



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Propagación de hongos micorrízicos arbusculares  
provenientes de suelo asociado a plantas medicinales del  
Bosque Templado “Agua Escondida” y la Granja Ecológica  
“Dos Puertas” en el Municipio de Taxco de Alarcón,  
Guerrero

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**BIÓLOGO**

P R E S E N T A :  
**ANDRADE PÉREZ JHOSUE ARTURO**

DIRECTOR DE TESIS:  
**DRA. ROSALVA GARCÍA SÁNCHEZ**

**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN ECOLOGÍA  
VEGETAL**



Ciudad de México

octubre, 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.

# Contenido

	<b>Página</b>
1. Resumen -----	1
2. Marco teórico -----	2
2.1. Los bosques templados en México y su importancia -----	2
2.2. Las granjas ecológicas y el uso de los principios activos en estos sistemas -----	4
2.3. Los nutrimentos del suelo -----	4
2.4. Las plantas medicinales -----	6
2.5. Antecedentes históricos del uso de plantas medicinales -----	7
2.6. Hongos -----	9
2.7. Hongos micorrízicos -----	11
2.8. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA): anatomía y función -----	13
2.9. Inóculo micorrízico y producción -----	16
2.10. Planteamiento del problema -----	17
2.11. Justificación -----	17
3. Hipótesis -----	18
4. Objetivos -----	18
4.1. Objetivo general -----	18
4.2. Objetivos particulares -----	18
5. Método -----	19
5.1. Zonas de estudio -----	19
5.2. Trabajo de campo (toma de muestras) -----	20
5.3. Trabajo de invernadero -----	20

5.4. Trabajo de laboratorio -----	21
5.5. Análisis estadístico de la abundancia y su éxito durante la propagación -----	24
6. Resultados -----	25
6.1. Abundancia de esporas de HMA con relación a los meses de muestreo -----	25
6.2. Abundancia de esporas de HMA -----	25
6.3. Riqueza de morfo-tipos de HMA -----	27
6.4. Capacidad de propagación de HMA -----	28
6.5. Propiedades físicas -----	52
6.6. Propiedades químicas -----	54
7. Discusión de resultados -----	59
7.1. Abundancia inicial de esporas de HMA -----	59
7.2. Riqueza de morfo-tipos de HMA -----	63
7.3. Propagación de esporas de HMA -----	64
8. Conclusiones -----	69
9. Recomendaciones -----	71
10. Anexo -----	72
11. Referencias citadas -----	82

## Índice de Tablas

	<b>Página</b>
Tabla 1. Presencia de morfo-tipos de la familia Acaulosporaceae -----	30
Tabla 2. Presencia de morfo-tipos de la familia Ambisporaceae -----	35
Tabla 3. Presencia de morfo-tipos de la familia Claroideoglomeraceae -----	36
Tabla 4. Presencia de morfo-tipos de la familia Diversisporaceae -----	38
Tabla 5. Presencia de morfo-tipos de la familia Entrophosporaceae y Gigasporaceae -----	40
Tabla 6. Presencia de morfo-tipos de la familia Glomeraceae -----	43
Tabla 7. Presencia de morfo-tipos de la familia Pacisporaceae -----	50
Tabla 8. Presencia de esporas de HMA sin identificar -----	51
Tabla 9. Clase textural de las muestras de suelo del bosque y la granja -----	52
Tabla 10. Resumen de resultados -----	57
Tabla A1. Clasificación actual del reino Fungi mostrando los niveles de organización Reino, Subreino, Phylum y Subphylum -----	72
Tabla A2. Clasificación actual del phylum Glomeromycota -----	74
Tabla A3. Solución nutritiva Long Ashton -----	75
Tabla A4. Descripción de métodos empleados en el análisis físico-químico del suelo -----	76
Tabla A5. Distribución normal de la abundancia de esporas de HMA en 100 g de suelo seco del bosque ----	79
Tabla A6. Distribución normal de la abundancia de esporas de HMA en 100 g de suelo seco de la granja ---	80

## Índice de figuras

	<b>Página</b>
Figura 1. Mapa de las regiones cubiertas por bosques en México -----	3
Figura 2. Mapa de las regiones ocupadas por cultivos en México -----	3
Figura 3. Mapa de las zonas de estudio y la distancia entre ellas considerando el relieve -----	19
Figura 4. Abundancia de esporas de HMA con relación a la precipitación mensual acumulada ----	25
Figura 5. Abundancia de esporas de HMA en suelos provenientes del bosque -----	26
Figura 6. Abundancia de esporas de HMA en suelos provenientes de la granja -----	26
Figura 7. Riqueza de morfo-tipos de HMA distinguidos en las diferentes muestras de suelo -----	27
Figura 8. Distribución de las familias de HMA con mayor abundancia de morfo-tipos -----	28
Figura 9. Esporas de HMA de la familia Acaulosporaceae -----	31
Figura 10. Esporas de HMA de la familia Ambisporaceae -----	35
Figura 11. Esporas de HMA de la familia Claroideoglomeraceae -----	37
Figura 12. Esporas de HMA de la familia Diversisporaceae -----	38
Figura 13. Esporas de HMA de las familias Entrophosporaceae y Gigasporaceae -----	41
Figura 14. Esporas de HMA de la familia Glomeraceae -----	45
Figura 15. Esporas de HMA de la familia Pacisporaceae -----	50
Figura 16. Esporas de HMA sin identificar -----	51
Figura 17. Densidad aparente en las muestras de suelo del bosque y la granja -----	53
Figura 18. Densidad real en las muestras de suelo del bosque y la granja -----	53
Figura 19. pH obtenido en las muestras de suelo del bosque y la granja -----	54
Figura 20. Conductividad eléctrica presente en las muestras de suelo del bosque y la granja -----	55
Figura 21. Porcentaje de materia orgánica en las muestras de suelo del bosque y la granja -----	55

Figura 22. Porcentaje de carbono orgánico en las muestras de suelo del bosque y la granja -----	56
Figura 23. Concentración de fósforo en las muestras de suelo del bosque y la granja -----	57
Figura A1. Campana de Gauss de la abundancia de esporas de HMA en 100 g de suelo seco del bosque -----	81
Figura A2. Campana de Gauss de la abundancia de esporas de HMA en 100 g de suelo seco de la granja -----	81

## *Dedicatoria*

*Dedico esta tesis con todo mi respeto y admiración a mi maestro en toda materia, mi tío, el Ingeniero Enrique Pérez y Aguilar, quien me ha acompañado en los momentos más grandes y en los más difíciles de mi crecimiento académico.*

*Tío, sin usted no sé cuán lejos habría llegado al día de hoy.*

*¡Gracias!*

## *Agradecimientos*

*A Dios, por darme la paciencia, la guía y la fuerza necesaria, además, de permitirme la vida.*

*A mi padre Arturo Andrade Martínez, por tu paciente e incondicional apoyo y porque además de mostrarme el mundo, facilitas mi andar al dejar el camino marcado con tus propios pasos, muchas gracias padre, intentaré llegar aún más lejos de lo que tú has querido y has podido llegar.*

*A mi madre María Guadalupe Pérez Torres, madre gracias por tu infinito amor y comprensión, por escucharme y por estar presente en cada paso que doy, haz sido ese apoyo y ese aliento extra que en ocasiones me ha llegado a hacer falta.*

*A mi hermana Mariana Rosalía Andrade Pérez, por ser de entre todos tus ejemplos y facetas un símbolo de fortaleza y de rigor.*

*A mi novia Mariana Saldivar Anaya, gracias por aceptarme y ser mi acompañante, has dotado de un rostro a mi anhelo por un futuro, eres quien me ha dado la fuerza y el ánimo para continuar estos últimos años.*

*A mis amigos que me apoyaron y animaron para continuar con mis estudios.*

*Y a mi familia, entre los que se encuentran quienes me apoyaron y se preocuparon por mí.*

*Además, agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a mi institución, la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por haberme acogido en vuestra casa y por haberme otorgado mi tiempo como estudiante, mis estudios y mis profesores.*

*A mis sinodales y profesores:*

*Dr. Arcadio Monroy Ata*

*Dra. Rosalva García Sánchez*

*M. en C. Ramiro Ríos Gómez*

*Biól. Marco Antonio Hernández Muñoz*

*M. en C. Juan Carlos Peña Becerril*

*Por demostrarme que siempre es posible añadir e investigar algo nuevo.*

*Agradezco a mi profesora la Dra. Rosalva García Sánchez por aceptarme como su alumno y por mostrarme de lo que soy capaz.*

*En especial quiero agradecer al profesor Arcadio, por el apoyo y la guía que me han permitido espabilarme para continuar con ésta tesis; al profesor Ramiro, por su consejo y amabilidad; al profesor Marco Antonio, por ese apoyo extra brindado y por su reconocimiento a mi trabajo en la identificación de las esporas de hongos micorrizicos arbusculares presentes en ésta tesis, aunque breves y concisas, sus palabras han representado en verdad mucho para mí profesor, gracias; y al profesor Juan Carlos por la experiencia y rigor ofrecidos en el mejoramiento de ésta mi tesis.*

*“... se oyó la voz de un poeta gritar, caminante no hay camino, se hace camino al andar...”*

*Joan Manuel Serrat*

*“... despacio, que llevo prisa.”*

*Desde Carlos III de España, Napoleón Bonaparte de Francia hasta Fernando VII de España*



# 1. Resumen

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), son un componente importante de los ecosistemas, sin embargo, su presencia casi imperceptible los expone indirectamente a la pérdida de sus poblaciones, debido a la extracción constante de los recursos de mayor interés, además de la tendencia al cambio en el uso del suelo. La propagación de estos hongos en ambientes controlados ofrece una alternativa para su conservación, sin embargo, para la mayoría de las especies aún se desconocen las condiciones necesarias para su óptimo desarrollo, por lo cual en el presente trabajo se evaluó la capacidad de propagación de los HMA de suelo asociado a plantas medicinales provenientes de dos diferentes localidades del estado de Guerrero. Las muestras de suelo fueron obtenidas del bosque templado “Agua escondida” y la granja ecológica “Dos puertas”. En el invernadero de la FES Zaragoza, se estableció un experimento para la propagación de los HMA, por un periodo de 14 semanas, empleando macetas con 1.5 kilogramos de sustrato estéril, compuesto por suelo de campo de cada zona de estudio, combinado con arena sílica en relación 1:1, más 200 gramos de suelo natural usado como inóculo y semillas de maíz como planta trampa, el riego fue *ad libitum*. La cuantificación de la abundancia de esporas de HMA se realizó mediante la técnica de tamizado en húmedo y decantación de Gerdemann y Nicholson (1963), modificado por Walker y Vestberg (1994). Con el fin de reconocer los morfo-tipos, se realizaron preparaciones permanentes de esporas en portaobjetos con PVLG y Melzer, se compararon con las especies reportadas en las plataformas web del INVAM y las páginas web de los Profesores Janusz Blaszowski, Arthur Schüßler y Christopher Walker. Los resultados mostraron una abundancia inicial de 2,163 esporas en 100 g de suelo seco en los suelos del bosque y de 1,093 esporas en 100 g de suelo seco en los suelos de la granja. La propagación mostró un incremento del 38.6 % de la muestra original del bosque, con un 22.2 % de éxito en el cultivo, mientras que en la granja se observó un incremento del 75.9 % de la muestra original, con un 16.7 % de éxito en el cultivo del invernadero. Se identificaron 32 morfo-tipos de un total de 50 morfo-tipos, de los cuales, 42 morfo-tipos se observaron en el bosque y 36 en la granja presentándose con mayor frecuencia las familias Glomeraceae (40 %) y Acaulosporaceae (28 %). Asimismo, 38 % de los morfo-tipos se presentaron exclusivamente tras la propagación y se presentó una pérdida del 14 % de la riqueza tras la propagación. Se concluyó que el suelo rizosférico asociado a las plantas medicinales provenientes del bosque tuvo una mejor respuesta, considerando que tuvo un mayor porcentaje de éxito durante la propagación en condiciones de invernadero mientras que, en el caso del suelo asociado a plantas medicinales de la granja, también se logró la propagación de los HMA con un incremento aún mayor de la abundancia inicial, sin embargo, éste se obtuvo con una menor respuesta en su eficiencia.

## 2. Marco Teórico

### 2.1. Los bosques templados en México y su importancia

México posee un 33.8 % de su superficie terrestre cubierta con bosques o selvas (De Alba y Reyes, 1998), equivalente aproximadamente a 66 millones de hectáreas (INEGI, 2017), distribuidas en comparación, México posee un 14.1 % de superficie agrícola total, equivalente aproximadamente a 27.5 millones de hectáreas, por lo que se le caracteriza como un país “medianamente forestal” (INEGI, 2015). La importancia de estos bosques se debe a que las tierras forestales permiten la regeneración periódica de la fertilidad de los suelos y la captación de agua para el mantenimiento de las cuencas de las que se abastecen los acuíferos del país, asimismo, son fuente de materiales de construcción, plantas medicinales, proteína (proveniente de la caza y el forraje para el ganado), son de gran importancia ecosistémica (debido a la gran diversidad de especies animales y vegetales que alberga), educativa y como fuente de empleo. Además, el estado de los bosques de un país, define rasgos importantes en su estructura social y política (Chapela, 2012).

La Ley General de Desarrollo Forestal Sustentable, define que el aprovechamiento forestal, se manifiesta con la extracción de los recursos forestales del medio en el que se encuentran, incluyendo los maderables y no maderables. Los recursos forestales maderables están constituidos por la vegetación leñosa susceptible de aprovechamiento o uso. Los recursos forestales no maderables constituyen toda la parte no leñosa de la vegetación de un ecosistema, incluyendo herbáceas como las plantas medicinales y comestibles, líquenes, musgos, resinas, suelos y hongos (Montañez, Jiménez, Ruenes y Calvo, 2010).

En México 33.3 millones de hectáreas se encuentran cubiertas por bosque templado concentrado en las regiones altas de México, principalmente en las regiones altas de las cadenas montañosas del país (figura 1, fuente: [www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx)) compuesto por bosques de conífera, encino y mixto; el 34 % de dicha superficie se asocia con vegetación secundaria que evidencia el avance del aprovechamiento que poseen estos bosques y al mismo tiempo, muestra su deterioro y perturbación, lo cual es producto de la tala excesiva, la explotación de la vegetación original y la apertura de tierras de cultivo, en las que principalmente se cultiva: maíz, sorgo, frijol, café, caña de azúcar y trigo (INEGI, 2015; Orozco, Gutiérrez y Delgado, 2009; SEMARNAT, 2016). Las tierras de cultivo se concentran en la región Centro y Este de la república mexicana, muy cercanas a los bosques y selvas, principalmente en los estados de Aguascalientes, Chiapas, Estado de México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Puebla, Querétaro, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz, Yucatán y Zacatecas (Figura 2, fuente: [www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx)).



Figura 1. Mapa de las regiones cubiertas por bosques en México.



Figura 2. Mapa de las regiones ocupadas por cultivos en México.

## 2.2. Las granjas ecológicas y el uso de los principios activos en estos sistemas

La agricultura ecológica aumenta la diversidad de las especies de cultivos producidas y elaboradas en las granjas, mejora los sistemas de alimentación del ganado, empleando menos energía, fertilizantes y agua de riego, debido a que se optimiza el uso de los productos de las plantas para la alimentación de los animales rumiantes inhibiendo la producción de contaminantes provenientes de los desechos de dichos animales, aumentando la eficiencia de los sistemas de producción animal y minimizando las repercusiones directas e indirectas en el medio ambiente (Vélez, Campos y Sánchez, 2014).

La excreción de nitrógeno y fósforo, así como las emisiones de gases de efecto invernadero por animal se pueden manipular a través de la dieta, por ejemplo, con la reducción de las emisiones de metano en los rumiantes (Vélez *et al.*, 2014). Esto se puede realizar aumentando la eficiencia en la alimentación del ganado, empleando residuos de cultivos, subproductos agrícolas, desechos domésticos y pastizales que no compiten con los suministros para la alimentación humana. Asimismo, se ha observado que la explotación mixta de varias especies de plantas en la misma finca, limita el contacto que cada especie tiene con sus patógenos específicos, limpiando los pastos de parásitos al emplear especies no susceptibles; por ejemplo una de las prácticas integradas de gestión sanitaria en sistemas orgánicos de granjas de ovejas, emplea un tratamiento preventivo antiparasitario con plantas ricas en taninos que se plantan antes de que las hembras regresen al pastizal, este sistema se beneficia del pastoreo de rotación, disminuyendo el número de larvas de nematodos en las parcelas en las que los animales no han pastado por un tiempo, cabe mencionar que algunas especies de plantas como las leguminosas ofrecen oportunidades para mejorar la salud de los animales empleando menos medicamentos, debido a la presencia natural de metabolitos secundarios bioactivos, además, de un efecto antiparasitario directo. Las plantas ricas en taninos pueden tener algunos efectos indirectos al aumentar la resistencia de los hospedantes, en los rumiantes enfermos, por ejemplo, se ha observado que consumen algunas plantas que contienen ingredientes activos capaces de mejorar su salud y que no forman parte de su dieta habitual (Soussana, Tichit, Lecomte y Dumont, 2017).

## 2.3. Los nutrientes del suelo

El contenido de nutrientes en los suelos depende del tipo de suelo presente de manera natural y de los contaminantes agregados de manera intencional o accidental. Las raíces de las plantas absorben los nutrientes de la solución del suelo y como consecuencia para mantener el equilibrio entre la fase sólida y líquida se produce la desorción o disolución de la fase sólida del suelo, sin embargo, no toda la cantidad de un elemento existente en la fase sólida, puede ser transferido a la solución del suelo (Ulloa, Abreu y Paz, 2001). Si el suelo es

deficiente en uno o más nutrientes, estos deben ser aplicados en grandes cantidades para compensar la ineficiente transferencia de dicho nutriente a la solución del suelo (FAO, 2002).

La FAO (2002) señala que los suelos pueden carecer de nutrientes, de manera natural, por cultivos duraderos o debido a su sobre-explotación en cultivos de alto rendimiento. La pérdida de estos nutrientes en el suelo ocurre por la extracción a través del sistema radicular de las plantas, debido a la meteorización, la lixiviación, la inmovilización al quedar en forma de compuestos químicos complejos o al ser tomados por los microorganismos en el suelo (Ulloa *et al.*, 2001). De acuerdo con la FAO, para satisfacer la necesidad nutricional en el suelo, desde 1930 ha habido un aumento en el uso de fertilizantes químicos. Para las plantas, la principal limitante en la productividad de los cultivos, es la disponibilidad del nitrógeno y el fósforo que en conjunto determinan el crecimiento vegetal (Cerón y Aristizábal, 2012).

Generalmente en los suelos pobres en nitrógeno abundan microorganismos con capacidad fijadora de nitrógeno atmosférico, sin embargo, este proceso de obtención de nitrógeno representa un gasto energético superior al darse el intercambio con la planta. Actualmente, se sabe que el nitrógeno del suelo puede ser absorbido por las raíces en tres formas: como nitrógeno orgánico, amonio o nitrato. Para absorber cada una de estas diferentes formas en las que se presenta el nitrógeno, las plantas requieren sintetizar diferentes proteínas de transporte, la concentración de estas, depende de la forma más abundante en la que se presente el nitrógeno (Escudero y Mediavilla, 2003).

El fósforo es un macro-nutriente esencial para las plantas, es uno de los componentes de las moléculas de los ácidos nucleicos, del ácido fítico y de los fosfolípidos, su adecuado abastecimiento en las plantas promueve la formación de los primordios de sus partes reproductivas, además estimula el desarrollo radicular inicial contribuyendo en el rápido establecimiento de las plantas jóvenes, promueve la maduración temprana de los cultivos, estimula la floración, contribuye en la formación de las semillas y mejora la calidad nutricional de los granos y otras cosechas. Por eso es que junto con el nitrógeno y el potasio forma parte de los fertilizantes de uso generalizado en todo el mundo (Muñoz, Soler, López y Hernández, 2015).

El fósforo puede ser más limitante para el crecimiento de la planta que el nitrógeno en ciertos ambientes y poco o nada limitante en otros (Escudero y Mediavilla, 2003). Debido a su elevada facilidad de oxidación, el fósforo no se encuentra en estado libre en la naturaleza, sin embargo, es muy común encontrarlo en numerosos compuestos minerales. Mientras que el fósforo orgánico apenas representa el 0.2 % del fósforo en el suelo, la fracción inorgánica

se encuentra menos disponible para las plantas, debido a que es poco soluble y es inmovilizado fácilmente por algunos microorganismos, o fijado por algunos minerales formando compuestos con hierro, aluminio, calcio y flúor (Muñoz *et al.*, 2015).

#### 2.4. Las plantas medicinales

Fretes (2010), define a las plantas medicinales como “los vegetales que elaboran unos metabolitos secundarios, llamados principios activos, sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo. Su utilidad primordial, a veces específica, es servir como droga o medicamento que alivie las enfermedades o restablezca la salud perdida”. En la naturaleza existen un gran número de vegetales que presentan como característica común, su elevado contenido en sustancias con propiedades químicas, bioquímicas y organolépticas específicas, estas sustancias permiten su uso como plantas medicinales, aromáticas, condimentarias, alimenticias, venenosas y/o narcóticas. A las sustancias que producen se les conoce como “principios inmediatos” y “principios activos” (Cases, 2007).

Los “principios inmediatos” son prótidos, glúcidos y lípidos que no actúan sobre las funciones fisiológicas del organismo animal que las consume, pero son imprescindibles para la supervivencia y nutrición alimenticia de dicho consumidor; las plantas que poseen este grado nutricional figuran como plantas alimenticias. Mientras que los “principios activos” son sustancias que ejercen una acción farmacológica beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo, las plantas que elaboran este tipo de sustancia son las plantas medicinales, que sirven como medicamentos o conforman la base para su elaboración, se clasifican en aceites esenciales, alcaloides, cianógenos, cumarínicos, fenólicos simples, flavonoides, heterósidos, compuestos sulfurados, principios amargos, taninos, mucílagos y gomas (Cases, 2007), éstas constituyen aproximadamente la séptima parte de las especies existentes.

Fretes (2010) además menciona que, dentro de las plantas clasificadas como medicinales también se ubican las plantas officinales (reconocidas en la farmacopea y de las cuales se obtienen principios activos que forman parte de algún medicamento), las aromáticas (cuyos principios activos están constituidos total o parcialmente por esencias y representan el 0.7 % de las plantas medicinales), condimentarias o especias (empleadas en el realce de los aromas sabores y colores de los alimentos, estas plantas forman parte de las plantas aromáticas y por tanto son medicinales).

A su vez existen algunas especies vegetales, que elaboran ambos tipos de principios activos e inmediatos (Fretes, 2010) tal es el caso del maíz (*Zea mays*) y la papa (*Solanum tuberosum*) las cuales son utilizadas tanto como plantas medicinales como alimenticias dependiendo de

la parte de la planta que es empleada (Aguaiza, 2014; Vanaclocha y Cañigueral, 2019). La formación de estos principios activos, tiene lugar en distintos órganos de la planta, sin embargo, los principales procesos metabólicos tienen lugar en las hojas que reciben la savia bruta bombeada desde la raíz a través del tallo, estos principios activos se almacenan en distintos órganos de la planta, como la raíz, el tallo, las hojas, la corteza, flores, frutos y semillas (Cases, 2007).

De acuerdo con Hieronimi (2010), las plantas medicinales y aromáticas son importantes para los sistemas de producción agrícola orgánica, se emplean por ejemplo en el manejo integrado de las plagas o para prevenir algunas de las enfermedades en los cultivos, además, es importante preservar la biodiversidad de estas plantas dado que actividades agrícolas intensivas como el monocultivo y el uso de herbicidas han provocado una pérdida progresiva de estos individuos.

## 2.5. Antecedentes históricos del uso de plantas medicinales

El uso de plantas medicinales se ha registrado desde tiempos muy antiguos: se han obtenido datos en papiros, sobre prácticas médicas en el Antiguo Egipto, por ejemplo, en el Papiro de Kahun (1850 a. C.), se registra un compendio sobre ginecología y obstetricia, que también realiza aportaciones veterinarias; en el Papiro de Ebers (1550 a. C.), se presenta un amplio recetario clínico; el Papiro Edwin Smith (1500 a. C.), fundamentalmente contiene información quirúrgica; en los registros de Chester Beatty (1300 a. C.), se encuentran recetas y prácticas mágicas. Gracias a estos registros, se pueden entrever el legado cultural de la civilización egipcia, con el uso de plantas como el tomillo (*Thymus vulgaris* L.), el sen (*Cassia senna* L.), la coloquintida (*Citrullus colocynthis* (L.) Shrad.), el enebro (*Juniperus communis* L.) y el comino (*Cuminum cyminum* L.), todas ellas empleadas en el tratamiento de molestias digestivas; el ajeno (*Artemisia absinthium* L.) y la raíz de granada (*Punica granatum* L.) para el tratamiento de parasitosis intestinales; el algarrobo (*Ceratonia siliqua* L.), muy común en el Antiguo Egipto, como ungüento y en el tratamiento de diarrea (Vallejo, Pardo y Peral, 2009). Asimismo, se conocen las esencias en China, India y Persia en donde se destilan plantas aromáticas desde hace miles de años (Cases, 2007).

Entre los siglos XII y XIII, los árabes perfeccionan la destilación de las plantas aromáticas para emplearlas combinadas con alcohol para medicación (principalmente) y en perfumes, favoreciendo el desarrollo de la perfumería, la cual inició su auge en el siglo XV, con el descubrimiento de las esencias de almendras amargas, salvia, canela, ginebra, rosa, lavanda y otras plantas aromáticas. En el siglo XVI se publican la “Concordia Pharmacopolarum” que es la primera farmacopea territorial del mundo publicada en Barcelona, España. En México por otra parte, se tiene el Códice De la Cruz Badiano, el cual contiene registros de la

herbolaria mexicana. Para el siglo XIX ya se comenzaba con el análisis de las esencias y otros principios activos en los vegetales, con la aplicación de la microscopía y la química analítica, se inició un movimiento a escala mundial, en el campo de la investigación, con el objetivo de conocer la composición química de las plantas, como en el caso de la morfina aislada en 1805 a partir del opio (*Papaver somniferum*) (Cases, 2007; Marinoff, 2006).

En la actualidad la medicina tradicional se utiliza globalmente y tiene una importancia económica en gran auge. En los países en vías de desarrollo la medicina tradicional a menudo es el único modo de tratamiento accesible y económicamente factible, además los médicos se encuentran en su mayoría en ciudades y zonas urbanas por lo que se da un mayor uso de la medicina tradicional en zonas rurales. En la India, por ejemplo, el 65 % de la población rural recurre al uso de plantas medicinales, en China el uso de plantas medicinales representa cerca del 40 % de toda la atención en salud prestada; en países desarrollados como Francia y Bélgica, se está popularizando su uso, 49 % y 31 % de la población respectivamente lo ha usado al menos una vez; en África, hasta el 80 % de la población usa la medicina tradicional como sistema primario de tratamiento médico.

Mientras que, en América, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta que 71 % de la población de Chile y 40 % de la población de Colombia ha usado la medicina tradicional, mientras que países como Canadá y Estados Unidos, 70 % y 42 % de su población respectivamente, la han empleado al menos una vez (OMS, 2003). En Estados Unidos, la venta de hierbas y suplementos nutricionales a base de plantas, se incrementó en la década de los años 90. Los productos más populares a base de plantas medicinales incluyen, el ginseng (*Ginkgo biloba*), ajo (*Allium sativum*), *Echinacea* spp. y hierba de San Juan (*Hypericum perforatum*). En general, se estima que 50 % de la población de América Latina tiene poco o ningún acceso a productos médicos y que un gran porcentaje de ellos emplea plantas medicinales como alternativa. La OMS, apoya el uso de la fitoterapia dentro de los programas de salud en los distintos países, dando validez a los efectos etnobotánicos adjudicados en plantas medicinales cuando están demostrados sus beneficios y no se reportan la existencia de ningún riesgo mínimo para quien las consume (Bussmann y Sharon, 2015; Marinoff, 2006).

Muñetón (2009), en la entrevista llevada a cabo por la Revista Digital Universitaria (de la UNAM) al Dr. Erick Estrada Lugo, quien menciona que:

De acuerdo con la Secretaría de Salud, al menos el 90 % de la población mexicana usa las plantas medicinales (...). Hace mención a que, en la actualidad, en el mercado “Sonora” de la Ciudad de México, se venden al día aproximadamente 10 toneladas de plantas curativas, sin considerar los demás

mercados que existen en el resto del país, además, la herbolaria les da empleo a miles de familias campesinas, rurales y urbanas (...). Menciona que desde 1998 es reconocido legalmente el uso de la herbolaria y a partir del 2007 también lo es el uso de la medicina tradicional indígena y el uso de los rituales tradicionales de curación como las limpias, curaciones de espanto, pérdida del alma, el uso de temazcal como técnica médica de desintoxicación a través de la sudoración profusa, además, se ha hecho una adecuación a algunos hospitales de la Secretaría de Salud para tratar enfermedades con medicina tradicional indígena en los estados de Durango, Nayarit, Oaxaca, Puebla y Chiapas (...). Menciona que México ocupa el segundo nivel mundial en el número de plantas medicinales con 4,500 especies registradas. (p. 2-3)

## 2.6. Hongos

Por otra parte, los organismos incluidos en la categoría de hongos, son muy diversos y difíciles de caracterizar con precisión. Por lo que se define que, los hongos son organismos eucariontes, aclorófilos, heterótrofos por absorción, con reproducción sexual y asexual por medio de esporas y con una pared celular principalmente constituida por quitina o celulosa. La mayoría de los hongos están compuestos por largos filamentos denominados hifas, algunas hifas son septadas (poseen paredes internas llamadas “septos” que las dividen en diferentes células), generalmente los septos tienen un poro central lo suficientemente grande como para permitir a los orgánulos pequeños e incluso a los núcleos, desplazarse entre las células, otras hifas que carecen de septos son denominadas cenocíticas, con múltiples núcleos en un citoplasma común. Todas las hifas de un tipo particular, forman una masa entrelazada denominada micelio, un hongo puede poseer un micelio único o varios tipos de micelios a medida que experimenta las fases en su ciclo de vida (Aguirre, Ulloa, Aguilar, Cifuentes y Valenzuela, 2014; Pontón, Moragues, Gené, Guarro y Quindós, 2002; Varela y Trejo, 2001).

Los hongos son principalmente descomponedores de la materia orgánica y juegan un papel muy importante en los ciclos del carbono, nitrógeno y fósforo. Llevan a cabo una descomposición, mediante la secreción de enzimas que separan los complejos compuestos orgánicos, en moléculas más simples, que puedan atravesar la membrana plasmática mediante difusión o con ayuda de las proteínas de transporte, para poder ser aprovechados; incluso existen algunos hongos que pueden digerir los plásticos (Varela y Trejo, 2001).

La mayoría de los hongos son saprobios (se alimentan de materia orgánica muerta), otros pueden ser parásitos (al alimentarse de los organismos hospedantes vivos), o depredadores (que matan al ser del que se alimentan). Por ejemplo, *Arthrobotrys anchonia* forma unos anillos con las hifas para capturar amebas y animales pequeños del tipo de los nematodos (Varela y

Trejo, 2001). También existen los hongos simbioses, los cuales obtienen nutrientes a partir de una estrecha relación con organismos de otra especie en la cual ambos se ven beneficiados (Cuevas, 2016).

Los hongos, producen esporas durante la reproducción sexual o asexual en todos ellos (Nabors, 2005), salvo en los del phylum Chytridiomycota, estas esporas carecen de flagelos. Las esporas sirven para dispersar el hongo a otros sitios y algunas ayudan al hongo a sobrevivir en condiciones adversas, como la deshidratación o la congelación. Muchos hongos viven estableciendo relaciones de beneficio mutuo con algas, bacterias fotosintéticas o plantas, recibiendo los compuestos orgánicos de ellos (Salinas, 2008; Varela y Trejo, 2001).

Los hongos se encuentran actualmente en constante revisión por lo que su taxonomía ha dado grandes saltos y tropiezos. Desde el siglo XIX, se distinguen las clasificaciones anteriores por el uso de las divisiones Myxomycota y Eumycota (Gallego, 2016, Rojas y Stephenson, 2017). Para el año 1996, Alexopoulos mencionaba al grupo de los hongos como parte de un grupo polifilético que comprendía los actuales reinos Fungi, Chromista y Protozoa (Gamundí, 2008), con 11 phyla reconocibles por las características de sus esporangios, esporas y por del ambiente en el que se desarrollan, además, de un phylum artificial establecido con base en las características de los conidios, entre ellos se mencionan: los Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota (Reino Fungi), Oomycota, Hyphochitridiomycota, Labyrinthulomycota (Reino Chromista), Plasmodiophoromycota, Dictyosteliomycota, Acrasiomycota, Myxomycota (Reino Protozoa) y el phylum artificial Deuteromycota, estos últimos también conocidos como “Fungi Imperfecti” u “Hongos Mitoespóricos” representado por 25 mil especies cuyo estadio sexual no había sido observado, por lo que había sido considerada una clasificación imperfecta, pudiendo ser asignados al menos a Zygomycota, Ascomycota o Basidiomycota (Sobrado, Cabral y Romero, 2013).

