



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
ORIENTACIÓN PROFESIONALIZANTE

**APLICACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EN LA PRODUCCIÓN DE
PLANTAS DE SELVA BAJA CADUCIFOLIA
CON FINES DE REFORESTACIÓN**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

M A E S T R O E N M A N E J O
D E
R E C U R S O S N A T U R A L E S

P R E S E N T A
BIOL. DENISE ACOSTA PEÑALOZA

DIRECTOR
DR. EDGAR MARTÍNEZ FERNÁNDEZ



CUERNAVACA, MORELOS

JUNIO 2019

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-México) por la beca otorgada durante mis estudios de maestría.

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) por permitir realizar mis estudios de maestría.

Al Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) por la oportunidad brindada para realizar mis estudios en la Maestría en Manejo de Recursos Naturales.

A mi director de tesis Dr. Edgar Martínez Fernández por la paciencia y apoyo brindado durante la realización de mis estudios de maestría.

Al comité evaluador: Dra. Maura Telléz Telléz por su activa participación, propositiva y entusiasta en la elaboración de la investigación, gracias por sus comentarios, sugerencias y observaciones y al Dr. Guadalupe Peña Chora por su valiosa dedicación y aportes para enriquecer esta investigación.

Así como al comité revisor M. en C. Ma. De Lourdes Acosta Urdapilleta y M. en C. Ma. Eugenia Bahena Galindo por las valiosas contribuciones y tiempo dedicado para corregir el manuscrito final.

A la Dra. Yolanda Nava Gutiérrez por aceptarme para la realización de mi estancia de investigación, por dedicarme su tiempo y confianza, además de apoyarme en la identificación taxonómica de esta investigación.

DEDICATORIA

A Andrea mi motor de vida, con tu afecto y tu cariño detonas mi felicidad, mi esfuerzo, mis ganas de buscar lo mejor para ti. Me has enseñado y me sigues enseñando muchas cosas maravillosas de esta vida. Gracias hija por estar a mi lado en cada momento, te amo.

A mis padres Carlos y Diana, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Los amo con mi vida.

A mi Hermano Juan Carlos, a Itzel, a Emilio y a Sebastián, por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento, gracias. A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
Índice de cuadros	i
Índice de figuras	ii
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	5
CAPÍTULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1. Selva baja caducifolia	7
2.2. Importancia ecológica de la selva baja caducifolia	8
2.3. Micorrizas	10
2.4. Tipos de micorrizas	10
2.5. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA)	13
2.6. Función de los HMA en los agroecosistemas	15
2.7. Efectos benéficos individuales de las especies que integran el consorcio	18
2.8. Diversidad molecular de HMA	19
2.9. Los métodos moleculares para la investigación de los HMA	20
2.10. Taxonomía de los HMA	22
2.11. Aplicación de HMA en viveros forestales	24
2.12. Objeto de estudio	28
2.12.1 <i>Swietenia humilis</i> Zucc	28
2.12.2. <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ortega) Sarg	29
2.12.3. <i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit.	30
CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN	31
CAPÍTULO 4. OBJETIVOS	31
4.1. Objetivo general	31
4.2. Objetivos específicos	31
CAPÍTULO 5. HIPÓTESIS	32
CAPÍTULO 6. MATERIALES Y MÉTODOS	32
6.1. Muestras de suelo	33
6.2. Aislamiento de esporas micorrízicas arbusculares	34
6.3. Colonización micorrízica	36
6.4. Procedimiento para tinción de raíces micorrizadas	38
6.5. Identificación de los HMA	38

6.5.1. Elaboración de preparaciones	38
6.5.2. Identificación	38
6.6. Propagación del inóculo en cultivo trampa	39
6.7. Inoculación de plantas nativas con HMA	41
6.8. Variables a evaluar	42
6.9. Análisis estadístico	42
CAPÍTULO 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
7.1. Aislamiento de esporas de HMA	43
7.2. Porcentaje de colonización de raíces	42
7.3. Identificación de HMA	45
7.4. Colonización y vesículas en raíces teñidas	50
7.5. Inoculación de plantas nativas con HMA	51
CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES	64
CAPÍTULO 9. LITERATURA CITADA	65

ÍNDICE DE CUADROS

CONTENIDO	PÁGINA
Cuadro 1. Clasificación actual de Glomeromycota.	23
Cuadro 2. Origen del inóculo en el sustrato del cultivo trampa.	40
Cuadro 3. Tratamientos para la inoculación de plantas nativas de SBC con HMA.	42
Cuadro 4. Contenido de humedad, número de esporas y porcentaje de colonización en muestras de suelo de tres especies de SBC.	45
Cuadro 5. Géneros de HMA encontrados en las muestras de suelo de caobilla, palo dulce y guaje, observadas en microscopio óptico (40 x).	48
Cuadro 6. Parámetros de crecimiento de caobilla a los 120 días después de la siembra, en el experimento de inoculación con HMA.	52
Cuadro 7. Parámetros de crecimiento del vástago de guaje a los 120 días después de la siembra, en el experimento de inoculación con HMA.	55
Cuadro 8. Parámetros de crecimiento del vástago de palo dulce a los 120 días después de la siembra, en el experimento de inoculación con HMA.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	PÁGINA
Figura 1. Diferencias entre la colonización de las ectomicorrizas y endomicorrizas en las raíces de las plantas.	12
Figura 2. Desarrollo de hifas intramatricales y estructuras del hongo micorrízico arbuscular en la raíz.	14
Figura 3. Ubicación de la zona de estudio.	32
Figura 4. Colecta de muestras de suelo en seis sitios diferentes en la localidad de Huajintlán, Morelos.	33
Figura 5. Muestras de suelo tomadas en seis sitios diferentes en la localidad de Huajintlán, Morelos y colocadas en bolsas de polipapel.	34
Figura 6. Extracción de esporas por el método de tamizado húmedo de Gerdemann y Nicolson (1963).	35
Figura 7. Tinción de raíces micorrizadas por el método de Phillips y Hayman (1970).	37
Figura 8. Ingredientes para la elaboración de sustratos para cultivo trampa.	40
Figura 9. Siembra, crecimiento y cosecha de sorgo como cultivo trampa.	41
Figura 10. Establecimiento del experimento de inoculación de especies de SBC con HMA.	42
Figura 11. Microfotografías de las raíces de caobilla (<i>Swietenia humilis</i>) mostrando en su interior las hifas y vesículas de HMA.	50
Figura 12. Microfotografías de las raíces de palo dulce (<i>Eysenhardtia polystachya</i>) mostrando en su interior las hifas y vesículas de HMA.	50
Figura 13. Microfotografías de las raíces de guaje (<i>Leucaena leucocephala</i>) mostrando en su interior las hifas y vesículas de HMA.	51
Figura 14. Porcentaje de colonización e indicadores de crecimiento de caobilla (<i>Swietenia humilis</i>) inoculada con HMA.	53
Figura 15. Parámetros de crecimiento de planta y estructura de colonización de raíz en caobilla (<i>Switwnia humilis</i>) inoculada con HMA.	54
Figura 16. Porcentaje de colonización e indicadores de crecimiento de guaje (<i>Leucaena leucocephala</i>) inoculado con HMA.	56
Figura 17. Parámetros de crecimiento de planta y estructura de colonización de raíz en guaje (<i>Leucaena leucocephala</i>) inoculada con HMA.	57
Figura 18. Porcentaje de colonización e indicadores de crecimiento de palo dulce (<i>Eysenhardtia polystachya</i>) inoculado con HMA.	59
Figura 19. Parámetros de crecimiento de planta y estructura de colonización de raíz en palo dulce (<i>Eysenhardtia polystachya</i>) inoculada con HMA.	60
Figura 20. Porcentaje de colonización e indicadores de crecimiento de caobilla (<i>Swietenia humilis</i>), guaje (<i>Leucaena leucocephala</i>) y palo dulce (<i>Eysenhardtia polystachya</i>) inoculados con HMA.	63

RESUMEN

Las consecuencias de la pérdida de la cubierta vegetal son severas, ya que causan graves daños en el medio ambiente al provocar la transformación de ecosistemas naturales y consecuentemente la pérdida de hábitats y de la biodiversidad. El estado actual de perturbación de la selva baja caducifolia (SBC) en México, requiere de la reestructuración de los programas de conservación y restauración para detener el deterioro progresivo ya que la pérdida de este tipo de vegetación es producto principalmente de la acción antropogénica. La mejor estrategia para la recuperación de la SBC es la reforestación con plantas nativas, por lo que la producción de plantas de vivero es de suma importancia. Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son constituyentes esenciales de la microbiota natural del suelo en ecosistemas naturales y juegan un papel importante en la fertilidad de los suelos, debido a que funcionan asociados a las raíces de las plantas. En los últimos años se le ha dado especial importancia a los HMA considerando los efectos benéficos en los diferentes procesos de propagación de plantas. Sobre todo en aquellas plantas que requieren una fase de vivero antes de que se establezcan en el campo. Se ha reportado que la inoculación con HMA durante la etapa de vivero incrementa considerablemente la calidad de las plantas y en consecuencia mejora su resistencia a patógenos, optimizando su crecimiento, por lo que es de suma importancia realizar estudios sobre la diversidad de HMA asociados a plantas de importancia en SBC, que representen la base para su aplicación futura en el proceso de producción de estas plantas en los viveros forestales de México. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación de HMA en plantas nativas de selva baja caducifolia producidas en vivero, en el estado de Morelos. Se recolectaron muestras de suelo y de raíces de árboles de caobilla (*Swietenia humilis*), palo dulce (*Eysbendhartya polistachya*) y guaje (*Leucaena leucocephala*), en la zona de goteo y fueron procesadas para la extracción de esporas por el método de tamizado húmedo y decantación. Para medir la colonización micorrízica, las raíces fueron sometidas a un procedimiento de clareo y tinción. La identificación de los HMA se basó en las características morfológicas de las esporas, el color, el tipo de hifa de sostén, el tamaño, la forma, la ornamentación, así como el número y el grosor de las capas

que conforman la pared de la espora. Para la identificación se consultaron las claves taxonómicas correspondientes a cada grupo. Se propagó el inóculo mediante un cultivo trampa de sorgo utilizando inóculo proveniente de la rizósfera de las diferentes especies. Para evaluar el efecto de la inoculación con HMA, por separado se sembraron semillas de caobilla, palo dulce y guaje en bolsas forestales de un litro y se manejaron como se hace comúnmente en el vivero. A los 120 días después de la siembra, se registraron los datos de: altura de la planta, peso seco del vástago, peso seco de la raíz y porcentaje de colonización de HMA. Los datos se analizaron con análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar de cinco tratamientos y seis repeticiones, por separado en cada especie. La unidad experimental fue de una maceta con una planta. Las medias se separaron mediante la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Los resultados mostraron diferencias significativas en el peso seco de vástago y de raíz en caobilla; en guaje no se observaron diferencias significativas en ninguna de las variables; y en palo dulce se observaron diferencias en la altura de planta, en el peso seco de vástago y en el peso seco de raíz. El número de esporas cuantificadas en las muestras de suelo de la rizósfera fueron de 68.56, 51.00 y 31.63 esporas/100g de suelo para caobilla, palo dulce y guaje, respectivamente. Los porcentajes de colonización de los HMA observados fueron de 17.21%, 70.55% y 58.32% para caobilla, palo dulce y guaje, respectivamente. De los aislamientos se identificaron tres géneros con cuatro especies, que correspondieron a *Glomus* sp., *Glomus aggregatum*, *Cloroideglomus* sp. y *Acaulospora* sp. en caobilla; y *Glomus* sp. y *Acaulospora* sp. en palo dulce y en guaje. En la evaluación de la inoculación de las plantas en vivero, los porcentajes de colonización de los tratamientos micorrizados fueron estadísticamente iguales entre sí y superiores a los no micorrizados, y en el caso de los parámetros de crecimiento la respuesta fue diferente en cada especie evaluada.

ABSTRACT

The consequences of the loss of vegetation cover are severe, since they cause serious damage to the environment by causing the transformation of natural ecosystems and consequently the loss of habitats and biodiversity. The current state of disturbance of the tropical deciduous forest (TDF) in Mexico, requires the restructuring of conservation and restoration programs to stop the progressive deterioration since the loss of this type of vegetation is mainly the result of anthropogenic action. The best strategy for the recovery of the TDF is the reforestation with native plants, so the production of nursery plants is of utmost importance. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are essential constituents of the natural soil microbiota in natural ecosystems and play an important role in the fertility of soils, because they work in association with the roots of plants. In recent years, special importance has been given to AMF considering the beneficial effects in the different plant propagation processes. Especially in those plants that require a nursery phase before they are established in the field. It has been reported that the inoculation with AMF during the nursery stage considerably increases the quality of the plants and consequently improves their resistance to pathogens, optimizing their growth, so it is very important to carry out studies on the diversity of AMF associated with plants of importance in TDF, which represent the basis for its future application in the process of production of these plants in the forest nurseries of Mexico. The objective of this work was to evaluate the effect of the inoculation of AMF on native plants of low deciduous forest produced in the nursery, in Morelos State. Samples of soil and roots of “caobilla” trees (*Swietenia humilis*), “palo dulce” trees (*Eyshendhartya polistachya*) and “guaje” trees (*Leucaena leucocephala*) were collected in the drip zone and processed for the extraction of spores by the wet-sieving and decanting method. To measure mycorrhizal colonization, the roots were subjected to a thinning and staining procedure. The identification of the AMF was based on the morphological characteristics of the spores, the color, the type of supporting hyphae, the size, the shape, the ornamentation, as well as the number and thickness of the layers that integrate the wall of the spore. For identification, the taxonomic keys corresponding to each group were consulted. The inoculum was propagated using a sorghum trap culture using inoculum from

the rhizosphere of the different species. To evaluate the effect of the inoculation with AMF, seeds of “caobilla”, “palo dulce” and “guaje” were planted separately in one liter forest bags and were handled as is commonly done in the nursery. At 120 days after sowing, the following data were recorded: plant height, dry stem weight, root dry weight and percentage of AMF colonization. The data were analyzed with analysis of variance under a completely randomized design of five treatments and six repetitions, separately in each species. The experimental unit was a pot with a plant. The means were separated by the Tukey test ($P < 0.05$). The results showed significant differences in the dry weight of stem and root in “caobilla”; in “guaje” no significant differences were observed in any of the variables; and in “palo dulce” differences were observed in plant height, dry stem weight and root dry weight. The number of spores quantified in the soil samples of the rhizosphere were 68.56, 51.00 and 31.63 spores/100g of soil for “caobilla”, “palo dulce” and “guaje”, respectively. The percentages of colonization of the AMF observed were 17.21%, 70.55% and 58.32% for “caobilla”, “palo dulce” and “guaje”, respectively. Of the isolates, three genera with four species were identified, which corresponded to *Glomus* sp., *Glomus aggregatum*, *Cloroideglomus* sp. and *Acaulospora* sp. in “caobilla”; and *Glomus* sp. and *Acaulospora* sp. in “palo dulce” and “guaje”. In the evaluation of the inoculation of the plants in the nursery, the colonization percentages of the mycorrhizal treatments were statistically equal to each other and superior to the non-mycorrhized ones, and in the case of the growth parameters the response was different in each evaluated tree species.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Las selvas bajas caducifolias (SBC) representan el 42% de los ecosistemas tropicales a nivel mundial y se consideran como las más amenazadas (Murphy y Lugo, 1986). Específicamente, la pérdida de este tipo de vegetación es producto de la acción antropogénica y de las fuerzas naturales.

A veces se hacen diferentes interpretaciones de acuerdo al sistema que está usando y con frecuencia se mezclan diferentes esquemas de clasificación, lo que origina ambigüedades. El uso de términos y criterios subjetivos es frecuente, lo que dificulta la clasificación y la nominación de las comunidades vegetales. Una muestra de ello lo constituyen los datos disponibles sobre la superficie y el porcentaje de la selva baja caducifolia del país. Donde se observan divergencias que reflejan, en cierta medida, criterios diferentes para clasificar las selvas bajas caducifolias, y por lo tanto, para definir su distribución en el territorio nacional (González-Medrano, 2004).

En México, el trópico seco ocupa una superficie de 31.51 millones de ha, lo que equivale al 11.6% del territorio nacional. Se localiza en altitudes variables desde los 100 hasta los 1900 msnm, con temperatura media anual superior a 18 °C; el mes más frío con 16 °C y a la mínima extrema de -4 °C, con heladas frecuentes y precipitación pluvial de 600 a 1300 mm anuales, distribuidas en un periodo de 115 a 175 días, con una marcada estacionalidad en la precipitación. La vegetación que caracteriza a esta zona son los bosques o selvas caducifolias y subcaducifolias, generalmente bajas o medias (Challenger y Soberón, 2008).

La heterogeneidad ambiental en la que se desarrolla la SBC promueve diferentes micro hábitats, con diferencias en insolación, exposición, pendiente y acumulación de suelo (Trejo, 1996). Se ha visto impactada por la condición humana que ha provocado su deforestación como consecuencia del desarrollo de diversas actividades, principalmente la ganadería extensiva, la extracción de madera, la agricultura y los incendios forestales (SEMARNAT,

2013a). Las consecuencias de la pérdida de la cubierta vegetal son severas, ya que no sólo implica la pérdida de un recurso económico potencial, sino que causa graves daños en el medio ambiente al provocar la transformación de ambientes naturales y consecuentemente la pérdida de hábitats y de la diversidad.

En Morelos, la superficie de las selvas bajas caducifolias (SBC) corresponde a 138,119.28 hectáreas, lo que representa 28.4 % de la superficie estatal, se compone por solo un tipo de vegetación y se distribuye en 29 de los 33 municipios de la entidad (SEMARNAT, 2013b).

El estado actual de perturbación de las selvas bajas caducifolias y en general de las áreas naturales en México, requiere de la reestructuración de los programas de conservación y restauración para evitar el deterioro progresivo de los recursos naturales y promover su conservación y recuperación. En general, según Aguilar-Benítez (1990), existen diversos métodos para restaurar las zonas tropicales perturbadas con base en la regeneración natural de los ecosistemas. Entre éstos destacan:

1. La utilización y enriquecimiento del banco de semillas.
2. La regeneración con base en estructuras de reproducción vegetativa.
3. La introducción directa de plántulas de especies nativas.

De los métodos anteriores, el que representa la mayor probabilidad de éxito en el menor tiempo posible es la introducción directa de plántulas de especies nativas. La mejor estrategia para la recuperación de la SBC es la reforestación con plantas nativas, por lo que la producción de plantas de vivero es de suma importancia. Y para asegurar el éxito de las plantaciones futuras es importante considerar las condiciones óptimas para el desarrollo adecuado de las plantas en su hábitat natural. Entre estas condiciones destacan las relaciones benéficas con las poblaciones microbianas del suelo que son capaces de mejorar las condiciones del desarrollo vegetal y promover directamente el crecimiento (Aguilar-Benítez, 1990).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son constituyentes esenciales de la microbiota natural del suelo en ecosistemas naturales y probablemente colonicen más tejidos vegetales que cualquier otro tipo de organismos. Su abundancia y la influencia en la nutrición y crecimiento de las plantas hospedadoras, es de gran trascendencia fisiológica y ecológica para el funcionamiento y estabilidad de las comunidades vegetales. Los HMA juegan un papel importante en la fertilidad de los suelos, debido a que estos organismos funcionan asociados a las raíces de las plantas (Barrer, 2009).

CAPÍTULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Selva baja caducifolia

Las selvas bajas caducifolias (SBC) son asociaciones vegetales de zonas cálido-húmedas (Aw), que se caracterizan por presentar temperatura promedio anual superior a los 20 °C (Rzedowski, 2006), precipitación anual de 1200 mm como máximo y se distribuyen entre los 0 y 1700 msnm. Estos ecosistemas experimentan una estación seca que puede durar de 7 a 8 meses, lo cual provoca un déficit hídrico y de los nutrientes minerales disponibles para la vegetación, dando como resultado un ecosistema altamente complejo y diverso (Bullock *et al.*, 1995). La temporalidad de las precipitaciones es uno de los factores dominantes en los patrones temporales de la actividad biológica tales como el crecimiento y la reproducción, los cuales se sincronizan con la disponibilidad de agua (Murphy y Lugo, 1986).

La característica más sobresaliente de esta asociación vegetal es su carácter caducifolio ya que la mayoría de las especies pierden sus hojas durante un periodo de 5 a 7 meses, lo cual origina un contraste fisionómico muy marcado entre la temporada de secas y la de lluvias (Pennington y Sarukhán, 1998). La altura promedio de los árboles varía generalmente entre los 5 y 15 m (Rzedowski, 2006). Las formas de vida suculentas son frecuentes, se encuentran los géneros *Agave*, *Opuntia*, *Lemaireocereus*, *Pachycereus* y *Cephalocereus*, entre otros. Los bejucos

son abundantes y las epífitas se reducen a pequeñas bromelias y a algunas orquídeas (Lott, 1993). En general, la composición de especies de este tipo de selvas es altamente diversa y se presentan muchas variantes debido a diferencias en aspectos del suelo como tipo, profundidad y exposición, entre otros (Lott *et al.*, 1987).

2.2. Importancia ecológica de la selva baja caducifolia

La diversidad de los procesos ecológicos que se dan dentro del ecosistema de la SBC, proporcionan componentes bióticos y abióticos que integran procesos funcionales físicos, químicos y biológicos, en donde el agua, la energía y los materiales fluyen y se transforman proporcionando servicios de regulación de la naturaleza, de los cuales la comunidad obtiene diversos beneficios como: control de inundaciones, resistencia a los incendios, y mantenimiento de la fertilidad edáfica. Sin embargo, existen otros servicios ambientales muy importantes que dan soporte a los anteriores, estos son los procesos ecológicos básicos que mantienen el ecosistema como la entrada, salida, almacenamiento y flujos relacionados con el agua, energía y elementos minerales en el ecosistema (Escobar *et al.*, 2008).

Este tipo de ecosistemas soportan ecológicamente actividades productivas y tienen una gran diversidad biológica, así como también da refugio a la fauna silvestre. Esta vegetación provee bienes y servicios ambientales indispensables para la subsistencia de la sociedad humana (Millenium Ecosystem Assesment, 2005; Sunderlin *et al.*, 2008).

En México, la selva baja caducifolia es alterada por diversas razones, pero principalmente por la ganadería extensiva, la extracción de madera, la agricultura y a los incendios forestales (SEMARNAT, 2013a).

Las consecuencias de la pérdida de la cubierta vegetal son severas, ya que no sólo implica la pérdida de un recurso económico potencial, sino que causa graves daños en el medio ambiente al provocar la transformación de ambientes naturales y consecuentemente la

pérdida de hábitats y diversidad (Cervantes, 1996). Según Lugo (1986) y Toledo (1988), con el desarrollo de la agricultura y pastoreo se reduce en gran medida la diversidad de especies en los trópicos, ya que la selva entera es removida perdiendo de 90% a 95% de su totalidad (Janzen, 1986). Adicionalmente, con la pérdida de la cubierta vegetal, hay disfunciones en el ciclo del agua, ya que al abrirse un claro aumenta la evapotranspiración como resultado de las altas temperaturas del suelo y disminuye la protección de éste contra el impacto de la lluvia (Greenland *et al.*, 1979), lo cual afecta la capacidad que tengan las plantas para captar el agua (Cervantes *et al.*, 1988).

La erosión del suelo es uno de los procesos más drásticos durante la transformación, debido a que los rangos de erosión dependen de varios factores, como lluvia, tipo de sedimentos, capa del suelo superficial, topografía y prácticas de manejo (Morgan, 1979; Hudson, 1981).

En la SBC existen varias especies que dominan el paisaje, siendo las más comunes *Conzattia multiflora*, *Lysiloma acapulcense*, *L. divaricata* (Fabaceae), y varias especies de los géneros *Bursera* (Burseraceae) y *Ceiba* (Bombacaceae). En las zonas alteradas se establecen asociaciones de vegetación secundaria formadas principalmente por arbustos espinosos mimosoideos (Fabaceae), con especies de los géneros *Acacia*, *Mimosa* y *Prosopis*, entre otras. El mayor porcentaje de floración y fructificación ocurre en la época de secas (Dorado *et al.*, 2002).

En las selvas tropicales se distribuyen especies forestales de importancia económica como el cedro rojo (*Cedrela odorata* L.), el cual se encuentra bajo la categoría “sujeta a protección especial” por la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010) y “vulnerable” por la International Union for Conservation of Nature (IUCN, 2011), debido a sus bajas poblaciones.

Aunque en estos ecosistemas se concentra el 35% de diversidad de plantas conocidas y el 20% de carbón orgánico del suelo (Jobbagy y Jackson, 2000), la distribución, composición y diversidad de especies vegetales, se deben en gran medida a la asociación que ejercen con los HMA, se estima que el 95% de las especies arbóreas tropicales forman asociaciones simbióticas mutualistas con este tipo de hongos (LeTacon *et al.*, 1998), cuyo papel es esencial para el buen funcionamiento y mantenimiento en sus ecosistemas naturales (Salas, 2004).

De acuerdo a las cifras actuales de HMA en el territorio nacional existen un total de 97 especies, lo que representa un poco más del 40% de las especies conocidas a nivel mundial (Méndez-Cortés *et al.*, 2012).

2.3. Micorrizas

La palabra micorriza etimológicamente proviene del griego (*mycos*= hongo y *rhiza*= raíz), fue utilizado por primera vez en el año de 1885 por el botánico alemán Albert Bernhard Frank para hacer referencia a determinada asociación entre algunos hongos del suelo y las raíces de las plantas. El término describe la asociación simbiótica de las raíces de plantas con hifas de hongos especializados del suelo, y se considera el órgano principal involucrado en la captación de nutrientes por la mayoría de las plantas terrestres (Camarena-Gutiérrez, 2012).

2.4. Tipos de micorrizas

De acuerdo a la forma de penetración del hongo en la raíz se agrupan en ectomicorrizas y endomicorrizas (Figura 1), y se pueden distinguir seis tipos de asociaciones en función de su morfología y de los taxones de plantas asociados con hongos:

- 1) Ectomicorrizas. Son asociaciones formadas entre un número limitado de ascomicetos y basidiomicetos con 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 (Trevor *et al.*, 2001).

- 2) Arbutoide. Son asociaciones formadas entre un número limitado de basidiomicetos. 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 (Molina y Trappe, 1982).
- 3) Monotropoide. Son asociaciones formadas entre un número limitado de basidiomicetos. Las especies de plantas que tienen esta micorriza son no fotosintéticas. La evidencia sugiere que los hongos que forman este tipo de micorriza se asocian también a árboles vecinos fotosintéticamente activos, y que han desarrollado un mecanismo para obtener sus fotosintatos (Camarena-Gutiérrez, 2012).
- 4) Ericoide. Son asociaciones formadas entre un número limitado de ascomicetos y basidiomicetos. 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. 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 (Cairney y Ashford, 2002).
- 5) Orquideoide. Son asociaciones formadas entre un número limitado de basidiomicetos. Sólo se desarrollan en la familia Orchidaceae. La principal

característica de esta micorriza es la formación de pelotones dentro de las células de la planta (Smith y Read, 2008).

- 6) Arbuscular. También llamada micorriza vesicular-arbuscular. Es una asociación entre las raíces de la mayoría de plantas vasculares y un grupo pequeño de hongos del nuevo phylum Glomeromycota (Schwarzott *et al.*, 2001). Esta micorriza se caracteriza por la presencia de una hifa intra o intercelular, arbuscúlos (hifas finamente ramificadas que participan en el intercambio de nutrientes), micelio extra-radical que conecta a la raíz con el suelo, y esporas formadas en el micelio extra-radical. Algunas especies forman estructuras llamadas vesículas que son porciones de hifa que se llenan de cuerpos lipídicos, dando a este grupo el nombre de micorriza vesicular-arbuscular (Camarena-Gutiérrez, 2012).

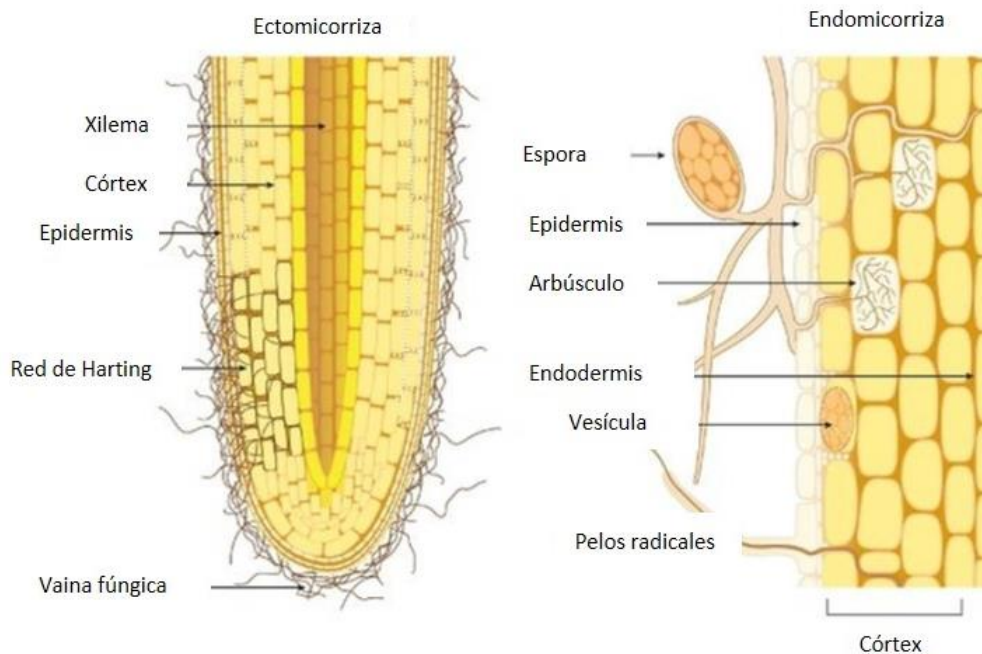


Figura 1. Diferencias entre la colonización de las ectomicorrizas y endomicorrizas en las raíces de las plantas (Bonfante y Genre, 2010).

2.5. Hongos micorrízicos arbusculares

El tipo de asociación hongo-raíz más extendido en la naturaleza tal vez sea la llamada endomicorriza o micorriza arbuscular, formada por hongos del Phylum Glomeromycota, los cuales no desarrollan red de Hartig y colonizan intracelularmente la corteza de la raíz por medio de estructuras especializadas denominadas arbuscúlos, que actúan como órganos de intercambio de nutrimentos entre la célula vegetal y el huésped (Figura 2).

Algunos géneros de estos hongos forman también otro tipo de estructuras llamadas vesículas, compuestas principalmente por lípidos. Estas vesículas están presentes intercelularmente en la corteza de la raíz y se consideran reservorios de nutrimentos para el hongo. La presencia tanto de arbuscúlos como de vesículas dió lugar a que la simbiosis se conociera originalmente como vesículo-arbuscular (VA), sin embargo, no todas las especies de hongos forman vesículas, por lo que en la actualidad la asociación se conoce como micorriza arbuscular (MA) (Aguilera-Gómez *et al.*, 2007).

En esta relación, se produce transporte de nutrientes, beneficiando a ambos simbioses. La planta le transfiriere productos fotosintéticos al hongo a cambio de la adquisición de compuestos minerales del suelo, a través del micelio (Dreyer, 2007).

Los HMA se forman en una variedad de plantas hospederas y tienen cuatro componentes importantes: la raíz, las estructuras de hongos dentro y entre las células de la raíz (hifa intrarradical), un micelio extrarradical en el suelo y la interfaz (Peterson y Massicotte, 2004; Smith y Read, 2008). Las estructuras más comunes que poseen los HMA son esporas, hifa, arbuscúlos y vesículas.

La formación de HMA implica una serie de pasos que parten del reconocimiento de la raíz por el hongo, formación de un apresorio para la penetración en las células epidérmicas; la hifa se desarrolla en el córtex radical después de la penetración a la raíz para la formación de arbusculos, vesícula e hifas (Figura 2). Las esporas de los HMA, dependiendo de la especie, pueden tener un diámetro entre 30 μm y 500 μm (Smith y Read, 2008). Estas estructuras se caracterizan por el almacenamiento de lípidos y algunos hidratos de carbono.

Las paredes celulares de los HMA son gruesas conteniendo quitina y en algunos casos poseen glucano (Bago *et al.*, 1998; Smith y Read, 2008). Cuando las esporas germinan, hay crecimiento de hifas extra radicales (Smith y Read, 2008).

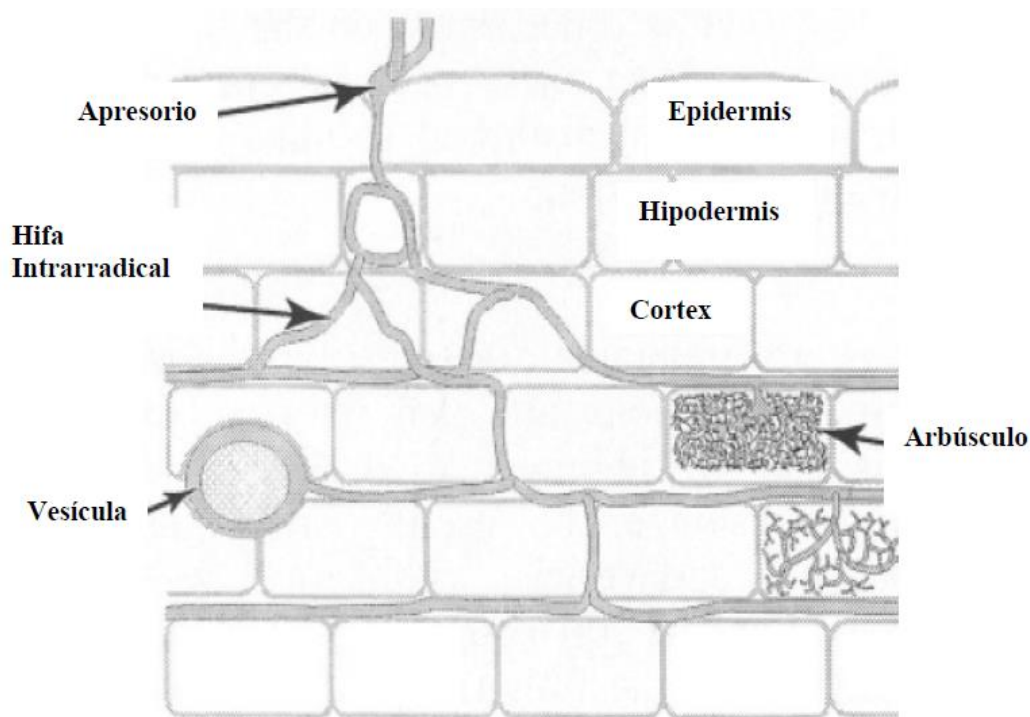


Figura 2. Desarrollo de hifas intramatriciales y estructuras del hongo micorrízico arbuscular en la raíz (Brundett y Abbott, 2002).

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), son asociaciones ecológicamente mutualistas entre hongos del phylum Glomeromycota y la inmensa mayoría de las plantas (cultivadas y silvestres). Se trata de una simbiosis prácticamente universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales. Las micorrizas son tan antiguas como las propias plantas y se conoce su existencia desde hace más de 400 millones de años (Remy *et al.*, 1994); estimándose que aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo (Cornwell *et al.*, 2001; Strullu-Derrien y Strullu, 2007; Miransari *et al.*, 2009; Pérez *et al.*, 2011).

En los suelos pobres de nutrientes en las zonas tropicales, muchas plantas son dependientes obligadamente o ecológicamente de los HMA (Gemma *et al.*, 2002). Por lo tanto, es importante estudiar la biodiversidad de los HMA, ya que esto puede mejorar la comprensión del funcionamiento de los bosques tropicales, la sucesión vegetal y la reforestación en áreas disturbadas. Los bosques tropicales albergan una alta diversidad de animales y plantas y por tanto se ha realizado mucha investigación sobre la biodiversidad en estos hábitats. Sin embargo, se ha puesto poca atención a la diversidad y funciones de los hongos microscópicos, incluyendo los HMA de este ecosistema.

Las micorrizas tienen aplicaciones inmediatas para resolver problemas a escala de los ecosistemas. Se ha señalado que la tasa de sucesión o restauración de un ecosistema degradado podría acelerarse mediante la inoculación de HMA o la manipulación de sus poblaciones (Allen, 1991).

2.6. Función de los HMA en los agroecosistemas

La microbiota del suelo juega un papel fundamental en la regulación de los ecosistemas terrestres, influyendo en la productividad, diversidad y estructura de las comunidades

vegetales (Van Der Heijden *et al.*, 1998). La materia orgánica es descompuesta por la actividad de diferentes especies de bacterias y hongos que liberan los nutrientes al suelo, dejándolos disponibles para que sean nuevamente absorbidos por las plantas. La absorción puede ser directa a través de las raíces o indirecta a través de los microorganismos que forman simbiosis con las raíces (hongos formadores de micorrizas). Las micorrizas de tipo arbusculares representan del 5% al 50% de la biomasa de los microbios del suelo y son considerados como una comunidad biológica diversa y activa, esencial para incrementar la sostenibilidad de los agroecosistemas, representando las simbiosis de mayor relevancia en los sistemas agroecológicos (Pérez *et al.*, 2011).

En la agricultura, el uso de HMA tiene un gran potencial debido a que facilitan la disponibilidad de nutrientes para las plantas como los de poca movilidad (fósforo), mayor absorción de agua debido a la extensa red de hifas que el hongo forma, resistencia a patógenos de hábito radical como nemátodos. Por lo tanto, plantas micorrizadas poseen una ventaja importante con respecto a las plantas no micorrizadas; así mismo, cualquier especie de HMA puede colonizar o formar simbiosis con cualquier planta; sin embargo, el pH, la humedad del suelo y la disponibilidad de nutrientes, influyen tanto en la micorrización en diferentes cultivos como en las variedades de una misma especie vegetal, dando diferentes respuestas en crecimiento y desarrollo de la planta (Barrer, 2009).

La micorriza arbuscular es la más antigua que se conoce y probablemente se originó hace unos 400 millones de años (Remy *et al.*, 1994). Se considera muy importante en el proceso de la colonización del ambiente terrestre por las plantas (Azcón-Aguilar y Barea, 1996; Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2001; Barea *et al.*, 2005) y en comparación con los demás tipos de micorriza juntos, ésta se presenta en más especies vegetales; se han registrado en México 44 especies de hongos capaces de establecer micorrizas arbusculares, que corresponden al 29% de las especies conocidas mundialmente.

