA	26
7.4 Abundancia relativa de los HMA	27
7.5 Diversidad, dominancia y equitatividad	29
7.6 Índice de similitud de Morisita	31
7.7 Descripción de las especies de HMA	33
7.8 Propiedades químicas del suelo	48

VIII. DISCUSIÓN	52
IX. CONCLUSIONES	61
X. RECOMENDACIONES	62
XI. REFERENCIAS	64
XII. ANEXOS	77

FIGURAS

- Figura 1.** Localización de la zona de estudio. 16
- Figura 2.** Riqueza promedio de especies de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales. 25
- Figura 3.** Densidad de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presente en la rizósfera de las plantas medicinales. 26
- Figura 4.** Abundancia relativa de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales. 28
- Figura 5.** Índice de diversidad de Shannon-Wiener para los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales. 29
- Figura 6.** Dominancia de Simpson para los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales. 30
- Figura 7.** Índice de equidad de Pielou para los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales. 31
- Figura 8.** Análisis de similitud entre las plantas medicinales estudiadas en los meses de muestreo. 32
- Figura 9.** *Acaulospora alpina*: 1) Espora en PVLG con cicatriz. 2) Espora con perforaciones cónicas en la sw2. 3) Espora con la hifa del sáculo esporífero, cicatriz y capa sw2 de la pared externa. *Acaulospora bireticulata*: 4) Espora presenta restos de sáculo esporífero. 5) Espora con retículos poligonales. 6) Pared de germinación. 37
- Figura 10.** *Acaulospora denticulata*: 1) Espora en PVLG+Melzer con capa sw3 de la pared externa y las paredes internas de germinación. 2) Espora mostrando su tipo de ornamentación. *Acaulospora koskei*: 3) Espora en PVLG+Melzer con las capas de la pared externa y las paredes internas de germinación. 4) Tinción de la capa gw2l2 en el reactivo de Melzer. *Acaulospora laevis*: 5) Espora montada en PVLG. 6) Cicatriz presente y espiral de germinación. 38
- Figura 11.** *Acaulospora scrobiculata*: 1) Espora montada en PVLG+Melzer. 2) Capa externa sw2 y tinción de la pared interna de germinación gw 2l2. *Acaulospora spinosa*: 3) Espora montada de PVLG. 4) Capa sw1 y sw2 de la pared externa. 41
- Figura 12.** *Ambispora appendicula*: 1) Espora montada en PVLG+Melzer. *Ambispora fennica*: 2) Espora con pedicelo curvado. 3) Capas de la pared 42

externa de la espora. *Entrophospora infrequens*: 4) Ornamentación de la capa sw3.

Figura 13. *Gigaspora gigantea*: 1) Espora montada en PVLG+Melzer. 47
Sclerocystis rubiformis: 2) Esporocarpo compuesto por más de cuatro esporas unidas por un plexo central hifal. *Glomus spinuliferum*: 3) Capa sw2 cubierta de espinas. 4) Espora montada en PVLG.

Figura 14. pH de los suelos rizosféricos de las plantas medicinales. 48

Figura 15. Porcentaje de nitrógeno en los suelos rizosféricos de las plantas medicinales. 49

Figura 16. Porcentaje de materia orgánica en los suelos rizosféricos de las plantas medicinales. 50

Figura 17. Concentración de fósforo asimilable en los suelos rizosféricos de las plantas medicinales. 51

CUADROS

Cuadro 1. Especies de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) registradas en la rizósfera de las plantas medicinales del bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero. 22

RESUMEN

Se determinaron las comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares que se asocian a los suelos rizosféricos de diez plantas vasculares medicinales y las propiedades químicas de sus suelos rizosféricos: pH, nitrógeno total y fósforo asimilable, además de la materia orgánica siguiendo la NOM-021-RECNAT-2000. El muestreo se realizó durante marzo, mayo y junio del año 2015 y en febrero y agosto del año 2016 en el bosque templado de la localidad de Agua Escondida Taxco, Guerrero. Se recolectaron 150 g de muestra de suelo de cinco individuos de cada especie medicinal. La identificación taxonómica de los HMA se realizó con base en las características morfológicas y siguiendo las claves del International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi, posteriormente se evaluó la riqueza de especies de hongos micorrizógenos arbusculares, abundancia de esporas y diversidad (Índice de Shannon-Wiener) de los hongos micorrizógenos arbusculares asociados a los suelos rizosféricos. El análisis estadístico consistió en un análisis de varianza, prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$) y un análisis de similitud con el índice de Morisita para grupos pareados.

En total se registraron 30 especies de HMA correspondientes a siete familias y diez géneros, de las cuales *Acaulospora alpina* y *Ambispora fennica* fueron dos nuevos registros para México. *Acaulospora* presentó el mayor número de especies. La riqueza, abundancia y diversidad no registraron diferencias significativas, los consorcios estuvieron conformados de dos a seis especies de hongos micorrizógenos arbusculares por planta medicinal, con una densidad de 27.6 a 140.8 esporas/100 g de suelo. El índice de Morisita arrojó un 10% de similitud entre todas las muestras, esto sugiere que la composición entre cada una de ellas es diferente. Se registraron pH, porcentaje de materia orgánica, porcentaje de nitrógeno y concentración de fósforo variables. Este estudio contribuye al conocimiento de la diversidad de los HMA en los bosques templados de México y probablemente son los primeros estudios de HMA para los bosques templados de Guerrero.

I. INTRODUCCIÓN

México, junto con Brasil, Colombia e Indonesia ocupa los primeros lugares en cuanto a diversidad biológica mundial (Villers-Ruiz et al., 1998), su vegetación es sumamente heterogénea siendo los bosques templados el segundo bioma más extenso del país después de las zonas áridas. En total se estima que los bosques templados cubren en México el 20% de su territorio que representa aproximadamente 410,000 km² de superficie (Guzmán-Mendoza et al., 2014; INEGI, s.f.).

Estos bosques proporcionan una amplia variedad de servicios ecosistémicos, entre los que destacan su gran potencial en el almacenamiento de carbono, además intervienen en el ciclo del agua, liberan oxígeno, regulan la erosión del suelo, suministran combustibles, alimentos, medicinas y son importantes para el desarrollo del ecoturismo (Olivera-Morales et al., 2011). La alta diversidad biológica que resguardan incluye géneros representativos como los pinos (*Pinus* spp.) y encinos (*Quercus* spp.), pero su gran riqueza se debe a las especies del sotobosque, que contienen un alto grado de endemismo (Amezcuca et al., 2010). Los bosques templados albergan cerca de 7,000 especies de plantas (CONABIO, 2012) de las cuales 3,300 están registradas como medicinales (Fierro Álvarez et al., s.f.).

En este sentido, el bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero presenta alta diversidad en los estratos herbáceos y arbustivos. Esta vegetación constituye la base de las redes tróficas, son refugio de gran parte de la micro y mesofauna y sirve de protección al suelo contra la erosión (Quinteros et al., 2010). Muchas de estas plantas cuentan con propiedades medicinales y en algunas especies se ha comprobado que ayudan a tratar enfermedades digestivas, respiratorias, dermatológicas, oftalmológicas, renales y algunas otras con propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, astringentes y antihemorrágicas utilizando la raíz, el tallo, la corteza, las hojas, flores, el fruto, la resina o el látex de la planta dependiendo del padecimiento.

El aporte económico que para los colectores representa el uso de estas plantas medicinales, favorece desafortunadamente la disminución de las poblaciones de las diferentes especies extraídas que, además se enfrentan tanto a factores climáticos (baja temperatura, poca humedad, precipitación estacional, entre otras) como a condiciones edáficas (baja disponibilidad de nutrimentos) (Quinteros et al., 2010), por lo que su establecimiento depende en gran parte de la relación que sostienen con los microorganismos rizosféricos, como los HMA quienes les permiten aumentar la absorción de nitrógeno, potasio, calcio, zinc, magnesio y especialmente el fósforo; mejora el transporte y la absorción de agua e incluso pueden inducir cambios en la concentración de sus metabolitos secundarios (Rajkumar et al., 2012), no obstante, la diversidad y el tamaño de la población de estos microorganismos también es afectada por una serie de factores ambientales como la temperatura, el pH, los niveles de fósforo, nitrógeno, metales tóxicos, entre otros. De manera directa dichos factores limitan las etapas de esporulación y germinación de las esporas e indirectamente pueden alterar la cantidad y composición de los exudados de la raíz, considerando que el vínculo clave entre una planta y la comunidad microbiana es la liberación de una amplia gama de exudados en la rizósfera (Gupta y Knox, 2010; Jamiolkowska et al., 2018).

Dada la importancia que los HMA tienen en el mantenimiento de la estructura de la comunidad herbácea y arbustiva del bosque templado de Agua Escondida y con la finalidad de seleccionar en investigaciones futuras aquellas especies o consorcios de hongos que permitan obtener mayor beneficio en las plantas medicinales susceptibles a ser cultivadas, resulta fundamental identificar los HMA que habitan en sus suelos rizosféricos y conocer bajo que condiciones se desarrollan.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Micorrizas

La palabra “micorriza” proviene del griego *mikes* (hongos) y *rhiza* (raíz) y fue utilizada, por primera vez, por el fitopatólogo alemán A. B. Frank (1885), luego de describir las modificaciones en las raíces de las especies forestales. Desde entonces, se ha usado este término para referirse a un rango de asociaciones simbióticas mutualistas, entre ciertos hongos y las raíces de las plantas (Montañez-Orozco et al., 2010).

Con anterioridad, Vittadini (1831) publicó sus observaciones sobre la manera en que diferentes especies de trufas se asociaban con las raíces de algunas especies de *Quercus* y otras plantas vasculares. Hartig (1840) ilustró claramente lo que hoy conocemos como una ectomicorriza, y Tulasne y Tulasne (1841) describieron cómo las hifas del hongo *Elaphomyces* se asocian a las pequeñas raíces secundarias de ciertos árboles, envolviéndolas completamente. Sin embargo, todas estas observaciones fueron interpretadas como una forma de parasitismo, pues aún no se tenía idea alguna del proceso ni su función. Vittadini (1842) citó nuevamente esta asociación, pero mencionó que estas raíces pequeñas eran nutridas por las hifas del hongo *Elaphomyces* (Andrade-Torres, 2010).

A mediados y finales del siglo XIX se presentaron algunos estudios más detallados como los de Hartig (1851), Boudier (1876), Reess (1880) y Gibelli (1882), quienes confirman que desde esa época se realizaron las primeras observaciones de micorrizas (Andrade-Torres, 2010).

Con base en los antecedentes anteriores, ahora se sabe que la micorriza es una asociación en la cual el hongo incrementa la superficie de captación de nutrimentos para la planta, principalmente de iones fosfato y amonio disponibles en el suelo. Se estima que las hifas externas proporcionan hasta un 80% del fósforo y 25% del nitrógeno requeridos por la planta. A cambio el hongo además de contar con un hábitat recibe azúcares simples derivados de la fotosíntesis efectuada por el hospedero (Hernández-Cuevas et al., 2003).

Hoy día se sabe que más del 90% de las plantas terrestres son capaces de establecer algún tipo de micorriza (López-Encina y Barceló -Muñoz, 1999). Existen diferentes tipos de micorriza, clasificadas con base en sus características morfológicas, tipos de hongos y plantas implicadas en la asociación.

2.2 Tipos de micorrizas

Las ectomicorrizas están presentes en especies maderables de gran importancia y son abundantes en zonas templadas; asociadas con hongos basidiomicetos y ascomicetos. Este tipo de micorriza posee un manto hifal que cubre una parte considerable de las raíces laterales. La estructura diagnóstica para este tipo de micorriza es la red de Hartig, la cual constituye el sitio de intercambio de nutrientes entre los simbiontes y las células de las raíces. En las angiospermas, la red de Hartig está restringida a la epidermis, mientras que, en las coníferas se forma alrededor de las células tanto de la epidermis como de la corteza. También tiene un micelio externo formado por hifas y en algunos casos se pueden formar rizomorfos (Cuenca, 2015).

En relación con las ectendomicorrizas, éstas se caracterizan por tener un manto muy reducido e inclusive puede estar ausente, las hifas de la red de Hartig penetran en las células corticales. Las especies que pertenecen a esta asociación son los basidiomicetos y ascomicetos con las gimnospermas y angiospermas. Las funciones de este tipo de micorriza no se conocen muy bien; sin embargo, las plantas que las poseen parecen beneficiarse de ellas. Los hongos que participan en esta simbiosis son capaces de degradar carbohidratos complejos y pueden proteger a las plantas frente a la toxicidad por hierro (Cuenca, 2015).

Las arbutoides pertenecen a sólo dos géneros de dos familias del Orden Ericales (*Arbutus* y *Arctostaphylos*) (Peterson et al., 2004). Se caracterizan por la formación de manto fúngico, hifas externas y usualmente red de Hartig, además, presentan un desarrollo extensivo de hifas intercelularmente (Pérez, 2011a).

Con respecto a las monotropoide, éstas se caracterizan por establecer relación con géneros de Monotropaceae, esta familia se caracteriza porque sus

miembros son plantas sin clorófila por lo que dependen en gran medida del hongo asociado para obtener nutrimentos. Las semillas de *Monotropa* son pequeñas y presentan dificultades para germinar en ausencia de hongos asociados. Se ha observado que el hongo es capaz de colonizar las raíces de árboles cercanos (principalmente *Pinus* y *Picea*) y transportar nutrimentos desde el árbol a las plantas sin clorófila (Álvarez, 2012). El hongo forma un manto fúngico, hifas intracelulares e intercelulares y haustorios (Hernández-Cuevas et al., 2003).

En las micorrizas orquideoides se han descrito dos tipos de colonización: la tolipofagia y ptiofagia. La primera ocurre cuando el hongo coloniza las raíces de la orquídea al penetrar desde las células epidérmicas hasta las células corticales. Este tipo de colonización está presente en la mayoría de las especies de orquídeas y se caracteriza por el desarrollo de los pelotones dentro de las células de la corteza radical. Los pelotones son estructuras dehiscentes que proveen nutrientes a la planta después de ser digeridos. En estas estructuras las hifas están rodeadas por membrana celular vegetal, que se invagina a medida que la hifa se desarrolla hasta formar una matriz de interfase hongo-planta. La ptiofagia ocurre sin la formación de pelotones y los nutrientes son transferidos al hospedero después de la plasmólisis de las hifas (Ordoñez et al., 2014).

Con referencia a las ericoides, en la asociación intervienen hongos ascomicetos, donde el más estudiado es *Rhizoscyphus ericae*, con Ericaceae y Epacridaceae como los brezos (*Erica* spp. y *Calluna vulgaris*), azaleas (*Rhododendron* spp.) y arándanos (*Vaccinium* spp). El hongo produce enzimas extracelulares (celulasas, hemicelulasas, ligninasas, pectinasas, fosfatasas y proteasas) que degradan la materia orgánica, permitiendo la movilización de nutrimentos. Estas micorrizas forman enrollamientos hifales llamados ovillos (Gómez, 2010).

Por último, las arbusculares, están ampliamente extendidos por toda la superficie terrestre y establecen simbiosis con, al menos, el 80% de las plantas vasculares. Se caracterizan porque sus hifas penetran en las células de las raíces formando estructuras de almacenamiento (vesículas) y otras especializadas en el

intercambio bidireccional de nutrientes y carbono, conocidos como arbusculos (Pugnaire y Martínez, 2009).

2.3 Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

Los HMA presentan una amplia distribución, ya que se encuentran presentes en todos los ecosistemas terrestres naturales como desiertos, dunas, selvas tropicales, salinas y sistemas manejados como praderas, huertos y cultivos agrícolas, por tanto, se han registrado en la mayoría de los suelos y en muchas especies de plantas (Moreira et al., 2012), asociándose también con las cianobacterias (Schübler et al., 1994).

De acuerdo con numerosos estudios paleobotánicos, morfoanatómicos y filogenéticos basados en técnicas moleculares la coevolución mantenida entre hongos micorrizógenos y raíces de plantas se remonta al Paleozoico, hace más de 400 millones de años y se relaciona su presencia con el origen de las primeras plantas terrestres. De hecho, los ancestros de los actuales briófitos y helechos ya presentaban asociaciones similares a las micorrizas arbusculares (MA) (Honrubia, 2009).

La importancia de la MA consiste en el mejoramiento del vigor y el crecimiento de las plantas de interés agrícola, hortícola y forestal al participar en la fijación de elementos esenciales, fundamentalmente los de lenta movilidad en el suelo, tales como el fósforo, nitrógeno, potasio, cobre y zinc, alternativamente, reducen la captación de elementos altamente fitotóxicos como manganeso y aluminio. Adicionalmente, las hifas extraradicales son importantes en la conservación de los suelos al contribuir significativamente en la formación de agregados estables, manteniendo una buena estructura (Borie et al., 2000).

Esta asociación proporciona otros beneficios a las plantas, entre los que destacan: la protección ante el ataque de parásitos y el aumento de su resistencia a la herbívora, influyendo en la producción de sustancias defensivas por parte de la misma planta, aumento del área de exploración de la raíz, lo que incrementa el flujo de agua del suelo a la planta (De la Rosa-Mera, 2009).

2.4 Taxonomía de los HMA

Los primeros intentos para clasificar los HMA datan de finales del siglo XIX y comienzos del XX, inicialmente incluyéndolos dentro de Endogonaceae, única familia subordinada al orden Endogonales dentro del phylum Zygomycota en la cual se agrupaban junto a especies de hongos que no forman micorriza (Salmerón-Santiago et al., 2015). Debido a tales inconsistencias que indicaban una clasificación que no reflejaba un origen evolutivo común de estos organismos, Morton y Benny (1990) estudiaron distintas características de los HMA en el que se incluyeron características morfológicas, ontogenéticas, citológicas y reproductivas, con la finalidad de establecer una clasificación natural. Con este estudio se logró determinar un origen evolutivo común, y concluyó con la formación del orden Glomales (corregido más tarde a Glomerales) dentro del phylum Zygomycota.

Glomerales contenía los subórdenes Glomineae y Gigasporineae; el primero integraba a la familia Glomaceae que agrupaba a especies de *Glomus* y *Sclerocystis*, y una nueva familia Acaulosporaceae que incluía a *Acaulospora* y *Entrophospora*. El suborden Gigasporinae contenía a la familia Gigasporaceae a la cual pertenecían *Gigaspora* y *Scutellospora*. Por otro lado, Endogonales contenía únicamente a Endogonaceae con un sólo género, *Endogone* (Salmerón-Santiago et al., 2015). Redecker et al. (2000) reconocieron la existencia de otros grupos que parecían ser ancestrales dentro del orden Glomerales (Archaeosporaceae y Paraglomeraceae, junto con los nuevos géneros *Archaeospora* y *Paraglomus*).

Un cambio crucial se produjo finalmente cuando Schüßler et al. (2001) utilizaron las secuencias obtenidas del gen SSU del ARN ribosómico para establecer las relaciones filogenéticas entre los HMA y otros grupos de hongos. Los HMA fueron elevados a nivel de *phylum* (Glomeromycota), demostrando ser un grupo monofilético, como los Ascomycota y Basidiomycota. Los zigomicetos resultaron ser polifiléticos y *Endogone* no se agrupó cerca de los Glomeromycota. El phylum Glomeromycota se compone de una sola clase, los Glomeromycetes que a su vez

comprende cuatro órdenes Glomerales, Diversisporales, Paraglomerales y Archaeosporales (Salmerón-Santiago et al., 2015).

2.5 Desarrollo y morfología

Las MA, están formadas por hongos que se relacionan con una amplia variedad de plantas hospederas. Su desarrollo (colonización de la raíz de una planta) comienza a partir de propágulos llamados clamidosporas de resistencia formadas por el hongo, o bien, micelio (conjunto de hifas) originado de fragmentos de raíz o raíces completas previamente colonizadas (Montaño, 2000).

Los propágulos pueden penetrar a la raíz de una planta para colonizarla o bien las esporas que poseen un gran número de núcleos y glóbulos lipídicos, que resisten condiciones adversas en el suelo, tales como el calor, la humedad, temperatura y sequía, germinan cuando las circunstancias son favorables dando inicio al crecimiento primario de uno o varios tubos de germinación que pueden proliferar y formar un micelio que se extiende de forma radical y errática a través del suelo en busca de la raíz de una planta hospedera susceptible de ser colonizada (Núñez, 2013).

Durante la germinación de las esporas ocurren algunos eventos que parecen ser comunes para todos los HMA. El número de núcleos disminuye de 2000 a 800 durante los primeros días de la germinación, debido a la migración de éstos hacia las hifas. La síntesis de proteínas y de ARN comienza 35 minutos después de la ruptura de la inhibición, así que también se activan el ciclo de los ácidos tricarbónicos, la síntesis de aminoácidos y la gluconeogénesis. A los 45 minutos, aumenta el ATP en las esporas, lo que indica la presencia de un sistema respiratorio activo, también ocurre la síntesis neta de lípidos que son un material rico en energía necesario para la germinación de la espora y el crecimiento presimbótico del micelio. En el micelio formado ocurre una migración de núcleos y citoplasma en dos direcciones; es decir, el citoplasma de la espora se redistribuye dentro del tubo de germinación (Cuenca, 2015).

Las esporas no requieren de una planta hospedera para germinar, pero usualmente su presencia acelera este proceso. Germinan en agar-agua, utilizando únicamente las reservas de la espora. Sin el estímulo de la planta, el crecimiento del tubo germinativo está limitado a unos 20-30 días, después de los cuales ocurre la retracción del citoplasma, producción de septos y desarrollo de ramas laterales e hinchamiento de los ápices de las hifas. Algunos HMA son capaces de germinar múltiples veces (Cuenca, 2015).

La presencia de raíces micotróficas, o de los exudados radicales que éstas producen, promueven mayor desarrollo del micelio, aumentando especialmente su grado de ramificación. La estimulación antes mencionada, no se produce cuando en las inmediaciones del nascente micelio se encuentran raíces de plantas no hospederas, o cuando los exudados proceden de plantas no micotróficas en cuyo caso, algunas veces se han mostrado efectos inhibitorios (Núñez, 2013).

Una vez que el hongo encuentra una raíz susceptible de ser colonizada, éste experimenta una notable estimulación que se manifiesta en una abundante proliferación del micelio, y sobre todo en un aumento de la ramificación, incrementándose el contacto con la raíz. Cuando ese contacto se produce, el hongo se adhiere a la raíz y forma un apresorio (también llamado hifopodio) produciéndose la penetración del hongo que tiene lugar normalmente entre dos células epidérmicas. Se acepta, que los sitios más habituales de penetración coinciden con las áreas más activas de la raíz. Cabe mencionar que el HMA no penetra por heridas ni coloniza raíces muertas (Giovannetti et al., 1993).

Varios autores han demostrado que la planta prepara el ambiente intracelular para la hifa de la MA. El aparato de pre-penetración o PPA (por sus siglas en inglés) es una estructura subcelular que predetermina el camino del crecimiento fúngico a través de la célula vegetal y se forma en 4-5 horas, después de la formación del hifopodio. El desarrollo del PPA es precedido por la migración del núcleo de una de las células de la planta, hacia el punto de entrada anticipado del hongo. El núcleo se mueve adelante del PPA para guiar su dirección a través de la célula (Cuenca, 2015).

El PPA es un puente citoplasmático grueso a través de la vacuola de la célula de la planta hospedera, que contiene microtúbulos y microfilamentos que, junto con las densas cisternas del retículo endoplasmático, forman un tubo perforado que conecta el núcleo conductor con el sitio de contacto del apresorio. La hifa penetra la célula hospedera sólo después que ese túnel transcelular ésta completo. Las membranas del retículo endoplasmático situadas en dicho túnel están en la posición ideal para la síntesis de la membrana perifúngica (Cuenca, 2015).

Una vez iniciada la colonización de la raíz, el HMA comienza la formación de vesículas y arbusculos en el parénquima radical. Los arbusculos son estructuras especializadas altamente ramificadas, típicamente intracelulares que se localizan en las células corticales cercanas al cilindro vascular, y cuya función es la transferencia de nutrimentos desde y hacia el hospedante. Los arbusculos están formados a partir de una hifa inter o intracelular mediante ramificaciones dicotómicas sucesivas hasta formar series de ramas bifurcadas. Posterior a la formación de los arbusculos se forman las vesículas que son estructuras ovoides, globosas, elípticas, reniformes, claviformes o irregulares que contienen material lipídico, estas son órganos de reserva para el HMA y, en algunos casos su pared gruesa las asemeja a las clamidosporas, que en situaciones de estrés estas reservas son utilizadas por el hongo y entonces las vesículas degeneran. Se forman inter o intracelularmente y tanto fuera como dentro de la raíz (Núñez, 2013).

Una segunda fase en el desarrollo de la colonización de la raíz de una planta ocurre con el crecimiento exterior de las hifas del hongo y el establecimiento de posteriores puntos de entrada. Las hifas que emergen de la raíz se extienden por el suelo varios centímetros, dando lugar al micelio externo, que constituye un sistema de absorción de nutrimentos y captación de agua. Sobre el micelio se forman grandes esporas que van madurando hasta convertirse en clamidosporas; aunque determinadas especies desarrollan también esporocarpos (Montaño, 2000).

III. ANTECEDENTES

Durante años se han llevado a cabo exhaustivas investigaciones dirigidas a registrar la identidad de las comunidades de HMA que habitan los suelos de los diferentes ecosistemas de México, con estudios primordialmente en bosques tropicales, matorrales xerófilos y pastizales, pocos realizados en los bosques templados, a pesar de ser estos últimos de gran relevancia puesto que México pierde cada año hasta 45 mil hectáreas de esta vegetación (Montaño et al., 2012).