Para el año 2008 Kirk y colaboradores ya reconocían seis phyla en el reino Fungi: Microsporidia, Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota y Glomeromycota (Gallego, 2016; Kirk, Cannon, Minter y Stalpers, 2008). En 2007, sin embargo, el sistema de clasificación filogenética de Hibbett, apenas propuesto, daba una nueva clasificación que incluía rangos jerárquicos de orden, clase, subclase, phylum, subphylum, reino y subreino de los organismos pertenecientes al reino monofilético Fungi, excluyendo a los Oomycetes y a los hongos mucilaginosos (Dictyosteliomycota y Myxomycota), que en realidad resultaron ser amebas pertenecientes al reino protozoa, entre otros varios géneros basales de Fungi de posición incierta que fueron totalmente excluidos, agrupa a los Ascomycota y Basidiomycota en el subreino Dikarya, además, los hongos que habían sido tradicionalmente incluidos en Chytridiomycota ahora se dividían en los phyla

Blastocladiomycota y Neocallimastigomycota, de manera similar, los taxa ubicados tradicionalmente en Zygomycota son reubicados entre Glomeromycota y varios subphylum *incertae sedis* (de sede incierta), incluyendo Mucoromycota, Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina y Zoopagomycotina (Sobrado, Cabral y Romero, 2013). Sin embargo, actualmente continua el debate, dado que algunos autores continúan insistiendo en el uso de la clasificación reconocida en 2008, prueba de ello es el recurrente uso de los phylum Zygomycota y Deuteromycota (Grisales, 2017; Estrada y Ramírez, 2019).

Actualmente, de acuerdo con Tedersoo *et al.* (2018) y Henrik *et al.* (2019), el reino Fungi se encuentra constituido por un total de 9 subreinos, 18 phyla y 23 subphylum reconocidos (ver Anexo, Tabla A1), más los clados no identificados que de acuerdo con Tedersoo *et al.* posiblemente conforman líneas sucesivas hermanas de los demás phyla, entre ellos cabe destacar a BCG1 (Basal Clone Group 1) hasta nivel de phylum siendo éste identificado como un grupo hermano de Rozellomycota, mientras que BCG2 (Basal Clone Group 2) y GS01 se han ubicado a nivel de subreino debido a que aún no se sabe nada sobre su morfología.

## 2.7. Hongos micorrízicos

A diferencia de hongos como los parásitos y los saprófitos que son degradadores naturales de la materia orgánica (Nabors, 2005); los hongos micorrízicos, descubiertos en 1885, forman una importante asociación simbiótica mutualista entre la planta y el hongo, que favorece el crecimiento y producción de la biomasa en la planta micorrizada (Lastra, 2001). La micorriza es una estructura formada a partir de la interacción de ciertas partes especializadas de al menos dos individuos (planta y hongo) que permite el mutuo intercambio de agua y nutrimentos; cabe mencionar que bajo ciertas condiciones (ambientales, fisiológicas o genéticas) ambos individuos se pueden beneficiar (+/+), pero si las condiciones cambian, puede que sólo una de las partes involucradas se beneficie (+/-), por lo que para el hongo o la planta en algún momento la interacción puede representar más un “costo” que un beneficio, lo cual puede provocar la pérdida de la interacción entre las partes involucradas (Andrade, 2010).

Desde su descubrimiento y hasta la fecha los hongos micorrízicos se han estudiado para mejorar la producción en los cultivos del mundo, sin embargo, existen nuevos campos de estudio en los cuales las micorrizas han tenido un buen desempeño, como la restauración ecológica. Hoy en día, se considera que las micorrizas arbusculares son clave en la estrategia destinada a frenar la erosión y la desertificación, con base en la restauración de la cubierta vegetal (De Juan y Fabeiro, 2003).

Para hacer frente a los diversos retos bióticos y abióticos, las plantas establecen relaciones simbióticas mutualistas con los hongos micorrízicos, esta asociación cumple una función muy importante en la explotación eficaz de los recursos minerales del suelo y en la protección de las raíces contra patógenos. Por ello, las micorrizas son fundamentales para la supervivencia de muchos taxones de plantas en diversos ecosistemas, incluyendo muchas especies de cultivo (Camarena, 2012).

Se pueden distinguir siete tipos de asociaciones entre las raíces de las plantas y las hifas de los hongos especializados del suelo, en función con su morfología y con los taxones de plantas asociados con estos hongos (Andrade, 2010; Camarena, 2012; Pérez, 2011; Reyes, 2011):

- 1) Ectendomicorrizas: Son asociaciones formadas entre un número limitado de ascomicetos y los géneros de coníferas *Pinus* y *Larix*; tienen un manto y una estructura compleja altamente ramificada llamada red de Hartig. Después de la formación de esta red, se desarrolla la hifa intracelular en células de la epidermis y en la corteza.
- 2) Ericoide: Representa un tipo único de micorrizas confinadas a varias familias del orden Ericales. Las plantas que desarrollan este tipo de micorriza forman raíces laterales muy finas que carecen de crecimiento secundario, los falsos pelos radicales son envueltos por abundantes hifas, las cuales penetran las células de la raíz, pero no llegan a formar manto fúngico. Cada raíz consiste de un cilindro vascular delgado, una o dos capas de células corticales y una capa de epidermis. La asociación incluye la colonización de las células de la epidermis por la hifa, seguida de la formación de un complejo de hifas ramificadas. Esta micorriza es responsable de la movilización de nutrientes, ya que muchas ericáceas crecen en hábitats donde la mayoría de los nutrientes del suelo se encuentran en forma de complejos orgánicos.
- 3) Arbutoide: Dos géneros de la familia *Ericaceae* (*Arbutus* y *Arctostaphylos*) y varios géneros en *Pyrolaceae* forman micorrizas arbutoides típicas. Estas micorrizas tienen un manto, una red de Hartig y forman complejos hifales intracelulares confinados a la epidermis.
- 4) Monotropoide: Las especies de plantas que tienen esta micorriza son no fotosintéticas (aclorofilas). Se sugiere que los hongos que forman este tipo de micorriza se asocian también con árboles vecinos, fotosintéticamente activos, que han desarrollado un mecanismo para obtener sus fotosintatos.
- 5) Orquideoide: Solo se desarrolla en la familia *Orchidaceae*. La principal característica de esta micorriza es la formación de pelotones dentro de las células de la planta, que son acumulaciones entretejidas irregulares de hifas.

- 6) Ectomicorriza: Se pueden distinguir tres características para reconocer esta asociación: la formación de un manto o vaina de hifas que cubren porciones considerables de raíces laterales, el desarrollo de hifas entre las células de la raíz para formar la red de Hartig, y la hifa que emana del manto y crece en el suelo.
- 7) Arbuscular: También llamada micorriza vesicular-arbuscular. Es una asociación entre las raíces de la mayoría de plantas vasculares y un pequeño grupo de hongos del phylum Glomeromycota, se caracteriza por la presencia de una hifa intra o intercelular, arbuscúlos, micelio extra-radical que conecta a la raíz con el suelo y esporas formadas en el micelio extra-radical; algunas especies forman vesículas que son porciones de hifa que se llenan de cuerpos lipídicos.

Cuando Schüßler, Schwarzott, y Walker (2001), plantearon una revisión del orden Glomales, con base en las características de secuencias de genes del rADN de numerosas especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) reportados hasta ese momento. Al comparar estas secuencias con las de otros grupos de hongos, se observó, que los HMA forman un grupo monofilético a nivel de phylum, y conforman un clado hermano con los phyla Ascomycota y Basidiomycota (Salmerón, Pedraza, Mendoza y Chávez, 2015).

Este nuevo phylum se denominó Glomeromycota, con cuatro órdenes subordinados: el orden Glomerales, para el cual se hizo la corrección de su nomenclatura del anterior "Glomales" de acuerdo con las reglas del Código Internacional de Botánica, este orden incluye a la familia Glomeraceae; el orden Diversisporales que incluye a las familias Acaulosporaceae y Gigasporaceae previamente reconocidas, además de la familia Diversisporaceae; finalmente, se incluyeron los órdenes Archaeosporales y Paraglomerales con las familias Archaeosporaceae y Paraglomeraceae respectivamente (Salmerón *et al.*, 2015).

## 2.8. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA): anatomía y función

La micorriza arbuscular tiene gran importancia en la agricultura, ya que promueve un mejor desarrollo y aumenta la producción en diferentes especies de plantas frutales y leguminosas. Asimismo, la micorriza arbuscular se forma con diferentes especies de briofitas (musgos), pteridofitas (helechos), gimnospermas (*Pinaceas* y *Cycadaceas*) y gran cantidad de angiospermas, es decir, plantas con flor (Andrade, 2010). Actualmente, de acuerdo con Tedersoo *et al.* (2018) y la página web eElurikkus (2019), el phylum Glomeromycota cuenta con 3 clases, 6 órdenes y 12 familias (ver Anexo, Tabla A2).

El hongo micorrízico arbuscular o HMA es un simbiote obligado que recibe carbohidratos en forma de azúcares simples de la planta y a cambio, la interacción de la micorriza

arbuscular puede mejorar la resistencia a condiciones de estrés, mejora la estructura del suelo, sobre todo en la estabilidad de sus micro agregados (Mujica, 2012), además incrementan la absorción de fósforo, calcio, zinc, azufre, bromo y cloro disponible para la planta hospedera, por lo que ha habido mucho interés en su uso para mejorar el desarrollo de la vegetación en lugares perturbados (Hernández *et al.*, 2003). Esta absorción mejorada de nutrimentos puede beneficiar de manera particular a los principios activos de algunas plantas medicinales que suelen ser indicadores de sitios perturbados (Padilla, 2007; Gheno, 2010; Alor *et al.*, 2012) al potenciar su metabolismo junto con la acción de los minerales como el calcio y el potasio que actúan potenciando la eficacia de los principios activos en el tratamiento de algunas enfermedades (Berdonces, 1995).

La colonización por medio de HMA disminuye la cantidad y tipo de exudados de las raíces, tales como aminoácidos y azúcares; lo cual puede ejercer efectos selectivos sobre algunos microorganismos específicos, incrementando las poblaciones de bacterias solubilizantes de fosfato, fijadoras de nitrógeno e hidrolizadoras de urea con lo que la planta se ve ampliamente beneficiada (Hernández *et al.*, 2003).

Los HMA se caracterizan por presentar un crecimiento intracelular e intercelular en la corteza de la raíz, no forman ni manto, ni red de Hartig pero forman micelio extra-radical que conecta a la raíz con el suelo, además de esporas formadas en el micelio extra-radical. Las estructuras del hongo que se presentan fuera de la raíz son (Bago, Azcón, Goulet y Piché, 1998; Barrer, 2009; Hernández *et al.*, 2003; Reyes, 2011):

- Hifas, estructuras encargadas de la exploración del suelo y la captura de nutrimentos y agua, los cuales son transportados a través de corrientes citoplasmáticas hacia los arbusculos. Las hifas jóvenes son de tipo cenocítico, es decir, que no presentan paredes intercalares y el contenido citoplasmático es continuo, mientras que las hifas viejas poseen paredes intercalares ubicadas irregularmente. Son estructuras que por su morfología y función pueden ser clasificadas en tres tipos:
  - ❖ Las hifas jóvenes o infectivas son las que inician los puntos de colonización en una o varias raíces.
  - ❖ Las hifas exploradoras o absorbentes que constituyen la parte principal de las hifas extra-radicales. Las hifas exploradoras de primer orden se ramifican progresivamente, siendo cada vez más finas mientras se extienden en forma radial alrededor de la raíz, se encargan de explorar el suelo para la extracción de nutrimentos.
  - ❖ Las hifas de segundo y tercer orden actualmente denominadas BAS por sus siglas en inglés “branched absorbing structures” (estructuras absorbentes

ramificadas), también llamadas hifas fértiles, presentan ramificaciones menos uniformes similares a los arbuscúlos, en algunos casos están asociadas con esporas y su función es la absorción de elementos minerales del suelo, al igual que los arbuscúlos presentan periodos de vida cortos en este caso de aproximadamente 7 días.

- Las células auxiliares formadas en especies de los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora*, son estructuras en forma de vesículas, integradas en racimos y generalmente ornamentadas, a las que se les atribuye la función de almacenamiento en sustitución a las vesículas que se encuentran ausentes en estos géneros.
- Las esporas, se forman cuando la micorriza deja de ser funcional en éste punto el hongo micorrízico se retrae e inicia la formación de esporas, éstas son multinucleadas y con abundantes compuestos de carbono (glicógeno y lípidos), se encuentran individualmente en el suelo, en el interior de las raíces de la planta hospedera, formando densas masas no estructuradas o bien en esporocarpos en o cerca de la superficie del suelo. Las esporas permiten la dispersión y supervivencia del hongo en condiciones adversas y por largos periodos de tiempo. Cuando la espora germina, la hifa emergente se dirige hacia la raíz más próxima por atracción química, sin embargo, si no hay raíces a su alrededor, en los géneros *Gigaspora*, *Scutellospora* y *Acaulospora*, se ha observado que el contenido hifal se retrae del extremo apical hacia la base, en estos casos las esporas entran en un estado de latencia en el que la espora es viable hasta por varios años. La morfología de las esporas es el criterio principal para la identificación y clasificación morfológica de las diferentes especies de HMA.

Las hifas pueden presentar diferentes modificaciones dentro de la raíz como los ovillos, y con mayor particularidad, los arbuscúlos y vesículas que son característicos de los HMA (Andrade, 2010; Barrer, 2009; Camarena, 2012; Hernández *et al.*, 2003):

- Los ovillos, son enrollamientos de las hifas a los cuales se les ha adjudicado también el papel de intercambio de nutrimentos y son característicos de la micorriza tipo Paris.
- Los arbuscúlos son hifas finamente ramificadas dicotómicamente e invaginadas dentro de las células corticales de las raíces de las plantas y participan en el intercambio de nutrimentos al establecer un contacto entre las membranas citoplasmáticas de ambos individuos, se originan cerca del cilindro vascular de la planta y en la colonización tipo Paris se forman comúnmente en los ovillos, es el punto de intercambio de nutrimentos, presentan periodos de vida cortos de 14 días aproximadamente, después de los cuales el arbuscúlo se degrada.
- Las vesículas, son porciones de hifa engrosadas que se llenan de cuerpos lipídicos y pueden formarse entre o dentro de las células radicales y funcionan como almacén de

nutrimentos, los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* no producen vesículas en lugar de ellas forman células auxiliares en el micelio extra-radical.

## 2.9. Inóculo micorrízico y producción

Cuando una espora de un hongo micorrízico germina, ramifica en todas las direcciones para incrementar la oportunidad de encontrar raíces (Camarena, 2012). Estudios realizados sobre la colonización micorrízica por Gallaud en 1905, señalaron la presencia de dos tipos de colonización: *Arum* y *Paris*, las cuales se desarrollan en la raíz, dependiendo de la especie vegetal. La colonización tipo *Arum* se presenta en especies de plantas de crecimiento rápido, como las cultivadas y las pioneras, en estos casos, el hongo coloniza velozmente la corteza de la raíz por medio de hifas intercelulares que se extienden, se ramifican y dan lugar a arbuscúlos; se pueden además presentar ovillos, pero sólo en las capas exodérmicas de la raíz y no son estructuras comunes. En la colonización tipo *Paris* se presenta un desarrollo extensivo de ovillos que se extienden directamente de célula a célula, las hifas presentan crecimiento intracelular al igual que los arbuscúlos y el crecimiento intercelular es más lento que en el tipo *Arum* (Hernández *et al.*, 2003).

Las principales fuentes de inóculo de HMA están amplia y uniformemente distribuidas en los diez centímetros superficiales del suelo; corresponden a las esporas, el micelio externo de la micorriza y a las raíces previamente colonizadas de plantas coexistentes o fragmentos de las preexistentes. Se acepta que los fragmentos de raíz micorrizados son el inóculo más infectivo, pero las esporas aisladas, por su capacidad de supervivencia y mayor tolerancia a las situaciones adversas, son las principales responsables de perpetuar los HMA (Posada, Franco, Cuéllar, Sánchez y Sánchez, 2007).

El método más común para la producción de inóculo es por medio de macetas de propagación y uso de plantas conocidas como micofilas o “trampa”, en suelo esterilizado mezclado con arena de río. Otros medios hacen uso de perlita, turba, corcho, arcilla expandida, sistemas hidropónicos o la técnica de película de nutrientes, estos métodos están centrados en permitir la movilidad de nutrientes, aireación y distribución de agua eficientes (Blanco y Salas, 1997). Otros sistemas más elaborados son los cultivos axénicos o puros, los cuales son sistemas libres de contaminantes en los cuales se pueden aislar especies de hongos concretas y requieren de raíces transformadas, sin embargo, no todas las especies de hongos se logran cultivar empleando este método y la tasa de éxito actual no es muy elevada (Kuhar, Castiglia y Papinutti, 2013).

## 2.10. Planteamiento del problema

En los bosques y selvas de México, la extracción de recursos no está limitada a la tala desmedida sino también, a la extracción de los recursos no maderables como es el caso de las plantas medicinales, las cuales suelen ser recolectadas por la gente de la localidad que le reconoce alguna propiedad curativa. Al ser extraídas, suelen perderse los organismos del suelo incluidas las comunidades de HMA que habitan en la rizósfera de dichas plantas, empobreciendo la riqueza biológica del suelo que, según algunos autores, tiende a deteriorar a los ecosistemas naturales, más aún cuando son transformados a agro-ecosistemas (Sieverding, 1991), los monocultivos, por ejemplo, después de años de manejo agrícola pueden reducir drásticamente la abundancia de las especies fúngicas (Oehl *et al.*, 2003).

Los HMA son parte importante en el equilibrio y desarrollo de los ecosistemas terrestres, sin embargo, aún existe demasiada incertidumbre sobre las relaciones que estos presentan respecto a su entorno y como éste afecta su crecimiento (Rivillas, 1996; Camarena, 2012). “En México, la mayor parte de los estudios se han enfocado en determinar la respuesta de la planta a la micorriza, sin considerar la procedencia o identidad del endófito” (Varela y Trejo, 2001), por lo que es importante conocer los endófitos locales asociados a las plantas de interés. La población del Municipio de Taxco de Alarcón, por ejemplo, utiliza plantas medicinales que son colectadas directamente en el bosque, o compradas en el mercado o en otros lugares como la Granja Ecológica “Dos Puertas” donde se realiza educación ambiental.

Por lo cual se plantean las siguientes preguntas de investigación:

- Entre el bosque “Agua Escondida” y la granja ecológica “Dos Puertas” ¿cuál posee mayor abundancia y riqueza de HMA?
- ¿Qué diferencias en las propiedades físicas y químicas se presentan en el suelo de ambas zonas de estudio?
- Las propiedades del suelo de cada zona de estudio ¿Cómo pueden afectar a la esporulación de los HMA?
- ¿Qué características favorecerán la propagación de las esporas de HMA?

## 2.11. Justificación

Debido al saqueo excesivo de los recursos en el bosque y la pérdida originada por el cambio de uso de suelo, con tendencia hacia el uso de los monocultivos, los suelos se ven ampliamente afectados, una de las afectaciones es la pérdida de las comunidades de HMA en sus suelos nativos, lo que también afecta a sus fitobiontes. Por ello, el cuidado y mantenimiento de las especies de HMA depende en gran medida de la producción de

inoculantes micorrízicos partiendo de los hongos nativos. Un primer acercamiento a la producción de inoculantes es la propagación de los hongos de interés en condiciones controladas y con el empleo de plantas trampa de rápido crecimiento, con ello se puede evitar el saqueo del suelo para ser empleado como inoculante de plantas comercializadas en maceta. A fin de promover el uso de plantas medicinales propagadas más que colectadas, y con el conocimiento de los beneficios que las plantas obtienen al establecer la simbiosis micorrízica, es necesario también promover la producción de inóculos micorrízicos para los fines deseados. En este caso, se evaluará la propagación de los HMA presentes en suelos de bosque donde crecen plantas medicinales de forma silvestre (C. Chávez, comunicación personal, agosto 2016) y suelos de plantas medicinales que se cultivan en la granja ecológica “Dos puertas”.

### 3. Hipótesis

Si la propagación de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) es un proceso difícil de realizar, dado que como se ha observado en los trabajos que se han dedicado a su desarrollo, los cuales generalmente plantean la propagación de cultivos monoespecíficos y cuyo objetivo ha sido el estudio detallado de sus especies de hongos; considerando que las poblaciones monoespecificas no se obtienen de manera natural, en éste trabajo se espera un mayor éxito al emplear muestras con mayor diversidad de HMA; además, muchos estudios han trabajado con muestras muy reducidas en el número de esporas de HMA, por ello, adicionalmente se ha planteado que la abundancia de la muestra inicial de HMA con que se trabaja también puede ser un factor que influye en el éxito de la propagación.

### 4. Objetivos

#### 4.1. Objetivo general

Analizar la abundancia, riqueza y propagación de dos diferentes muestras de hongos micorrízicos arbusculares provenientes de suelo asociado a algunas plantas medicinales del bosque templado “Agua Escondida” y de la granja ecológica “Dos Puertas”.

#### 4.2. Objetivos particulares

En el suelo asociado a las plantas medicinales del bosque templado “Agua Escondida” y de la granja ecológica “Dos Puertas”:

- Evaluar la abundancia de esporas de los hongos micorrízicos arbusculares.
- Evaluar la riqueza de esporas de los hongos micorrízicos arbusculares.
- Evaluar la capacidad de propagación de las esporas de los hongos micorrízicos arbusculares.
- Evaluar las propiedades físicas y químicas del suelo.

## 5. Método

### 5.1. Zonas de estudio

El Bosque templado “Agua Escondida” se encuentra dentro del municipio de Juan R. Escudero en el estado de Guerrero (18°35'12.44" N; 99°39'17" O) (CONAFOR, 2015). La zona de recolecta se encuentra a una altitud de 2410 msnm, con una temperatura promedio anual de 12° C en la zona montañosa y mayor a 20° C en zonas planas, los suelos dominantes son Andosoles y Vertisoles.

La granja ecológica “Dos Puertas” se encuentra en el kilómetro 101+200 de la carretera Taxco-Iguala en la localidad de Taxco el Viejo (18°28'44" N; 99°35'10.4" O), en el municipio de Taxco de Alarcón, se encuentra a una altitud de 1246 msnm, que presenta un clima subhúmedo cálido, con una temperatura promedio anual de 22 °C. La vegetación predominante de los alrededores es de selva baja caducifolia, con tipo de suelo Chernozem (Guerrero, 2017). Las zonas de estudio se ubican a una distancia de 14.04 km de distancia en línea recta tomando en cuenta el relieve (Fuente: Google Earth).

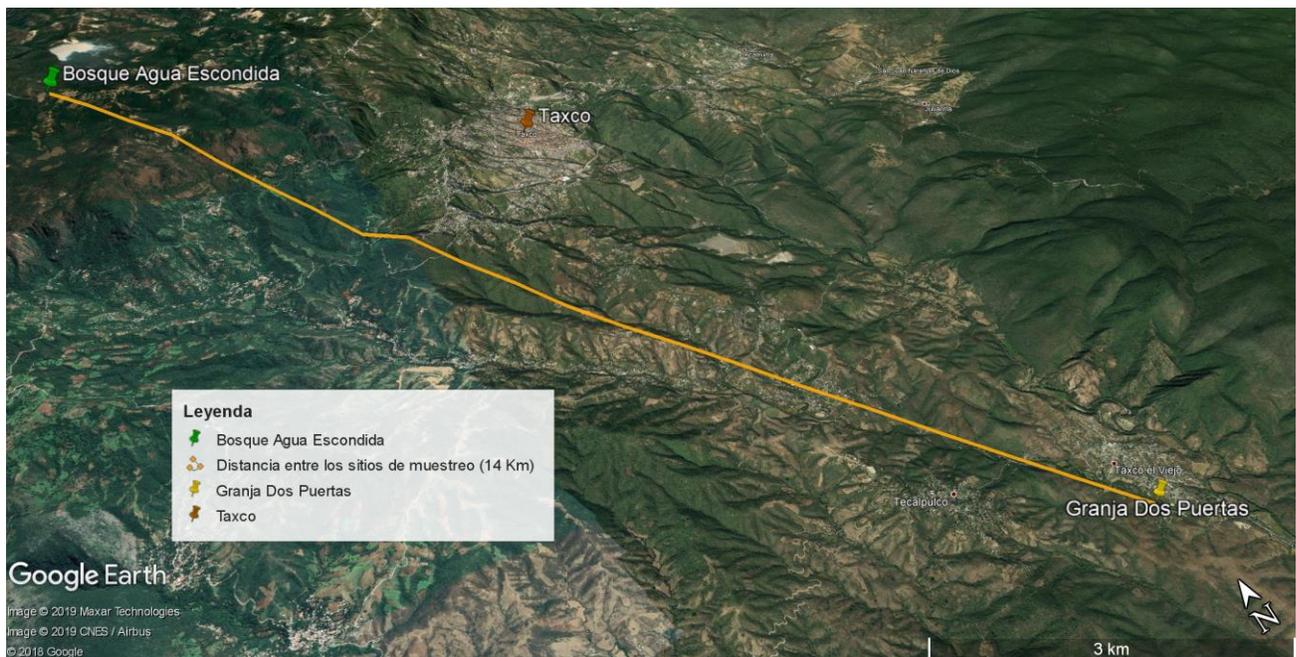


Figura 3. Mapa de las zonas de estudio y la distancia entre ellas considerando el relieve.

## 5.2. Trabajo de campo (toma de muestras)

En los meses de agosto y noviembre del 2016 y febrero de 2017, se tomó para cada mes una muestra compuesta de suelo de dos kilogramos totales provenientes de 25 puntos del bosque abarcando un área aproximada de 400 m<sup>2</sup>, determinados por la presencia de las plantas identificadas con propiedades medicinales, con el fin de abarcar la mayor riqueza de HMA del suelo como lo indica Cuenca y Lovera (como se citó en Bertolini *et al.* 2017). Entre las plantas medicinales muestreadas se destacan: *Adiantum capillus-veneris*, *Gnaphalium viscosum*, *Loeselia mexicana*, *Plantago major*, *Salvia lavanduloides*, *Salvia microphylla*, *Senecio salignus* y *Senecio stoechadiformis* (C. Chávez, comunicación personal, agosto 2016). Las muestras fueron tomadas del suelo rizosférico de las plantas medicinales presentes, a una profundidad de 0 a 15 centímetros tras retirar el mantillo.

De manera similar en la granja ecológica “Dos Puertas”, se colectaron las muestras de suelo en las mismas fechas que en el bosque (agosto y noviembre del 2016 y febrero de 2017), tomando las muestras de las macetas donde se cultivan las plantas medicinales, formando una muestra compuesta de dos kilogramos totales a partir de 25 puntos cultivados abarcando un área aproximada de 300 m<sup>2</sup>, procurando tomar las distintas especies de plantas medicinales presentes en la granja: *Cymbopogon citratus*, *Equisetum hyemale*, *Lavandula dentata*, *Mentha piperita*, *Mentha spicata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus oloroso*, *Rosmarinus officinalis*, *Ruta chalepensis*, *Sedum album* (Martínez, 2018). Esta toma de muestras se realizó a una profundidad de 0 a 15 centímetros tras retirar el mantillo y con el fin de abarcar la mayor riqueza de HMA del suelo. Las muestras fueron destinadas para la determinación de las propiedades del suelo, la abundancia de esporas, la identificación taxonómica y como fuente de inóculo para la propagación, éstas fueron embolsadas, etiquetadas y transportadas en un recipiente térmico con hielo para su conservación.

## 5.3. Trabajo de invernadero

Una vez transportadas las muestras al invernadero de la FES Zaragoza, ubicado en la Ciudad de México, fueron puestas al sol para ser secadas. Para la propagación de los HMA, se emplearon macetas de dos kilogramos limpiadas con una solución de jabón, hipoclorito de sodio al 4.5 % (P/V) y agua, se preparó un sustrato que fue esterilizado en autoclave con calor húmedo en un ciclo de dos días, una hora a 1.2 atm y 120 °C cada día (Serra, 2013), este sustrato se colectó del suelo nativo de las respectivas zonas de estudio, mezclado con arena sílica en una relación 1:1. Las macetas se llenaron con sustrato estéril y fueron sembradas con semillas de maíz (*Zea mays*) lavadas con hipoclorito de sodio comercial (4.5 % P/V) y enjuagadas con agua destilada, esta especie se empleó como “planta trampa” (Blanco y Salas, 2000; Monroy y García, 2009).

Para las muestras de cada zona de estudio se prepararon 28 macetas de las cuales 10 fueron establecidas como testigos (sin inóculo) y 18 macetas fueron inoculadas con muestras de 200 g del suelo seco con presencia de esporas de HMA, preparadas con las muestras compuestas del suelo de los diferentes meses de muestreo. Las macetas fueron humedecidas con agua destilada y se cubrieron con poli-papel a fin de promover la germinación del maíz y minimizar el riesgo de contaminación entre las macetas. Una vez que emergieron las plantas de maíz, se mantuvieron por un periodo de 14 semanas, con dos riegos por semana, procurando riegos más frecuentes, según lo requiriese el sustrato empleado, además, durante éste periodo, se aplicaron en dos ocasiones, dos litros de solución nutritiva “Long Ashton” (véase tabla A3) la primera a la 7<sup>a</sup> y la segunda a la 11<sup>va</sup> semana. Al término de la semana 14, se dejó secar el cultivo durante una semana, tras lo cual se cortó la parte aérea de las plantas trampa, después se dejó secar por otra semana para promover la esporulación de los HMA tal y como sugieren Habte y Osorio (2001) posteriormente se embolsó y etiquetó individualmente cada muestra para su análisis.

#### **5.4. Trabajo de laboratorio**

El trabajo de laboratorio consistió en evaluar la abundancia y riqueza de esporas de HMA y el análisis de algunas de las propiedades físico-químicas del suelo nativo de las zonas de estudio. Se realizó la extracción de las esporas de HMA por medio de la técnica de tamizado húmedo y decantación de Gerdemann y Nicholson (1963), modificado por Walker y Vestberg (1994), para ello se pesaron 50 gramos de suelo dos por cada mes de colecta para las muestras iniciales y para las muestras finales se tomaron 50 gramos de suelo por cada maceta de propagación, cada muestra se recolectó en un vaso para posteriormente llevar a cabo una agitación mecánica con agua, ésta se decantó en tubos de centrífuga para ser centrifugada a 2000 rpm durante 5 minutos, tras lo cual se retiró el sobrenadante, se agitó en un gradiente de sacarosa al 60 % y se centrifugó a 1000 rpm por tres minutos, finalmente las esporas se recolectaron en un tamiz de 44 micras, al final las esporas obtenidas en el tamizado se lavaron para disolver los restos de sacarosa y con ello evitar su germinación.

- **Abundancia de esporas de HMA**

Para llevar a cabo el conteo de esporas de HMA y determinar la abundancia de cada muestra, se marcó una cuadrícula de 5 milímetros con ayuda de un cúter en la parte inferior de una caja Petri, las esporas recolectadas en el tamiz de 44 micras se vertieron con agua en dicha caja Petri previamente marcada. Esta preparación fue revisada con el uso de un estereoscopio, para llevar a cabo el conteo y aislamiento de las esporas, con ayuda de agujas de disección y pipetas Pasteur, los datos obtenidos se extrapolaron a 100 gramos de suelo, reportándose como número de esporas en 100 g de suelo seco.

- **Elaboración de preparaciones fijas de esporas**

Se realizaron 12 preparaciones del suelo original colectado (previo a la propagación) y 40 preparaciones totales al suelo obtenido posterior a la propagación realizada en las macetas del invernadero de la FES Zaragoza. Se aislaron todas las esporas posibles para cada una de las muestras, aislando entre 40-200 esporas por muestra. De cada muestra las esporas aisladas se dividieron al azar en dos grupos, el primer grupo fue colocado a mitad de un portaobjetos con una gota de solución de alcohol polivinílico, ácido láctico y glicerol (PVLG) con el objetivo de ser fijadas, para poder observar sus características morfológicas. El segundo grupo fue colocado en el otro extremo del mismo portaobjetos con una gota de solución de PVLG + Melzer en proporción 1:1; el reactivo de Melzer se empleó para poder observar la tinción que se presenta en algunas especies de HMA, esta tinción puede ser observada en algunas de sus paredes con ayuda de un microscopio óptico, además de otras características de las esporas aisladas, permitiendo de esta manera un acercamiento en su determinación taxonómica.