Los HMA constituyen un componente importante de la comunidad microbiana del suelo y son hongos extremadamente exitosos que forman simbiosis mutualistas con casi dos terceras partes de las especies vegetales (Trappe, 1987). Estos mejoran la nutrición de las plantas y promueven la diversidad vegetal (Van der Heijden *et al.*, 1998), ayudan al control de plagas y patógenos (Azcon-Aguilar y Barea, 1996) y mejoran el vigor de las plantas en ambientes contaminados (Hildebrand *et al.*, 1999).

En los últimos años se le ha dado especial importancia a los HMA considerando los efectos benéficos de estos micosimbiontes hacia sus plantas hospedantes, por lo que el manejo de estos organismos tiene uso potencial en los diferentes procesos de propagación de plantas. Aunque pueden aplicarse en campo, la principal aplicación de estos hongos es en aquellas plantas que requieren una fase de vivero antes de que se establezcan en el campo (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1999).

En México se conocen pocos estudios referentes a la diversidad funcional y morfológica de los HMA nativos, para aplicaciones biotecnológicas en la producción comercial de plantas, ya sea para la agricultura (cultivos ornamentales, cultivos frutícolas, agricultura protegida, etc.) o para propósitos ambientales (restauración ecológica). Para el caso de ecosistemas naturales hay algunos registros de HMA de regiones áridas y semiáridas, bosques y praderas (Ferrera-Cerrato *et al.*, 2009).

Por otra parte, algunos HMA han sido descritos de la rizósfera de plantas nativas con importancia ecológica tales como *Mammillaria gaumeri*, *Pterocereus gaumeri*, *Stenocereus queretaroensis*, entre otras. Además, los beneficios de hongos micorrízicos arbusculares nativos han sido probados sobre el desarrollo de las plantas cuando han sido inoculados sobre *Acacia schaffneri*, *Mimosa biuncifera* y *Astrocarium mexicanum* (Alarcón *et al.*, 2012).

2.7. Efectos benéficos individuales de las especies que integran el consorcio

Diversos estudios han demostrado los efectos benéficos de la asociación simbiótica entre los HMA y las plantas (Gosling *et al.*, 2006; Akhtar y Siddiqui, 2008; Cano, 2011; Carrillo-Sánchez, 2015), tales como:

- Incremento en la superficie de absorción de agua y de nutrimentos, de los pelos radiculares, más la que se produce por la cobertura producida por el hongo.
- Incremento de la vida útil de las raíces absorbentes.
- Mejoramiento de la absorción iónica y acumulación eficiente, especialmente, en el caso del fósforo.
- Solubilización de minerales que se encuentran en el suelo, facilitando su absorción por las raíces de las plantas.
- Aumento de la capacidad fotosintética de la planta, por ende, la producción de biomasa de las plantas
- Resistencia de raíces a infecciones causadas por patógenos, ocupación de los espacios radiculares.
- Incremento de la tolerancia de las plantas a toxinas del suelo (orgánicas e inorgánicas), valores extremos de acidez del suelo.
- Disminuye el estrés causado por factores ambientales.

Las micorrizas son utilizadas ampliamente en diversos campos del quehacer humano. Algunos de sus usos incluyen los estudios de tipo fisiológico en plantas, en la microbiología, las aplicaciones a la biotecnología, en la producción comercial hortofrutícola y ornamental, en los procesos de reforestación y de recuperación de zonas áridas y de suelos degradados, como biorremedio en zonas contaminadas, como control biológico contra agentes patógenos de la rizosfera. La explotación de los beneficios de la micorrización artificial es

posible sólo respetando las leyes de los ecosistemas, lo que implica que antes de planear el uso de este método, es imprescindible conocer los organismos y ecosistemas envueltos. Las micorrizas se adaptan muy mal a las técnicas de agricultura intensiva, muy eficaz en términos de rendimiento, pero poco cuidadosas del mantenimiento de las propiedades y la estabilidad de los sistemas naturales (Varma, 1995; Azcón-Aguilar y Barea, 1996; Barea *et al.*, 2002; Guadarrama *et al.*, 2004; Miransari *et al.*, 2009).

2.8. Diversidad molecular de HMA

La investigación de HMA iniciada en 1973, fue seguida vigorosamente por numerosos investigadores en todo el mundo. Una gran cantidad de trabajos tienen que ver con aspectos benéficos de esta micorriza sobre el crecimiento de la planta. Esto indica la necesidad de desarrollar cultivos de HMA como bio-inoculantes para la agricultura, forestería y horticultura. Se han producido relativamente pocos trabajos dirigidos al cultivo, filogenia, aspectos taxonómicos y naturaleza de la simbiosis. Las razones de ello son principalmente tres: 1) los HMA son simbioses obligados y pocos autores han hecho el intento de cultivarlos en medio axénico, 2) no hay características confiables para la filogenia y taxonomía debido a que estos hongos no producen estados sexuales y sólo existen en estado imperfecto; en ausencia de esporas, hay estructuras que permiten la identificación hasta nivel de familia, y 3) la identificación de los micosimbiontes actuales confiere mayores beneficios al hospedante, debido a que encuentra una variedad de esporas de HMA en la vecindad de la raíz. Los enfoques de la identificación molecular tienen el potencial para revolucionar nuestra comprensión del HMA (Camarena-Gutiérrez, 2012).

Los análisis morfológicos y moleculares han conducido a grandes avances en la taxonomía y organización del phylum Glomeromycota. Se sabe que los hongos en este phylum forman micorrizas arbusculares, y por lo tanto, hasta ahora se han descrito tres clases, cinco órdenes, 14 familias y 29 géneros. En un sentido más amplio, la formación de

esporas en 10 de los géneros de micorrizas arbusculares son exclusivamente glomoides, uno es gigasporoide, siete son scutellosporoide, cuatro son entrophosporoides, dos son acaulosporoides y uno es pacisporoide. El bimorfismo de esporas se encuentra en tres géneros y un género se asocia con cianobacterias (Oehl *et al.*, 2011a).

2.9. Los métodos moleculares para la investigación de los HMA

Un gran grupo de especies forma esporas glomoides y se creía que había muy pocas características morfológicas de importancia para diferenciarlos. En consecuencia, los taxonomistas, han comenzado a basar las agrupaciones de las especies casi exclusivamente en características de filogenia molecular. Una revisión reciente de las especies glomoides ha demostrado, que la filogenia molecular es congruente con las características morfológicas de estos hongos (Oehl *et al.*, 2011b).

Además de la observación de las características morfológicas, frecuentemente se emplean técnicas bioquímicas y fisiológicas, que son muy laboriosas, requieren de mucho tiempo y suministran una resolución taxonómica insuficiente. En contraste, dos avances técnicos importantes han estimulado el uso de técnicas moleculares. El primero, la llegada de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) que ha permitido el análisis de pequeños grupos celulares o aún de una sola espora, material seco de herbario o de organismos extintos; El segundo, la selección de iniciadores (primers) específicos para hongos que han permitido un fácil acceso a las secuencias de nucleótidos (Camarena-Gutiérrez, 2012; Magurno *et al.*, 2019).

El análisis de la composición de bases del ADN ha demostrado que los genomas contienen muchas secuencias repetidas de ADN y que hay un contenido bajo de las bases guanina y citosina (35%) con niveles altos de metilcitosina. Se han logrado avances

significativos para revelar los mecanismos que gobiernan la simbiosis, particularmente, con relación a la respuesta molecular del hospedante y los genes involucrados. La hipótesis para explicar las respuestas de defensa atenuadas en la planta incluyen la degradación de elicitores; señales celulares a través de flujos alterados de azúcares y balance hormonal (Blee & Anderson, 2000).

Las tecnologías moleculares han sido exitosas, particularmente, para estudiar secuencias de ADN ribosomal (ADNr) en los HMA. Una célula en crecimiento tiene millones de ribosomas para la producción de proteínas. El ARN ribosomal (ARNr) es el componente estructural esencial de los ribosomas. Las copias múltiples altamente conservadas de los genes ARNr en un cromosoma dado están localizadas en tándem. Existe una fuerte presión selectiva (evolución) para mantener funcional al DNAr, debido a que sus moléculas intactas de ARNr son esenciales para la generación de ribosomas, síntesis de proteínas y función celular. Debido a estas características los datos moleculares del ADNr son muy utilizados para la determinación de relaciones filogenéticas o para discriminar especies estrechamente relacionadas. Inicialmente, los primers que ganaron una aceptación amplia fueron los que amplifican en un número elevado de especies de hongos y trabajan adecuadamente para analizar el ADN aislado de organismos individuales. Sin embargo, dichos iniciadores presentan un inconveniente ya que al aislar los ácidos nucleicos de la interacción planta-hongo, no excluyen las secuencias de las plantas. Estos métodos emergentes para el análisis molecular de las comunidades microbianas están permitiendo el aumento de los muestreos. A su vez, el aumento de éstos es la fuerza detrás de la caracterización de dichos grupos complejos y diversos espacialmente. En el futuro, los estudios de la simbiosis de los HMA se beneficiarán del desarrollo de las técnicas moleculares. El acoplamiento de estas técnicas con la experimentación fisiológica tradicional, ayudará a la comprensión de la interacción dinámica entre plantas y hongos (Camarena-Gutiérrez, 2012).

2.10. Taxonomía de los HMA

Dentro del Phylum Glomeromycota se ha agrupado a todos los HMA conocidos que han co-evolucionado conjuntamente con sus anfitriones las plantas, quienes conquistaron el medio terrestre (Pagano *et al.*, 2016; Salmerón-Santiago *et al.*, 2015). La taxonomía HMA se ha basado de acuerdo a características de la estructura subcelular de las esporas de los hongos y de la aplicación de técnicas moleculares, que ha permitido un avance importante en los estudios concernientes a la identificación y clasificación de estos hongos (Stürmer, 2012). Según Oelh *et al.* (2011a) se ha clasificado a los HMA en tres clases, cinco órdenes, 14 familias y 29 géneros con aproximadamente 230 especies descritas.

Los estudios realizados por Redecker *et al.* (2013), han permitido establecer un sistema de clasificación taxonómica de los HMA, basándose en los caracteres morfológicos, en análisis moleculares, estableciendo relaciones de parentesco para agruparlos y realizar la construcción de árboles filogenéticos que permiten el reconocimiento de géneros y especies. El sistema de clasificación y taxonomía de los HMA está establecido tal como se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación actual de Glomeromycota.

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género
Glomeromycota	Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i>
				<i>Funneliformis</i>
			<i>Simiglomus</i>	
			<i>Septoglomus</i>	
			Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>
		<i>Viscospora</i>		
		Diversisporales	Diversisporaceae	<i>Diversispora</i>
				<i>Redeckera</i>
			<i>Otospora</i>	
			Entrophosporaceae	<i>Entrophospora</i>
	Acaulosporaceae		<i>Acaulospora</i>	
	<i>Kuklospora</i>			
	Gigasporales	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>	
			Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>
		Scutellosporaceae	<i>Scutellospora</i>	
			<i>Orbispora</i>	
			Racocetraceae	<i>Racocetra</i>
		<i>Cetraspora</i>		
		Dentiscutataceae	<i>Dentiscutata</i>	
			<i>Fuscutata</i>	
<i>Quatunica</i>				
Archaeostormycetes		Archaeosporales	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>
	<i>Intraspora</i>			
	Ambisporaceae		<i>Ambispora</i>	
Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>			
Paraglomeromycetes	Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>	

Fuente: Oehl *et al.*, 2011a.

2.11. Aplicación de HMA en viveros forestales

Se han discutido ampliamente los efectos benéficos de las asociaciones de las plantas con los HMA, y diferentes autores lo han demostrado de manera específica en la germinación, el crecimiento inicial, factores que influyen en la colonización, en la producción de masiva de esporas, estrategias de inoculación, así como las relaciones con plantas leñosas, lo que refuerza la posibilidad de éxito del uso de los HMA en la producción de plantas de vivero para reforestación.

Del Águila *et al.* (2018) determinaron el efecto de la inoculación a plántulas de café (*Coffea arabica*) variedad Caturra, con nueve consorcios micorrízicos arbusculares y la compararon con un control (sin inoculación), durante siete meses en vivero. La procedencia de los consorcios micorrízicos fue de fincas cafetaleras de la Región San Martín en Perú. Se evaluaron el porcentaje de colonización, longitud de micelio extraradical, altura de planta, área foliar, biomasa aérea y biomasa radicular seca. Los resultados del estudio mostraron que tres de los nueve consorcios estudiados fueron más eficientes en el crecimiento y desarrollo de las plantas de café.

Con el fin de obtener inóculo nativo de HMA y determinar las condiciones más apropiadas para su producción a gran escala, Torres-Arias *et al.* (2017) probaron cuatro combinaciones de luz y temperatura en tres especies de plantas (*Calophyllum antillanum*, *Talipariti elatum* y *Paspalum notatum*). Se evaluaron los parámetros de crecimiento y desarrollo, así como el funcionamiento micorrízico de las plántulas. El tratamiento con luz natural a altas temperaturas (L-H) fue el más adecuado para el crecimiento y desarrollo de las tres especies de plantas, mostrando los valores más altos de biomasa total, principalmente de raíz, y un balance positivo de relación raíz-brote. Este tratamiento también promovió valores más altos de colonización de micorrizas de raíz, micelio externo y densidad de esporas. La condición L-H puede recomendarse para la producción de inóculo nativo, ya

que promueve una mejor expresión de la simbiosis HMA y una producción elevada de propágulos micorrízicos.

Viera *et al.* (2017) evaluaron el uso de micorrizas nativas en el desarrollo de plántulas de *Solanum hispidum* y *Nicotiana glauca* que son utilizadas como patrones de tomate de árbol en Ecuador. Se realizó muestreo de suelos y raíces en cuatro sitios donde se cultiva tomate de árbol injertado en los patrones mencionados. Los mejores resultados en cuanto al número de esporas y porcentaje de colonización de raíces se observaron en los suelos de las localidades de Mindo y Mitad del Mundo, donde se observaron incrementos de 145 y 127 %. La micorriza comercial (*Glomus* sp) mostró un desempeño aceptable pero siempre por debajo de los resultados obtenidos con los inóculos de las cepas nativas.

Para evaluar el efecto de tres HMA y del estiércol bovino (E) en el crecimiento inicial y contenido de pigmentos en ají (*Capsicum frutescens*) cv “Misterioso”, se evaluaron cinco tratamientos: plantas cultivadas en arena (T1); T1 + E (T2, testigo comercial); T1 + *Scutellospora fulgida* (T3); T1 + *Funneliformis mosseae* (T4) y; T1 + *Glomus manihotis* (T5). A los 55 días después del trasplante se observaron diferencias significativas en todas las variables. La mayor respuesta se obtuvo con el T4 para la mayoría de las variables seguido por el T3 y T2. Se concluye que los tratamientos con *F. mosseae* y *S. fulgida* (colonización micorrízica de 58.47% y 26.31%, respectivamente) así como el uso de estiércol favorecen el crecimiento inicial de las plantas (Jiménez *et al.*, 2017).

Huante *et al.* (2012) evaluaron el efecto de dos fuentes diferentes de inóculos locales de dos sitios contrastantes (bosque maduro y pastos) de HMA y un control no micorrizado, en el crecimiento de seis especies leñosas que difieren en características funcionales (crecimiento lento, intermedio y rápido), cuando se introdujo en un bosque seco estacionalmente tropical, convertido en pastizales abandonados. Mensualmente se midió

altura de la planta, área de cobertura y cantidad de hojas producidas por planta, durante la primera temporada de crecimiento en cada tratamiento. Se observó que las especies difieren en su habilidad para aprovechar los beneficios de HMA y la mayor capacidad de respuesta fue exhibida en la altura de planta y la producción de hojas de las especies de crecimiento lento *Swietenia humilis*, *Hintonia latiflora* y *Cordia alliodora*. Al final de la temporada de crecimiento (noviembre), la altura de planta de las especies de crecimiento rápido *Tabebuia donnel-smithii*, *Ceiba pentandra* y *Guazuma ulmifolia* no fueron influenciados por los HMA. Sin embargo, los inóculos de HMA aumentaron la producción de hoja de todas las especies de plantas, independientemente de las características funcionales de la especie, lo que sugiere una mejor explotación de espacio sobre el suelo y la generación de un entorno limitado de luz bajo el dosel, que contribuyó a la supresión del crecimiento de pastos. Se recomienda la plantación de plántulas inoculadas de cultivos ecológicos para restauración en áreas de pasturas abandonadas, debido a la alta capacidad de respuesta del crecimiento de plántulas en la mayoría de las especies. El uso de inóculo con mayor diversidad de HMA podría acelerar la restauración forestal ecológica de las comunidades de diferentes niveles del dosel.

Hernández-Cuevas *et al.* (2011) propagaron e inocularon con HMA a *Amelanchier denticulata* (tlaxistle) y *Eysenhardtia polystachya* (palo dulce), plantas nativas de América, que forman micorriza arbuscular y crecen en México sobre suelos someros y con escasez de nutrimentos. La propagación se hizo a partir de semillas, en una mezcla de vermiculita y turba (2:1). La mitad de las plantas de cada especie se inoculó con una mezcla de tres cepas de HMA aisladas de suelos de Tlaxcala (México): *Glomus claroideum*, *Acaulospora laevis* y *A. morrowiae*. El tlaxistle y el palo dulce alcanzaron valores por arriba del 40% de germinación y del 80% de supervivencia al trasplante. Aunque, los porcentajes de colonización micorrízica fueron bajos en los dos casos, menores al 10% para palo dulce y de 20% para tlaxistle, los individuos micorrizados mostraron las mejores respuestas en diámetro, altura, biomasa aérea ($p < 0.001$) y contenido de fósforo. También se analizan algunas variables indicadoras de calidad de planta en relación a la micorrización. Se concluye que la propagación a partir de semillas es una buena estrategia para la obtención de plantas de los

dos taxa estudiados y que la micorrización favorece significativamente su desarrollo inicial, ya que mejora sus rasgos de crecimiento, lo que es crítico para las plantas que serán destinadas al campo en programas de restauración.

Con base en que la micorrización es una alternativa biológica de bajo costo, que puede contribuir al éxito de la repoblación forestal, Cuervo y Rivas (2007) analizaron muestras en diez sitios diferentes en los que cuantificaron las esporas y el porcentaje de colonización de raíces. Los resultados obtenidos en esta investigación permitieron concluir que, de la variedad de los géneros de HMA presentes en la muestra de suelo, los que demostraron mejor comportamiento con *Tabebuia rosea* y *Cordia alliodora* fueron *Glomus* sp y *Gigaspora* sp. Además para lograr un mayor crecimiento y desarrollo de los árboles, sugieren que es necesario favorecer la población micorrizal en las plantas en sus primeros días después de la emergencia.

Ramos-Zapata y Guadarrama (2004), discutieron los efectos de los HMA sobre el establecimiento y crecimiento de plantas. Señalan que las perturbaciones afectan la cantidad de inóculo micorrízico en el suelo, lo cual repercute negativamente en la recuperación de las comunidades vegetales. En el trabajo analizan las ventajas de las plantas inoculadas con HMA en su establecimiento y crecimiento exitoso, así como los problemas en la producción de inóculo a gran escala para zonas tropicales. Además, se argumenta la importancia de incluir a dichos hongos en los proyectos de restauración debido a que la asociación micorrízica es de gran importancia en el establecimiento, supervivencia y crecimiento de plántulas en el campo. A pesar de saber de antemano que muchas especies vegetales dependen de los HMA para completar su ciclo de vida, es indudable que falta información para el manejo y producción de inoculantes de HMA, por lo que es imprescindible tomar en cuenta la importancia de esta asociación en programas de manejo de ecosistemas naturales, como son la repoblación y restauración de ambientes deteriorados.