Entre los escasos estudios, Olivera-Morales et al. (2011) indicaron la presencia de especies pertenecientes al género *Acaulopora*, *Funneliformis*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Pacispora*, *Redeckera* y *Scutellospora* en suelos rizosféricos de *Quercus rugosa* en la Ciudad de México.

González-Cortés et al. (2012) reportaron 39 especies de HMA en suelos rizosféricos de tres bosques templados en Michoacán, con predominancia de especies de *Acaulospora* y *Glomus*.

En lo concerniente a las investigaciones llevadas a cabo en el extranjero, Chaturvedi et al. (2012) publicaron la presencia de especies correspondientes a los géneros *Acaulospora*, *Ambispora*, *Claroideoglomus*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Paraglomus*, *Racocetra* y *Rhizophagus* en suelos rizosféricos de un bosque de pino-encino en Kumaon, India.

Por lo que se refiere a las especies de HMA inventariadas en los suelos rizosféricos de plantas medicinales, De la Rosa-Mera et al. (2012) registraron especies de *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Glomus* y *Scutellospora* en suelos de 13 plantas medicinales de Adiantaceae, Apiaceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Phytolaccaceae, Plantaginaceae, Polygonaceae y Rosaceae.

Wang y Jiang (2015) trabajaron con los suelos rizosféricos de 20 plantas medicinales de Araceae, Blechnaceae, Chloranthaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Lygodiaceae, Melastomataceae, Myrsinaceae, Poaceae, Polygonaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Selaginellaceae, Urticaceae y Zingiberaceae en los cuales

observaron especies de *Acaulospora*, *Archaeospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Funneliformis*, *Scutellospora*, *Septoglosum* y *Rhizophagus*.

En India, Thapa et al. (2015) y Rajkumar et al. (2012) examinaron suelos de plantas medicinales de Acanthaceae, Adiantaceae, Amaranthaceae, Apiaceae, Apocynaceae, Aristolochiaceae, Asteraceae, Asclepiadaceae, Caesalpiniaceae, Costaceae, Crassulaceae, Dioscoreaceae, Euphorbiaceae, Gentianaceae, Lamiaceae, Menispermaceae, Piperaceae, Plumbaginaceae, Rubiaceae, Smilacaceae, Solanaceae, Sterculiaceae donde aislaron especies de *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Pacispora*, *Paraglosum* y *Scutellospora*.

Zubek et al. (2013) indicaron que las comunidades de HMA establecidas en los suelos de cinco plantas medicinales de Apiaceae, Hypericaceae, Lamiaceae y Papaveraceae están conformadas por especies de *Archaeospora*, *Claroideoglosum*, *Diversispora*, *Funneliformis*, *Glomus*, *Paraglosum*, *Scutellospora* y *Septoglosum*.

Por lo anterior, conocer las comunidades de HMA asociadas a los suelos rizosféricos de las plantas medicinales del bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero como *Adiantum capillus-veneris* L., *Baccharis conferta* K., *Gnaphalium viscosum* K., *Loeselia mexicana* (Lam.) B., *Plantago major* L., *Salvia lavanduloides* K., *Sedum oxypetalum* H.B.K., *Selaginella lepidophylla* S., *Senecio salignus* DC. y *Senecio stoechadiformis* DC. permitirá contestar las siguientes preguntas: ¿qué familias, géneros y especies conforman las comunidades de HMA asociadas a las diez plantas medicinales? ¿cuál es la semejanza de las comunidades de HMA asociadas a las diez plantas medicinales? ¿las propiedades químicas de los suelos rizosféricos de las especies medicinales estudiadas son similares? y ¿las propiedades químicas de los suelos rizosféricos influyen en la abundancia y riqueza de las especies de HMA? Además, es posible que estos puedan ser los primeros registros para los bosques templados de Guerrero.

IV. HIPÓTESIS

Las especies medicinales crecen en sitios marginales del bosque templado de Agua Escondida, estas especies modifican las propiedades de los suelos rizosféricos en los que se establecen y desarrollan, promoviendo de esta manera comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares particulares.

V. OBJETIVOS

5.1 General

Estudiar las comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares que se asocian a los suelos rizosféricos de diez plantas medicinales del bosque templado de Agua Escondida.

5.2 Particulares

Analizar la diversidad de especies de HMA asociados al suelo rizosférico de las diez especies medicinales.

Estudiar la similitud de especies de HMA entre los suelos rizosféricos de las diez plantas medicinales.

Examinar las condiciones edáficas (pH, materia orgánica, nitrógeno total y fósforo asimilable) de los suelos rizosféricos de las especies medicinales.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Zona de estudio

El municipio de Taxco de Alarcón representa el 1.3% de la superficie del estado de Guerrero (Figura 1) ubicado entre los paralelos 18° 21' y 18° 41' de latitud norte; los meridianos 99° 25' y 99° 47' de longitud oeste; altitud entre 700 y 2600 m. El municipio colinda al norte con los municipios de Tetipac, Pilcaya y el estado de Morelos; al este con el estado de Morelos y el municipio de Buenavista de Cuellar; al sur con los municipios Buenavista de Cuellar, Iguala de la Independencia, Teloloapan e Ixcateopan de Cuauhtémoc; al oeste con los municipios de Ixcateopan de Cuauhtémoc, Pedro Ascencio Alquisiras y Tetipac (INEGI, 2009). Las rocas dominantes son turbiditas plegadas con abundantes fósiles del Cretácico Tardío, donde aflora un bloque de rocas foliadas constituido de depósitos volcánicos, terrígenos y calizas, deformados por un metamorfismo de bajo grado (Campa-Uranga et al., 2012).

La hidrología del municipio consta de arroyos y ríos poco caudalosos que forman parte de las subcuencas río Alto Amacuzac y río Cocula. Las corrientes de agua permanentes son: Acatlán, Almolonga, Amacuzac, Campuzano, Chitosto, El Añil, Encino Solo, La Trampa, Plan de Campos, San Juan, San Pedro Atengo, Taxco, Temixco y Zacapalco. Mientras que las intermitentes son: Axixintla, Capulines, El Añil, El Limón, Granadas, Grande, Huixteco, La Cueva de la Vieja, La Gotera, Landa, Las Bocas, Los Aguacates, Los Naranjos, Marmajita, San Jerónimo, San Juan, Taxco y Zapotitla (INEGI, 2009).

El clima predominante en el municipio es cálido subhúmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual registrada en las estaciones meteorológicas de la zona es mayor a 22° C y la precipitación media anual varía de 800 a 1000 mm; en las partes altas de la sierra se presenta el clima semicálido subhúmedo con lluvias en verano; la temperatura media anual oscila entre 18 y 22° C (INEGI, 1991).

Al centro y sur del municipio se extiende la zona en que predominan los suelos rendzinas: ricos en cal, muy arcillosos y aptos para cierto tipo de cultivos; al centro y noreste se presentan los suelos cambisol: poco desarrollados, susceptibles a la erosión y poco aptos para la actividad agrícola; al norte y noreste se extienden los vertisoles que por su alto contenido de arcilla son poco aptos para construcción y agricultura (INEGI, 1991).

El tipo de vegetación predominante es el bosque de *Quercus*, frecuentemente asociado con coníferas; sin embargo, se encuentra también bosque tropical caducifolio, bosque mesófilo de montaña, bosque de coníferas y algunas porciones de bosque de galería (Martínez et al., 2004).

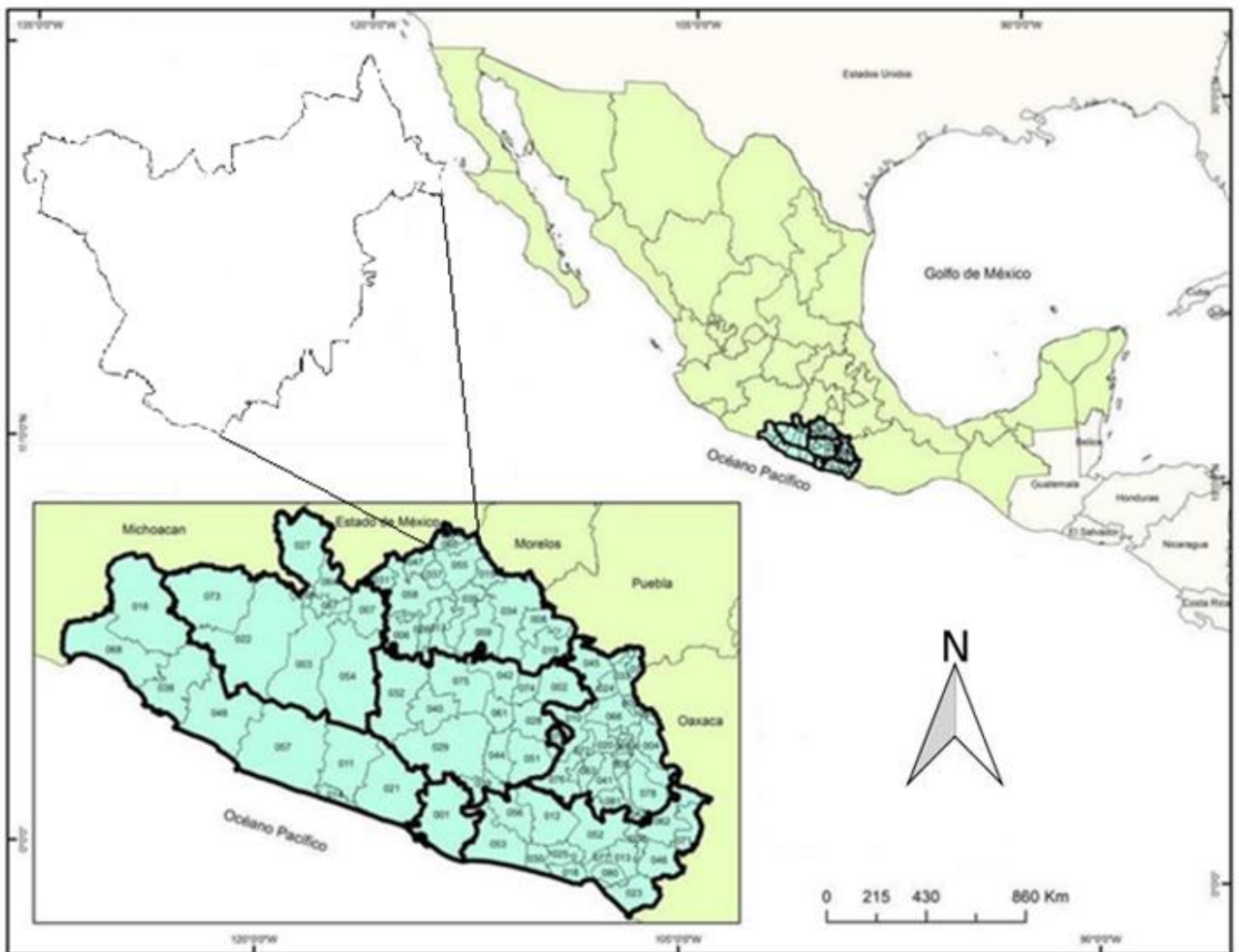


Figura 1. Localización de la zona de estudio.

6.2 Campo

Muestreo de suelo. Se arribó al bosque de pino-encino de la localidad de Agua Escondida Taxco, Guerrero durante los meses de marzo, mayo y junio del año 2015 y en febrero y agosto del año 2016 donde se recolectaron 150 g de muestra de suelo de cinco individuos de las diez especies vegetales registradas como medicinales: *Adiantum capillus-veneris*, *Baccharis conferta*, *Gnaphalium viscosum*, *Loeselia mexicana*, *Plantago major*, *Salvia lavanduloides*, *Sedum oxypetalum*, *Selaginella lepidophylla*, *Senecio salignus* y *Senecio stoechadiformis*. Se procuró que la separación entre plantas de la misma especie fuera de al menos cinco metros y que cada planta estuviera aislada con el fin de que el suelo no tuviera influencia de las plantas aledañas. Para el muestreo de suelo se eliminaron los residuos frescos de materia orgánica. Enseguida cada muestra se empacó en bolsas ziploc y se rotuló.

Se colocaron en una hielera con el fin de que disminuyera el metabolismo de los microorganismos del suelo, incluyendo los HMA y que no se deterioraran las esporas. Una vez en el laboratorio las muestras de suelo se secaron a temperatura ambiente y se almacenaron en un refrigerador para su posterior procesamiento y revisión. Al mismo tiempo de muestrear el suelo, se colectaron y herborizaron especímenes de cada planta con el fin de ratificar su identidad taxonómica.

6.3 Laboratorio

Extracción y evaluación de la densidad de esporas de los HMA. La extracción de esporas del suelo se realizó por los métodos de tamizado y decantación en húmedo y centrifugación con gradiente de sacarosa modificadas por Hernández-Cuevas et al. (2008). Se pesaron 50 g de suelo seco que se colocaron en un vaso de agitación al que se le adicionó agua para realizar una agitación mecánica durante 5 minutos, se dejó reposar de 2 a 3 min. Enseguida se decantó el sobrenadante en un tamiz de 105 y 44 μm y se lavó con abundante agua para recuperar el máximo de esporas. La fracción obtenida en ambos tamices se colocó en tubos para centrifugarlos con agua a 2000 rpm por 5 min, se eliminó el

sobrenadante de cada tubo (esporas muertas y restos de materia orgánica) y se les adicionó una solución sacarosa al 60%. Se centrifugó a 1000 rpm durante 5 min, al terminar se decantó la solución de cada tubo en un tamiz de 105 y 44 μ (donde se esperaba encontrar las esporas viables de los HMA). Se lavó la muestra con abundante agua para eliminar el exceso de sacarosa y se colocó en una caja Petri con agua destilada. Con la ayuda de un estereoscopio de disección se realizó el conteo y selección de esporas de los HMA, agrupándolos de acuerdo con su forma, color, tamaño, presencia o ausencia de hifa, entre otras.

Elaboración de preparaciones permanentes para la determinación taxonómica de los HMA. Con las esporas aisladas y seleccionadas se prepararon laminillas permanentes, para ello se colocaron todas las esporas extraídas en un portaobjetos, se instaló la mitad de las esporas en una solución de alcohol polivinílico, ácido láctico y glicerol (PVLG) (Ver Anexo). A la otra parte se le adicionó PVLG más el reactivo de Melzer proporción 1:1 (este reactivo se utiliza para observar la reacción de la pared de las esporas y determinar, con ayuda de un microscopio óptico, el número de capas que conforman la pared, estructuras como escudos de germinación y otros elementos adicionales que permite su determinación taxonómica basado en la morfología) (Ver Anexo).

Se dejó espacio suficiente en un extremo del portaobjetos para colocar una etiqueta con los siguientes datos: nombre científico, número de muestra, fecha del muestreo y zona de estudio. Se dejaron secar las preparaciones durante 24-48 h en una estufa modelo VWR 1500E Incubator a 40° y 45° C en posición horizontal, posteriormente se observaron las preparaciones al microscopio. Con base en la observación de las características morfológicas y con las claves taxonómicas disponibles en la página web <http://invam.caf.wvu.edu/> se determinaron las especies presentes en cada suelo, este procedimiento se realizó para todos los suelos de cada especie vegetal con sus cinco repeticiones cada una. Las propiedades químicas del suelo así como el porcentaje de materia orgánica se evaluaron aplicando los métodos sugeridos por la NOM-021-RECNAT-2000.

Materia orgánica. Se tamizaron 10 g de suelo en una malla de 2 mm, se tomaron 0.1 g para colocarlo en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se añadieron 5 mL de dicromato de potasio 1N, enseguida se agitó esta solución. Se agregaron 10 mL de ácido sulfúrico concentrado, se agitó durante 1 min, se dejó reposar por 30 min (tiempo necesario para que se enfriara). Se adicionaron 100 mL de agua destilada, al enfriarse esta mezcla se añadieron 5 mL de ácido fosfórico concentrado, 0.05 de fluoruro de sodio y 15 gotas de difenilamina. Se tituló con sulfato ferroso 0.5 N. Para la valoración de la solución de sulfato ferroso, se corrió una prueba en blanco (Ver **Anexo**).

Fósforo extractable (Bray-1). Se pesaron 0.5 g de suelo tamizado y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se adicionaron 10 mL de la solución extractora Bray-1 y se cubrió el matraz con un tapón de corcho. Se agitó a 180 r.p.m en posición horizontal durante 5 min, después se empacaron embudos con algodón estéril y se filtró la solución en tubos de ensayo 25x200 mm. Para el desarrollo del color se tomaron 0.5 mL del extracto, se agregaron 10.5 mL de agua destilada, 4 mL de ácido ascórbico, 10 mL de agua destilada y después de 10 min se leyó a 882 nm en el espectofotómetro (Ver **Anexo**).

Nitrógeno total por el método microKjeldhal, incluyendo el NO_3^{-1} . Se colocaron 0.25 g de suelo tamizado en un matraz Kjeldhal, se agregaron 4 mL de mezcla ácido sulfúrico-salicílico. Después de 30 min se adicionaron 0.1 g de la mezcla catalizadora, se dejó reposar durante 12 h y se calentó a temperatura media alta hasta que el digestado se tornó ligeramente claro, cabe mencionar que lo ideal es que se torne totalmente claro. Se dejó enfriar y se añadió agua destilada sólo la necesaria para colocar el digestado en suspensión mediante agitación, este se transfirió al equipo de destilación y se agregaron 15 mL de NaOH 50%. Se procedió a la destilación para lo cual se recibió el destilado en 10 mL de ácido bórico al 4% y 0.2 mL de mezcla de indicador verde de bromocresol-rojo de metilo y se llevó hasta un volumen de 50 mL, finalmente se tituló con ácido sulfúrico 0.05N, hasta un tono levemente rosado de la solución (Ver **Anexo**).

pH. Se colocaron 10 g de suelo seco en un vaso de precipitados de 50 mL, se agregaron 20 mL de agua destilada y con una varilla de vidrio se agitó la mezcla a intervalos de 5 min, durante media hora. En seguida se dejó reposar aproximadamente 15 minutos.

El potenciómetro marca Conductronic Pc-18 se calibró con una solución buffer de pH 4 posteriormente con una piseta se lavaron los electrodos y con papel filtro se quitó el exceso de agua. Después de este tiempo se registró el pH introduciendo los electrodos en la suspensión de suelo.

6.4 Análisis estadístico

Para evaluar la diversidad de especies se utilizó el índice de **Shannon-Wiener**:

$$H' = -\sum p_i \cdot \ln p_i$$

Donde:

$$p_i = \frac{n_i}{N} \text{ Abundancia relativa de especie } i$$

Para evaluar la dominancia de especies se utilizó el índice de **Simpson**:

$$\lambda = \sum p_i^2$$

Para evaluar la equitatividad de las especies se utilizó el índice de **Pielou**:

$$J' = \frac{H'}{H'_{max}}$$

Donde:

$$H'_{max} = \ln S \text{ y } S = \text{número de especies}$$

Los datos correspondientes a la riqueza de especies, abundancia de esporas, diversidad de especies y propiedades químicas del suelo se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), seguidamente aquellas que arrojaron diferencias

estadísticamente significativas se analizaron mediante una prueba de Tukey a un nivel de significancia del 0.05.

Para determinar diferencias entre las comunidades de HMA en las plantas medicinales se realizó un análisis de similitud con el índice de Morisita para grupos pareados. Los softwares utilizados fueron el programa NCSS versión 2007 y PAST3.

VII. RESULTADOS

7.1 Composición de especies de HMA

En total se inventariaron 30 especies; las cuales pertenecen a siete familias y diez géneros, de ellas 28 se determinaron a nivel de especie (seis de ellas quedaron como afín) y sólo dos hasta género. El 76.66% de las especies correspondieron a las familias Acaulosporaceae, Glomeraceae y Gigasporaceae; el 23.32% de las especies restantes, se ubicaron en Claroideoglomeraceae, Ambisporaceae, Diversisporaceae y Archaeosporaceae. El género mejor representado fue *Acaulospora* con 12 especies; seguido de *Claroideoglosum*, *Gigaspora* y *Glomus* con tres especies; *Ambispora*, *Funneliformis* y *Scutellospora* con dos especies y *Diversispora*, *Entrophospora* y *Sclerocystis* con una especie (Cuadro 1).

Cuadro 1. Especies de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) registradas en la rizósfera de las plantas medicinales del bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero.

Familia	Especie botánica										
	Acv	Bc	Gv	Lm	Pm	Sl	So	Sle	Ssa	Sst	
Hongo micorrizógeno arbuscular											
Acaulosporaceae											
<i>Acaulospora aff. cavernata</i> Blaszk		X									
<i>A. aff. undulata</i> Sieverd							X	X			
<i>A. alpina</i> Oehl, Sýkorova & Sieverd	X	X						X		X	
<i>A. bireticulata</i> F.M. Rothwell & Trappe		X	X	X	X	X	X	X	X	X	
<i>A. denticulata</i> Sieverd. & S. Toro	X		X				X	X	X	X	
<i>A. koskei</i> Blaszk	X	X	X		X	X	X			X	
<i>A. laevis</i> Gerd. & Trappe	X	X	X	X	X	X	X		X	X	
<i>A. morrowiae</i> Spain & N. C. Schenck			X	X	X	X			X	X	
<i>A. scrobiculata</i> Trappe	X	X									
<i>A. sp. 1</i>					X						
<i>A. sp. 2</i>					X		X	X			
<i>A. spinosa</i> C. Walker & Trappe	X	X	X	X	X	X	X	X		X	

Cuadro 1. Continuación

Familia	Especie botánica									
	Acv	Bc	Gv	Lm	Pm	Sl	So	Sle	Ssa	Sst
Hongo micorrizógeno arbuscular										
Ambisporaceae										
<i>Ambispora appendicula</i> C. Walker		X	X				X	X		X
<i>A. fennica</i> C. Walker, Vestberg & Schuessler	X	X		X		X	X	X	X	X
Archaeosporaceae										
<i>Entrophospora infrequens</i> R. N. Ames & R. W. Schneid		X		X	X					
Claroideoglomeraceae										
<i>Claroideoglo mus</i> aff. <i>drummondii</i> C. Walker & Schuessler			X							
<i>C. claroideum</i> C. Walker & Schuessler	X								X	
<i>C. etunicatum</i> C. Walker & Schuessler			X					X	X	
Diversisporaceae										
<i>Diversispora</i> aff. <i>trimurales</i> C. Walker & Schuessler									X	
Gigasporaceae										
<i>Gigaspora decipiens</i> I. R. Hall & L. K. Abbott				X			X	X	X	
<i>G. gigantea</i> Gerd. & Trappe		X								
<i>G. margarita</i> W. N. Becker & I. R. Hall										X
<i>Scutellospora dipurpurescens</i> J. B. Morton & Koske		X	X	X			X			
<i>S. scutata</i> C. Walker & Dieder			X				X			X
Glomeraceae										
<i>Funneliformis</i> aff. <i>geosporum</i> C. Walker & Schuessler	X									
<i>F.</i> aff. <i>monosporum</i> Gerd. & Trappe		X								
<i>Glomus arenarium</i> Blaszk., Tadych & Madej			X					X		
<i>G. macrocarpum</i> Tul. & C. Tul.	X	X				X				
<i>G. spinuliferum</i> Sieverd. & Oehl	X	X	X			X				X
<i>Sclerocystis rubiformis</i> Gerd. & Trappe										X
Riqueza total	11	15	13	8	8	8	12	11	9	13

Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus* y Sst=*Senecio stoechadiformis*.

Del total de especies de HMA registradas, tres estuvieron presentes en nueve de las plantas medicinales: *Acaulospora bireticulata* (excepto en *Adiantum capillus-veneris*), *A. laevis* (excepto en *Selaginella lepidophylla*) y *A. spinosa* (excepto en *Senecio salignus*). Por el contrario, *Funneliformis* aff. *geosporum* sólo se recuperó de la rizósfera de *Adiantum capillus-veneris*. De la misma manera sucedió con *Claroideoglopus* aff. *drummondii*, *A. sp. 1* y *Diversispora* aff. *trimurales*, que se aislaron exclusivamente de la rizósfera de *Gnaphalium viscosum*, *Plantago major* y *Senecio salignus* respectivamente. Otras tres especies de HMA sólo se encontraron en la rizósfera de *Baccharis conferta* (*A. aff. cavernata*, *Gigaspora gigantea* y *Funneliformis* aff. *monosporum*) y dos más únicamente se hallaron en la rizósfera de *Senecio stoechadiformis* (*Gigaspora margarita* y *Sclerocystis rubiformis*).

Durante el primer año de muestreo se inventariaron 26 de las 30 especies de HMA, 14 de ellas se presentaron tanto en la estación de secas como en la de lluvias: *Acaulospora alpina*, *A. bireticulata*, *A. denticulata*, *A. koskei*, *A. laevis*, *A. morrowiae*, *A. spinosa*, *Ambispora appendicula*, *A. fennica*, *Entrophospora infrequens*, *Claroideoglopus claroideum*, *C. etunicatum*, *Scutellospora dipurpurescens* y *Glomus arenarium*, mientras que, *A. aff. undulata*, *A. sp. 2* y *Gigaspora decipiens* fueron las especies que se aislaron exclusivamente en la estación de lluvias. Otras nueve especies (*A. aff. cavernata*, *A. scrobiculata*, *Claroideoglopus* aff. *drummondii*, *Scutellospora scutata*, *Funneliformis* aff. *geosporum*, *F. aff. monosporum*, *Glomus macrocarpum*, *G. spinuliferum* y *Sclerocystis rubiformis*), se aislaron únicamente durante la estación de secas.