La identificación morfológica de las esporas se realizó con base en la clasificación reportada por Arthur Schüßler y Christopher Walker, llevando a cabo un registro escrito de las características observadas en las esporas vistas a través de los objetivos 40x y 100x del microscopio compuesto y con la ayuda de la toma de fotografías y los reportes encontrados durante la segunda mitad del año 2018, en las plataformas web del International Collection of Vesicular and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) (<http://fungi.invam.wvu.edu/the-fungi/>), la página web del Profesor Janusz Blaszkowski (<http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/>) y la recopilación de los trabajos en identificación de HMA por parte de los profesores Arthur Schüßler y Christopher Walker (<http://www.amf-phylogeny.com/index.html>). Se observaron los caracteres morfológicos sobresalientes como lo son: el color, tamaño y ornamentaciones notorias de las esporas, además del número de capas y grosores de las mismas, a su vez se identificó la presencia/ausencia de hifa o cicatriz, forma y disposición de las mismas.

- **Análisis físico-químico del suelo**

Se realizó el análisis, con muestras por triplicado de algunas de las propiedades físico-químicas del suelo de cada una de las zonas estudiadas, estos datos ayudaron a identificar las diferencias en las características de las zonas de estudio de origen de los HMA. Entre las propiedades físicas se analizó la densidad aparente, densidad real y textura del suelo; mientras que las propiedades químicas analizadas fueron pH, conductividad eléctrica,

materia orgánica y fósforo extractable, se incluye una breve descripción de los métodos empleados a continuación y una descripción más detallada en el anexo (Tabla A4).

#### ✓ **Densidad aparente**

Para el análisis de la densidad aparente, se empleó el método volumétrico desarrollado por Beaver en 1963, la densidad aparente se obtuvo evaluando el peso de un volumen conocido de suelo tamizado y ligeramente compacto. Se consideró el volumen de las partículas sólidas, entre ellos los minerales y la materia orgánica además del espacio poroso (Muñoz *et al.*, 2015).

#### ✓ **Densidad real**

Para el análisis de la densidad real, se empleó el método del picnómetro, en éste la densidad real se determinó estableciendo una relación de masa y volumen; para esto, se pesaron 5 g de suelo y se obtuvo el volumen del componente sólido (minerales y materia orgánica), sin considerar el volumen del espacio poroso, evaluando el volumen de agua desplazada, mismo que es equivalente al de los sólidos del suelo (Muñoz *et al.*, 2015).

#### ✓ **Textura del suelo**

Para el análisis de textura, se empleó el método AS-09 de la NOM-021 RECNAT (2002) modificado por Muñoz *et al.* (2015) y desarrollado por Bouyoucos en 1962; al determinar la textura de la fracción fina del suelo, éste procedimiento se realizó con base en el cálculo de la velocidad de sedimentación de las partículas, empleando el principio de la ley de Stocks: “la densidad de una solución acuosa en reposo es directamente proporcional a la cantidad de partículas en suspensión que se van asentando de acuerdo a su diámetro y al tiempo transcurrido”.

#### ✓ **Evaluación de pH**

Para la evaluación del pH, se utilizó el método empleado por el Colegio de Postgraduados, descrito en el Manual de Procedimientos Analíticos para Análisis de Suelos y Plantas del Laboratorio de Fertilidad de Suelos (IRENAT, 1996).

#### ✓ **Conductividad eléctrica**

Para el análisis de la conductividad eléctrica, se utilizó el método empleado por el Colegio de Postgraduados, descrito en el Manual de Procedimientos Analíticos para Análisis de Suelos y Plantas del Laboratorio de Fertilidad de Suelos (IRENAT, 1996).

### ✓ Contenido de materia orgánica

Para el análisis del contenido de materia orgánica, se empleó el método AS-07 de Walkley y Black descrito en la NOM-021 RECNAT (2002). Cabe mencionar que debido a que el sulfato ferroso que se emplea se oxida con facilidad, cambiando su normalidad, éste se preparó poco antes de realizar el análisis (IRENAT, 1996).

### ✓ Fósforo extractable

Para el análisis de fósforo, se prepararon muestras de cada uno de los suelos de las zonas estudiadas, en el suelo de bosque se empleó el método de Bray y Kurtz 1 modificado para suelos con pH neutros y ácidos. Mientras que para el análisis de fósforo en el suelo de la granja se empleó el método de Olsen para suelos con pH neutros y alcalinos (Fernández y Mendoza, 2008).

## 5.5. Análisis estadístico de la abundancia y su éxito durante la propagación

Con el objetivo de sintetizar y estimar un valor representativo para la abundancia de esporas de cada zona de estudio, se realizó una aproximación normal de los datos de abundancia de las esporas de HMA empleando la fórmula  $Z = \frac{x_i - \bar{x}}{\sigma^1}$  como lo indicó el Ingeniero Enrique Pérez y Aguilar (comunicación personal, 20 de mayo 2019), donde  $x_i$  es cada uno de los datos de abundancia,  $\bar{x}$  es el promedio de la abundancia muestral y  $\sigma^1$  es la desviación estándar poblacional calculada a partir del rango y su  $d_2$  obtenido de tablas para rangos estadísticos. Para llevar a cabo dicho cálculo, se despejó  $x_i$  otorgándole a  $Z$  el valor obtenido de tablas equivalente al 80 % del porcentaje en curva, es decir, el valor calculado para la abundancia equivalente al 80 % de los datos de la abundancia de esporas obtenidos previo a la propagación en cada zona de estudio (véase tablas A5 y A6), para de éste modo, poder determinar el porcentaje de éxito entre los datos obtenidos en las macetas posterior a la propagación, definiéndose, como las muestras post-propagación que presentaron un valor superior al 80 % de la abundancia de la muestra inicial previamente calculada (véase figuras A1 y A2).

## 6. Resultados

### 6.1. Abundancia de esporas de HMA con relación a los meses de muestreo

Se muestra el número de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), obtenidos por cada mes y zona de estudio (pre-propagación) tanto en el bosque templado “Agua Escondida” como en la granja ecológica “Dos Puertas”, correspondientes a los meses de agosto y noviembre de 2016 y febrero de 2017, además, se muestra la relación que existe respecto a la precipitación mensual (figura 4), obtenidos de los resúmenes de temperatura y precipitación mensual acumulada registradas en Taxco de Alarcón, Guerrero (SMN-CONAGUA, 2017).

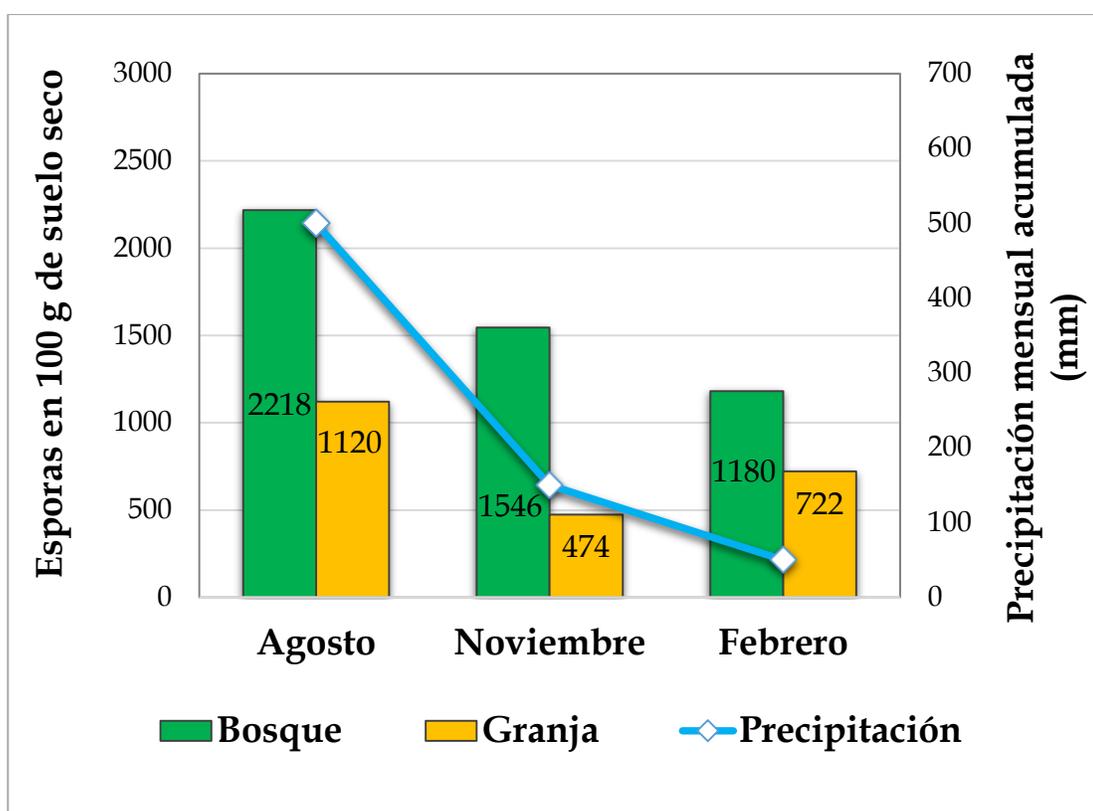


Figura 4. Abundancia de esporas de HMA con relación a la precipitación mensual acumulada.

### 6.2. Abundancia de esporas de HMA

En las figuras 5 y 6 se observa la abundancia de esporas previas a la propagación y post-propagación de las zonas de estudio, se debe recordar que esta abundancia fue determinada estadísticamente realizando un ajuste a una distribución normal y tras realizar los cálculos, se comparó el 80 % de la abundancia en cada muestra, en vez del 50 % como es costumbre en este tipo de análisis, lo cual implica que en vez de comparar el 50 % de la suma de las muestras (promedio), se está comparando el 80 % de la suma de las muestras, siendo esto

más representativo para cada una de las muestras totales de esporas en cada zona de estudio tal y como se puede apreciar en el anexo tablas A5 y A6, así como en las figuras A1 y A2.

Se muestra que la abundancia de esporas previo a la propagación del bosque, alcanzan las 2163 esporas en 100 g de suelo seco, en comparación con las muestras de bosque post-propagación con 2998 esporas en 100 g de suelo seco (figura 5), con un incremento de la muestra inicial del 38.6 % y un éxito del 22.2 % en su propagación. Asimismo, se muestra la abundancia de esporas de la granja, en ésta se observó un incremento del 75.85 % de la muestra inicial, con un éxito de solamente el 16.67 % en su propagación; esto refiere que la muestra inicial de la granja alcanzó las 1093 esporas en 100 g de suelo seco y concluyó con 1922 esporas en 100 g de suelo seco posterior a su propagación (figura 6).

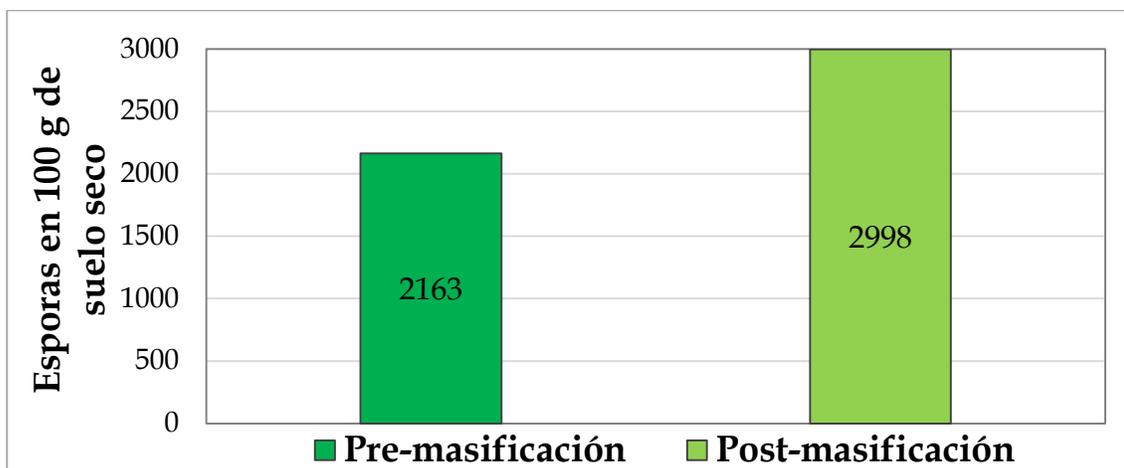


Figura 5. Abundancia de esporas de HMA en suelos provenientes del bosque pre-propagación y post-propagación.

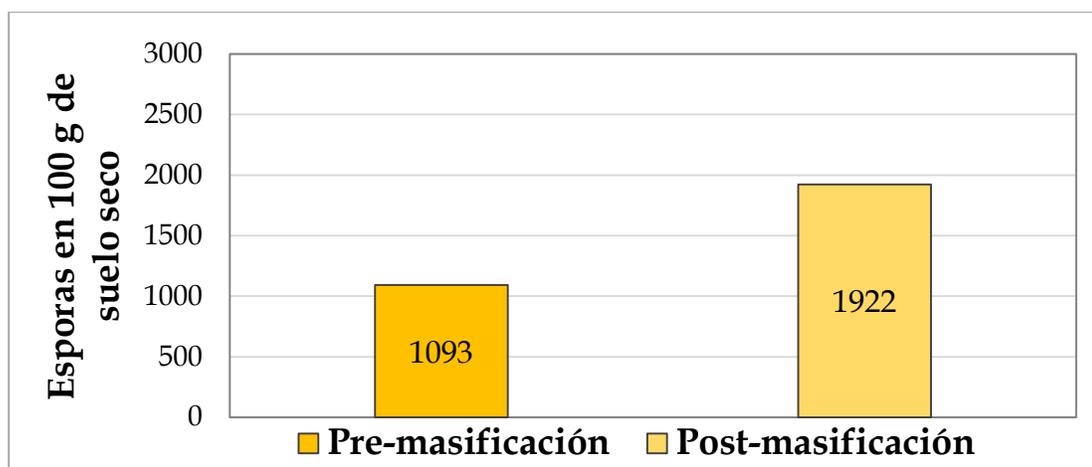


Figura 6. Abundancia de esporas de HMA en suelos provenientes de la granja pre-propagación y post-propagación.

### 6.3. Riqueza de morfo-tipos de HMA

A continuación, se muestra la riqueza de los morfo-tipos observados en las diferentes muestras del bosque y la granja. Se observan la cantidad de morfo-tipos de HMA identificados con base en las esporas colectadas del suelo, para el bosque se observaron 17 morfo-tipos pre-propagación y 36 morfo-tipos post-propagación, además, se observó que el número total de morfo-tipos diferentes encontrados en los suelos del bosque fue de 42 morfo-tipos. Del mismo modo para la granja, se observan el número de morfo-tipos de HMA identificados, mostrando una permanencia en el número de 24 morfo-tipos obtenidos pre-propagación y post-propagación, además, se observa que, aunque éste número de morfo-tipos es similar, el número de morfo-tipos diferentes observados en los suelos de la granja fue de 36 morfo-tipos en total (figura 7).

Además, se observa la distribución de morfo-tipos de las familias de HMA encontradas, se puede observar que las familias Glomeraceae y Acaulosporaceae poseen en conjunto más del 60 % de la riqueza total de morfo-tipos observados, mientras que las familias Ambisporaceae, Claroideoglomeraceae y Diversisporaceae comparten el mismo número de morfo-tipos equivalentes en conjunto a 18 % de la riqueza total observada (figura 8).

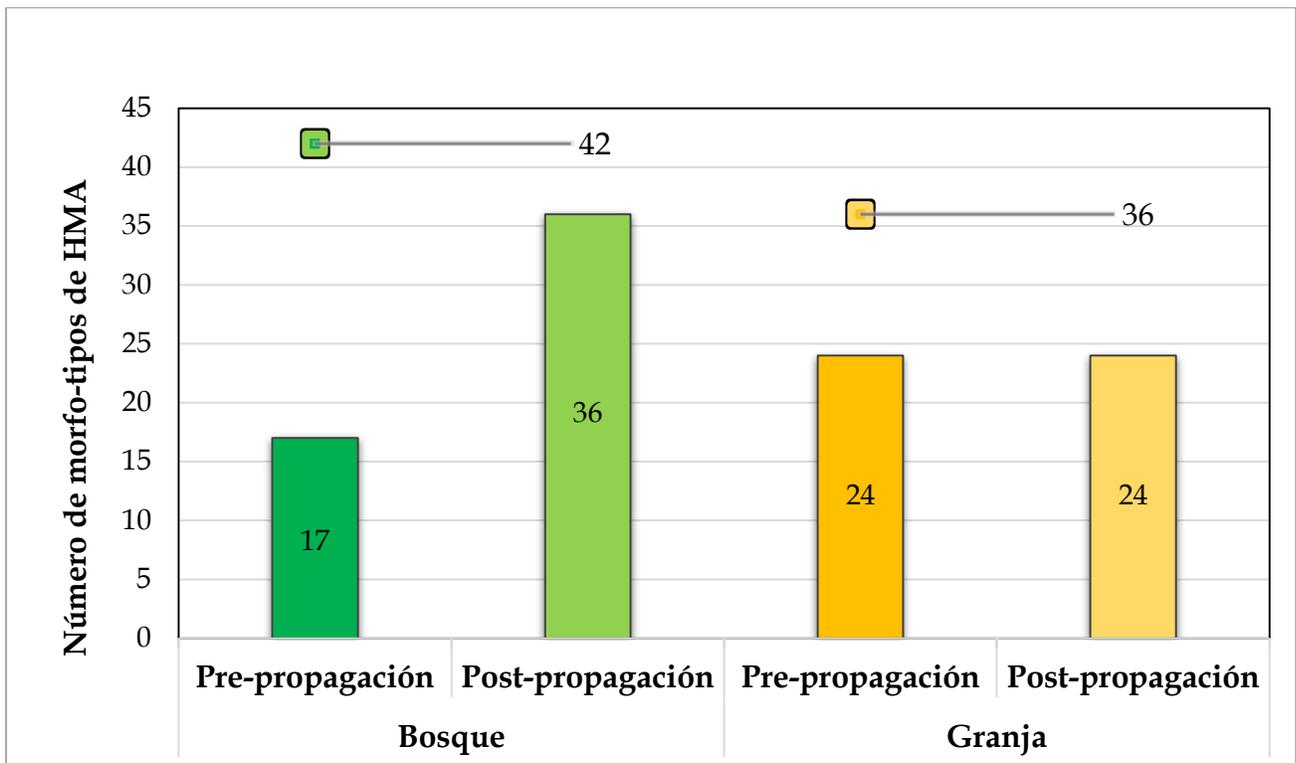


Figura 7. Riqueza de morfo-tipos de HMA distinguidos en las diferentes muestras de suelo, además, se muestra el número de morfo-tipos totales encontrados en los suelos del bosque y la granja.

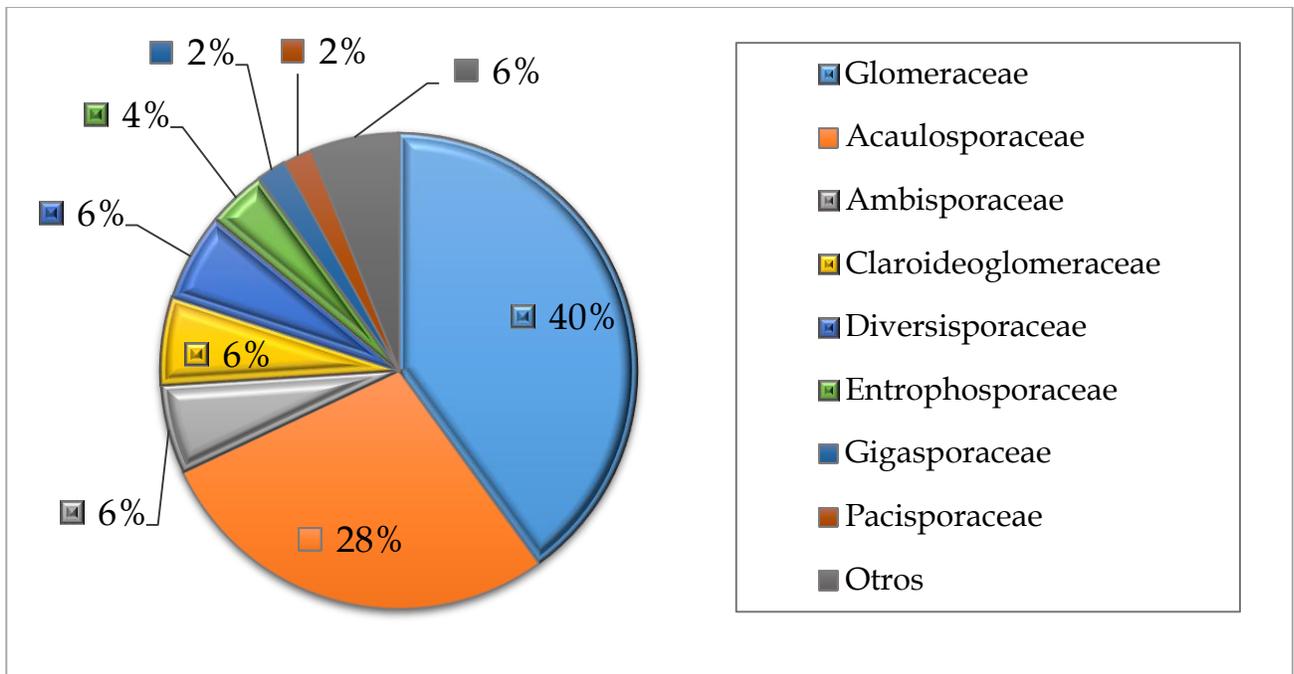


Figura 8. Distribución de las familias de HMA con mayor abundancia de morfo-tipos.

#### 6.4. Capacidad de propagación de HMA

A continuación, se observan los listados de los morfo-tipos de esporas de HMA obtenidos de las siguientes, para fines prácticos, 4 “condiciones analizadas”: suelo nativo del bosque (pre-propagación) y la granja pre-propagación, además, de los suelos del bosque post-propagación y de la granja post-propagación; se indica con una “X” la presencia de los morfo-tipos para cada condición analizada.

Se muestra el listado de los morfo-tipos de HMA de la familia Acaulosporaceae, del género *Acaulospora* (*Ac.*) observados en los respectivos suelos analizados (tabla 1). En total se obtuvieron 14 morfo-tipos del género *Acaulospora*, de los cuales sólo 11 fueron identificados.

En el bosque se encontraron sólo 13 morfo-tipos de este género: *Ac. alpina* (fig. 9-A<sup>G</sup> y 9-A<sup>M</sup>), *Ac. bireticulata* (fig. 9-B<sup>G</sup> y 9-B<sup>M</sup>), *Ac. aff. capsicula* (fig. 9-C<sup>G</sup>), *Ac. aff. colombiana* (fig. 9-D<sup>G</sup> y 9-D<sup>M</sup>), *Ac. denticulata* (fig. 9-E<sup>M</sup>), *Ac. minuta* (fig. 9-F<sup>M</sup>), *Ac. morrowiae* (fig. 9-G<sup>G</sup> y 9-G<sup>M</sup>), *Ac. paulinae* (fig. 9-H<sup>G</sup> y 9-H<sup>M</sup>), *Ac. aff. scrobiculata* (fig. 9-I<sup>G</sup>), *Ac. soloidea* (fig. 9-J1<sup>G</sup> y 9-J2<sup>G</sup>), *Ac. spinosissima* (fig. 9-K<sup>G</sup> y 9-K<sup>M</sup>), *Acaulospora* sp. 1 (fig. 9-L<sup>M</sup>) y *Acaulospora* sp. 2 (fig. 9-M<sup>G</sup> y 9-M<sup>M</sup>); 9 morfo-tipos se observaron post-propagación: *Ac. alpina*, *Ac. bireticulata*, *Ac. aff. colombiana*, *Ac. minuta*, *Ac. morrowiae*, *Ac. paulinae*, *Ac. soloidea*, *Ac. spinosissima* y *Acaulospora* sp. 1; de éstos sólo 6 se encontraron previo y posterior a la propagación: *Ac. alpina*, *Ac. bireticulata*, *Ac. morrowiae*, *Ac. paulinae*, *Ac. soloidea* y *Ac. spinosissima*, además aquellos que se

observaron exclusivamente pre-propagación fueron 4: *Ac. aff. capsicula*, *Ac. denticulata*, *Ac. aff. scrobiculata* y *Acaulospora* sp. 2.

En la granja se encontraron 10 morfo-tipos del género *Acaulospora*: *Ac. alpina* (fig. 9-A<sup>G</sup> y 9-A<sup>M</sup>), *Ac. aff. capsicula* (fig. 9-C<sup>G</sup>), *Ac. aff. colombiana* (fig. 9-D<sup>G</sup> y 9-D<sup>M</sup>), *Ac. denticulata* (fig. 9-E<sup>M</sup>), *Ac. morrowiae* (fig. 9-G<sup>G</sup> y 9-G<sup>M</sup>), *Ac. aff. scrobiculata* (fig. 9-I<sup>G</sup>), *Ac. spinosissima* (fig. 9-K<sup>G</sup> y 9-K<sup>M</sup>), *Acaulospora* sp. 1 (fig. 9-L<sup>M</sup>), *Acaulospora* sp. 2 (fig. 9-M<sup>G</sup> y 9-M<sup>M</sup>) y *Acaulospora* sp. 3 (fig. 9-N<sup>G</sup>); mismos que se observaron previo a la propagación de las muestras de la granja; de éstos sólo cinco morfo-tipos se observaron en la granja post-propagación: *Ac. alpina*, *Ac. aff. colombiana*, *Ac. morrowiae*, *Ac. spinosissima* y *Acaulospora* sp. 2.

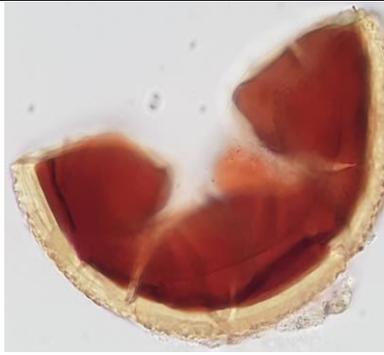
De los morfo-tipos del género *Acaulospora* se destaca principalmente que los morfo-tipos de *Ac. alpina* (fig. 9-A<sup>G</sup> y 9-A<sup>M</sup>), *Ac. morrowiae* (fig. 9-G<sup>G</sup> y 9-G<sup>M</sup>) y *Ac. spinosissima* (fig. 9-K<sup>G</sup> y 9-K<sup>M</sup>) se observaron en las 4 condiciones analizadas; *Ac. bireticulata* (fig. 9-B<sup>G</sup> y 9-B<sup>M</sup>), *Ac. minuta* (fig. 9-F<sup>M</sup>), *Ac. paulinae* (fig. 9-H<sup>G</sup> y 9-H<sup>M</sup>) y *Ac. soloidea* (fig. 9-J1<sup>G</sup> y 9-J2<sup>G</sup>) se observaron exclusivamente en los suelos de bosque y el morfo-tipo *Acaulospora* sp. 3 (fig. 9-N<sup>G</sup>) se observó exclusivamente en los suelos de la granja.

**Tabla 1.** Presencia de morfo-tipos de la familia Acaulosporaceae, género *Acaulospora*, en las diferentes muestras de suelo.

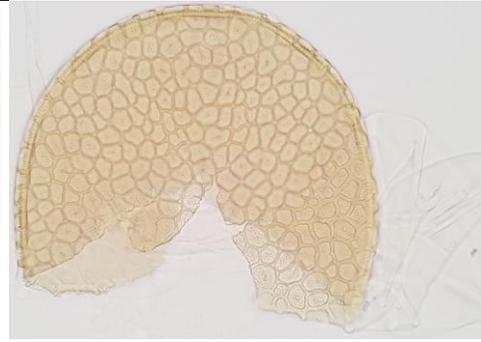
Familia	Morfo-tipo	Bosque pre-propagación	Bosque post-propagación	Granja pre-propagación	Granja post-propagación
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora alpina</i> (Oehl, Sýkorová & Sieverding)	X	X	X	X
	<i>Acaulospora bireticulata</i> (Rothwell & Trappe)	X	X		
	<i>Acaulospora aff. capsicula</i>	X		X	
	<i>Acaulospora aff. colombiana</i>		X	X	X
	<i>Acaulospora denticulata</i> (Sieverding & Toro)	X		X	
	<i>Acaulospora minuta</i> (Oehl, Tchabi, Hountondji, Palenzuela, Sánchez & Silva)		X		
	<i>Acaulospora morrowiae</i> (Spain & Schenck)	X	X	X	X
	<i>Acaulospora paulinae</i> (Błaszkowski)	X	X		
	<i>Acaulospora aff. scrobiculata</i>	X		X	
	<i>Acaulospora soloidea</i> (Vaingankar & Rodrigues)	X	X		
	<i>Acaulospora spinosissima</i> (Oehl, Palenzuela, Sánchez, Tchabi, Hountondji & Silva)	X	X	X	X
	<i>Acaulospora</i> sp. 1		X	X	
	<i>Acaulospora</i> sp. 2	X		X	X
	<i>Acaulospora</i> sp. 3			X	
Total	14	10	9	10	5
			13		10



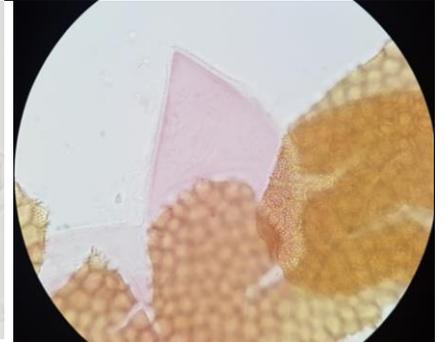
**A<sup>G</sup>.** *Acaulospora alpina* (100x)



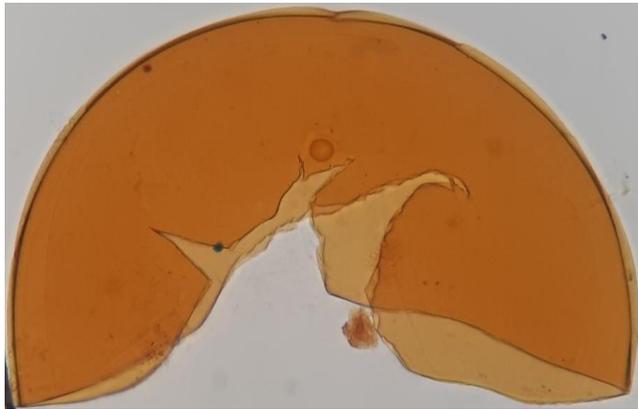
**A<sup>M</sup>.** *Acaulospora alpina* (100x)



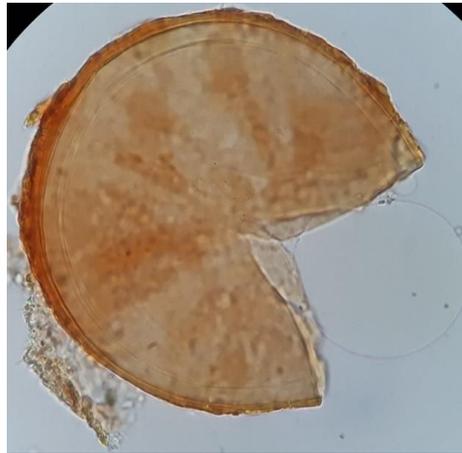
**B<sup>G</sup>.** *Acaulospora bireticulata* (40x)



**B<sup>M</sup>.** *Acaulospora bireticulata* (100x)



**C<sup>G</sup>.** *Acaulospora aff. capsicula* (40x)



**D<sup>G</sup>.** *Acaulospora aff. colombiana* (40x)



**D<sup>M</sup>.** *Acaulospora aff. colombiana* (40x)



**E<sup>M</sup>.** *Acaulospora denticulata* (40x)



**F<sup>M</sup>.** *Acaulospora minuta* (100x)



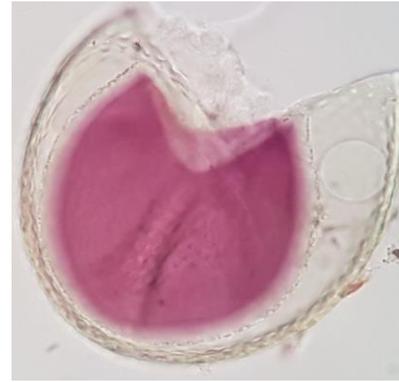
**G<sup>G</sup>.** *Acaulospora morrowiae* (100x)