Cuenca *et al.* (2003) realizaron pruebas de germinación de varias especies nativas de La Gran Sabana en Venezuela; apropiadas para la reforestación de áreas degradadas y describieron un método simple para reproducir inóculos de HMA. Los inóculos producidos fueron evaluados utilizando varios criterios, tales como el número de esporas producidas, número más probable de propágulos infectivos y el efecto en el peso seco de las plantas colonizadas. También evaluaron su eficiencia en condiciones de campo concluyendo, de acuerdo a los resultados, que se puede recomendar el uso de *Clusia pusilla* y *Gongylolepis benthamiana* para reforestar áreas degradadas, debido a su elevado porcentaje de germinación y tolerancia a condiciones de alta irradiación. El criterio más apropiado para determinar el poder micorrízico de los inóculos, fue el peso seco de las plantas hospedadas, por considerarlo más consistente que la producción de esporas. Y sugieren que debido a los efectos beneficiosos de las micorrizas, la producción de inóculos de HMA debería ser una práctica normal en los viveros.

2.12. Objeto de estudio

2.12.1 *Swietenia humilis* Zucc

Este árbol pertenece a la familia Meliaceae, es conocido como “zopilote” o “caobilla”, entre otros. Crece comúnmente en las áreas tropicales de México, Centro y Sudamérica, en algunos de estos lugares los árboles se pueden observar creciendo como individuos aislados, por el grado de fragmentación de sus poblaciones nativas, a causa de la deforestación (White *et al.*, 1999; White *et al.*, 2002). Se encuentra como vulnerable dentro de la lista roja de la IUCN (<http://www.iucnredlist.org/details/32954/0>).

Árbol de 10-25 m de altura y hasta 1 m de diámetro, fuste limpio hasta 3.5 m de altura, siendo éste pocas veces recto y casi nunca completamente cilíndrico. Especie monóica con flores unisexuales. El árbol comienza a florecer cuando tiene entre 15 y 25 años. La floración es de marzo a abril (SIRE, 2001).

Esta especie se utiliza como cerca viva a orilla de terrenos usados como potreros o en límites de propiedades, en la ebanistería, muebles finos, gabinetes, cajas de piano, instrumentos musicales y científicos. Mangos de herramienta, artículos torneados y decoración de interiores. Las semillas son usadas medicinalmente y para elaborar jabón y dar brillo al pelo (SIRE, 2001).

2.12.2. *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg

Este árbol es conocido como palo dulce. Es un árbol o arbusto caducifolio, de 3 a 6 m (hasta 9 m) de altura, con un diámetro a la altura del pecho de 15 cm o más. Hojas alternas, compuestas, pinnadas, 3 a 5 cm de largo, folíolos 10 a 15 pares por hoja, elípticos, 7 a 13 mm de largo por 3 a 5 mm de ancho, con glándulas resinosas aromáticas presentes. Tallos ramificados color café oscuro. Corteza externa amarilla de textura ligeramente rugosa, escamosa, cuando seca desprendible en placas irregulares de color oscuro de 1 mm de grosor. Corteza interna pardo rojizo. Inflorescencias dispuestas en racimos espigados terminales o subterminales, 5 a 7 cm de largo; cáliz campanulado, 2.5 a 3 mm de largo, 5-lobulados; corola blanca, formada por 5 pétalos libres, de 5 mm de largo por 1.3 a 2 mm de ancho, oblongos. Fruto(s). Vaina ligeramente curvada, atenuada en el ápice, pubescente o subglabra, de 7 a 9.5 mm de largo, con el estilo persistente, frágil e indehiscente, provista con glándulas; cada vaina contiene una semilla. La testa de la semilla es delgada y permeable al agua. Sexualidad hermafrodita (CONABIO, 2018).

Abundante en zonas semicálidas (A(C)w), con temperaturas entre 12 y 19 °C y precipitación anual de 300 a 1,800 mm. Prospera en lugares perturbados, así como en terrenos pedregosos y de varios tipos de suelo (negro profundo, delgado arcilloso pedregosos, somero de roca caliza, litosol derivado de basalto, amarillo derivado de conglomerado, roca ígnea). Se presenta en vegetación secundaria de selva baja caducifolia (CONABIO, 2018).

Considerando su capacidad para crecer en suelos erosionados y su tolerancia a la sequía, podría utilizarse en el rescate ecológico, es utilizado medicinalmente (www.conafor.gob.mx:8080/documentos/ver.aspx?articulo=1005&grupo=13).

2.12.3. *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.

Este árbol es conocido como guaje blanco. Es un árbol o arbusto caducifolio o perennifolio, de 3 a 6 m (hasta 12 m) de altura con un diámetro a la altura del pecho de hasta 25 cm. Copa redondeada, ligeramente abierta y rala. Hojas alternas, bipinnadas, de 9 a 25 cm de largo, verde grisáceas y glabras; folíolos 11 a 24 pares, de 8 a 15 mm de largo, elípticos y algo oblicuos. Tronco usualmente torcido y se bifurca a diferentes alturas. Ramas cilíndricas ascendentes. Desarrolla muchas ramas finas cuando crece aislado. Corteza externa lisa a ligeramente fisurada, grisnegruzca, con abundantes lenticelas longitudinales protuberantes. Interna de color crema-amarillento, fibrosa, amarga, con olor a ajo. Grosor total: 3 a 4 mm. Flor(es). Cabezuelas, con 100 a 180 flores blancas, de 1.2 a 2.5 cm de diámetro; flor de 4.1 a 5.3 mm de largo; pétalos libres; cáliz de 2.3 a 3.1 mm. Sus Frutos son vainas oblongas, estipitadas, en capítulos florales de 30 o más vainas, de 11 a 25 cm de largo por 1.2 a 2.3 cm de ancho, verdes cuando tiernas y cafés cuando maduras; conteniendo de 15 a 30 semillas. Semillas ligeramente elípticas de 0.5 a 1 cm de largo por 3 a 6 mm de ancho, aplanadas, color café brillante, dispuestas transversalmente en la vaina. La semilla está cubierta por una cera que retarda la absorción de agua durante la germinación. Raíz profunda y extendida. La raíz primaria penetra en las capas profundas del suelo y aprovecha el agua y los minerales por debajo de la zona a la que llegan las raíces de muchas plantas agrícolas. Sexualidad hermafrodita. Es utilizado como alimento para el ganado (Zárate-Pedroche, 1994).

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

Se ha reportado que la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares durante la etapa de vivero incrementa considerablemente la calidad de las plantas y en consecuencia mejora su resistencia a patógenos, optimizando su crecimiento. En México se han registrado aproximadamente 44% de las especies de HMA conocidas mundialmente. En varios países del mundo existe una tendencia creciente en la demanda de inóculos micorrízicos para proyectos forestales, comerciales, actividades de restauración y silvicultura. Por lo que es de suma importancia realizar estudios sobre la diversidad de HMA asociados a plantas de importancia en SBC, que representen la base para su aplicación futura en el proceso de producción de estas plantas en los viveros forestales de México.

CAPÍTULO 4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en plantas nativas de selva baja caducifolia producidas en vivero, en el estado de Morelos.

4.2. Objetivos específicos

1. Aislar hongos micorrízicos arbusculares de suelos de selva baja caducifolia del estado de Morelos.
2. Identificar los hongos micorrízicos arbusculares de suelos de selva baja caducifolia del estado de Morelos.
3. Evaluar el efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en el desarrollo de plantas nativas de selva baja caducifolia bajo condiciones de vivero.

CAPÍTULO 5. HIPÓTESIS

La inoculación de HMA en la producción de plantas nativas de selva baja caducifolia, inducirá mayor sobrevivencia, crecimiento y sanidad de plantas producidas en vivero.

CAPÍTULO 6. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en las instalaciones del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) ubicado en campus Chamilpa de la UAEM y en las instalaciones del vivero forestal Huajintlán dependiente del Gobierno del Estado de Morelos, ubicado en la localidad de Huajintlán, Morelos ($18^{\circ}36'56''\text{N}$, $99^{\circ}25'32''\text{W}$) (Figura 3). Esta localidad está situada a 920 msnm.



Figura 3. Ubicación de la zona de estudio (Google earth, 2017)

6.1. Muestras de suelo

En el mes de abril de 2018, en Huajintlán, Morelos, que es una localidad que presenta vegetación de selva baja caducifolia, se colectaron muestras de suelo y raíces para la obtención de HMA.

Se colectaron cuatro muestras de suelo de árboles de caobilla, guaje y palo dulce, en puntos correspondientes a la zona de goteo (Figura 4) y dos muestras de suelo de la rizósfera de árboles de selva baja cultivados en contenedor, en las áreas mencionadas anteriormente. Para la obtención de las muestras de suelo de cada sitio de recolecta, se retiró la hojarasca de la superficie del suelo para proceder a la extracción y se recolectó entre los 10 y 20 cm de profundidad en la zona de goteo del árbol, que se encuentra cerca del sistema radical. En cada sitio se tomaron cuatro submuestras de 500 g y luego se mezclaron para hacer una sola muestra (2 Kg). Las muestras de suelo fueron colocadas en bolsas de polipapel (Figura 5) y trasladadas al laboratorio para su procesamiento.



Figura 4. Recolecta de muestras de suelo en seis sitios diferentes en la localidad de Huajintlán, Morelos.



Figura 5. Muestras de suelo tomadas en seis sitios diferentes en la localidad de Huajintlán, Morelos, y colocadas en bolsas de polipapel.

6.2. Aislamiento de esporas micorrízicas arbusculares

Las muestras de suelo fueron procesadas para la extracción de esporas por el método de tamizado húmedo de Gerdemann y Nicolson (1963) de la siguiente manera:

Se tomó una muestra de suelo de 60 g y se tamizó separándolo en tres grupos de 20 g cada uno, los cuales se pusieron en un liquidador eléctrico marca Oster® y se les agregó agua corriente, se licuaron durante 30 segundos y se tamizaron (590 μm , 250 μm y 105 μm). Este procedimiento se realizó 5 veces con cada una de las muestras de 20 g de suelo (Figura 6).

Se prepararon 2 tubos de centrifuga con sacarosa a los cuales se le agregó cuidadosamente sacarosa al 20% (50 g de azúcar + 250 ml de agua destilada) y al 60% (150 g de azúcar + 250 ml de agua destilada) en el mismo tubo. Al tubo uno se le agregó cuidadosamente el contenido del tamiz de 250 μm y al tubo dos se le agregó lo del tamiz de 105 μm , este procedimiento se hizo con cada una de las submuestras de suelo.

Los tubos se centrifugaron a 3000 rpm durante 2 minutos. Pasado este tiempo se sacaron cuidadosamente los tubos de la centrifuga y se vació por separado el contenido de cada uno de los tubos, en un tamiz de 37 μm , en donde las esporas se lavaron con abundante agua

destilada para eliminar el exceso de sacarosa y posteriormente de pusieron en una caja Petri para su análisis y separación de esporas en el microscopio estereoscópico (Figura 6).

Para el cálculo del número de esporas por 100 g de suelo seco se utilizó la fórmula:

$$\text{Número de esporas/100 g de suelo seco} = \frac{\text{Número de esporas observadas}}{\text{Peso seco de la muestra de suelo}} \times 100$$

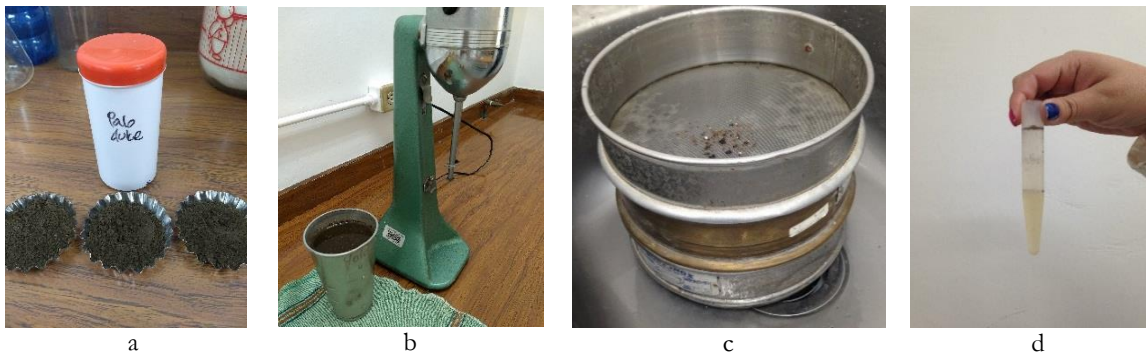


Figura 6. Extracción de esporas por el método de tamizado húmedo de Gerdemann y Nicolson (1963). a) muestras de suelo, b) proceso de licuado, c) tamizado después de licuar y d) resultado de centrifugación.

6.3. Colonización micorrízica

En contraste con las asociaciones ectomicorrízicas, la colonización de las células corticales de la raíz por HMA, no altera la morfología de la raíz, por lo tanto, para detectar y medir la colonización micorrízica, las raíces fueron sometidas a un procedimiento de clareo y tinción (Philips y Hayman, 1970).

6.4. Procedimiento para tinción de raíces micorrizadas

El método utilizado para la tinción de raíces micorrizadas es el de tinción con azul de tripán, descrito por Phillips y Hayman (1970).

Se tamizó el suelo y se tomaron las raíces que se encontraban en la muestra de suelo, se lavaron con abundante agua corriente y se pusieron a remojar en un matraz con agua corriente para eliminar el exceso de suelo, con la ayuda de un tamiz de 250 μm se les quitó el agua. Posteriormente se pusieron las raíces en un matraz y se les agregó KOH al 10% (400 mL de agua destilada + 40 g de hidróxido de potasio) y se dejaron 24 h a temperatura ambiente, después de este tiempo con la ayuda del tamiz se enjuagaron con suficiente agua corriente (Figura 7).

Las raíces se pusieron en peróxido alcalinizado (3 mL de hidróxido de amonio + 10 mL de peróxido de hidrogeno al 30% + 587 mL de agua destilada) durante 15 min y con la ayuda del tamiz de 250 μm se lavaron con agua corriente.

Posteriormente las raíces se colocaron en HCL al 10% (200 mL de agua destilada + 20 mL de ácido clorhídrico) durante 15 min, pasado este tiempo y con la ayuda del tamiz de 250 μm y sin enjuagar se pusieron en el colorante (50 mL de ácido láctico + 100 mL de glicerina + 50 mL de agua destilada + 1 g de azul de tripán). Las raíces se dejaron en el colorante durante 24 h a temperatura ambiente.

Pasado este tiempo las raíces se escurrieron en el tamiz de 250 μm y se pusieron en la solución desteñidora (50 mL de ácido láctico + 100 mL de glicerina + 50 mL de agua destilada) y ahí se conservaron para su análisis posterior.



Figura 7. Tinción de raíces micorrizadas por el método de Phillips y Hayman (1970).
 a) Lavado de raíces con agua, b) Solución KOH, c) Solución del peróxido,
 d) Solución HCL al 10%, e) Solución colorante y f) Solución desteñidora.

Las raíces teñidas se cortaron en secciones de aproximadamente un centímetro de longitud, se tomaron al azar 20 segmentos y se colocaron en forma paralela a lo largo de un portaobjetos con solución PVLG y mediante “squash”¹ se les colocó un cubreobjetos. Las muestras se dejaron secar durante 48 h y posteriormente se observaron en un microscopio óptico marca Nikon® (10x y 40x). Cada muestra se elaboró por triplicado.

¹ Squash= Técnica de aplastamiento que consiste en aplastar el objeto de estudio entre el portaobjetos y el cubreobjetos.

El porcentaje de colonización se determinó mediante la fórmula:

$$\text{Porcentaje de colonización} = \frac{\text{Número de campos colonizados}}{\text{Número de campos observados}} \times 100$$

6.5. Identificación de los HMA

6.5.1. Elaboración de preparaciones

Las esporas aisladas del suelo (sin daño mecánico aparente) fueron seleccionadas por sus similitudes morfológicas y colocadas en portaobjetos en grupos con las mismas características, se les agregó solución PVLG (8.33 g + 50 mL de agua destilada + 50 mL de ácido láctico + 5 mL de glicerina) y en otro portaobjetos fueron colocadas grupos similares de esporas las cuales se les agregó solución PVLG-Melzer (Melzer 1.5 g de yodo + 5 g de yoduro de potasio + 100 mL de agua destilada), se dejaron durante 48 h y se les colocó un cubreobjetos ejerciendo ligera presión de manera cuidadosa.

6.5.2. Identificación

La identificación de los HMA obtenidos de las muestras de suelo, se basó tomando en consideración las características morfológicas de las esporas, el color, el tipo de hifa de sostén, el tamaño, la forma, la ornamentación, el número y el grosor de las capas que conforman la pared de la espora (Varela-Fragoso y González-Chávez, 2007).

Cada preparación fue observada al microscopio de campo claro para caracterizar las capas que integran la pared de las esporas y tomar las medidas correspondientes. Para la identificación se consultaron las claves taxonómicas correspondientes a cada grupo tales como: Schenck y Pérez (1990) e INVAM (2017) y las descripciones originales de

Glomeromycota en la página web AMF PHYLOGENY (<http://schuessler.userweb.mwn.de/amphylo/>).

6.6. Propagación del inóculo en cultivo trampa

Para el desarrollo del cultivo trampa se preparó un sustrato compuesto por partes iguales de agrolita + vermiculita + fibra de coco + composta estéril (sustrato general). Como inóculo se utilizaron 50 g de suelo proveniente de las muestras de suelo de la rizósfera de cada una de las tres especies en estudio, y una mezcla de las muestras de suelo de seis sitios diferentes tomadas en Huajintlán, Morelos. El sustrato se mezcló con el inóculo y se llenaron macetas de unicel de 473 mL de capacidad. Se utilizó semilla de sorgo como planta indicadora para el desarrollo del cultivo trampa.

Para asegurar la presencia de HMA proveniente de las especies seleccionadas, se preparó el sustrato para el cultivo trampa utilizando el inóculo proveniente de la rizósfera de las diferentes especies, en mezclas como se muestra en el cuadro 2.

Se utilizaron semillas de sorgo para establecer el cultivo trampa, debido a que los HMA son simbioses obligados y necesitan una planta para completar su ciclo de vida, siendo el sorgo muy utilizado por los altos niveles de colonización micorrízica que desarrolla. A las semillas se les dio un tratamiento de esterilización superficial, empleando una solución de hipoclorito de sodio al 10 % por 10 minutos.

Se sembraron diez semillas de sorgo por maceta a una profundidad de 0.5 cm. Las macetas se mantuvieron en la oscuridad durante una semana y posteriormente se colocaron a la intemperie. Se regaron cada tercer día para mantener la humedad. A partir de los 30 días

después de la germinación se realizaron tres aplicaciones de 50 mL por maceta de solución de fertilizante 15-15-15 (2 g/L) cada semana.

Cuadro 2. Origen del inóculo en el sustrato del cultivo trampa.

Descripción
Suelo nativo de caobilla (<i>Swietenia humilis</i>) + agrolita + vermiculita + fibra de coco + composta.
Suelo nativo de palo dulce (<i>Eysbendbartya polistachya</i>) + agrolita + vermiculita + fibra de coco + composta.
Suelo nativo de guaje (<i>Leucaena leucocephala</i>) + agrolita + vermiculita + fibra de coco + composta.
Mezcla de suelo nativo + agrolita + vermiculita + fibra de coco + composta.



Figura 8. Ingredientes para la elaboración de sustratos para cultivo trampa



Figura 9. Siembra, crecimiento y cosecha de sorgo como cultivo trampa.