En el siguiente año se registraron 22 de las 30 especies de HMA, 16 de ellas presentes en la estación de secas: *Acaulospora alpina*, *A. bireticulata*, *A. koskei*, *A. laevis*, *A. morrowiae*, *A. scrobiculata*, *A. sp. 1*, *A. sp. 2*, *Entrophospora infrequens*, *Claroideoglopus etunicatum*, *Diversispora* aff. *trimurales*, *Gigaspora gigantea*, *G. margarita*, *Scutellospora dipurpurescens*, *S. scutata* y *Glomus spinuliferum* contrario a la estación de lluvias durante la cual se reportó sólo la

especie *A. aff. undulata*. Las especies registradas en ambas estaciones fueron: *A. denticulata*, *A. spinosa*, *Ambispora appendicula*, *A. fennica* y *Gigaspora decipiens*.

7.2 Riqueza de especies de HMA

Las cuatro plantas medicinales que presentaron riqueza total mayor que 11 especies de HMA en su rizósfera fueron: *Baccharis conferta* (15 spp.), *Gnaphalium viscosum* (13 spp.), *Sedum oxypetalum* (12 spp.) y *Senecio stoechadiformis* (13 spp.) (Cuadro 1), las seis especies restantes tuvieron menos de nueve especies de HMA. La riqueza media de especies varió entre 2 en *Loeselia mexicana* y 5.4 en *Baccharis conferta* (figura 2).

El ANOVA indicó que las medias entre las plantas medicinales no son significativamente diferentes con una $F= 1.98$ y $P=0.06$.

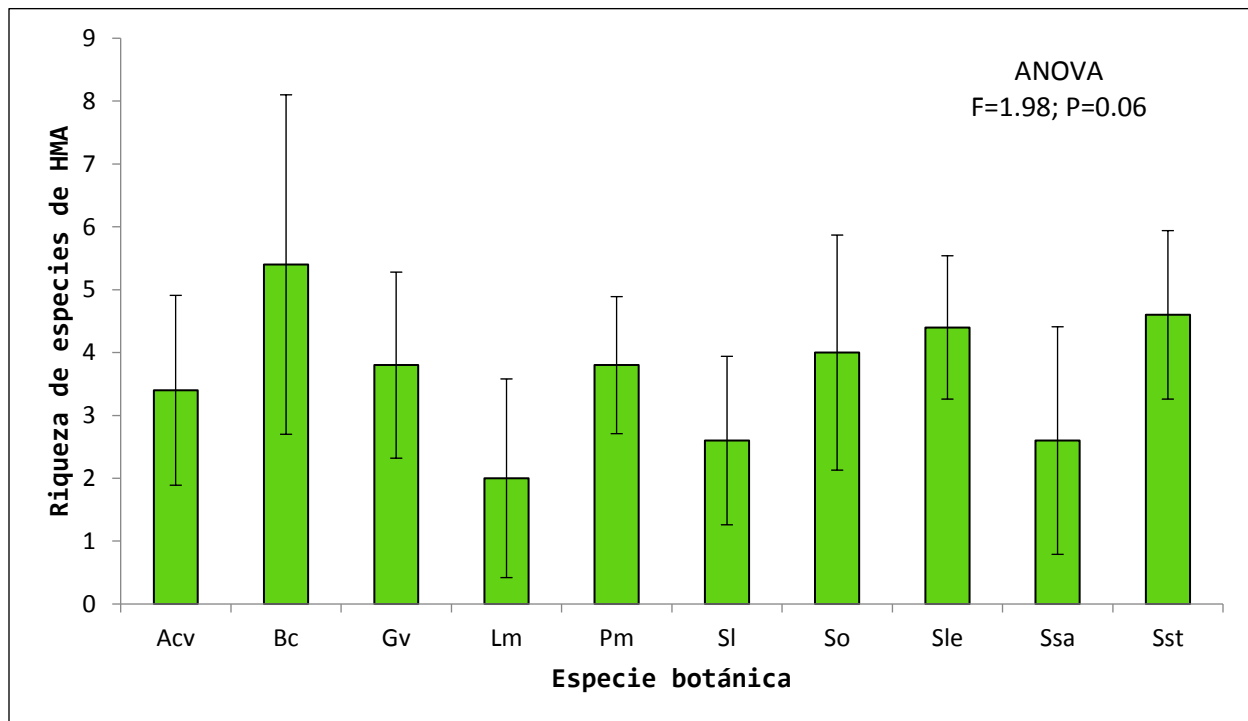


Figura 2. Riqueza promedio de especies de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales estudiadas del bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero. $n= 5$. Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus* y Sst=*Senecio stoechadiformis*.

En relación con la riqueza total de especies de HMA presentes en la rizósfera de las plantas medicinales durante la temporada de lluvias y secas, 16 de las 30 especies de HMA se registraron en ambas temporadas, 13 únicamente se hallaron en la temporada de secas y una especie fue exclusiva de la temporada de lluvias.

7.3 Densidad de esporas de HMA

La densidad de esporas de HMA promedio varió entre 27.6 y 140.8 por 100 g de suelo seco en *Sedum oxypetalum* y *Senecio salignus* respectivamente.

El ANOVA indicó que las medias entre las plantas medicinales no son significativamente diferentes con una $F= 1.5$ y $P=0.18$.

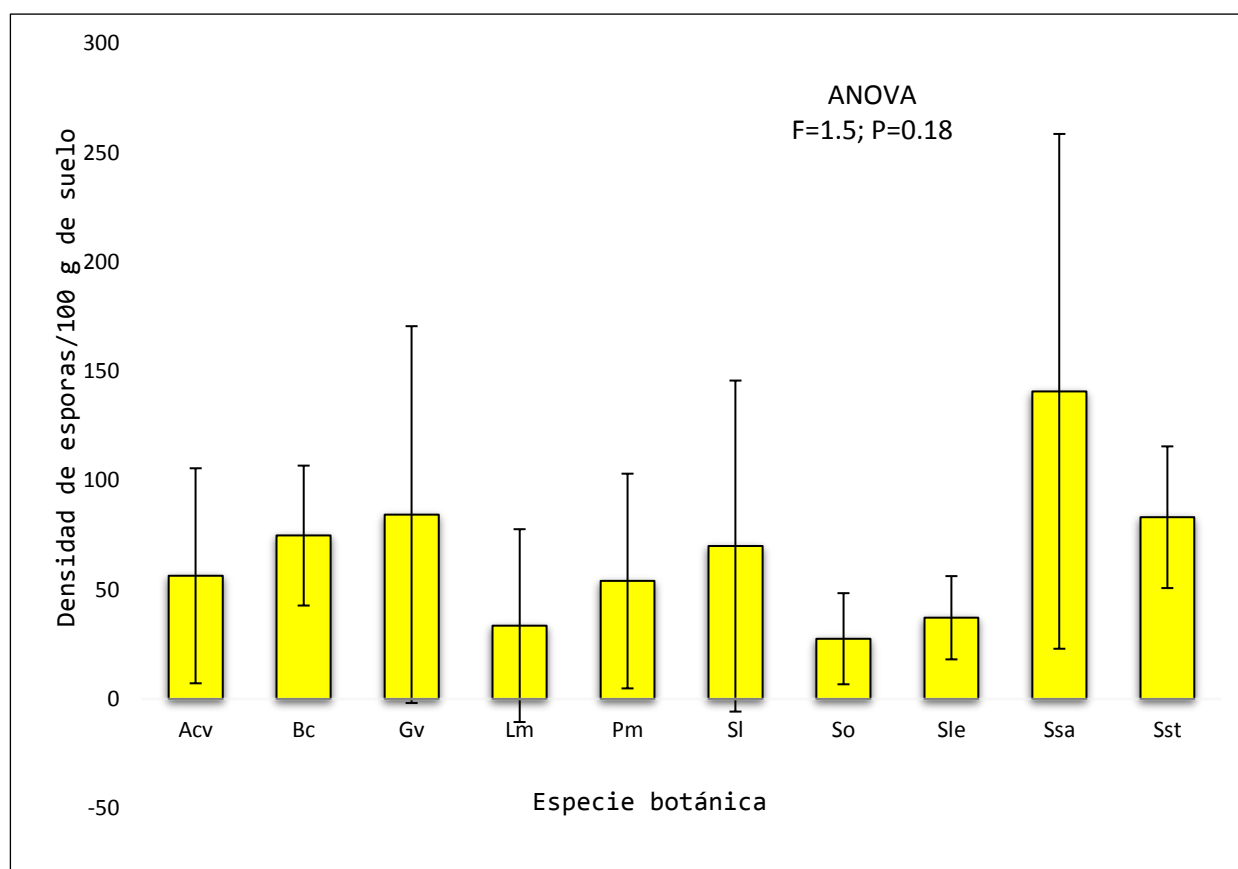


Figura 3. Densidad de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales estudiadas del bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero. $n=5$. Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus* y Sst=*Senecio stoechadiformis*.

7.4 Abundancia relativa de los HMA

La **figura 4** presenta la abundancia relativa de las especies de HMA presentes en la rizósfera de las plantas medicinales. En *Baccharis conferta*, *Loeselia mexicana* y *Salvia lavanduloides*, la especie de HMA más abundante fue *Acaulospora bireticulata*, sin embargo, en *Sedum oxypetalum* fue la que registró abundancia menor. En *Gnaphalium viscosum*, *Plantago major* y *Senecio stoechadiformis* el HMA más abundante fue *Acaulospora morrowaiae*, no obstante, dicha especie presentó menor abundancia en *Salvia lavanduloides*. En *Sedum oxypetalum*, *Selaginella lepidophylla* y *Senecio salignus* las especies más abundantes fueron *Gigaspora decipiens*, *Acaulospora denticulata* y *Claroideoglopus claroideum* respectivamente. En dicha figura también se observa que *Acaulospora alpina* fue más abundante en *Adiantum capillus-veneris*, pero menos abundante en *Baccharis conferta* y *Senecio stoechadiformis*. Además, *Acaulospora spinosa* fue la especie con menor abundancia en *Loeselia mexicana* y *Adiantum capillus-veneris*. *Acaulospora denticulata* tuvo menor abundancia en *Gnaphalium viscosum* y *Senecio salignus*. *Entrophospora infrequens* y *Acaulospora* aff. *undulata* fueron los HMA que cantidad menor de esporas se registraron en el suelo rizósferico de *Plantago major* y *Selaginella lepidophylla* respectivamente.

En general las especies de HMA con menor abundancia fueron *Acaulospora* aff. *cavernata*, *Acaulospora* sp. 1, *Claroideoglopus* aff. *drummondii*, *Funneliformis* aff. *geosporum* y *Sclerocystis rubiformis*.

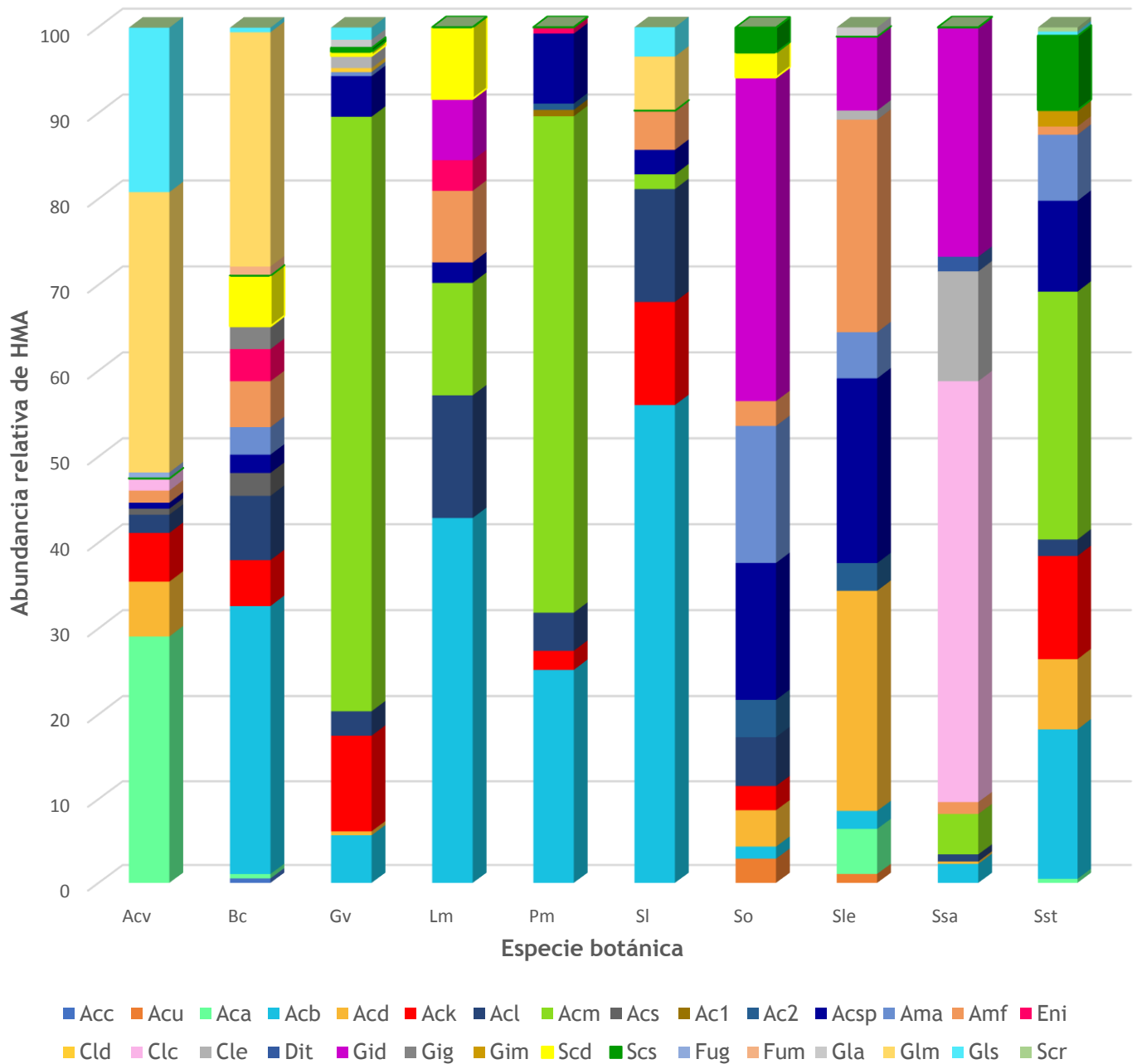


Figura 4. Abundancia relativa de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales estudiadas del bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero. Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus*, Sst=*Senecio stoechadiformis*, Acc=*Acaulospora cavernata*, Acu=*A. aff. undulata*, Aca=*A. alpina*, Acb=*A. bireticulata*, Acd=*A. denticulata*, Ack=*A. koskei*, Acl=*A. laevis*, Acm=*A. morrowiae*, Acs=*A. scrobiculata*, Ac1=*A. sp1*, Ac2=*A. sp2*, Acsp=*A. spinosa*, Ama=*Ambispora appendicula*, Amf=*A. fennica*, Eni=*Entrophospora infrequens*, Cld=*Claroideoglossum aff. drummondii*, Clc=*C. claroideum*, Cle=*C. etunicatum*, Dit=*Diversispora aff. trimurales*, Gid=*Gigaspora decipiens*, Gig=*G. gigantea*, Gim=*G. margarita*, Scd=*Scutellospora dipurpurea*, Scs=*S. scutata*, Fug=*Funneliformis aff. geosporum*, Fum=*Funneliformis aff. monosporum*, Gla=*Glomus arenarium*, Glm=*G. macrocarpum*, Gls=*G. spinuliferum* y Scr=*Sclerocystis rubiformis*.

7.5 Diversidad, dominancia y equitatividad

Se utilizó el índice de Shannon-Wiener (H') como estimador de la diversidad de HMA. La comunidad de HMA más diversa se registró en *Selaginella lepidophylla* ($H'=1.16$), *Baccharis conferta* ($H'=1.13$), *Sedum oxypetalum* ($H'=1.12$) y *Senecio stoechadiformis* ($H'=1.02$) mientras que *Senecio salignus* ($H'=0.51$) y *Loeselia mexicana* ($H'=0.56$) presentaron los valores más bajos indicando una comunidad de hongos micorrizógenos arbusculares menos diversa (figura 5).

El ANOVA indicó que las medias entre las plantas medicinales no son significativamente diferentes con una $F= 1.4$ y $P=0.22$.

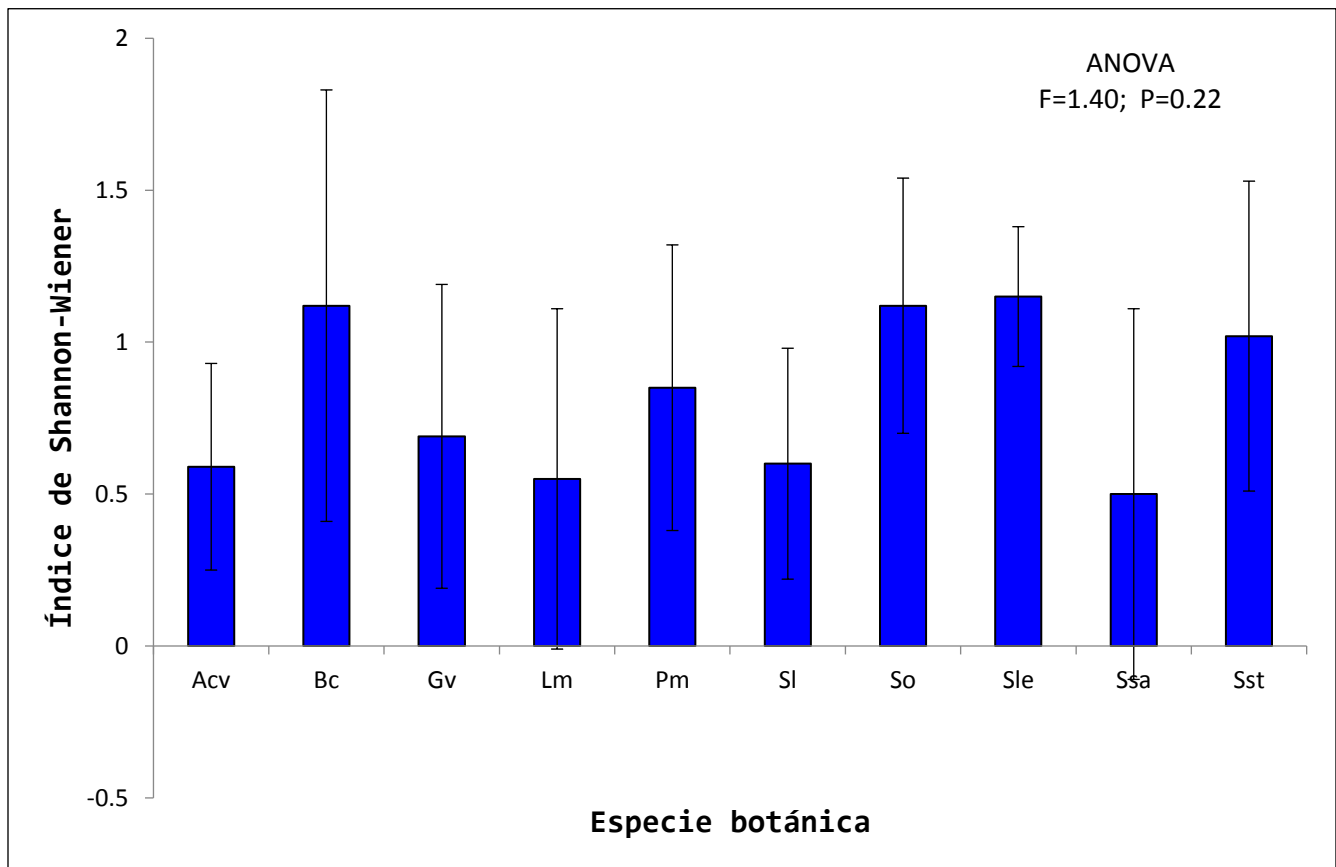


Figura 5. Índice de diversidad de Shannon-Wiener para los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales del bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero. Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus* y Sst=*Senecio stoechadiformis*.

Por lo que se refiere al Índice de Dominancia de Simpson (D), las plantas medicinales que presentaron dominancia de alguna especie de HMA fueron: *Senecio salignus* (D=0.72), *Adiantum capillus-veneris* (D=0.69) y *Gnaphalium viscosum* (D=0.64). No se registró dominancia en *Selaginella lepidophylla* (D=0.38) y *Sedum oxypetalum* (D=0.37). Por otro lado, el Índice de equitatividad de Pielou (J') fue mayor en *Sedum oxypetalum* (J'=0.86) y *Selaginella lepidophylla* (J'=0.80), mientras que, *Senecio salignus* (J'=0.42), *Adiantum capillus-veneris* (J'=0.49) y *Gnaphalium viscosum* (J'=0.50) presentaron menor equitatividad (figura 6 y figura 7).

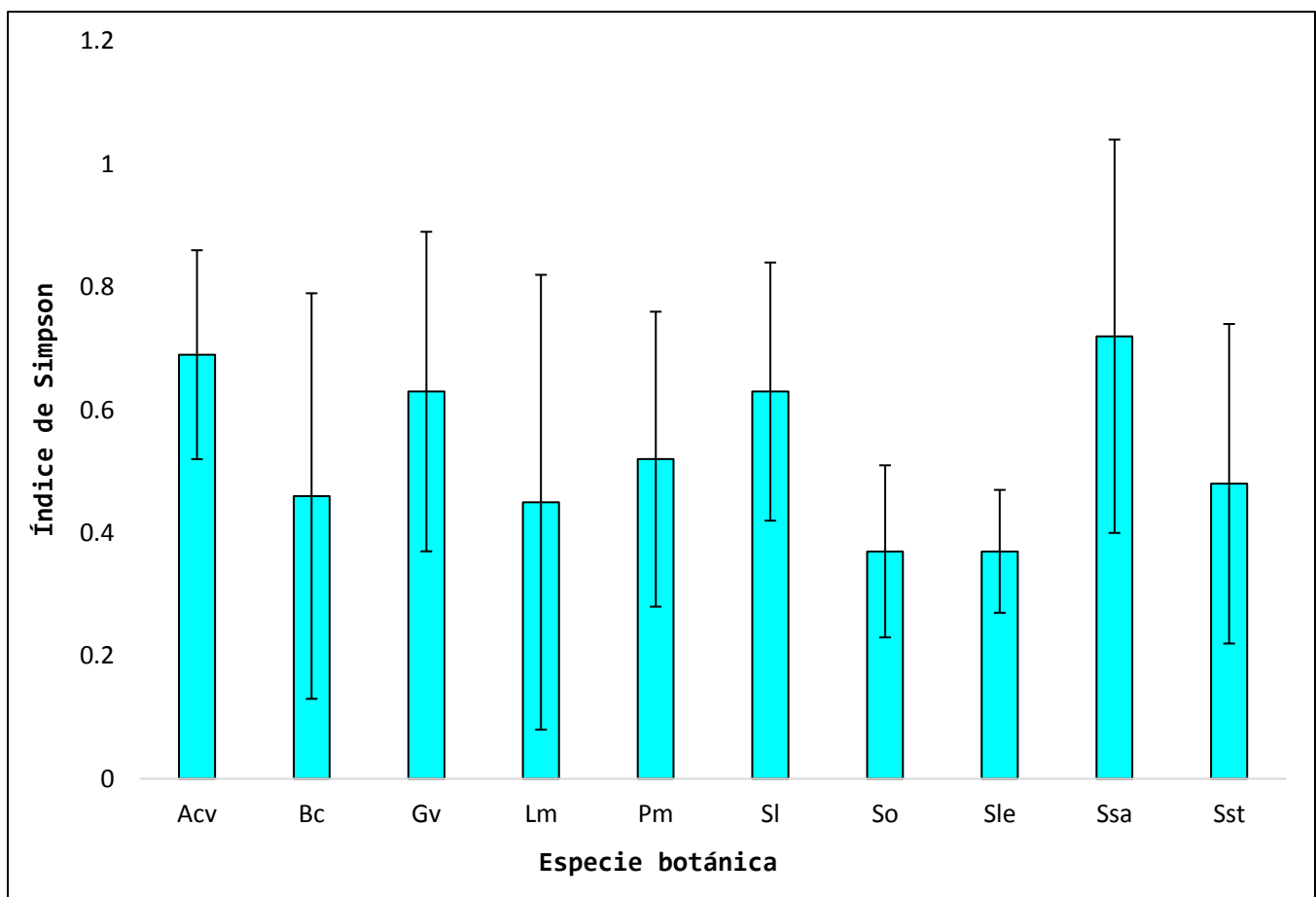


Figura 6. Dominancia de Simpson para los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales del bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero. Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus* y Sst=*Senecio stoechadiformis*.