**G<sup>M</sup>.** *Acaulospora morrowiae* (100x)



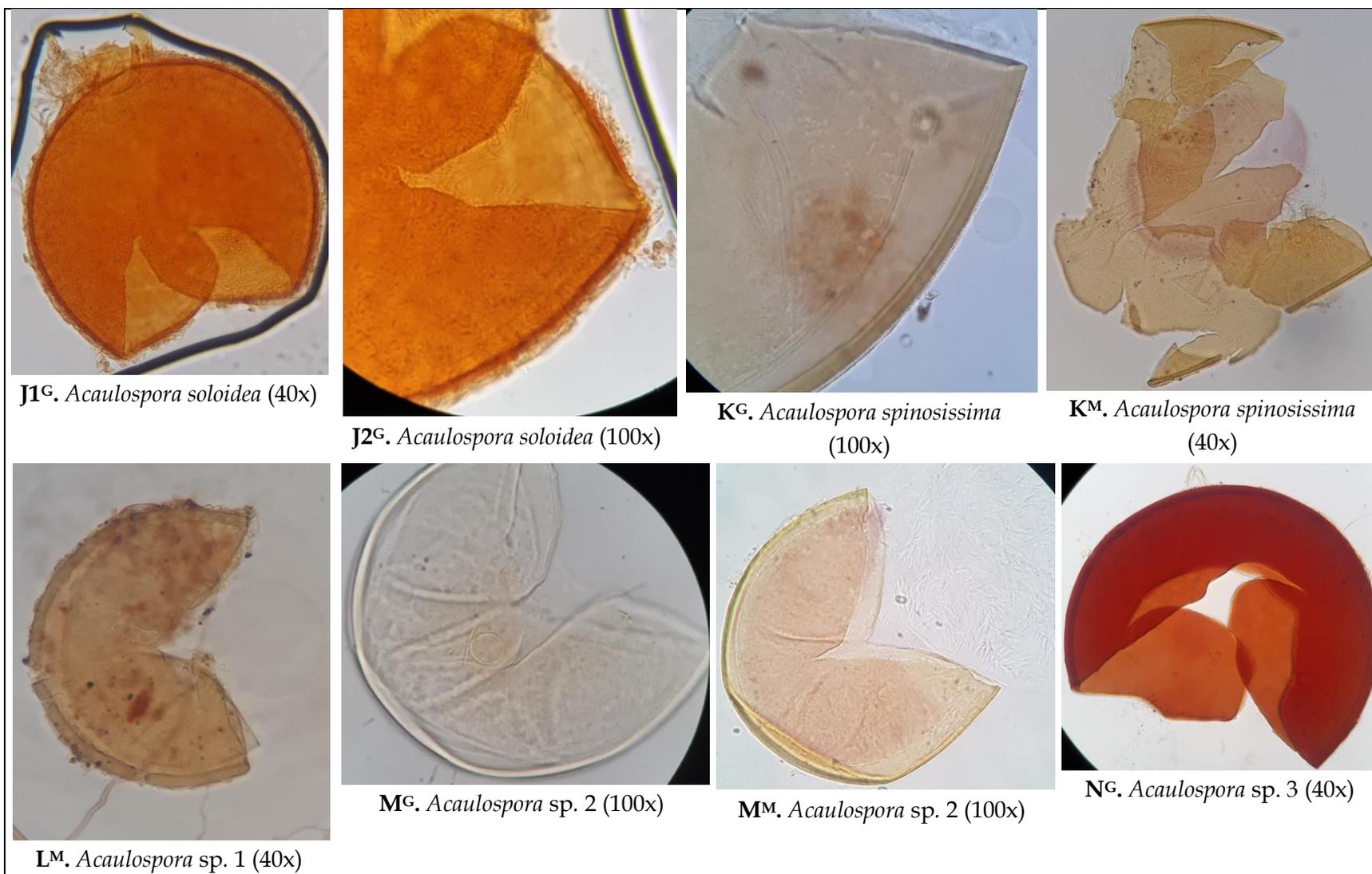
**H<sup>G</sup>.** *Acaulospora paulinae* (100x)



**H<sup>M</sup>.** *Acaulospora paulinae* (100x)



**I<sup>G</sup>.** *Acaulospora aff. scrobiculata* (100x)



**Figura 9.** Esporas de HMA de la familia Acaulosporaceae, tomadas con el microscopio óptico a través de los objetivos 40x y 100x. Se indican con un superíndice "G" las imágenes tomadas en PVLG y con un superíndice "M" las imágenes obtenidas en reactivo de Melzer. En las figuras A<sup>G</sup> se muestra una imagen de *Ac. alpina* en PVLG donde se puede apreciar su ornamentación y A<sup>M</sup> muestra una espora de *Ac. alpina* en donde se observa la reacción al Melzer con la tinción rojiza de la capa más interna. En la figura B<sup>G</sup> se muestran las esporas de *Ac. bireticulata* se observa su característica ornamentación

de retículo poligonal y el sáculo esporífero a la derecha, en la figura **B<sup>M</sup>** se observa el mismo morfo-tipo en reactivo de Melzer mostrando una tinción rosácea de su pared germinal interna. En la figura **C<sup>G</sup>** se observa una imagen de *Ac. aff. capsicula* tomada con un objetivo de 40x, se aprecia la ligera elevación del collar de su cicatriz al centro de la imagen. En la figura **D<sup>G</sup>** y **D<sup>M</sup>** se muestran las esporas de *Ac. aff. colombiana*, nótese la tinción rosa de la capa germinal más interna en el reactivo de Melzer. En la figura **E<sup>M</sup>** se muestra la imagen de *Ac. denticulata* y su característica ornamentación. En la figura **F<sup>M</sup>** se observa una espora de *Ac. minuta*, distinguida por su característica ornamentación con depresiones en forma de hoyos, contiguos y distribuidos uniformemente. En la figura **G<sup>G</sup>** se aprecia una espora de *Ac. morrowiae* mostrando su cicatriz en la parte superior aún con algunos restos del sáculo esporífero a la izquierda y a su derecha se observan sus dos paredes germinales, principalmente su segunda capa germinal, la cual se distingue por ser más gruesa. En la figura **G<sup>M</sup>** se observa fácilmente la tinción de esta segunda capa germinal de una espora de *Ac. morrowiae*. En la figura **H<sup>G</sup>** se observa una espora de *Ac. paulinae*, distinguida por su ornamentación similar a la de *Ac. alpina*, pero distinguible porque *Ac. paulinae* posee todas sus capas de color generalmente hialino, además como se muestra en la figura **H<sup>M</sup>** presenta reacción al Melzer presentando una tinción descrita como color rojo pálido. En la figura **I<sup>G</sup>** se muestra una espora de *Ac. aff. scrobiculata* distinguida principalmente por su color pálido amarillento y debido a que la primera capa que es evanescente está fuertemente adherida a la segunda capa (ornamentada), contrario a lo que sucede con *Ac. alpina*, en la cual generalmente la primera capa se encuentra muy deteriorada, además de que esta última es generalmente de menor tamaño que *Ac. aff. scrobiculata*. En la figura **J1<sup>G</sup>** se muestra una espora de *Acaulospora soloidea* muestra similitudes a esta especie debido a la presencia de manto hifal cercano a la pared de la espora y a su tamaño; en la figura **J2<sup>G</sup>** se distinguen varias de las capas que posee su pared. En la figura **K<sup>G</sup>** se muestra la imagen de *Ac. spinosissima* distinguida principalmente por su ornamentación con pequeñas proyecciones en forma de espinas abundantes y delgadas, además, como se observa en la figura **K<sup>M</sup>** presenta reacción al Melzer en su última capa germinal descrita en colores rosa a púrpura. En la figura **L<sup>M</sup>** se aprecia lo que parece ser una espora del género *Acaulospora* debido a su elevado número de capas, además de la ausencia de hifa. En la figura **M<sup>G</sup>** y **M<sup>M</sup>** se muestran las imágenes de esporas pertenecientes al género *Acaulospora*, identificadas gracias a la reacción al Melzer presente en **M<sup>M</sup>** y a la cicatriz que se muestra en **M<sup>G</sup>**. En la figura **N<sup>G</sup>** se muestra lo que aparenta ser una espora del género *Acaulospora*, identificada así debido a la ausencia de hifa.

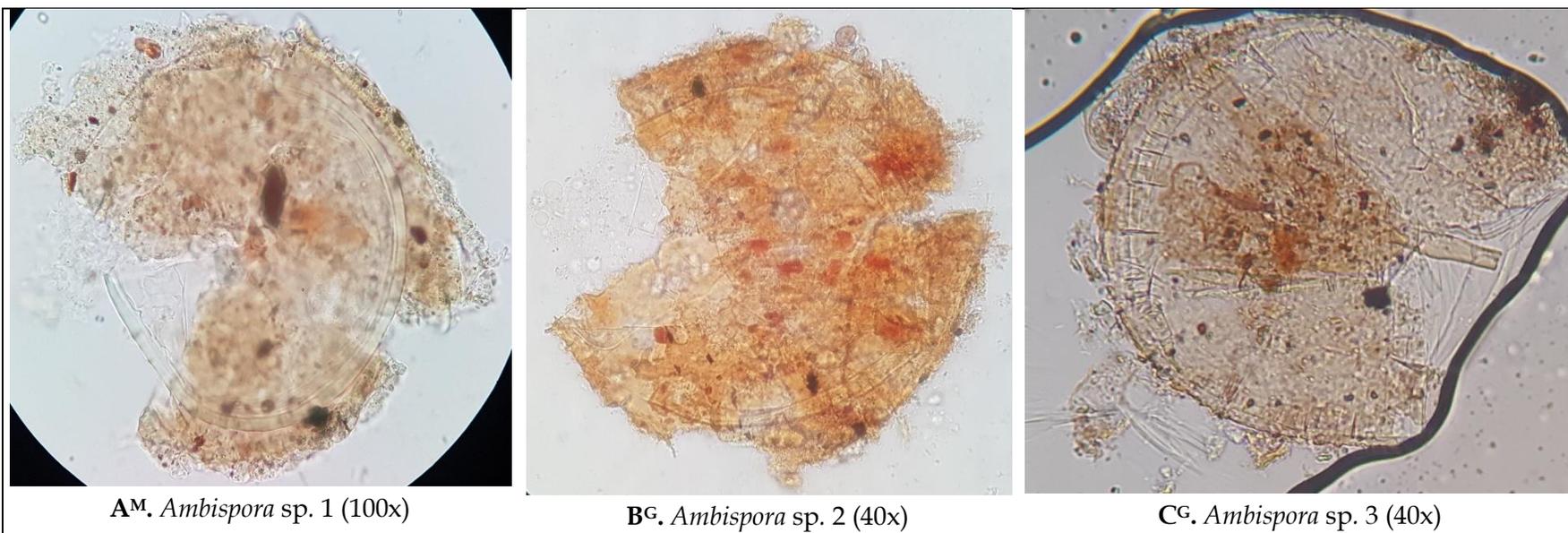
En la tabla 2 se observa el listado de los morfo-tipos de HMA de la familia Ambisporaceae, del género *Ambispora* encontradas en los respectivos suelos analizados, indicando con una “X” la presencia de los morfo-tipos para cada condición analizada. En total se obtuvieron 3 morfo-tipos del género *Ambispora* (*Am.*). Los 3 morfo-tipos que se encontraron en el bosque fueron: *Ambispora* sp. 1 (fig. 10-A<sup>M</sup>), *Ambispora* sp. 2 (Fig. 10-B<sup>G</sup>) y *Ambispora* sp. 3 (fig. 10-C<sup>G</sup>); solo 2 se observaron en el bosque post-propagación: *Ambispora* sp. 1 y *Ambispora* sp. 2; de estos solo *Ambispora* sp. 1 se observó tanto previo como posterior a la propagación; y aquella que se observó exclusivamente en el suelo de bosque pre-propagación fue *Ambispora* sp. 3.

En los suelos de la granja se observaron solo 2 morfo-tipos: *Ambispora* sp. 1 (fig. 10-A<sup>M</sup>) y *Ambispora* sp. 2 (Fig. 10-B<sup>G</sup>); ambas se observaron tanto previo como posterior a la propagación.

De entre los morfo-tipos de *Ambispora*, se destaca principalmente que *Ambispora* sp. 1 (fig. 10-A<sup>M</sup>), se encontró en las 4 condiciones analizadas y que *Ambispora* sp. 3 (fig. 10-C<sup>G</sup>) se observó exclusivamente en los suelos de bosque pre-propagación.

**Tabla 2.** Presencia de morfo-tipos de la familia Ambisporaceae, género *Ambispora*, en las diferentes muestras de suelo.

Familia	Morfo-tipo	Bosque pre-propagación	Bosque post-propagación	Granja pre-propagación	Granja post-propagación
Ambisporaceae	<i>Ambispora</i> sp. 1	X	X	X	X
	<i>Ambispora</i> sp. 2		X	X	X
	<i>Ambispora</i> sp. 3	X			
Total	3	2	3	2	2



**Figura 10.** Esporas de HMA de la familia Ambisporaceae, tomadas con el microscopio óptico a través de los objetivos 40x y 100x. Se indican con un superíndice “G” las imágenes tomadas en PVLG y con un superíndice “M” las imágenes obtenidas en reactivo de Melzer. Las imágenes presentadas (A-C) se ubican dentro del género *Ambispora* debido a que comparten como característica la presencia de partículas finas de suelo adheridas a su pared

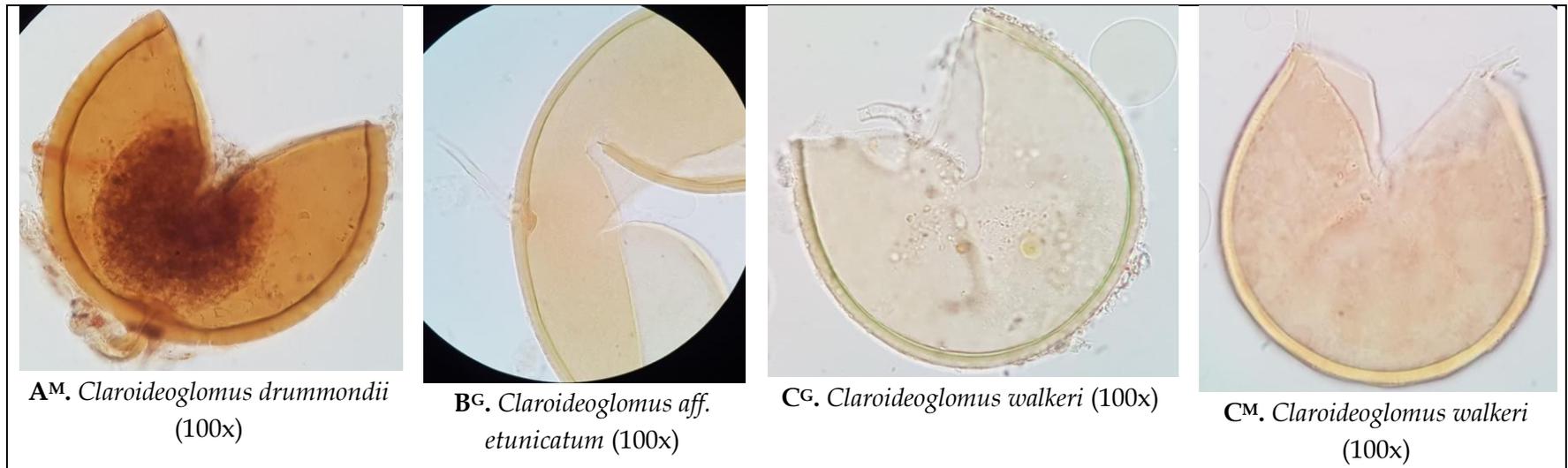
externa, además de que su primera capa germinal tiende a ser frágil quebrándose de modo poligonal al aplicar suficiente presión observada con mayor detalle debido a su coloración a la menor cantidad de partículas en la figura C<sup>G</sup>.

En la tabla 3 se presenta el listado de las esporas de HMA del género *Claroideoglomus* (Cl.), se observan 3 morfo-tipos encontrados en los respectivos suelos analizados, indicando con una "X" la presencia de los morfo-tipos para cada condición analizada. En total se obtuvieron 3 morfo-tipos del género *Claroideoglomus* (Cl.). Los 3 morfo-tipos que se observaron en los suelos del bosque post-propagación fueron: *Claroideoglomus drummondii* (fig. 11-A<sup>M</sup>), *Cl. aff. etunicatum* (fig. 11-B<sup>G</sup>) y *Cl. walkeri* (fig. 11-C<sup>G</sup> y 11-C<sup>M</sup>); sin embargo, ninguno de ellos se observó en el bosque previo a la propagación. En las muestras de suelo de la granja post-propagación solo se observaron 2 morfo-tipos *Cl. aff. etunicatum* (fig. 11-B<sup>G</sup>) y *Cl. walkeri* (fig. 11-C<sup>G</sup> y 11-C<sup>M</sup>); sin embargo, al igual que en el caso de las muestras del bosque, tampoco se observaron pre-propagación.

Se destaca principalmente que ninguno de los morfo-tipos del género *Claroideoglomus* se observó en los suelos pre-propagación.

**Tabla 3.** Presencia de morfo-tipos de la familia Claroideoglomeraceae, género *Claroideoglomus*, en las diferentes muestras de suelo.

Familia	Morfo-tipo	Bosque pre-propagación	Bosque post-propagación	Granja pre-propagación	Granja post-propagación
Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus drummondii</i> (Walker & Schuessler)		X		
	<i>Claroideoglomus aff. etunicatum</i>		X		X
	<i>Claroideoglomus walkeri</i> (Walker & Schuessler)		X		X
Total	3	0	3	0	2



**Figura 11.** Esporas de HMA de la familia Claroideoglomeraceae, tomadas con el microscopio óptico empleando el objetivo de 100x. Se indican con un superíndice “G” las imágenes tomadas en PVLG y con un superíndice “M” las imágenes obtenidas en reactivo de Melzer. En la figura A<sup>M</sup> se muestra una imagen de una espora de *Claroideoglomerus drummondii* se distingue porque su tercera capa presenta reacción al Melzer de color rojiza, además, ésta se separa fácilmente de su segunda capa (capa laminada), y por su hifa recurvada, a veces constreñida en la base, tal y como se muestra en la imagen. En la figura B<sup>G</sup> se muestra una espora de *Claroideoglomerus aff. etunicatum* se distingue por su hifa hialina septada por algunas subcapas de la capa laminada. En la figura C<sup>G</sup> y C<sup>M</sup> se observa la imagen de *Claroideoglomerus walkeri* caracterizada por la reacción al Melzer presente en la primera capa de la pared de la espora, con una coloración rosácea.

En la tabla 4 se observa el listado de las morfo-tipos de esporas de HMA de la familia Diversisporaceae, del género *Diversispora* encontradas en los respectivos suelos analizados, indicando con una “X” la presencia de los morfo-tipos para cada condición analizada. En total se obtuvieron 3 morfo-tipos del género *Diversispora* (Di.).

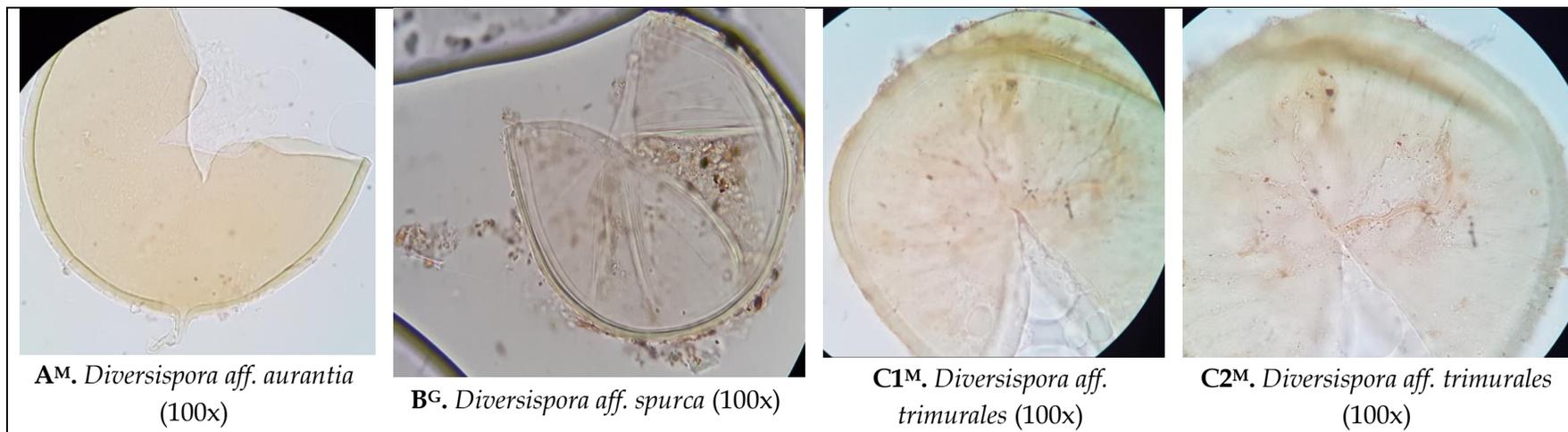
Los 3 morfo-tipos se encontraron en los suelos del bosque: *Diversispora aff. aurantia* (fig. 12-A<sup>M</sup>), *Di. aff. spurca* (fig. 12-B<sup>G</sup>) y *Di. aff. trimurales* (fig 12-C1<sup>M</sup> y 12-C2<sup>M</sup>); mismas que se observaron en los suelos del bosque post-propagación; de estas 3 la única que también se observó previo a la propagación fue *Di. aff. spurca*.

En las muestras de suelo de la granja solo se observaron 2 morfo-tipos: *Di. aff. aurantia* (fig. 12-A<sup>M</sup>) y *Di. aff. spurca* (fig. 12-B<sup>G</sup>); ambas se observaron previo a la propagación, sin embargo, únicamente *Di. aff. spurca* se observó posterior a la propagación en las muestras de la granja.

Para los morfo-tipos hallados de *Diversispora*, se destaca principalmente que *Di. aff. spurca* (fig. 12-B<sup>G</sup>) se observó en las cuatro condiciones analizadas, mientras que *Di. aff. trimurales* (fig. 12-C1<sup>M</sup> y 12-C2<sup>M</sup>) se observó exclusivamente en los suelos de bosque.

**Tabla 4.** Presencia de morfo-tipos de la familia Diversisporaceae, género *Diversispora*, en las diferentes muestras de suelo.

Familia	Morfo-tipo	Bosque pre-propagación	Bosque post-propagación	Granja pre-propagación	Granja post-propagación
Diversisporaceae	<i>Diversispora aff. aurantia</i>		X	X	
	<i>Diversispora aff. spurca</i>	X	X	X	X
	<i>Diversispora aff. trimurales</i>		X		
Total	3	1	3	2	1



**Figura 12.** Esporas de HMA de la familia Diversisporaceae, tomadas con el microscopio óptico empleando el objetivo de 100x. Se indican con un superíndice “G” las imágenes tomadas en PVLG y con un superíndice “M” las imágenes obtenidas en reactivo de Melzer. En la figura A<sup>M</sup> se observa una espora de *Diversispora aff. aurantia* (Basionimo: *Glomus aurantium*), de ésta se destaca una primera capa hialina permanente, seguida por una capa laminada adelgazada en la hifa y su pequeña hifa septada por su tercera capa la cual está fuertemente adherida a la capa intermedia, laminada, además de que no presenta reacción al Meltzer. En la figura B<sup>G</sup> se muestra una imagen de *Diversispora aff. spurca*, se observa su color hialino y tres capas de la pared de la espora. En la figura C1<sup>M</sup> se muestra una imagen a 100x de una espora de *Diversispora aff. trimurales*, principalmente se destaca su primera capa semipermanente, de superficie irregular con proyecciones en forma de ámpulas, la segunda capa laminada rugosa y gruesa. En la figura C2<sup>M</sup> se aprecia una hifa cilíndrica y delgada similar a la que se presenta en *D. trimurales* su color se explica debido a las capas de color amarillento que obstruyen su vista en primer plano y que sin embargo resaltan su contorno.

En la tabla 5 se referencian los suelos en los que se encontraron los morfo-tipos de HMA pertenecientes a la familia Entrophosporaceae, género *Entrophospora* y Gigasporaceae, género *Racocetra* encontradas en los respectivos suelos analizados, indicando con una “X” la presencia de los morfo-tipos para cada condición analizada. En total se obtuvieron 3 morfo-tipos, de las cuales 2 pertenecen al género *Entrophospora* (E.) y 1 al género *Racocetra* (R.).

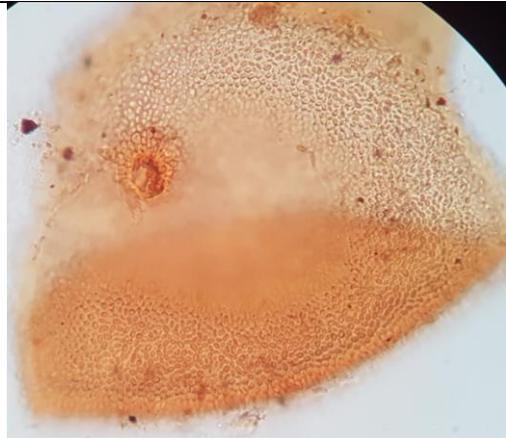
En los suelos del bosque se encontraron exclusivamente los 2 morfo-tipos de la familia Entrophosporaceae, género *Entrophospora*: *Entrophospora infrequens* (fig. 13-A1<sup>M</sup> y 13-A2<sup>M</sup>) y *E. aff. nevadensis* (fig. 13-B<sup>M</sup>); ambas se observaron en las muestras de bosque posterior a la propagación. Únicamente, *E. aff. nevadensis* se observó tanto previo como posterior a la propagación.

Mientras que en las muestras de la granja se encontraron ambas familias de Entrophosporaceae y Gigasporaceae, encontrándose la presencia de esporas de 2 morfo-tipos: *Entrophospora infrequens* (fig. 13-A1<sup>M</sup> y 13-A2<sup>M</sup>) y *Racocetra aff. castanea* (fig. 13-C<sup>G</sup> y 13-C<sup>M</sup>); *E. infrequens* únicamente se observó en el suelo post-propagación; mientras que *R. aff. castanea* únicamente se observó en el suelo previo a la propagación.

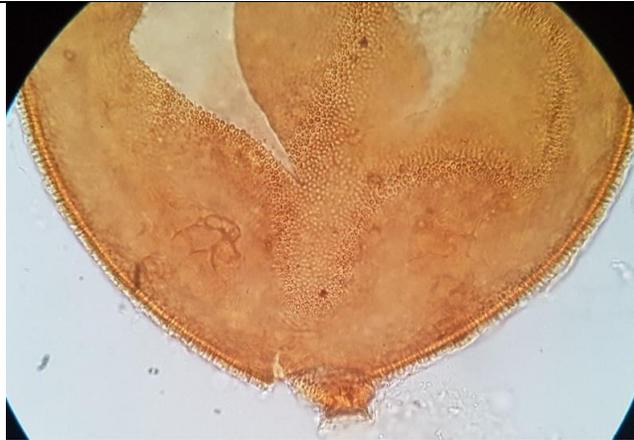
De las familias Entrophosporaceae y Gigasporaceae, se destaca que en las muestras del bosque únicamente se observó la familia Entrophosporaceae; mientras que la familia Gigasporaceae se observó exclusivamente en las muestras de suelo de la granja.

**Tabla 5.** Presencia de morfo-tipos de las familias Entrophosporaceae, género *Entrophospora* y Gigasporaceae, género *Racocetra* en las diferentes muestras de suelo.

Familia	Morfo-tipo	Bosque pre-propagación	Bosque post-propagación	Granja pre-propagación	Granja post-propagación
Entrophosporaceae	<i>Entrophospora infrequens</i> (Ames & Schneider)		X		X
	<i>Entrophospora aff. nevadensis</i>	X	X		
Total	2	1	2	0	1
Gigasporaceae	<i>Racocetra aff. castanea</i>			X	
Total	1	0	0	1	0
			0		1



**A1<sup>M</sup>**. *Entrophospora infrequens* (100x)



**A2<sup>M</sup>**. *Entrophospora infrequens* (100x)



**BM**. *Entrophospora aff. nevadensis* (100x)



**CG**. *Racocetra aff. castanea* (100x)



**CM**. *Racocetra aff. castanea* (40x)

**Figura 13.** Esporas de HMA de las familias Entrophosporaceae y Gigasporaceae, tomadas con el microscopio óptico empleando los objetivos de 40x y 100x. Se indican con un superíndice "G" las imágenes tomadas en PVLG y con un superíndice "M" las imágenes obtenidas en reactivo de Melzer. En la figura **A1<sup>M</sup>** se muestra una espóra de *Entrophospora infrequens* se aprecia su cicatriz como el único espacio en la superficie en donde la ornamentación se interrumpe; en la figura **A2<sup>M</sup>** se observa otra espóra de la misma especie esta vez con la cicatriz vista de perfil hacia abajo en la imagen, además se aprecia de igual manera su ornamentación característica de su capa intermedia con proyecciones medianamente gruesas y cortas cubiertas por su capa

externa de color hialino. En la figura **B<sup>M</sup>** se muestra una espora de *Entrophospora aff. nevadensis* se aprecia su característica ornamentación en forma de espinas. En la figura **C<sup>G</sup>** se muestra una espora de *Racocetra aff. castanea* se observa su escudo a medio giro en el lado superior derecho y su peculiar hifa en el lado derecho de la espora; en la figura **C<sup>M</sup>** se observa otra espora de la misma especie mostrando su escudo al lado derecho de la espora y su hifa en el lado opuesto.

En la tabla 6 se muestran el listado de las esporas de HMA pertenecientes a la familia Glomeraceae, se indica con una “X” la presencia de los morfo-tipos para cada condición analizada. Ésta fue la familia con mayor expresividad con un total de 20 morfo-tipos observados, pertenecientes a los siguientes géneros: 4 para el género *Dominikia (Dom.)*, 3 para el género *Funneliformis (F.)*, 10 para el género *Glomus (Gl.)* y 3 para el género *Rhizophagus (Rh.)*, de éstos solo 11 morfo-tipos fueron identificados aproximándolos a especie.

En los suelos del bosque se encontraron sólo 15 morfo-tipos de ésta familia, pertenecientes a los siguientes géneros: 3 para el género *Dominikia (Dom.)*, 2 para el género *Funneliformis (F.)*, 9 para el género *Glomus (Gl.)* y 1 para el género *Rhizophagus (Rh.)*. Se enlistan los siguientes: *Dom. aff. aurea* (fig. 14-A<sup>G</sup>), *Dom. aff. minuta* (fig. 14-C<sup>G</sup>), *Dominikia sp.* (fig. 14-L<sup>M</sup>), *F. coronatum* (fig. 14-D<sup>M</sup> y 14-D<sup>G</sup>), *F. mosseae* (fig. 14-F1<sup>G</sup> y 14-F2<sup>G</sup>), *Gl. aff. pustulatum* (fig. 14-G1<sup>G</sup> y 14-G2<sup>G</sup>), *Gl. spinuliferum* (fig. 14-H<sup>G</sup>), *Glomus sp. 1* (fig. 14-M<sup>M</sup>), *Glomus sp. 2* (fig. 14-N<sup>G</sup>), *Glomus sp. 3* (fig. 14-O<sup>M</sup>), *Glomus sp. 4* (fig. 14-P<sup>G</sup>), *Glomus sp. 5* (fig. 14-Q<sup>G</sup>), *Glomus sp. 6* (fig. 14-R<sup>G</sup>), *Glomus sp. 7* (fig. 14-S<sup>G</sup>) y *Rh. aff. diaphanum* (fig. 14-J<sup>G</sup>); todas ellas se encontraron en las muestras del bosque post-propagación; de estas sólo 2 se encontraron también previo a la propagación *Dom. aff. aurea* (fig. 14-A<sup>G</sup>) y *Dom. aff. minuta* (fig. 14-C<sup>G</sup>).

En las muestras de suelo de la granja se encontraron 15 morfo-tipos de ésta familia, pertenecientes a los siguientes géneros: 3 para el género *Dominikia (Dom.)*, 3 para el género *Funneliformis (F.)*, 7 para el género *Glomus (Gl.)* y 2 para el género *Rhizophagus (Rh.)*, de éstos solo 10 se identificaron hasta especie y se encontraron los siguientes: *Dom. aff. aurea* (fig. 14-A<sup>G</sup>), *Dom. disticha* (fig. 14-B<sup>M</sup>), *Dom. aff. minuta* (fig. 14-C<sup>G</sup>), *F. coronatum* (fig. 14-D<sup>M</sup> y 14-D<sup>G</sup>), *F. aff. geosporum* (fig. 14-E<sup>M</sup>), *F. mosseae* (fig. 14-F1<sup>G</sup> y 14-F2<sup>G</sup>), *Gl. aff. pustulatum* (fig. 14-G1<sup>G</sup> y 14-G2<sup>G</sup>), *Gl. spinuliferum* (fig. 14-H<sup>G</sup>), *Rh. aggregatus* (fig. 14-I<sup>G</sup>), *Rh. intraradices* (fig. 14-K<sup>M</sup>) y los morfo-tipos *Glomus sp. 1* (fig. 14-M<sup>M</sup>), *Glomus sp. 2* (fig. 14-N<sup>G</sup>), *Glomus sp. 6* (fig. 14-R<sup>G</sup>), *Glomus sp. 7* (fig. 14-S<sup>G</sup>) y *Glomus sp. 8* (fig. 14-T<sup>M</sup>); de éstos sólo 11 morfo-tipos se observaron post-propagación: *Dom. aff. aurea*, *Dom. disticha*, *Dom. aff. minuta*, *F. coronatum*, *F. aff. geosporum*, *F. mosseae*, *Rh. aggregatus*, *Rh. intraradices*, *Glomus sp. 1*, *Glomus sp. 2* y *Glomus sp. 8*; sólo 2 morfo-

tipos se encontraron tanto previo y posterior a la propagación: *F. coronatum* y *Rh. intraradices*; además aquellas que únicamente se observaron pre-propagación fueron 4: *Gl. aff. pustulatum*, *Gl. spinuliferum*, *Glomus* sp. 6 y *Glomus* sp. 7.