6.7. Inoculación de plantas nativas con HMA

Para evaluar el efecto de la inoculación con micorrizas en las plantas, se sembraron por separado, semillas de cada una de las especies vegetales seleccionadas (*Swietenia humilis*, *Eysshendhartya polistachya* y *Leucaena leucocephala*). Se colocaron contenedores de un litro de capacidad conteniendo cada uno de los tratamientos que se describen en el cuadro 3 (Figura 10). A la mezcla que se utiliza de manera rutinaria en el vivero, se le denominó sustrato Huajintlán, que consiste en Atole + Aserrín + Composta, en proporción 2:1:1. La esterilización de los sustratos se realizó en autoclave (dos ciclos de 30 min a 150 °C y 15 lb de presión). La inoculación se realizó con 50 g de suelo del cultivo trampa por maceta.

Se realizó a siembra directa. Se colocaron tres semillas por contenedor, los cuales se mantuvieron a cielo abierto como se hace comúnmente en el vivero. Las macetas se regaron de manera manual cada tercer día. No se utilizaron productos químicos como: fertilizantes, insecticidas ni fungicidas.

Este procedimiento se realizó por separado para cada una de las especies seleccionadas.

Cuadro 3. Tratamientos para la inoculación de plantas nativas de SBC con HMA.

Tratamiento	Descripción
T1	Sustrato Huajintlán
T2	Sustrato Huajintlán estéril
T3	Sustrato Huajintlán + inóculo de cultivo trampa
T4	Sustrato Huajintlán estéril + inóculo de cultivo trampa
T5	Sustrato Huajintlán estéril + inóculo de cultivo trampa estéril



Figura 10. Establecimiento del experimento de inoculación de especies de SBC con HMA. a) Llenado de macetas y riego; b) Siembra de guaje; c) Siembra de caobilla.

6.8. Variables a evaluar

A los 120 días después de la siembra, se registraron los datos de: altura de la planta, peso seco del vástago, peso seco de la raíz y porcentaje de colonización de HMA. Para cada planta el porcentaje de colonización por los HMA se calculó en muestras de raíces que se procesaron por el método de Phillips y Hayman (1970).

6.9. Análisis estadístico

Se realizaron análisis estadísticos por separado, en cada una de las especies vegetales seleccionadas. A los datos registrados se les aplicó un análisis de varianza bajo un diseño

completamente al azar de cinco tratamientos y seis repeticiones. La unidad experimental fue de una maceta con una planta. Las medias se separaron mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

CAPÍTULO 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Aislamiento de esporas de HMA

De las muestras de suelo de plantas de caobilla (*Swietenia humilis*), palo dulce (*Eysbendbartya polistachya*) y guaje (*Leucaena leucocephala*) de Huajintlán, Morelos, se aislaron diferentes esporas de HMA. Los resultados muestran que en el número de esporas de HMA son diferentes en cada especie (Cuadro 4). El mayor número de esporas (68.56 /100 g de suelo seco) se observó en la muestra de suelo tomada de caobilla, en palo dulce se observaron 51 esporas/100 g de suelo seco y en las muestras de suelo tomadas de guaje se observó el menor número de esporas (31.63 /100 g de suelo seco).

El número de esporas tiene diferencias importantes de acuerdo al lugar de donde se tomen las muestras. Diversos autores han reportado variaciones en la cuantificación del número de esporas; Viera *et al.* (2017) encontraron de 1544 a 2100 esporas/100 g de suelo en muestras de suelo y de 1875 a 2615 en cultivos trampa con sorgo, sin embargo en muestras del tratamiento control (arena estéril) encontraron 60.6 esporas /100 g de suelo; en otro estudio Salgado-García (2014) encontró de 4 a 2000 esporas /100 g de suelo, en suelos cultivados con caña de azúcar; por otro lado Caballar-Hernández *et al.* (2017) encontraron entre 30 y 153 esporas /100 g de suelo; Cuervo y Rivas (2007) encontraron diferencias significativas entre especies, siendo *Cordia alliodora* la que presentó el mayor número de esporas, con un promedio de 558/100 g de suelo comparada con *Tabebuia rosea* que fue de 514/100 g de suelo.

Estas diferencias pueden ser explicadas por que aparentemente existe una selectividad ecológica de las especies de HMA, en la que las características físicas y químicas del suelo como el pH, la humedad, la disponibilidad de nutrientes principalmente del fósforo y del nitrógeno, afectan considerablemente la densidad, la distribución y la riqueza de especies de HMA en el suelo (Khanam *et al.*, 2006; Caballar-Hernández *et al.*, 2017).

El número de esporas encontrado en las muestras de suelo puede considerarse como normal, porque según Hernández-Cuevas y García-Sánchez (2008) para inoculación es recomendable utilizar una mezcla de tres especies de HMA de por lo menos 60 esporas por planta.

7.2. Porcentaje de colonización de raíces

En la colonización de raíces, hay diferencias en cuanto a la muestra tomada en las diferentes especies (Cuadro 4). El mayor porcentaje de colonización se observó en palo dulce (70.55%) y el menor en caobilla (17.21%). Con respecto al porcentaje de colonización, se han observado resultados muy variables, Hernández-Cuevas *et al.* (2011) observaron 6% en palo dulce, pero en otras especies leñosas se han observado porcentajes de colonización de 3.5% a 76% (Monroy-Ata *et al.*, 2007; García-Sánchez *et al.*, 2008; García-Gallegos *et al.*, 2009).

Cuervo y Rivas (2007) observaron un porcentaje de colonización más alto en *Cordia alliodora* con un promedio de 71.5%; comparado con el porcentaje de colonización de *Tabebuia rosea* que fue de 61.5%. El porcentaje de colonización, para las dos especies, no presentó correlación con el número de esporas, lo cual indica que una alta colonización no está siempre relacionada con un alto número de esporas.

Cuadro 4. Número de esporas y porcentaje de colonización en muestras de suelo de tres especies de selva baja caducifolia.

Muestra de suelo	Número de esporas / 100 g de suelo seco	Colonización (%)
<i>S. humilis</i> (caobilla)	68.56	17.21
<i>E. polistachya</i> (palo dulce)	51.00	70.55
<i>L. leucocephala</i> (guaje)	31.63	58.32

Los datos son el promedio de tres repeticiones.

7.3. Identificación de HMA

Con la metodología realizada se identificaron los HMA correspondientes a *Glomus* sp., *Glomus aggregatum*, *Cloroideglomus* sp. y *Acaulospora* sp. (Cuadro 5), cuyas características son:

1. *Glomus*: En este género sus esporas son glomoides, producidas en la superficie del suelo o cerca de ella en esporocarpos, generalmente con peridium parcial o completo o como esporas individualmente o en racimos en el suelo o sustrato; esporas individuales, esféricas, de color café, mayores a 150 μm con hifa de sostén curva, las esporas presentan tres capas las cuales se unen con la hifa de sostén (Hernández *et al.*, 2014). Las capas de la pared de la espora por lo general continúan con una pared de la hifa que subtiende, la germinación de este género se da con la emergencia de una o varias hifas que atraviesan la pared de la espora (Pérez, 2011). También se pueden formar las esporas dentro de las raíces, posiblemente como un sustituto o como un reemplazo para el desarrollo de vesículas en algunas especies (Schüßler y Walker, 2010).

Este género, según Medina *et al.* (2010), se determina dominante en la mayoría de las poblaciones nativas, está representado por más de 100 especies (Hernández *et*

al., 2003) y es posible que se encuentre en simbiosis activa en mayor proporción que los demás géneros, lo que refleja su amplia capacidad de adaptación a las condiciones edáficas y ofrece un alto potencial para su uso como biofertilizante.

2. *Glomus aggregatum* aff. *Rhizophagus aggregatus*: Las especies de este género forman esporas globosas, obovadas, de forma irregular, 40-120 µm de diámetro, hialinas a amarillo pálido. Se forman solas o en esporocarpos, y libremente en el suelo o en raíces colonizadas. La pared de la espora consiste en 1-2 capas (L1, L2). Cada capa tiene un espesor de 1-3 µm (más ancha en hifas subtituladas), y de color amarillo pálido a amarillo-marrón. La pared hifal consiste en una o ambas capas de la pared de la espora (dependiendo de si la espora tiene 1-2 capas).

El poro hifal generalmente está abierto, a veces cerrado por un tabique delgado, engrosamiento de la pared de la espora o un tapón citoplásmico INVAM (<http://fungi.invam.wvu.edu/thefungi/classification/glomaceae/rhizophagus/aggregatum.html>).

3. *Acaulospora*: Este género se definió originalmente por esporas llevadas lateralmente desde el cuello de un "sáculo esporífero" pre-diferenciado, el sáculo esporífero se desarrolla de manera explosiva desde la punta de una hifa, esporas de 100 a 380 µm de color rojizo amarillento y hialino, de forma globosa y subglobosa. Generalmente las esporas se encuentran solitarias en el suelo o algunas veces con las raíces ó en esporocarpos que pueden alcanzar hasta varios centímetros de longitud. Especies de *Acaulospora* muestran relación genética con especies de *Entrophospora* (Stürmer *et al.*, 2013).
4. *Claroideglomus* aff. *Claroideum*: Las especies de este género forman esporas por expansión blástica de una punta de las hifas, por lo general estas esporas constan de una pared de tres capas: una capa exterior que se desprende a medida que la espora



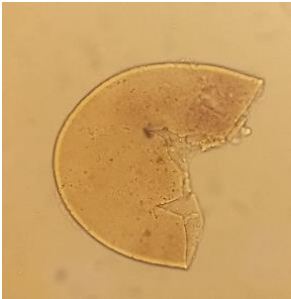
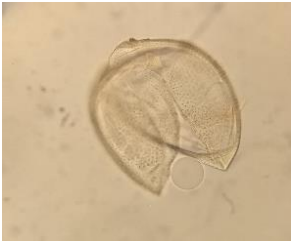
envejece, una capa de laminado intermedia y una capa interna delgada (Schüßler y Walker, 2010).

La hifa que subtiende la espora se diferencia a la misma velocidad y sintetiza las mismas capas componentes que se encuentran en la pared de la espora y forman un "tabique"; las especies de este género se diferencian por el tamaño de las esporas (60 a 180 μm), forma globosa o subglobosa, y el color de la capa del estratificado medio (Redecker *et al.*, 2013).

Al respecto, Cuervo y Rivas (2007) estudiaron las especies forestales *Tabebuia rosea* y *Cordia alliodora* observando que los géneros *Glomus* sp. y *Gigaspora* sp., promovieron el mejor comportamiento. Los géneros más abundantes de HMA encontrados en las muestras de suelo fueron *Glomus* sp. y *Gigaspora* sp., con abundancia de 60% y 20% respectivamente y otros géneros no identificados.

González y Osorio (2005) evaluaron los porcentajes de colonización de diferentes inóculos de HMA en *Leucaena*, encontrando diferencias en la asociación de la especie vegetal y el hongo, donde las especies de *Entrophospora colombiana* (66.6%) y *Glomus intrarradices* (45.9%) fueron significativamente superiores a los inóculos de *Scutellospora heterogama* (18.7%), *G. aggregatum* (11.0%), *Acaulospora longula* (8.6%) y *G. fasciculatum* (3.3%), concluyendo que es bastante relevante la relación directa que se encontró entre la colonización micorrizal con la masa seca y el contenido de fósforo foliar.

Cuadro 5. Esporas de HMA encontrados en las muestras de suelo de caobilla, palo dulce y guaje, observadas con microscopio óptico (40 X).

Género	Características	
Caobilla		
<i>Glomus</i> sp.	Forma globosa, sin ornamentaciones, sin hifa sostén, color café (4D7, 4A4, 4C7), tamaño (53 x 88 μ m).	 40 x
<i>Glomus agregatum</i> <i>aff. Rhizophagus aggregatus</i>	Forma globosa, sin ornamentaciones, sin hifa sostén, color café (4D7, 4A4, 4C7), tamaño (53 x 88 μ m) con formación de esporas nuevas.	 40 x
<i>Claroideglomus</i> <i>aff. Claroideum</i>	Forma globosa, sin ornamentaciones, sin hifa sostén, color amarillo brillante con paredes simples, tamaño (80 x 160 μ m).	 40 x
<i>Acaulospora</i> sp.	Forma globosa, con ornamentaciones, sin cicatriz, sin hifa sostén, color amarillo (2A4, 2A3), tamaño (85 x 80 μ m), contenido aceitoso lipídico.	 40 x

Palo dulce

Acaulospora sp.

Forma globosa, con ornamentaciones, con cicatriz, sin hifa sostén, color amarillo (2A4, 2A3), tamaño (85 x 80 μm), contenido aceitoso lipídico



40 x

Glomus sp.

Forma globosa, sin ornamentaciones, sin hifa sostén, color café (4D7, 4A4, 4C7), tamaño (53-67 x 55-88 μm), contenido aceitoso hialino.



40 x

Guaje

Glomus sp.

Forma globosa, sin ornamentaciones, con hifa sostén, color (4D7, 4A4, 4C7), tamaño (53-67 x 55-88 μm), contenido aceitoso hialino.



40 x

Acaulospora sp.

Forma globosa, con ornamentaciones, sin cicatriz, con hifa sostén, color amarillo (2A4, 2A3), tamaño (85 x 80 μm), contenido aceitoso lipídico



40 x

7.4. Colonización y vesículas en raíces teñidas

Los HMA desarrollan sus estructuras dentro y entre las células corticales de la raíz, dichas estructuras favorecen a las plantas que colonizan; sin embargo, el porcentaje de colonización o micorrización es diferente en cada especie vegetal. En las raíces procedentes de las muestras de suelo tomadas en Huajintlán se observaron las estructuras de los HMA tal como se muestra en las figuras 11, 12 y 13.

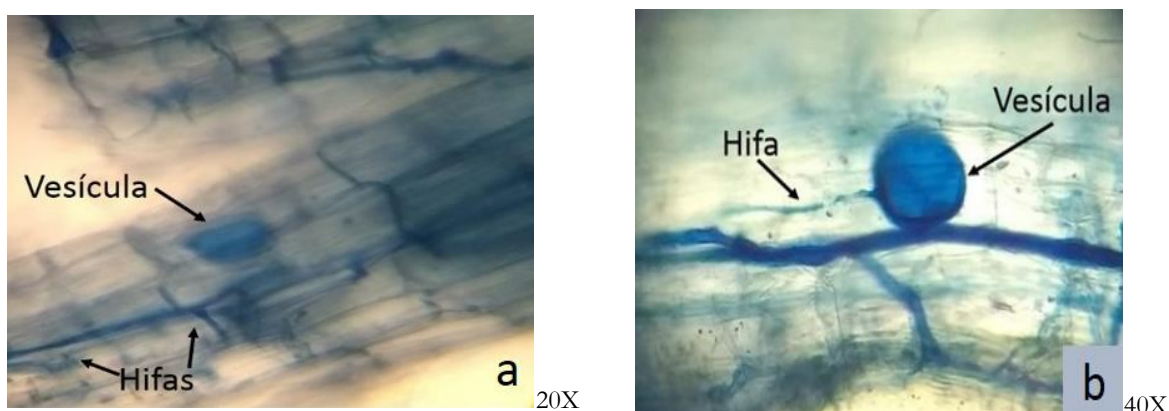


Figura 11. Microfotografías de las raíces de caobilla (*S. humilis*) mostrando (a y b) en su interior las hifas y las vesículas de HMA.

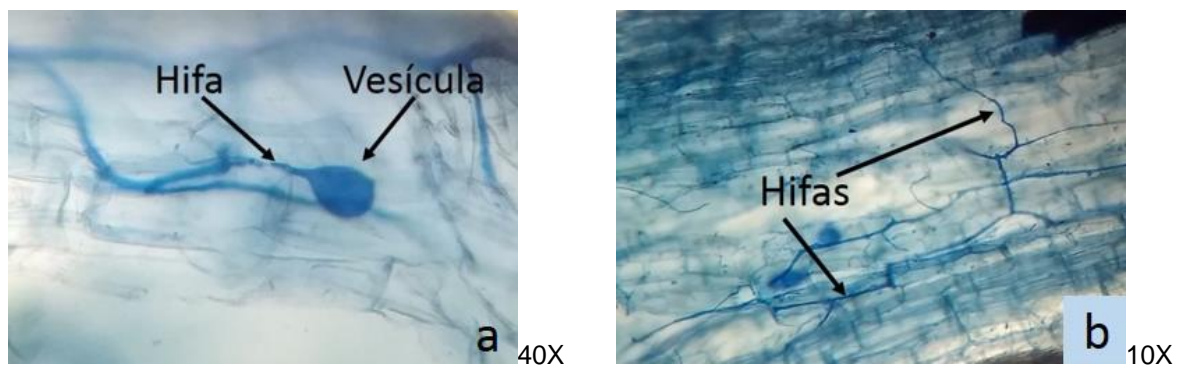
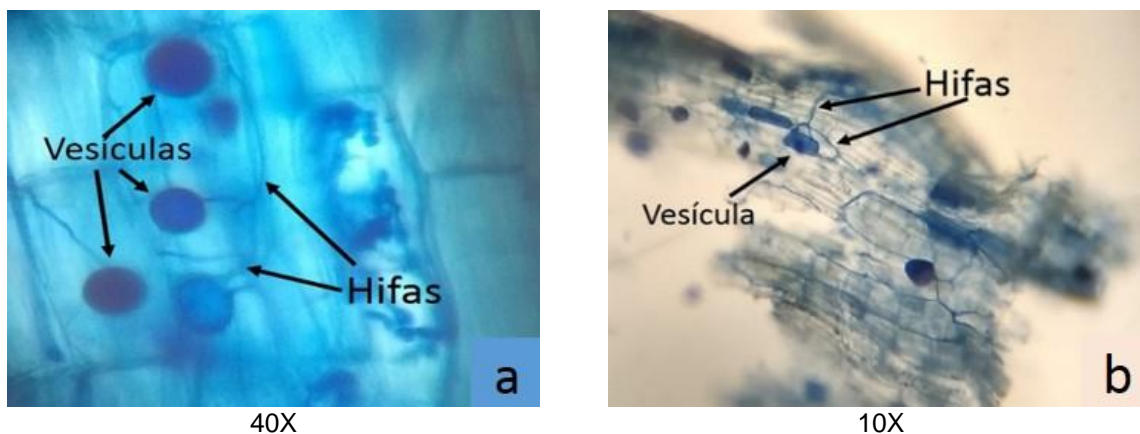


Figura 12. Microfotografías de las raíces de palo dulce (*E. polistachya*) mostrando en su interior hifas y vesículas (a) e hifas (b) de HMA.



40X
10X
Figura 13. Microfotografías de las raíces de guaje (*L. leucocephala*) mostrando en su interior hifas y vesículas (a y b) de HMA.

7.5. Inoculación de plantas nativas con HMA

Los resultados muestran diferencias significativas en las tres especies evaluadas, en varios de los parámetros analizados.

En caobilla se registraron diferencias significativas en altura de planta, peso seco de vástago y peso seco de raíz (Cuadro 6) (Figuras 14 y 15). En la altura de planta el tratamiento T4 superó significativamente al tratamiento T5 en el que no se encontraban microorganismos. Aunque el tratamiento T4 fue estadísticamente similar a los tratamientos T1, T2 y T3, pero se observó un incremento en el número de hojas de 9.63%, 14.11% y 22.04% respectivamente sobre esos tratamientos. En el peso seco del vástago y de la raíz, los tratamientos T1 y T4 fueron estadísticamente iguales entre sí y superiores a los otros tres tratamientos, que a su vez fueron estadísticamente iguales entre sí. En el porcentaje de colonización no se observaron diferencias entre los tratamientos con micorrizas (T1, T3 y T4), pero si hubo diferencias comparados con los tratamientos estériles (T2 y T5) que fueron iguales entre sí.