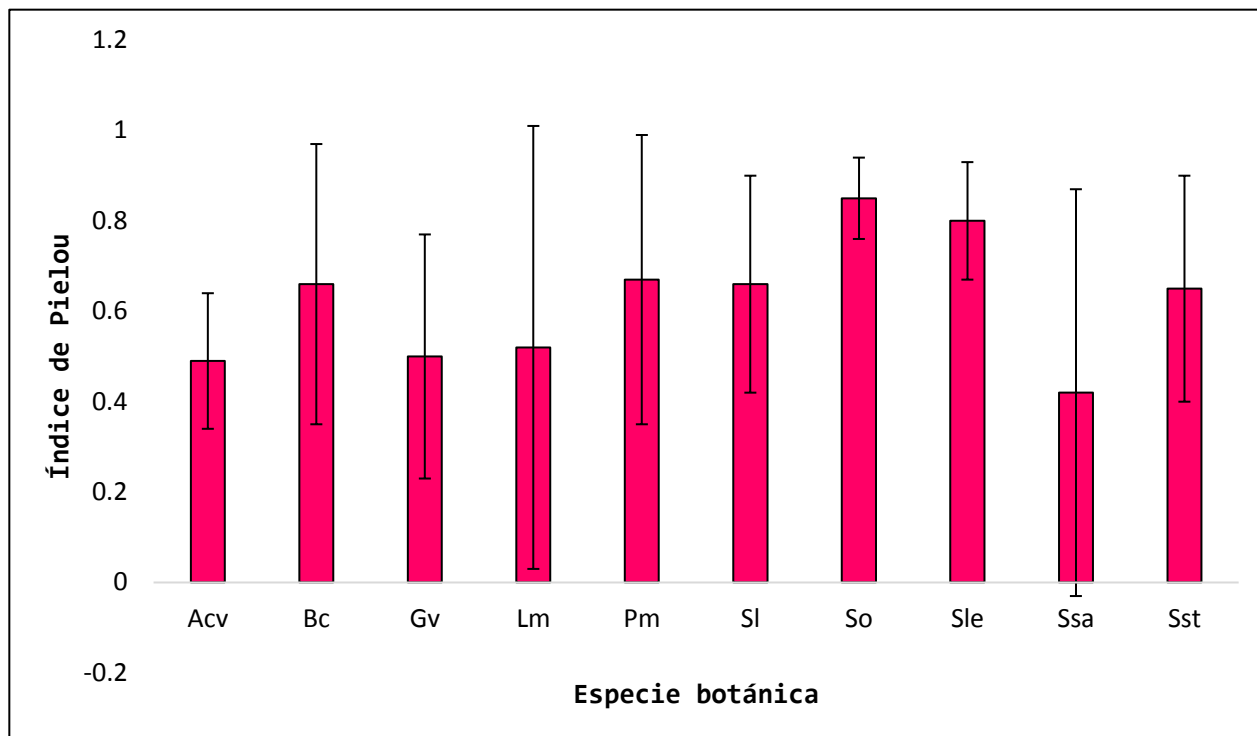


Figura 7. Índice de equitatividad de Pielou para los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) presentes en la rizósfera de las plantas medicinales del bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero. Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus* y Sst=*Senecio stoechadiformis*.

7.6 Índice de similitud de Morisita

El análisis de conglomerados formó un grupo del cual se distinguieron *Senecio salignus* muestra cinco y *Loeselia mexicana* muestra cuatro. El grupo se subdividió en seis subgrupos, el I está conformado por *Adiantum capillus-veneris*, *Baccharis conferta* y *Salvia lavanduloides* con el 91% de similitud; el II está constituido por *Adiantum capillus-veneris*, *Selaginella lepidophylla* y *Salvia lavanduloides* donde la muestra dos y tres de la primera especie presentaron un 99% de similitud. De la misma manera sucedió con *Senecio salignus* muestra tres y cuatro en el subgrupo III y *Baccharis conferta* muestra dos y *Salvia lavanduloides* muestra cuatro en el subgrupo VI.

En el V, la composición de especies de HMA entre muestras de *Baccharis conferta*, *Loeselia mexicana*, *Gnaphalium viscosum*, *Selaginella lepidophylla*,

Plantago major, *Sedum oxypetalum*, *Salvia lavanduloides* y *Senecio stoechadiformis* fue similar en un 16%, sin embargo, fue *Gnaphalium viscosum* muestra dos y *Selaginella lepidophylla* muestra dos que tuvieron mayor similitud (88%). En el IV, *Gnaphalium viscosum* muestra uno presentó una similitud de aproximadamente el 100% con *Plantago major* muestra uno, *Loeselia mexicana* muestra cinco, *Gnaphalium viscosum* muestra cuatro y *Senecio stoechadiformis* muestra uno (Figura 8).

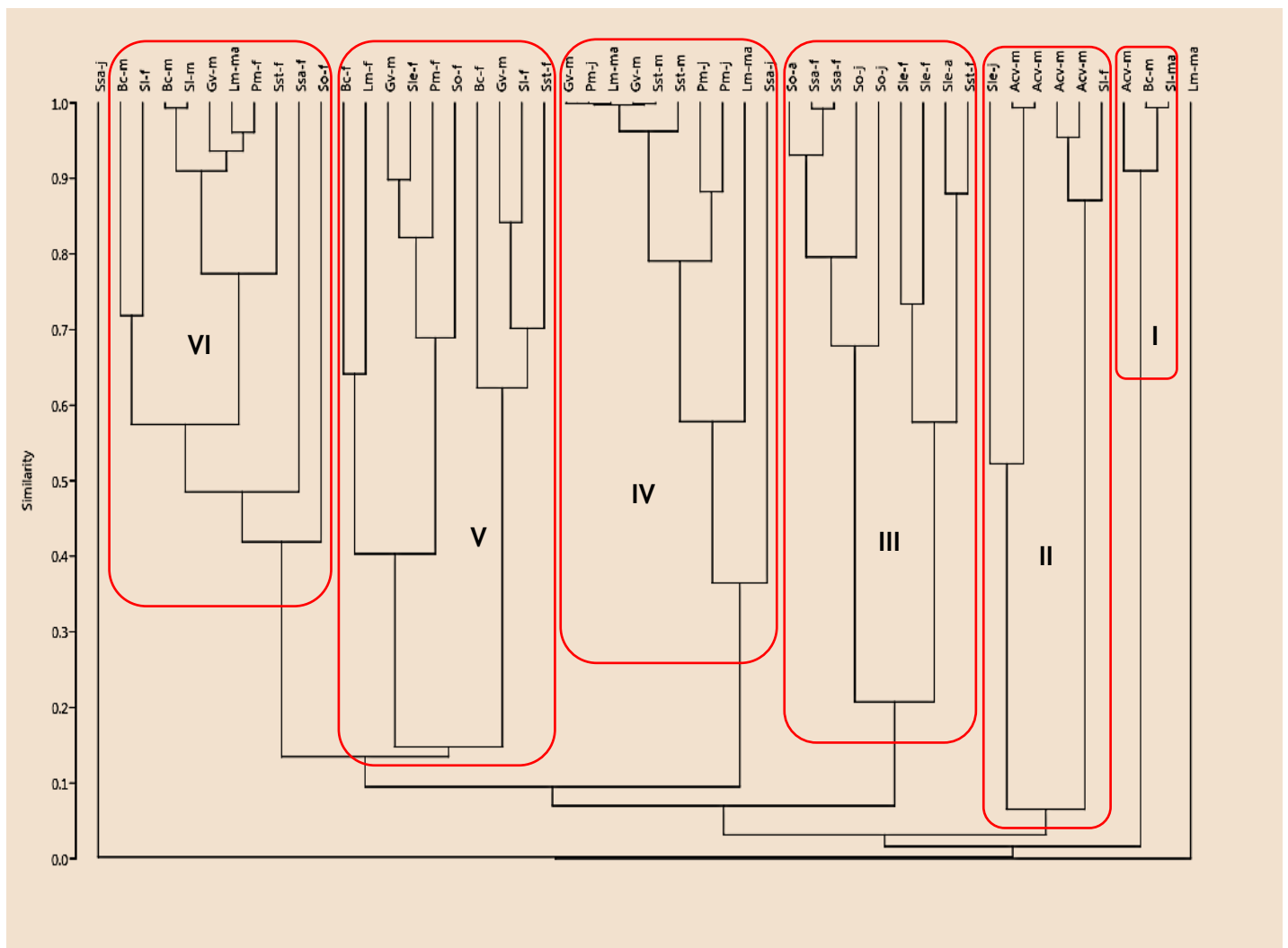


Figura 8. Análisis de similitud entre las plantas medicinales estudiadas del bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero en los meses de muestreo. Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus*, Sst=*Senecio stoechadiformis*, f=febrero, m=marzo, ma=mayo, j=junio y a= agosto.

7.7 Descripción de especies de HMA

Acaulospora aff. cavernata Blaszk

Esporas solitarias, amarillas, globosas, en ocasiones subglobosas. La estructura subcelular de las esporas con una pared externa y dos paredes internas de germinación. La externa contiene tres capas (sw1-3). La sw1 evanescente, hialina, continúa con la pared del sáculo esporífero. La sw2 amarilla, ornamentada con orificios redondos uniformes, la sw3 flexible, hialina, separándose fácilmente de la sw2.

La pared germinal 1 con dos capas estrechas, hialinas y semiflexibles (gw1l1-2). La pared germinal 2 con tres capas (gw2l1-3). La gw2l1 flexible, hialina y regularmente se desintegra en esporas trituradas. La gw2l2 flexible, hialina y coriácea. La gw2l3 hialina y se tiñe de color púrpura con el reactivo de Melzer.

Acaulospora alpina Oehl, Sýkorova & Sieverd

Esporas solitarias, amarillo pálidas a naranja intenso, globosas, formadas lateralmente sobre el cuello de la hifa del sáculo esporífero, cuando maduran se desprenden y presentan una cicatriz, estructura subcelular consta de una pared externa y dos paredes internas de germinación. La pared externa (sw1-3) con tres capas. La sw1 evanescente, hialina, usualmente muy deteriorada o completamente desgarrada en esporas maduras. La sw2 presenta ornamentada uniformemente con perforaciones de fondo cónico las cuales parecieran tener un punto central oscuro. La sw3 difícil de observar pues se encuentra adherida firmemente a la superficie inferior de la capa sw2.

La pared germinal 1 con dos capas hialinas semiflexibles (gw 1l1-2), difíciles de observar. La pared germinal 2 con tres capas hialinas adherentes (gw 2l1-3). Ninguna de las capas reacciona con el reactivo de Melzer; aunque Oehl et al. (2006) reportaron que en algunas esporas la capa gw 2l2 se tiñe de color rojo pastel (Figura 9).

***Acaulospora bireticulata* F.M. Rothwell & Trappe**

Esporas solitarias, marrón amarillentas, globosas, desarrolladas lateralmente sobre el cuello de la hifa del sáculo esporífero. El sáculo esporífero es hialino. La estructura subcelular de las esporas consta de una pared externa y dos paredes internas de germinación. La pared externa con tres capas (sw1-3). La sw1 evanescente, amarillo claro, continuo con el sáculo esporífero y ausente en esporas maduras. La sw2 ornamentada por retículos alveolados (circulares o irregulares) o poligonales (tetragonales, pentagonales o hexagonales), hialino, encerrados por crestas que forman proyecciones irregulares. La sw3 hialina y adherida a la sw2.

La pared germinal 1 con dos capas semi rígidas, hialinas (gw111-2). La pared germinal 2 con dos capas (gw211-2). La gw212 se tiñe de rojo pálido con el reactivo de Melzer (**Figura 9**).

***Acaulospora denticulata* Sieverd. & S. Toro**

Esporas solitarias, naranja-marrón, globosas, formadas lateralmente sobre el cuello de la hifa del sáculo esporífero. La estructura subcelular de las esporas constituida por una pared externa y dos paredes internas de germinación.

La pared de la espora con tres capas (sw1-3). La sw1 evanescente, hialina, continúa con la pared del sáculo esporífero. La sw2 con proyecciones en forma de diente. Proyecciones de circulares a oblongas con un borde superior. La sw3 flexible, hialina, adherida a la sw2.

La pared germinal 1 con dos capas hialinas (gw111-2). La gw111 flexible, adherida a la gw112. La pared germinal 2 con dos capas hialinas (gw211-2). La gw212 se tiñe de color rosa grisáceo con el reactivo de Melzer (**Figura 10**).

***Acaulospora koskei* Blaszk**

Esporas solitarias, naranja a naranja-marrón, globosas, desarrolladas lateralmente sobre el cuello de la hifa del sáculo esporífero. La estructura subcelular compuesta por una pared externa y dos paredes internas de germinación.

La pared externa con tres capas (sw1-3). La sw1 evanescente, hialina, continua con la pared del sáculo esporífero, unida a la sw2, ausente en esporas maduras. La sw2 lisa y amarillo-marrón. La sw3 hialina, adherida a la sw2, teñido de naranja rojizo con el reactivo de Melzer.

La pared germinal 1 con una capa semi flexible (gw1), hialina. La pared germinal 2 con dos capas (gw21-2). La gw21 flexible, hialina, cubierta de pequeños gránulos. La gw22 reacciona con el reactivo de Melzer adquiriendo un color rosa pastel o púrpura (**Figura 10**).

***Acaulospora laevis* Gerd. & Trappe**

Esporas solitarias, naranja-marrón, globosas. La estructura subcelular consta de una pared externa y dos paredes internas de germinación flexibles. La pared externa con tres capas (sw1-3). La sw1 hialina, lisa, continua con la pared del cuello del sáculo esporífero. La sw2 con subcapas muy finas a menudo adherentes, naranja marrón. La superficie de esta capa es lisa, sin reacción con el reactivo de Melzer. La sw3 amarillo-pardo, con subcapas muy finas, adherentes, sin reacción al Melzer.

Las paredes germinales hialinas y flexibles. La pared germinal 1 se forma de dos capas hialinas, estrechamente adheridas (gw11-2). La pared germinal 2 se forma de dos capas hialinas, adheridas casi por completo, sin reacción al reactivo de Melzer (gw21-2) (**Figura 10**).

***Acaulospora scrobiculata* Trappe**

Esporas solitarias, amarillo pálidas, globosas, formadas lateralmente sobre el cuello de la hifa del sáculo esporífero. La estructura subcelular constituida de una pared externa y de dos paredes internas de germinación.

La pared externa con tres capas (sw1-3). La sw1 hialina, evanescente, adherida a la sw2, a menudo ausente. La sw2 amarillo pálida con depresiones cóncavas ovoides, circulares y elipsoides. La sw3 flexible, hialina y raramente separada de la sw2.

La pared germinal 1 con dos capas flexibles, hialinas y adheridas (gw11-2). La pared germinal 2 con dos capas membranosas y hialinas (gw21-2). La gw21 delgada con numerosas excrecencias irregulares, mientras que, la gw22 gruesa, flexible y reacciona con el reactivo de Melzer tiñéndose a rosado o magenta (Figura 11).

***Acaulospora* sp. 1**

Esporas solitarias, amarillo pálidas y ornamentadas. La estructura subcelular de las esporas consta de pared externa y pared interna de germinación con varias capas. La pared externa (sw) pareciera estar compuesta por una capa sw1 hialina y evanescente además de una capa sw2 que se caracteriza por presentar una ornamentación en forma de laberinto muy diferente a *Acaulospora rehmi*. Las capas de la pared interna de germinación son hialinas y flexibles.

***Acaulospora* sp. 2**

Esporas solitarias, amarillo doradas, ornamentadas y con presencia de cicatriz. La estructura subcelular de las esporas consta de pared externa y pared interna de germinación con varias capas. La pared externa (sw) pareciera estar compuesta por una capa sw1 hialina, evanescente y disgregada. La capa sw2 pareciera presentar depresiones muy pequeñas, juntas e irregulares y a la vez la presencia de espinas.

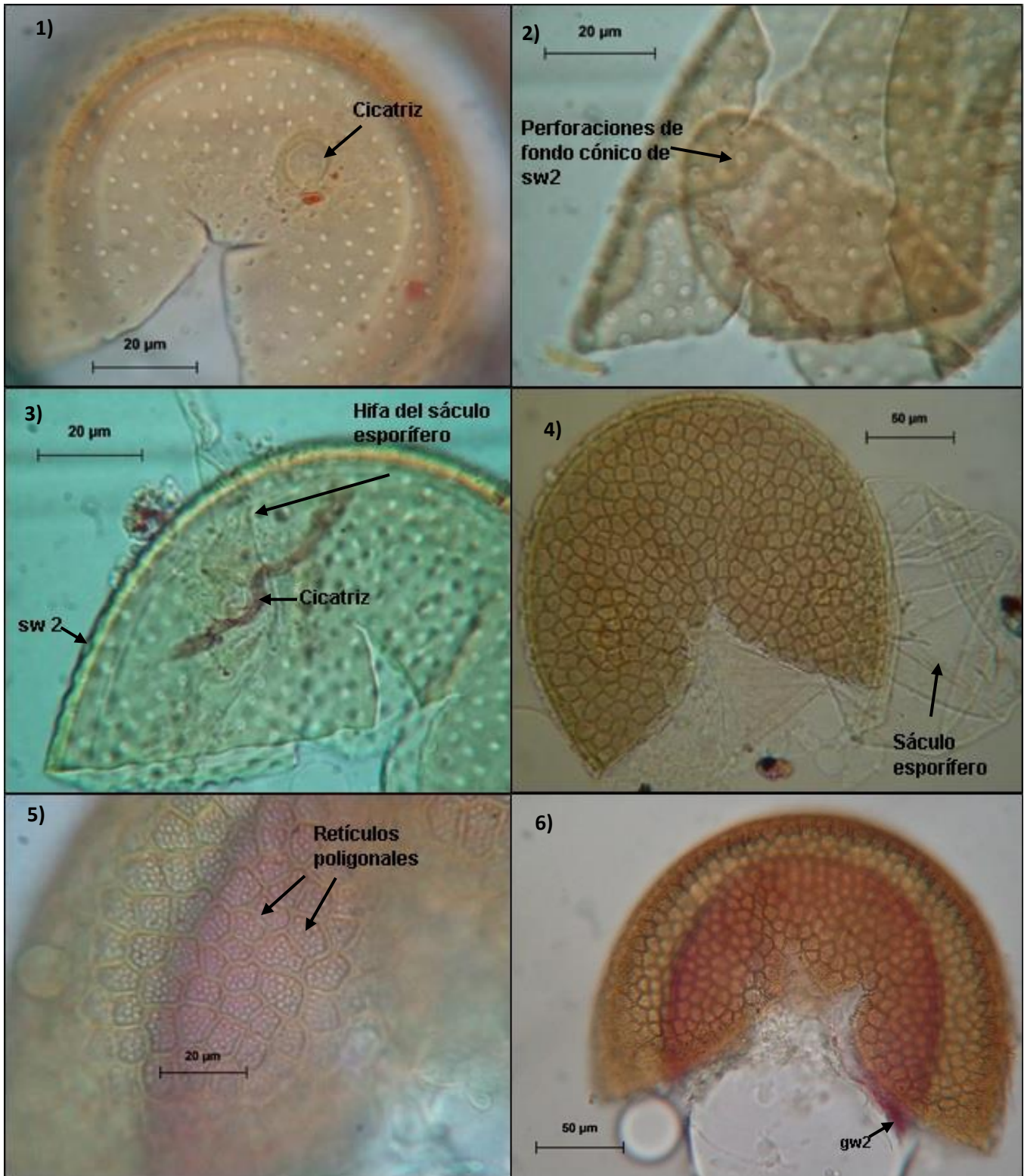


Figura 9. *Acaulospora alpina*: 1) Espora en PVLG con cicatriz. 2) Espora con perforaciones cónicas en la sw2. 3) Espora con la hifa del sáculo esporífero, cicatriz y capa sw2 de la pared externa. *Acaulospora bireticulata*: 4) Espora presenta restos del sáculo esporífero. 5) Espora con retículos poligonales. 6) Pared de germinación.

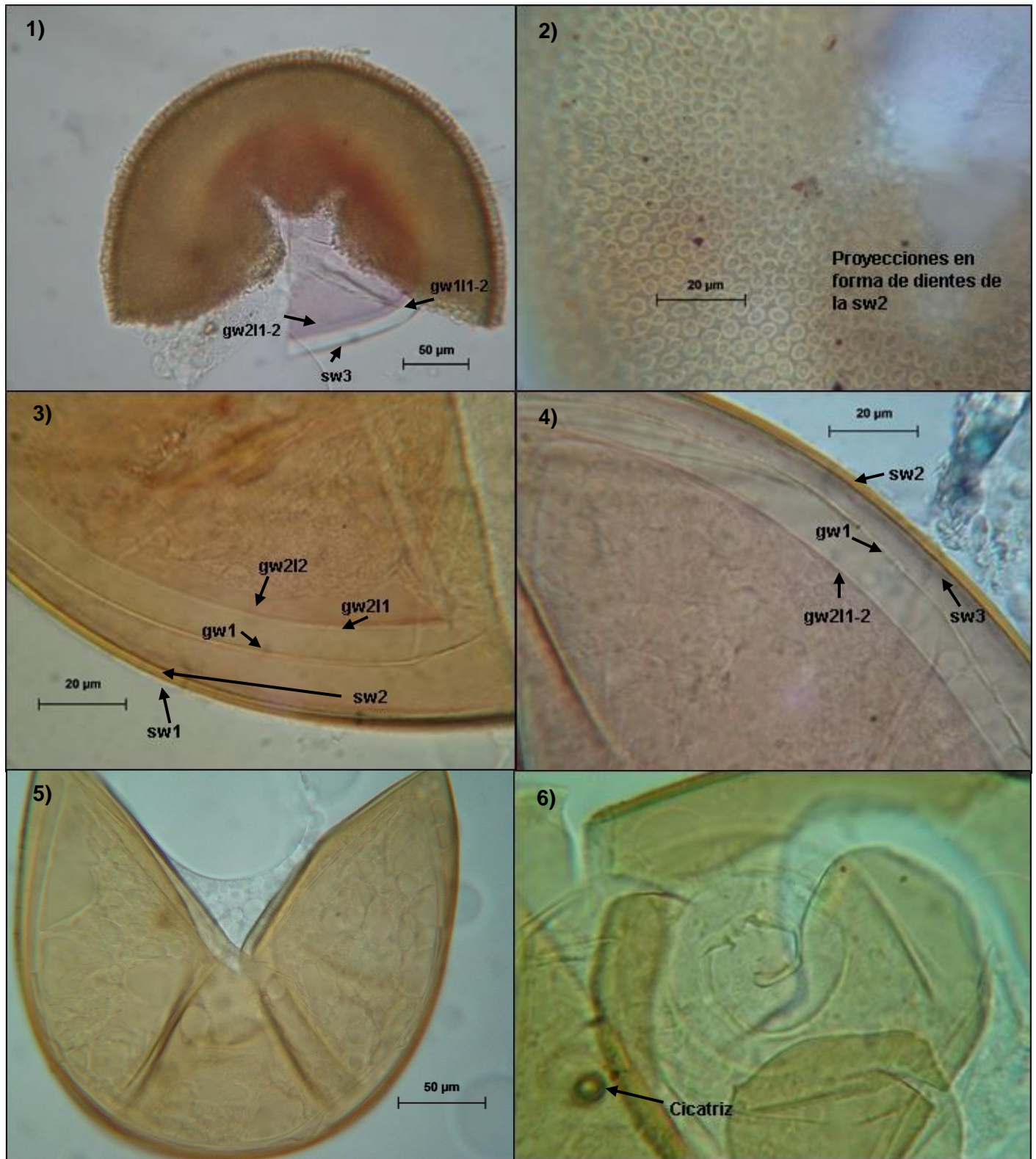


Figura 10. *Acaulospora denticulata*: 1) Espora en PVLG+Melzer con capa sw3 de la pared externa y las paredes internas de germinación. 2) Espora mostrando su tipo de ornamentación. *Acaulospora koskei*: 3) Espora en PVLG+Melzer con las capas de la pared externa y las paredes internas de germinación. 4) Tinción de la capa gw212 en el reactivo de Melzer. *Acaulospora laevis*: 5) Espora montada en PVLG. 6) Cicatriz presente y espiral de germinación.

***Acaulospora spinosa* C. Walker & Trappe**

Esporas solitarias, amarillo claro, globosas. La estructura subcelular consta de una pared externa y dos paredes internas de germinación. La pared externa con tres capas (sw1-3). La sw1 hialina, se degrada muy temprano y está ausente incluso antes de que las espinas en sw2 estén completamente formadas. La sw2 amarillo pálido y con espinas redondeadas. La sw3 hialina, adherente a sw2 y fácil de observar en montajes que contienen el reactivo de Melzer. Las paredes germinales son hialinas y flexibles. La pared germinal 1 con dos capas (gw11-2). La pared germinal 2 hialina con dos capas (gw21-2), la gw21 se tiñe de rosa violeta en el reactivo de Melzer (Figura 11).

***Ambispora appendicula* C. Walker**

Hongo dimórfico, produciendo esporas de tipo acaulosporoide y glomoide. Las esporas de tipo acaulosporoide se forman de manera individual mientras que las de tipo glomoide pueden encontrarse de manera individual o en agregados en el suelo. En este trabajo su descripción y comparación se basó únicamente en las esporas del tipo acaulosporoide. Las esporas se forman lateralmente sobre un pedicelo unido a la hifa del sáculo esporífero.

Esporas amarillo pálidas, globosas, estructura subcelular constituida de una pared externa y dos paredes de germinación internas. La pared externa con tres capas (sw1-3). La sw1 evanescente, hialina y difícil de observar. La sw2 amarilla y mucho más gruesa en comparación de la sw1 y sw3, además sólo la sw2 se tiñe de naranja a rojo intenso en el reactivo de Melzer. La sw3 flexible, hialina y adherida a la sw2.

La pared germinal 1 comprende de dos capas hialinas ornamentadas (gw11-2). La pared germinal 2 hialina y consiste en tres capas estrechamente adherentes (gw21-3) (Figura 12).

***Ambispora fennica* C. Walker, Vestberg & Schuessler**

Esporas solitarias, hialinas amarillas y globosas. La estructura subcelular con una pared externa y dos paredes de germinación internas. La pared externa con

tres capas (sw1-3). La sw1 evanescente y hialina con una tonalidad amarilla que cambia a rojo púrpura en el reactivo de Melzer. La sw2 finamente laminada, semi-rígida y hialina. La sw3 flexible, hialina, adherida a la superficie inferior de la sw2 y difícil de observar.

La pared germinal 1 con dos capas frágiles y lisas (gw11-2). Ambas capas firmemente adheridas y difíciles de distinguir. La pared germinal 2 con tres capas lisas y hialinas (gw21-3). La gw211 semiflexible; la gw212 laminada y la gw213 flexible con pliegues. En el reactivo de Melzer, sólo las capas sw1 y sw3 reaccionan tiñéndose de rojo. El pedicelo es curvado, de color similar al de las esporas y constituido por una pared con tres capas continuas con la capa sw de las esporas (**Figura 12**).

Entrophospora infrequens R. N. Ames & R. W. Schneid

Esporas solitarias, ornamentadas, producidas intercaladamente en una hifa de sostén que se ensancha en su ápice formando un sáculo globoso, amarillo dorado a naranja pardo y globosas. La estructura subcelular está compuesta por una pared externa y una pared germinal.

La pared externa con cuatro capas (sw1-4). La sw1 evanescente y hialina. La sw2 lisa y semipermanente. La sw3 permanente, naranja pardo, con numerosas proyecciones poligonales, con una ligera depresión en el centro. La sw4 semiflexible, lisa, amarillo pardo y difícilmente de observar en el microscopio ya que se encuentra firmemente adherida a la superficie inferior de la sw3.

La pared germinal consta de tres capas hialinas, flexibles y estrechamente unidas (gw1-3) (**Figura 12**).

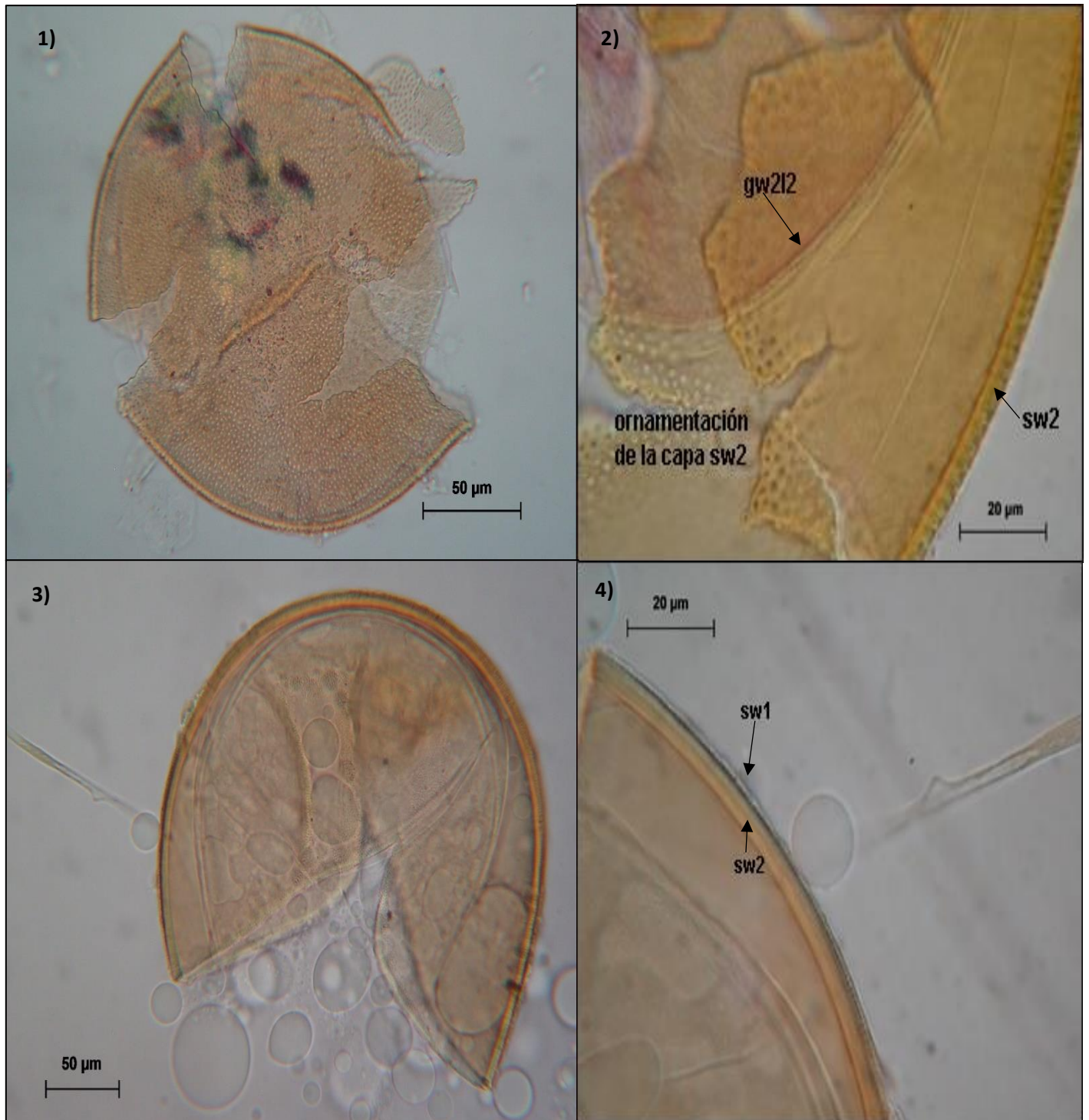


Figura 11. *Acaulospora scrobiculata*: 1) Espora montada en PVLG+Melzer. 2) Capa externa sw2 y tinción de la pared interna de germinación gw212. *Acaulospora spinosa*: 3) Espora montada de PVLG. 4) Capas sw1 y sw2 de la pared externa.

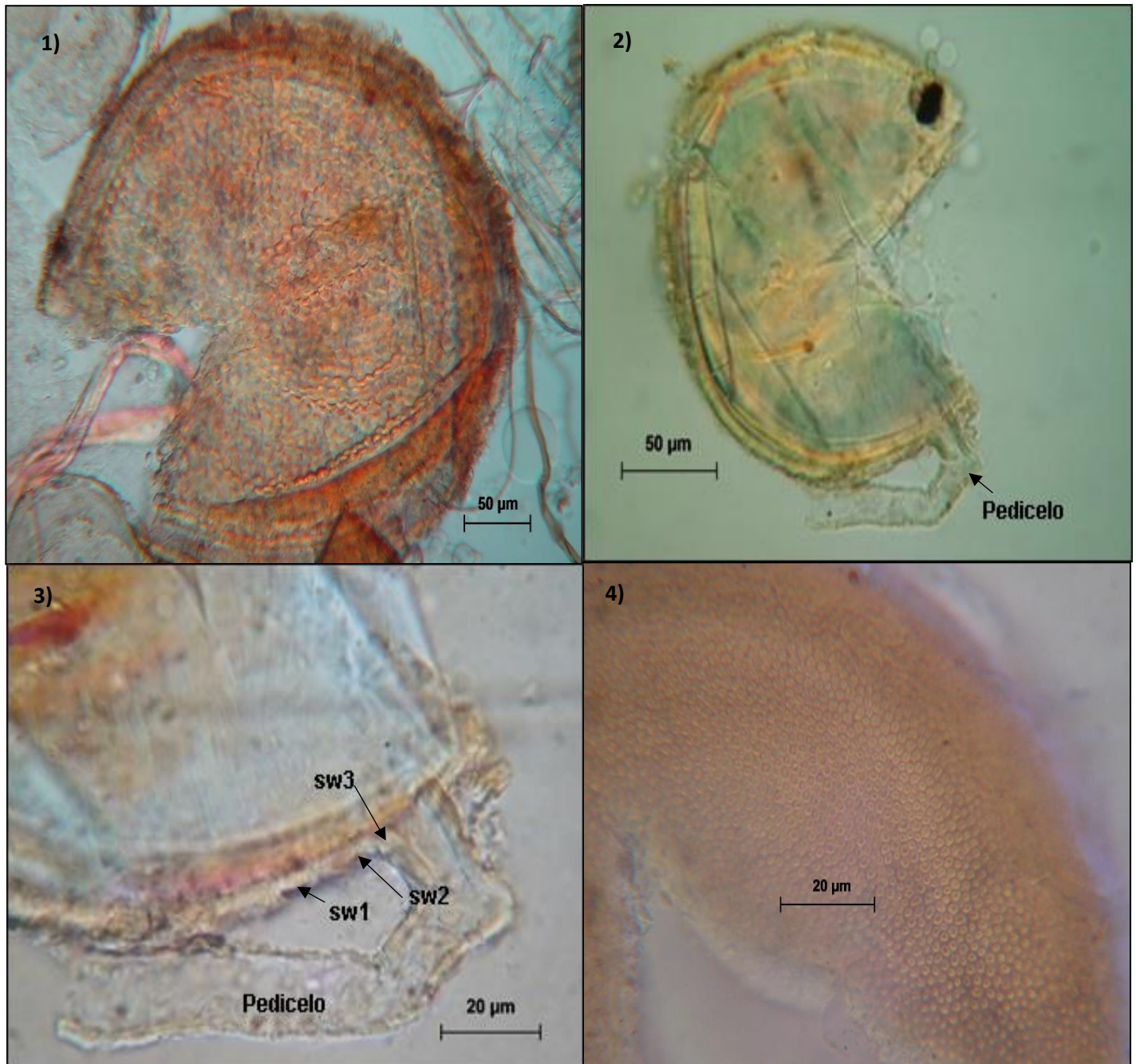


Figura 12. *Ambispora appendicula*: 1) Espora montada en PVLG+Melzer. *Ambispora fennica*: 2) Espora con pedicelo curvado. 3) Capas de la pared externa de la espóra. *Entrophospora infrequens*: 4) Ornamentación de la capa sw3.

Claroideoglopus aff. *drummondii* C. Walker & Schuessler

Esporas solitarias, amarillas y globosas, con hifa hialina. La estructura subcelular consta de una pared con de tres capas (sw1-3). La sw1 evanescente, hialina y generalmente desprendida en esporas maduras. La sw2 lisa y amarilla. La

sw3 flexible, hialina, separándose fácilmente de la sw2 y reacciona al reactivo de Melzer.

***Claroideoglopus claroideum* C. Walker & Schuessler**

Esporas solitarias, amarillo pálidas, globosas con una hifa de sostén recta. La estructura subcelular de las esporas consta de una pared externa con cuatro capas (sw1-4). La sw1 hialina, adherida a la sw2, se tiñe de color rosa en el reactivo de Melzer y ausente en esporas maduras. La sw2 semi flexible, hialina y no reacciona al reactivo de Melzer. La sw3 lisa, amarillo pálida y compuesta por subcapas estrechamente adherentes. En esporas jóvenes, la sw4 está adherida a la sw3, por lo que resulta difícil de observar, mientras que, en esporas maduras la sw4 se desprende con facilidad de la sw3.

***Claroideoglopus etunicatum* C. Walker & Schuessler**

Esporas solitarias, amarillo pálidas, globosas y con una hifa recta transparente. El color entre la hifa y la espora cambia. La estructura subcelular consta de una pared con dos capas (sw1-2). La sw1 hialina y ausente en las esporas maduras. La sw 2 lisa y amarilla. En el reactivo de Melzer sólo la sw1 se tiñe de color rojizo.

***Diversispora aff. trimurales* C. Walker & Schuessler**

Esporas solitarias, amarillo pálidas y globosas. La estructura subcelular consta de una pared compuesta por tres capas (sw1-3). La sw1 rígida, laminada, amarillo pálido. La sw2 amarillo pálido y delgada en comparación de la sw1. La sw3 laminada y hialina.

***Gigaspora decipiens* I. R. Hall & L. K. Abbott**

Esporas solitarias, blancas a color crema y globosas a subglobosas. La estructura subcelular consta de una pared con tres capas (sw1-3). La sw1 lisa, adherente a la sw2 y difícil de observar. La sw2 laminada, amarillo pálido que al reaccionar con el reactivo de Melzer se tiñe rojo oscuro. La sw3 presenta numerosas verrugas o papilas.

***Gigaspora gigantea* Gerd. & Trappe**

Esporas solitarias, amarillo limón brillante, globosas y en ocasiones ovoides. Hifa de sostén en forma de bulbo. La estructura subcelular está constituida por una pared externa y una pared de germinación. La pared externa con dos capas (sw1-2). La sw1 lisa, de color amarillo pálido y adherente a la sw2. La sw2 amarillo verdoso y cambia a rojizo intenso con reactivo de Melzer.

La pared germinal flexible, en ocasiones adherida a la sw2 y con presencia de verrugas (**Figura 13**).

***Gigaspora margarita* W. N. Becker & I. R. Hall**

Esporas solitarias, amarillo girasol, globosas a subglobosas, presenta hifa en forma bulbo y verrugas, aunque estas últimas pueden estar ausentes. La estructura subcelular de las esporas consta de una pared con tres capas (sw1-3). La sw1 lisa y hialina. La sw2 consiste en láminas lisas, amarillo girasol, reacciona al reactivo de Melzer adquiriendo un color rojo oscuro. La sw3 adherente a la sw2 y presenta numerosas verrugas o papilas.

***Scutellospora dipurpurescens* J. B. Morton & Koske**

Esporas solitarias, amarillo verdoso, subglobosa a oblonga y presenta hifa en forma de bulbo de color amarillo. La estructura subcelular consta de una pared externa y dos paredes internas de germinación. La pared externa con dos capas (sw1-2). La sw1 lisa, amarillo pálido con un tinte verdoso, firmemente adherida. La sw2 laminada y amarillo pálido. Las láminas presentes en esta capa se separan ligeramente confundándose con una pared interior flexible.

Las paredes germinales hialinas y flexibles (gw1-2). La gw1 hialina, adherente a la sw2, se tiñe de color rosa claro en el reactivo de Melzer. La gw2 hialina, dividida en dos capas (gw21-2) regularmente adheridas. La gw21 se tiñe de color rosa claro en el reactivo de Melzer mientras que la gw22 lo hace color rojo púrpura.

***Scutellospora scutata* C. Walker & Dieder**

Esporas solitarias, hialino, globosas en ocasiones elípticas, con un escudo de germinación café y ornamentado. La estructura subcelular consta de una pared externa y tres paredes internas de germinación. La pared externa con dos capas adherentes (sw1-2). La sw1 hialina y lisa. La sw2 laminada, de blanco a amarillo pálido.

Las paredes germinales hialinas y flexibles (gw1-3). La gw1 es la única en no teñirse en el reactivo de Melzer.

***Funneliformis aff. geosporum* C. Walker & Schuessler**

Esporas solitarias, amarillo a naranja marrón, globosas a subglobosas, con una hifa en forma de embudo. Su estructura subcelular consta de tres capas (sw1-3). La sw1 hialina, no reacciona al reactivo de Melzer. La sw2 rígida, laminada, amarillo a naranja marrón. La sw3 rígida, adherida a la sw2 que se puede diferenciar porque su color suele ser ligeramente más oscuro además parece tener verrugas cortas y gruesas en algunas esporas.

***Glomus arenarium* Blaszk., Tadych & Madej**

Esporas solitarias, formadas terminalmente sobre la hifa cenocítica, color ocre y globosas. La estructura subcelular consiste en una pared con tres capas (sw1-3), la sw1 evanescente, hialina, adherida a la sw2, lisa en esporas juveniles, gradualmente deteriorada o desintegrada después de la formación de la sw2, ausente en esporas maduras. La sw2 flexible, hialina, lisa, se desintegra con la edad. La sw3 laminada, lisa, color ocre, laminada en la espora y en la hifa de sostén. Estas tres capas no reaccionan al Melzer. La hifa de sostén es hialina.

***Glomus macrocarpum* Tul. & C. Tul.**

Esporocarpos, esporas amarillas, globosas a subglobosas. La estructura subcelular está compuesta de una pared con dos capas (sw1-2). La sw 1

semiflexible, hialina y puede llegar a deshacerse. La sw2 lisa y amarilla. Ambas capas no reaccionan al reactivo de Melzer y son continuas con la hifa.

Glomus spinuliferum Sieverd. & Oehl

Esporas solitarias, amarillo marrón, globosas. La estructura subcelular consta de una pared externa con cuatro capas (sw1-4). La sw1 evanescente, hialina y ausente en esporas viejas. La sw2 permanente, hialina, cubierta con espinas finas. La sw3 lisa y amarilla. La sw4 semi flexible, hialina a amarillo claro, adherida estrechamente a la superficie inferior de la capa sw3 resultando en ocasiones difícil de observar (**Figura 13**).

Sclerocystis rubiformis Gerd. & Trappe

Las esporas forman agrupaciones compactas, conocidos como esporocarpos, los cuales se caracterizan por presentar una masa semicompacta de hifas en su parte central, llamada plexo, asimismo, en algunos casos es posible observar una cubierta compacta o laxa de hifas, denominada peridio la cual es evanescente que se pierde con facilidad. Esporas con hifa del mismo color que las esporas (amarillo pálido a amarillo marrón) (**Figura 13**).

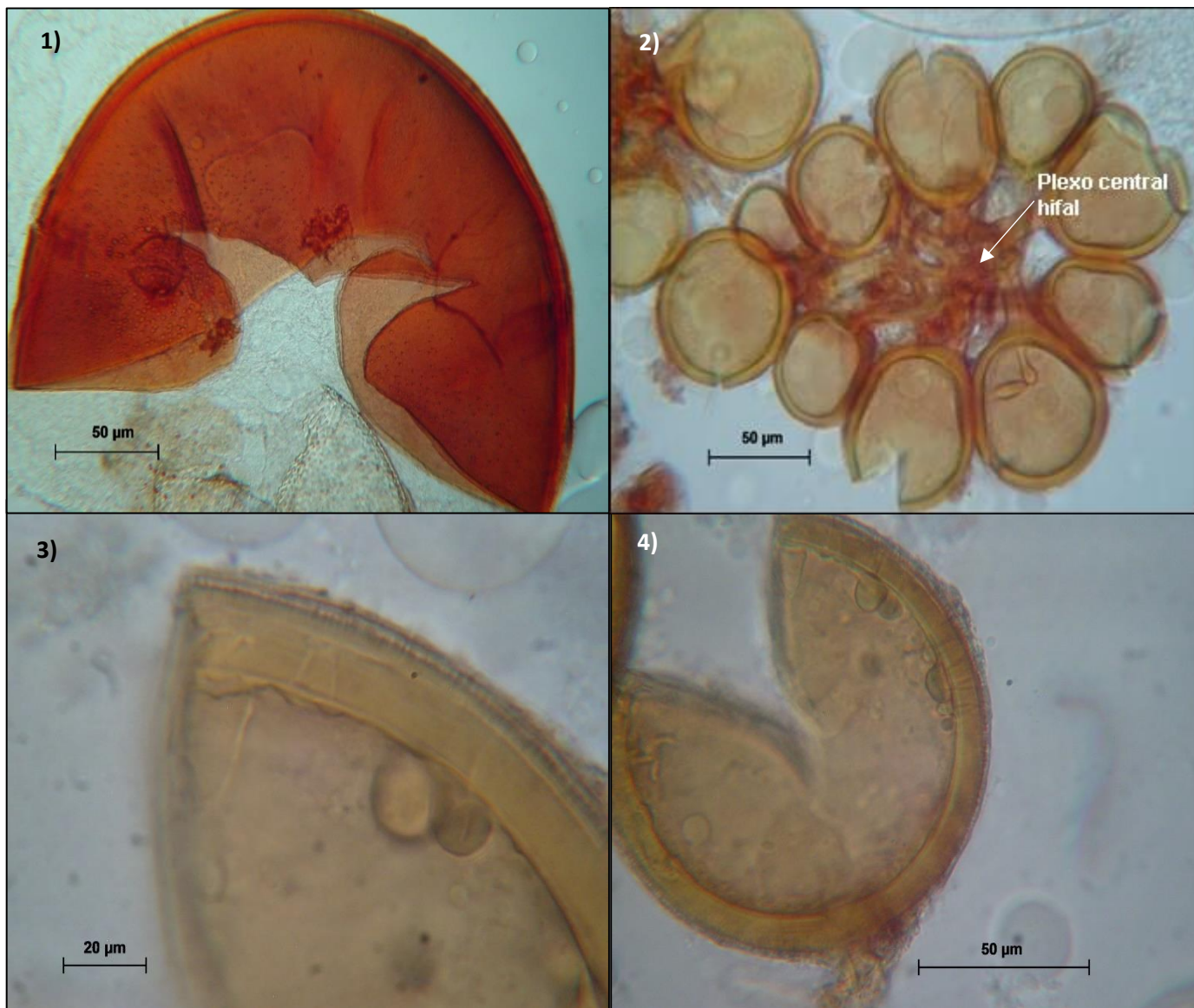


Figura 13. *Gigaspora gigantea*: 1) Espora montada en PVLG+Melzer. *Sclerocystis rubiformis*: 2) Esporocarpo compuesto por más de cuatro esporas unidas por un plexo central hifal. *Glomus spinuliferum*: 3) Capa sw2 cubierta de espinas. 4) Espora montada en PVLG.

7.8 Propiedades químicas del suelo

Los valores promedio de pH, los porcentajes de materia orgánica (MO), nitrógeno total, así como la concentración de fósforo registradas en los suelos rizosféricos de las diez plantas medicinales, analizadas mediante el ANOVA y que al presentar diferencias significativas fueron sometidas a la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%, se muestran en las figuras 14 a 17.

El pH promedio de los suelos rizosféricos varió entre 6.0 en *Baccharis conferta* y 7.2 en *Plantago major*, los cuales se clasifican como moderadamente ácidos a neutros según la NOM-021. El ANOVA indicó que las medias entre las plantas medicinales si son significativamente diferentes con una $F=13.07$ y $P=0.000001$; siendo diferentes *Plantago major* y *Senecio salignus* de *Adiantum capillus-veneris*, *Baccharis conferta*, *Gnaphalium viscosum*, *Loeselia mexicana*, *Salvia lavanduloides*, *Sedum oxypetalum*, *Selaginella lepidophylla* y *Senecio stoechadiformis* (Figura 14).

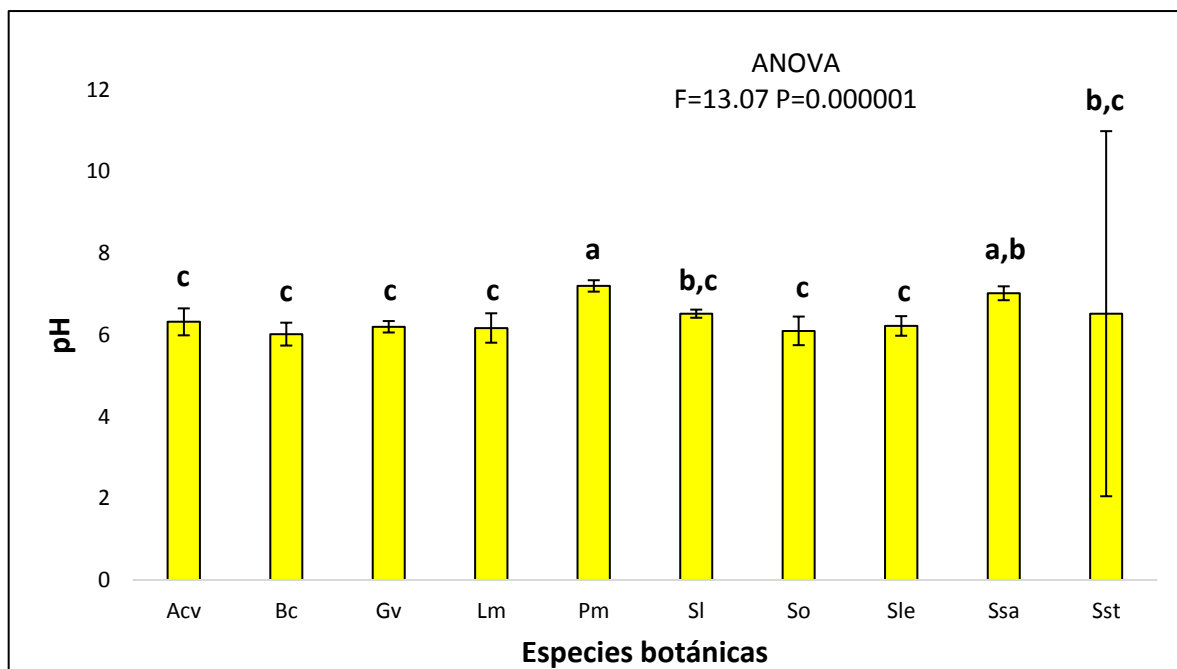


Figura 14. pH de los suelos rizosféricos de las plantas medicinales estudiadas. $n=5$, letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $P=0.05$). Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus* y Sst=*Senecio stoechadiformis*.

El porcentaje de nitrógeno total promedio varió entre 0.04 en *Senecio salignus* y *Senecio stoechadiformis* y 0.33 en *Selaginella lepidophylla*, clasificados por la NOM-021 como muy bajos a muy altos. El ANOVA indicó que las medias entre las plantas medicinales si son significativamente diferentes con una $F=9.46$ y $P=0.000001$; siendo diferentes *Senecio salignus* y *Senecio stoechadiformis* de *Salvia lavanduloides*, *Adiantum capillus-veneris*, *Gnaphalium viscosum*, *Sedum oxypetalum* y *Selaginella lepidophylla*, mientras que, *Baccharis conferta*, *Loeselia mexicana* y *Plantago major* son diferentes de *Selaginella lepidophylla* (Figura 15).

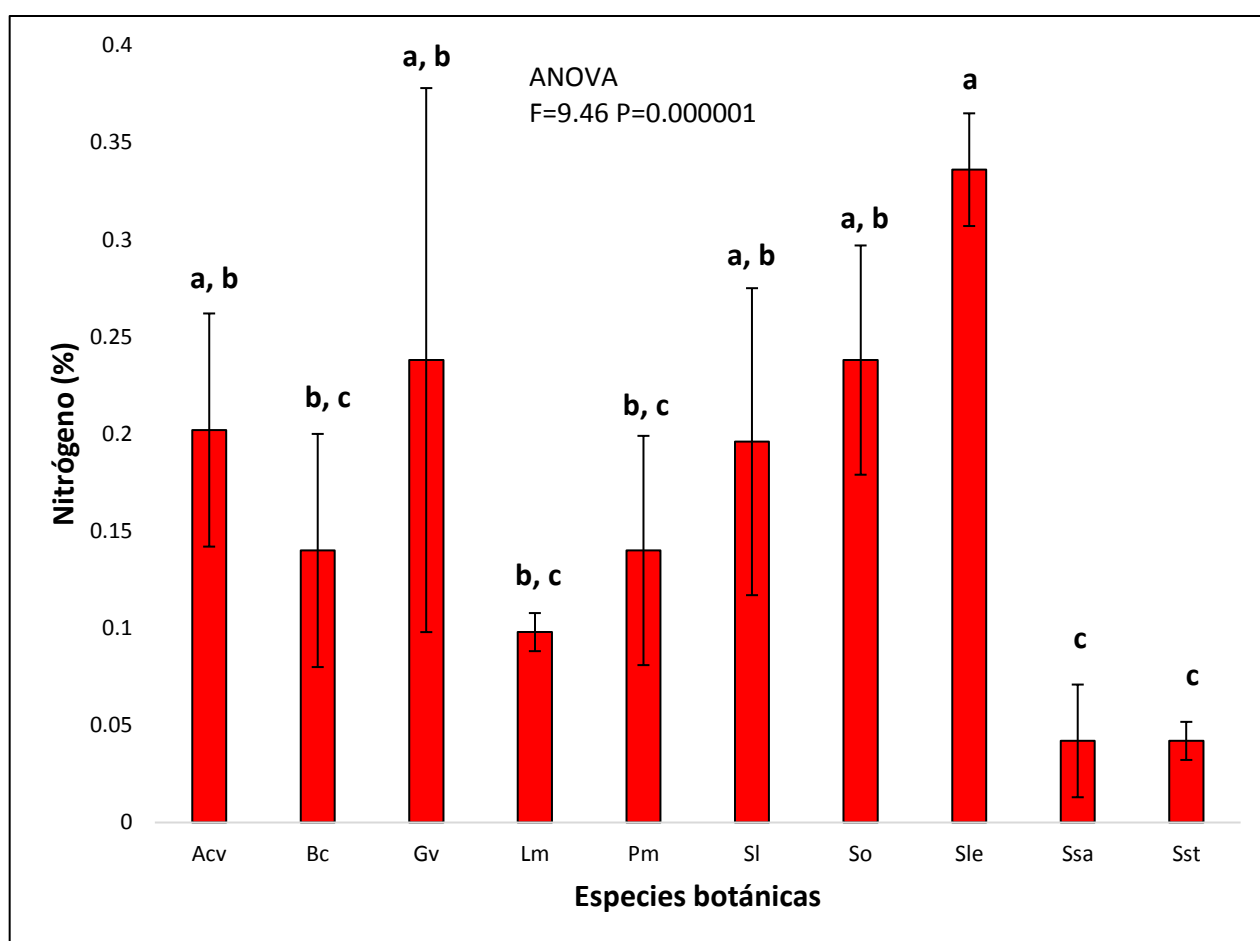


Figura 15. Porcentaje de nitrógeno en los suelos rizosféricos de las plantas medicinales estudiadas. $n=5$, letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $P=0.05$). Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus* y Sst=*Senecio stoechadiformis*.

El porcentaje de MO promedio varió entre 1.05 en *Plantago major* y 13.08 en *Selaginella lepidophylla*, clasificados por la NOM-021 como bajos a muy altos. El ANOVA indicó que las medias entre las plantas medicinales si son significativamente diferentes con una $F=36.24$ y $P=0.000001$; siendo diferentes *Adiantum capillus-veneris*, *Baccharis conferta*, *Salvia lavanduloides* y *Selaginella lepidophylla* de *Gnaphalium viscosum*, *Loeselia mexicana*, *Plantago major*, *Senecio salignus* y *Senecio stoechadiformis* (Figura 16).

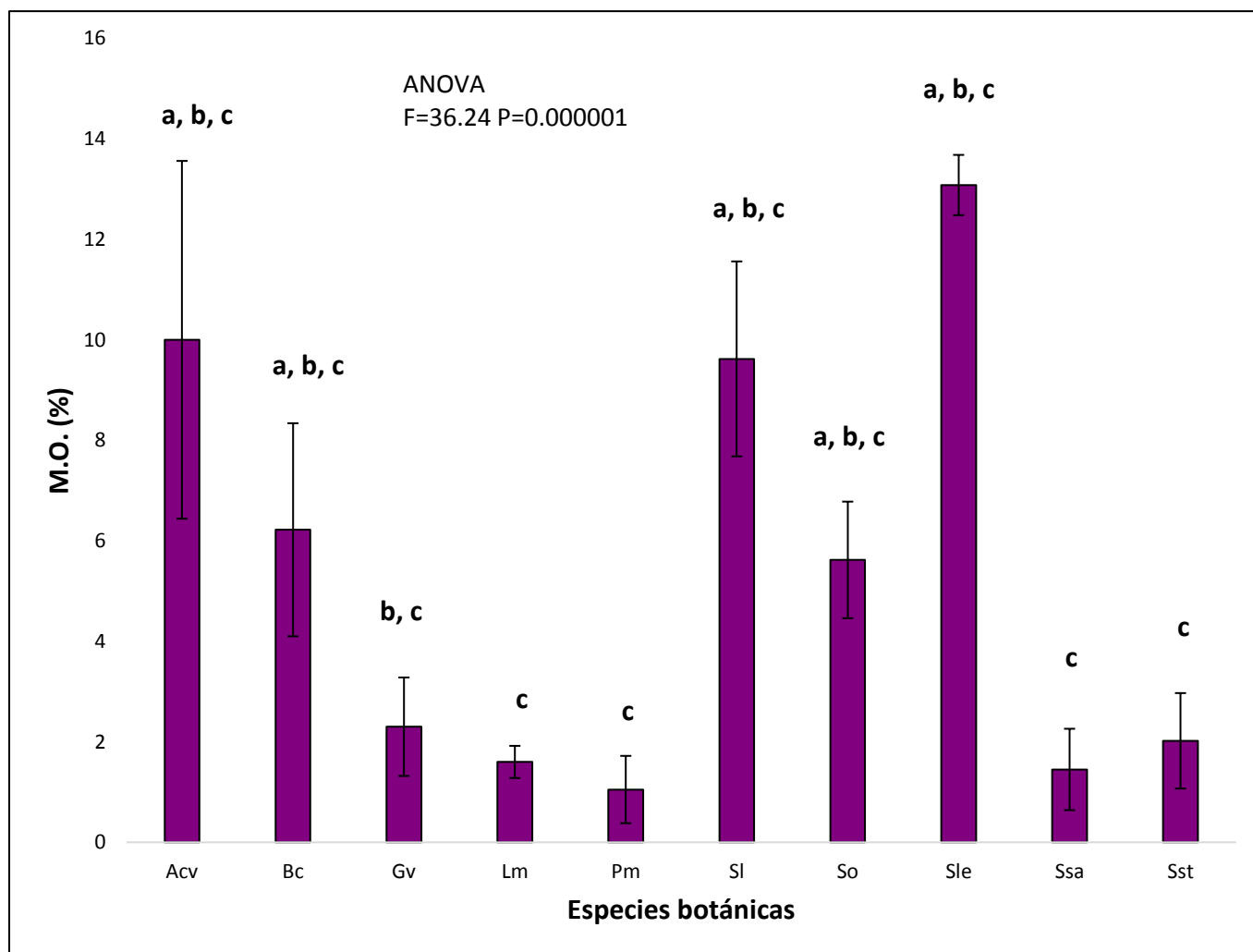


Figura 16. Porcentaje de Materia orgánica en los suelos rizosféricos de las plantas medicinales estudiadas. $n=5$, letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $P= 0.05$). Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus* y Sst=*Senecio stoechadiformis*.

La concentración de fósforo promedio varió entre 0.44 en *Plantago major* y 16.09 en *Senecio salignus*, clasificados por la NOM-021 como bajos a medios. El ANOVA indicó que las medias entre las plantas medicinales si son significativamente diferentes con una $F=29.35$ y $P=0.000001$; siendo diferentes *Adiantum capillus-veneris*, *Baccharis conferta*, *Gnaphalium viscosum*, *Loeselia mexicana*, *Plantago major*, *Salvia lavanduloides*, *Sedum oxypetalum*, *Selaginella lepidophylla* y *Senecio stoechadiformis* de *Senecio salignus* (Figura 17).

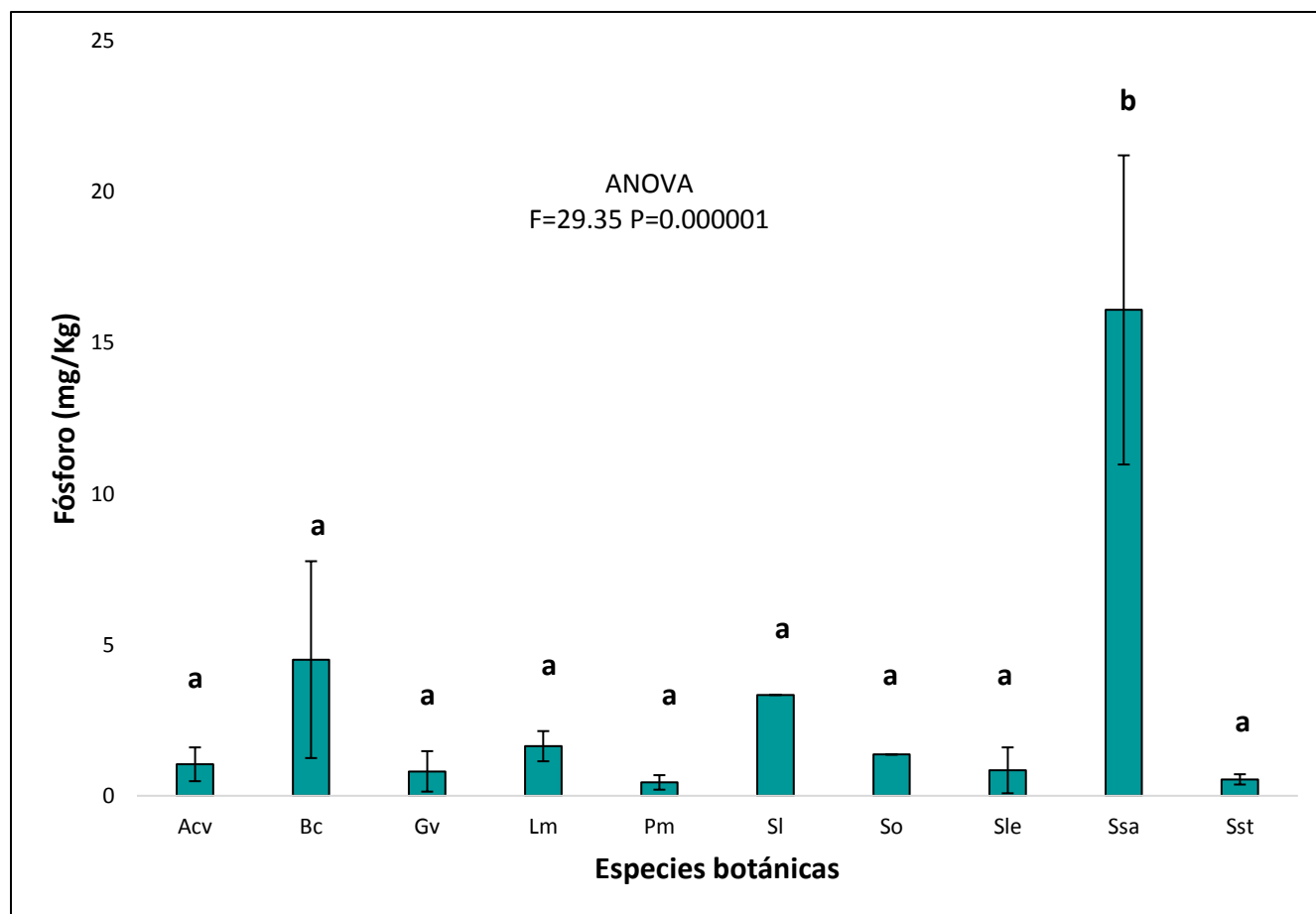


Figura 17. Concentración de fósforo asimilable en los suelos rizosféricos de las plantas medicinales estudiadas. n=5, letras distintas indican diferencias significativas (Tukey P= 0.05). Acv=*Adiantum capillus-veneris*, Bc=*Baccharis conferta*, Gv=*Gnaphalium viscosum*, Lm=*Loeselia mexicana*, Pm=*Plantago major*, Sl=*Salvia lavanduloides*, So=*Sedum oxypetalum*, Sle=*Selaginella lepidophylla*, Ssa=*Senecio salignus* y Sst=*Senecio stoechadiformis*.

VIII. DISCUSIÓN

La escasa bibliografía encontrada para la zona de estudio permite afirmar que las 30 especies de HMA son los primeros registros de la riqueza que existe en el bosque de pino-encino de Agua Escondida, Taxco Guerrero y que el desconocimiento que se tiene sobre estas comunidades se debe, probablemente, a que en las zonas templadas el dominio de la ectomicorriza desplaza el interés por la micorriza arbuscular, además la falta de científicos especializados y el limitado apoyo financiero impiden la exploración de muchas comunidades naturales de la República Mexicana restringiendo los datos a unos cuantos estados como Baja California Sur, Chiapas, Chihuahua, Estado de México, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Quintana Roo, Sonora, Tabasco, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas (Varela y Trejo, 2001; Montaña et al., 2012).

Las 30 especies de HMA registradas en este trabajo representan el 9% de las descritas en el ámbito mundial y el 20% de las 146 especies de hongos arbusculares que hasta el momento se tenían registradas en los ecosistemas de nuestro país, no obstante, en colaboración con Varela-Fregoso et al. (2017), se documentaron dos nuevos registros para México, *Acaulospora alpina* y *Ambispora fennica* que elevaron el valor a 148. Si se considera que Anacardiaceae, Asteraceae, Clethraceae, Clusiaceae, Ericaceae, Fabaceae, Fagaceae, Lauraceae, Malestomataceae, Pinaceae, Polypodiaceae, Salicaceae, Scrophulariaceae y Rosaceae son parte de las familias representativas de los bosques templados de México (CONABIO, 2012), y que según Cuenca (2015) si forman micorrizas surge la posibilidad de que el bosque templado de la localidad de Agua Escondida, albergue en sus rizósferas otras especies de HMA no listadas para el país e incluso desconocidas para el resto del mundo.

El valor de riqueza de especies de HMA difiere de lo publicado para otros bosques templados ya que Olivera-Morales et al. (2011), González-Cortés et al. (2012) y Chaturvedi et al. (2012) registraron 10 especies en la Cuenca del Río Magdalena, 39 especies en el estado de Michoacán y 13 especies en la Región de Kumaon en India respectivamente. Si la comparamos con otros tipos de vegetación

como los bosques tropicales caducifolios, Guadarrama et al. (2007) y Allen et al. (1998) inventariaron 12 y 15 especies de HMA respectivamente. Mientras que en los bosques mesófilos de montaña Lara-Pérez et al. (2014) y Bautista-Cruz et al. (2014) citaron 19 especies en Veracruz y 27 especies para Oaxaca respectivamente.

Por lo que se refiere a la composición de especies de HMA, de las 30 especies halladas en el bosque de pino-encino estudiado Olivera-Morales et al. (2011), González-Cortés et al. (2012) y Chaturvedi et al. (2012) registraron en otros bosques templados tres, nueve y siete especies de HMA respectivamente, entre ellas *Acaulospora laevis*, *A. spinosa*, *A. scrobiculata*, *A. denticulata*, *A. koskei*, *Claroideoglosum claroideum*, *C. etunicatum*, *Entrophospora infrequens*, *Funneliformis geosporum*, *Gigaspora gigantea*, *Glomus macrocarpum*, *Scutellospora dipurpurescens*, *S. scutata*, y *Sclerocystis rubiformis*; además de manera similar dichos autores indicaron el predominio de Acaulosporaceae al presentar mayor proporción de especies, seguida de Glomeraceae y Gigasporaceae.

Cabe señalar que en los tres bosques templados mencionados también se aislaron especies pertenecientes a las familias Paraglomeraceae y Pacisporaceae no registrados en este estudio. Si se comparan estos resultados con lo obtenido en otros tipos de vegetación como los bosques tropicales caducifolios y bosques mesófilos de montaña, es posible notar una diferencia ya que tanto Guadarrama et al. (2007) como Bautista-Cruz et al. (2014) hallaron mayor cantidad de especies pertenecientes a la familia Glomeraceae, seguida de Acaulosporaceae y Gigasporaceae mientras que Lara-Pérez et al. (2014) registraron el predominio de Gigasporaceae seguida de Glomeraceae y Acaulosporaceae.

El género mejor representado en los bosques templados de la Cuenca del Río Magdalena, el estado de Michoacán y la Región de Kumaon fue *Acaulospora* con cuatro, once y cinco especies respectivamente, estos resultados son similares con los obtenidos en este estudio. La riqueza de este género también se ha citado en bosques tropicales (Picone, 2000; Lovelock et al., 2003; Álvarez-Sánchez et al., 2017). Dicha coincidencia se puede deber a que los suelos de estos ecosistemas

presentan un pH ácido a moderadamente ácido (Boddington y Dood, 2000; Oehl et al., 2006).

De acuerdo con Ramos (2008), la actividad de las deshidrogenasas (piezas fundamentales en la respiración y producción de moléculas de ATP) disminuye cuando el pH tiende a ser menor que 7, afectando de esta manera los procesos de esporulación y germinación de esporas de los HMA lo que sugiere que las especies de *Acaulospora* están adaptadas para esporular y germinar bajo esta condición y posiblemente sólo coexisten con aquellas que también lo están como *Ambispora appendicula*, *A. fennica*, *Entrophospora infrequens*, *Claroideoglopus claroideum*, *C. etunicatum*, *Scutellospora dipurpurescens*, *S. scutata* y *Sclerocystis rubiformis* las cuales se han registrado en regiones mezcaleras del estado de Michoacán, en comunidades vegetales de pastos y trébol en Filadelfia, comunidades de gramíneas y leguminosas en Virginia e incluso en sabanas boscosas en Brasil donde los pH van de 4.5 a 5.7 (Walker y Diederichs, 1989; Morton y Koske, 1998; Walker et al., 2007; Trinidad-Cruz et al., 2017).

Las especies *Acaulospora* aff. *cavernata*, *A. aff. undulata*, *A. alpina* y *A. scrobiculata*, fueron aisladas únicamente de suelos rizosféricos con pH de 6.0 a 6.3. En estudios previos Blaszkowski (1989a) y Carneiro et al. (2015) mencionaron que *Acaulospora cavernata* fue localizada en suelos de Polonia y campos de “Murundus” en Brasil, con pH de 4.7 y 5.0 respectivamente. *Acaulospora undulata* fue registrada en México en suelos rizosféricos provenientes de pastizales, bosques tropicales, sistemas agrícolas extensivos y sistemas agroforestales con pH de 5.8 a 6.2 (Montaño et al., 2012), mientras que, en otros países como África fue inventariada por Sieverding (1988) en suelos de cultivos tropicales con pH de 5.6.

Acaulospora alpina fue registrada en un bosque templado en la localidad de las Ánimas en el Estado de México, en diferentes pastizales de los Alpes suizos y en la Patagonia noroccidental en el Parque Nacional Nahuel Huapi en la Provincia de Río Negro, Argentina, en suelos con pH 4.6 a 5.6, 3.5 a 6.5 y 6.0 a 6.2 respectivamente (Varela-Fregoso et al., 2017; Oehl et al., 2006; Velázquez et al., 2016). Rodríguez-Morelos et al. (2014), Carballar-Hernández (2009), Fabián et al.

(2018), Guadarrama (1993), Guadarrama et al. (2007), Pérez-Luna et al. (2012) y Trinidad-Cruz et al. (2017) señalaron que *Acaulospora scrobiculata* está presente en los bosques tropicales, manglares y cultivos de maíz donde los pH registrados van de 5.0 a 6.7.

El resto de las especies que conforman *Acaulospora*, se hallaron tanto en suelos moderadamente ácidos como en neutros (de 6.0 a 7.2). *Acaulospora bireticulata* se registró en dunas costeras, sistemas agrícolas extensivos y regiones subtropicales, en suelos con pH de 4.6 a 7.7 (Blaszkowski, 1989b; 1997; Montaña et al., 2012; Wang y Jiang, 2015). *Acaulospora denticulata*, *A. laevis*, *A. morrowiae* y *A. spinosa*, fueron registradas por Chimal-Sánchez et al. (2015), Pérez-Luna et al. (2012), Trinidad-Cruz et al. (2017), Varela y Trejo (2001), Olivera-Morales et al. (2011), Fabián et al. (2018) y Guadarrama et al. (2007) en suelos con matorrales xerófilos, sistemas de cultivos, bosque templado, manglar y bosque tropical con pH de 5.4 a 8.4. *Acaulospora koskei* se observó en muestras de suelo provenientes de Polonia donde los pH van de 5.8 a 7.0 (Blaszkowski, 1995).

En relación con las especies de *Glomus*, éstas tienen un amplio rango de adaptación en cuanto al tipo de suelo y a las condiciones edafoclimáticas, sin embargo, Panwar y Tarafdar (2006) indicaron su preferencia por los ambientes áridos donde los suelos regularmente se caracterizan por registrar pH alcalinos, esto podría justificar la baja proporción de especies de este género en este estudio. *Glomus arenarium*, *G. macrocarpum* y *G. spinuliferum* se hallaron en suelos con un pH de 6.0 a 6.5. Blaszkowski et al. (2001) aislaron a *G. arenarium* de suelos provenientes de dunas donde los pH van de 3.8 a 6.7. Dantas et al. (2015) y Teixeira-Ríos et al. (2013) señalaron que *G. macrocarpum* se establece en suelos con pH de moderadamente ácidos a alcalinos. Oehl et al. (2003) reportan a *G. spinuliferum* en suelos con pH de 6.7.

En cuanto a las especies de HMA presentes en el bosque de pino-encino en Agua Escondida, correspondientes a los géneros *Diversispora*, *Funneliformis* y *Gigaspora*, éstas también se establecen en ecosistemas semiáridos, por ejemplo, en Azumbilla y Coxcatlán en Puebla, Valle de Mezquital en Hidalgo y en las regiones

mezcaleras de Michoacán; además, en los manglares de la costa norte de Yucatán; bosques tropicales de Chiapas y Oaxaca; cultivos de haba, frijol y alverjón en Tlaxcala; pastizales en Tabasco y cafetales en Veracruz (Varela y Trejo, 2001; Guadarrama et al., 2007; Pérez-Luna et al., 2012; Osorio-Miranda et al., 2013; Chimal-Sánchez et al., 2015; Chimal-Sánchez et al., 2016; Furrázola et al., 2017; Trinidad-Cruz et al., 2017 y Fabián et al., 2018).

Sánchez-Lizarraga et al. (2017) mencionan que las especies de *Funneliformis* normalmente son descritas como especies generalistas, ya que habitan en varios ecosistemas. Por otro lado, Wang y Jiang (2015) atribuyen la baja cantidad de especies del género *Gigaspora*, a que tardan mucho tiempo para producir esporas, además que se ven favorecidas en su establecimiento y desarrollo por los suelos arenosos y de acuerdo con INEGI (2009) el bosque de pino-encino de Agua Escondida, se establece en un Luvisol, caracterizado por una acumulación de arcilla lo cual pudiera limitar también el número de especies.

Todas las especies de HMA inventariadas en este trabajo se establecen en suelos con porcentajes variables de MO. Oehl et al. (2004) sugieren que algunas especies de HMA, especialmente *Acaulospora* spp., se establecen en suelos con alto contenido de MO, esta situación puede estar relacionada con el bajo nivel de fósforo y nitrógeno disponible en estos suelos, tal y como se registró en este estudio.

En relación con las concentraciones de fósforo todas las especies de HMA con excepción de *Acaulospora bireticulata*, *A. denticulata*, *A. laevis*, *A. morrowiae*, *Ambispora fennica*, *Claroideoglopus claroideum*, *C. etunicatum*, *Gigaspora decipiens* y *Diversispora* aff. *trimurales*, se aislaron de suelos con concentraciones bajas de fósforo disponible, mientras que, las especies de HMA mencionadas anteriormente se ubicaron en suelos con concentraciones de bajas a medias. Tales resultados indican que la presencia de las especies de HMA en los suelos rizosféricos de las diez plantas medicinales, pudiera estar relacionada con la falta de fósforo que las plantas requieren, esta deficiencia tiende a aumentar la cantidad de exudados desprendidos a través de sus raíces, generando una acumulación de

compuestos de carbono en la rizósfera que propicia a su vez la proliferación de microorganismos como los HMA (Cuenca, 2015).

Entre los exudados inducidos por el estrés del fósforo se encuentran las estrigolactonas y los flavonoides (Soares et al., 2005; López-Ráez et al., 2017), estos últimos identificados en *Plantago major*, *Salvia lavanduloides* y *Senecio salignus* (eupatorín, 5-hidroxi-tetrametoxi, 5-hidroxi-trimetoxi-flavona y quercetina) (UNAM, 2009), de los cuales se tiene conocimiento que a determinadas concentraciones se obtienen máximos porcentajes de germinación de esporas en especies de *Glomus* y *Gigaspora*, así como mayor ramificación y longitud de las hifas (Pérez et al., 2011b) que podría ayudar a las plantas a explorar más allá de la zona de deficiencia.

Cabe agregar que los efectos de los flavonoides sobre los HMA dependen no sólo del tipo de flavonoide, sino también de su concentración, y esto a su vez depende de las especies botánicas, así como del estado fisiológico y la edad de la planta. Además, se ha comprobado que las especies de *Glomus* como *G. versiforme*, *G. mosseae* y *G. intraradices* se caracterizan por poseer en sus hifas externas transportadores de fósforo inorgánico, incluso en un estudio con arroz (*Oryza sativa*), colonizado por HMA se indicó que el 70% del fósforo inorgánico, fue absorbido por los hongos simbióticos (Wang et al., 2017). Maherali y Klironomos (2007) registraron mayor absorción de fósforo en presencia de diferentes especies de Gigasporaceae, Xie et al. (2016) son más específicos al mencionar a *Gigaspora margarita*.

Las 30 especies de HMA se desarrollan en suelos con porcentajes variables de nitrógeno, lo cual resalta su amplia capacidad para llevar a cabo los procesos de esporulación y germinación siendo que este elemento es fundamental en la conformación de proteínas y ácidos nucleicos, así mismo, esto sugiere que su establecimiento en la rizósfera de las diez plantas medicinales se debe a sus habilidades para utilizar fuentes orgánicas de nitrógeno y de esta manera proporcionar a las plantas hospederas la cantidad necesaria de este macronutriente (Cuenca, 2015).

Lo anterior sugiere que la riqueza y composición de especies de HMA dependen de las propiedades del suelo ya que de manera directa inciden en la producción de esporas, e indirectamente influyen en la selección de HMA que las propias plantas hospederas realizan, al considerar que en los bosques templados las lentas tasas de descomposición de materia orgánica producen concentraciones bajas de nitrógeno y fósforo inorgánico. Dichas deficiencias limitan el desarrollo de las plantas, por lo que el requerimiento de estos elementos es proporcionado por los HMA.

Bever et al. (2009) y Xu et al. (2017) mencionan que las plantas hospederas asignan carbono a los simbioses que favorecen su desarrollo. Tal selección explica por qué, aunque las diez plantas medicinales no hayan presentado diferencias estadísticas en relación con la riqueza de especies de HMA, la composición entre cada una de ellas es diferente.

El promedio de especies de HMA por planta medicinal obtenido en este estudio es similar con los resultados de Panwar y Tarafdar (2006) y Rajkumar et al. (2012), al analizar diferentes especies de angiospermas y una de helecho, también catalogadas como medicinales, en cuya rizósfera registraron entre cuatro y seis especies de HMA. Opik et al. (2006) mencionan que el número de especies promedio de HMA por planta hospedera en los bosques templados fue de 5.6.

En relación con la composición de especies de HMA inventariadas en los suelos rizosféricos de las mismas especies de plantas medicinales que se analizaron en este estudio, Bautista-Cruz et al. (2014) señalaron especies de HMA similares, por ejemplo, en *Adiantum capillus-veneris* se registró a *Acaulospora scrobiculata*, *A. spinosa*, *Claroideoglosum claroideum*, *Funneliformis geosporum* y *Glomus spinuliferum* aunque indicaron once especies más que no se observaron en este trabajo. En *Baccharis conferta* y *Plantago major* De la Rosa Mera et al. (2012) citan la presencia de *Acaulospora* y *Glomus*, del segundo género en esta investigación no se registraron especies de HMA para *Plantago major*.

Esta diferencia probablemente se debe a que las plantas se encuentran expuestas a diferentes especies vecinas, hoy se sabe que en la relación raíz-raíz la

planta focal puede beneficiarse de la raíz de sus vecinos favoreciéndose con la liberación de ciertos compuestos la disponibilidad de elementos fundamentales para su nutrición y crecimiento (Mommer et al., 2016). Además, es posible que las plantas vecinas al excretar compuestos diferentes o en concentraciones distintas, sinérgicamente ayuden a modificar las propiedades físicas y químicas del suelo, repercutiendo al final en la presencia de ciertas especies de HMA en la rizósfera.

La presencia de *Acaulospora bireticulata*, *A. laevis* y *A. spinosa* en nueve de las diez plantas medicinales con excepción de *Adiantum capillus-veneris*, *Selaginella lepidophylla* y *Senecio salignus* respectivamente, así como la presencia exclusiva de *Acaulospora* aff. *cavernata*, *A. sp. 1*, *Claroideoglosum* aff. *drummondii*, *Diversispora* aff. *trimurales*, *Funneliformis* aff. *geosporum*, *Funneliformis* aff. *monosporum*, *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora margarita* y *Sclerocystis rubiformis* en determinadas plantas medicinales se debe a la variabilidad genética que caracteriza a los HMA ya que tal variación es interespecífica, intraespecífica e inclusive entre las esporas de un mismo individuo (Cuenca, 2015). Esta variación determina la asociación planta hospedera-HMA y repercute en los beneficios recibidos.

Durante la temporada de secas la riqueza de especies de HMA fue mayor esto puede deberse a que durante esta época las plantas anuales mueren, y hay escases de raíces de orden superior, en consecuencia, bajo estas condiciones, el hongo esporula, las esporas persisten y germinan durante las lluvias. Por lo tanto, el número de esporas aumenta durante la sequía, un patrón que también se ha señalado en tipos de vegetación con estacionalidad marcada como los matorrales xerófilos y los bosques tropicales.

Entre las temporadas y los años de muestreo, la composición de especies de HMA resultó ser diferente, puesto que en los ecosistemas naturales la estacionalidad influye en la esporulación de las especies de HMA, causando que determinada especie de hongo sea fisiológicamente activa en una estación y no en la otra, donde seguramente otra especie puede estar colonizando activamente una raíz.

Pérez-Luna et al. (2012) mencionan que las especies de *Glomus* son las primeras en esporular, mientras que, las de *Acaulospora* germinan después del invierno y las especies de *Scutellospora* esporulan sólo entre octubre y diciembre, así como *Gigaspora gigantea*. Con base en los resultados anteriores se explica porque en este estudio se registró un número mayor de esporas de *Acaulospora*. Las esporas de las especies de *Acaulospora* dominaron en la rizósfera de *Baccharis conferta*, *Gnaphalium viscosum*, *Loeselia mexicana*, *Plantago major*, *Salvia lavanduloides*, *Selaginella lepidophylla* y *Senecio stoechadiformis*.

Es importante mencionar que la fenología de las plantas hospederas juega un papel fundamental en la presencia de especies de HMA dado que, en la época de floración, la abundancia de esporas tiende a disminuir y por ende la composición cambia (Ramírez-Gerardo et al., 1997), además la recolecta de las plantas con uso medicinal, puede modificar el hábitat de los HMA y afectar severamente sus comunidades.

Por lo que respecta a la densidad de esporas de HMA registrada en las diez plantas medicinales estudiadas, estas no reportaron diferencias significativas, lo cual puede deberse a que la mayoría de los suelos rizosféricos registraron bajas concentraciones de fósforo. Ante dicha deficiencia las plantas tienden a aumentar la cantidad de raíces finas propiciando mayor colonización micorrízica y baja densidad de esporas, en otros estudios De la Rosa-Mera et al. (2012) y Thapa et al. (2015) reportan de 34 a 240 y 53 a 197.40 esporas en 100 g de suelo respectivamente, valores mayores a los reportados en este estudio.

IX. CONCLUSIONES

Se registraron 28 especies de HMA para el bosque templado de Agua Escondida, Taxco, Guerrero.

Las especies *Acaulospora alpina* y *Ambispora fennica* fueron descritas de este estudio como nuevos registros para México (Varela et al., 2017) lo que sugiere que el bosque templado de Agua Escondida Taxco, Guerrero es un reservorio de la diversidad de estos microorganismos, con potencial para encontrar nuevos registros o quizás nuevas especies.

Las 28 especies de HMA son los primeros registros para las plantas medicinales: *Gnaphalium viscosum*, *Loeselia mexicana*, *Salvia lavanduloides*, *Sedum oxypetalum*, *Selaginella lepidophylla*, *Senecio salignus* y *Senecio stoechadiformis*.

Las comunidades de especies de HMA asociados a los suelos rizosféricos de las diez plantas medicinales mostraron valores bajos de diversidad (H'), probablemente debido al dominio de las especies del género *Acaulospora*.

La composición de las comunidades de HMA entre *Andiantum capillus-veneris*, *Baccharis conferta*, *Gnaphalium viscosum*, *Loeselia mexicana*, *Plantago major*, *Salvia lavanduloides*, *Sedum oxypetalum*, *Selaginella lepidophylla*, *Senecio salignus* y *Senecio stoechadiformis* son diferentes, los consorcios micorrízicos van de 2 a 6 especies de HMA en promedio.

Las propiedades químicas de los suelos rizosféricos varían entre las especies de plantas medicinales como un posible resultado de la influencia de los exudados liberados por las raíces.

El pH y el fósforo del suelo pueden influir en la composición de las comunidades de HMA, en este caso el pH ácido favoreció la presencia del género *Acaulospora*, y la mayor concentración de fósforo en *Senecio salignus* favoreció mayor densidad de esporas.

X. RECOMENDACIONES

Se considera importante para conferir de mayor validez a este estudio incrementar los puntos de muestreo y la distancia entre cada uno de ellos, así como ubicarlos geográficamente de manera que se logre abarcar una extensión más amplia del sotobosque.

En el caso de los arbustos, recolectar las muestras de suelo abarcando preferentemente la circunferencia de la rizósfera porque de lo contrario se corre el riesgo de no inventariar completamente la comunidad de HMA con la cual se podría estar estableciendo una relación.

Monitorear las comunidades de HMA durante etapas críticas del ciclo de vida de la planta hospedera puesto que, en la floración la composición podría llegar a cambiar.

Evaluar las propiedades químicas y físicas, así como la materia orgánica de todas las muestras de suelo dado que estas pueden llegar a cambiar durante el ciclo de vida de la planta hospedera, modificando a su vez la composición de los HMA.

Evaluar los porcentajes de colonización micorrízica para corroborar la relación HMA-planta hospedera.

En estudios futuros que pudieran complementar este estudio se recomienda lo siguiente:

Evaluar las concentraciones de fósforo y nitrógeno en las plantas medicinales cuando están asociadas o no a los HMA bajo condiciones de invernadero, y verificar si realmente contribuyen en el incremento de estos nutrimentos en estas especies.

Evaluar las concentraciones de fósforo y nitrógeno durante etapas críticas del ciclo de vida de las plantas medicinales y conocer si existe alguna variación.

Identificar los tipos de metabolitos secundarios que excretan las raíces de cada una de las plantas medicinales estudiadas y conocer la manera en que estas contribuyen en la señalización HMA-planta hospedera.

Evaluar la temperatura, precipitación estacional, la humedad y la intensidad de la luz en la zona de estudio y el efecto de estos factores ambientales sobre la composición y concentración los metabolitos secundarios que excretan las raíces de las plantas medicinales estudiadas.

Identificar las especies que conforman la microbiota de la rizósfera de cada una de las plantas medicinales estudiadas y conocer de qué manera éstas influyen en la presencia de los HMA.

XI. REFERENCIAS

Allen, E. B., Rincón, E., Allen, M. F., Pérez-Jiménez, A. y Huante, P. (1998). Disturbance and seasonal dynamics of mycorrhizae in a tropical deciduous forest in México. *Biotropica*, 30, 261-274.

Álvarez, M. J. (2012). *Caracterización morfológica de dos ectomicorrizas asociadas a Coccoleba uvifera L. e identificación del micobionte con base en la región ITS del ADNr, en una población de la comunidad La Ribera. Tampico Alto, Veracruz*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología Universidad Veracruzana, México.

Álvarez-Sánchez, J., Sánchez-Gallen, I., Hernández-Cuevas, L. V., Hernández-Oro, L. y Meli, P. (2017). Diversidad, abundancia y variación estacional en la comunidad de hongos micorrizógenos arbusculares en la selva Lacandona, Chiapas, México. *Scientia Fungorum*, 45, 37-51.

Amezcuca, T., Pérez-Gil, F. y Sanginés, L. (2010). Especies vegetales potencialmente consumidas por herbívoros en un bosque de pino y encino en México. *Avances en investigación agropecuaria*, 14(2), 85-97.

Andrade-Torres, A. (2010). Micorrizas: antigua interacción entre plantas y hongos. *Ciencia*. 61(4), 84-90.

Bautista-Cruz, A. A., Montaña, N. M., Camargo-Ricalde, S. L. y Pacheco, L. (2014). Hongos micorrizógenos arbusculares y nutrimentos del suelo asociados a cuatro especies de helechos en dos ecosistemas de Oaxaca, México. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 20(3), 199-212.

Bever, J. D., Richardson, S. C., Lawrence, B. M., Holmes, J. y Watson, M. (2009). Preferential allocation to beneficial symbiont with spatial structure maintains mycorrhizal mutualism. *Ecology letters*, 12, 13-21.

Blaszkowski, J. (1989a). *Acaulospora cavernata* (Endogonaceae) - a new species from Poland with pitted spores. *Crypt. Bot.*, 1, 204-207.

Blaszkowski, J. (1989b). Polish Endogonaceae *Acaulospora bireticulata*, *Entrophospora infrequens*, *Glomus caledonium* and *Scutellospora pellucida*. *Karstenia*, 29(1), 1-10.

Blaszkowski, J. (1995). *Acaulospora koskei*, a new species in Glomales from Poland. *Mycological Research*, 99(2), 237-240.

Blaszkowski, J. (1997). Notes on *Acaulospora bireticulata* (Glomales, Zygomycetes) found in Poland. *Mycotaxon*, 61, 193-204.

Blaszkowski, J., Tadych, M. y Madej, T. (2001). *Glomus arenarium* a new species in glomales (Zygomycetes). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 70(2), 97-101.

Boddington, C. L. y Dood, J. C. (2000). The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant and soil*, 218, 137-144.

Borie, F., Rubio, R., Morales, A. y Castillo, C. (2000). Relación entre densidad de hifas de hongos micorrizógenos arbusculares y producción de glomalina con las características físicas y químicas de suelos bajo cero labranza. *Revista chilena de historia natural*, 73(4), 749-756.

Campa-Uranga, M. F., Torres, R., Iriando, A. y Premo, W. (2012). Caracterización geológica de los ensambles metamórficos de Taxco y Taxco el Viejo, Guerrero, México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 64(3), 369-385.

Carballar-Hernández, S. (2009). *Variación temporal de la diversidad de hongos de micorriza arbuscular y el potencial micorrízico en especies silvestres de Agave en Oaxaca*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad-Oaxaca, México.

Carneiro, M. A. C., Ferreira, D. A., Souza, E. D. y Siqueira, O. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregates from fields of “murundus” converted to agriculture. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 50(4), 313-321.

Chaturvedi, S., Tewari, V., Sharma, S., Oehl, F., Wiemken, A., Prakash, A. y Sharma, A. K. (2012). Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Oak-Pine Forest and Agricultural Land Prevalent in the Kumaon Himalayan Hills, Uttarakhand, India. *British Microbiology Research Journal*, 2(2), 82-96.

Chimal-Sánchez, E., García-Sánchez, R. y Hernández-Cuevas, L. V. (2015). Gran riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares en el Valle del Mezquital, Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Micología*, 41, 15-26.

Chimal-Sánchez, E., Montaña, N. M., Camargo-Ricalde, S. L., García-Sánchez, R. y Hernández-Cuevas, L. V. (2016). Nuevos registros de hongos micorrizógenos arbusculares para México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(1), 242-247.

CONABIO. (2012). *Ecosistemas de México - Bosque templados - Biodiversidad Mexicana*. Recuperado el 24 de 09 de 2016, de <http://www.biodiversidad.gob.mx/in>

Cuenca, G. (2015). *Las micorrizas arbusculares: aspectos técnicos y aplicados*. Caracas, Venezuela: Ediciones IVIC, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). 432 p.

Dantas, B. L., Weber, O. B., Neto, J. P. M., Rossetti, A. G. y Pagano, M. C. (2015). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in an organic orchard of semi-arid land of Ceará, Brazil. *Ciencia Rural*, 45(8), 1480-1486.

De la Rosa-Mera, C. (2009). *Micorriza arbuscular y estrés abiótico en el contenido de alcaloides (vinblastina y voncristina) de Catharanthus roseus*. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, México.

De la Rosa-Mera, C., Ferrera-Cerrato, R., Sánchez-Colín, M. y Franco-Ramírez, A. (2012). Aislamiento de consorcios de hongos micorrícicos arbusculares de plantas medicinales y su efecto en el crecimiento de vinca (*Catharanthus roseus*). *Revista chilena de historia natural*, 85(2), 187-198.

Fabián, D., Guadarrama-Chávez, P., Hernández-Cuevas, L. V. y Ramos-Zapata, J. A. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi in a coastal wetland in Yucatán, México. *Botanical Sciences*, 96(1), 24-34.

Fierro, A., González, M., Montiel, D., Ruiz, D., Olivares, L. J. y Romueldo, J. C. (s.f.). La recolección y cultivo de especies medicinales y aromáticas silvestres, una propuesta de manejo sostenible. *UAM Xochimilco*. Obtenido de www.somas.org.mx/pdf/pdfs_libros/agriculturasostenible5/

Furrazola, E., Heredia, G., Olvera, G. y Sosa, V. (2017). Efecto de comunidades nativas de hongos micorrizógenos arbusculares sobre el crecimiento o de plántulas de maíz y sorgo. *Acta Botánica Cubana*, 216(3), 127-136.

Giovannetti, M., Avio, L., Citerinesi, A.S. y Sbrana, C. (1993). Factors affecting appressorium development in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. (Nicol. & Gerd.). *New Phytologist*, 123, 115-122.

Gómez, E. S. (2010). *Aislamiento, selección e identificación de los simbiositos (hongos micorrizicos y rizobios) asociados al huizache (Acacia farnesiana) en el Centro de la Estrella*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México.

González-Cortés, J. C., Vega-Fraga, M., Varela, L., Martínez-Trujillo, M., Carreón-Abud, Y. y Gavito, M. E. (2012). Arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal ecology*, 5, 16-23.

Guadarrama-Chávez, P. (1993). *Distribución y abundancia de esporas de hongos micorrizicos arbusculares en una selva húmeda tropical*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.

Guadarrama-Chávez, P., Camargo-Ricalde, S. L., Hernández-Cuevas, L. V. y Castillo-Argüero, S. (2007). Los hongos micorrizógenos arbusculares de la región de Nizanda, Oaxaca, México. *Bol. Soc. Bot. Méx.*, 81, 131-137.

Gupta, V. y Knox, O. (2010). How best can we design rhizosphere plant-microbe interactions for the benefit of plant growth? En: V.V.S.R. Gupta, M. M. Ryder y J. Radcliffe (eds), *The Rovira Rhizosphere Symposium: celebrating 50 years of rhizosphere research* (11-24). Australia.

Guzmán-Mendoza, R., Zavala-Hurtado, J. A., Castaño-Meneses, G. y León-Cortés, J. L. (2014). Comparación de la mirmecofauna en un gradiente de reforestación en bosques templados del centro occidente de México. *Madera y bosques*, 20(1), 71-83.

Hernández-Cuevas, L., Castillo Agüero, S., Guadarrama-Chávez, P., Martínez Orea, Y., Romero Romero, M. A. y Sánchez-Gallén, I. (2003). *Hongos micorrizógenos arbusculares del Pedregal de San Ángel*. México: Las prensas de ciencias. UNAM. 85 p.

Hernández-Cuevas, L., Guadarrama-Chávez, P., Sánchez-Gallén, I. y Ramos-Zapata, J. (2008). Micorriza arbuscular: colonización intraradical y extracción de esporas. En: J. Álvarez-Sánchez y A. Monroy-Ata (Comps), *Técnicas de Estudio de las Asociaciones Micorrízicas y sus Implicaciones en la Restauración* (1-15). México, CDMX: Prensas de Ciencias.

Honrubia, M. (2009). Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anales de Jardín Botánica de Madrid*, 66, 133-144.

INEGI. (1991). Taxco de Alarcón Cuaderno de Información Básica para la Planeación Municipal. Recuperado el 04 de abril del 2019 de http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/historicos/920/702825921088/702825921088_1.pdf

INEGI. (2009). Prontuario de Información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos: Taxco de Alarcón, Guerrero. Recuperado el 20 de diciembre del 2018 de http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/12/12055.pdf

INEGI. (s.f.). *Regiones naturales y Biogeografía de México*. Recuperado el 19 de septiembre de 2016 de <http://www.inegi.org.mx/inegi/SPC/doc/internet/regio>

INVAM. (2015). International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Recuperado el 5 agosto, 2016 de: <http://invam.caf.wvu.edu/>

Jamiolkowska, A., Ksiezniak, A., Galazka, A., Hetman, B., Kopacki, M. y Skwarylo-Bednarz, B. (2018). Impact of abiotic factor on development of the community of arbuscular mycorrhizal fungi in the soil: a review. *Int. Agrophys*, 32, 133-140.

Lara-Pérez, L. A., Noa-Carrazana, J. C., Landa-López, A. J., Hernández-González, S., Oros-Ortega, I. y Andrade-Torres, A. (2014). Colonización y estructura de la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares en *Alsophila firma* (Cyatheaceae) en bosque mesófilo de montaña en Veracruz, México. *Revista de biología tropical*, 62(4), 1609-1623.

López-Encina, C., y Barceló Muñoz, A. (1999). *Sobre micorrizas*. Disponible en: <http://www.encuentros.uma.es/encuentros55/micorrizas.html>

López-Ráez, J. A., Shirasu, K. y Foo, E. (2017). Strigolactones in plant interactions with beneficial and detrimental organisms: the yin and yang. *Trends in Plant Science*, 22(6), 526-537

Lovelock, C. E., Anderson, K. y Morton, J. B. (2003). Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. *Oecologia*, 135, 268-279.

Maherali, H. y Klironomos, J. N. (2007). Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science*, 316(5832), 1746-1748.

Martínez, M., Cruz, R., Castrejón, J. F., Valencia, S., Jiménez, J. y Ruiz-Jiménez, C. (2004). Flora vascular de la porción guerrerense de la Sierra de Taxco, Guerrero, México. *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*, 75(2), 105-189.

Mommer, L., Kirkegaard, J. y Van Ruijven, J. (2016). Root-root interactions: towards a rhizosphere framework. *Trends in Plant Science*, 21(3), 209-217.

Montañez Orozco, I., Vargas Sarmiento, C., Cabezas Gutiérrez, M. y Cuervo Andrade, J. (2010). Colonización micorrizica en plantas de aguacate (*Persea americana*). *Revista U.D.CA Act E Div. Cient.*, 13(2), 51-60.

Montaño, N. M. (2000). *Potencialidad de los hongos micorrizógenos arbusculares de las islas de fertilidad de mezquite (Prosopis laevigata) de dos agostaderos semiáridos del Valle de Actopan, México central un enfoque ecológico para recuperar la vegetación*. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México.

Montaño, N. M., Alarcón, A., Camargo-Ricalde, S. L., Hernández-Cuevas, L. V., Álvarez-Sánchez, J., González-Chávez, M. C., et al. (2012). Research on arbuscular mycorrhizae in Mexico: an historical synthesis and future prospects. *Symbiosis*, 57, 111-126.

Moreira, F. M. S., Huising, E. J. y Bignell, D. E. (2012). *Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo*. México: Instituto Nacional de Ecología. 350 p.

Morton, J. B. y Benny, G. L. (1990). Reused classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes). A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*, 37, 471-491.

Morton, J. B. y Koske, R. E. (1988). *Scutellospora dipurpurescens*, a new species in the endogonaceae from west Virginia. *Mycologia*, 80(4), 520-524.

NOM-021-RECNAT-2000 (Norma Oficial Mexicana). 2000. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación. 85 p.

Núñez, C. C. (2013). *Aislamiento y determinación de hongos micorrízicos arbusculares en suelos agrícolas salinos de San Andrés Mixquic, Delegación Tláhuac*. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México.

Oehl, F., Sieverding, E., Mäder, P., Dubois, D., Ineichen, K., Boller, T. y Wiemken, A. (2004). Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia*, 138(4), 574-583.

Oehl, F., Sykorová, Z., Redecker, D., Wiemken, A. y Sieverding, E. (2006). *Acaulospora alpine*, a new arbuscular mycorrhizal fungal species characteristic for high mountainous and alpine regions of the Swiss Alps. *Mycologia*, 98(2), 286-294.

Oehl, F., Wiemken, A. y Sieverding, E. (2003). *Glomus spinuliferum*, a new ornamented species in the glomales. *Mycotaxon*, 86, 157-162.

Olivera-Morales, D., Castillo-Argero, S., Guadarrama, P., Ramos-Zapata, J., Álvarez-Sánchez, J. y Hernández-Cuevas, L. (2011). Establecimiento de plántulas de *Quercus rugosa* Née inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares en un bosque templado de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (89), 115-121.

Ópik, M., Moora, M., Liira, J. y Zobel, M. (2006). Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology*, 94(4), 778-790.

Ordoñez, NF., Otero, JT. y Díaz, L. A. (2014). Interacciones micorrízicas de *Masdevallia coccinea* Linden ex Lind. *Orquideología*, XXXI (2), 123-135.

Osorio-Miranda, M., Castelán-Estrada, M., Gómez-Leyva, J. F., Salgado-García, S. y Hernández-Cuevas, L. V. (2013). Hongos micorrícicos arbusculares de suelos de sabana en Tabasco, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 16(2), 171-182.

Panwar, J. y Tarafdar, J. C. (2006). Distribution of three endangered medicinal plant species and their colonization with arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Arid Environments*, 65(3), 337-350.

Pérez, U. A. (2011a). *Evaluación de un sistema para la micorrización in vitro en plantas de mora de Castilla (Rubus glaucus)*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencia Bogotá, Colombia.

Pérez, U. A., Ramírez, M. M., Moreno, L. M. y Franco, M. (2011b). Methodology for the disinfection and germination of spores and fragments of roots inoculated with *Glomus* sp. (GEV02) for use under in vitro conditions. *Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12(2), 143-150.

Pérez-Luna, Y. C., Álvarez-Solís, J. D., Mendoza-Vega, J., Pat-Fernández, J. M., Gómez-Álvarez, R. y Cuevas, L. (2012). Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana Botánica*, 69(1), 46-56.

Peterson, R. L., Massicote, H. B. y Melville, L. H. (2004). *Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology*. Canada: NRC Research Press. 173 p.

Picone, C. (2000). Diversity and abundance of arbuscular mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. *Biotropica*, 32, 734-750.

Pugnaire, Fl. y Martínez, LB. (2009). Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Ecosistemas*, 18(2), 44-54.

Quinteros , P., Hanzen , N. y Kutschker, A. (2010). Composición y diversidad del sotobosque de ñire (*Nothofagus antarctica*) en función de la estructura del bosque. *Ecología Austral*, 20(3), 225-234.

Rajkumar, H. G., Seema , H. S. y Sunil, C. P. (2012). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with some medicinal plants in Western Ghats of Karnataka region, India. *World Journal of Nuclear Science and Technology*, 2(1), 13-20.

Ramírez-Gerardo, M., Álvarez-Sánchez, J., Guadarrama-Chávez, P. y Sánchez-Gallén, I. (1997). Estudio de hongos micorrizógenos arbusculares bajo árboles remanentes en un pastizal tropical. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 61, 15-20.

Ramos, E. y Zúñiga, D. (2008). El efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. *Ecología aplicada*, 7(1-2), 123-130.

Redecker, D., Morton, JB. y Bruns, TD. (2000). Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 14(2), 276-284.

Rodríguez-Morelos, V. H., Soto-Estrada, A., Pérez-Moreno, J., Franco-Ramírez, A. y Díaz-Rivera, P. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi associated with the rhizosphere of seedlings and mature trees of *Swietenia macrophylla* (Magnoliophyta: Meliaceae) in Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Revista Chilena de Historia Natural*, 87(1), 1-10.

Salmerón-Santiago, I. A., Pedraza-Santos, M. E., Mendoza-Oviedo, L. S. y Chávez-Bárceñas, A.T. (2015). Cronología de la taxonomía y cladística de los glomeromicetos. *Rev. Fitotec. Mex.*, 38(2), 153-163.

Sánchez-Lizarraga, A. L., Dendooven, L., Marino-Marmolejo, E. N., Dávila-Vázquez, G., Hernández-Cuevas, L., Arenas-Montaño, V, y Contreras-Ramos, S. M. (2017). Presence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in soil regularly irrigated with vinasses. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(4), 1116-1129.

Schübler, A., Mollenhauer, D., Schnepf, E. y Kluge, M. (1994). *Geosiphon pyriforme* an endosymbiotic association of fungus and cyanobacteria: the spore structure resembles that of arbuscular mycorrhizal AM fungi. *Botanica Acta*, 107, 36-45.

Schübler, A., Schwarzott, D. y Walker, C. (2001). A new fungal phylum the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105, 1413-1421.

Sieverding, E. (1988). Two new species of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in the Endogonaceae from tropical highlands of África. *Angew Botanik*, 62, 373-380.

Soares, A. C., Martins, M. A., Mathias, L., Mendoca, M. S. (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi and the occurrence of flavonoids in roots of passion fruit seedlings. *Scientia Agricola*, 62(4), 331-336.

Teixeira-Ríos, T., Gomes, R., Costa, L., Oehl, F. y Pereira, C. E. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi in a semi-arid, limestone mining-impacted area of Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 27(4), 688-693.

Thapa, T., De, U. K. y Chakraborty, B. (2015). Association and root colonization of some medicinal plants with arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of medicinal plants studies*, 3(2), 25-35.

Trinidad-Cruz, J. R., Quiñones-Aguilar, E. E., Hernández-Cuevas, L. V., López-Pérez, L. y Rincón-Enríquez, G. (2017). Hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizosfera de *Agave cupreata* en regiones mezcaleras del estado de Michoacán, México. *Revista mexicana de micología*, 45, 13-25.

UNAM. (2009). Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperado el 15 de diciembre, 2018 de: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Adiantum%20capillus-veneris&id=7235>

UNAM. (2013). México pierde cada año 40 mil hectáreas de bosques templados. Recuperado el 15 de diciembre, 2018 de: http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2013_757.html

Van der Heijden, MGA., Klironomos, J. N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A. y Sanders, I. R. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plants biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396, 69-72.

Varela, L. y Trejo, D. (2001). Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. *Acta Zoológica Mexicana*, Núm. especial 1, 39-51.

Varela-Fregoso, L., Mora-Velázquez, A., Chávez-Hernández, C. G., Martínez-Bernal, A., García-Sánchez, R., Chimal-Sánchez, E. y Montaña, N. M. (2017).

Acaulospora alpina y *Ambispora fennica*, dos registros nuevos de hongos micorrizógenos arbusculares para México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(3), 496-501.

Velázquez, M. S., Stürmer, S. L., Bruzone, C., Fontenla, S., Barrera, M. y Cabello, M. (2016). Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in high altitude sites of the Patagonian Altoandina region in Nahuel Huapi National Park (Argentina). *Acta Botanica Brasilica*, 30(4), 521-531.

Villers-Ruíz, L., García del Valle, L. y López, J. (1998). Evaluación de los bosques templados en México: una aplicación en el parque nacional Nevado de Toluca. *Investigaciones Geográficas Boletín*, (36), 7-19.

Walker, C. y Diederichs C. (1989). *Scutellospora scutata* sp. nov., a newly described endomycorrhizal fungus from Brazil. *Mycotaxon*, 35(2), 357-361.

Walker, C., Vestberg, M., Demircik, F., Stockinger, H., Saito, M., Sawaki, H., Nishimura, I., et al. (2007). Molecular phylogeny and new taxa in the Archaeosporales (Glomeromycota): *Ambispora fennica* gen. sp. nov., Ambisporaceae fam. nov., and emendation of *Archaeospora* and Archaeosporaceae. *Mycological research*, 111, 137-153.

Wang, M. y Jiang, P. (2015). Colonization and diversity of AM fungi by morphological analysis on medicinal plants in southeast China. *The scientific world journal*, 1-7.

Wang, W., Shi, J., Xie, Q., Jiang, Y., Yu, N. y Wang, E. (2017). Nutrient exchange and regulation in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Molecular Plant*, 10(9), 1147-1158.

Xie, X., Lin, H., Peng, X., Xu, C., Sun, Z., Jiang, K., Huang, A., et al. (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis requires a phosphate transceptor in the *Gigaspora margarita* fungal symbiont. *Molecular Plant*, 9(12), 1583-1608.

Xu, X., Chen, C., Zhang, Z., Sun, Z., Chen, Y., Jiang, J. y Shen, Z. (2017). The influence of environmental factors on communities of arbuscular mycorrhizal

fungi associated with *Chenopodium ambrosioides* revealed by MiSeq sequencing investigation. *Scientific Reports*, 7(45134), 1-11.

Zubek, S., Blaszkowski, J., Seidler-Lozykowska, K., Baba, W. y Mleczko, P. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi abundance, species richness and composition under the monocultures of five medicinal plants. *Acta Sci. Pol-Hortorum Cultus*, 12(5), 127-141.

XII. ANEXOS

Fórmulas para la preparación de PVLG

- 1.66 g de alcohol polivinílico (20-25 viscosidad en solución acuosa al 4%)
- 10 mL de agua
- 10 mL de ácido láctico
- 1 mL de glicerina

Agregar en un frasco de vidrio con 10 ml de agua el alcohol polivinílico y poner a baño María por 6 horas a 80°C. Después de ese tiempo o cuando se haya disuelto al alcohol, agregar el ácido láctico y la glicerina, revolver. Dejar reposar 24 h antes de usarse.

Lactoglicerol

- 25 mL de ácido láctico
- 25 mL de agua
- 50 mL de glicerina

En un recipiente se coloca el ácido láctico, la glicerina y el agua y se revuelven.

Reactivo de Melzer

- 100 g de hidrato de cloral
- 100 mL de agua destilada
- 1.5 de yodo
- 5 g de yoduro de potasio

En un recipiente se revuelven todos los ingredientes. Posteriormente se hace una disolución 1:1 con PVLG

Materia orgánica

Cálculos

$$\% M.O = 5 (1 - M/B) \times 1.34$$

M= mL de sulfato ferroso gastados en la titulación

B= mL de sulfato ferroso gastados en el blanco

El factor 1.34 se deduce de la siguiente forma:

$$(1 N) \times 12/4000 \times 1.72/0.77 \times 100/0.5 = 1.34$$
$$N \times 12/4000 \times 1.72/0.77 \times 100/0.1 = 6.70 \text{ (en este caso)}$$

1.0= normalidad del $K_2Cr_2O_7$

12/4000= peso miliequivalentes del carbono

1.72= factor de transformación de carbono en materia orgánica (MO)

0.77= factor de recuperación de 77% determinado por Walkley

0.5= peso de muestra (en este caso 0.1g)

Fosforo extractable (Bray-1, Bray y Kurtz)

Reactivos

- 1.1 Solución extractora Bray-1 (Fluoruro de amonio 0.03 M). Disolver 1.11g de NH_4F en 900 mL de agua destilada, se adicionan 2.08 mL de HCl concentrado y se afora a 1L.
- 1.2 Reactivo A. Disolver 6g de molibdato de amonio $[(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O]$ en 125 mL de agua destilada. Disolver 0.1454g de tartrato de antimonio y potasio $[K(SbO) C_4H_4O_6]$ en 50mL de agua destilada. Tomar 70 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) y aforar a 500 mL (H_2SO_4 2.5M). Mezclar fuertemente estas tres soluciones aforar a 1000 mL con agua destilada y almacenar en frasco ámbar en un lugar frío.
- 1.3 Reactivo B. Disolver 1.056 g de ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) en 200 mL de reactivo A y mezclar fuertemente. Preparar esta solución en el momento y las cantidades requeridas.
- 1.4 Estándar de Fósforo de 200 mgL^{-1} . Se disuelven 0.08787g de fosfato de dihidrógeno de potasio (KH_2PO_4 , secado a $105^\circ C$ durante 2 horas) en agua destilada y se afora a 100 mL. Guardar en refrigeración en frasco de plástico.
- 1.5 Solución de fósforo 4 mgL^{-1} . Tomar 1 mL del estándar (200 mgL^{-1}) y aforar a 50 mL con agua destilada.

Preparación de curva de calibración

Solución de P (4 ppm)	Agua	Solución Extractante	Reactivo B	[P ppm]
mL	mL	mL	mL	mL
0	6	2	2	0
0.5	5	2	2	0.2
1	4	2	2	0.4
2	3	2	2	0.8
4	2	2	2	1.6
5	1	2	2	2

Cálculos

$$P \text{ (mg/kg)} = (\text{ppm en C.C.}) (Dm) (Dv)$$

Donde:

Ppm C.C.= partes por millón en la curva de calibración

Dm= dilución de masa (volumen del extractante/g de muestra).

Dv= dilución de volumen (aforo/alícuota)

Método Kjeldhal inclusión de NO_3^{-1}

Reactivos

- 1 Mezcla ácido sulfúrico-salicílico: Agregar 1g de ácido salicílico a 30 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- 2 Mezcla catalizadora de sulfatos: Mezclar 96 g de Na_2SO_4 con 0.5 g de selenio negro polvo y 3.5 g de CuSO_4 y macerar hasta que pase por un tamiz de 40 mallas.
- 3 Hidróxido de sodio al 50%. Disolver 500 g de NaOH a 1 litro de H_2O destilada.
- 4 Ácido bórico al 4% en solución acuosa: Disolver 40 g de H_3BO_3 en 1 litro de agua destilada. Agua caliente facilita la disolución.
- 5 Ácido sulfúrico 0.05 N. Estandarizar preferentemente con Na_2CO_3 y como indicador anaranjado de metilo.
- 6 Indicador mixto de verde de bromocresol-rojo de metilo:
 - a) Preparar una solución acuosa 0.1% de bromocresol (100 mg de reactivo verde de bromocresol se aforan a 100 mL de H_2O destilada) antes de aforar, se debe agregar a esta solución 2 mL de NaOH 0.1 N (pesar 400 mg de NaOH y disolver en 100 mL de agua destilada)
 - b) Preparar una solución al 0.1% de rojo de metilo en alcohol etílico (100 mg de rojo de metilo se aforan a 100 mL de etanol, antes de aforar se deben agregar 3 mL de la solución 0.1N de NaOH)
 - c) Finalmente, se mezclan 75 mL de la solución de indicador verde d bromocresol con 25 mL de indicador rojo de metilo y diluya a 200 mL con alcohol etílico.

Cálculos

$$\%N = (V_m - V_b) \times N \times 14 \times (1/\text{peso muestra}) \times 1/1000 \times 100$$

V_m : mL gastados en titular muestra

V_b : mL gastados en titular el blanco

N: Normalidad corregida del ácido sulfúrico

14: Peso equivalente del Nitrógeno

(Volumen mL x Normalidad) = miliequivalentes

Miliequivalentes x 14= miliequivalentes de N

meq de N x (1/peso de muestra) mg de N/g de muestra

mg de N/g de muestra x (1/1000) = g de N/g de muestra

g de N/g de muestra (100) = % de N

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 07/11/2017 11:41:25 a.m.

Database C:\Users\Eduardo\Desktop\cECILIA CHAVEZ\basedatosanova.S0

Response Total_de_esporas_por_100_g_de_suelo

Tests of Assumptions Section

Assumption	Test Value	Prob Level	Decision (0.05)
Skewness Normality of Residuals	4.2262	0.000024	Reject
Kurtosis Normality of Residuals	3.1561	0.001599	Reject
Omnibus Normality of Residuals	27.8220	0.000001	Reject
Modified-Levene Equal-Variance Test		0.5759	0.808630 Accept

Expected Mean Squares Section

Source Term	DF	Term Fixed?	Denominator Term	Expected Mean Square
A: Especie_botánica	9	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	40	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power
(Alpha=0.05)						
A: Especie_botánica	9	49562	5506.889	1.50	0.181214	0.617809
S(A)	40	146808	3670.2			
Total (Adjusted)	49	196370				
Total	50					

* Term significant at alpha = 0.05

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 07/11/2017 11:41:25 a.m.

Database C:\Users\Eduardo\Desktop\cECILIA CHAVEZ\basedatosanova.S0

Response Total_de_esporas_por_100_g_de_suelo

Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks

Hypotheses

H0: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

Test Results

Method	DF	Chi-Square (H)	Prob Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	9	16.10447	0.064732	Accept H0
Corrected for Ties	9	16.11608	0.064497	Accept H0
Number Sets of Ties	9			
Multiplicity Factor	90			

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 07/11/2017 11:41:26 a.m.

Database C:\Users\Eduardo\Desktop\cECILIA CHAVEZ\basedatosanova.S0

Response Riqueza

Tests of Assumptions Section

Assumption	Test Value	Prob Level	Decision (0.05)
Skewness Normality of Residuals	1.2709	0.203777	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	-0.0455	0.963701	Accept
Omnibus Normality of Residuals	1.6172	0.445489	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test		0.6751	0.726340 Accept

Expected Mean Squares Section

Source Term	DF	Term Fixed?	Denominator Term	Expected Mean Square
A: Especie_botánica	9	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	40	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares (Alpha=0.05)	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power
A: Especie_botánica	9	48.42	5.38	1.98	0.067992	0.764434
S(A)	40	108.8	2.72			
Total (Adjusted)	49	157.22				
Total	50					

* Term significant at alpha = 0.05

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 07/11/2017 11:41:26 a.m.

Database C:\Users\Eduardo\Desktop\cECILIA CHAVEZ\basedatosanova.S0

Response Riqueza

Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks

Hypotheses

H0: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

Test Results

Method	DF	Chi-Square (H)	Prob Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	9	13.64988	0.135336	Accept H0
Corrected for Ties	9	14.19803	0.115453	Accept H0
Number Sets of Ties	7			
Multiplicity Factor	4824			

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 07/11/2017 11:41:26 a.m.

Database C:\Users\Eduardo\Desktop\cECILIA CHAVEZ\basedatosanova.S0

Response H

Tests of Assumptions Section

Assumption	Test Value	Prob Level	Decision (0.05)
Skewness Normality of Residuals	0.3110	0.755788	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	-1.4661	0.142613	Accept
Omnibus Normality of Residuals	2.2463	0.325260	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test		0.6903	0.713267 Accept

Expected Mean Squares Section

Source Term	DF	Term Fixed?	Denominator Term	Expected Mean Square
A: Especie_botánica	9	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	40	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares (Alpha=0.05)	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power
A: Especie_botánica	9	3.106201	0.3451334	1.40	0.220030	0.581733
S(A)	40	9.849149	0.2462287			
Total (Adjusted)	49	12.95535				
Total	50					

* Term significant at alpha = 0.05

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 07/11/2017 11:41:26 a.m.

Database C:\Users\Eduardo\Desktop\cECILIA CHAVEZ\basedatosanova.S0

Response H

Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks

Hypotheses

H0: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

Test Results

Method	DF	Chi-Square (H)	Prob Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	9	10.8	0.289667	Accept H0
Corrected for Ties	9	10.80571	0.289262	Accept H0
Number Sets of Ties	2			
Multiplicity Factor	66			

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 24/11/2017 12:52:26 p.m.

Database

Response pH

Tests of Assumptions Section

Assumption	Test Value	Prob Level	Decision (0.05)
Skewness Normality of Residuals	-1.2389	0.215386	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	1.6483	0.099297	Accept
Omnibus Normality of Residuals	4.2516	0.119334	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test		0.8523	0.573922 Accept

Expected Mean Squares Section

Source	Term	DF	Term	Denominator	Expected
Term	Fixed?	Term	Mean Square		
A: Especie_botánica	Yes	9	S(A)	S+sA	
S(A)	No	40	S(A)	S(A)	

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power
A: Especie_botánica	9	7.05445	0.7838278	13.07	0.000000*	1.000000
S(A)	40	2.3986	0.059965			
Total (Adjusted)	49	9.45305				
Total	50					

* Term significant at alpha = 0.05

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 24/11/2017 12:52:26 p.m.

Database

Response pH

Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks

Hypotheses

H0: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

Test Results

Method	DF	Chi-Square (H)	Prob Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	9	33.44376	0.000112	Reject H0
Corrected for Ties	9	33.71086	0.000100	Reject H0
Number Sets of Ties	12			
Multiplicity Factor	990			

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: pH

Term A: Especie_botánica

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=40 MSE=0.059965 Critical Value=4.7345

Group	Count	Mean	Different From Groups
Bc	5	6.02	Ssa, Pm
So	5	6.1	Ssa, Pm
Lm	5	6.17	Ssa, Pm
Gv	5	6.2	Ssa, Pm
Sle	5	6.22	Ssa, Pm
Acv	5	6.32	Ssa, Pm
Sl	5	6.52	Pm
Sst	5	6.52	Pm
Ssa	5	7.02	Bc, So, Lm, Gv, Sle, Acv
Pm	5	7.2	Bc, So, Lm, Gv, Sle, Acv, Sl, Sst

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 24/11/2017 12:52:27 p.m.

Database

Response MO_____

Tests of Assumptions Section

Assumption	Test Value	Prob Level	Decision (0.05)
Skewness Normality of Residuals	-2.4746	0.013337	Reject
Kurtosis Normality of Residuals	3.5083	0.000451	Reject
Omnibus Normality of Residuals	18.4317	0.000099	Reject
Modified-Levene Equal-Variance Test		1.5000	0.181380 Accept

Expected Mean Squares Section

Source Term	DF	Term Fixed?	Denominator Term	Expected Mean Square
A: Especie_botánica	9	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	40	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power
(Alpha=0.05)						
A: Especie_botánica	9	842.8142	93.64602	36.24	0.000000*	1.000000
S(A)	40	103.37	2.58425			
Total (Adjusted)	49	946.1842				
Total	50					

* Term significant at alpha = 0.05

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 24/11/2017 12:52:27 p.m.

Database

Response MO_____

Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks

Hypotheses

H0: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

Test Results

Method	DF	Chi-Square (H)	Prob Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	9	42.59482	0.000003	Reject H0
Corrected for Ties	9	42.70145	0.000002	Reject H0
Number Sets of Ties	12			
Multiplicity Factor	312			

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: MO_____

Term A: Especie_botánica

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=40 MSE=2.58425 Critical Value=4.7345

Group	Count	Mean	Different From Groups
Pm	5	1.05	So, Bc, Sl, Acv, Sle
Ssa	5	1.45	So, Bc, Sl, Acv, Sle
Lm	5	1.6	So, Bc, Sl, Acv, Sle
Sst	5	2.02	So, Bc, Sl, Acv, Sle
Gv	5	2.3	Bc, Sl, Acv, Sle
So	5	5.62	Pm, Ssa, Lm, Sst, Sl, Acv, Sle

Bc	5	6.22	Pm, Ssa, Lm, Sst, Gv, Acv, Sle
Sl	5	9.62	Pm, Ssa, Lm, Sst, Gv, So, Sle
Acv	5	10	Pm, Ssa, Lm, Sst, Gv, So, Bc
Sle	5	13.08	Pm, Ssa, Lm, Sst, Gv, So, Bc, Sl

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 24/11/2017 12:52:27 p.m.

Database

Response Nitrógeno_____

Tests of Assumptions Section

Assumption	Test Value	Prob Level	Decision (0.05)
Skewness Normality of Residuals	0.2194	0.826373	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	3.3346	0.000854	Reject
Omnibus Normality of Residuals	11.1677	0.003758	Reject
Modified-Levene Equal-Variance Test		1.0323	0.432008 Accept

Expected Mean Squares Section

Source	Term	DF	Term	Denominator	Expected Mean Square
	A: Especie_botánica	9	Yes	S(A)	S+sA
	S(A)	40	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

Analysis of Variance Table

Source	Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power
(Alpha=0.05)							
A: Especie_botánica		9	0.390888	0.043432	9.49	0.000000*	0.999999
S(A)		40	0.183048	0.0045762			
Total (Adjusted)		49	0.573936				
Total		50					

* Term significant at alpha = 0.05

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 24/11/2017 12:52:27 p.m.

Database

Response Nitrógeno_____

Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks

Hypotheses

H0: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

Test Results

Method	DF	Chi-Square (H)	Prob Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	9	34.03435	0.000088	Reject H0
Corrected for Ties	9	34.25311	0.000081	Reject H0

Number Sets of Ties 12
 Multiplicity Factor 798

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: Nitrógeno____
 Term A: Especie_botánica

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=40 MSE=0.0045762 Critical Value=4.7345

Group	Count	Mean	Different From Groups
Sst	5	0.042	Sl, Acv, Gv, So, Sle
Ssa	5	0.042	Sl, Acv, Gv, So, Sle
Lm	5	0.098	Sle
Bc	5	0.14	Sle
Pm	5	0.14	Sle
Sl	5	0.196	Sst, Ssa
Acv	5	0.202	Sst, Ssa
Gv	5	0.238	Sst, Ssa
So	5	0.238	Sst, Ssa
Sle	5	0.336	Sst, Ssa, Lm, Bc, Pm

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 24/11/2017 12:52:27 p.m.
 Database
 Response Fosforo__mg_Kg_

Tests of Assumptions Section

Assumption	Test Value	Prob Level	Decision (0.05)
Skewness Normality of Residuals	1.3250	0.185163	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	4.6909	0.000003	Reject
Omnibus Normality of Residuals	23.7601	0.000007	Reject
Modified-Levene Equal-Variance Test		2.2924	0.035033 Reject

Expected Mean Squares Section

Source Term	DF	Term Fixed?	Denominator Term	Expected Mean Square
A: Especie_botánica	9	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	40	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power
(Alpha=0.05)						
A: Especie_botánica	9	1020.739	113.4155	29.35	0.000000*	1.000000
S(A)	40	154.5926	3.864815			

Total (Adjusted) 49 1175.332
 Total 50
 * Term significant at alpha = 0.05

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 24/11/2017 12:52:27 p.m.
 Database
 Response Fosforo__mg_Kg_

Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks

Hypotheses

H0: All medians are equal.
 Ha: At least two medians are different.

Test Results

Method	DF	Chi-Square (H)	Prob Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	9	38.56329	0.000014	Reject H0
Corrected for Ties	9	38.73628	0.000013	Reject H0
Number Sets of Ties	13			
Multiplicity Factor	558			

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: Fosforo__mg_Kg_
 Term A: Especie_botánica

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=40 MSE=3.864815 Critical Value=4.7345

Group	Count	Mean	Different From Groups
Pm	5	0.4427491	Ssa
Sst	5	0.5427491	Ssa
Gv	5	0.808132	Ssa
Sle	5	0.8427492	Ssa
Acv	5	1.04272	Ssa
So	5	1.367749	Ssa
Lm	5	1.64273	Ssa
Sl	5	3.342749	Ssa
Bc	5	4.509409	Ssa
Ssa	5	16.09272	Pm, Sst, Gv, Sle, Acv, So, Lm, Sl, Bc