De la familia Glomeraceae, se destaca principalmente que los morfo-tipos encontrados tanto en las muestras de suelo del bosque como en las muestras de suelo de la granja post-propagación fueron 6: *Dom. aff. aurea* (fig. 14-A<sup>G</sup>), *Dom. aff. minuta* (fig. 14-C<sup>G</sup>), *F. coronatum* (fig. 14-D<sup>M</sup> y 14-D<sup>G</sup>), *F. mosseae* (fig. 14-F1<sup>G</sup> y 14-F2<sup>G</sup>), *Glomus* sp. 1 (fig. 14-M<sup>M</sup>) y *Glomus* sp. 2 (fig. 14-N<sup>G</sup>); los morfo-tipos que se observaron de manera exclusiva en los suelos de bosque fueron 5: *Rh. aff. diaphanum* (fig. 14-J<sup>G</sup>), *Dominikia* sp. (fig. 14-L<sup>M</sup>), *Glomus* sp. 3 (fig. 14-O<sup>M</sup>), *Glomus* sp. 4 (fig. 14-P<sup>G</sup>) y *Glomus* sp. 5 (fig. 14-Q<sup>G</sup>); los morfo-tipos que se observaron de manera exclusiva en las muestras de suelo de la granja fueron 5: *Dom. disticha* (fig. 14-B<sup>M</sup>), *F. aff. geosporum* (fig. 14-E<sup>M</sup>), *Rh. aggregatus* (fig. 14-I<sup>G</sup>), *Rh. intraradices* (fig. 14-K<sup>M</sup>) y *Glomus* sp. 8 (fig. 14-T<sup>M</sup>).

**Tabla 6.** Presencia de morfo-tipos de la familia Glomeraceae, géneros *Dominikia*, *Funneliformis*, *Glomus* y *Rhizophagus*, en las diferentes muestras de suelo.

Familia	Morfo-tipo	Bosque pre-propagación	Bosque post-propagación	Granja pre-propagación	Granja post-propagación
Glomeraceae	<i>Dominikia aff. aurea</i> Basionym: <i>Glomus aureum</i>	X	X		X
	<i>Dominikia disticha</i> (Błaszkowski, Chwat & Kovács)				X
	<i>Dominikia aff. minuta</i>	X	X		X
	<i>Funneliformis coronatum</i> (Walker & Schuessler)		X	X	X
	<i>Funneliformis aff. geosporum</i>				X
	<i>Funneliformis mosseae</i> (Walker & Schuessler)		X		X
	<i>Glomus aff. pustulatum</i>		X	X	

<i>Glomus spinuliferum</i> (Sieverding & Oehl)	X	X	
<i>Rhizophagus aggregatus</i> (Walker) Basionym: <i>Glomus aggregatum</i>			X
<i>Rhizophagus aff. diaphanum</i>	X		
<i>Rhizophagus intraradices</i> (Walker & Schuessler)		X	X
<i>Dominikia</i> sp.	X		
<i>Glomus</i> sp. 1	X		X
<i>Glomus</i> sp. 2	X		X
<i>Glomus</i> sp. 3	X		
<i>Glomus</i> sp. 4	X		
<i>Glomus</i> sp. 5	X		
<i>Glomus</i> sp. 6	X	X	
<i>Glomus</i> sp. 7	X	X	
<i>Glomus</i> sp. 8			X
Total	20	2	15
		15	6
			15



**A<sup>G</sup>.** *Dominikia aff. aurea* (100x)



**B<sup>M</sup>.** *Dominikia disticha* (100x)



**C<sup>G</sup>.** *Dominikia aff. minuta* (100x)



**D<sup>M</sup>.** *Funneliformis coronatum* (40x)



**D<sup>G</sup>.** *Funneliformis coronatum* (100x)



**E<sup>M</sup>.** *Funneliformis aff. geosporum* (100x)



**F1<sup>G</sup>.** *Funneliformis mosseae* (40x)



**F2<sup>G</sup>.** *Funneliformis mosseae* (100x)



**G1<sup>G</sup>.** *Glomus aff. pustulatum* (100x)



**G2<sup>G</sup>.** *Glomus aff. pustulatum* (100x)



**H<sup>G</sup>.** *Glomus spinuliferum* (40x)



**I<sup>G</sup>.** *Rhizophagus aggregatus* (100x)



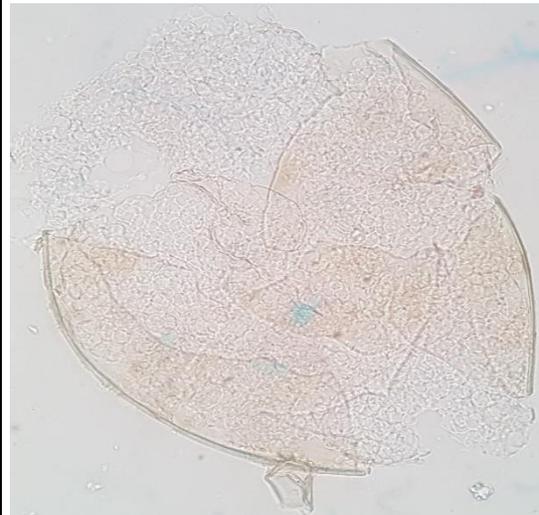
**J<sup>G</sup>.** *Rhizophagus aff. diaphanum* (40x)



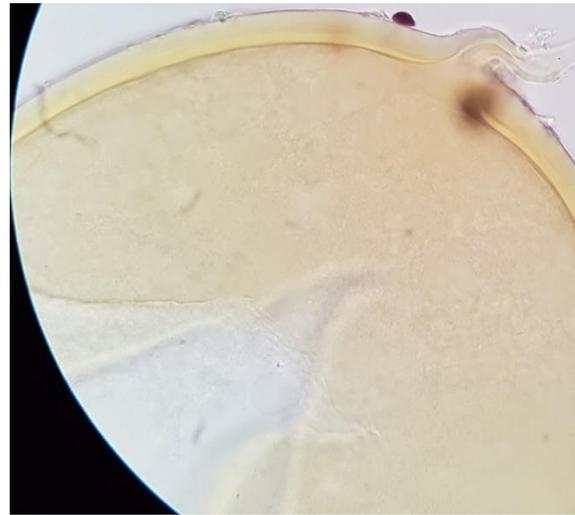
**K<sup>M</sup>.** *Rhizophagus intraradices* (100x)



**L<sup>M</sup>.** *Dominikia sp. 1* (100x)



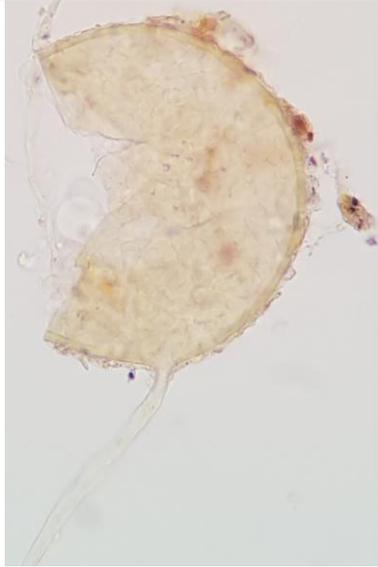
**M<sup>M</sup>.** *Glomus sp. 1* (40x)



**N<sup>G</sup>.** *Glomus sp. 2* (100x)



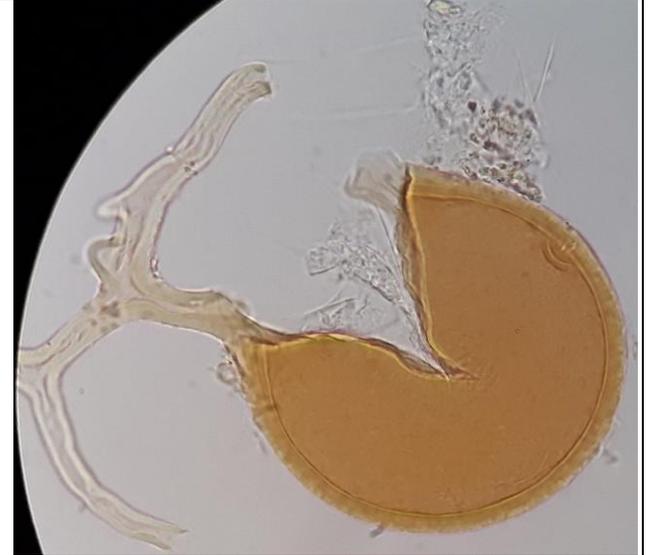
**O<sup>M</sup>.** *Glomus sp. 3* (100x)



**PG.** *Glomus* sp. 4 (40x)



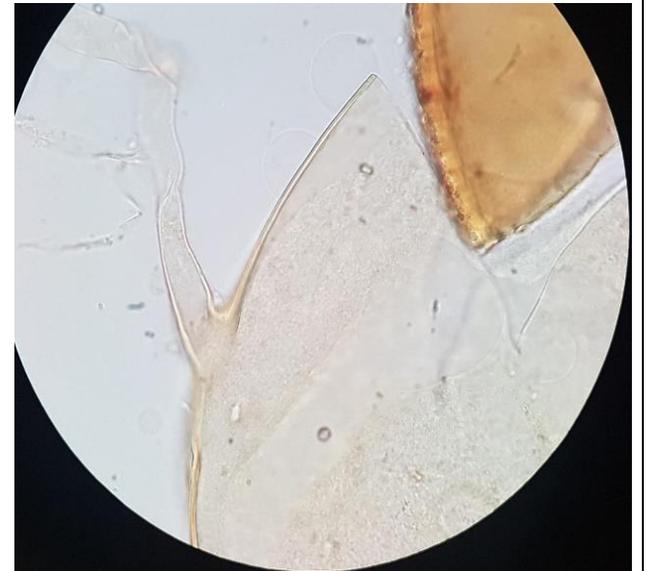
**QG.** *Glomus* sp. 5 (100x)



**RG.** *Glomus* sp. 6 (100x)



**SG.** *Glomus* sp. 7 (40x)



**TM.** *Glomus* sp. 8 (100x)

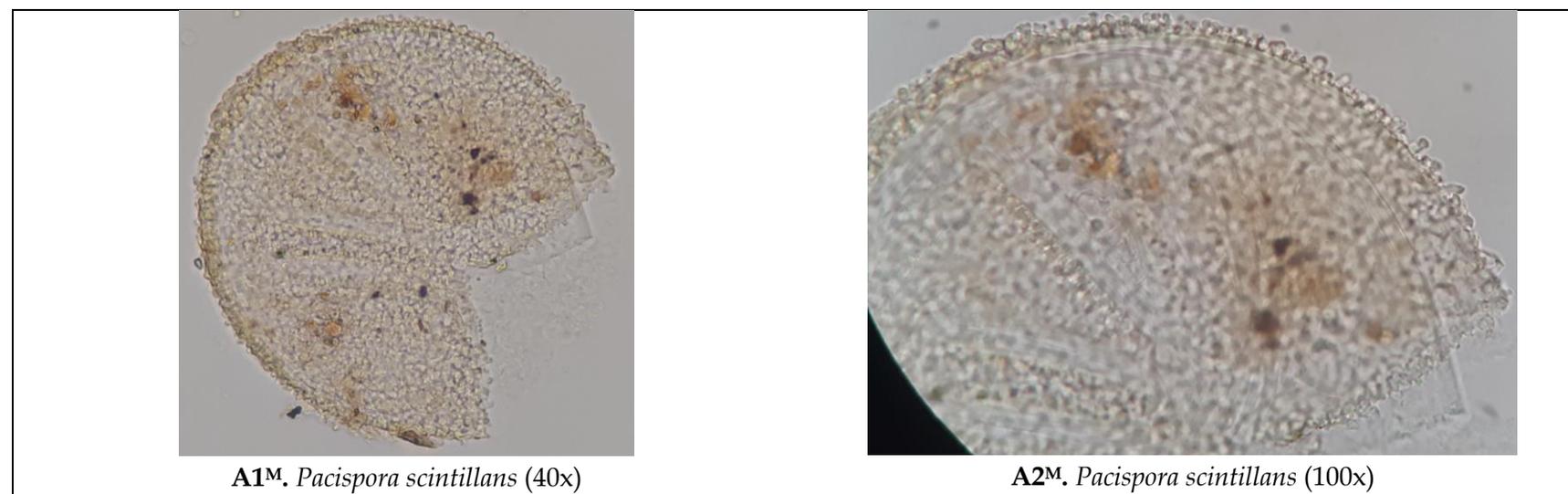
**Figura 14.** Esporas de HMA de la familia Glomeraceae, tomadas con el microscopio óptico empleando los objetivos 40x y 100x. Se indican con un superíndice “G” las imágenes tomadas en PVLG y con un superíndice “M” las imágenes obtenidas en reactivo de Melzer. En las figuras **A<sup>G</sup>** se muestra una imagen de *Dominikia aff. aurea*, se distingue por sus esporas generalmente ovoides, se observan los restos de su primera capa hialina, cercanos a la hifa y su capa intermedia laminada, además del engrosamiento en la base de la pared de la hifa. En la figura **B<sup>M</sup>** se observan un par de esporas de *Dominikia disticha* se aprecia su hifa de color hialino, así como la pared de la espora conformada por tres capas su primera capa que presenta reacción al Melzer color rosáceo. En la figura **C<sup>G</sup>** se observan varias esporas de *Dominikia aff. minuta* dentro de un *Glomus sp.* se caracterizan por ser esporas muy pequeñas hialinas con paredes conformadas por dos capas muy delgadas y poco perceptibles, se indica que es común ser observadas en esporocarpos laxos dentro de los restos de otras esporas de HMA muertas. En la figura **D<sup>M</sup>** se muestra una espora de *Funneliformis coronatum* se observa que no posee su primera capa la cual es de carácter evanescente, lo cual indica que posiblemente se trata de una espora madura, sin embargo, en la figura **D<sup>G</sup>** se observa otra espora de *F. coronatum* que muestra los restos de una primera capa evanescente seguida de su segunda capa laminada, así como un septo formado por algunas de las subcapas de la segunda capa laminada. En la figura **E<sup>M</sup>** se observa un acercamiento a la hifa de una espora de *Funneliformis aff. geosporum* se observa su hifa recta que permanece de un color amarillento hialino, mientras que la pared de la espora se torna de un color pardónaranja. En las figuras **F1<sup>G</sup>** y **F2<sup>G</sup>** se muestran dos esporas de *Funneliformis mosseae* en ambas imágenes se aprecian las esporas de color amarillento y sus tres capas que conforman su pared, la primera capa granular casi desaparecida, lo cual indica que ambas esporas ya son maduras, seguidas por una segunda capa laminada y una tercera capa flexible la cual forma un septo en su hifa que es de color ligeramente hialino. En las figuras **G1<sup>G</sup>** se observa una espora abierta de *Glomus aff. pustulatum* se distingue principalmente por la ornamentación de la primera capa en forma de ampollas circulares, elípticas a irregulares en vista plana y en la figura **G2<sup>G</sup>** se observa una espora intacta, en ninguna se logra observar la hifa la cual es pequeña y de pared delgada. En la figura **H<sup>G</sup>** se observa una espora de *Glomus spinuliferum* se distingue una primera capa hialina, seguida de su distintiva segunda capa laminada y ornamentada por pequeñas proyecciones en forma de espinas abundantes que dejan de aparecer a altura de su hifa. En la figura **I<sup>G</sup>** se observa una espora de *Rhizophagus aggregatus* la cual posee una pared de dos capas similares en tamaño las cuales se continúan con la pared de la hifa. En la figura **J<sup>G</sup>** se muestra una espora de *Rhizophagus aff. diaphanum* se distingue su color completamente hialino, la primera capa evanescente mucilaginoso, y su segunda capa lisa, laminada. En la figura **K<sup>M</sup>** se observan dos esporas juveniles de *Rhizophagus intraradices*, distinguidas por su primera capa que reacciona al reactivo de Melzer la cual se desprende conforme la espora madura, su segunda capa semiflexible hialina y gruesa, finalmente una tercera capa interna que, en esporas juveniles suele consistir de una sola subcapa, llegando a presentar hasta 20 subcapas según madura la espora, las cuales generalmente se separan entre sí al aplicar la fuerza suficiente, en este caso como se trata de una espora juvenil, se distinguen pocas subcapas de la tercera capa. En la figura **L<sup>M</sup>** se distinguen varias esporas que como en el caso de *D. aff. minuta* se encuentran dentro de otra espora, sin embargo, éstas son considerablemente de menor tamaño y se encuentran en mayor número por lo cual solo se las ubica dentro del género *Dominikia*, sin especificar la especie. En las figuras **M-T** se observan varias esporas pertenecientes a la familia Glomeraceae debido a que comparten como características comunes la presencia de hifa y que no poseen capas germinales al interior de la espora.

En la tabla 7 se muestra el listado de los morfo-tipos de HMA perteneciente a la familia Pacisporaceae, del género *Pacispora*, se indica con una “X” la presencia de los morfo-tipos para cada condición analizada, de ésta se destaca 1 morfo-tipo: *Pacispora*

*scintillans* (fig. 15-A1<sup>M</sup> y 15-A2<sup>M</sup>) ésta sólo se observó en las muestras de suelos previos a la propagación del bosque y de la granja.

**Tabla 7.** Presencia de morfo-tipos de la familia Pacisporaceae, género *Pacispora*, en las diferentes muestras de suelo.

Familia	Morfo-tipo	Morfo-tipo	Bosque pre-propagación	Bosque post-propagación	Granja pre-propagación	Granja post-propagación
Pacisporaceae	<i>Pacispora scintillans</i> (Walker, Vestberg & Schuessler)	50	X		X	
Total	1		1	0	1	0
				1		1

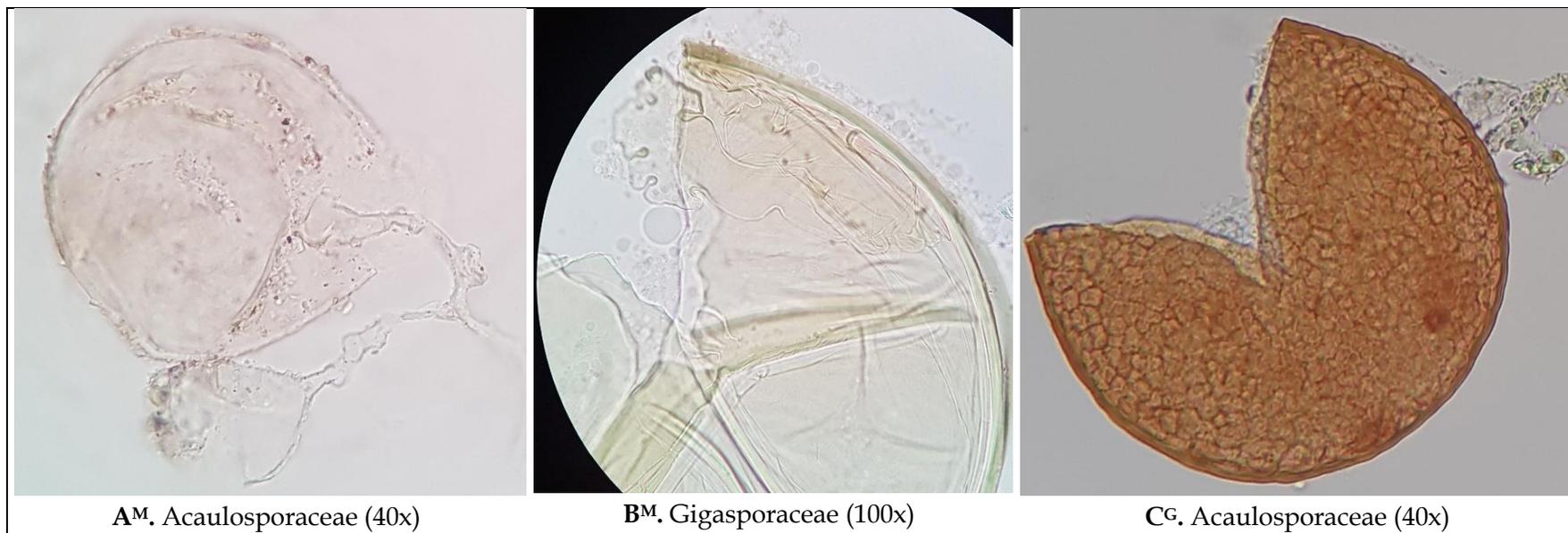


**Figura 15.** Espora de HMA de la familia Pacisporaceae, tomadas con el microscopio óptico empleando los objetivos 40x y 100x. Se indican con un superíndice “M” las imágenes obtenidas en reactivo de Melzer. En la figura **A1<sup>M</sup>** se observa una imagen de una espora de *Pacispora scintillans* completa en 40x en esta se distinguen su ornamentación de la primer capa de la pared de la espora, además se distingue su pared germinal parcialmente separada de la pared de la espora; en la figura **A2<sup>M</sup>** se observa la misma espora en 100x, en esta imagen se aprecia a detalle la ornamentación de la espora la cual presenta protuberancias con una ligera reducción en la anchura de la parte media de la protuberancia, además se observan varias de las capas de la pared de la espora y de su pared germinal.

En la tabla 8 se muestra el listado de las esporas no identificadas pero que poseen características que las ubican como posibles esporas de HMA del orden Diversisporales, principalmente debido al número y disposición de sus capas, además de su tamaño aparente, se indica con una "X" la presencia de los morfo-tipos para cada condición analizada, además en la figura 16 se observan los registros fotográficos de cada una.

**Tabla 8.** Presencia de esporas de HMA sin identificar, en las diferentes muestras de suelo.

Orden	Familia	Morfo-tipo	Bosque pre-propagación	Bosque post-propagación	Granja pre-propagación	Granja post-propagación
Diversisporales	Acaulosporaceae	11		X	X	X
	Pacisporaceae o Gigasporaceae	23		X		
	Acaulosporaceae	43			X	X
Total	3		0	2	2	2



**Figura 16.** Esporas de HMA sin identificar, tomadas con el microscopio óptico empleando los objetivos 40x y 100x. Se indican con un superíndice “G” las imágenes tomadas en PVLG y con un superíndice “M” las imágenes obtenidas en reactivo de Melzer. En la figura A<sup>M</sup> se muestra una espora (arriba) en desarrollo junto a un presumible sáculo esporífero (abajo), unidas por una hifa la cual es similar a lo que se observa en especies de Acaulosporaceae. En la figura B<sup>M</sup> se observa una espora amarillenta sin hifa, sin embargo, presenta lo que parece un escudo de germinación como lo que se observa en especies de *Scutellospora*, perteneciente a la familia Gigasporaceae, sin embargo, podría confundirse con un orbe de germinación como los que presentan algunas especies del género *Pacispora*, perteneciente a la familia Pacisporaceae. En la figura C<sup>G</sup> se muestra una espora de color pardo-naranja, no presenta hifa y debido a su estructura interna aparentemente ornamentada dificulta la observación de la presencia de cicatriz, lo cual la ubica como una espora que presumiblemente pertenece a la familia Acaulosporaceae.

## 6.5. Propiedades físicas

- **Textura del suelo**

Se muestran los porcentajes de arcillas, limos y arenas calculados para los suelos de las zonas de estudio, en la última columna se observa la clase textural determinada con ayuda del triángulo de texturas (tabla 9).

**Tabla 9.** Clase textural de las muestras de suelo del bosque y la granja.

Zona de estudio	% arcilla	% limo	% arena	Clase textural
Bosque	2.80	14.64	82.56	Areno-franca
Granja	13.26	10.54	76.20	Franco-arenosa

- **Densidad aparente**

Se observan los datos obtenidos de la determinación de la densidad aparente, en los suelos del bosque se obtuvo un valor promedio de 0.665 g/cm<sup>3</sup>, mientras que en los suelos de la granja se obtuvo un promedio de 1.077 g/cm<sup>3</sup> (figura 17).

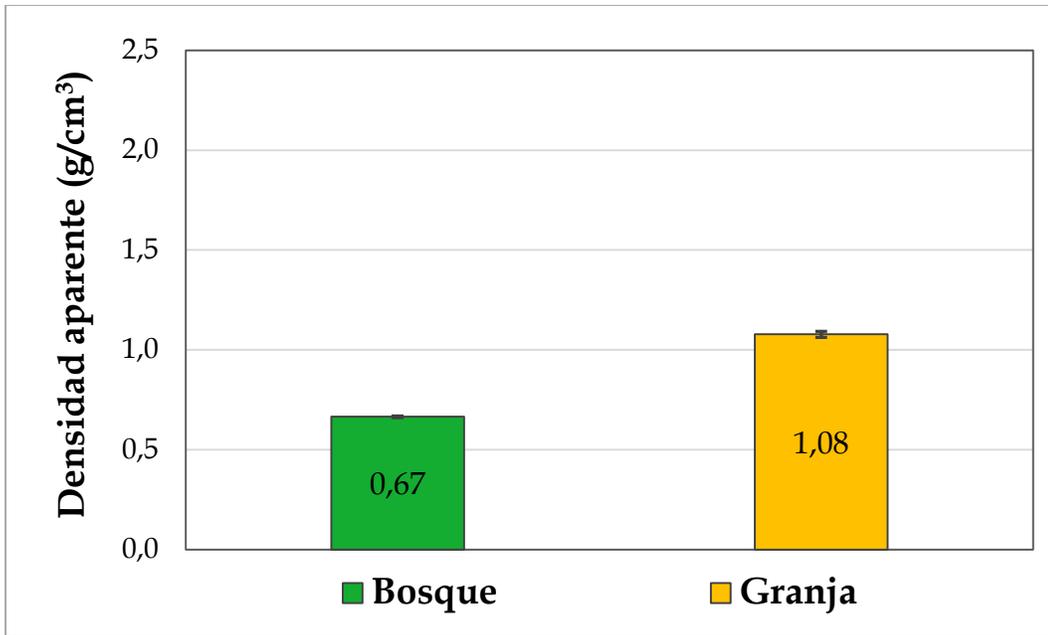


Figura 17. Densidad aparente en las muestras de suelo del bosque y la granja (+/- Desviación Estándar).

- **Densidad real**

Se observan los datos obtenidos de la determinación de densidad real, en los suelos de bosque se obtuvo un valor promedio de 1.449 g/cm<sup>3</sup>, mientras que en los suelos de la granja se obtuvo un promedio de 2.318 g/cm<sup>3</sup> (figura 18).

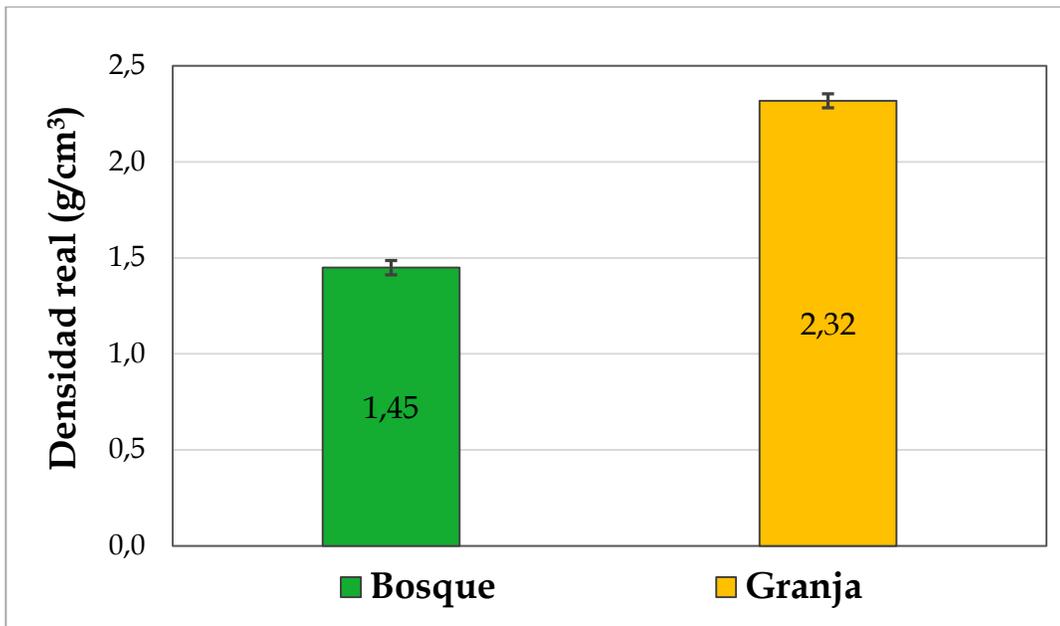
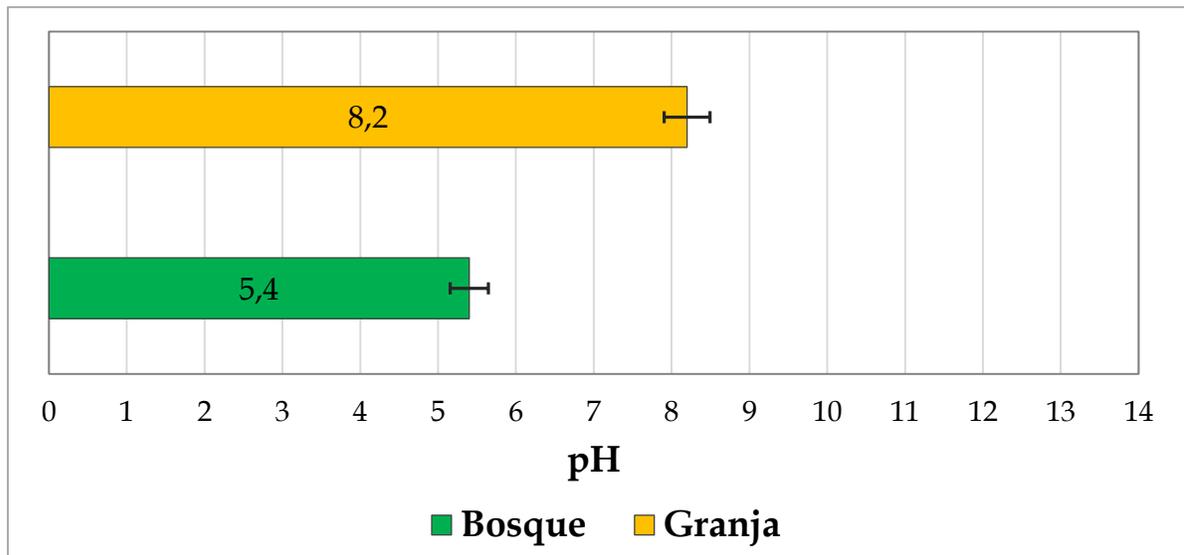


Figura 18. Densidad real en las muestras de suelo del bosque y la granja.

## 6.6. Propiedades químicas

- Evaluación de pH

Se observan los pH obtenidos de las zonas de estudio ubicándolos en el espectro de pH, los suelos del bosque "Agua Escondida" registraron un pH de 5.4, mientras que los suelos de la granja ecológica "Dos puertas" se observó un pH de 8.2 (figura 19).



**Figura 19.** pH obtenido en las muestras de suelo del bosque y la granja, comparados en una escala de pH (+/- D. E.).

- Evaluación de la conductividad eléctrica (Salinidad)

Se observan los datos obtenidos de la conductividad eléctrica en decisiemens por metro (dS/m) a una temperatura de 25 °C, mientras en el bosque se obtuvieron 0.096 dS/m en la granja se obtuvo 0.333 dS/m (figura 20).

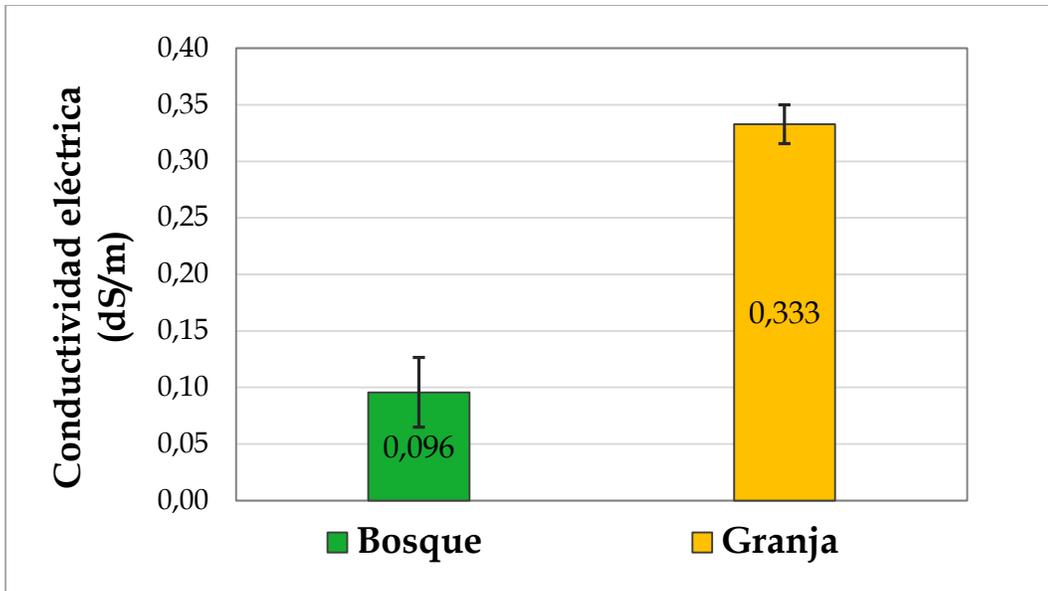


Figura 20. Conductividad eléctrica presente en las muestras de suelo del bosque y la granja a una temperatura de 25 °C (+/- D. E.).

- **Contenido de materia orgánica**

Se observan los datos obtenidos de la determinación de materia orgánica del suelo, se observa un 9.01 % de materia orgánica en los suelos del bosque, esto indica que, por cada kilogramo de suelo, 90.1 gramos son de materia orgánica, de igual manera se observa un 6.13 % de materia orgánica en la zona de estudio de la granja, lo que indica que, por cada kilogramo de suelo, 61.3 gramos son de materia orgánica (figura 21).

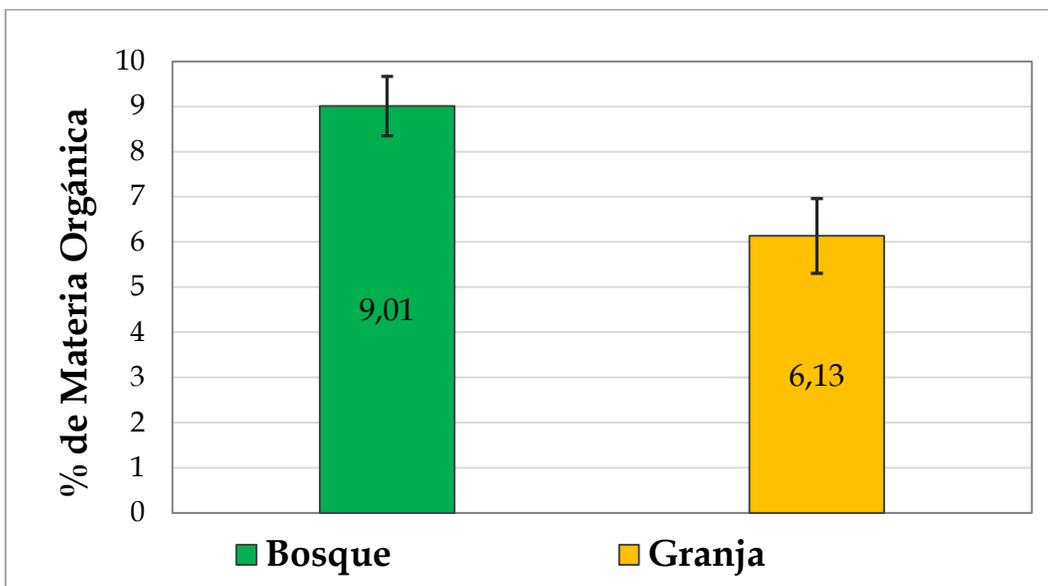
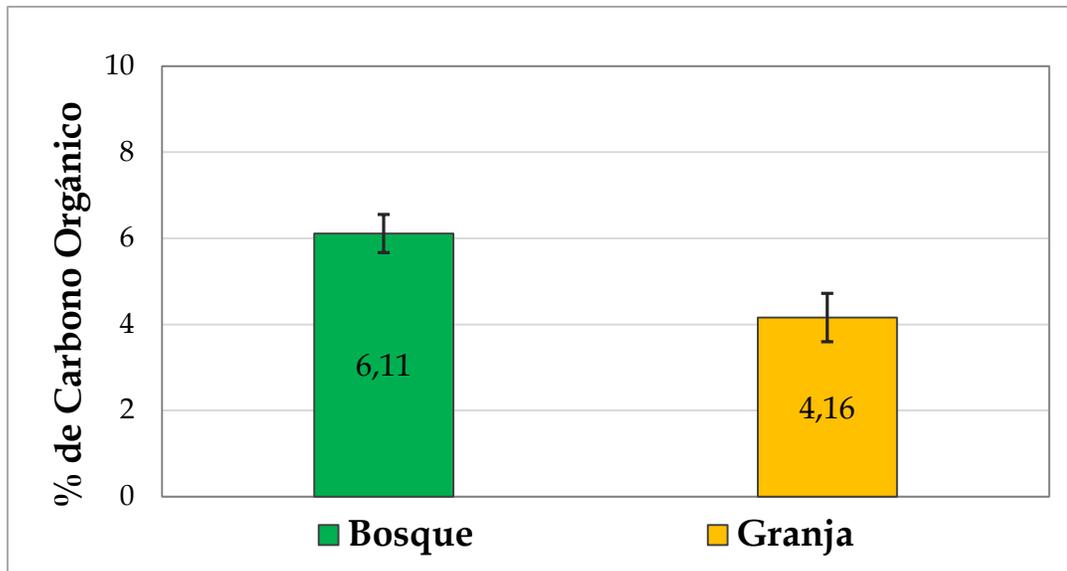


Figura 21. Porcentaje de materia orgánica en las muestras de suelo del bosque y la granja (+/- D. E.).

- **Contenido de carbono orgánico**

De acuerdo con la NOM-021 RECNAT (2002) el 67.8 % de la materia orgánica presente, es carbono orgánico aprovechable como macronutriente, se observa que en la zona de estudio del bosque se obtuvo un 6.11 % de carbono orgánico esto indica que por cada kilogramo de suelo del bosque se tienen 61.1 gramos de carbono orgánico, mientras que en la granja se obtuvo un 4.16 % de carbono orgánico lo que indica que por cada kilogramo de suelo solo se tienen 41.6 gramos de carbono orgánico como macronutriente en el suelo (figura 22).



**Figura 22.** Porcentajes de carbono orgánico como macronutriente disponible en las muestras de suelo del bosque y la granja (+/- D. E.).

- **Contenido de fósforo disponible**

Se observa el contenido de fósforo disponible en el suelo, para las muestras de suelo del bosque se obtuvo un promedio de 6.36 miligramos de fósforo disponible como macronutriente por kilogramo de suelo, mientras que para las muestras de suelo de la granja se obtuvo un promedio de 2.89 miligramos de fósforo disponible como macronutriente por kilogramo de suelo (figura 23).

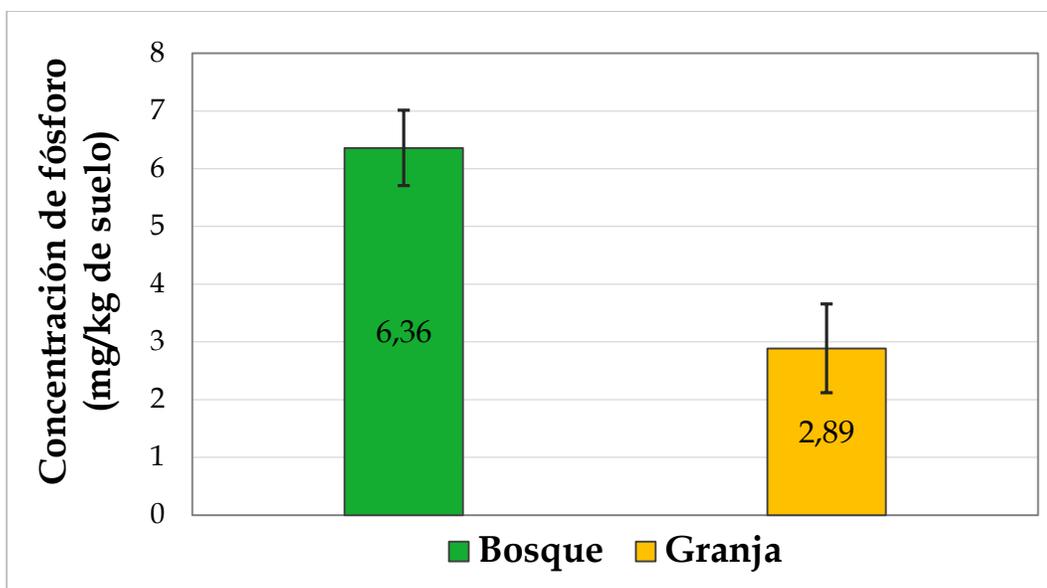


Figura 23. Concentración de fósforo en las muestras de suelo del bosque y la granja (+/- D. E.).

Tabla 10. Resumen de resultados.

Resumen de resultados						
Abundancia inicial de esporas (por muestreo)	Agosto		Noviembre		Febrero	
	Bosque	Granja	Bosque	Granja	Bosque	Granja
	2218	1120	1546	474	1180	722
Abundancia de esporas (al 80 % de la muestra)	Bosque		Granja			
	Pre-propagación	Post-propagación	Pre-propagación	Post-propagación		
	2163	2998	1093	1922		
Riqueza de morfo-tipos	Bosque		Granja			
	Pre-propagación	Post-propagación	Pre-propagación	Post-propagación		
	17	36	24	24		
Riqueza de morfo-tipos (Total)	Bosque		Granja			
	42		36			
Familias con mayor riqueza	Glomeraceae	Acaulosporaceae	Ambisporaceae	Claroideoglomeraceae	Diversisporaceae	Entrophosporaceae
	40 %	28 %	6 %	6 %	6 %	4 %
<b>Nota:</b>	Se consiguió la aproximación en la determinación por especie del 64 % de los morfo-tipos de HMA observados.					

<b>Propiedades del suelo</b>	<b>Bosque</b>	<b>Granja</b>
<b>Textura del suelo</b>	Areno-franca	Franco-arenosa
<b>Densidad aparente (g/cm<sup>3</sup>)</b>	0.67	1.08
<b>Densidad real (g/cm<sup>3</sup>)</b>	1.45	2.32
<b>pH</b>	5.4	8.2
<b>Conductividad eléctrica (dS/m)</b>	0.096	0.333
<b>% de Materia Orgánica</b>	9.01	6.13
<b>% de Carbono Orgánico</b>	6.11	4.16
<b>Fosforo disponible (mg/kg de suelo)</b>	6.36	2.89

## 7. Discusión de resultados

### 7.1. Abundancia inicial de esporas de HMA

La abundancia inicial de las muestras de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) obtenida, de 2163 esporas en 100 g de suelo seco para el bosque templado (figura 5), el cual se ubica a una altitud de 2410 msnm, fue equivalente al 66.43 % de la abundancia total inicial, contra las 1093 esporas en 100 g de suelo seco de HMA obtenidas en la granja ecológica (fig. 6), equivalentes al 33.57 % de la abundancia total inicial, ésta última se ubica a una altitud de 1246 msnm, presentando así una diferencia del 32.86 % comparado con el total de la abundancia inicial obtenida de ambas zonas de estudio, ésta diferencia equivale a 1070 esporas en la granja ecológica “Dos Puertas” menos que en el bosque templado “Agua Escondida” lo que muestra una aparente relación con la altitud tal y como lo mencionó Álvarez *et al.* (2009).

Sin embargo, en trabajos similares se reporta que en México se encuentran números muy inferiores a 1000 esporas en 100 g de suelo seco en regiones salinas en la Ciudad de México (2238 msnm), áridas en el estado de Coahuila (858 msnm), semiáridas en el estado de Hidalgo (2600 msnm) y en cultivos en el estado de Tabasco (30 msnm) (Campos, 2018; García Coronado y Montaña, 2015; Osorio, Castelán, Gómez, Salgado y Hernández, 2013; Reséndiz, 2013; Rivas, 2012; Salgado, Castelán, Jiménez, Gómez y Osorio, 2014), en otros trabajos se reportan cantidades que van de las 1100 a las 2300 esporas de HMA, realizados en selvas en el estado de Chiapas (200 msnm) y en bosque mesófilo de montaña (1760 msnm) cercanos y en conjunto con zonas semiáridas (1835 msnm) en el estado de Oaxaca (Álvarez, Sánchez, Hernández, Hernández y Meli, 2017; Bautista, Montaña, Camargo y Pacheco, 2014; Bertolini *et al.*, 2017). Finalmente se han reportado números de esporas de HMA, que van desde las 3200 esporas a las 5000 esporas en 100 g de suelo seco en un bosque seco tropical en Colombia (120 msnm) y en un bosque mesófilo de montaña en el estado de Veracruz (1250 msnm) respectivamente (Lara *et al.*, 2014; Rodríguez, Navarro, Arboleda, Valencia y Valle, 2015). Cabe mencionar que los trabajos anteriormente citados no presentan una relación entre la abundancia de esporas de HMA con la altitud, como se observó en el presente trabajo, por lo que no es posible establecer una relación tangible con este factor como lo hicieron Álvarez *et al.* (2009).

Bagyaraj y Stürmer (2012) mencionan que la conversión de los ecosistemas naturales para distintos usos de suelo influye en la abundancia de esporas y composición de especies de HMA, tal y como se observó en el presente trabajo. Además, Álvarez *et al.* (2009), mencionan que las comunidades de HMA se ven influenciadas positivamente por las condiciones y recursos de los diferentes tipos de vegetación, tal y como se observó al comparar éste estudio

con los mencionados en el párrafo anterior, apoyando que el número de esporas encontrado en el presente trabajo, no es demasiado bajo ni demasiado elevado dadas las condiciones del suelo y tipo de cobertura vegetal referenciadas.

La abundancia inicial de esporas de HMA que se obtuvo de los primeros muestreos realizados en los meses de agosto, noviembre y febrero, mostró un elevado número de esporas en el mes de agosto con una tendencia clara a disminuir sus números hacia el mes de febrero (fig. 4), esto pudo verse parcialmente influenciado por diversos factores, algunos autores proponen que la esporulación se ve afectada por la variación en las temporadas cálidas y frías, favoreciendo la diferencia en la proporción de esporas de distintas especies de HMA de acuerdo con la temporada (Pringle y Bever, 2002), en relación con lo anterior, otros autores reportan diferentes resultados sobre la influencia que presentan respecto a la temporada de lluvias y sequía, algunos han encontrado mayor abundancia de esporas de HMA en los meses de la temporada seca en regiones mezcaleras de Michoacán (Trinidad, Quiñones, Hernández, López y Rincón, 2017), mientras que otros autores muestran, una relación positiva entre la abundancia de esporas de HMA con los meses de mayor precipitación pluvial en bosque mesófilo, matorral xerófilo, sabana, bosque seco tropical, bosques mixtos (caducifolios y perennes) y desiertos (Bautista *et al.* 2014; Lovera y Cuenca, 2007; Rodríguez *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2011) mostrando una relación similar a lo encontrado en el presente trabajo (fig. 4).

Los factores físico-químicos del suelo analizados que de acuerdo con la interpretación dada por la NOM-021 RECNAT (2002), como la salinidad estimada a partir de la conductividad eléctrica (fig. 20), presentó efectos despreciables en ambas zonas de estudio, el contenido de materia orgánica (fig. 21), exhibió un contenido medio en ambas zonas de estudio debido a que se trabajó en suelos de origen volcánico, además, el contenido de fósforo disponible (fig. 23) mostró baja disponibilidad de fósforo en ambas zonas de estudio, por lo que estas propiedades no mostraron de manera individual una influencia clara con la abundancia de esporas de HMA al compararlos con los trabajos similares anteriormente citados, además, esto mismo ya ha sido mencionado por varios autores (Del Mar, Pilar, Montesinos y Roldán 2016; Trinidad *et al.*, 2017). Por otra parte, también se ha mencionado que estos factores si afectan a la supervivencia del hongo y tienen relación con algunas características presentadas por sus esporas, por ejemplo, el estrés salino inhibe significativamente la colonización micorrízica, retrasa la germinación de las esporas y disminuye la extensión total de las hifas (Xueming, Zhenping, Yu, Huanshi y Pei, 2014).

La textura (tabla 9) y el pH (fig. 19), por otra parte, muestran una mayor relación con los HMA y la abundancia de sus esporas. Para la textura, por ejemplo, se observaron suelos

areno-francos en el bosque “Agua Escondida” con un mayor aporte de arenas que en la granja ecológica “Dos Puertas” (tab. 9), lo cual de acuerdo con Andrades y Martínez (2014), indica que retiene poca humedad y posee baja fertilidad en el suelo requiriendo mayores aportes de elementos orgánicos e inorgánicos probablemente proporcionados por los HMA, mientras que en la granja donde se observó menor abundancia de esporas de HMA, se registraron suelos franco-arenosos los cuales poseen un ligero mayor aporte de arcillas que en los suelos del bosque, esto provee al suelo de una mejor retención de nutrimentos y agua, lo cual puede limitar la necesidad de HMA por parte de las plantas, además, puede explicar parcialmente la diferencia en la abundancia de esporas obtenida en las zonas de estudio, considerando el suelo del bosque “Agua Escondida” como un suelo que no retiene ni los nutrimentos ni el agua con facilidad, por lo cual éste puede necesitar una red más extensa de hongos, evidenciada por la mayor abundancia de esporas presente en ésta zona de estudio (fig. 4 y 5).

En cuanto al pH, se ha observado una disminución en el rendimiento de las plantas de chíá (*Salvia hispanica* L.) micorrizadas, por debajo de las no micorrizadas en suelos ácidos (Ouzounidou *et al.*, 2015), también en el presente trabajo dónde, en el bosque se observaron suelos moderadamente ácidos mientras que en la granja se registraron como medianamente alcalinos (fig. 19) de acuerdo con la NOM-021 RECNAT (2002), al compararlo con los resultados de los trabajos similares anteriormente citados, se observa una relación con tendencia negativa entre el pH y la abundancia de esporas, dónde a mayor alcalinidad se ha observado una menor abundancia de esporas, sin embargo, dado que ésta relación se ve afectada por otros factores del suelo como la salinidad, la cantidad de materia orgánica y humus (Yang *et al.*, 2011), no se observa como una relación estrecha.

La FAO (1996 y 2018), por otra parte, menciona que cuando en un suelo disminuye la vegetación, también se disminuye el aporte de materia orgánica, la actividad microbiana y la densidad de las raíces con las cuales se asocia el hongo y que ayudan a sujetar el suelo, esto ocurre en regiones tanto cálidas como con suelos arenosos. De igual manera se ha observado en zonas agrícolas con prácticas de gestión insostenibles, como el riego excesivo que produce carbono orgánico disuelto, en las cuales se pone en peligro los suelos causando una pérdida del carbono orgánico. La pérdida de carbono, también se debe a exudados radiculares como el ácido oxálico, como parte del material de erosión, la descomposición o mineralización de los compuestos orgánicos como los hidrocarburos, acetatos, oxalatos, sales de benceno, entre otros (FAO, 2017).

La pérdida del carbono además de la erosión y la salinización conforman las amenazas más importantes para los suelos de América Latina y el Caribe (FAO, 2015), ésta afectación

conlleva a una pérdida en la porosidad y la estructura del suelo, la cual se relaciona estrechamente con la textura y el contenido de materia orgánica, ésta pérdida conlleva a la erosión de los suelos en zonas denudadas, áridas, semiáridas y agrícolas, además, se debe comprender que la densidad del suelo aumenta en suelos denudados, arenosos y en general conforme aumenta la profundidad del muestreo en cualquier tipo de suelo (Chaudhari, Ahire, Ahire, Chkravarty y Maity, 2013). Además, Oehl *et al.* (2005), Lovera y Cuenca (2007), reportan que a mayor profundidad en el suelo, el número de esporas tiende a disminuir, esto puede reforzar la idea de una posible relación negativa entre la abundancia de esporas de HMA con la densidad del suelo y positiva con relación a la vegetación, como se observó en el presente trabajo donde en el bosque se obtuvo una mayor abundancia de esporas de HMA siendo que éste presentó, de acuerdo con Muñoz *et al.* (2015), una densidad aparente muy baja (así como una densidad real muy baja), mientras que en la granja se obtuvo una menor abundancia de esporas de HMA teniendo una densidad aparente media (con densidad real baja), comparando lo anterior obtenido con relación a lo reportado en los trabajos de Lara *et al.* (2014), Álvarez *et al.* (2017) y Rivas (2012), en los cuales también se realizó este análisis en el suelo mostrando resultados similares, se observa una relación negativa entre la densidad del suelo y el número de esporas, es decir, que a mayor compactación del suelo (mayor densidad del suelo) y menor abundancia de esporas de HMA.

Hay autores que indican que la liberación de metabolitos secundarios exudados por las raíces de las plantas, han mostrado favorecer tanto la asociación como la esporulación del hongo, entre ellos se han reconocido algunos flavonoides como la formononetina y la biocanina A, así como flavonoles como la quercetina, kaempferol y miricetina (Davies, Calderón, Huaman y Gómez, 2005; Pérez, Botero y Cepero, 2012; García, 2014); también se ha reportado que el elevado nivel de fósforo disponible en el suelo, debido al uso de fertilizantes, disminuye la producción de esporas de HMA, así como la infectividad de éstos hongos al disminuir la liberación de los exudados de la planta, con lo que se reduce la señalización que permite la asociación micorrízica con las esporas del hongo (Ouzounidou *et al.*, 2015; Shukla, Kumar, Jha, Ajit y Rao, 2012).

Álvarez *et al.* (2009), Bertolini *et al.* (2017), además de Lovera y Cuenca (2007), proponen que a menor grado de perturbación, los hongos se ven favorecidos, posiblemente debido a que en estos ecosistemas, dominan las especies de hongos mejor adaptadas y más competitivas, ésta característica también se observó en el presente trabajo, en dónde se mostró una importante diferencia en la abundancia de esporas que se encontraron en el suelo de las zonas de estudio, presumiblemente debido al grado presente de perturbación en la granja ecológica “Dos Puertas” que aunque es menor al grado presentado en granjas agrícolas con mayor uso tecnológico, sigue siendo una mayor perturbación a la presente en el bosque

“Agua Escondida”. Además, la elevada riqueza de morfo-tipos compartida sugiere que no se habla de comunidades ajenas de hongos, a pesar de que en la granja se cultivan especies de plantas medicinales introducidas (preferentemente europeas), asimismo, la competencia mostrada del hongo por las raíces de las plantas en el bosque, es más dinámica dado que las plantas se encuentran diseminadas en el suelo, mientras que en la granja se encuentran limitadas por la especie de planta que se cultiva en cada maceta, limitando la competencia por los recursos, lo cual puede explicar parcialmente la menor abundancia y riqueza de HMA encontrada en la granja (Mathimaran *et al.*, 2007).

## 7.2. Riqueza de morfo-tipos de HMA

En el presente trabajo se reconocieron en total 50 morfo-tipos, de los cuales la familia Glomeraceae mostró la mayor riqueza con 20 morfo-tipos (tab. 6, fig. 14), lo cual es consistente con lo mencionado en los trabajos de Álvarez *et al.* (2017), Bautista *et al.* (2014), Campos (2018), Carreón *et al.* (2013), García *et al.* (2015), Osorio *et al.* (2013), Reséndiz (2013), Rivas (2012) y Rodríguez *et al.* (2015), seguida por la familia Acaulosporaceae (fig. 8) con 14 morfo-tipos (tab. 1, fig. 9), el resto de las familias exhibieron un máximo de 3 morfo-tipos por familia, esta proporción de dominancia de dos o tres familias es aparentemente común en las comunidades de HMA.

En el bosque se presentaron 42 de los morfo-tipos reconocidos (fig. 7), mostrando aparentemente una elevada riqueza si es comparada con la riqueza presente en otros bosques (Bautista *et al.*, 2014; Lara *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2015), los morfo-tipos exclusivos para el bosque fueron: *Acaulospora bireticulata*, *Ac. minuta*, *Ac. paulinae*, *Ac. soloidea*, *Claroideoglomus drummondii*, *Diversispora aff. trimurales*, *Entrophospora aff. nevadensis*, *Rhizophagus aff. diaphanum*, *Dominikia sp.*, *Glomus sp. 3*, *Glomus sp. 4*, *Glomus sp. 5* y *Ambispora sp. 3*, además de un morfo-tipo sin familia reconocida, ésta diferencia corresponde al 28 % de la riqueza total obtenida. Barea *et al.* (2011), Johnson *et al.* (2003) y Mathimaran *et al.* (2007), reportan que la diversidad de HMA, se relaciona con la composición de las plantas presentes en el medio, con lo cual se podría explicar que el 28 % de la riqueza de HMA se debe a la variación en la diversidad de las plantas en el bosque.

Autores como Barrer (2009) por otra parte, mencionan que el uso de HMA en la agricultura contribuye a mejorar el nivel nutricional de las plantas, en el presente trabajo la granja ecológica “Dos Puertas” presentó solamente 36 de los morfo-tipos (fig. 7), que es una elevada riqueza si se compara con la riqueza presente en otros sistemas de cultivos, los cuales reportan no más de 20 morfo-tipos (Bertolini *et al.*, 2017; Campos, 2018; García *et al.*, 2015; Lara *et al.*, 2014; Osorio *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2015), además, presentó los morfo-tipos exclusivos: *Racocetra aff. castanea*, *Funneliformis aff. geosporum*, *Dominikia disticha*, *Rhizophagus*

*aggregatus*, *Rhizophagus intraradices*, *Acaulospora* sp. 3 y *Glomus* sp. 8., además de un morfotipo sin familia reconocida, esta diferencia corresponde únicamente al 16 % de la riqueza total encontrada.

En otros trabajos ya se ha reportado una disminución en la riqueza de especies de HMA, con el aumento del nivel tecnológico empleado en cultivos (Trejo *et al.*, 2011), asimismo, se menciona que las prácticas de manejo, como la cosecha y el trasplante, pueden ser causantes de la disminución en la riqueza de HMA como se menciona en Álvarez *et al.* (2017), Blanco, Salas (1997) y Carreón *et al.* (2013), esto podría explicar la pérdida de los morfo-tipos de HMA que no fueron observados en la granja, además, la diferencia relativamente baja de morfo-tipos (fig. 7) puede ser explicada si se considera que en la granja no se tienen prácticas de manejo muy intensas, dado el carácter ecológico que se practica en la misma (Soussana *et al.*, 2017).

Álvarez *et al.* (2009) señalan que las comunidades de HMA poseen mayor riqueza en condiciones naturales, que lo reportado para consorcios y comunidades propagadas en condiciones de laboratorio y vivero; aunque esto puede ser cierto debido a la pérdida que se da durante el traslado de las muestras al laboratorio. En éste y otros trabajos se ha observado un incremento en la expresión de morfo-tipos tras darse la propagación de HMA en ambientes controlados (Chimal, García y Hernandez, 2015; Stutz y Morton, 1996) y dado que no muchos trabajos llevan a cabo la propagación de esporas de HMA, aún no hay datos suficientes que puedan avalar ésta misma idea, señalada también por Álvarez *et al.* (2009).

### **7.3. Propagación de esporas de HMA**

Se ha mostrado que la perturbación de comunidades vegetales fuertemente colonizadas por hongos micorrízicos en general conduce a una secuencia sucesional en la cual la recolonización vegetal es iniciada por especies de plantas que no están micorrizadas o que se encuentran ligeramente infectadas por micorrizas, a su vez se menciona que las plantas que recolonizan la zona perturbada pueden tener tasas más bajas de infección micorrízica que las especies de plantas que prefieren las zonas no perturbadas (Dell, 2002; Lugo, Giordano, Urcelay y Crespo, 2011), probablemente debido a que las condiciones de fertilidad de los suelos perturbados pueden disminuir la necesidad de la planta por asociarse con los HMA o bien, debido a que las condiciones de las zonas perturbadas dificultan la asociación micorrízica, esto puede explicar parcialmente porque en la granja ecológica “Dos Puertas”, en la cual se presenta un mayor grado de perturbación innato, mostró también una menor abundancia de esporas de HMA.

Tras la propagación en maceta de los HMA se presentó un incremento del 38.6 % de la muestra inicial de esporas en el suelo del bosque, éste incremento corresponde a 835 esporas en 100 g de suelo seco (fig. 5). Al compararlo con la propagación de esporas obtenida en las muestras de la granja, que tras la propagación presentó un incremento de esporas del 75.85 % de la muestra inicial, el cuál fue equivalente a 829 esporas en 100 g de suelo seco (fig. 6), se mostró que, aunque en la granja el incremento porcentual de la muestra fue mayor que en el bosque, el número del incremento real obtenido de esporas propagadas fue casi el mismo.

Del mismo modo, la propagación de esporas de HMA del bosque mostró un 22.2 % de éxito, mientras que las esporas de la granja se propagaron con un 16.67 % de éxito, siendo muy similar a lo encontrado en el bosque, como referencia Carreón *et al.* (2013), mencionan haber logrado la propagación de *Sclerocystis rubiformis* con un 18.75 % de éxito, una especie de *Glomus* con 10 % de éxito y *Rhizophagus aff. intraradices* con 7.7 % de éxito en cultivos monoespecíficos, empleando suelos de dos agroecosistemas correspondientes a huertas de aguacate cultivados en cajas Petri. En términos prácticos los porcentajes de éxito de la propagación lograda en el presente trabajo refieren que por cada 45 macetas inoculadas con suelo del bosque, se pueden llegar a obtener 10 macetas exitosamente propagadas, mientras que para obtener el mismo número de macetas exitosamente propagadas empleando el inóculo de la granja, se requieren cultivar 60 macetas, esto sugiere que las diferencias presentes en los suelos de las dos zonas de estudio, no representaron un impedimento para lograr el éxito en la propagación de HMA, sin embargo, si mostraron una pequeña diferencia en la eficiencia del cultivo.

También, se observó que tras la propagación con maíz como planta trampa, se halló un incremento en la cantidad de morfo-tipos para las familias Claroideoglomeraceae, Diversisporaceae, Entrophosporaceae y Glomeraceae, así como una pérdida de morfo-tipos en las familias Acaulosporaceae, Diversisporaceae, Gigasporaceae y Pacisporaceae, esto puede ser atribuido a diversos factores, entre ellos:

- ✓ Que la propagación se llevó a cabo en meses contiguos a los meses de colecta lo cual de acuerdo con Álvarez *et al.* (2017) la riqueza, abundancia de esporas y la composición de especies pueden variar de acuerdo con los meses en los que se realiza el muestreo.
- ✓ También podría atribuirse como indica Trinidad *et al.* (2017), al cambio en las condiciones de clima, temperatura y humedad durante la propagación.
- ✓ El tiempo insuficiente de propagación que se dio a los HMA de 14 semanas que aun cuando Habte y Osorio (2001) mencionan que es esencial el crecimiento del cultivo trampa durante un periodo de 12 a 14 semanas. A pesar de esto Blanco y

Salas (2000), encontraron una diferencia en la proporción del índice y velocidad de colonización así como del número de esporas encontrados entre especies de *Scutellospora* y *Glomus*; de manera similar Janoušková *et al.* (2013), encontraron una diferencia en la proporción de la riqueza observada entre especies de *Glomus* con relación a las semanas de cultivo (6 a 24 semanas) y del mismo modo Velázquez y Cabello (2011), llevaron a cabo la propagación de HMA proveniente de cinco diferentes tipos de vegetación por un periodo de 24 meses y obtuvieron un mayor número de esporas en su segundo año de propagación; cabe mencionar que al igual que en el presente trabajo, en estos últimos casos también se empleó suelo de las zonas de estudio donde se obtuvieron las muestras para llevar a cabo la propagación de los HMA, los cuales contenían presumiblemente: esporas, hifas y fragmentos de raíces, dicho esto, el tiempo de propagación de 14 semanas puede no ser el adecuado para obtener la mayor diversidad de morfo-tipos.

Actualmente, se ha observado que la producción de metabolitos secundarios de manera *in vitro* se puede lograr a través de “el sistema de cultivo en dos etapas”, este sistema conlleva una primera etapa en la cual se produce un rápido crecimiento de la biomasa de células vegetales productivas a una alta concentración y en la segunda etapa se induce la producción de metabolitos secundarios al ser sometidas a un estrés, limitación o con provocación directa en la producción de los metabolitos secundarios, resultando en un mayor aprovechamiento de los nutrientes suministrados durante la segunda etapa para la producción del metabolito secundario deseado (Kreis y Reinhard, 1988; Tom, Jardin, Chavarie y Archambault, 1991; Pérez y Jiménez, 2011) si bien este método es aplicado en cultivos de células *in vitro*, dicho método sugiere una mayor producción de metabolitos secundarios al dotar al individuo con una mayor fuente de recursos, esta aplicación puede llevarse a cabo en cultivos de plantas medicinales inoculadas con HMA, las cuales han demostrado un incremento en la producción de la biomasa en las plantas micorrizadas (Padilla, 2007; Gheno, 2010; Alor *et al.*, 2012) al potenciar su metabolismo junto con la acción de los minerales como el calcio y el potasio que actúan potenciando la eficacia de los principios activos en el tratamiento de algunas enfermedades (Berdonces, 1995), se puede favorecer la producción y eficacia de los metabolitos secundarios deseados.

Van der Heijden *et al.* (1998) y Mathimaran *et al.* (2007) mencionan que existe una relación entre el aumento en la riqueza de especies de HMA con la probabilidad de que se logre un incremento significativo en la captura de nutrimentos, productividad y composición vegetal de un macrocosmos, así como un incremento significativo en el potencial de extensión del micelio, lo cual puede favorecer el éxito en la propagación de HMA. Además, observaron que, de acuerdo a la especie de planta que se inocule ésta se ve beneficiada de manera

diferente según la especie de HMA que se emplee como inoculante. Van der Heijden concluye que la pérdida de biodiversidad en suelos, representa un campo poco estudiado que requiere mayor atención.

Muchos autores mencionan que la red micelial parece ser un componente importante del potencial de inoculación de un suelo, debido a que se ha observado que al resquebrajarse la red de micelio extra radical se puede provocar una reducción en la infectividad de algunos hongos micorrízicos, al reducir las conexiones entre las raíces y el micelio del hongo (Álvarez *et al.* 2017; Blanco y Salas, 1997; Carreón *et al.*, 2013; Dell, 2002 Trejo *et al.*, 2011). En este caso al emplear como inoculo suelo natural y llevarlo del campo a las macetas de propagación ocurrió la ruptura de la red hifal lo que pudo provocar la desaparición de *Acaulospora denticulata*, *Ac. aff. capsicula*, *Ac. aff. scrobiculata*, *Acaulospora* sp. 3, *Ambispora* sp. 3, *Racocetra aff. castanea* y *Pacispora scintillans*, las cuales representan el 14 % del total de la riqueza obtenida, en comparación Chimal *et al.* (2015), quienes emplearon maíz, pasto y jitomate con suelo asociado a matorrales del Valle del Mezquital, reportaron un 72.4 % de pérdida en la riqueza tras la propagación con HMA. Lovera y Cuenca (2007), también menciona que en la región perturbada que estudiaron hubo una marcada desaparición de esporas de los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* los cuales dadas las características de sus esporas pueden estar asociados a diferentes requerimientos nutricionales además de que pueden requerir mayores tiempos para conseguir su desarrollo.

Los morfo-tipos de HMA que se observaron exclusivamente tras la propagación de las muestras de suelo del bosque son: *Acaulospora minuta*, *Ac. aff. colombiana*, *Acaulospora* sp. 1, *Ambispora* sp. 2, *Claroideoglomus drummondii*, *Cl. walkeri*, *Cl. aff. etunicatum*, *Diversispora aff. aurantia*, *Di. aff. trimurales*, *Entrophospora infrequens*, *Funneliformis coronatum*, *F. mosseae*, *Glomus aff. pustulatum*, *Gl. spinuliferum*, *Rhizophagus aff. diaphanum*, *Dominikia* sp., *Glomus* sp. 1, *Glomus* sp. 2, *Glomus* sp. 3, *Glomus* sp. 4, *Glomus* sp. 5, *Glomus* sp. 6, *Glomus* sp. 7 además de dos de los morfo-tipos no identificados, representando al menos 5 familias. Mientras que en las muestras de la granja esporularon los morfo-tipos de: *Claroideoglomus walkeri*, *Cl. aff. etunicatum*, *Entrophospora infrequens*, *Rh. aggregatus*, *Glomus* sp. 1, *Glomus* sp. 2, *Glomus* sp. 8, repartidas en 2 familias. Por último, los morfo-tipos compartidos que se observaron exclusivamente tras la propagación en ambas condiciones fueron: *Cl. walkeri*, *Cl. aff. etunicatum*, *E. infrequens*, *Glomus* sp. 1, *Glomus* sp. 2. Es probable que como lo mencionan De Souza, Dalpé, Declerck, De la Providencia y Séjalon (2005) los HMA observados tras la propagación hayan estado presentes en el suelo pre-propagación, en otro estadio del hongo o propágulo infectivo, que como lo menciona Sieverding (1991) pueden ser: fragmentos de raíces micorrizadas, vesículas aisladas o micelio extra radical; o bien, posiblemente como lo indican Dell (2002) y Trejo *et al.* (2011) se deba a la sucesión que se establece por la dinámica

en la esporulación a lo largo de un determinado periodo de tiempo, entre las especies de HMA presentes en el suelo al momento de la colecta.

Del mismo modo, el incremento en la expresión de la familia Glomeraceae, puede deberse a que se empleó maíz como planta trampa, dado que de acuerdo con autores como Mathimaran *et al.* (2007), el maíz se asocia preferencialmente con HMA del género *Glomus* así como la soja se asocia preferencialmente con *Gigaspora*.

En este caso se decidió conjuntar el suelo de los diferentes meses de muestreo para llevar a cabo una sola propagación y la riqueza de los morfo-tipos se reportó para la muestra compuesta. Sin embargo, autores como Trinidad *et al.* (2017) y Álvarez *et al.* (2017) mencionan que la riqueza, abundancia de esporas y la composición de especies varían de acuerdo con los meses en los que se realiza el muestreo y dado que en el presente trabajo hubo una variación en la abundancia de esporas encontrada en los diferentes meses de muestreo, como lo refieren Álvarez *et al.*, pudo existir también una variación en el número de morfo-tipos influenciado por el mes en que se llevó a cabo el muestreo.

Álvarez *et al.* (2009), quienes llevaron a cabo un análisis de la distribución y composición de las comunidades de HMA siguiendo un gradiente altitudinal abarcando parte de Centroamérica y Norteamérica, mencionan que la riqueza de HMA no está correlacionada con la riqueza de plantas, contrario a lo mencionado por Van der Heijden *et al.* (1998) y Mathimaran *et al.* (2007), sin embargo, de acuerdo con Álvarez *et al.*, si se asocia en gran medida con la latitud, menciona que a elevadas latitudes, dominan las especies de *Archaeospora* y *Diversispora* mientras que *Acaulospora*, *Ambispora* y *Scutellospora* dominan en bajas latitudes siendo esto relativamente cierto para las especies de *Acaulospora* y *Ambispora* encontradas en el presente trabajo en comparación con los géneros *Archaeospora* y *Diversispora* que estuvieron ausentes, también relaciona la temperatura, precipitación y pH con los géneros *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Paraglomus* y *Gigaspora* los cuales se encuentran en suelos más ácidos, sin embargo en el presente trabajo esta relación entre la riqueza de especies de HMA con el pH no fue tan evidente dado que las zonas de estudio compartieron 28 morfo-tipos (56 % de la riqueza total) de HMA, entre ellos, *Acaulospora alpina*, *Ac. aff. capsicula*, *Ac. aff. colombiana*, *Ac. denticulata*, *Ac. morrowiae*, *Ac. aff. scrobiculata*, *Ac. spinosissima*, *Acaulospora sp. 1*, *Acaulospora sp. 2* y *Entrophospora infrequens*, a pesar de las diferencias encontradas en el pH de los suelos.

## 8. Conclusiones

La abundancia inicial de esporas de HMA fue menor en las muestras de la granja ecológica “Dos Puertas” con una diferencia del 32.86 % comparado con el total de la abundancia inicial obtenida de ambas zonas de estudio, equivalente a 1070 esporas menos que en el bosque templado “Agua Escondida”; esto puede ser atribuido a la cobertura vegetal nativa presente en el suelo del bosque, la cual mejora la densidad del suelo y cuya densidad favorece el interactuar libre que se da entre las raíces de sus plantas, contrario a lo que ocurre en la granja donde las plantas medicinales se encuentran sembradas en macetas, delimitadas por barreras físicas lo cual limita la interacción y competencia de los recursos disponibles.

A pesar de que la abundancia de esporas en las muestras de la granja fue menor que en el bosque, aun así, se consideran como un elevado número de esporas para este tipo de uso de suelo; ésta elevada cantidad de esporas en la granja ecológica “Dos Puertas” es atribuido a su carácter ecológico y al bajo nivel tecnológico con el que se maneja.

En las muestras del bosque se observaron 14 morfo-tipos exclusivos de HMA mismos que representan el 28 % de la riqueza total encontrada, mientras que en la granja se observaron 8 morfo-tipos que representan el 16 % de la riqueza total encontrada, la exclusividad de estos morfo-tipos se atribuye a la asociación preferente de estos hongos con las diferentes plantas medicinales encontradas en cada zona de estudio y a las diferentes propiedades físico-químicas de sus suelos. Por otra parte, a pesar de la diferencia encontrada en las propiedades físico-químicas del suelo, la riqueza compartida entre el bosque y la granja es del 56 % de la riqueza total encontrada (28 morfo-tipos) ésta similitud se atribuye a la riqueza en las poblaciones de HMA inherentes a la región, debido a que se tratan de sistemas abiertos los cuales están en constante traslado.

El éxito en la propagación de HMA en este caso se logró sin importar la zona de estudio de la cual provenían los hongos, es decir, ambos se propagaron con bajo índice de éxito, sin embargo, al tratarse de seres vivos se puede señalar que se observó una mayor eficiencia en la propagación de las muestras del bosque, haciendo de estas una alternativa ligeramente más económica en la generación de inóculos micorrízicos asociados a plantas medicinales.

En las muestras de suelo del bosque posterior a la propagación destacan la familia Glomeraceae con 13 morfo-tipos, 3 morfo-tipos del género *Acaulospora*, 3 morfo-tipos del género *Claroideoglobus*, 2 morfo-tipos del género *Diversispora*, 1 morfo-tipo del género *Ambispora*, 1 morfo-tipo del género *Entrophospora*, además de 2 morfo-tipos no reconocidos, estos 25 morfo-tipos de las muestras del bosque templado “Agua Escondida” fueron

aparentemente favorecidos por las fechas y las condiciones en que se llevó a cabo el cultivo en el invernadero al observarse solamente tras la propagación. En el caso de las muestras del suelo de la granja posterior a la propagación también destacan la familia Glomeraceae con 9 morfo-tipos, 2 morfo-tipos del género *Claroideoglomus* y 1 morfo-tipo del género *Entrophospora*, estos 12 morfo-tipos de la granja ecológica “Dos Puertas” fueron aparentemente favorecidos por las fechas y las condiciones en que se llevó a cabo el cultivo en el invernadero al observarse únicamente tras la propagación.

## 9. Recomendaciones

Para iniciar con la producción de un inóculo es recomendable iniciar la investigación correspondiente con el trabajo de Usuga, Castañeda y Franco (2008), quienes probaron el uso de diferentes sustratos y además reportan la importancia en la elección de la planta hospedante según el fin deseado, así como la consulta del manual de Metodologías Básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular de la Universidad Nacional de Colombia (Sánchez, Posada, Velásquez y Narváez, 2010).

Como aportación personal, recomiendo tener cuidado en la elección de las macetas que se destinen para el fin deseado, dado que, para lograr una propagación con el fin de obtener un registro confiable de las especies de una zona de estudio basta con emplear de 10 a 15 macetas con inóculo y 5 macetas testigo de 1,500 cm<sup>3</sup> por tratamiento dado que en mis primeras 10 observaciones, extrayendo un promedio de 100 (+/- 50) esporas por maceta ya había obtenido más del 95 % de la riqueza total, sin embargo, si lo que se desea es lograr la propagación para incrementar la muestra inicial de esporas de HMA, recomiendo usar macetas con una superficie de al menos 800 cm<sup>2</sup>, llenándolas con suelo no muy compacto a una altura de por lo menos 15 cm, es importante que la superficie cultivada sea proporcionalmente mayor a la profundidad del cultivo dado que tratándose de hongos micorrízicos arbusculares la evidencia sugiere su crecimiento se da preferentemente en los primeros centímetros superficiales del suelo, además, es necesario el uso de la mayor variedad de especies de plantas que les sea posible cultivar por maceta; Velásquez y Cabello (2011), por ejemplo, emplearon por maceta nueve plantas de 3 especies diferentes en una superficie de 460 cm<sup>2</sup>, mientras que Carreón *et al.* (2013), encontró una mayor propagación con el uso de contenedores de mayor tamaño que con el uso de cajas Petri.

## 10. Anexo

**Tabla A1.** Clasificación actual del reino Fungi mostrando los niveles de organización Reino, Subreino, Phylum y Subphylum (septiembre 2019).

---

• Fungi
A) Aphelidiomyceta
1°)Aphelidiomycota
i) Aphelidiomycotina
B) Basidiobolomyceta
1°)Basidiobolomycota
i) Basidiobolomycotina
C) Blastocladiomyceta
1°)Blastocladiomycota
i) Blastocladiomycotina
ii) Blastocladiomycota <i>Incertae sedis</i>
D) Chytridiomyceta
1°)Chytridiomycota
i) Chytridiomycotina
ii) Chytridiomycota <i>Incertae sedis</i>
2°)Monoblepharomycota
i) Monoblepharomycotina
3°)Neocallimastigomycota
i) Neocallimastigomycotina
ii) Neocallimastigomycota <i>Incertae sedis</i>
E) Dikarya
1°)Ascomycota
i) Pezizomycotina
ii) Saccharomycotina
iii) Taphrinomycotina
iv) Ascomycota <i>Incertae sedis</i>
2°)Basidiomycota
i) Agaricomycotina
ii) Pucciniomycotina
iii) Ustilaginomycotina
iv) Wallemiomycotina
v) Basidiomycota <i>Incertae sedis</i>
3°)Entorrhizomycota
i) Entorrhizomycotina
ii) Entorrhizomycota <i>Incertae sedis</i>
F) Mucoromyceta
1°)Calcarisporiellomycota
i) Calcarisporiellomycotina
2°)Glomeromycota
i) Glomeromycotina
3°)Mortierellomycota
i) Mortierellomycotina
4°)Mucoromycota

---

- i) Mucoromycotina
- G) Olpidiomyceta
  - 1°) Olpidiomycota
    - i) Olpidiomycotina
- H) Rozellomyceta
  - 1°) Rozellomycota
    - i) Rozellomycotina
- I) Zoopagomyceta
  - 1°) Entomophthoromycota
    - i) Entomophthoromycotina
  - 2°) GS19 - Tentativo
  - 3°) Kickxellomycota
    - i) GS19 - Tentativo
    - ii) Kickxellomycotina
  - 4°) Zoopagomycota
    - i) Zoopagomycotina
- J) Fungi (Subreino) *Incertae sedis*
- K) Basal Clone Group 1 (BCG1) - Tentativo
- L) Basal Clone Group 2 (BCG2) - Tentativo
- M) GS01 - Tentativo

Fuente: <https://elurikkus.ee/bie-hub/species/118934#classification>

**Tabla A2.** Clasificación actual del phylum Glomeromycota (septiembre 2019).

• Reino	• Fungi
A) Subreino	F) Mucoromyceta
1°) Phylum	2°) Glomeromycota
i) Subphylum	i) Glomeromycotina
a) Clase	a) Archaeosporomycetes
× Subclase	✓ Archaeosporales
✓ Orden	** Ambisporaceae
** Familia	** Archaeosporaceae
	** Geosiphonaceae
	b) Glomeromycetes
	× Glomeromycetes (Subclase) <i>Incertae sedis</i>
	✓ Diversisporales
	** Acaulosporaceae
	** Diversisporaceae
	** Entrophosporaceae
	** Pacisporaceae
	** Sacculosporaceae
	✓ Gigasporales
	** Gigasporaceae
	✓ Glomerales
	** Claroideoglomeraceae
	** Glomeraceae
	✓ Glomeromycetes (Orden) <i>Incertae sedis</i>
	c) Paraglomeromycetes
	✓ GS24
	✓ Paraglomerales
	** Paraglomeraceae
	d) Glomeromycotina (Clase) <i>Incertae sedis</i>

Fuente: <https://elurikkus.ee/bie-hub/species/118939#classification>

**Tabla A3.** Solución nutritiva Long Ashton

Compuesto químico	g/lt	Cantidad en ml para preparar 1 L de solución nutritiva
KNO <sub>3</sub>	80.8	5.0 ml
MgSO <sub>4</sub> - 7H <sub>2</sub> O	73.6	5.0 ml
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> - 4H <sub>2</sub> O	188.8	5.0 ml
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - H <sub>2</sub> O	36.8	1.25 ml para 10.25 µg/ml
Elementos traza <sup>(1)</sup>	–	1.0 ml
Solución de citratos <sup>(2)</sup>	–	5.0 ml

<sup>(1)</sup> Mezcla (g/l): MnSO<sub>4</sub> - H<sub>2</sub>O (1.69), CuSO<sub>4</sub> - 5H<sub>2</sub>O (0.25), ZnSO<sub>4</sub> - 7H<sub>2</sub>O (0.29), H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (3.10), NaCl (5.90), (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> - 4H<sub>2</sub>O (0.088) + H<sub>2</sub>O

<sup>(2)</sup> Mezcla (g/l): FeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> (4.9) + H<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> (4.9) + H<sub>2</sub>O deionizada

**Tabla A4.** Descripción de métodos empleados en el análisis físico-químico del suelo.

<p>✓ <b>Densidad aparente</b></p>	<p>Para el análisis de la densidad aparente por el método volumétrico desarrollado por Beaver en 1963 como se mencionó en Muñoz <i>et al.</i> (2015), se pesó una probeta de 10 ml vacía se agregó suelo en la probeta hasta completar su volumen tras lo cual se asentó el suelo golpeando ligeramente la base de la probeta contra una franela aplicando una fuerza similar cinco veces, se completó el volumen de suelo y se golpeó nuevamente la base de la probeta, tres veces tras lo cual se volvió a pesar la probeta. Una vez terminado este procedimiento, se restó el peso de la probeta, del peso total de la probeta más el suelo y se dividió este valor entre el volumen analizado para obtener la densidad aparente. Esta operación se repitió dos veces más a solicitud de la directora de tesis, para equiparar los demás métodos presentados.</p>
<p>✓ <b>Densidad real</b></p>	<p>Para el análisis de la densidad real por el método del picnómetro, primero se lavó y secó a 100 °C por 20 minutos, un matraz aforado de 25 ml, tras lo cual se pesó el matraz sólo, después de esto se aforó con agua bidestilada y se volvió a pesar, después se vació su contenido a la mitad y se añadió con mucho cuidado 5 gramos de suelo previamente pesado y tamizado a través de un tamiz de 2 milímetros de malla, se añadió agua bidestilada hasta cubrir tres cuartas partes del matraz y se procedió a mezclar por medio de agitación manual el suelo con el agua durante 30 minutos, una vez finalizada esta agitación, se aforo el matraz con agua bidestilada y se pesó, asimismo se tomó la temperatura de la muestra para hacer el ajuste de la temperatura, esta operación se repitió dos veces más a solicitud de la directora de tesis, para equiparar los demás métodos presentados. Se realizaron los siguientes cálculos tal y como se menciona en el método AS-04 de la NOM-021 RECNAT (2002), a todos los registros se les restó el peso del matraz aforado. El peso del suelo (5 gramos) se dividió entre el peso del agua más el peso del suelo, menos el peso total de ambos, con esto se obtuvo la densidad real por el método del picnómetro.</p>
<p>✓ <b>Textura del suelo</b></p>	<p>Para el análisis de la textura del suelo se empleó el método AS-09 de la NOM-021 RECNAT (2002) modificado por Muñoz <i>et al.</i> (2015), en el que se determina la textura de la fracción fina del suelo, desarrollado por Bouyoucos en 1962. Para obtener una mayor precisión en los resultados, fue necesario eliminar la materia orgánica (MO), tratando previamente cada muestra de 60 g de suelo con peróxido de hidrógeno al 30% hasta que se detuvo la efervescencia. Una vez eliminada la MO se secó el suelo a baño maría a una temperatura de 100 °C (Muñoz <i>et al.</i>, 2015). Después se pesaron 50 g de suelo libre de materia orgánica en un vaso de precipitados de 250 ml con agua hasta que se cubrió la superficie con 2 cm, este se agregó en una batidora mecánica con 5 ml de solución de metasilicato de sodio y 5 ml de solución de oxalato de sodio, se aforó con agua corriente hasta la mitad del vaso y se agitó por 10 minutos, tras lo cual se dejó reposar por 15 minutos. Posteriormente se pasó todo el material a una probeta de 1 L, la cual se aforó con agua corriente y se agitó por 1 minuto para lograr la suspensión del suelo. Terminado este proceso se dejó reposar por 40 segundos</p>

	<p>y se tomó la primera lectura introduciendo lentamente el hidrómetro en la suspensión 20 segundos previos a la toma de la lectura y se registró su temperatura. Tras 2 horas de reposo se tomó la segunda lectura registrando nuevamente su temperatura para realizar los cálculos pertinentes acordes a lo descrito en la NOM-021 RECNAT (2002).</p>
<p>✓ <b>Evaluación de pH</b></p>	<p>Para el análisis de pH descrito por el Colegio de Postgraduados, se colocaron 10 g de suelo por vaso de precipitados de 100 ml, a cada uno se añadieron 20 ml de agua dejando una solución 1:2 (suelo-agua). Se agitó manualmente durante un minuto y se dejó reposar por 30 minutos. Esta operación se repitió dos veces más. Finalmente se calibró el instrumento con las soluciones amortiguadoras y se leyeron las muestras problema en el intervalo de pH correspondiente (IRENAT, 1996).</p>
<p>✓ <b>Conductividad eléctrica</b></p>	<p>Para el análisis de conductividad eléctrica descrito por el Colegio de Postgraduados en las mismas muestras preparadas para pH se adicionaron 30 ml de agua dejando una relación 1:5 (suelo-agua), se agitaron y se dejaron reposar por 24 horas. Se midió la conductividad eléctrica del sobrenadante, para esto primero se enjuagó la celda del conductímetro tres veces con agua destilada, se sumergió la celda en el sobrenadante un par de veces, se registró la conductividad eléctrica y se tomó la temperatura, para corregir las lecturas de acuerdo con su temperatura (IRENAT, 1996).</p>
<p>✓ <b>Contenido de materia orgánica</b></p>	<p>Para el análisis de materia orgánica por el método de Walkley y Black descrito en la NOM-021 RECNAT (2002), se pesaron exactamente 0.5 g de suelo tamizado mismos que se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 500 ml. Al tiempo se procesó un blanco con reactivos por triplicado. Se añadieron 10 ml de dicromato de potasio 1 N con pipeta volumétrica y se agitó cuidadosamente. Con una probeta se añadieron 20 ml de ácido sulfúrico concentrado, se agitó cuidadosamente por 1 minuto. Se dejó reposar 30 minutos hasta que se enfrió la solución. Se añadieron 200 mililitros de agua destilada. Se agregaron 5 ml de ácido fosfórico concentrado, 0.1 g de fluoruro de sodio y de 10 a 15 gotas de indicador de difenilamina. Se tituló con sulfato ferroso 0.5 N hasta que se logró una coloración verde esmeralda. Debido a que el sulfato ferroso que se emplea se oxida con facilidad, cambiando su normalidad, éste se preparó poco antes de realizar el análisis (IRENAT, 1996).</p>
<p>✓ <b>Fósforo extractable de Bray y Kurtz 1</b></p>	<p>Para el análisis de fósforo se prepararon muestras por triplicado, en el suelo de bosque se empleó el método de Bray y Kurtz 1 modificado para suelos con pH neutros y ácidos (Fernández y Mendoza, 2008), para este método se pesaron 2.5 g de suelo tamizado, mismos que se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 50 ml, se adicionaron 25 ml de la solución extractante (la cual estaba conformada por una solución de fluoruro de amonio en ácido clorhídrico diluido), se taparon los matraces con tapones de hule para evitar su contaminación. Se agitaron por 5 minutos a 180 revoluciones por minuto (rpm), el extracto se filtró en papel Whatman número 5. Simultáneamente se realizó una curva patrón</p>

	<p>con blancos de reactivos a partir de concentraciones de fósforo conocidas, de acuerdo con lo descrito en la NOM-021 RECNAT (2002). Para el análisis de las muestras se tomó una alícuota de 5 ml del filtrado previamente realizado, estos se colocaron en matraces aforados de 50 ml y se agregaron 15 ml de agua desionizada. Se adicionaron 5 ml de solución reductora (compuesta por una solución de ácido ascórbico y molibdato de amonio) se agitó y aforó con agua desionizada. Después de 30 minutos de efectuar la reacción se leyó la intensidad de la absorción de luz a 882 nm empleando un espectrofotómetro.</p>
<p>✓ <b>Fósforo extractable de Olsen</b></p>	<p>Mientras que para el análisis de fósforo en el suelo de granja se empleó el método de Olsen para suelos con pH neutros y alcalinos (Fernández y Mendoza, 2008), para este método se pesaron 2.5 g de suelo tamizado, colocados en tubos de polietileno, se adicionaron 50 ml de la solución extractora (la cual estaba conformada por una solución de bicarbonato de sodio con pH ajustado a 8.5 con hidróxido de sodio), se taparon los tubos con tapones de hule para evitar su contaminación y se agitaron por 30 minutos a 180 rpm, tras lo cual se filtró inmediatamente empleando papel Whatman número 5 y 1 g de carbón activado. Simultáneamente se realizó una curva patrón con blancos de reactivos a partir de concentraciones de fósforo conocidas, de acuerdo con lo descrito en la NOM-021 RECNAT (2002). Para el análisis de las muestras se tomó una alícuota de 10 ml del filtrado previamente realizado, estos se colocaron en matraces aforados de 50 ml, se adicionó un poco de agua desionizada, aproximadamente 30 ml y 5 ml de solución reductora (la cual estaba conformada por una solución de ácido ascórbico diluido en una solución de molibdato de amonio) se agitó y se terminó de aforar con agua desionizada. Después de 30 minutos de efectuar la reacción y antes de una hora, se leyó la intensidad de color en absorbancia a 882 nm empleando un espectrofotómetro (NOM-021 RECNAT, 2002).</p>

**Tabla A5.** Distribución normal de la abundancia de esporas de HMA en 100 g de suelo seco del bosque.

Muestra	Bosque			
	Pre-propagación		Post-propagación	
	Esporas	Distribución normal	Esporas	Distribución normal
1	1180	0,0005104	216	0,0001892
2	1546	0,0007437	292	0,0001944
3	<b>1648</b>	<b>0,000757777</b>	370	0,0001994
4	<b>2163</b>	<b>0,000469622</b>	422	0,0002026
5	2218	0,0004217	440	0,0002037
6			444	0,0002039
7			490	0,0002066
8			540	0,0002094
9			618	0,0002134
10			730	0,0002185
11			762	0,0002199
12			804	0,0002215
13			1252	0,0002310
<b>Promedio</b>			<b>1308</b>	<b>0,000231155</b>
14			1386	0,0002309
15			2228	0,0002005
16			2330	0,0001940
17			2682	0,0001684
<b>80% de los datos</b>			<b>2998</b>	<b>0,000143125</b>
18			7540	0,0000003

**Tabla A6.** Distribución normal de la abundancia de esporas de HMA en 100 g de suelo seco de la granja.

Muestra	Granja			
	Pre-propagación		Post-propagación	
	Esporas	Distribución normal	Esporas	Distribución normal
1	474	0,000806	162	0,000272
2	722	0,001210	238	0,000281
3	<b>772</b>	<b>0,001224164</b>	300	0,000288
4	<b>1093</b>	<b>0,000753632</b>	310	0,000289
5	1120	0,000692	312	0,000289
6			332	0,000291
7			334	0,000292
8			356	0,000294
9			418	0,000300
10			466	0,000304
11			508	0,000307
12			518	0,000308
13			564	0,000311
14			630	0,000315
15			862	0,000322
<b>Promedio</b>			<b>883</b>	<b>0,000321551</b>
16			1182	0,000312
<b>80 % de los datos</b>			<b>1922</b>	<b>0,000226428</b>
17			3736	0,000023
18			4664	0,000003

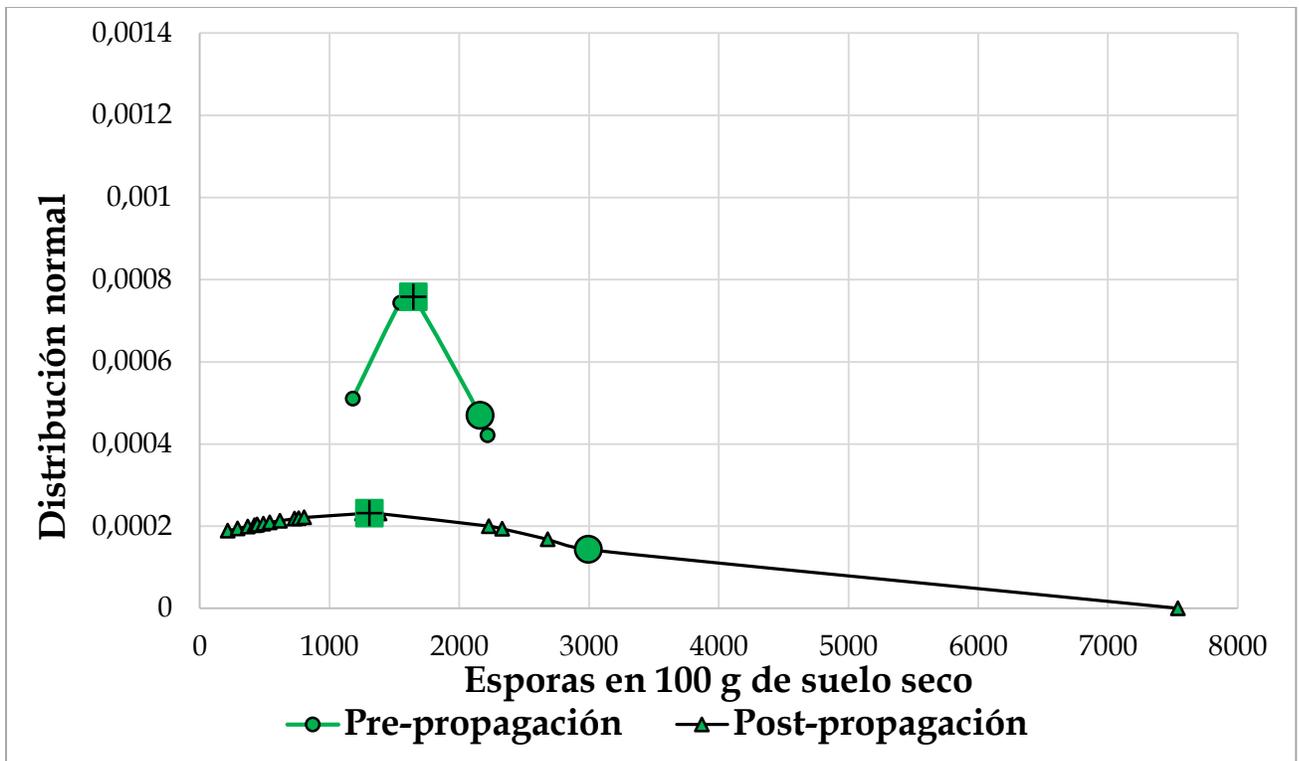


Figura A1. Campana de Gauss de la abundancia de esporas de HMA en 100 g de suelo seco del bosque.

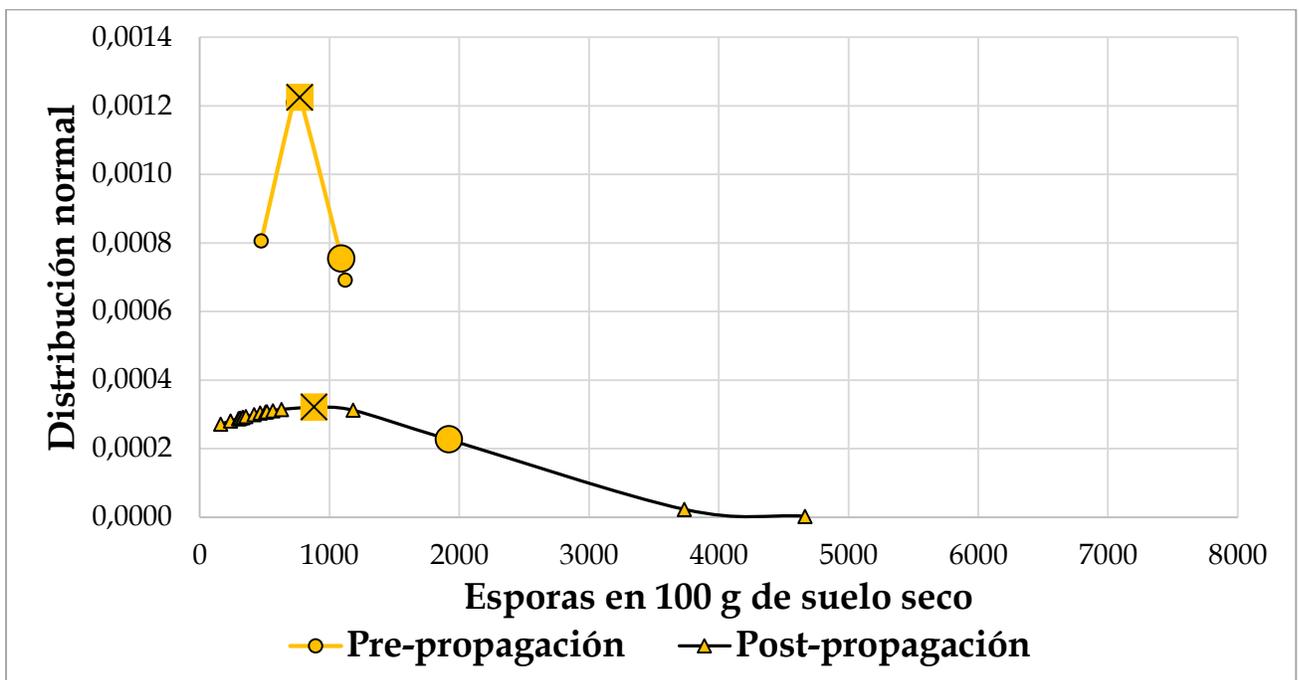


Figura A2. Campana de Gauss de la abundancia de esporas de HMA en 100 g de suelo seco de la granja.

## 11. Referencias citadas

- Aguaiza, Q. J. (2014). *Investigación de Plantas Alimenticias y Medicinales de "Chuya Kawasay" en Quilloac*. (Tesis de Maestría en Salud con Enfoque de Ecosistema). Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Aguirre, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J. y Valenzuela, R. (2014). Biodiversidad de Hongos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 76-81. doi: <http://dx-doi.org/10.22201/ib.20078706e.2014.5.1061>
- Alor, C. M., Gómez, A. R., Huerta, L. E., Pat, F. J., González, C. M. y De La Cruz, G. C. (2012). Nutrición y Crecimiento en Fase de Vivero de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, *Momordica charantia* L. y *Azadirachta indica* A. Juss, en el Municipio Centro, Tabasco-México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11 (2), 442. ISSN: 0717-7917. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/856/85622734007.pdf>
- Álvarez, J., Johnson, N., Antoninka, A., Chaudhary, B., Lau, M., y Sánchez, I. (2009). Distribución y composición de las comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares en Norteamérica: un análisis de patrones. En P. Rodríguez (Coordinador) *Diversidad y conservación in situ*. Simposio llevado a cabo en la Reunión Nacional de Germoplasma Microbiano como Recurso Genético para su aplicación en agricultura alimentación y ambiente, Facultad de Ciencias, UNAM, Ciudad de México, México.
- Álvarez, S. J., Sánchez, G. I., Hernández, C. L., Hernández, O. L. y Meli, P. (2017). Diversidad, abundancia y variación estacional en la comunidad de hongos micorrizógenos arbusculares en la selva Lacandona, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Micología*, 45 (s/n), 39-40, 42-47. ISSN: 0187-3180. Recuperado de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-31802017000100037](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802017000100037)
- Andrade, T. A. (2010). Micorrizas: antigua interacción entre plantas y hongos. *Revista Ciencia*, 61 (4), 84-90. Recuperado de [https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/61\\_4/PDF/11\\_MICORRIZAS.pdf](https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/61_4/PDF/11_MICORRIZAS.pdf)
- Andrades, M. y Martínez, E. (2014). *Fertilidad del Suelo y Parámetros que la Definen*. La Rioja, España: Universidad de la Rioja, Servicio de Publicaciones.
- Bago, B., Azcón, A. C., Goulet, A. y Piché, Y. (1998). Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 139 (2), 375-388. doi: 10.1046/j.1469-8137.1998.00199.x
- Bagyaraj, J. D. y Stürmer, S. L. (2012). Capítulo 7 Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA). En F. Moreira, E. Huising y D. Bignell (Eds.), *Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo* (pp. 217-219). Ciudad de México, México: Instituto Nacional de Ecología.
- Barea, J., Palenzuela, J., Cornejo, P., Sánchez, I., Navarro, C., López, A., Estrada, B., Azcón, R., Ferrol, N. y Azcón, C. (2011). Ecological and Functional Roles of Mycorrhizas in Semi-Arid Ecosystems of Southeast Spain. *Journal of Arid Environments*, 75 (12), 1292-1301. doi: 10.1016/j.jaridenv.2011.06.001
- Barrer, S. (2009). El uso de Hongos Micorrízicos Arbusculares Como una Alternativa Para la Agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 7 (1), 123, 127, 129.
- Bautista, C. A., Montaña, N., Camargo, R. S. y Pacheco, L. (2014). Hongos Micorrizógenos Arbusculares y Nutrientes 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. doi: 10.5154/r.rchscfa.2014.02.007
- Berdonces, J. L. (1995). Principios Activos y Preparaciones Farmacéuticas de las Plantas Medicinales. *Natura Medicatrix*, 10 (38), 42. ISSN: 0212-9078. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/revista?codigo=22809>
- Bertolini, V. Montaña, N., Chimal, E., Varela, L., Gómez, J. y Martínez, J. (2017). Abundancia y riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares en cafetales de Soconusco, Chiapas, México. *Revista de Biología Tropical*. 66 (1), 91-102.
- Blanco F. A. y Salas, E. A. (1997). Micorrizas en la Agricultura: Contexto Mundial e Investigación Realizada en Costa Rica. *Revista Agronomía Costarricense*, 21 (1), 61-62. Recuperado de [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v21n01\\_055.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v21n01_055.pdf)
- Blanco F. A. y Salas E. A. (2000). Selección de Plantas Hospederas y Efecto del Fósforo Para la Producción de Inóculo de Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares por el Método de Cultivo en Macetas. *Revista Agronomía Costarricense*, 24 (1), 19-28. Recuperado de [https://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v24n01\\_019.pdf](https://www.mag.go.cr/rev_agr/v24n01_019.pdf)
- Bussmann, R. y Sharon, D. (2015). *Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú*. Trujillo, Perú: Centro William L. Brown.
- Camarena, G. G. (2012). Interacción Planta-Hongos Micorrízicos Arbusculares. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 18 (3), 409, 420. ISSN: 2007-3828. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/629/62926234012.pdf>
- Campos, R. S. (2018). *Evaluación de la diversidad de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la rizósfera de Distichlis spicata (L.) Greene del Valle del Sobaco, en el Municipio de San Pedro de las Colonias, Coahuila, México*. (Tesis de pregrado para título de Ingeniero en Agroecología). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila. México.
- Carreón, A. Y., Jerónimo, T. E., Beltrán, N. M., Martínez, T. M., Trejo, A. D. y Gavito, M. E. (2013). Aislamiento y Propagación de Cultivos Puros de Hongos Micorrízicos Arbusculares Provenientes de Huertas de Aguacate con Diferente Manejo Agrícola por la Técnica de Minirizotróf. *Revista Mexicana de Micología*, 37, 29-39.
- Cases, C. M. (18 de enero de 2007). Las Plantas Aromáticas y Medicinales. Descripción de las Especies Fundamentales. Principios Activos. En R. Gómez, P. Gómez, M. Moratilla, T. López, M. Laceta y M. Ortiz (Comité de Honor), *Fomento y Desarrollo de la Producción y Transformación de PAM. Aplicaciones y Comercialización*. Jornadas Técnicas Dedicadas a Plantas Aromáticas y Medicinales. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Brihuega, España.
- Cerón, R. L. y Aristizábal, G. F. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. En *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14 (1), 285-287.
- Chapela, F. (2012). *Estado de los Bosques de México*. Recuperado de [http://www.ccmss.org.mx/descargas/Estado\\_de\\_los\\_bosques\\_en\\_Mexico\\_final.pdf](http://www.ccmss.org.mx/descargas/Estado_de_los_bosques_en_Mexico_final.pdf)
- Chaudhari, P., Ahire, D., Ahire, V., Chkravarty, M. y Maity, S (2013). Soil Bulk Density as related to Soil Texture, Organic Matter Content and available total Nutrients of Coimbatore Soil. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3 (2), 1-8. ISSN: 2250-3153.

- Chimal, S. E., García, S. R. y Hernández, C. L. (2015). Gran Riqueza de Hongos Micorrizógenos Arbusculares en el Valle del Mezquital, Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Micología*, 41, 15-26.
- CONAFOR. (2015). *Caracterización y Estrategias de Desarrollo Industrial en la Cuenca de Abasto Centro Sur del Estado de Guerrero*. México: Comisión Nacional Forestal. Recuperado de <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/22/6515Cuenca%20de%20abasto%20Centro%20-%20Sur.pdf>
- Cuevas, M. J. (2016). Los Hongos: Héroes y Villanos de la prosperidad humana. *Revista Digital Universitaria*, 17 (9), 1-10. Recuperado de <http://www.revista.unam.mx/vol.17/num9/art69/art69.pdf>
- Davies, F. T., Calderón, C. M., Huaman, Z. y Gómez, R. (2005). Influence of a flavonoid (formononetin) on mycorrhizal activity and potato crop productivity in the highlands on Peru. *Scientia Horticulturae*, 106, 324. doi: 10.1016/j.scienta2005.04.013
- De Alba, E. y Reyes, M. (1998). Parte I El País. En CONABIO, *La diversidad biológica de México: Estudio de País, 1998*, (pp. 4, 7). Ciudad de México, México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- De Juan, V. J. y Fabeiro, C. C. (2003). La Conservación del Suelo. En J. Heras, C. Fabeiro y R. Meco (Coords.), *Fundamentos de agricultura ecológica: realidad actual y perspectivas* (pp. 89). Real, España: Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha.
- De Souza, F., Dalpé, Y., Declerck, S., De la Providencia, I. y Séjalon, D. (2005). Life History Strategies in Gigasporaceae: Insight from Monoxenic Culture. In: S. Declerck, J. Fortin, D. Strullu (Eds.), *In Vitro Culture of Mycorrhizas. Soil Biology, vol 4* (73-91). Berlin, Heidelberg: Springer. doi: 10.1007/3-540-27331-X\_5
- Del Mar, A. M., Pilar, T. M., Montesinos, N. A. y Roldán A. (2016). Soil Characteristics Driving Arbuscular Mycorrhizal Fungi Communities in Semiarid Mediterranean Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 82 (11), 3348-3356. doi: 10.1128/AEM.03982-15
- Dell, B. (2002). Role of Mycorrhizal Fungi in Ecosystems. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*, 1 (1), 47-60.
- eElurikkus (2019, 08 de Marzo). *Fungi Rank: kingdom. Accepted*. Tartu, Estonia: PlutoF Taxonomy. Recuperado de <https://elurikkus.ee/bie-hub/species/118934#classification>
- Escudero, A. y Mediavilla, S. (2003). Dinámica interna de los nutrientes. *Ecosistemas, Año XII* (1), 1-2.
- Estrada, S. G. y Ramírez, G. M. (2019). *Micología General*. Recuperado de [http://www.ucm.edu.co/wp-content/uploads/libros/Micologia\\_general.pdf](http://www.ucm.edu.co/wp-content/uploads/libros/Micologia_general.pdf)
- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (1996). *Ecología y Enseñanza Rural: Nociones Ambientales Básicas para Profesores Rurales y Extensionistas* (Estudio FAO Montes 131). Recuperado de <http://www.fao.org/3/w1309s/w1309s00.htm#TopOfPage>
- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2002). *Los fertilizantes y su uso*. FAO: Dirección de Fomento de Tierras y Aguas. ISBN: 9253044144. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-x4781s.pdf>

- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (17 de diciembre 2015). Erosión, pérdida de carbono orgánico y salinización son las principales amenazas a los suelos de América Latina y el Caribe. *Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe*. Recuperado de <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/360627/>
- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2017). *Carbono Orgánico del Suelo el Potencial Oculto*. Recuperado de <http://www.fao.org/3/i6937es/I6937ES.pdf>
- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2018). *Mapa de Carbono Orgánico del Suelo*. Recuperado de <http://www.fao.org/documents/card/en/c/I8195ES>
- Fernández, L. C. y Mendoza, R. (2008, 10 de abril). Evaluación del Fósforo disponible mediante tres métodos en distintos suelos y manejos productivos. *Ciencias del suelo*, 26 (1). ISSN 1850-2067. Recuperado de [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1850-20672008000100002](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1850-20672008000100002)
- Fretes, F. (2010). *Plantas Medicinales y Aromáticas Una Alternativa de Producción Comercial*. Recuperado de [https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/plantas\\_medicinales.pdf](https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/plantas_medicinales.pdf)
- Gallego, A. E. (2016). Los hongos y el paso del tiempo. *Revista Eubacteria*, Año 18 (36), 25-31. Recuperado de <https://www.um.es/eubacteria/Eubacteria36.html>
- Gamundí, I. J. (2008). Reseña de "Ainsworth & Bisby's Dictionary of Fungi". *Darwiniana*, 46 (2), 367. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66912207017>
- García, A. C. (2014). *Efecto de Metabolitos Secundarios Producidos por Plantas Micotróficas Sobre la Propagación de Hongos Micorrizógenos*. (Tesis para Magister en Biotecnología). Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia.
- García, S. R., Coronado, N. C. y Montaña, N. (2015). Hongos Micorrízicos Arbusculares en Suelos Salinos Agrícolas de San Andrés Mixquic, Tláhuac, Ciudad de México. En Cruz, F. y López, L. (Eds.), *Redescubriendo el suelo: su importancia ecológica y agrícola* (pp. 175-176, 179). Ciudad de México, México: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.
- Gerdemann, J. W. y Nicholson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British mycological Society*, 46 (2), 235-244.
- Gheno, Y. A. (2010). *La Etnobotánica y la Agrodiversidad como Herramientas para la Conservación y el Manejo de Recursos Naturales: un caso de estudio en la Organización de Parteras y Médicos Indígenas Tradicionales 'Nahuatlxihiuitl' de Ixhuatlancillo, Veracruz, México*. (Tesis Doctoral en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales). Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales (ICAR). Universidad Autónoma del Estado de México, Estado de México, México.
- Grisales, L. A. (2017). Hongos (reino Fungi): características y clasificación o tipos. Recuperado de <https://naturaleza.paradais-sphynx.com/fungi/hongos.htm>
- Guerrero. (2017). *Enciclopedia Guerrerense. Guerrero Cultural Siglo XXI*. Recuperado de <http://www.encyclopediagro.org/index.php/atlas-municipal/resumen-municipal/1771-taxco-de-alarcon>
- Habte, M. y Osorio, N. (2001). *Arbuscular Mycorrhizas: Producing and Applying Arbuscular Mycorrhizal Inoculum*. Hawaii, U. S. A.: Department of Tropical Plant and Soil Sciences.

- Henrik, R., Henrik, K., Taylor, A., Bengtsson, J., Jeppesen, T., Schigel, D., ... Abarenkov, K. (2019, 08 de enero). The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Research*, 47 (D1), 259-264. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gky1022>
- Hernández, L., Castillo, S., Guadarrama, P., Martínez, Y., Romero, M., y Sánchez, I. (2003). *Hongos Micorrizógenos Arbusculares del Pedregal de San Ángel*. Ciudad de México, México: Editorial Las Prensas de Ciencias.
- Hieronimi, H. (2010). *El Huerto Medicinal – Apuntes y Pequeño Manual de Plantas Medicinales*. Recuperado de <http://www.tierramor.org/PDF-Docs/ManualHuertoMed2010.pdf>
- INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2015). *Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) 2014 Información Relevante* (Boletín de Prensa Número 328/15). Recuperado de [http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/boletines/2015/especiales/especiales2015\\_08\\_8.pdf](http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/boletines/2015/especiales/especiales2015_08_8.pdf)
- INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2017). *México, Entre los 10 Países con Mayor Superficie Forestada y Reforestada a Nivel Mundial* (Comunicado de Prensa Número 126/17). Recuperado de [http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2017/bosques2017\\_Nal.pdf](http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2017/bosques2017_Nal.pdf)
- IRENAT. (1996). *Manual de Procedimientos Analíticos para Análisis de Suelos y Plantas del Laboratorio de Fertilidad de Suelos – Colegio de Postgraduados*. Ciudad de México, México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo.
- Janoušková, M., Krak, K., Wagg, C., Štorchová, H., Caklová, P. y Vosátka, M. (2013). Effects of Inoculum Additions in the Presence of a Preestablished Arbuscular Mycorrhizal Fungal Community. *Applied and Environmental Microbiology*, 79 (20), 6507-6515. doi: 10.1128/AEM.02135-13
- Johnson, D., Vandenkoornhuyse, P., Leake, J., Gilbert, L., Booth, R., Grime, J., ... Read, D. (2003). Plant Communities Affect Arbuscular Mycorrhizal Fungal Diversity and Community Composition in Grassland Microcosms. *New Phytologist*, 161 (2), 503-515. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00938.x
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter D. W. y Stalpers, J. A. (Eds.) (2008). *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. Wallingford, United Kingdom: Central Agricultural Bureau International (CABI).
- Kreis, W. y Reinhard, E. (1988). The Production of Secondary Metabolites by Plant Cells Cultivated in Bioreactors. *Planta Medica*, 55 (5), 409-416. Recuperado de <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/s-2006-962054.pdf>
- Kuhar, F., Castiglia, V. y Papinutti, L. (2013). Los hongos en el Laboratorio: de la naturaleza al cultivo axénico. *Revista Boletín Biológica*, año 7 (27), 5-8.
- Lara, P. L., Noa, C. J., Landa, L. A., Hernández, G. S., Oros, O. I. y Andrade, T. 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 Biología Tropical*, 62 (4), 1609-1623.
- Lastra, M. J. (2001). *Bosques naturales de Asturias*. Oviedo, España: Servicio de Publicaciones Universidad de Oviedo.
- Lovera, M. y Cuenca, G. (2007). Diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y Potencial Micorrízico del Suelo de una Sabana Natural y una Sabana Perturbada de la Gran Sabana, Venezuela. *Interciencia*, 32 (2), 108-114. ISSN: 0378-1844.

- Lugo, M. A., Giordano, P. G., Urcelay, C. y Crespo, E. M. (2011). Colonización Radical por Endófitos Fúngicos en *Trithrinax campestris* (Arecaceae) de Ecosistemas Semiáridos del Centro de Argentina. *Boletín Sociedad Argentina de Botánica*, 46 (3-4), 213-222. ISSN: 0373-580 X
- Marinoff, M. A. (2006). Las plantas medicinales desde la Biblia a la actualidad. En A. Fusco (Secretario General), *Reuniones de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2006*. Simposio llevado a cabo en la XXII Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas en la Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.
- Martínez, J. A. (2018). *Conocimiento y uso de las plantas medicinales presentes en la granja didáctica ecológica dos puertas por la comunidad de Taxco El Viejo, Guerrero*. (Tesis de pregrado para Licenciatura en Biología). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM, Ciudad de México, México.
- Mathimaran, N., Ruh, R., Jama, B., Verchot, L., Frossard, E. y Jansa, J. (2007). Impact of Agricultural Management on Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Kenyan Ferralsol. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 119 (1-2), 22-32. doi: 10.1016/j.agee.2006.06.004
- Montañez, P., Jiménez, J., Ruenes, R. y Calvo, L. M. (2010). Aprovechamientos forestales maderables y no maderables. En R. Durán y M. Méndez (Eds), *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán* (pp. 360). México: CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA.
- Monroy, A. y García, R. (Eds.). (2009). *Plantas y Hongos. Micorrizas Arbusculares: Un Mutualismo Esencial en Zonas Semiáridas*. Ciudad de México, México: Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) PE-205109 y Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mujica, Y. (2012). Inoculación de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) por dos vías diferentes en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) *Revista Cultivos Tropicales*, 33 (4), 71. ISSN: 0258-5936. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193224709011>
- Muñetón, P. P. (10 de septiembre 2009). Plantas Medicinales: Un Complemento Vital Para la Salud de los Mexicanos. Entrevista con el Dr. Erick Estrada Lugo. *Revista Digital Universitaria*, 10 (9), 1-9. ISSN: 1067-6079. Recuperado de <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num9/art58/art58.pdf>
- Muñoz, I., Soler, A., López, G. y Hernández, M. (2015). *Edafología: Manual de Métodos de Análisis de Suelos*. México: Coordinación Editorial Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
- Nabors, M. W. (2005). *Introducción a la botánica*. Madrid, España: Pearson Educación.
- NOM-021 RECNAT. (2002). Norma Oficial Mexicana-021 Recursos Naturales: Que Establece las Especificaciones de Fertilidad, Salinidad y Clasificación de Suelos, Estudio, Muestreo y Análisis. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Ris, E., Boller, T. y Wiemken, A. (2005). Community Structure of Arbuscular Mycorrhizal Fungi at Different Soil Depths in Extensively and Intensively Managed Agroecosystems. *New Phytologist*, 165 (1), 273-283. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01235.x
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mäder, P., Boller, T. y Wiemken, A. (2003, mayo). Impact of Land Use Intensity on the Species Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (5), 2816-2824. doi: 10.1128/AEM.69.5.2816-2824.2003

- OMS: Organización Mundial de la Salud. (2003). *Medicina tradicional Informe de la Secretaría*. Recuperado de [http://apps.who.int/gb/archive/pdf\\_files/WHA56/sa5618.pdf](http://apps.who.int/gb/archive/pdf_files/WHA56/sa5618.pdf)
- Orozco, H. M., Gutiérrez, M. G. y Delgado, C. J. (2009). Desarrollo Rural y Deterioro del Bosque. Región Interestatal del Alto Lerma. *Economía, Sociedad y Territorio*, IX (30), 435-472.
- Osorio, M. M., Castelán, E. M., Gómez, L. J., Salgado, G. S. y Hernández, C. L. (2013). Hongos Micorrizicos Arbusculares de Suelos de Sabana en Tabasco, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 16 (2), 171-182. ISSN: 1870-0462
- Ouzounidou, G., Skiada, V., Papadopoulou, K., Stamatis, N., Kavvadias, V., Eleftheriadis, E. y Gaitis, F. (2015). Effects of Soil pH and Arbuscular Mycorrhiza (AM) Inoculation on Growth and Chemical Composition of Chia (*Salvia hispánica* L.) Leaves. *Brazilian Journal of Botany*, 38 (1). doi: 10.1007/s40415-015-0166-6
- Padilla, E. (2007). *Estudio Ecológico y Etnobotánico de la Vegetación del Municipio de San Pablo Etla, Oaxaca*. (Tesis de Maestría en Ciencias). Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional, Oaxaca, México.
- Pérez, U. A. (2011). *Evaluación de un Sistema para la Micorrización in vitro en Plantas de Mora de Castilla (Rubus glaucus)*. (Tesis de Maestría en Ciencias). Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.
- Pérez, C. A., Botero, L. C. y Cepero, G. M. (2012). Diversidad de micorrizas arbusculares en pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus de fincas ganaderas del municipio de Corozal-Sucre. *Revista MVZ Córdoba*, 17 (2), 3030.
- Pérez, N. y Jiménez, E. (2011). Producción de Metabolitos Secundarios de Plantas Mediante el Cultivo in vitro. *Biotecnología Vegetal*, 11 (4), 195-211. Recuperado de <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/255/837>
- Pontón, J., Moragues, M., Gené, J., Guarro, J. y Quindós, G. (2002). Hongos y Actinomicetos Alergéricos. *Revista Iberoamericana de Micología*, Apartado 699. España. Recuperado de <http://hongos-alergicos.reviberoammicol.com/>
- Posada, A., Franco, C., Cuéllar, C., Sánchez, C. y Sánchez, F. (2007). Inóculo de Hongos de Micorriza Arbúscular en Pasturas de *Brachiaria decumbens* (Poaceae) en Zonas de Loma y Vega. *Acta Biológica Colombiana*, 12 (1), 113-120.
- Pringle, A. y Bever, J. (2002). Divergent Phenologies may Facilitate the Coexistence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in a North Carolina Grassland. *American Journal of Botany*, 89 (9), 1439-1446.
- Reséndiz, C. M. (2013). *Índice de mutualismo de tres gramíneas propagadoras de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) bajo condiciones de invernadero*. (Tesis de Pregrado para título de Biólogo). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM, Ciudad de México, México.
- Reyes, J. I. (2011). La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizósfera: comunidad microbológica dinámica del suelo. *ContactoS: Revista de Educación en Ciencias e Ingeniería*, 3ª Época (81), 17-23.
- Rivas, S. M. (2012). *Translocación de fósforo y nitrógeno en dos leguminosas inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), bajo condiciones de invernadero*. (Tesis de Pregrado para título de Biólogo). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM, Ciudad de México, México.

- Rivillas, O. (1996). The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on two different coffee varieties from Colombia and their biochemical detection in roots. En *Mycorrhizas in integrated systems from genes to plant development*. Simposio llevado a cabo en el XVI Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines, Medellín, Colombia.
- Rodríguez, L. C., Navarro, L. A., Arboleda, V. J., Valencia, J. A. y Valle, M. R. (2015). Hongos Micorrizógenos Arbusculares Asociados a Plantas de *Zea mays* L. en un Agroecosistema del Atlántico, Colombia. *Revista Agronomía Colombiana*, 23 (1), 22-26.
- Rojas, A. C. y Stephenson, S. L. (2017). *Myxomycetes: Biology, Systematics Biogeography and Ecology*. Fayetteville, United States: Academic Press.
- Salgado, G. S., Castelán, E. M., Jiménez, J. R., Gómez, L. J. y Osorio, M. M. (2014). Diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares en Suelos Cultivados con Caña de Azúcar en la Región de la Chontalpa, Tabasco. *Revista Mexicana de Micología*, 40, 7-16.
- Salinas, J. A. (2008). *Presencia de Simbiosis Tripartita en Discaria serratifolia (Vent.) Benth. & Hook. F. ex Mast. En dos Sectores de la Región de la Araucanía*. (Tesis de Pregrado para título de Ingeniero Forestal). Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Universidad de la Frontera, Chile.
- Salmerón, I. A., Pedraza, M. E., Mendoza, L. S. y Chávez, A. T. (2015). Cronología de la Taxonomía y Cladística de los Glomeromicetos. *Revista Fitotecnica mexicana*, 38 (2), 153-163.
- Sánchez, P. M., Posada, A. R., Velásquez, P. D. y Narváez, C. M. (2010). *Metodologías Básicas Para el Trabajo con Micorriza Arbuscular y Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular*. Recuperado de [https://www.researchgate.net/profile/Raul\\_Hernando\\_Posada/publication/271507112\\_Metodologias\\_basicas\\_para\\_el\\_trabajo\\_con\\_Micorriza\\_Arbuscular\\_y\\_Hongos\\_Formadores\\_de\\_Micorriza\\_Arbuscular/links/555c169c08ae6aea08173167.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Raul_Hernando_Posada/publication/271507112_Metodologias_basicas_para_el_trabajo_con_Micorriza_Arbuscular_y_Hongos_Formadores_de_Micorriza_Arbuscular/links/555c169c08ae6aea08173167.pdf)
- Schüßler, A., Schwarzott, D., y Walker, C. (2001). A new fungal Phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105 (12), 1413-1421. doi: <https://doi.org/10.1017/S0953756201005196>
- SEMARNAT: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2016). *Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y de Crecimiento Verde. Edición 2015*. Recuperado de [https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe15/tema/pdf/Informe15\\_completo.pdf](https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe15/tema/pdf/Informe15_completo.pdf)
- Serra, M. M. (2013). *Guía Para el Manejo del Autoclave en la Central de Esterilización del Hospital Universitario de Ceuta*. España: Instituto Nacional de Gestión Sanitaria. Recuperado de <http://www.ingesa.mssi.gob.es/estadEstudios/documPublica/internet/pdf/Autoclave.pdf>
- Shukla, A., Kumar, A., Jha, A., Ajit y Rao, D. (2012). Phosphorus Threshold for Arbuscular Mycorrhizal Colonization of Crops and Tree Seedlings. *Biology and Fertility of Soils*, 48 (1), 109-116. doi: 10.1007/s00374-011-0576-y
- Sieverding, E. (1991). *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems*. Germany: Eschborn.
- SMN-CONAGUA: Servicio Meteorológico Nacional y Comisión Nacional del Agua, (2017). Registros de los resúmenes de temperatura y precipitación mensual acumulada. Recuperado de: <https://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>

- Sobrado, S., Cabral, E. y Romero, F. (2013). *HONGOS Diversidad Vegetal*. Recuperado de <http://exa.unne.edu.ar/carreras/docs/Estudio%20HONGOS.pdf>
- Soussana, J., Tichit, M., Lecomte, P. y Dumont, B. (2017). 12 Agroecología: La Integración con la Ganadería. En FAO, *Agroecología Para la Seguridad Alimentaria y Nutrición: Actas del Simposio Internacional de la FAO* (pp. 248-249). Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas Para la Alimentación y la Agricultura.
- Stutz, J. C. y Morton, J. B. (1996). Successive pot Cultures Reveal High Species Richness of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Arid Ecosystems. *Canadian Journal of Botany*, 74, 1883-1889.
- Tedersoo, L., Sánchez, S., Kõljalg, U., Bahram, M., Döring, M., Schigel, D., ... Abarenkov, K. (2018, Mayo). High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity*, 90 (1), 135-159. doi: <https://doi.org/10.1007/s13225-018-0401-0>
- Trejo, D., Ferrera, R., García, R., Varela, L., Lara, L. y Alarcón, A. (2011). Efectividad de Siete Consorcios Nativos de Hongos Micorrízicos Arbusculares en Plantas de Café en Condiciones de Invernadero y Campo. *Revista Chilena de Historia Natural*, 84, 23-31.
- Tom, R., Jardin, B., Chavarie, C. y Archambault, J. (1991). Effect of culture process on alkaloid production by *Catharanthus roseus* cells. *Journal of Biotechnology*, 21 (1-2), 1-20. Recuperado de [https://www.academia.edu/20298264/Effect\\_of\\_culture\\_process\\_on\\_alkaloid\\_production\\_by\\_Catharanthus\\_roseus\\_cells](https://www.academia.edu/20298264/Effect_of_culture_process_on_alkaloid_production_by_Catharanthus_roseus_cells)
- Trinidad, C. J., Quiñones, A. E., Hernández, C. L., López, P. L. y Rincón, E. 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.
- Ulloa, G. M., Abreu, C. A. y Paz, G. A. (2001). Disponibilidad de macro- y micronutrientes en un suelo de cultivo de Mabegondo (A Coruña). *Cadernos do Laboratorio Xeolóxico de Laxe*, 26 (11), 244. ISSN: 0213-4497. Recupeado de [https://www.udc.es/files/iux/almacen/articulos/cd26\\_art11.pdf](https://www.udc.es/files/iux/almacen/articulos/cd26_art11.pdf)
- Usuga, O. C., Castañeda, S. D. y Franco, M. A. (2008). Multiplicación de Hongos Micorriza Arbuscular (HMA) y Efecto de la Micorrización en Plantas Micropropagadas de Banano (*Musa* AAA cv. 'Gran Enano') (Musaceae). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 61 (1), 4279-4290. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v61n1/a05v61n1.pdf>
- Vallejo, V. J., Pardo, S. M. y Peral, P. D. (2009). La Historia de la Fitoterapia en Egipto: un campo abierto a múltiples disciplinas. *Medicina Naturista*, 3 (2), 102-103. ISSN: 1576-3080. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3017268>
- Van der Heijden, M., Klironomos, J., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf, R., Boller, T., ... Sanders, I. (1998, november). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396, 69-72. doi: 10.1038/23932
- Vanaclocha, B. y Cañigüeral, S. (Eds.). (2019). *Fitoterapia: Vademécum de Prescripción*. Recuperado de <https://www.fitoterapia.net/index.html>
- Varela, L. y Trejo, D. (2001). Los Hongos Micorrizógenos Arbusculares como Componentes de la Biodiversidad del Suelo en México. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*. Número especial 1. 39-51. ISSN: 0065-1737. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57500004>

- Velázquez, S. y Cabello, M. (2011). Occurrence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trap cultures from El Palmar Nacional Park soils. *European Journal of Soil Biology*, 47 (4), 230-235. doi: 10.1016/j.ejsobi.2011.05.002
- Vélez, T. M., Campos, G. R. y Sánchez, G. H. (2014). Uso de Metabolitos Secundarios de las Plantas Para Reducir la Metanogénesis Ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17 (3), 489-499. ISSN: 1870-0462. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/939/93935728004.pdf>
- Walker, C. y Vestberg, M. (1994). A simple and inexpensive method for producing and maintaining closed pot cultures of arbuscular mycorrhizal fungi. *Agricultural Science in Finland*, 3 (3), 233-240.
- Xueming, Z., Zhenping, H., Yu, Z., Huanshi, Z. y Pei, Q. (2014). Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and Phosphate-Solubilizing Fungus (PSF) on Tolerance of Beach Plum (*Prunus maritima*) Under Salt Stress. *Australian Journal of Crop Science*, 8 (6), 945-950.
- Yang, H., Yuan, Y., Zhang, Q., Tang, J., Liu, Y. y Chen, X. (2011). Changes in Soil Organic Carbon, Total Nitrogen and Abundance of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Along a Large-Scale Aridity Gradient. *Catena*, 87, 70-77. doi: 10.1016/j.catena.2011.05.009