Los resultados mostraron un incremento del porcentaje de colonización entre las muestras de suelo originales (17.21%) y las muestras inoculadas que fueron de 18.30%, 21.60% y 28.30%, en los tratamientos T1, T3 y T4 respectivamente.

Cuadro 6. Parámetros de crecimiento de caobilla (*S. humilis*) a los 120 días después de la siembra, en el experimento de inoculación con HMA.

Tratamiento/Descripción		Altura de planta (cm)	Peso seco de vástago (g)	Peso seco de raíz (g)	Colonización por HMA (%)
T1	SH	14.75 ab	2.38 a	1.48 a	18.30 a
T2	SHE	14.17 ab	1.38 b	0.90 b	0.00 b
T3	SH+I	13.25 ab	1.65 b	0.73 b	21.60 a
T4	SHE + I	16.17 a	2.48 a	1.57 a	28.30 a
T5	SHE + IE	10.50 b	1.03 b	0.62 b	0.00 b

T1 (SH)= Sustrato Huajintlán; T2 (SHE)= Sustrato Huajintlán estéril; T3 (SH+I)= Sustrato Huajintlán + inóculo cultivo trampa; T4 (SHE+I)= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa; T5 (SHE+IE)= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa estéril.

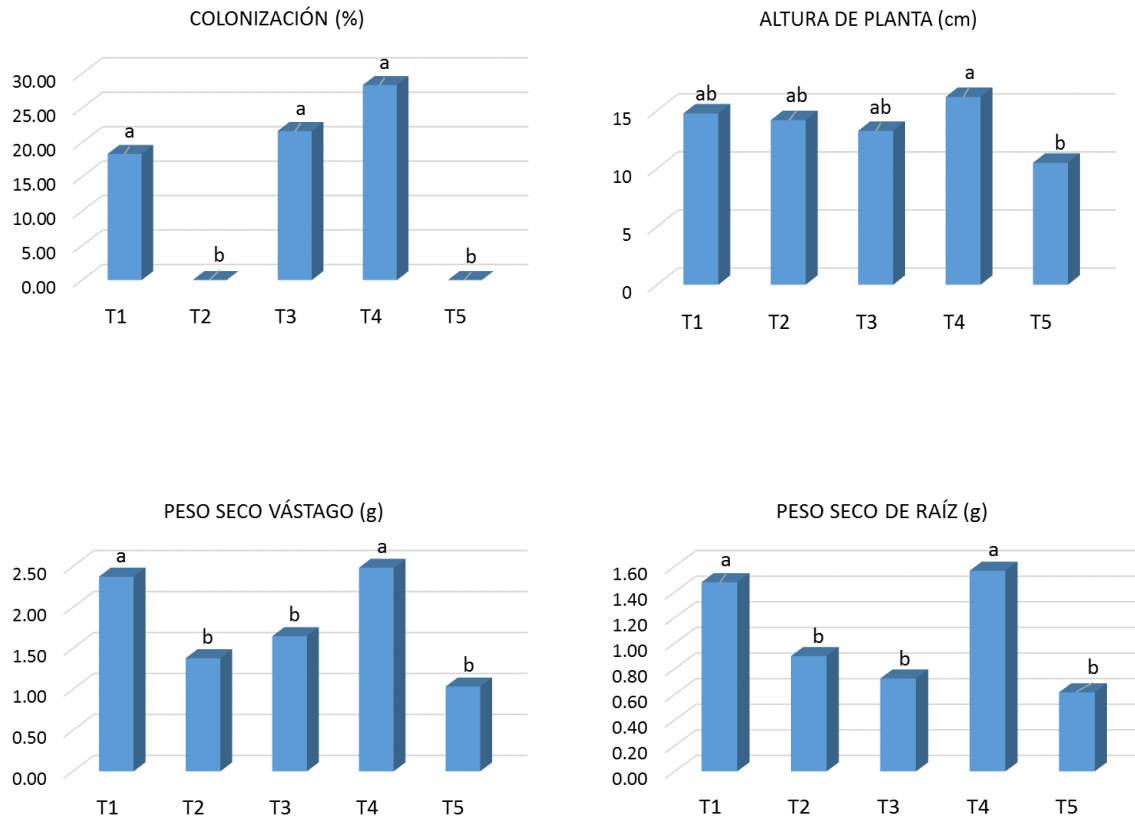


Figura 14. Porcentaje de colonización e indicadores de crecimiento de caobilla (*S. humilis*) inoculada con HMA. (T1= Sustrato Huajintlán; T2= Sustrato Huajintlán estéril; T3= Sustrato Huajintlán + inóculo cultivo trampa; T4= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa; T5= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa estéril).

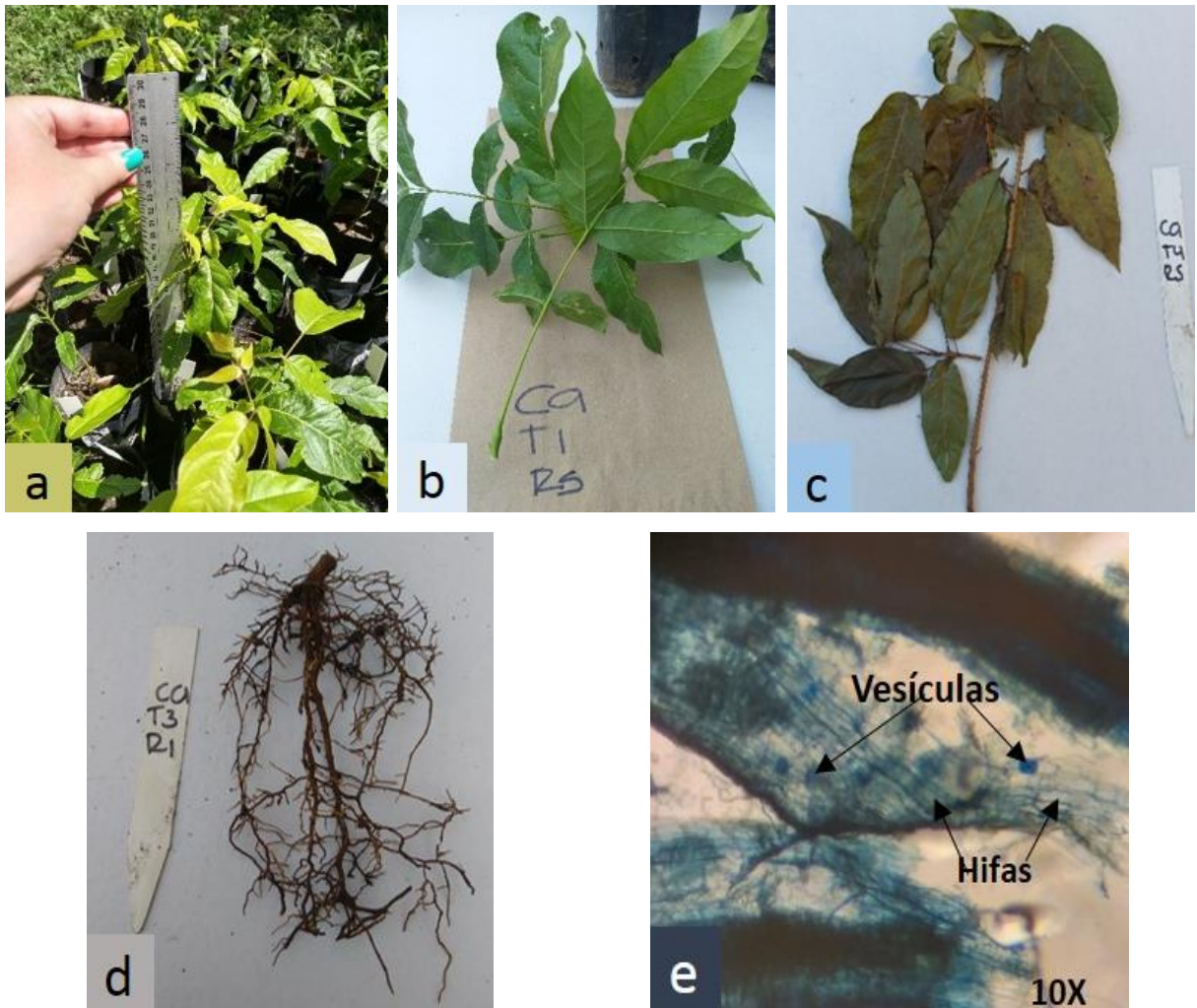


Figura 15. Parámetros de crecimiento de planta de caobilla (*S. humilis*) inoculada con HMA. a) altura de la planta; b) masa fresca; c) masa seca; d) tamaño de raíz; y e) colonización de raíz por HMA.

En el crecimiento de guaje no se observaron diferencias significativas en la altura de planta, peso seco de vástago y peso seco de raíz, aunque en el porcentaje de colonización se observaron diferencias entre los tratamientos con micorrizas comparados con los estériles (Cuadro 7) (Figuras 16 y 17). En general los tratamientos que contenían micorrizas superaron numéricamente a los que no las tenían; En la altura de planta los superaron en 83% en promedio, y en el peso seco de vástago y de raíz, los superaron en 150% en promedio. En el porcentaje de colonización los tratamientos T1, T3 y T4 fueron estadísticamente iguales entre sí y superiores a los tratamientos T2 y T5.

Cuadro 7. Parámetros de crecimiento del vástago de guaje (*L. leucocephala*) a los 120 días después de la siembra, en el experimento de inoculación con HMA.

Tratamiento/Descripción		Altura de planta (cm)	Peso seco de vástago (g)	Peso seco de raíz (g)	Colonización por HMA %
T1	SH	41.50 a	3.48 a	2.22 a	25.10 a
T2	SHE	37.33 a	1.75 a	0.86 a	0.00 b
T3	SH+I	40.60 a	1.92 a	1.28 a	20.00 a
T4	SHE + I	44.92 a	3.68 a	1.92 a	25.00 a
T5	SHE + IE	32.08 a	1.88 a	1.30 a	0.00 b

T1 (SH)= Sustrato Huajintlán; T2 (SHE)= Sustrato Huajintlán estéril; T3 (SH+I)= Sustrato Huajintlán + inóculo cultivo trampa; T4 (SHE+I)= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa; T5 (SHE+IE)= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa estéril.

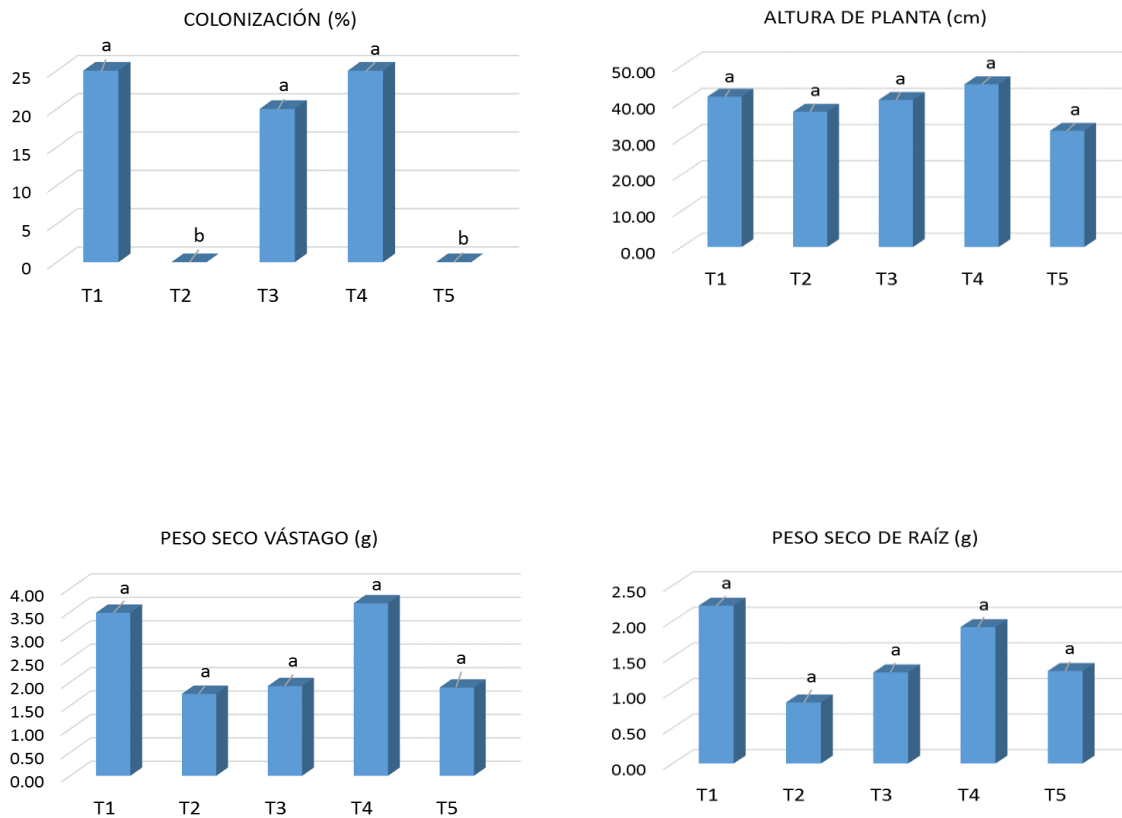


Figura 16. Porcentaje de colonización e indicadores de crecimiento de guaje (*L. leucocephala*) inoculado con HMA. (T1= Sustrato Huajintlán; T2= Sustrato Huajintlán estéril; T3= Sustrato Huajintlán + inóculo cultivo trampa; T4= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa; T5= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa estéril).

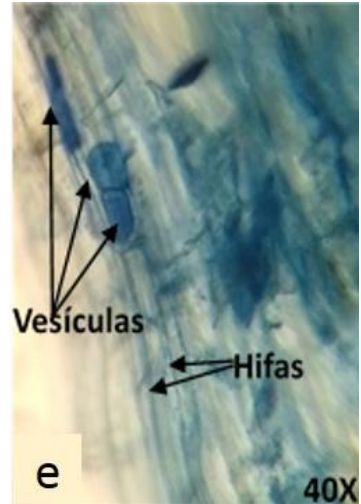
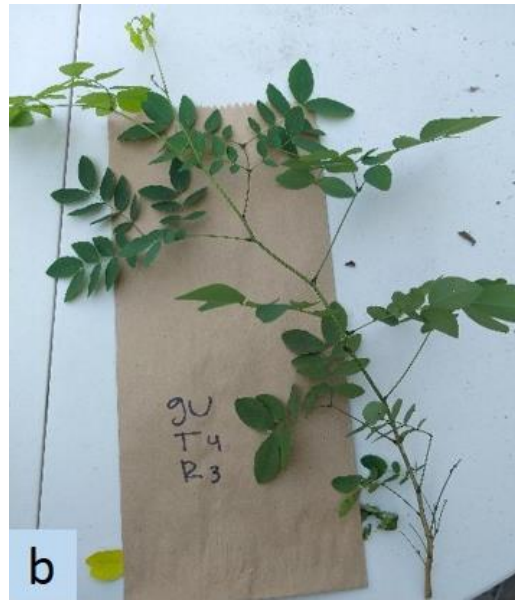


Figura 17. Parámetros de crecimiento de planta de guaje (*L. leucocephala*) inoculada con HMA. a) altura de planta; b) masa fresca; c) masa seca; d) tamaño de raíz; y e) colonización de raíz por HMA.

Para el caso de palo dulce se observaron diferencias en la altura de planta, peso seco de vástago y peso seco de raíz. El porcentaje de colonización fue diferente entre los tratamientos micorrizados y no micorrizados (Cuadro 8) (Figura 18 y 19). En la altura de planta, peso seco de vástago y peso seco de raíz el tratamiento T4 fue estadísticamente superior a los otros cuatro tratamientos que fueron iguales entre sí. En el porcentaje de colonización los tratamientos T1, T3 y T4 fueron iguales entre si y superiores al T2 y al T5.

Hernández-Cuevas *et al.* (2011) propagaron e inocularon con HMA a *Amelanchier denticulata* (tlaxistle) y *E. polystachya* (palo dulce), plantas nativas que forman micorriza arbuscular. Las plantas se inocularon con una mezcla de tres cepas de HMA aisladas de suelos de Tlaxcala: *Glomus claroideum*, *Acaulospora laevis* y *A. morromiae*. En el tlaxistle y el palo dulce los porcentajes de colonización micorrízica fueron bajos (menores de 20% para tlaxistle y de 10% para palo dulce), pero los individuos micorrizados mostraron las mejores respuestas en altura de planta y biomasa aérea ($p < 0.001$).

Cuadro 8. Parámetros de crecimiento del vástago de palo dulce (*E. polystachya*) a los 120 días después de la siembra, en el experimento de inoculación con HMA.

Tratamiento/Descripción		Altura de planta (cm)	Peso seco de vástago (g)	Peso seco de raíz (g)	Colonización con HMA %
T1	SH	23.33 b	0.89 b	0.28 b	43.30 a
T2	SHE	30.58 b	0.95 b	0.17 b	0.00 b
T3	SH+I	38.75 b	1.10 b	0.30 b	33.30 a
T4	SHE + I	59.00 a	3.32 a	1.17 a	28.40 a
T5	SHE + IE	25.00 b	0.53 b	0.10 b	0.00 b

T1 (SH)= Sustrato Huajintlán; T2 (SHE)= Sustrato Huajintlán estéril; T3 (SH+I)= Sustrato Huajintlán + inóculo cultivo trampa; T4 (SHE+I)= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa; T5 (SHE+IE)= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa estéril.

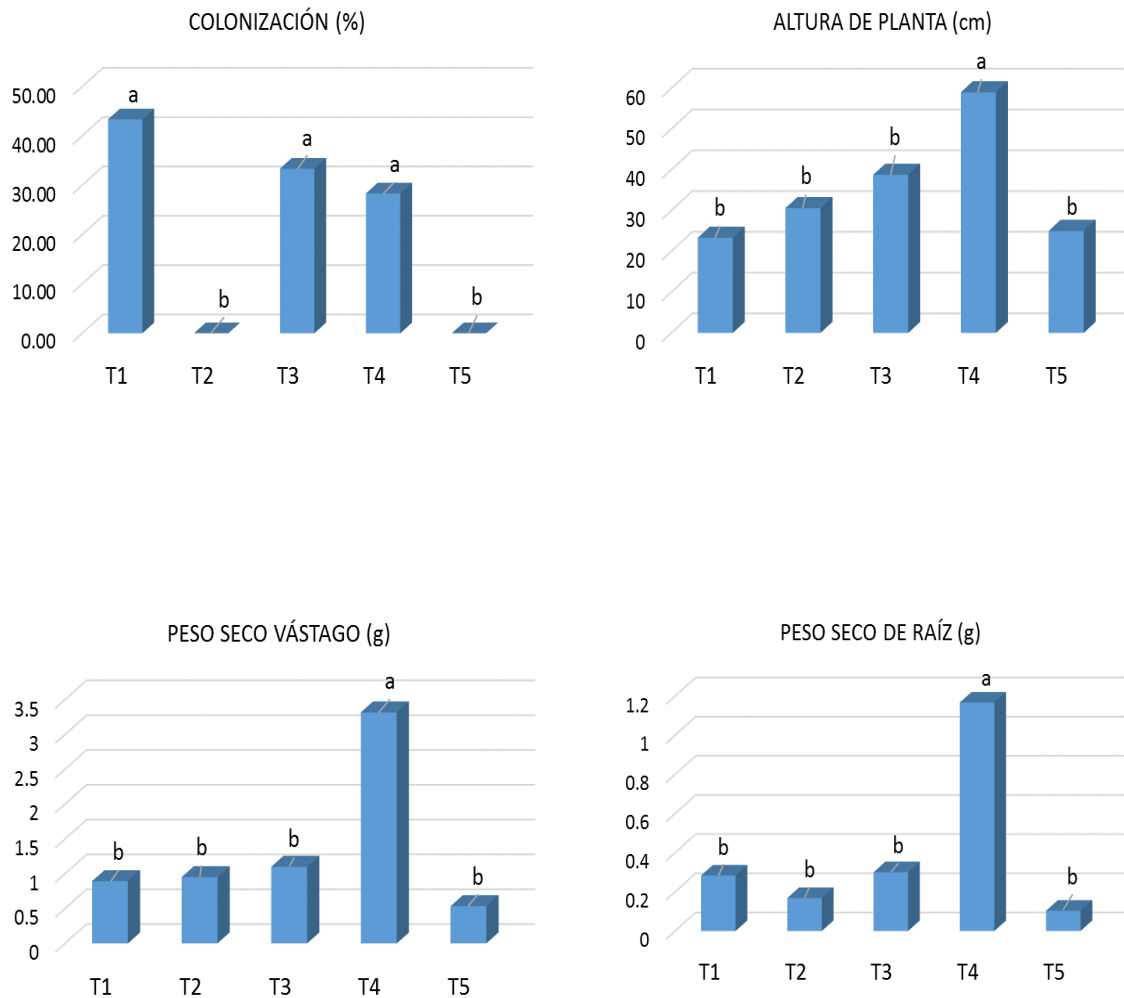


Figura 18. Porcentaje de colonización e indicadores de crecimiento de palo dulce (*E. polistachya*) inoculado con HMA. (T1= Sustrato Huajintlán; T2= Sustrato Huajintlán estéril; T3= Sustrato Huajintlán + inóculo cultivo trampa; T4= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa; T5= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa estéril).

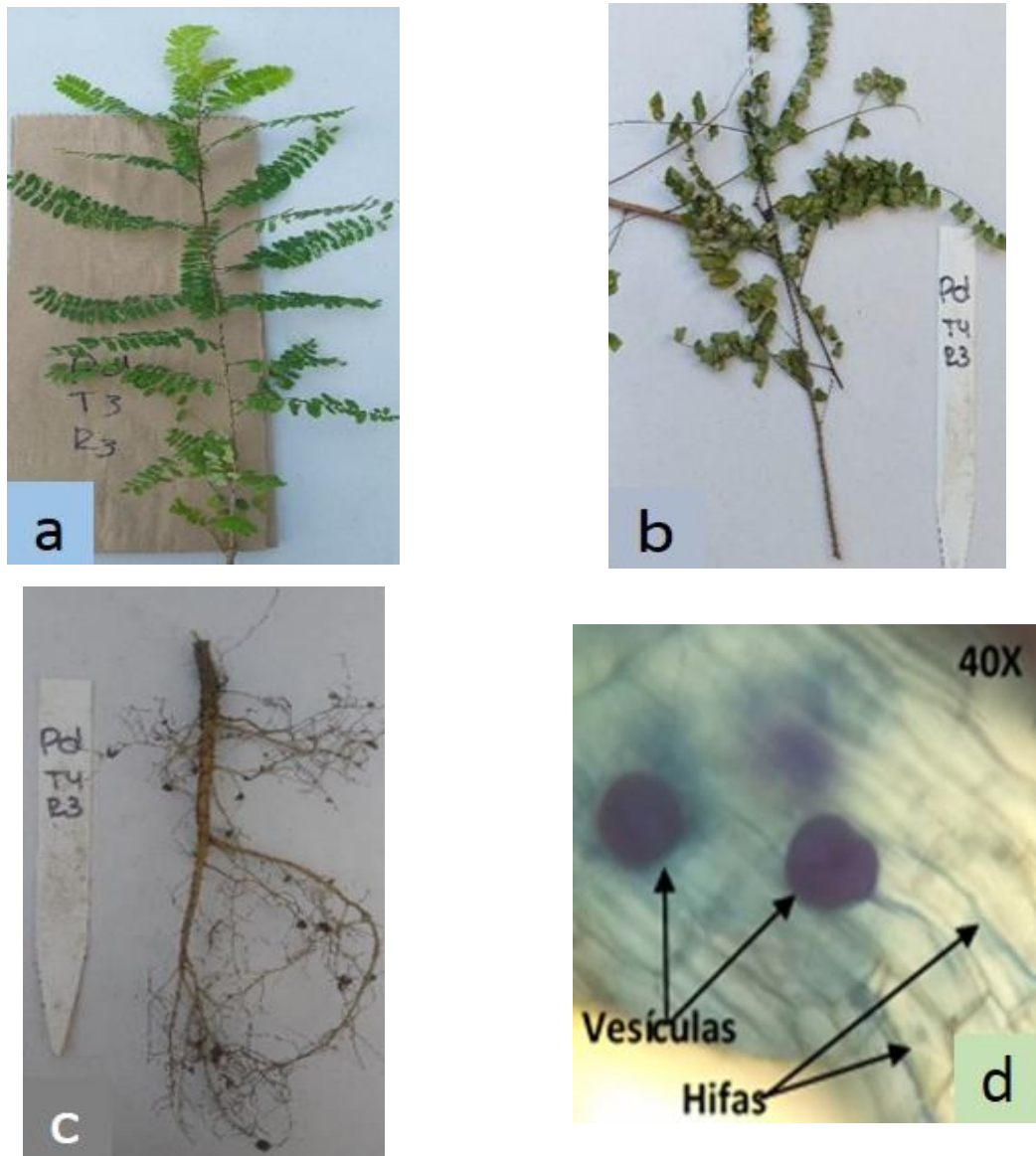


Figura 19. Parámetros de crecimiento de planta de palo dulce (*E. polystachya*) inoculada con HMA. a) masa fresca; b) masa seca; c) tamaño de raíz; y d) colonización de raíz por HMA.

Los resultados en cuanto a porcentaje de colonización reportados por otros autores tienen variaciones importantes y parece que no se correlacionan con los resultados del crecimiento de las plantas. Jiménez *et al.* (2017) reportaron diferentes porcentajes de colonización en Chile, cuando se inoculó con *Scutellospora fulgida* (26.31%), *Funneliformis mosseae* (58.47%) y *Glomus manibotis* (9.31%) observando a *F. mosseae* como estadísticamente superior; aunque en los parámetros de crecimiento de la planta *S. fulgida* fue superior en la altura de planta, *F. mosseae* fue superior en biomasa seca aérea y *F. mosseae* y *S. fulgida* fueron superiores en la masa seca de raíz. En otro estudio en papaya, Pirela-Almanza *et al.* (2018) utilizando inóculos de *S. fulgida*, *F. mosseae* y *G. manibotis*, encontraron diferencia estadística en el porcentaje de colonización, que fue de 36.6%, 47.0% y 38.6% respectivamente; pero en la altura de planta y en la biomasa aérea no observaron diferencias significativas.

Por otro lado, De Sousa-Lima y Da Silva-Sousa (2014) trabajando con eucalipto (*Eucalyptus grandis*) encontraron diferencias significativas en los porcentajes de colonización de cuatro inóculos, *Glomus etunicatum* (30.5%), *Glomus manibotis* (28.5%), *Acaulospora* sp. (18.5%) y *Entrophospora* (28.0%) siendo *Acaulospora* sp. inferior a los otros tres tratamientos y todos superiores al control; sin embargo en la altura de planta y la biomasa seca aérea los cuatro tratamientos inoculados fueron estadísticamente iguales y superiores al control (sin inóculo). En la biomasa seca de raíz no se observaron diferencias significativas.

El efecto de los tratamientos en cada una de las especies, mostró que la aplicación de micorrizas al sustrato mejora el desempeño de las plantas en contenedor. Los resultados muestran que en la mayoría de los casos el tratamiento de sustrato estéril más inóculo fue el que favoreció mejores rendimientos, posiblemente porque la presencia de los HMA en condiciones de esterilidad permitió que expresaran libremente sus cualidades. Por otro lado el tratamiento de sustrato de Huajintlán aportó las condiciones nativas del suelo en cuanto a la presencia tanto de HMA como de otros microorganismos.

En este trabajo, entre los tratamientos se observaron diferencias significativas en el peso seco de vástago y de raíz en caobilla; en guaje no se observaron diferencias significativas en ninguna de las variables; y en palo dulce se observaron diferencias en la altura de planta, en el peso seco de vástago y en el peso seco de raíz.

En cada caso la respuesta de cada una de las especies, como lo indican varios autores, depende de la interacción que se presenta entre la especie vegetal y la especie del HMA, ya que esta interacción aparentemente tiene cierta especificidad entre ambos organismos.

En la figura 20 se muestran las tendencias en cada una de las especies y de los tratamientos; en la altura de planta el tratamiento T4 se muestra con la tendencia a ser superior, en el peso seco del vástago los tratamientos T4 y T1 tienen los valores más altos y en el caso del peso seco de la raíz el tratamiento T4 y T1 muestran claramente los valores más altos; en las tres especies. El porcentaje de colonización no mostró diferencias entre las especies, ya que la tendencia es igual para los tratamientos que fueron inoculados en comparación con los que no se inocularon, de manera similar en las tres especies.

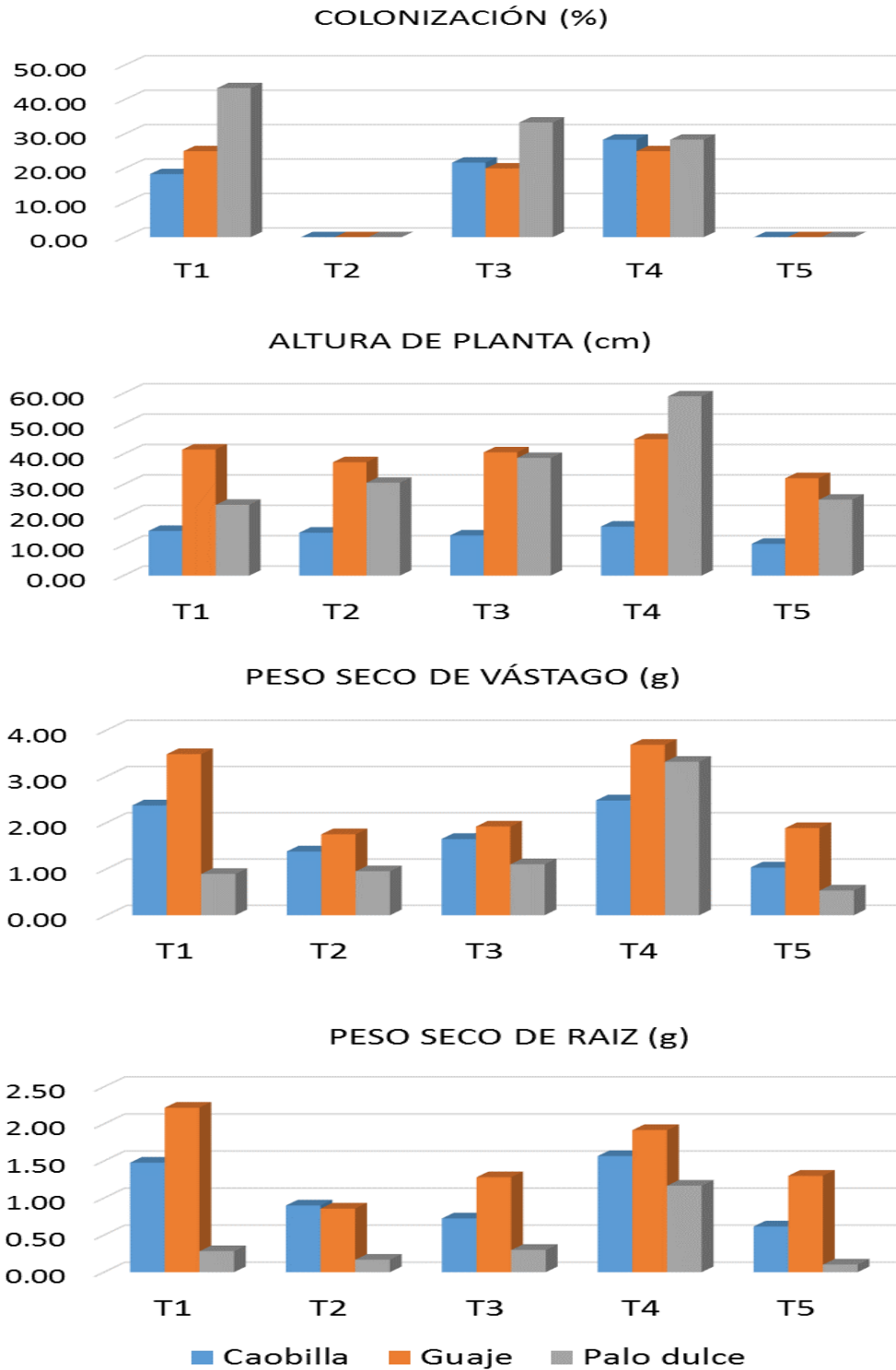


Figura 20. Porcentaje de colonización e indicadores de crecimiento de caobilla (*S. humilis*), guaje (*L. leucocephala*) y palo dulce (*E. polistachya*) inoculados con HMA. (T1= Sustrato Huajintlán; T2= Sustrato Huajintlán estéril; T3= Sustrato Huajintlán + inóculo cultivo trampa; T4= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa; T5= Sustrato Huajintlán estéril + inóculo cultivo trampa estéril).

CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES

En el proceso de aislamiento, se encontraron esporas de HMA con diferentes características en la rizosfera de caobilla (*Swietenia humilis*), guaje (*Leucaena leucocephala*) y palo dulce (*Eysenhardtia polystachya*).

Se detectaron diferencias en el número de esporas cuantificadas en las diferentes muestras de suelo de la rizósfera de los árboles en estudio, que fueron de 68.56, 51.00 y 31.63 esporas /100 g de suelo para caobilla, palo dulce y guaje, respectivamente.

Los porcentajes de colonización de los HMA observados en las diferentes muestras de suelo de la rizósfera de los árboles en estudio, fueron de 17.21%, 70.55% y 58.32%, para caobilla, palo dulce y guaje, respectivamente.

De los aislamientos se identificaron tres géneros con cuatro especies, de los cuales se aislaron *Glomus* sp., *Glomus aggregatum*, *Cloroideglomus* sp. y *Acaulospora* sp. en caobilla; y *Glomus* sp. y *Acaulospora* sp. en palo dulce y en guaje.

En la evaluación de la inoculación de las plantas en vivero, los porcentajes de colonización de los tratamientos micorrizados fueron estadísticamente iguales entre sí y superiores a los no micorrizados, y en el caso de los parámetros de crecimiento la respuesta fue diferente en cada especie evaluada.

En caobilla se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en el peso seco de vástago y de raíz, donde los tratamientos T1 y T4 fueron superiores a los demás.

En guaje no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en ninguna de las variables.

En palo dulce se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en la altura de planta, en el peso seco de vástago y en el peso seco de raíz, donde el tratamiento T4 fue superior al resto.

CAPÍTULO 9. LITERATURA CITADA

- Aguilar Benítez, S. 1990. Dimensiones ecológicas del estado de Morelos. Ed. CRIM-UNAM. México. 221 pp.
- Aguilera-Gómez, L. I., V. Olalde-Portugal, M. R. Arriaga y R. Contreras-Alonso. 2007. Micorrizas arbusculares. *Ciencia ergo sum*, 14(3): 300-306.
- Akhtar, M.S. y Z.A. Siddiqui. 2008. Biocontrol of a root-rot disease complex of chickpea by *Glomus intraradices*, *Rhizobium* sp. and *Pseudomonas straita*. *Crop protection* 27(3): 410-417.
- Alarcón, A., L.V. Hernández-Cuevas, R. Ferrera-Cerrato y A. Franco-Ramírez. 2012. Diversity and Agricultural Applications of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in México. *J. Biofertil. Biopestici.* 3: 115-125.
- Allen, M.F. 1991. *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge University Press. AMF Phylogeny (<http://schuessler.userweb.mwn.de/amphylo/>).
- Azcon-Aguilar, C. y J.M. Barea. 1996. Arbuscular Mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6: 457- 464.
- Bago B., C. Azcon-Aguilar, A. Goulet y Y. Piché. 1998. Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 139: 375-388.
- Barea, J.M., R. Azcón y C. Azcón-Aguilar. 2002. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie van Leeuwenhoek* 81(1-4): 343-351.
- Barea, R., M.I. Osendi, J.M. Ferreira y P. Miranzo. 2005. Thermal conductivity of highly porous mullite material. *Acta Materialia* 53(11): 3313-3318.
- Barrer, S. 2009. El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias* 7(1): 124-132, ISSN: 00071536.
- Blee, K.A. y A.J. Anderson. 2000. Defense responses in plant to arbuscular mycorrhizal fungi. In G. K. Podila, y D.D. Douds (Eds.). *Current Advances in Mycorrhizae Research*. pp. 27-43. USA: APS Press.

- Bonfante, P. y Genre, A., 2010. Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nat Commun* 1, 48.
- Brundrett, M.C. y L.K. Abbott. 2002. Arbuscular mycorrhizas in plant communities. In *Microorganisms in plant conservation and biodiversity*. (Eds. K. Sivasithamparam, K.W. Dixon y R.L. Barrett) pp. 151–193. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht
- Bullock, H., A. Mooney y E. Medina. 1995. *Seasonally dry tropical forest*. Cambridge University Press. Cambridge, England.
- Carballar-Hernández, S., L.V. Hernández-Cuevas, N.M. Montaña, J. Larsen, R. Ferrera-Cerrato, O.R. Taboada-Gaytán, A.M. Montiel-González y A. Alarcón. 2017. Native communities of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Capsicum annuum* L. respond to soil properties and agronomic management under field conditions. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 245: 43-51.
- Cairney, J.W. y A.E. Ashford. 2002. Biology of mycorrhizal associations of epacrids (Ericaceae). *New Phytologist* 154(2): 305-326.
- Camarena-Gutiérrez, G. 2012. Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente* 18(3): 409-421. <https://dx.doi.org/10.5154/r.rchscfa.2011.11.093>.
- Cano, M.A. 2011. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorrizas, *Trichoderma spp*, y *Pseudomonas spp*. Una revisión. *rev.udcaactual.divulg.cient.* [online]. 14(2): 15-31. ISSN 0123-4226.
- Carrillo-Sánchez L.E. 2015. Micorrizas para principiantes. *Herbario CICY* 7: 176-179. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/. ISSN: 2395-8790.
- Cervantes, L., J. Maass y R. Dominguez. 1988. Relación lluvia-escurrimiento en un sistema pequeño de cuencas de selva baja caducifolia. *Ingeniería Hidráulica en México*. Segunda época, 3: 30-42.
- Cervantes, V. 1996. La reforestación en la montaña de Guerrero: Una estrategia alternativa con leguminosas nativas. Tesis de Maestría. México Facultad de Ciencias, UNAM. 127 pp.

- Challenger, A. y J. Soberón. 2008. Los ecosistemas terrestres. En: Capital Natural de México. Vol I: Conocimiento Actual de la Biodiversidad, México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. pp. 87-108.
- CONABIO. 2018. *Eysenhardtia polystachya*. En http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/28-legum18m.pdf, fecha de consulta 9 de febrero del 2018.
- Cornwell, W.K., B.L. Bedford y C.T. Chapin. 2001. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in a phosphorus-poor wetland and mycorrhizal response to phosphorus fertilization. *American Journal of Botany* 88(10): 1824-1829.
- Cuenca, G., Z. De Andrade, M. Lovera, L. Fajardo, E. Meneses, M. Márquez y R. Machuca. 2003. Pre-selección de plantas nativas y producción de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) de relevancia en la rehabilitación de áreas degradadas de la gran sabana, Estado Bolívar, Venezuela. *Ecotrópicos* 16(1): 27-40.
- Cuervo A., J. y G. Rivas P. 2007. Cuantificación de hongos micorrízicos en muestras de suelo en plantaciones de *Tabebuia rosea* y *Cordia alliodora*. *Nova - Publicación científica* 5(7): 38-41.
- De Sousa-Lima, F. y C. Da Silva-Sousa. 2014. Crescimento e nutrição de mudas de clones de eucalipto inoculadas com fungos micorrízicos. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 44(2): 110-118.
- Del Águila, K., G. Vallejos-Torres, L. A. Arévalo y A. G. Becerra. 2018. Inoculación de consorcios micorrízicos arbusculares en *Coffea arabica*, variedad Caturra en la región San Martín. *Información Tecnológica* 29(1): 137-146.
- Dorado, O.S., D.M. Arias, G. Alonso y B. Maldonado. 2002. Sierra de Huautla, Morelos, México. *Tópicos en Educación Ambiental* 4(12): 23-33.
- Dreyer, B. 2007. La investigación de las micorrizas en El Salvador: una versión para el desarrollo de la agricultura. *El Salvador Ciencia y Tecnología* 12(16): 15-22.

- Escobar, E., M. Maass, D.J. Alcocer, R.E. Azpra, A.L. Falcón, G.A. Gallegos, G.F. Javier, F. García-Olivia, V. Jaramillo, C.R. Leucaena, J. Zavala-Hidalgo, H. Cotler, O. Masera y P. Moreno-Casasola. 2008. Diversidad de procesos funcionales en los ecosistemas. En capital natural de México. Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México Vol. 1, cap. 6. 161-189.
- Alarcón, A. y R. Ferrera-Cerrato. 1999. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra Latinoamericana* 17(3): 179-191.
- Ferrera-Cerrato, R. y A. Alarcón. 2001. La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *Ciencia Ergo Sum* 8(2): 175-183.
- Ferrera-Cerrato, R., J. Delgadillo y A. Alarcón. 2009. La micorriza arbuscular en la sostenibilidad y restauración de agroecosistemas, pp 281-304. En Álvarez Sánchez, F.J, (Ed.). 2009. *Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas*. México DF, México: Las Prensas de Ciencias UNAM.
- García-Gallegos, E., G. Gómez, O. G. Vázquez y E. M. Zamora. 2009. Respuesta de *Cassia tomentosa* desarrollada en tepetate con inoculación micorrízica bajo condiciones de invernadero. *Revista UDO Agrícola* 9(4): 816-825.
- García-Sánchez, R., A. Monroy-Ata y E. Chimal. 2008. Hongos micorrizógenos arbusculares asociados a diferentes plantas y matorrales del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. *In: Montaño-Arias, N. M., S. L. Camargo-Ricalde, R. García-Sánchez y A. Monroy-Ata (Eds.): Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos*. Mundi-Prensa S.A. de C.V., Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT, UAM-Iztapalapa. FES-Zaragoza-UNAM, México, D. F. México. pp. 123-136.
- Gemma, J.N., R.E. Koske y M. Hapte. 2002. Mycorrhizal dependence of some endemic and endangered Hawaiian plant species. *American Journal of Botany* 89: 337-345.
- Gerdemann J. W. y T.H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.

- González-Medrano, F. 2004. Las comunidades vegetales de México: propuesta para la unificación de la clasificación y nomenclatura de la vegetación de México. Ed. Instituto Nacional de Ecología. México. 81 pp.
- González, O. y W. Osorio. 2005. Evaluación de la efectividad de inóculos micorrizales. *Suelos Ecuatoriales* 35(2): 19-23.
- Google earth. 2017. Ubicación geográfica de la zona de estudio en Huajintlan, Morelos, En <https://earth.google.com/web/@18.61248872,99.43102254,954.2234972a,964.7269662d,35y,-122.91426903h,44.99980738t,-0r/data=ChUaEwoNL2cvMTFjMm sxMm53MxgCIAE>. Fecha de consulta 12 de noviembre del 2017.
- Gosling, P., A. Hodge, G. Goodlass y G.D. Bending. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 113(1): 17-35.
- Greenland, D. y R. Lal. (Eds.). 1979. Soil conservation and management in the Humid Tropics. John Wiley and Sons, Chichester. 283 pp.
- Guadarrama P., I. Sánchez-Gallén, J. Álvarez-Sánchez y J. Ramos-Zapata. 2004. Hongos y plantas, beneficios a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. *Ciencias* 73: 38-45.
- Hernández, J., C. López y F. Palma. 2014. Caracterización morfológica de micorriza arbuscular asociada a *Agave potatorum* Zucc. con potencial de uso agronómico. *Revista Mexicana de Agroecosistemas* 1(2): 82-93. ISSN: 2007-9559.
- Hernández, L., S. Castillo, P. Guadarrama, Y. Martínez, M.A. Romero e I. Sánchez. 2003. Hongos micorrizógenos arbusculares del Pedregal de San Ángel. (UNAM, Ed.). México. ISBN: 970-32-0431-7.
- Hernández-Cuevas, L. y R. García-Sánchez. 2008. Propagación por esporas: el caso de las micorrizas arbusculares *In: Álvarez-Sánchez, J. y A. Monroy-Ata (Comps.): Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración. Las prensas de Ciencias-UNAM, México, D. F. México. pp. 29-42.*
- Hernández-Cuevas, L., G. Santiago-Martínez y P. Cuatlal-Cuahutencos. 2011. Propagación y micorrización de plantas nativas con potencial para restauración de suelos. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 2(7): 87-96.

- Hildebrandt, U., M. Kaldorf y H. Bothe. 1999. The zinc violet and its colonization by arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Physiology* 154: 709-717.
- Huante, P., E. Ceccon, A. Orozco-Segovia, M.E. Sánchez-Coronado, I. Acosta y E. Rincón. 2012. The role of arbuscular mycorrhizal fungi on the early-stage restoration of seasonally dry tropical forest in Chamela, Mexico. *Revista Árvore* 36(2): 279-289.
- Hudson, N. 1981. Soil conservation. Cornell University Press, Ithaca. USA. 324 pp.
- INVAM. 2017. (International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Endomycorrhizal Fungi: www.invam.caf.wvu.edu).
- IUCN. 2011. The IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org/>.
- Janzen, D. 1986. Tropical dry forests: the most endangered major tropical ecosystems (eds E. O. Wilson & F. M. Peter). National Academic Press, Washington, D. C.
- Jiménez, I.J., M. Ramírez, B. Petit, C. Colmenares e I. Parra. 2017. Efecto de hongos Micorrízicos arbusculares y estiércol de bovino en el crecimiento inicial y pigmentación en *Capsicum frutescens* L. *Bioagro* 29(2): 137-144.
- Jobbágy, E. G. y R. B. Jackson. 2000. The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications* 10(2): 423-436.
- Khanam, D., M. Miridha, A. Solaiman y T. Hossain. 2006. Effect of edaphic factor son root colonization and spore population of arbuscular mycorrhizal fungi. *Bull. Ins. Trop. Agr., Kyushu Univ.* 29: 97-104.
- LeTacon, F., J. Garbaye y G. Carr. 1998. The use of micorrizas in temperate and tropical forest. *Simbiosis* 3: 179-206.
- Lott, E. J. 1993. Annotated checklist of the vascular flora of Chamela Bay region, Jalisco Mexico. California Academy Sciences, California. 60 pp.
- Lott, E.J., S.H. Bullock y J.A. Solís-Magallanes. 1987. Floristic diversity and structure of upland and arroyo forests in coastal Jalisco. *Biotropica* 19: 228-235.
- Lugo, A. 1986. Estimating reductions in the diversity of tropical forest species. (eds E. O. Wilson & F. M. Peter). National Academic Press, Washington, D. C.

- Magurno, F., M. Malicka, K. Posta, G. Wozniak, E. Lumini, Z. Piotrowska-Seget. 2019. Glomalin gene as molecular marker for functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Biology and Fertility of Soils*. Doi: 10.1007/s00374-019-01354-x.
- Medina, L. R., Y. Rodríguez, Y. Torres y R. Herrera. 2010. Aislamiento e identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de la zona de Las Caobas, Holguín. *Cultivos Tropicales* 31(4): 33-42.
- Méndez-Cortés, H., J.G. Marmolejo-Monsivais, V. Olalde-Portugal, C.M. Cantú-Ayala y L. Varela-Fregoso. 2012. Nuevos registros de hongos micorrizógenos arbusculares para México. *Revista Mexicana de Micología* 36: 49-56.
- Millennium Ecosystem Assessment. 2005. Ecosystem and human well being. A report of the Millennium Ecosystem Assessment. 155 pp.
- Miransari, M., H.A. Bahrami, F. Rejali y M.J. Malakouti. 2009. Effects of arbuscular mycorrhiza, soil sterilization, and soil compaction on wheat (*Triticum aestivum* L.) nutrients uptake. *Soil and Tillage Research* 104(1): 48-55.
- Molina, R. y J.M. Trappe. 1982. Lack of mycorrhizal specificity by the ericaceous hosts *arbutus menziesii* and *arctostaphylos uv a-ursi*. *New Phytologist* 90(3): 495-509.
- Monroy-Ata, A., J. Estevez, R. García-Sánchez y R. Ríos. 2007. Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 80 (Supl.): 49-57.
- Morgan, R. 1979. Soil erosion. Longman, London.
- Murphy, P.G. y A.E. Lugo. 1986. The ecology of tropical dry forest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 67-88.
- Oehl, F., E. Sieverding, J. Palenzuela, K. Ineichen y G.A. da Silva. 2011a. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA Fungus. The Global Mycological Journal* 2(2): 191-199.
- Oehl F., G.A. Silva, B.T. Goto, L.C. Maia y E. Sieverding. 2011b. *Glomeromycota*: two new classes and a new order. *Mycotaxon* 116: 365-379.

- Pagano, M. C., F. Oehl, G.A. Silva, L.C. Maia, D.K. Silva y M.N. Cabello. 2016. Advances in arbuscular mycorrhizal taxonomy. In Recent advances on mycorrhizal fungi (pp. 15-21). Springer, Cham.
- Pennington, T. D. y J. Sarukhan. 1998. Árboles Tropicales de México. Instituto de Ecología, UNAM. 413 pp.
- Pérez C., A., S. Rojas J. y D. Montes V. 2011. Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el caribe colombiano. Revista Colombiana de Ciencia Animal 3(2): 366-385.
- Pérez M., U. A. 2011. Evaluación de un sistema para la micorrización *in vitro* en plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus*). Trabajo de grado de master en Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Bogotá, D.C. 101 pp.
- Peterson, L. R. y H. B. Massicotte. 2004. Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology NRC Research Press, Ottawa, Vol. 1, 57 pp.
- Phillips, J. M. y D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. 55: 158-161.
- Pírela-Almarza, A.Y., O.E. Aguirre-Serpa, M.D.C. Ramírez-Villalobos, B. Petit, B. Bracho e I. Parra. 2018. Efecto de hongos micorrízicos arbusculares y del estiércol de ovino en el desarrollo inicial de la lechosa (*Carica papaya* L.) var. maradol roja. *Bioagro*, 30(1): 79-86.
- Ramos Zapata, J. y P. Guadarrama. 2004. Los hongos micorrizógenos arbusculares en la restauración de comunidades tropicales. Universidad y Ciencia, Num. Esp. 1: 59-65.
- Redecker, D., A. Schüßler, H. Stockinger, S.L. Stürmer, J.B. Morton y C. Walker. 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza* 23(7): 515-531.
- Remy, W., T.N. Taylor, H. Hass y H. Kerp. 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91(25): 11841-11843.

- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México (1a ed.). México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 504 pp.
- Salas, E., 2004. Las Micorrizas y su Importancia para el Manejo y Conservación de los Árboles del Trópico. Memoria del I Congreso Sobre Suelos Forestales y de Ordenación Territorial ¿Son los Suelos Forestales Diferentes? Universidad Nacional - INISEFOR. Heredia, Costa Rica.
- Salgado-García, S., M. Castelán-Estrada, R. Jiménez-Jerónimo, J.F. Gómez-Leyva y M. Osorio-Miranda. 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.
- Salmerón-Santiago, I.A., M.E. Pedraza-Santos, L.S. Mendoza-Oviedo y A.T. Chávez-Bárceñas. 2015. Cronología de la taxonomía y cladística de los glomeromicetos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 38(2): 153-163.
- Schenck N. C. y Y. Pérez. 1990. Manual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi. 3ª ed. University of Florida. Gainesville, Florida.
- Schüßler, A. y C. Walker. 2010. The Glomeromycota a species list with new families and new genera. *Read* (December), 1-58, Gloucester, England. ISSN: 1536-4828.
- Schwarzott, D., C. Walker y A. Schüßler. 2001. Glomus, the largest genus of the arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales), is nonmonophyletic. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21(2): 190-197.
- SEMARNAT, 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. www.semarnat.gob.mx/leyesynormas/
- SEMARNAT. 2013a. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave y de Desempeño Ambiental. Edición 2012. México. 360 pp.
- SEMARNAT. 2013b. Inventario estatal forestal y de suelos - Morelos 2013. SEMARNAT-CONAFOR. México. 120 pp.

- SIRE. 2001. Paquetes tecnológicos. *Swietenia humilis*. En <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/ver.aspx?articulo=1005&grupo=13>, fecha de consulta: 10 de febrero del 2018.
- Smith, S. E. y D.J. Read. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, New York. Vol. 2, p. 787.
- Strullu-Derrien, C. y D.G. Strullu. 2007. Mycorrhization of fossil and living plants. *Comptes Rendus Palevol* 6(6): 483-494.
- Stürmer, S. L. 2012. A history of the taxonomy and systematics of arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the phylum Glomeromycota. *Mycorrhiza* 22(4): 247-258.
- Stürmer, S., R. Stürmer y D. Pasqualini. 2013. Taxonomic diversity and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi (Phylum Glomeromycota) in three maritime sand dunes in Santa Catarina state, south Brazil. *Fungal Ecology* 6(1): 27-36. ISSN: 17545048.
- Sunderlin, W.D., S. Dewi, A. Puntodewo, D. Müller, A. Angelsen y M. Epprech. 2008. “Why forest are important for global poverty alleviation: a spatial explanation”. *Ecology and Society* 13: 24-44.
- Toledo, V. 1988. La biodiversidad biológica de México. *Ciencia y Desarrollo* 8: 7-16.
- Torres-Arias, Y., R.O. Fors, C. Nobre, E.F. Gómez y R.L.L. Berbara. 2017. Production of native arbuscular mycorrhizal fungi inoculum under different environmental conditions. *Brazilian Journal of Microbiology* 48(1): 87-94.
- Trappe, J.M. 1987. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. In: *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants* (ed. G. R. Safir). CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Trejo, R.I. 1996. Características del medio físico de la selva baja caducifolia en México, investigaciones geográficas. *Boletín. Instituto de geografía. Número, especial 4. UNAM*. Pp. 95-110.
- Trevor, E.Y., K.N. Egger y L.R. Peterson. 2001. Ectendomycorrhizal associations—characteristics and functions. *Mycorrhiza* 11(4): 167-177.

- Van der Heijden, M.G.A., J.N. Klironomos, M. Ursic, P. Moutoglis, R. Streitwolf-Engel, T. Boller, A. Wiemken e I.R. Sanders. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plants biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69-72.
- Varela-Fragoso L. y M.C.A. González-Chávez. 2007. Taxonomía de los hongos formadores de micorriza arbuscular. En: Fuentes-Dávila G., R. Ferrera-Cerrato (eds.), *Ecología de la Raíz*: pp. 57-72. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Ciudad Obregón, Sonora.
- Varma A. 1995. Ecophysiology and application of arbuscular mycorrhizal fungi in arid soils. En: Varma A., B. Hock (eds). *Mycorrhiza*. Springer-Verlag. Berlin. 734 pp.
- Viera, W., D. Campaña, A. Lastra, W. Vázquez, P. Viteri y A. Sotomayor. 2017. Micorrizas nativas y su efecto en dos portainjertos de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). *Bioagro* 29(2): 105-114.
- White G.M., D.H. Boshier y W. Powell. 1999. Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. *Mol. Ecol.* 8(11): 1899-1909.
- White G.M., D.H. Boshier y W. Powell. 2002. Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: an example from *Swietenia humilis* Zuccarini. *Proc Natl Acad Sci USA.* 19(4):2038-2042.
- Zarate-Pedroche, S. 1994. Revisión del género *Leucaena* en México. *Anales del Inst. Biol. Univ. Nac. Auton. México. Ser. Bot.* 65(2): 83-162.



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
COORDINACIÓN DE POSGRADO

Maestría en Manejo de Recursos Naturales



Cuernavaca, Mor., 13 de mayo de 2019.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE POSGRADO
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: "**Aplicación de hongos micorrizicos arbusculares en la producción de plantas de selva baja caducifolia con fines de reforestación**" que presenta la **Biol. Denisse Acosta Peñaloza**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dr. Guadalupe Peña Chora
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
COORDINACIÓN DE POSGRADO

Maestría en Manejo de Recursos Naturales




Cuernavaca, Mor., 13 de mayo de 2019.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE POSGRADO
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: "**Aplicación de hongos micorrízicos arbusculares en la producción de plantas de selva baja caducifolia con fines de reforestación**" que presenta la **Biol. Denisse Acosta Peñaloza**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia


M. en C. María Eugenia Bahena Galindo
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
COORDINACIÓN DE POSGRADO

Maestría en Manejo de Recursos Naturales



Cuernavaca, Mor., 13 de mayo de 2019.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE POSGRADO
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: "**Aplicación de hongos micorrízicos arbusculares en la producción de plantas de selva baja caducifolia con fines de reforestación**" que presenta la Biol. **Denisse Acosta Peñaloza**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dra. Maura Téllez Téllez
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
COORDINACIÓN DE POSGRADO

Maestría en Manejo de Recursos Naturales

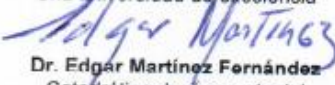


Cuernavaca, Mor., 13 de mayo de 2019.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE POSGRADO
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: "**Aplicación de hongos micorrízicos arbusculares en la producción de plantas de selva baja caducifolia con fines de reforestación**" que presenta la **Biol. Denisse Acosta Peñaloza**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dr. Edgar Martínez Fernández
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
COORDINACIÓN DE POSGRADO

Maestría en Manejo de Recursos Naturales



Cuernavaca, Mor., 13 de mayo de 2019.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE POSGRADO
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: "**Aplicación de hongos micorrizicos arbusculares en la producción de plantas de selva baja caducifolia con fines de reforestación**" que presenta la Biol. **Denisse Acosta Peñaloza**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

M. en C. Ma de Lourdes Acosta Urdapilleta
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas