

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES**

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



**DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍMICOS ARBUSCULARES
ASOCIADOS AL CEDRO ROJO (*Cedrela odorata* L.) EN DOS
ECOSISTEMAS TROPICALES DE VERACRUZ, MÉXICO.**

TESIS DE DOCTORADO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE:
**DOCTORADO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE
RECURSOS NATURALES**

PRESENTA:

M. C. HERIBERTO MÉNDEZ CORTÉS

Linares Nuevo León, México

Febrero de 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

**DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍMICOS ARBUSCULARES ASOCIADOS AL
CEDRO ROJO (*Cedrela odorata* L.) EN DOS ECOSISTEMAS TROPICALES DE
VERACRUZ, MÉXICO.**

TESIS

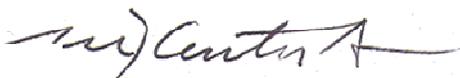
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE:

**DOCTORADO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MANEJO DE RECURSOS
NATURALES**

PRESENTA:

M. C. HERIBERTO MÉNDEZ CORTÉS

COMITÉ DE TESIS



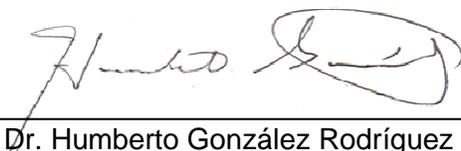
Dr. César M. Cantú Ayala
Director de tesis



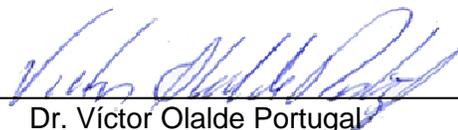
Dr. José G. Marmolejo Monsiváis
Asesor



Dr. Eduardo Estrada Castellón
Asesor



Dr. Humberto González Rodríguez
Asesor



Dr. Víctor Olalde Portugal
Asesor externo

Manifiesto que la presente investigación es original y fue desarrollada para obtener el grado de Doctor en Ciencias en la especialidad de Manejo de Recursos Naturales. Donde se utiliza información de otros autores se otorgan los créditos correspondientes.

M. C. Heriberto Méndez Cortés

Febrero de 2012

AGRADECIMIENTOS

La culminación de esta etapa profesional, no hubiese sido posible sin la intervención de personas e instituciones que estuvieron en cada momento apoyándome económicamente:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico otorgado a través de las becas de posgrado

Al Dr. Antonio Muñoz a través del Laboratorio de Investigaciones y Diagnostico Fitosanitario por los recursos económicos requeridos en las colectas de muestras en el estado de Veracruz

El apoyo de instituciones educativas, es indispensable para forjar la investigación científica; por ello, agradezco a las siguientes instancias:

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Unidad Irapuato por el uso de reactivos, equipo de laboratorio e invernaderos

A la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León por permitir formarme profesionalmente y abrirme las puertas en tan prestigiosas instalaciones

Así mismo, expreso mi agradecimiento a los diferentes laboratorios donde realice algún estudio:

Al laboratorio de Micología de la FCF, UANL

Al Laboratorio de Suelos y Nutrición Forestal de la FCF, UANL

Al Laboratorio de Bioquímica Ecológica de CINVESTAV-Unidad Irapuato

La culminación de la presente investigación fue en gran medida por el apoyo y orientación del comité de tesis:

Al Dr. César por sus comentarios acertados y por ser buen amigo

*Al Dr. Marmolejo por apoyarme en estos tres años y por su
confianza brindada desde hace siete años*

*Al Dr. Lalo por darme aliento de superación y por escucharme
cuando tuve alguna duda*

*Al Dr. Humberto, quien ha sido un buen crítico y por dar respuesta
oportuna a mis preguntas*

*Al Dr. Víctor que sin ser su estudiante, me atendió como si lo
fuera. Gracias por su hospitalidad en estos tres años*

*A la Dra Lucia Varela que sin estar en mi comité, me apoyó con
sus observaciones en la morfología de esporas micorrícicas. No dude
que desarrollaré esta línea de investigación en México*

*Las personas que se involucraron para culminar mi trabajo de investigación les doy mis
sinceros agradecimientos:*

A Cecy (UANL) y Miguel (INIFAP)

*A la M. C. Rosalinda Serrato Flores (CINVESTAV) por su apoyo
en el desarrollo de las técnicas moleculares y por su atención en los
equipos y reactivos utilizados en esta investigación*

*A quienes han confiado en mis palabras y consejos para el desarrollo de investigaciones
micorrícicas:*

A Emmanuel (UANL), Arturo (ITSZ) y Ricardo (UMSNH)

*A todos mis amigos y compañeros que me acompañaron tanto en Linares como en
Irapuato:*

*En Linares a Elisa, Cristian, Juan Manuel, Verónica, Javier,
Claudia y Fermín*

*En Irapuato a Julieta, Mago, Horacio, Isabel, Raysa, Hugo, Raúl,
Maye y Fernando*

Resumen

Cedrela odorata L. es una especie Sujeta a Protección Especial (NOM-059-SEMARNAT-2010) en México, como lo constatan sus bajas poblaciones en sus ambientes naturales. La experiencia muestra que existe un bajo éxito al restablecerlas en áreas altamente degradadas. Una alternativa para mejorar esta situación, es la inoculación con hongos micorrícicos arbusculares (HMA).

La presente investigación determinó las variables climáticas y edáficas de dos ecosistemas tropicales donde se distribuye esta especie maderable en el estado de Veracruz; así mismo, se determinó el total de esporas, el nivel de colonización y los HMA presentes en estos dos ecosistemas. Por último, se estableció la técnica de reacción en cadena de la polimerasa y un bioensayo para determinar la asociación de estos hongos con *C. odorata*.

Los resultados mostraron que ambos ecosistemas presentaron altos contenidos de materia orgánica, adecuados niveles de nitrógeno y magnesio, así como bajos contenidos de fósforo. La selva alta perennifolia se caracterizó por presentar altas tasas de precipitación y altos niveles de fierro, zinc, manganeso y cobre; adecuados niveles de calcio; bajos valores de pH y bajos niveles de potasio. Por su parte, la selva mediana subperennifolia presentó niveles más bajos de precipitación; adecuados niveles de potasio, fierro, zinc, manganeso y cobre; altos contenidos de calcio que se reflejaron en pH neutros a medianamente alcalinos. El mayor número de esporas estuvo influenciado por los altos niveles de precipitación en estos dos ecosistemas. La colonización por hifas fue similar en ambos ecosistemas; la colonización por vesículas se acrecentó en la época seca de la selva mediana subperennifolia; la colonización por arbusculos se favoreció por las épocas de lluvia de ambos ecosistemas. Se identificaron 37 especies de HMA en estos ecosistemas; la selva alta perennifolia presentó un mayor número de especies y sólo ocho se identificaron en ambos ecosistemas. Las técnicas moleculares mostraron asociación entre las raíces de *C. odorata* y los hongos de la familia Acaulosporaceae y *Glomus* grupo A en la selva alta perennifolia; miembros de la familia Paraglomaceae, Gigasporaceae y *Glomus* grupo A

asociados en la selva mediana subperennifolia. Del bioensayo realizado, se asociaron 18 taxones de HMA; *Glomus* sp.1 y *Acaulospora mellea* fueron las especies más frecuentes en la selva alta perennifolia; *Glomus aggregatum* en la selva mediana subperennifolia.

En general existe una fuerte relación micorrícica entre estos hongos y *C. odorata*; ante ello, se sugiere replicar estos hongos para utilizarlos en la producción de plántulas, a fin de lograr una mejor adaptación al establecerlas en condiciones naturales.

Palabras clave: Ecosistemas tropicales, esporas, colonización, caracterización, micorrizas, cedro rojo.

Summary

Since the low presence of wild populations, *Cedrela odorata* L. is a species under special protection in Mexico (NOM-059-SEMARNAT-2010). The research experiences, it has shown that exist a low success when they are established in highly degraded areas. An alternative approach to improve it is using arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation.

This study describes the climatic and adaphic variables in two tropical ecosystems where *Cedrela odorata* is distributed into the State of Veracruz. The total spore amount, growing level and the AMF present in both tropical ecosystems are also shown. Moreover, the polymerase chain reaction technique and a bioensaye to determine the association of these fungi with *C. odorata* was applied.

The results showed high contents of organic matter, adequate nitrogen and magnesium levels and low phosphorus levels in both ecosystems. The perennial tall forest presented high precipitation rates and high levels of iron, zinc, manganese and copper content; adequate levels of calcium; low pH values and low potassium levels. The perennial medium forest showed lower precipitation levels; adequate potassium, iron, zinc, manganese and copper levels; high contents of calcium that were reflected in neutral to alkaline pH. The bigger number

of spores was influenced by the high precipitation levels in these ecosystems. The colonization by hyphae was similar in both ecosystems; the colonization by vesicles increased in the dry perennial medium forest; the colonization by arbuscules was favored by the rain of both ecosystems. 37 species of HMA were identified in these ecosystems; the perennial high forest presented a bigger number of species and only eight were only identified in both ecosystems. The molecular techniques showed association between the roots of *C. odorata* and the fungi of the family Acaulosporaceae and *Glomus* group A in the perennial high forest; members of the family Paraglomaceae, Gigasporaceae and *Glomus* group A, was associated at the perennial medium forest. In the bioassay 18 taxa of AMF were associated; *Glomus* sp. 1 and *Acaulospora mellea* were the most frequent species in the perennial high forest; in the other hand, *Glomus aggregatum* was the most frequent species in the perennial medium forest.

In general terms, there is a high mycorrhizal relationship between *C. odorata* and those fungi, for this reason, strongly suggest developing these fungi to be used in plant production to achieve a better adaptation when they are established in natural conditions.

Key words: Tropical forest, spores, colonization, characterization, mycorrhizal, red cedar.

Índice general

	Página
CAPÍTULO I	1
Introducción general.....	1
Objetivo general	4
Objetivos específicos	5
Hipótesis.....	5
CAPÍTULO II	6
Evaluación de variables climáticas y edáficas de dos ecosistemas tropicales con <i>Cedrela odorata</i> L. en Veracruz, México	6
Resumen.....	6
Abstract.....	6
Introducción.....	7
Materiales y métodos.....	9
Resultados	12
Discusión.....	13
Conclusiones.....	15
CAPÍTULO III	17
Cuantificación de poblaciones micorrícicas en las áreas naturales de distribución de <i>Cedrela odorata</i> L. en Veracruz, México	17
Resumen.....	17
Abstract.....	17
Introducción.....	18
Materiales y métodos.....	19
Resultados	23
Discusión.....	23
Conclusiones.....	26
CAPÍTULO IV	28
Evaluación del nivel de colonización de hongos micorrícicos arbusculares en las áreas naturales de distribución de <i>Cedrela odorata</i> L. en Veracruz, México	28
Resumen.....	28
Abstract.....	28
Introducción.....	29
Materiales y métodos.....	31
Resultados	34
Discusión.....	37

Conclusiones.....	38
CAPÍTULO V.....	40
Identificación de hongos micorrícicos arbusculares en las áreas naturales de distribución de <i>Cedrela odorata</i> L. en Veracruz, México.....	40
Resumen.. ..	40
Abstract... ..	40
Introducción.....	41
Materiales y métodos.....	45
Resultados	50
Discusión.	53
Conclusiones.....	55
CAPÍTULO VI.....	57
Identificación de hongos micorrícicos arbusculares asociados a <i>Cedrela odorata</i> L. mediante el uso de marcadores moleculares	57
Resumen.. ..	57
Abstract... ..	57
Introducción.....	58
Materiales y métodos.....	60
Resultados	62
Discusión.. ..	64
Conclusiones.....	65
CAPÍTULO VII.....	67
Evaluación en invernadero de la asociación de hongos micorrícicos arbusculares con <i>Cedrela odorata</i> L. utilizando inóculos nativos de dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México	67
Resumen.. ..	67
Abstract... ..	67
Introducción.....	68
Materiales y métodos.....	70
Resultados	71
Discusión.	80
Conclusiones.....	80
CAPÍTULO VIII.....	85
Discusión general	85
CAPÍTULO IX.....	89
Conclusión general	89
CAPÍTULO X.....	92

Literatura citada	92
CAPÍTULO XI.....	116
Anexos	116
Anexo 1. Simbología utilizada.	116
Anexo 2. Preparación de sacarosa (50% + Tween 80).	116
Anexo 3. Preparación de la solución Ringer.....	117
Anexo 4. Preparación de la solución Alcohol-Formaldehido-Ácido acético.	117
Anexo 5. Preparación de la solución de Azul de tripano (0.05% en lactoglicerol).....	117
Anexo 6. Preparación de la solución Hong Ashton.....	118
Anexo 7. Preparación de medios de montaje.	119
Anexo 8. Preparación de gel de agarosa 1%.....	119
Anexo 9. Preparación de TBE 5X.....	119
Anexo 10. Preparación de buffer de carga.	120
Anexo 11. Mezcla de la primera amplificación del PCR	120
Anexo 12. Mezcla de la segunda amplificación del PCR para <i>Glomus</i> grupo A y Gigasporaceae.....	120
Anexo 13. Mezcla de la segunda amplificación del PCR para Archeosporaceae, Acaulosporaceae y <i>Glomus</i> grupo B	121
Anexo 14. Mezcla de la segunda amplificación del PCR para grupos universales de hongos ..	121
Anexo 15. Clave de identificación de hongos micorrícicos arbusculares asociados a <i>Cedrela odorata</i> L.	122
Anexo 16. Descripción de especies micorrícicas.....	126
<i>Acaulospora</i> Gerd. & Trappe emend. S.M. Berch	126
<i>Acaulospora excavata</i> Ingleby & C. Walker.....	127
<i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos	129
<i>Acaulospora lacunosa</i> J. B. Morton	130
<i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe	132
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & N. C. Schenck	133
<i>Acaulospora morrowiae</i> Spain & N.C. Schenck.....	135
<i>Acaulospora rehmi</i> Sieverd. & S. Toro	136
<i>Acaulospora rugosa</i> J.B. Morton.....	138
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe.....	139
<i>Acaulospora spinosa</i> C. Walker & Trappe	141
<i>Claroideoglomus</i> C. Walker & Schüßler.....	142
<i>Claroideoglomus etunicatum</i> (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & Schüßler.....	143
<i>Diversispora</i> C. Walker & Schüßler	144

<i>Diversispora celata</i> C. Walker, Gamper and Schüßler	145
<i>Diversispora eburnea</i> (L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton) C. Walker & Schüßler	146
<i>Diversispora spurca</i> (C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & Schüßler	147
<i>Entrophospora</i> R.N. Ames & R.W. Schneid. emend. Oehl & Sieverd.	148
<i>Entrophospora infrequens</i> (I.R. Hall) R.N. Ames & R.W. Schneid. emend. Oehl & Sieverd	149
<i>Funneliformis</i> C. Walker & Schüßler	150
<i>Funneliformis constrictum</i> (Trappe) C. Walker & Schüßler.....	151
<i>Funneliformis mosseae</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & Schüßler.....	152
<i>Glomus</i> Tul. & C. Tul.	153
<i>Glomus aggregatum</i> N.C. Schenck & G.S. Sm. emend. Koske	155
<i>Glomus ambisporum</i> Smith & Schenck.....	156
<i>Glomus arenarium</i> Blaszk., Tadych & Madej	157
<i>Glomus aureum</i> Oehl & Sieverd.	159
<i>Glomus flavisporum</i> (M. Lange & E.M. Lund) Trappe & Gerd.	160
<i>Glomus hyderabadensis</i> Swarapu, Kunwar, Prasad & Manohar.....	161
<i>Glomus macrocarpum</i> Tul. & C. Tul.....	162
<i>Glomus microaggregatum</i> Koske, Gemma & P.D. Olexia	164
<i>Glomus microcarpum</i> Tul & C. Tul.....	165
<i>Glomus viscosum</i> T. H. Nicolson	166
<i>Pacispora</i> Oehl & Sieverd.	167
<i>Pacispora robigina</i> Oehl & Sieverd.	168
<i>Pacispora scintillans</i> (S.L. Rose & Trappe) Sieverd. & Oehl ex C. Walker, Vestberg & Schüßler.....	169
<i>Paraglomus</i> J.B. Morton & D. Redecker	170
<i>Paraglomus occultum</i> C. Renker, Błaszk. & F. Buscot	171
<i>Rhizophagus</i> P. A. Dang.....	172
<i>Rhizophagus clarus</i> (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) C. Walker & Schüßler	173
<i>Rhizophagus custos</i> (C. Cano & Y. Dalpé) C. Walker & Schüßler	174
<i>Rhizophagus fasciculatus</i> (Thaxt.) C. Walker & Schüßler	175
<i>Sclerocystis</i> Berkeley & Broome.....	176
<i>Sclerocystis rubiformis</i> Gerd. & Trappe	177
<i>Sclerocystis sinuosa</i> Gerd. & B.K. Bakshi.....	178
<i>Sclerocystis taiwanensis</i> C.G. Wu & Z.C. Chen	179
<i>Scutellospora</i> C. Walker & F.E. Sanders.....	180
<i>Scutellospora pellucida</i> (T.H. Nicolson & N. C. Schenck) C. Walker & F.E. Sanders	181

Índice de figuras

	Página
Figura 2.1. Ubicación de los sitios de muestreo donde se determinaron las variables climáticas y edáficas de dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México.....	9
Figura 2.2. Triángulo de clasificación para la textura de suelos propuesto por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA).....	11
Figura 3.1. Diagrama para la extracción de esporas de acuerdo al protocolo propuesto por Gerdemann y Nicolson (1963), con modificación de Daniels y Skipper (1982).....	22
Figura 3.2. Presencia de esporas e hifas extraradicales en raíces de <i>Cedrela odorata</i>	22
Figura 3.3. Esporas extraídas por el método de tamizado en húmedo y centrifugación en sacarosa.....	22
Figura 3.4. Comparación de medias (Tukey $p=0.05$) en la interacción época-ecosistema de la cuantificación total de esporas en 100 gr de suelo.....	24
Figura 3.5. Población total de esporas en 100 gr de suelo para los ecosistemas donde se distribuye <i>Cedrela odorata</i> en el estado de Veracruz (selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia).....	24
Figura 3.6. Población total de esporas en 100 g de suelo para la época de lluvia y época seca de las áreas de distribución de <i>Cedrela odorata</i> en el estado de Veracruz	25
Figura 4.1. Diagrama de evaluación micorrícica en raíces de <i>Cedrela odorata</i> con modificación a los protocolos propuestos por Phillips y Hayman (1970) y McGonigle <i>et al.</i> (1990).....	33
Figura 4.2. Colonización por hifas, vesículas y arbuscúlos en dos ecosistemas tropicales y dos épocas de evaluación en las áreas de distribución de <i>Cedrela odorata</i> en el estado de Veracruz.....	35
Figura 4.3. Nivel de colonización por hifas, vesículas y arbuscúlos en los ecosistemas de selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia.....	35
Figura 4.4. Nivel de colonización por hifas, vesículas y arbuscúlos en la época de lluvia y época seca.....	36
Figura 4.5. Colonización por hifas intraradicales al interior de células corticales de <i>Cedrela odorata</i>	36
Figura 4.6. Colonización por vesículas al interior de la raíz de <i>Cedrela odorata</i>	36
Figura 4.7. Colonización por arbuscúlos en células corticales de <i>Cedrela odorata</i>	36
Figura 4.8. Presencia de arbuscúlo en una célula cortical de <i>Cedrela odorata</i>	36

Figura 5.1. Propagación de esporas micorrícicas mediante el establecimiento de cultivos trampa.....	45
Figura 5.2. Consideraciones básicas para la identificación de hongos micorrícicos arbusculares (Tomado de Brundrett <i>et al.</i> , 1996).....	46
Figura 5.3. Consideraciones básicas para el montaje de hongos micorrícicos arbusculares (Tomado de Schenck y Perez, 1990).....	48
Figura 6.1. Estructura del gen ribosomal de los hongos micorrícicos arbusculares de acuerdo a Redecker (2000).....	59
Figura 6.2. Amplificación del DNA genómico obtenido de raíces de <i>Cedrela odorata</i>	63
Figura 6.3. Amplificación del DNA genómico de hongos, derivado del producto del primer PCR.....	63
Figura 6.4. Amplificación del DNA genómico de hongos micorrícicos arbusculares, derivado del PCR anidado de raíces de <i>Cedrela odorata</i>	64
Figura 7.1. Crecimiento en altura, diámetro y número de foliolos de <i>C. odorata</i> procedentes de dos tipos de vegetación.....	74
Figura 7.2. Crecimiento en biomasa de raíz y aérea de <i>C. odorata</i> , procedentes de dos tipos de vegetación.....	75
Figura 7.3. Porcentaje de colonización por hifas, vesículas y arbusculos en <i>Cedrela odorata</i> , procedentes de dos tipos de vegetación.....	76
Figura 7.4. Número de esporas presentes en <i>Cedrela odorata</i> , procedentes de dos tipos de vegetación.....	76
Figura 7.5. Análisis de correspondencia simple que muestra la asociación micorrícica entre los hongos micorrícicos arbusculares y <i>Cedrela odorata</i> al utilizar diferentes fuentes de inóculo procedentes de la selva mediana subperennifolia.....	78
Figura 7.6. Análisis de correspondencia simple que muestra la asociación micorrícica entre los hongos micorrícicos arbusculares y <i>Cedrela odorata</i> al utilizar diferentes fuentes de inóculo procedentes de la selva alta perennifolia.....	78
Figura 7.7. Respuesta en crecimiento de plántulas de <i>Cedrela odorata</i> a la aplicación de inóculos nativos.....	80
Figura 7.8. Respuesta en biomasa aérea y radicular en plántulas de <i>Cedrela odorata</i> a la aplicación de inóculos nativos.....	80
Figura 11.1. Características morfológicas de las esporas de <i>Acaulospora excavata</i>	128
Figura 11.2. Características morfológicas de las esporas de <i>Acaulospora foveata</i>	130

Figura 11.3. Características morfológicas de las esporas de <i>Acaulospora lacunosa</i>	131
Figura 11.4. Características morfológicas de las esporas de <i>Acaulospora laevis</i>	133
Figura 11.5. Características morfológicas de las esporas de <i>Acaulospora mellea</i>	134
Figura 11.6. Características morfológicas de las esporas de <i>Acaulospora morrowiae</i>	136
Figura 11.7. Características morfológicas de las esporas de <i>Acaulospora rehmi</i>	137
Figura 11.8. Características morfológicas de las esporas de <i>Acaulospora rugosa</i>	139
Figura 11.9. Características morfológicas de las esporas de <i>Acaulospora scrobiculata</i>	140
Figura 11.10. Características morfológicas de las esporas de <i>Acaulospora spinosa</i>	142
Figura 11.11. Características morfológicas de las esporas de <i>Claroideoglobus etunicatum</i> ...	144
Figura 11.12. Características morfológicas de las esporas de <i>Diversispora celata</i>	145
Figura 11.13. Características morfológicas de las esporas de <i>Diversispora eburnea</i>	146
Figura 11.14. Características morfológicas de las esporas de <i>Diversispora spurca</i>	148
Figura 11.15. Características morfológicas de las esporas de <i>Entrophospora infrequens</i>	150
Figura 11.16. Características morfológicas de las esporas de <i>Funneliformis constrictum</i>	152
Figura 11.17. Características morfológicas de las esporas de <i>Funneliformis mosseae</i>	153
Figura 11.18. Características morfológicas de las esporas de <i>Glomus aggregatum</i>	156
Figura 11.29. Características morfológicas de las esporas de <i>Glomus ambisporum</i>	157
Figura 11.20. Características morfológicas de las esporas de <i>Glomus arenarium</i>	158
Figura 11.21. Características morfológicas de las esporas de <i>Glomus aureum</i>	160
Figura 11.22. Características morfológicas de las esporas de <i>Glomus flavisporum</i>	161
Figura 11.23. Características morfológicas de las esporas de <i>Glomus hyderabadensis</i>	162
Figura 11.24. Características morfológicas de las esporas de <i>Glomus macrocarpum</i>	163
Figura 11.25. Características morfológicas de las esporas de <i>Glomus microaggregatum</i>	164
Figura 11.26. Características morfológicas de las esporas de <i>Glomus microcarpum</i>	165
Figura 11.27. Características morfológicas de las esporas de <i>Glomus viscosum</i>	166

Figura 11.28. Características morfológicas de las esporas de <i>Pacispora robigina</i>	168
Figura 11.29. Características morfológicas de las esporas de <i>Pacispora scintillans</i>	169
Figura 11.30. Características morfológicas de las esporas de <i>Paraglomus occultum</i>	172
Figura 11.31. Características morfológicas de las esporas de <i>Rhizophagus clarus</i>	173
Figura 11.32. Características morfológicas de las esporas de <i>Rhizophagus custos</i>	175
Figura 11.33. Características morfológicas de las esporas de <i>Rhizophagus fasciculatus</i>	176
Figura 11.34. Características morfológicas de las esporas de <i>Sclerocystis rubiformis</i>	177
Figura 11.35. Características morfológicas de las esporas de <i>Sclerocystis sinuosa</i>	179
Figura 11.36. Características morfológicas de las esporas de <i>Sclerocystis taiwanensis</i>	180
Figura 11.37. Características morfológicas de las esporas de <i>Scutellospora pellucida</i>	182

Índice de cuadros

	Página
Cuadro 2.1. Valoración del potencial de hidrógeno en suelos (Marx <i>et al.</i> , 1999).....	10
Cuadro 2.2. Clasificación de la conductividad eléctrica del suelo expresada en $\mu\text{S cm}^{-1}$ (Woerner, 1989).....	10
Cuadro 2.3. Valoración de la materia orgánica del suelo expresada en porcentaje (Woerner, 1989).....	11
Cuadro 2.4. Valoración de los macro y micro elementos presentes en el suelo.....	12
Cuadro 2.5. Variables climáticas y propiedades físico-químicas de los sitios de muestreo en dos ecosistemas tropicales donde se distribuye <i>Cedrela odorata</i> en el estado de Veracruz, México.....	13
Cuadro 5.1. Clasificación de hongos del Phylum Glomeromycota de acuerdo a Schüßler y Walker (2010).....	42
Cuadro 5.2. Diversidad y frecuencia relativa de hongos micorrícicos arbusculares de dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México.....	51
Cuadro 6.1. Programa para la reacción en termociclador de la primera amplificación de PCR.....	61
Cuadro 6.2. Oligonucleótidos específicos y universales utilizados para el PCR.....	62
Cuadro 6.3. Programa para la reacción en termociclador de la segunda amplificación de PCR.....	62
Cuadro 7.1. Resultados del análisis de varianza, mostrando la respuesta de crecimiento de <i>Cedrela odorata</i> y el desarrollo de las micorrizas a la aplicación de inóculos nativos de dos ecosistemas tropicales ($p=0.05$).....	72
Cuadro 7.2. Diversidad y frecuencia relativa de especies micorrícicas asociadas a <i>Cedrela odorata</i> en dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México.....	77

CAPÍTULO I

Introducción general

El esquema de investigación desarrollado durante estos tres años, nace de la inquietud que se mantuvo durante el ejercicio profesional en las áreas de reforestación y plantaciones forestales comerciales del trópico mexicano; acciones de respuesta ante la problemática de deforestación realizada en los últimos años, especialmente en especies maderables de importancia económica.

A nivel nacional, la demanda de productos maderables es superior a los 20 millones de metros cúbicos rollo (m^3r). Los principales productos comercializados son la madera para aserrío y celulosa, seguidos por carbón, tableros, postes y leña. Desafortunadamente, la producción forestal generada por las áreas de aprovechamiento, es inferior a los 7 millones de m^3r , lo que equivale a un 33% para su abastecimiento según el V informe de gobierno (2011).

De acuerdo al Programa Nacional Forestal 2007-2012, el país cuenta con 21.6 millones de hectáreas bajo potencial maderable comercial; sin embargo, sólo se destinan al aprovechamiento 8.6 millones. Considerando la superficie total al manejo, se generarían 30 millones de m^3r ideales para abastecer el consumo per cápita maderable, de las cuales 38% se obtendría de bosques de coníferas, 32% de especies tropicales y 30% de encinos u otras latifoliadas (CONAFOR, 2008).

Ante este esquema, cabe señalar que el 75% de la superficie forestal corresponde a ejidos y comunidades, los cuales están conformados en 30,305 núcleos agrarios (Merino *et al.*, 2008). Aunado a ello, se estiman cifras cercanas a los 13 millones de personas que dependen en forma directa de los bosques y selvas para su subsistencia; no obstante, la mayoría de esta población se encuentra inmersa en la extrema pobreza, debido a los escasos recursos y/o conocimientos necesarios para el aprovechamiento de los mismos en forma sustentable (CCMSS, 2010).

Entre los esfuerzos planteados para mitigar la problemática de deforestación y abastecer la demanda de productos maderables, en la década de los 90's, el gobierno federal instauró el Programa Nacional de Reforestación (PRONARE);

cuya función principal fue el financiamiento para la construcción de viveros forestales y el establecimiento de plantaciones forestales, especialmente con cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) y caoba (*Swietenia macrophylla* King). Así mismo, en esta misma década se creó el Programa Nacional para el Desarrollo de Plantaciones Forestales Comerciales (PRODEPLAN), financiando el establecimiento de especies con fines maderables.

Si bien, se han realizado esfuerzos para contrarrestar esta problemática, las superficies apoyadas desde 1997 al 2010 en el esquema de plantaciones forestales, fueron 771,134 ha (IV informe de gobierno, 2010; SEMARNAT, 2010), las cuales no son suficientes, ya que la mayoría se encuentran en desarrollo y aún no se tienen los suficientes productos de las cortas finales.

Otro de los esquemas generados para satisfacer esta demanda, ha sido la importación de productos y subproductos maderables acordados en los tratados internacionales de libre comercio, especialmente con países como Estados Unidos y Canadá, los cuales abastecen el 75% de esta demanda (CONAFOR, 2010).

Han sido varios los apoyos implementados por el gobierno federal, que en 2011 se destinó alrededor de 2,000 millones de pesos a los programas de reforestación y plantaciones forestales, lo que equivale a un 38% del presupuesto ejercido en materia forestal (CCMSS, 2010).

Los paquetes tecnológicos integrados en el establecimiento y mantenimiento de especies forestales son escasos; lo anterior se refleja en una baja eficiencia de estos programas y peor aún, en la pérdida de recursos económicos que se invierten cada año.

El éxito de los programas antes mencionados se basa en gran medida en las interacciones ecológicas que influyen en el crecimiento, mantenimiento y desarrollo de especies vegetales. Los factores abióticos son inciertos y difíciles de inferir; por ello, el considerar las interacciones bióticas que se ejercen en condiciones naturales, mejoraría en gran medida estos aspectos.

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) juegan un papel importante en el establecimiento, crecimiento y mantenimiento de especies vegetales. Estos microorganismos se caracterizan por presentar una amplia distribución y constituyen posiblemente el grupo más importante debido a la propiedad de transferir fósforo y otros nutrientes importantes para las plantas durante su desarrollo celular (Dever *et al.*, 2001; Cuenca *et al.*, 2007), pueden contribuir a la formación de la estructura del suelo (Piotrowski *et al.*, 2004), permiten una mayor tolerancia a periodos prolongado de estrés por sequía (Sieverding y Toro, 1998), actúan como antagonistas contra varios patógenos del suelo (Baath y Hayman, 1983) y son capaces de mantener la diversidad de plantas en los diferentes ecosistemas terrestres (Lovelock *et al.*, 2003).

Estudios basados sobre interacciones simbióticas, revelan que las micorrizas pueden aumentar la supervivencia de plantas en condiciones naturales hasta un 54% con respecto a las no colonizadas (Monroy *et al.*, 2007). Considerando el 55% de supervivencia a nivel nacional para fines comerciales o de conservación (V informe de Gobierno, 2011), estos hongos amortiguarían la pérdida de 590 millones de pesos anuales en base a lo presupuestado en este último año.

Por lo anterior, el conocimiento de estos hongos puede ser una herramienta para mejorar la producción de plántulas o para el establecimiento de reforestaciones y plantaciones forestales comerciales en zonas altamente degradadas. Es por esto que la presente línea de investigación tuvo como objetivo fundamental identificar y evaluar la asociación de los HMA con el cedro rojo (*C. odorata*) en dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México.

Con ese fin, se establecieron una serie de objetivos específicos basados en la interacción planta-micorriza-ambiente: El primer objetivo describe las propiedades físico-químicas del suelo en las áreas naturales de distribución de *C. odorata* (selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia). El segundo objetivo muestra la riqueza micorrícica de estas áreas mediante la cuantificación total de esporas en los meses de mayo y agosto; épocas en donde las tasas de precipitación difieren considerablemente. Considerando como referencia los

meses de colecta y los ecosistemas de evaluación, se planteó un tercer objetivo con el fin de determinar el nivel de colonización micorrícica en raíces de esta especie maderable. De las esporas colectadas inicialmente, se da un listado de especies micorrícicas identificadas en un cuarto objetivo. Debido a que las especies conocidas en el objetivo anterior no revelan el grupo de hongos asociados a *C. odorata*, se formuló un quinto objetivo a fin de establecer la técnica de Reacción en la Cadena de Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) en raíces extraídas de ambos ecosistemas. Desafortunadamente, no existen oligonucleótidos específicos para amplificar todas las especies micorrícicas conocidas en la actualidad; en este contexto, el sexto objetivo establece un bioensayo en condiciones controladas mediante la aplicación de inóculos nativos, a fin de determinar, evaluar e identificar las especies micorrícicas capaces de asociarse al cedro rojo en sus etapas iniciales.

Cada objetivo está integrado en capítulos, los cuales explican a detalle las metodologías empleadas para responder las hipótesis planteadas inicialmente; así mismo, se enlistan una serie de anexos que incluyen los reactivos utilizados y su forma de preparación. Por último, se ilustran y describen las especies micorrícicas identificadas en las áreas naturales de distribución, así como las asociadas a *C. odorata* en los ensayos de invernadero.

Con la implementación de estos capítulos, se aportan las herramientas necesarias para el manejo, evaluación e identificación de estos hongos en áreas tropicales, además, se sientan las bases para futuras aplicaciones en el manejo de la simbiosis micorrícica en otras especies de interés forestal.

Objetivo general

Identificar y evaluar la asociación de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) con el cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) en dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México.

Objetivos específicos

1. Evaluar las variables climáticas y edáficas de dos ecosistemas tropicales con *Cedrela odorata* L. en Veracruz, México.
2. Cuantificar las poblaciones micorrícicas en las áreas naturales de distribución de *Cedrela odorata* L. en Veracruz, México.
3. Evaluar el nivel de colonización de hongos micorrícicos arbusculares en las áreas naturales de distribución de *Cedrela odorata* L. en Veracruz, México.
4. Identificar los hongos micorrícicos arbusculares en las áreas naturales de distribución de *Cedrela odorata* L. en Veracruz, México.
5. Identificar los hongos micorrícicos arbusculares asociados a *Cedrela odorata* L. mediante el uso de marcadores moleculares.
6. Evaluar en invernadero la asociación de hongos micorrícicos arbusculares con *Cedrela odorata* L. utilizando inóculos nativos de dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México

Hipótesis

1. *Cedrela odorata* tiene asociación mutualista con HMA en sus áreas naturales de distribución.
2. La riqueza y diversidad de especies micorrícicas es mayor en la selva alta perennifolia con respecto a la selva mediana subperennifolia.

CAPÍTULO II.

Evaluación de variables climáticas y edáficas de dos ecosistemas tropicales con *Cedrela odorata* L. en Veracruz, México

Resumen

Cedrela odorata L. es una especie Sujeta a Protección Especial (NOM-059-SEMARNAT-2010) en México; lo constatan las bajas poblaciones en sus ambientes naturales. En el presente capítulo se determinaron algunas variables climáticas, así como las propiedades físico-químicas (intervalos de confianza $p=0.5$) del suelo de dos ecosistemas tropicales donde se distribuye esta especie en el estado de Veracruz. Los resultados mostraron que ambos ecosistemas contenían altos contenidos de materia orgánica, adecuados niveles de nitrógeno y magnesio, así como bajos contenidos de fósforo. La selva alta perennifolia se caracterizó por presentar altas tasas de precipitación y altos niveles de fierro, zinc, manganeso y cobre; adecuados niveles de calcio; bajos valores de pH y bajos niveles de potasio. Por su parte, la selva mediana subperennifolia presentó bajos niveles de precipitación; adecuados niveles de potasio, fierro, zinc, manganeso y cobre; altos contenidos de calcio que se reflejaron en pH neutros a medianamente alcalinos. El conocimiento de las variables edáficas y climáticas, aunado a la integración de hongos micorrícicos arbusculares, aportarán herramientas indispensables que ayuden a explicar la función que cumplen estos microorganismos en el establecimiento y mantenimiento de esta especie maderable ante algún fenómeno de estrés.

Palabras clave: Fertilidad, ecosistemas tropicales, cedro rojo.

Abstract

Because of the low presence of wild populations, *Cedrela odorata* L. is a species under special protection in Mexico (NOM-059-SEMARNAT-2010). This work describes the climatic edaphic variables (interval confidence $p=0.5$) in two tropical ecosystems where *Cedrela odorata* is distributed into the State of Veracruz. The results show that both ecosystems presented high contents of matter organic,

adequate nitrogen and magnesium levels, low phosphorus levels. The perennial high forest showed high precipitation rates and high iron zinc, manganese and copper levels; adequate calcium levels; low pH values and low potassium levels. The perennial medium forest medium exhibited lower precipitation levels, adequate potassium, iron, zinc, manganese and copper levels; high contents of calcium that were reflected in neutral to alkaline pH. The knowledge of the edaphic and environmental variables together with the integration of arbuscular mycorrhizal fungi, will usefull tools for the explanation of the role they play in the establishment and maintenance of this wood species under different conditions of stress.

Key words: Fertility, tropical ecosystems, red cedar.

Introducción

México es un país megadiverso en cuyo territorio prospera más del 12% de la diversidad biológica mundial (SEMARNAT, 2003). Las condiciones que favorecen esta riqueza, se deben principalmente a sus características fisiográficas, climatológicas y geológicas, siendo los bosques tropicales los ecosistemas más biodiversos (CONABIO, 2008).

Los bosques y selvas tropicales cubren alrededor de 63.6 millones de ha; desafortunadamente, en los últimos 50 años, han desaparecido grandes extensiones de estos ecosistemas debido al cambio en el uso del suelo (SEMARNAT, 2003).

Los ecosistemas tropicales han sido los más impactados, con más de 60,000 km² desaparecidos durante 1976-2000, lo que equivale a 250,000 ha anuales (Mas *et al.*, 2003).

Aunque estos ecosistemas albergan el 35% de diversidad de plantas y el 20% de carbón orgánico del suelo (Jobbagy y Jackson, 2000), la distribución, composición y diversidad de especies se debe en gran medida a la disponibilidad de agua (Engelbrecht *et al.*, 2007), la presencia de ciertos factores edáficos (Crark *et al.*,

1999), así como la asociación con microorganismos simbiotes (LeTacon *et al.*, 1998).

Entre las especies maderables de mayor importancia económica que se distribuyen en estos ecosistemas, destaca el cedro rojo (*Cedrela odorata* L.); el cual, es muy apreciado por su calidad, durabilidad, apariencia, olor característico y facilidad para el trabajo (Rendle, 1969; Mostacedo y Fredericksen, 1999); por esta razón, se han incrementado los aprovechamientos maderables en zonas con regeneración natural, propiciando así, una disminución de sus poblaciones, especialmente por la extracción de árboles con diámetros de gran valor comercial (Niembro, 1996).

Actualmente, esta especie se encuentra protegida por la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010) debido a sus bajas poblaciones, la cual está adscrita bajo la categoría “Sujeta a Protección Especial”, mientras que la IUCN (2011) la considera “Vulnerable” en su lista roja.

Entre las acciones de conservación y rehabilitación de estas zonas, se han implementado programas de reforestación y de plantaciones forestales comerciales. Estas últimas, representan la base para el abastecimiento forestal maderable en años futuros, ya que entre los avances tecnológicos y el conocimiento para su establecimiento, se impulsa la rentabilidad de las mismas (Powers, 1999).

Por lo antes mencionado, el presente capítulo describe las variables climáticas y edáficas de dos ecosistemas tropicales donde se distribuye *C. odorata* en el estado de Veracruz, las cuales pueden dar un mejor entendimiento sobre la función que cumplen las interacciones ecológicas en los procesos dinámicos de este ecosistema, así como en el establecimiento y mantenimiento de esta especie maderable.

Materiales y métodos

Se realizó un muestreo de suelo en dos ecosistemas tropicales con vegetación primaria donde se distribuye *C. odorata* en el estado de Veracruz. El primer ecosistema corresponde a una selva alta perennifolia cuyas muestras fueron colectadas en el municipio de Tezonapa. El segundo comprende una selva mediana subperennifolia, con muestras provenientes del municipio de Tantoyuca (Figura 2.1).

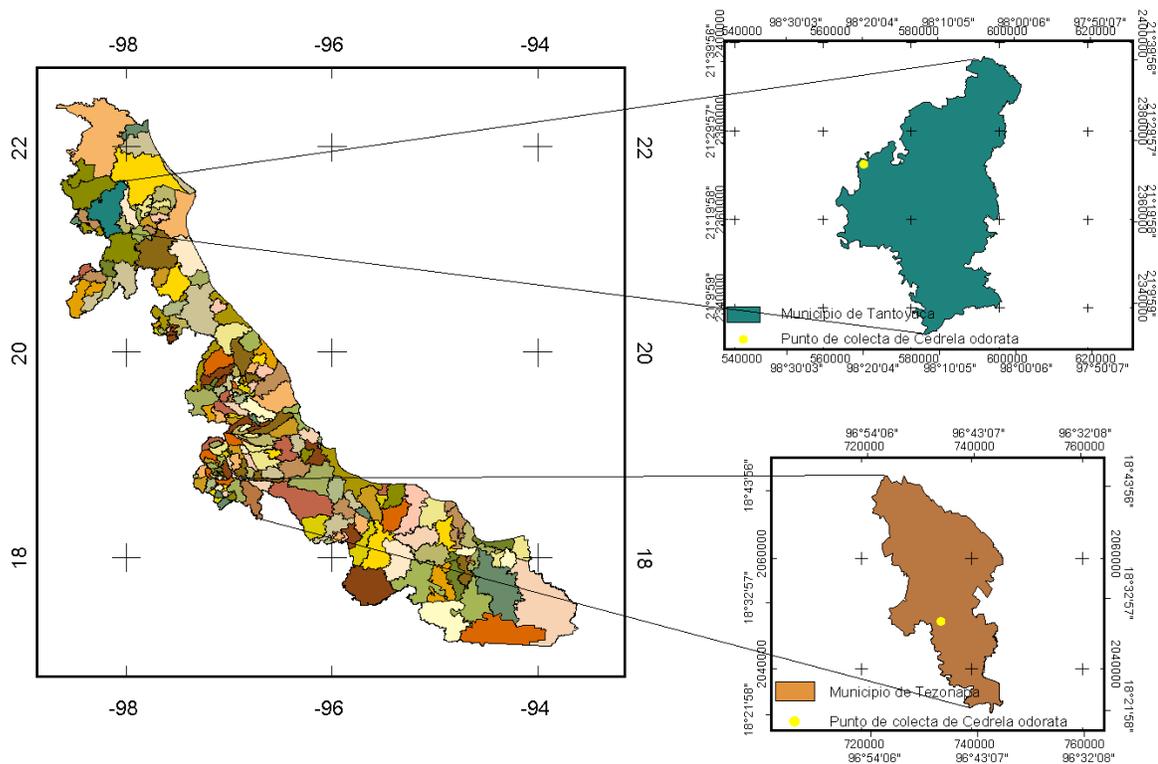


Figura 2.1. Ubicación de los sitios de muestreo donde se determinaron las variables climáticas y edáficas de dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México.

Se eligieron nueve árboles de *C. odorata* por cada tipo de vegetación. En cada árbol se tomaron cuatro submuestras de la parte media de proyección del dosel en dirección norte, sur, este y oeste a una profundidad de 0-20 cm, las cuales fueron homogeneizadas y etiquetadas para su procesamiento.

Del suelo colectado, se determinó el porcentaje de humedad, pH, conductividad eléctrica, materia orgánica y textura en el Laboratorio de Suelos y Nutrición

Forestal de la Facultad de Ciencias Forestales de la UANL. La determinación de macro y microelementos se realizó en el Laboratorio Nacional de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal del INIFAP-Campo experimental del Bajío (Celaya, Guanajuato). La descripción de variables climáticas se obtuvo mediante las cartas ambientales editadas por la CONABIO.

La medición del potencial de hidrógeno (pH; Cuadro 2.1) se realizó con el potenciómetro digital y la valoración se tomó de acuerdo a lo propuesto por Marx *et al.* (1999).

Cuadro 2.1. Valoración del potencial de hidrógeno en suelos (Marx *et al.*, 1999).

pH	Clasificación
> 8.5	Fuertemente alcalino
7.4 - 8.4	Medianamente alcalino
6.6 - 7.3	Neutro
5.1 - 6.5	Moderadamente ácido
< 5.0	Fuertemente ácido

La conductividad eléctrica (Cuadro 2.2) se realizó con el método de celda de conductividad en suspensión suelo-agua 1:5. La medición se basó en microsiemens por centímetro ($\mu\text{S cm}^{-1}$) y se clasificó de acuerdo a Woerner (1989).

Cuadro 2.2. Clasificación de la conductividad eléctrica del suelo expresada en $\mu\text{S cm}^{-1}$ (Woerner, 1989).

Conductividad eléctrica	Salinidad
< 500	Muy escasa
500 - 1000	Escasa
1000 - 2000	Moderada
2000 - 4000	Alta
> 4000	Muy alta

Para la determinación de textura, se utilizó el método del Hidrómetro de Bouyucos propuesto por Gee y Baunder (1986); para ello se destruyeron los carbonatos y la materia orgánica presente en el suelo. Se tamizó para separar los diferentes

Acetato amónico para potasio (K), calcio (Ca), y magnesio (Mg) (Woerner, 1989); el método de DTPA para Hierro (Fe), Zinc (Zn), Manganeso (Mn) y Cobre (Cu).

Cuadro 2.4. Valoración de los macro y micro elementos presentes en el suelo.

	N- inorgánico ppm*	P- Bray ppm*	K ppm*	Ca ppm*	Mg ppm***	Fe ppm**	Zn ppm**	Mn ppm	Cu ppm**
Bajo	<10	<20	<150	<1000	<300	1.0-8.0	<1.0	<4.0	<0.8
Adecuado	10-20	20-40	150-250	1000-2000	300-600	8.0-12	1.0-3.0	4.0-12	0.8-1.2
Alto	20-30	40-100	250-800	>2000	600-900	12-30	3.0-6.0	12-50	1.2-2.5
Muy alto	>30	>100	>800		>900	>30	>6	>50	>2.5

*Marx *et al.*, 1999 **Anónimo, 2009 ***

Resultados

La selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia difieren en sus variables climáticas y sus propiedades físico-químicas del suelo. El tipo de clima que prevalece en la selva alta perennifolia es cálido húmedo el cual refleja altos niveles de precipitación a lo largo del año; la temperatura es alta en los meses de estiaje, siendo poco frecuentes las bajas temperaturas en épocas invernales. La textura es arcillosa, arcillo limosa, franco limosa y franco arcillo-limosa; el contenido de materia orgánica es muy alta; el pH es moderado a altamente ácido, mientras que la conductividad eléctrica muy escasa. El nivel de fertilidad por N, Ca y Mg es adecuado; el P y K son bajos; el Fe, Zn, Mn y Cu son altos (Cuadro 2.5).

En la selva mediana subperennifolia prevalece el clima cálido subhúmedo, donde los niveles de precipitación y las temperaturas invernales son menores. La textura es franco limosa y franco arcillo-limosa; los contenidos de materia orgánica son medios a muy altos; el pH es neutro a medianamente alcalino; la conductividad eléctrica muy escasa. El nivel de fertilidad por N, K, Mg, Fe, Zn, Mn y Cu es adecuado; el P es bajo; las concentraciones de Ca son altas (Cuadro 2.5).

Cuadro 2.5. Variables climáticas y propiedades físico-químicas de los sitios de muestreo en dos ecosistemas tropicales donde se distribuye *Cedrela odorata* en el estado de Veracruz, México.

Variables físico-químicas	Ecosistema	
	Selva alta perennifolia	Selva mediana subperennifolia
Elevación (asmn)	140-145 m*	100-140 m*
Coordenadas	18° 30' N; 96° 45' O*	21° 28' N; 98° 20' O*
Tipo de suelo	Acrisol órtico*	Feozem calcárico*
Clima	Cálido húmedo*	Cálido subhúmedo*
Temperatura máxima	34-36 °C*	32-34 °C*
Temperatura mínima	14-16 °C*	12-14 °C*
Temperatura media	21 °C*	21 °C*
Precipitación total	2,500-3,000 mm*	1,200-1,500 mm*
pH	4.5 ± 0.3	7.4 ± 0.15
Carbonatos totales	0.01±0.0	3.1 ± 1.6
Conductividad eléctrica	222 ± 51 µS cm ⁻¹	191 ± 37 µS cm ⁻¹
Porcentaje de materia orgánica	5.6 ± 0.8	4.3 ± 0.5
Porcentaje de arcilla	37 ± 7	26 ± 3
Porcentaje de limo	55 ± 10	60 ± 5
Porcentaje de arena	8 ± 3	14 ± 5
Nitrógeno inorgánico	15.4 ± 3.2 ppm	12.1 ± 1.0 ppm
Fósforo	8.6 ± 5.9 ppm	3.2 ± 4.6 ppm
Potasio	129.3 ± 27.5 ppm	201.7 ± 275.0 ppm
Cálcio	1100.3 ± 587.3 ppm	5654.0 ± 2561.9 ppm
Magnesio	289 ± 122.8 ppm	213.0 ± 175.8 ppm
Fierro	78.2 ± 59.0 ppm	13.4 ± 4.6 ppm
Zinc	4.8 ± 0.9 ppm	2.0 ± 0.6 ppm
Manganeso	45.7 ± 26.2 ppm	9.0 ± 2.0 ppm
Cobre	1.9 ± 0.5 ppm	0.9 ± 0.5 ppm

*Variables obtenidas de las cartas temáticas de la CONABIO.

Discusión

La disponibilidad de agua es un factor importante que determina la distribución (Holmgren y Poorter, 2007; Poorter y Markesteijn, 2008), riqueza (Poorter *et al.*, 2004; ter Steege *et al.*, 2006) y composición (Bongers *et al.*, 2004) de especies forestales en los ecosistemas tropicales. El clima cálido húmedo presente en la selva alta perennifolia, favorece el desarrollo de especies maderables como *C. odorata* debido a las altas precipitaciones acontecidas en todo el año y a las escasas bajas temperaturas desarrolladas en los meses invernales.

La sequía puede ser corta en los bosques húmedos, mientras que en bosques secos puede prolongarse hasta ocho meses (Walsh, 1996). Esta situación es común en la selva mediana subperennifolia, donde la mayor precipitación ocurre en los meses de julio a septiembre.

Los ecosistemas con baja precipitación comúnmente desarrollan suelos poco profundos; por ello, el estrés hídrico es más evidente en periodos más cortos, debido a la poca disponibilidad de agua presente en la rizósfera (Veenendaal *et al.*, 1996). La respuesta generada en la planta, se traduce en una reducción del intercambio gaseoso (Cao, 2000) y con ello en el retraso de crecimiento y supervivencia en los meses de mayor estiaje (Poorter, 2005).

Por otro lado, las bajas tasas de precipitación se han tornado más frecuentes en estas últimas décadas, trayendo como consecuencia periodos prolongados de sequía y estrechas lluvias en ciertos meses del año (Malhi y Wright, 2004). Ante estos fenómenos, las plantas han generado mecanismos estructurales para hacer frente a la sequía: (1) evitan el gasto de energía, (2) incrementan la absorción de agua y reducen la pérdida de la misma, (3) mantienen el funcionamiento de la planta con bajos contenidos de agua en la célula (Poorter y Markesteijn, 2008). Otras de las alternativas que han desarrollado, ha sido la pérdida de hojas ante la presencia de algún tipo de estrés (Hall y Swaine, 1981), el desarrollo de raíces profundas, así como la regulación en la cantidad y apertura de estomas (Slot y Poorter, 2007).

Aunque la productividad neta es mayor en estos tipos de ecosistemas, los niveles de fósforo se tornan deficientes tanto en la selva alta perennifolia como en la selva mediana subperennifolia. Esta situación puede deberse a las altas concentraciones de óxidos de fierro y aluminio presentes en estos ecosistemas (Vitousek y Sanford, 1986), los cuales se unen a este elemento para hacerlo poco disponible para las plantas y ciertos microorganismos del suelo (Cross y Schlesinger, 1995).

La presencia de elevados valores de pH en la selva mediana subperennifolia ya ha sido documentado por otros autores, donde consideran que los ecosistemas tropicales secos tienden a presentar altos contenidos de calcio (Pennington *et al.*, 2009).

Los resultados mostrados en la selva alta perennifolia, indican que tanto la conductividad eléctrica y el pH tienden a ser bajos; ante ello, Schawe *et al.* (2007) afirman que los ecosistemas lluviosos presentan una relación estrecha con suelos de naturaleza ácida.

Muchos suelos de estos ecosistemas son pobres en nutrientes orgánicos y su fertilidad se basa en gran medida en la deposición de materia orgánica (Tiessen *et al.*, 1994). Aunque estos dos ecosistemas tropicales presentan altas concentraciones de material orgánico, la incorporación de nutrientes al suelo es más rápida en la selva alta perennifolia debido a la alta humedad presente en la mayor parte del año (Burke *et al.*, 1989) y a las grandes poblaciones de microorganismos desintegradores (Wardle, 1998).

Aunque las plantas ha generado mecanismos de resistencia ante la presencia de factores ambientales adversos, cabe señalar que los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) se han asociado a ellas por más de 400 millones de años (Redecker, 2002; Krings *et al.*, 2007), los cuales han evolucionado a la par para amortiguar y establecer las comunidades vegetales ante la presencia de factores adversos de tipo biótico y/o abiótico.

Conclusiones

Las muestras de suelo colectadas en el municipio de Tezonapa, Veracruz, provienen de la rizósfera de *C. odorata* ubicadas dentro de la selva alta perennifolia. Las tasas de precipitación presentes en este ecosistema, oscilan entre los 2,500-3,000 mm anuales. Los contenidos de materia orgánica son altos, así como los niveles de Fe, Zn, Mn y Cu, mientras que las concentraciones de P y K son bajas; además, estos suelos se caracterizan por presentar pH ácidos.

El suelo colectado en el municipio de Tantoyuca, Veracruz, proviene de árboles de *C. odorata* ubicados en la selva mediana subperennifolia. Aquí, los niveles de precipitación oscilan entre 1200-1500 mm anuales y los meses de estiaje se prolongan hasta ocho meses. Al igual que en la selva alta, los contenidos de materia orgánica son altos y el nivel de P es bajo en este ecosistema; sin embargo, las concentraciones de N, K, Mg, Fe, Zn, Mn y Cu son adecuadas para estos suelos. Los altos niveles de Ca son muy evidentes y reflejan la presencia de pH neutros a medianamente alcalino.

Las limitaciones de agua y ciertos nutrientes en estos ecosistemas, refleja la importancia que tienen los HMA en las diferentes especies forestales. Su aplicación, puede amortiguar la baja disponibilidad de estos componentes y con ello, la pérdida de recursos económicos cuando se emplean en la repoblación asistida con fines de manejo, conservación y/o comercialización.

CAPÍTULO III.

Cuantificación de poblaciones micorrícicas en las áreas naturales de distribución de *Cedrela odorata* L. en Veracruz, México

Resumen

Las esporas son una fuente de inóculo indispensable en la dispersión, reproducción y supervivencia de especies micorrícicas bajo condiciones naturales, además amortiguan el establecimiento y mantenimiento de especies vegetales. En el presente estudio se cuantificaron las esporas presentes en dos ecosistemas tropicales donde se distribuye *Cedrela odorata* L. en el estado de Veracruz; para ello se eligieron nueve árboles por tipo de vegetación en los meses de mayo y agosto. Se utilizó el método de tamizado y decantación en húmedo propuesto por Gerdemann y Nicolson, (1963) y la centrifugación en sacarosa por Daniels y Skipper (1982). Los análisis estadísticos se basaron en pruebas de *t* de student y análisis de varianza ($p=0.05$). Los resultados mostraron un mayor número de esporas en épocas con alta precipitación en ambos ecosistemas; sin embargo, la selva alta perennifolia fue la que aportó la mayor población micorrícica. Lo anterior sugiere que los periodos prolongados de lluvia influyen directamente en la replicación y mantenimiento de esporas en estos ecosistemas tropicales.

Palabras clave: Inóculo, cedro rojo, ecosistemas tropicales, hongos micorrícicos arbusculares.

Abstract

The mycorrhizal spores are a source of inoculum to the dispersion, reproduction and survival under natural conditions; they also muffle the establishment and maintenance of vegetable species. In this study the spores in two tropical ecosystems where *Cedrela odorata* L. is distributed in the state of Veracruz were quantified; to achieve this nine trees for each type of vegetation in the months of May and August were evaluated. The wet sieving and decanting method (Gerdemann and Nicolson, 1963) and differential water/sucrose centrifugation was

used (Daniels and Skipper, 1982). The statistical analysis was based on tests of student t and variance analysis ($p=0.05$). The results showed a bigger number of spores in months with higher precipitation rate in both ecosystems; however, perennial tall forest showed the biggest number of spores. The above-mentioned suggests that high rain periods have a strong influence in the replication and maintenance of spores in these tropical ecosystems.

Key Words: Inoculum, red cedar, tropical ecosystem, arbuscular mycorrhizal fungi.

Introducción

Las esporas micorrícicas son una fuente de inóculo capaz de ejercer simbiosis mutualista con raíces de plantas bajo condiciones naturales (Brundrett, 1991). Comúnmente han sido utilizadas en la propagación mediante cultivos trampa (Morton *et al.*, 1993), en la cuantificación poblacional de un área determinada o en la identificación en base a sus caracteres morfológicos (Walker, 1986).

Los primeros estudios para cuantificar las poblaciones de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) se realizaron por Gerdemann y Nicholson (1963), mediante el método de tamizado en húmedo y decantación. Años más tarde, Daniels y Skipper (1982) observaron una fuente de error en el número de esporas, debido a que algunas quedaban suspendidas en el agua o adheridas a las paredes de los tamices y por consiguiente no se contabilizaban; estos mismos autores acordaron en su procedimiento, descartar el primer sobrenadante obtenido de la centrifugación en agua y utilizar sacarosa en una segunda centrifugación para separar las esporas por gradiente de densidad. Este procedimiento fue mejorado por McKenney y Lindsey (1987) al observar una suspensión de esporas en la primera centrifugación; para ello propusieron el uso de surfactantes a base de hexametáfosfato de sodio para promover la dispersión y liberación de esporas adheridas en los agregados del suelo.

En la actualidad existen otras modificaciones a este procedimiento, pero en general retoman el tamizado en húmedo, decantación y centrifugación (Sutton y

Barron, 1972; Allen *et al.*, 1979; Furlan *et al.*, 1980; Schenck, 1982; Tommerup, 1982; Lanson y Allen, 1986; Vilariño y Arines, 1990; Brundrett *et al.*, 1994; Brundrett *et al.*, 1996).

Los procedimientos anteriores han sido utilizados para determinar la abundancia y diversidad de HMA en ambientes agrícolas y naturales; sin embargo, comúnmente se cometen errores en su interpretación debido a la esporulación estacional de algunas especies (Stutz y Morton, 1996; Brundrett *et al.*, 1999) o al parasitismo ocasionado por microorganismos del suelo (Lee y Koske, 1994).

Estos métodos se han empleado para determinar la riqueza micorrícica desde los ecosistemas más áridos (Stutz y Morton, 1996), hasta en ciertos ecosistemas con mayor precipitación de Australia (Paulus *et al.*, 2006), China (Zhao *et al.*, 2003), Nicaragua y Costa Rica (Picone, 2000).

En México, son escasos los estudios que muestran esta riqueza. La gran mayoría se enfocan a ambientes agrícolas y muy poco se conoce sobre las poblaciones de ecosistemas naturales. Lo anterior refleja la carencia de estudios, principalmente si se considera la alta variabilidad de ecosistemas de acuerdo con el INEGI (2005). Esta variabilidad se debe su posición biogeográfica Neártica y Neotropical, lo que propicia que se encuentren casi todos los climas presentes a nivel mundial (Challenger y Soberón, 2008).

Con base en lo anterior, se hace necesario intensificar los estudios en estos ambientes, particularmente en las selvas tropicales que son las más fragmentadas; por ello, en el presente capítulo se muestra la riqueza micorrícica de la selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia en dos épocas de evaluación (época de lluvia y época seca).

Materiales y métodos

Se realizó un muestreo de suelo en las áreas consideradas del Capítulo II. Se eligieron nueve árboles de *C. odorata* por tipo de vegetación en los meses de mayo (época seca) y agosto (época de lluvia). En cada árbol se tomaron cuatro

submuestras en la proyección media del dosel en dirección norte, sur, este y oeste a una profundidad de 0-20 cm, las cuales fueron homogeneizadas y etiquetadas para su procesamiento.

Para determinar el número de esporas, se utilizó el método de tamizado y decantación en húmedo propuesto por Gerdemann y Nicolson (1963) y la centrifugación en sacarosa por Daniels y Skipper (1982) como se muestra en la figura 3.1.

1. **Pesado de las muestras.** Del suelo colectado en campo, se colocaron 100 g en un vaso de precipitado de 600 mL y se cubrió con agua destilada para mantenerse en refrigeración a 4 °C por 24 horas a fin de hacer más suaves los agregados del suelo (terrones).
2. **Tamizado de las muestras.** Con una varilla de vidrio se agitó el suelo por 30 segundos para deshacer las partículas más grandes. Se dejó reposar por 10 segundos para separar las arenas y dejar los remanentes de raíz-arcillas-esporas en suspensión. Esta suspensión se vertió en tamices de 600 y 40 μm de apertura (uno encima de otro). Con agua a presión, se resuspendieron nuevamente las partículas más finas y se continuó vaciando en los tamices. Esta operación se realizó las veces necesarias hasta lograr que la suspensión de partículas finas fuera casi nula y semitransparente (Se tomó el cuidado de no derramar el agua colectada en el tamiz de 40 μm , ya que es donde se mantuvieron la mayor parte de arcillas finas). El tamiz que se tomó en cuenta para procesar las esporas fue el de 40 μm , mientras que el tamiz de 600 μm sirvió para coleccionar las raíces y observar sus estructuras extraradicales (Figura 3.3).
3. **Centrifugado en agua.** El material colectado en el tamiz de 40 μm fue colocado en tubos fálcon de 50 mL en proporción de 1/4 de suelo y 3/4 de agua para someterse posteriormente en la centrifuga (SOLBAT de 4 tubos) a 2,000 rpm durante cinco minutos; esto con el fin de separar materia orgánica en suspensión.

4. **Centrifugado en sacarosa.** Se eliminó el agua después de la centrifugación sin retirar el suelo, se le adicionó sacarosa al 50% + Tween 80 (ver anexo 2). En este apartado se removió el suelo con una varilla para suspender la pastilla de suelo en toda la sacarosa. Los tubos se centrifugaron durante un minuto a las mismas revoluciones que en el paso anterior; esto con el fin de separar las esporas del suelo por gradientes de densidad.
5. **Observación y conteo de esporas.** Se decantó el sobrenadante de la sacarosa en el tamiz de 40 μm procurando no vaciar partículas de suelo. Se lavaron las esporas para quitar los excesos de sacarosa y residuos del Tween 80; éstas fueron colocadas en una caja petri para su observación (Figura 3.2) y contabilización en el microscopio estereoscopio (Zeiss 47-50-52-9901).
6. **Preservación de esporas.** Las esporas se vaciaron en tubos tipo fácon de 15 ml que contenían solución Ringer (ver anexo 3) y se mantuvieron en refrigeración a 4 °C.

Los datos del número de esporas fueron transformados logarítmicamente ($\log x+1$) debido a la distribución tipo Poisson y a la gran variabilidad de las muestras. Para analizar las diferencias entre las interacciones de los ecosistemas y las épocas, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) mediante la prueba F para determinar las diferencias entre dichas interacciones. El análisis de la comparación múltiple de medias se basó con la prueba Tukey con una confiabilidad del 95% ($p=0.05$). La comparación de medias entre los ecosistemas y entre las épocas, se realizó a través de la prueba de t de student ($p=0.05$).

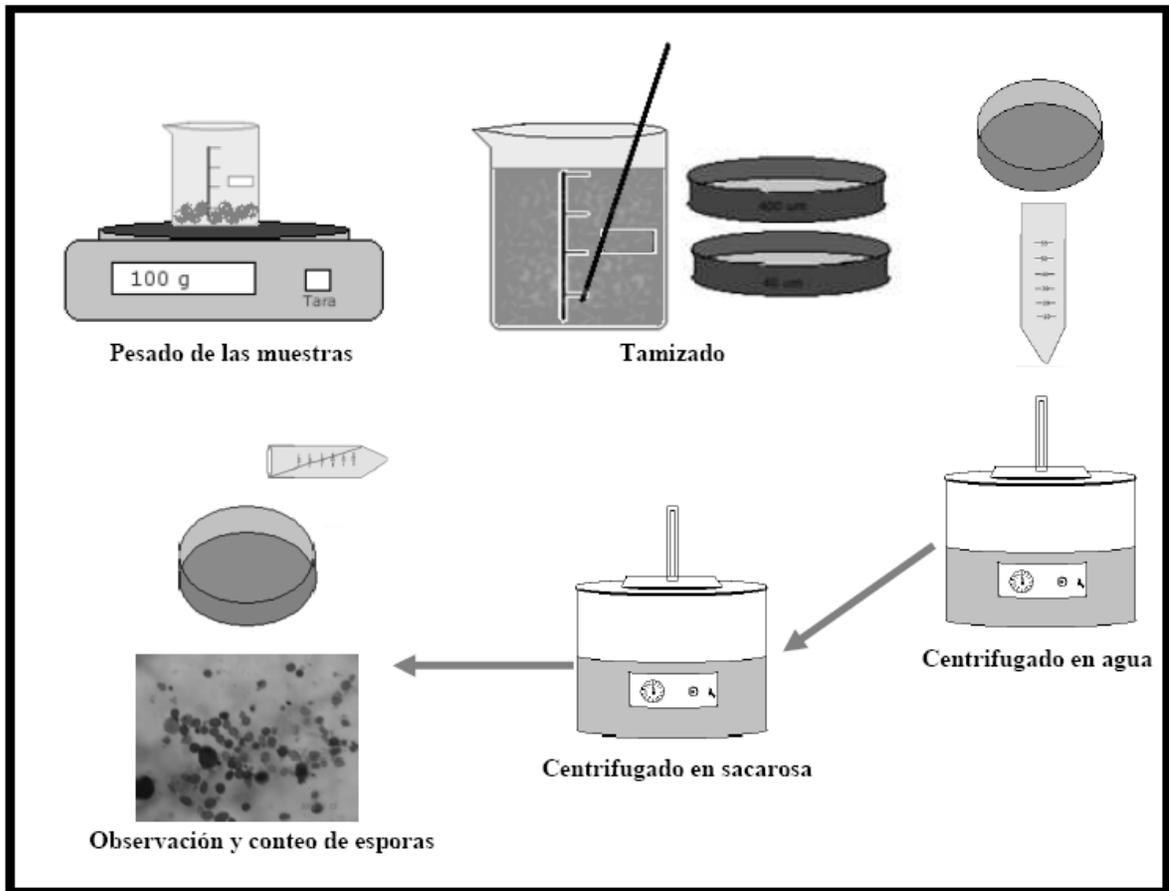


Figura 3.1. Diagrama para la extracción de esporas de acuerdo al protocolo propuesto por Gerdemann y Nicholson (1963), con modificación de Daniels y Skipper (1982).

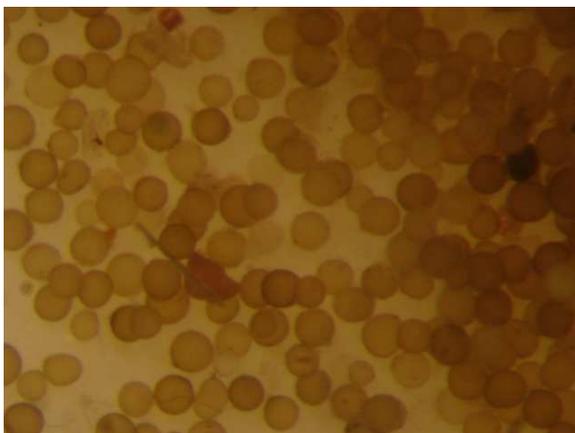


Figura 3.2. Esporas extraídas por el método de tamizado en húmedo y centrifugación en sacarosa. **Figura 3.3.** Presencia de esporas e hifas extraradicales en raíces de *Cedrela odorata*.

Resultados

Las interacciones formadas entre las épocas de evaluación y los ecosistemas evaluados, muestran diferencias estadísticas significativas en las poblaciones micorrícicas. En estos resultados, se observó un mayor número de esporas en las épocas de lluvia de ambos ecosistemas (Figura 3.4). En la selva alta perennifolia los valores promedio de esporas por gramo de suelo fueron de 14 y 7 en la época de lluvia y época seca, respectivamente. La selva mediana subperennifolia presentó poblaciones más bajas, donde el número de esporas promedio fue de 6 en la época lluviosa y 1 en la época seca.

El aumento del número de esporas en la época lluviosa con respecto a la época seca fue superior al 80% en selva alta perennifolia, mientras que para la selva mediana estos valores tuvieron un incremento del 260%.

Al comparar estos dos ecosistemas, se mostraron diferencias estadísticas en el número de esporas ($N=36$, $t=4.73$, $p=0.001$), en donde la selva alta registró un total de 11 esporas por gramo de suelo en promedio, mientras que la selva mediana sólo 3 (Figura 3.5).

El número de esporas entre las dos épocas, mostraron diferencias altamente significativas ($N=36$, $t=3.44$, $p=0.002$), registrando los mayores valores en la época de lluvia (10 esporas/g de suelo) con respecto a la época seca (2 esporas /g de suelo; Figura 3.6).

Discusión

Las esporas micorrícicas son una fuente de inóculo utilizada en la propagación de especies, ya que en condiciones favorables son capaces de germinar e iniciar la colonización de raíces hospedadas. Ante estos argumentos, Smith y Read (2008) realizaron la capacidad que tienen estas estructuras en el mantenimiento de la diversidad de plantas bajo condiciones naturales.

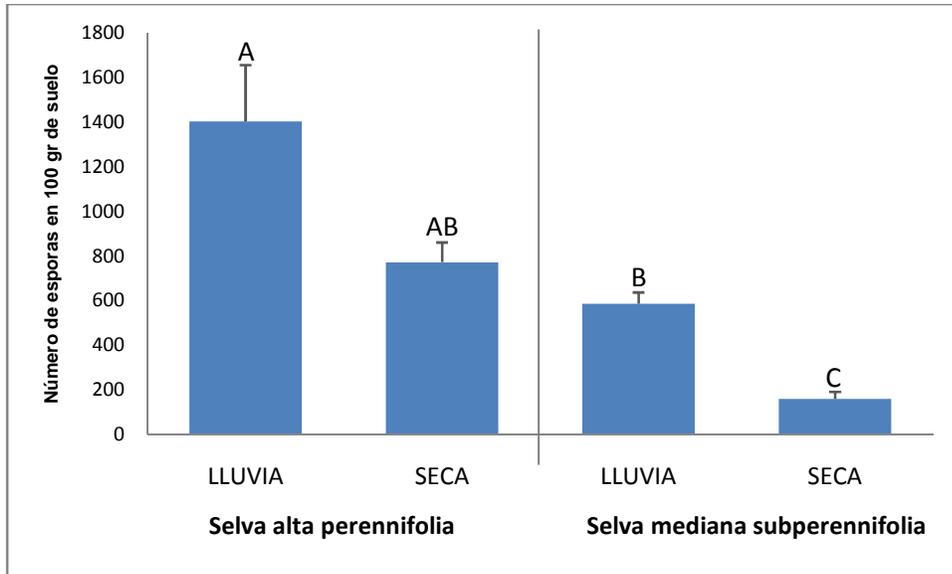


Figura 3.4. Comparación de medias (Tukey $p=0.05$) en la interacción época-ecosistema de la cuantificación total de esporas en 100 gr de suelo. Los datos graficados representan la media \pm error estándar.

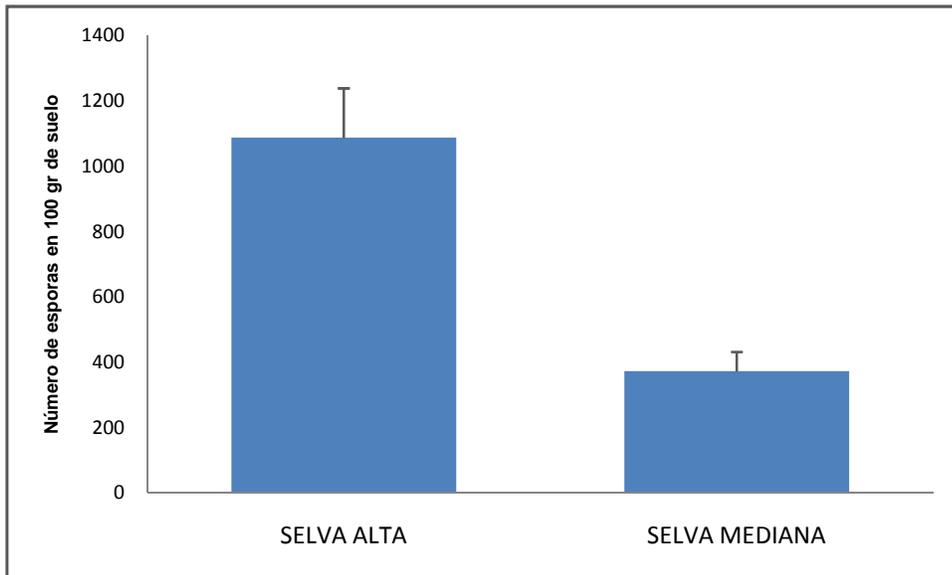


Figura 3.5. Población total de esporas en 100 gr de suelo para los ecosistemas donde se distribuye *Cedrela odorata* en el estado de Veracruz (selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia). Los datos graficados representan la media \pm error estándar.

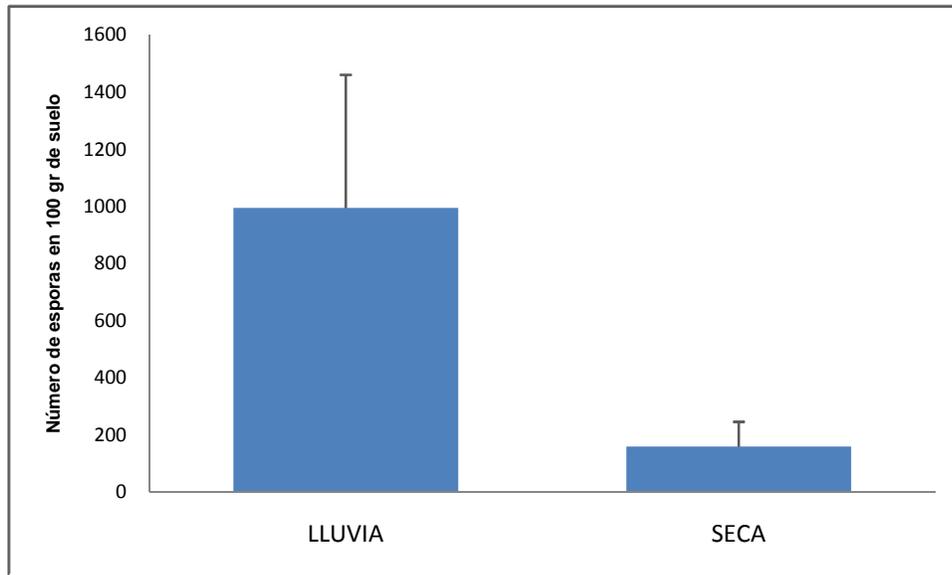


Figura 3.6. Población total de esporas en 100 g de suelo para la época de lluvia y época seca de las áreas de distribución de *Cedrela odorata* en el estado de Veracruz. Los datos graficados representan la media \pm error estándar.

La densidad poblacional de esporas en estos suelos es muy variable y depende en gran medida de los factores ambientales y la estacionalidad (Sutton y Barron, 1972; McGee, 1986; Louis y Lim, 1987; Gemma y Koske, 1988; Udaiyan *et al.*, 1996; Merryweather y Fitter, 1998; Muthukumar y Udaiyan, 2002; Staddon *et al.*, 2003; Lingfei *et al.*, 2005; Yuan *et al.*, 2011); esto se observó en la selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia, en donde las poblaciones micorrícicas efectivamente se vieron influenciadas por las tasas de precipitación acontecidas en ambas épocas de evaluación.

En la literatura, se ha documentado que el agua es un factor importante que determina la abundancia de esporas. Ciertas investigaciones de ecosistemas tropicales, revelan que existe una mayor densidad poblacional al final de la estación seca y disminuye conforme aumentan las tasas de precipitación (Guadarrama y Álvarez, 1999; Mangan y Adler, 2002). Los resultados publicados por Saif (1986) aportan un panorama diferente; en ellos, se observa que las bajas poblaciones tienden a ser influenciadas por periodos prolongados de sequía. Esta

última situación fue común en los dos ecosistemas evaluados de la presente investigación.

En estos resultados se enmarca la importancia que tiene el recurso agua sobre el mantenimiento y conservación de los HMA en los dos ecosistemas tropicales. Lo anterior se acentúa más en la selva alta perennifolia, ya que las altas poblaciones micorrícicas favorecieron en mayor medida a este ecosistema. De la misma manera, este efecto se logró visualizar en ambos ecosistemas, especialmente cuando las tasas de precipitación aumentaron entre una época y otra.

Ciertos reportes hechos por Gómez *et al.* (2010), demostraron que el éxito de adaptación de las plantas nativas a estos ambientes, se basó en gran medida a las altas tasas de precipitación y a la abundancia poblacional de HMA. Esta es una de las explicaciones del porque la selva alta perennifolia responde a una pronta recuperación después de acontecerse algún disturbio más que la selva mediana subperennifolia. Ello se refleja en el rápido establecimiento que tienen las especies vegetales en este ecosistema, así como al continuo desarrollo de las mismas debido a estas condiciones.

Conclusiones

La cantidad de esporas micorrícicas está influenciada por periodos prolongados de lluvia en los ecosistemas tropicales de Veracruz. El incremento de estas poblaciones se ve más acentuado en la selva alta perennifolia; lo anterior se le atribuye a los altos niveles de precipitación acontecida durante todo el año. Por el contrario, las bajas poblaciones micorrícicas presentes en la selva mediana subperennifolia, se debe a las bajas precipitaciones en este ecosistema, así como a los periodos prolongados de sequía.

Considerando el efecto positivo del factor agua en la replicación de esporas micorrícicas, así como en el mantenimiento de ecosistemas forestales, cabe realzar la importancia que tienen estos hongos en los meses con mayor precipitación. La repoblación natural o inducida de las poblaciones de *C. odorata*

en estos ecosistemas se establece en estas épocas; por ello, la presencia de altas poblaciones micorrícicas asegurará un mayor éxito para su adaptación.

Por último, el conocimiento de las poblaciones micorrícicas, es indispensable para inferir en la riqueza, diversidad y función de un ecosistema. Su aplicación práctica mejora la implementación de programas encaminados a la conservación y rehabilitación de áreas con algún grado de disturbio.

CAPÍTULO IV

Evaluación del nivel de colonización de hongos micorrícicos arbusculares en las áreas naturales de distribución de *Cedrela odorata* L. en Veracruz, México

Resumen

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) presentan estructuras intraradicales que son desarrolladas al interior de células vegetales; éstas aumentan los niveles de absorción de agua y nutrientes a la planta. Los ecosistemas naturales forman asociaciones simbióticas con este tipo de microorganismos e influyen en el mantenimiento y conservación de especies forestales. La presente investigación determinó el nivel de colonización presente en dos ecosistemas tropicales donde se distribuye *Cedrela odorata* L. en el estado de Veracruz; para ello se recolectaron raíces de nueve árboles por tipo de vegetación en los meses de mayo y agosto. Se utilizó el método de clareo y tinción propuesto por Phillips y Hayman, (1970) y el de intersección establecido por McGonigle *et al.* (1990). Los análisis estadísticos se basaron en pruebas de *t* de student y análisis de varianza ($p=0.05$). Los resultados mostraron altas tasas de colonización por hifas en ambos ecosistemas; la colonización por vesículas fue mayor en la época seca de la selva mediana subperennifolia, mientras que la colonización por arbusculos fue mayor en las épocas de lluvia de estos dos ecosistemas. Lo anterior sugiere que la colonización por vesículas y arbusculos depende de la estacionalidad de ambos ecosistemas.

Palabras clave: Hongos micorrícicos arbusculares, cedro rojo, ecosistemas tropicales.

Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi (MAF) has an intraradical structure which develops into the vegetal cells, which increases water and nutrients abortions levels by plants. Natural ecosystems form symbiotic partnerships with these microorganisms

and directly influence the maintenance and conservation of timber species. This study determines the colonization level present in two tropical ecosystems where *Cedrela odorata* is distributed in the State of Veracruz; in May and August, roots of nine trees in each of both ecosystems were collected. Clearing and staining (Phillips y Hayman, 1970), and intersection (McGonigle *et al.*, 1990) methods were used. *t* Student and ANOVA ($p=0.05$) tests were used for statistical analysis. The results showed high colonization by hyphae in both ecosystems; the colonization by vesicles was bigger in the dry perennial medium forest, while the colonization by arbuscules was bigger in the rain season of both ecosystems. The above-mentioned suggests that the colonization for vesicles and arbuscules depends on the stacionality of these ecosystems.

Key Words: Arbuscular mycorrhizal fungi, red cedar, tropical forest

Introducción

En condiciones favorables, las esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) germinan para posteriormente iniciar la colonización intraradical. Para lograr la penetración a la epidermis radical, la planta emite ciertas hormonas denominadas estrigolactonas que activan el metabolismo y ramificación micelial; en tanto, los hongos activan señales de transducción que son reconocidas por las plantas (Bonfante y Requena, 2011). Posterior a ello, el hongo desarrolla estructuras de precolonización denominadas apresorios, los cuales penetran la epidermis para después colonizar las zonas de tejido parenquimático (Ezawa *et al.*, 1995). La penetración de espacios intercelulares, se debe en gran medida al desarrollo de enzimas pectolíticas, celulasas, xiloglucanasas, exo y endoglucanasas emitidas por el hongo (García y Ocampo, 2002).

En la capa interna de este tejido, se desarrollan estructuras denominadas ovillos o “coils” que son generadas por el crecimiento de hifas intraradicales (Blaszkowski, 2003). Las ramificaciones hifales, penetran las células más internas del cortex hasta llegar a las membranas plasmáticas, siendo en estas áreas donde se forman las estructuras llamadas arbúsculos, cuya función es la transferencia bidireccional

de nutrientes (Harrier, 2001). Más tarde se forman vesículas generalmente en los extremos de las hifas, las cuales son consideradas como órganos de reserva del hongo debido a sus altos contenidos de lípidos (Schenck y Smith, 1982). En los miembros de la familia Gigasporaceae, no se ha observado la formación de estas últimas estructuras; sin embargo, en el micelio externo se desarrollan células auxiliares que cumplen las mismas funciones (Morton y Benny, 1990).

Una vez establecida la colonización, las hifas extraradicales se multiplican para explorar un mayor volumen de suelo inaccesible por las raíces, aumentando con ello la captación de agua y nutrientes para la planta (Bago *et al.*, 2000; Finlay, 2008). Finalmente, al establecerse adecuadamente estas estructuras de colonización, se promueve la propagación de esporas (Klironomos y Hart, 2002) y con ello se da inicio al nuevo ciclo biológico de estos hongos.

La visualización de las estructuras intraradicales, ha sido posible mediante la aplicación de colorantes con base en azul de tripano (Phillips y Hayman, 1970), azul de algodón (Grace y Stribley, 1991), fucsina ácida (Merryweather y Fitter, 1991) o negro de clorazol (Brundrett *et al.*, 1984); sin embargo, el uso de estos colorantes puede variar en su efectividad o toxicidad de acuerdo al método utilizado de visualización. La fucsina ácida es un colorante que arroja buenos resultados al utilizar microscopia confocal (Dickson y Kolesik, 1999) o epifluorescencia (Merryweather y Fitter, 1991); mientras que el negro de clorazol presenta mayor efectividad al utilizar contraste Nomarski (Brundrett *et al.*, 1984). Por último, existen métodos económicos a base de tinta y vinagre que han mostrado excelentes resultados, además tienen la particularidad de no mostrar toxicidad en su uso (Vierheilig *et al.*, 1998).

La evaluación micorrícica se realiza por cuadrículas de intersección para determinar los porcentajes de colonización (Newman, 1966; McGonigle *et al.*, 1990; Rajapakse y Miller, 1994); sin embargo, Giovannetti y Mosse (1980) consideran que este método presenta ciertos errores en su aplicación, debido a que sólo considera la presencia y ausencia de estructuras teñidas; no obstante, ha sido útil para evaluar estructuras intraradicales como hifas, vesículas y arbusculos

desarrolladas en condiciones naturales o cultivos trampa (McGonigle *et al.*, 1990; Cavagnaro *et al.*, 2001; Utobo *et al.*, 2011).

Comúnmente, existen una serie de factores que influyen en el proceso de colonización e impiden el desarrollo de estructuras intraradicales. Entre estos se encuentran la densidad de inóculo, temperatura, cantidad de nutrientes (particularmente fósforo), luz y elevada concentración de CO₂ (Smith y Read, 2008). Afortunadamente, la adaptación que han logrado las diferentes especies de HMA en los diversos ecosistemas, ha permitido mantener y conservar la diversidad de plantas a través del tiempo.

Aunque se conoce que el micelio extraradical es una fuente de inóculo indispensable en la propagación de HMA (Klironomos y Hard, 2002), así como en la conservación de la estructura del suelo (Rillig, 2004) y la absorción de agua y nutrientes más allá de la rizósfera del suelo (Finlay, 2008), hoy en día no existen reportes sobre la cuantificación de estructuras intraradicales en las áreas naturales de distribución de *Cedrela odorata* L. en México. Por ello, la valoración de estas estructuras ayudará a entender el papel que cumplen en el establecimiento y mantenimiento de esta especie maderable. En base a lo anterior, en el presente capítulo se determinaron los niveles de colonización presentes en la raíz de esta especie maderable cuyas muestras fueron colectadas en dos ecosistemas tropicales del estado de Veracruz.

Materiales y métodos

Se realizó un muestreo de raíces en las áreas consideradas en el Capítulo II. Se eligieron nueve árboles de *C. odorata* por tipo de vegetación en los meses de mayo (época seca) y agosto (época de lluvia). En cada árbol se tomaron cuatro submuestras en la proyección media del dosel en dirección norte, sur, este y oeste a una profundidad de 0-20 cm, las cuales fueron homogeneizadas y colocadas en frascos de vidrio etiquetados que contenían una solución de Alcohol-Formaldehído-Ácido acético (ver anexo 4).

Para teñir las estructuras internas de estos hongos, se siguió el protocolo propuesto por Phillips y Hayman (1970) con algunas modificaciones en el procedimiento, mientras que la evaluación de colonización se basó en lo establecido por McGonigle *et al.* (1990; Figura 4.1).

1. **Selección de raíces.** Se utilizaron las raíces más finas, las cuales fueron lavadas para quitar los excesos de suelo proveniente de campo y posteriormente se colocaron en tubos de ensaye.
2. **Clarificación de raíces.** A cada tubo se le adicionó hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta cubrir totalmente las raíces y se colocaron en autoclave (Market Forge STM-E) por 15-20 min a 120 °C (15 lb de presión). Posteriormente, se eliminó esta solución con agua corriente y se cubrieron con ácido clorhídrico (HCl) al 1% durante 3-4 minutos, sólo que este punto se eliminó la solución pero no se lavaron las raíces.
3. **Tinción de raíces.** Se adicionó el colorante (azul de tripano al 0.05%; ver anexo 5) hasta cubrir las raíces y se colocó de nuevo a la autoclave durante 10 minutos a 120 °C (15 lb de presión). Se removió el colorante y se lavaron los excesos con agua corriente. Se adicionó lactoglicerol, lactofenol o acetoglicerol para su preservación.
4. **Evaluación micorrícica.** Por cada muestra se tomaron 20 porciones aleatorias de raíz procesada (1 cm c/u) colocadas en forma paralela en dos portaobjetos. Cada portaobjeto se dividió en dos grupos constituidos por 5 porciones y se trazaron cinco líneas horizontales para hacer 25 intersecciones o campos de observación en cada grupo. En total se obtuvieron 100 campos de observación por cada muestra. Una vez colocadas las raicillas, se les colocó el cubreobjetos y se presionaron con una goma de lápiz a fin de hacer más visibles las células internas y el nivel de colonización, para después contabilizar la colonización con el microscopio compuesto (Zeiss, Axio Scope). Los porcentajes de colonización por arbusculos, hifas y vesículas se determinaron mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de colonización} = \frac{\text{No de campos con hifas, arbusculos o vesículas}}{\text{Total de campos observados}} * 100$$

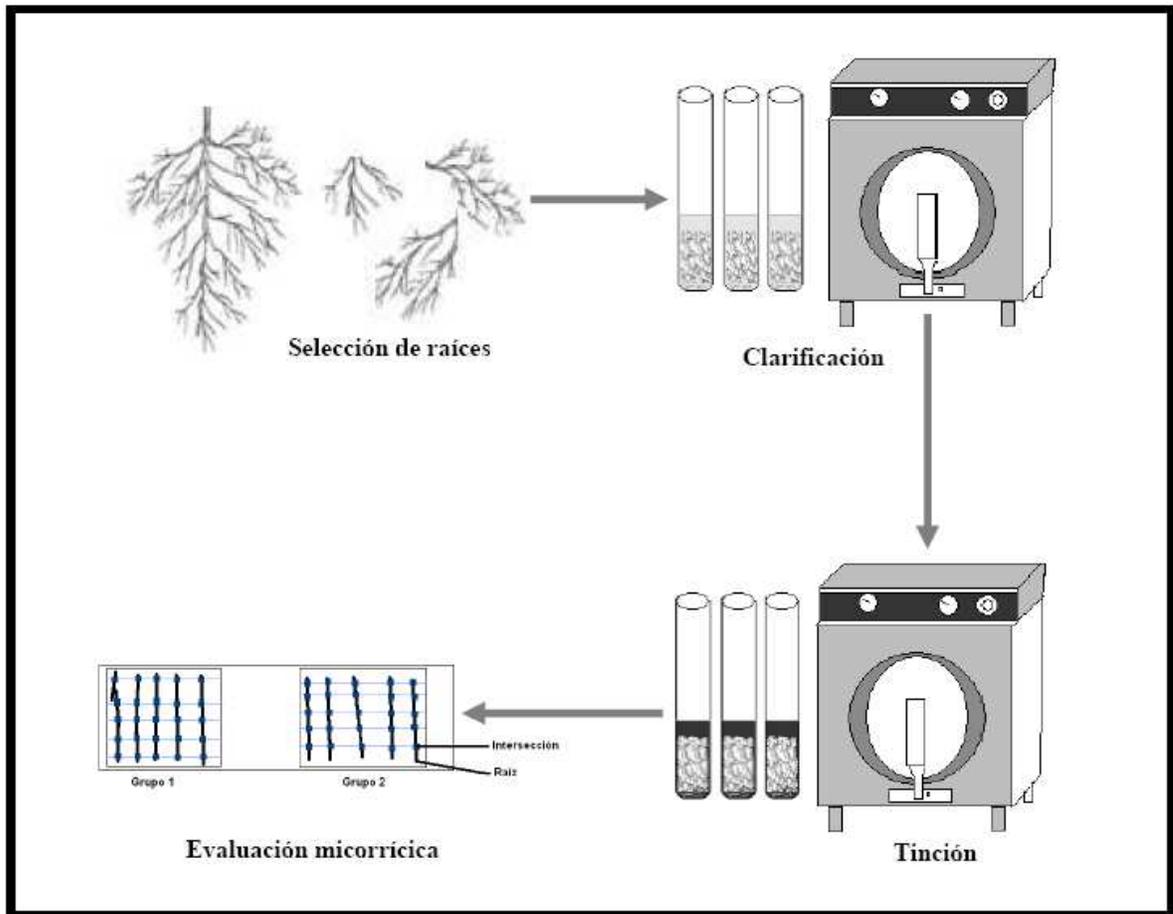


Figura 4.1. Diagrama de evaluación micorrícica en raíces de *Cedrela odorata* con modificación a los protocolos propuestos por Phillips y Hayman (1970) y McGonigle *et al.* (1990).

A los datos porcentuales de colonización se les aplicó una transformación angular o de Bliss ($\arcsen \sqrt{x/100}$); esto con el fin de cumplir con los supuestos del análisis de varianza, en el cual se requiere que respondan a una distribución normal (Steel y Torrie, 1980).

Para analizar las diferencias de colonización entre las interacciones (ecosistemas y épocas de evaluación), se integró un análisis de varianza (ANOVA) mediante la prueba de F . El análisis de la comparación múltiple de medias se realizó con la prueba Tukey con una confiabilidad del 95% ($p=0.05$). La comparación de medias entre los ecosistemas y las épocas se realizó a través de la prueba de t de student ($p=0.05$).

Resultados

La colonización representada por hifas, vesículas y arbusculos (Figura 4.5-4.8) en raíces de *C. odorata*, fue diferente en los ecosistemas evaluados y las épocas de muestreo (Figura 4.2). Las interacciones generadas en este estudio fueron: selva alta perennifolia-época de lluvia (SAP-EL), selva alta perennifolia-época seca (SAP-ES), selva mediana subperennifolia-época de lluvia (SMS-EL) y selva mediana subperennifolia-época seca (SMS-ES). Los mayores porcentajes de colonización se mostraron en la interacción SMS-ES. La comparación de medias en los porcentajes de colonización por hifas, mostró diferencias estadísticas significativas ($F=3.13$; $p=0.039$), especialmente entre las interacciones SAP-ES y SMS-ES, siendo mayor en esta última. Las vesículas fueron diferentes en ambas interacciones ($F=6.39$; $p=0.002$), donde SMS-ES fue la que mostró los máximos valores. La presencia de arbusculos fue mayor en SMS-EL, mientras que SAP-ES fue la que presentó los bajos niveles de colonización con estas estructuras, lo que propició diferencias altamente significativas ($F=8.61$; $p=0.000$).

La comparación de medias muestrales entre la selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia arrojó diferencias estadísticas significativas tanto en hifas ($N=36$, $t=-2.54$, $p=0.016$), vesículas ($N=36$, $t=-2.53$, $p=0.016$) y arbusculos ($N=36$, $t=-2.63$, $p=0.013$); donde los máximos valores estuvieron representados por el ecosistema de selva mediana subperennifolia (Figura 4.3).

Las épocas de evaluación no difieren estadísticamente en los porcentajes de colonización por hifas ($N=36$, $t=0.15$, $p=0.879$) y vesículas ($N=36$, $t=-1.19$, $p=0.241$). La única diferencia marcada se mostró en la colonización por estructuras arbusculares ($N=36$, $t=3.58$, $p=0.001$). En general, los altos porcentajes de colonización estuvieron influenciados por estructuras hifales y en menor medida por arbusculos y vesículas (Figura 4.4).

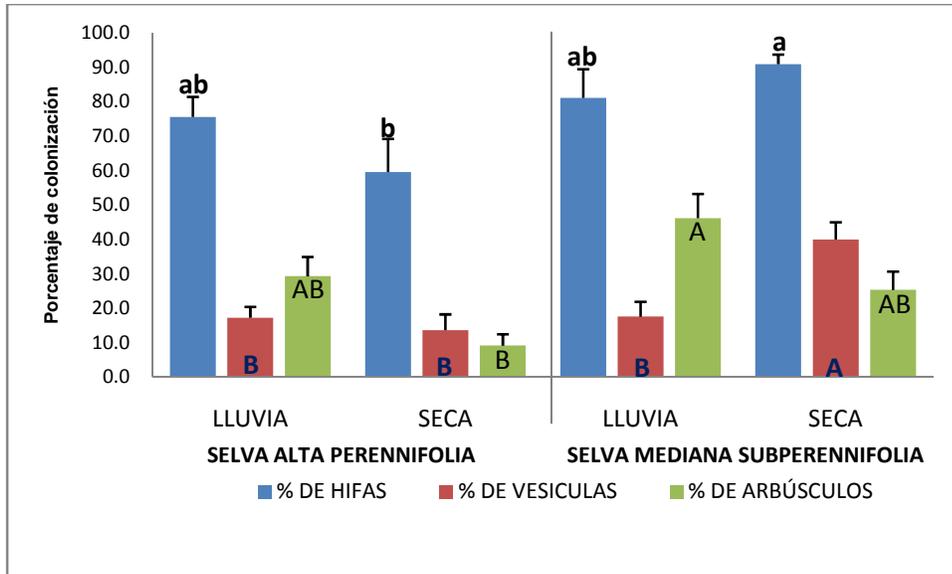


Figura 4.2. Colonización por hifas, vesículas y arbúsculos en dos ecosistemas tropicales y dos épocas de evaluación en las áreas de distribución de *Cedrela odorata* en el estado de Veracruz. Las letras indican la diferencia entre las diferentes interacciones (Ecosistema-Época; Tukey $p=0.05$). Los datos graficados representan la media \pm error estándar.

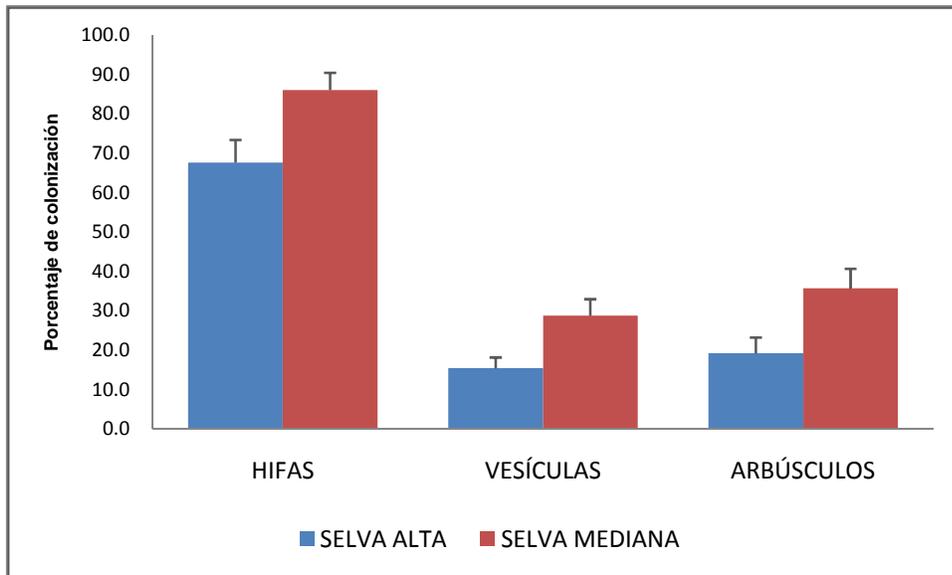


Figura 4.3. Nivel de colonización por hifas, vesículas y arbúsculos en los ecosistemas de selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia. Los resultados indican los valores promedio y error estándar.

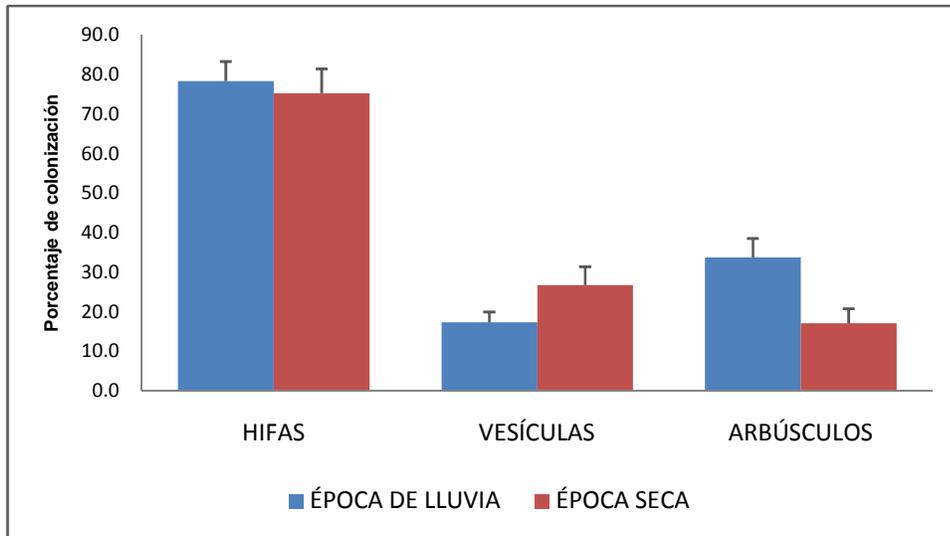


Figura 4.4. Nivel de colonización por hifas, vesículas y arbusculos en la época de lluvia y época seca. Los resultados indican los valores promedio y error estándar.



Figura 4.5. Colonización por hifas intraradicales al interior de células corticales de *Cedrela odorata*.



Figura 4.6. Colonización por vesículas al interior de la raíz de *Cedrela odorata*.

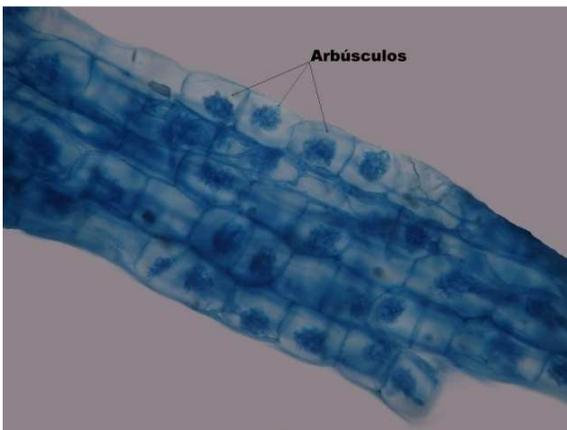


Figura 4.7. Colonización por arbusculos en células corticales de *Cedrela odorata*.

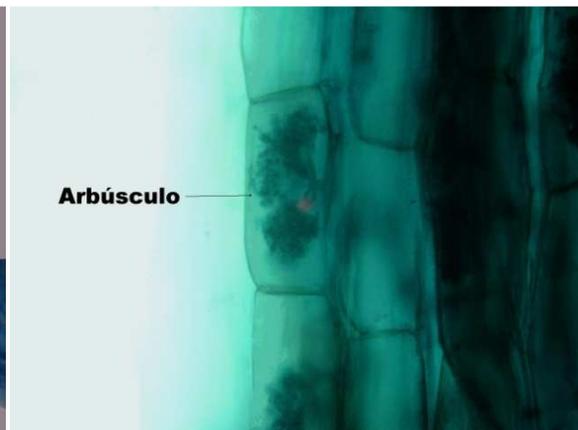


Figura 4.8. Presencia de arbusculo en una célula cortical de *Cedrela odorata*.

Discusión

Registros fósiles de HMA, datan su presencia desde hace más de 400 millones de años al interior de raíces de plantas (Redecker, 2002; Krings *et al.*, 2007); éstos han evolucionando a través del tiempo para formar estrategias de adaptación y selección de estas plantas ante la presencia de factores ambientales adversos.

La disponibilidad de agua ha sido un factor que determina el mantenimiento de los ecosistemas forestales (Bair y Wilbi, 1999); sin embargo, cuando la disponibilidad de este componente se ve reducida, la presencia de estructuras intraradicales pueden ayudar a mantener la diversidad de especies vegetales en estos ambientes (Aguilar *et al.*, 2009). Esta situación refuerza la importancia que han tenido estos hongos para amortiguar el estrés que pueda presentarse en las plantas durante su desarrollo (Sánchez y Honrubia, 1994).

De acuerdo a Saif (1986), el nivel de colonización en ecosistemas tropicales, disminuye conforme se prolongan bajas tasas de precipitación. Los resultados de esta investigación no muestran estas tendencias en la colonización por hifas, ya que estos niveles se mantuvieron tanto en la época lluviosa como en la época seca en los dos ecosistemas evaluados. Lo anterior puede estar atribuido a tres factores: (1) la habilidad que tienen estas estructuras para mantenerse continuamente al interior de raíces de *C. odorata*, (2) la dependencia que puede tener esta especie maderable en todo su ciclo y (3) la adaptación de ciertas especies micorrícicas ante la presencia de diferentes condiciones de humedad.

Este último punto ha sido abordado por Dodd *et al.* (2000); ellos consideraron que los mecanismos implicados en el establecimiento y mantenimiento micorrícico, se debió en gran medida a las especies y/o géneros presentes en el suelo. Esto se ha observado en algunas especies de *Glomus* y *Acaulospora*, las cuales han mostrado una mayor colonización con respecto a la presencia de otros géneros (Linderman, 1983; Abbott *et al.*, 1994; Biermann y Brundrett *et al.*, 1999). Posiblemente, esta situación explica la alta colonización en estos dos ecosistemas tropicales, ya que la dominancia de especies fue mayor en estos dos géneros en

la presente investigación; estos se aborda con más detalle en el capítulo V donde se discute la diversidad de especies micorrícicas en estos dos ecosistemas tropicales.

La colonización por vesículas no difiere en las dos épocas evaluadas de la selva alta perennifolia; sin embargo, se logró observar un marcado aumento al presentarse periodos secos en la selva mediana subperennifolia. Esto se debe a que los periodos de sequía pueden prolongarse hasta por ocho meses en este último ecosistema. Se ha demostrado que los bajos niveles de precipitación estimulan el desarrollo de estructuras de reserva; por ello, el amortiguamiento ante este tipo de estrés se debe en gran medida a la presencia de vesículas como lo considera Aguilera *et al.* (2007). Otra de las bondades que muestran estas estructuras, es la alta infectividad con respecto a otras fuente de inóculo (Biermann y Linderman, (1983), por esta razón, no debe dejarse de lado la importancia que tienen en el suelo para iniciar la colonización en raíces recién formadas.

La presencia de arbusculos puede verse favorecida por las altas tasas de precipitación; esto se observó en los dos ecosistemas tropicales, donde el nivel de colonización fue mayor al aumentar los niveles de precipitación. Al ser estas, estructuras especializadas en el transporte bidireccional de nutrientes (Harrier, 2001), se puede considerar que las épocas de lluvia junto a la alta colonización por arbusculos, son factores que influyen en el desarrollo celular de esta especie maderable en las zonas tropicales del estado de Veracruz.

Conclusiones

Los porcentajes de colonización por hifas fueron poco influenciadas por las condiciones de humedad que prevalecen en la selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia. Esta situación puede estar regulada por la dependencia de *C. odorata* a los HMA, por la biología de estructuras intraradicales o por la presencia de especies micorrícicas en las diferentes condiciones ambientales.

La colonización por vesículas fue muy similar en la selva alta perennifolia ante las diferentes tasas de precipitación; mientras que en la selva mediana subperennifolia, la colonización fue mayor cuando se presentó la época de sequía. Esta última situación refleja la importancia de estas estructuras para mantener activo al hongo aún cuando las condiciones de humedad no lo favorecen.

Las condiciones de humedad del suelo estimularon una mayor colonización de arbuscúlos en ambos ecosistemas. Esto explica el porqué *C. odorata* alcanza los mayores incrementos al acentuarse los periodos prolongados de lluvia en los ecosistemas tropicales.

Por último, el conocimiento de la colonización intraradical en este tipo de ecosistemas, ayudará a entender la función que cumplen estos hongos en el mantenimiento y conservación de *C. odorata*; además, el uso de éstas estructuras como fuente de inóculo, aportará una idea más clara sobre las especies micorrícicas que se están desarrollando en condiciones naturales.

CAPÍTULO V

Identificación de hongos micorrícicos arbusculares en las áreas naturales de distribución de *Cedrela odorata* L. en Veracruz, México

Resumen

Existe escasa información sobre las especies de Glomeromycota en los ecosistemas tropicales; por ello, es necesario intensificar los estudios taxonómicos. La mayoría de estos estudios se han enfocado a la identificación morfológica de esporas en ambientes agrícolas y una pequeña porción ha sido descrita de ecosistemas naturales. Por ello, en la presente investigación se identificaron las especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) presentes en dos ecosistemas tropicales donde se distribuye *Cedrela odorata* L. en el estado de Veracruz. Se colectó suelo de la rizósfera de nueve árboles por tipo de vegetación en los meses de mayo y agosto. En total se identificaron 37 especies de HMA; diez pertenecen al género *Acaulospora*; diez a *Glomus*; *Diversispora*, *Rhizophagus* y *Sclerocystis*, estuvieron integrados por tres especies; dos a *Pacispora* y *Funneliformis*; *Claroideoglomus*, *Paraglomus*, *Entroposphora* y *Scutellospora* se representaron por una especie. Existe un mayor número de especies en la selva alta perennifolia y sólo ocho se identificaron en ambos ecosistemas. Lo anterior muestra la alta diversidad micorrícica presente en estos dos ecosistemas, los cuales son indispensables para entender la interacción planta-microorganismo y con ello la función que cumplen en el manejo, conservación y propagación de especies forestales en áreas con algún disturbio.

Palabras clave: Caracterización, micorrizas, cedro rojo, ecosistemas tropicales.

Abstract

There is scarce literature about Glomeromycota species for tropical ecosystems; therefore it is necessary to promote these taxonomic studies. Most of works published to date deal with spore morphology of the agricultural landscapes, and few of them describe natural ecosystems. In this investigation the arbuscular

mycorrhizal fungi (AMF) present into two tropical ecosystems were *Cedrela odorata* distributes in the State of Veracruz were determined; in May and August, soils under nine trees of each these two ecosystems were collected. 37 AMF were identified, ten species belonged to *Acaulospora*; *Glomus* was represented also by ten species; *Diversispora*, *Rhizophagus*, and *Sclerocystis* were represented each by three species; *Pacispora* and *Funneliformis* were represented each by two species; and finally, *Claroideoglomus*, *Paraglomus*, *Entrophospora*, and *Scutellospora* were represented each only by one species. There was a higher number of AMF fungi species in the perennial tall forest, and only eight species were associated with both ecosystems. These results show high AMF fungi diversity in both ecosystems, which are essential to understand the plant-microorganism interactions and with this be able to make decisions about management, conservation and propagation of timber species in the wild.

Key words: Mycorrhizal, red cedar, tropical ecosystems.

Introducción

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) fueron ubicados inicialmente en la clase Zigomycetes (Link, 1809). Las primeras especies descritas fueron *Glomus microcarpum* y *G. macrocarpum* (Tuslane y Tuslane, 1845). Años más tarde, Berkeley y Broome (1873) propusieron al género *Sclerocystis* con la especie *S. coremiodes*. Thaxter en 1922, movió las especies del género *Glomus* al género *Endogone*, mientras mantuvo al género *Sclerocystis*. En este mismo año, estos hongos fueron colocados dentro de la familia Mortierellaceae del orden Mucorales por Bucholtz (1922). Moreau (1953), en una nueva clasificación, los colocó dentro de la familia Endogonaceae del orden Endogonales.

Fue hasta 1974 que Gerdemann y Trappe propusieron la primera clasificación Lineana; para ello revivieron al género *Glomus*, transfiriendo varias especies de *Endogone* a *Glomus*. Estos mismos autores describieron a los géneros *Acaulospora* y *Gigaspora* y cinco años más tarde Ames y Schneider (1979) propusieron el género *Entrophospora*.

Walker y Sander (1986) transfirieron algunas especies de *Gigaspora* a un nuevo género denominado *Scutellospora* y fue hasta tres años más tarde, cuando se estableció formalmente la familia Glomaceae por Pirozynski y Dalpé (1989).

Una clasificación más reciente, separó a los HMA de Endogonales debido a que ciertos caracteres moleculares. En este estudio demostraron que estos hongos tienen un origen monofilético y comparten ancestros con Basidiomycota y Ascomycota, más no con Zygomycota, por ello fueron considerados dentro de un nuevo Phylum denominado Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001).

En estos últimos años fueron descritos los géneros *Paraglomus* y *Archaeospora* (Morton y Redecker, 2001), *Diversispora* (Walker y Schüßler, 2004), *Pacispora* (Oehl y Sieverding, 2004), *Otospora* (Walker *et al.*, 2007), *Ambispora* (Palenzuela *et al.*, 2008), *Racocetra* (Oehl *et al.*, 2008), *Claroideoglomus*, *Funneliformis*, *Rhizophagus* y *Redeckera* (Schüßler y Walker, 2010).

Las últimas aportaciones en taxonomía de Glomeromycota fueron hechas por Oehl *et al.* (2011); sin embargo, su clasificación sigue en discusión, ya que algunos géneros son monoespecíficos o están basados en supuestos dudosos. Por esta razón y para fines de sistemática en esta tesis, se seguirá la clasificación propuesta por Schüßler y Walker (2010; Cuadro 5.1).

Cuadro 5.1. Clasificación de hongos del Phylum Glomeromycota de acuerdo a Schüßler y Walker (2010).

Orden	Familia	Género
Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i> , <i>Funneliformis</i> , <i>Rhizophagus</i> , <i>Sclerocystis</i>
	Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>
Diversisporales	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i> , <i>Scutellospora</i> , <i>Racocetra</i>
	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>
	Entrophosporaceae	<i>Entrophospora</i>
	Diversisporaceae	<i>Diversispora</i> , <i>Redeckera</i> , <i>Otospora</i>
	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>
Paraglomales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>
Archaeosporales	Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
	Archaeosporaceae	<i>Archeospora</i>
	Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>

La identificación de estos hongos se ha hecho considerando caracteres morfológicos de la espora, célula suspensora, germinación y conexión hifal

(Walker 1983; Morton, 1988); sin embargo, hoy en día la aplicación de herramientas moleculares ha ayudado a clasificar a estos hongos con base en sus divergencias genéticas.

En la actualidad, estos hongos se caracterizan por desarrollar cuatro grupos de esporas, los cuales son muy utilizados para su clasificación:

Esporas glomoides (esporas desarrolladas a través de una hifa de sostén); estas la presentan: *Glomus* (se diferencia de otros géneros por la secuencia GGTACGYACTGGTATCATTGG y TCGGCTGTAAAAGGCYYTTG de la unidad ribosomal), *Funneliformis* (desarrolla a menudo hifas de sostén en forma de embudo y una secuencia CGGTCATGGCCGTTGGTATGY), *Sclerocystis* (forma esporas que radian de un plexo central de hifas, agrupadas en esporocarpos con o sin peridio), *Rhizophagus* (se distingue de los demás géneros por formar abundantes esporas dentro de las raíces de las plantas), *Claroideoglomus* (se caracteriza por presentar esporas con una capa evanescente externa y una capa interna semiflexible que aparentemente forma una endospora en la madurez; sus secuencias son CAGYTGGGRAACCRCTAAA y ATTKRCACATCGGTCGGCC), *Diversispora* (la única estructura que lo separa de otros géneros es su micorriza, ya que este no desarrolla vesículas en las raíces y la tinción de hifas y arbusculos es muy tenue), *Redeckera* (forma esporas en esporocarpos y presentan una secuencia ARKTYTGGKMGCGGYAACGTRA de la unidad ribosomal), *Pacispora* (desarrolla una pared externa y una de germinación interna; presenta un plato de germinación en la capa 1 de la pared germinal) y *Paraglomus* (tiene similitud con *Diversispora* en la estructura subcelular de la espora y en la forma de su micorriza, se diferencia por la secuencia TGCTAAATAGCCAGGCTGY).

Esporas gigasporoides (esporas desarrolladas a través de una hifa de sostén bulbosa); están presentes en: *Gigaspora* (desarrolla una pared con dos capas que no se separan al romper la espora; al final de la ontogenia, se forma una pared germinal verrucosa de la cual emergen los tubos de germinación), *Scutellospora* (presenta una pared externa y dos o tres paredes germinales internas que se visualizan al romper la espora; forma un escudo de germinación en la pared

flexible más interna) y *Racocetra* (se diferencia del género anterior por la formación de una pared externa y la presencia de una pared germinal).

Esporas acaulosporoides (esporas desarrolladas lateralmente al cuello de un saco esporífero); las cuales están presentes en: *Acaulospora* (la hifa se desprende de la espóra dejando a las esporas sin hifa de sostén y con una cicatriz, presenta una pared externa y dos de germinación interna) y *Otospora* (se diferencia del género anterior debido a que sus esporas presentan un pedicelo lateral-tangencial semejante a una oreja al desprenderse el saco).

Esporas entrofosporoides (esporas desarrolladas dentro del cuello del saco esporífero); éstas sólo las presenta el género *Entrophospora*. Aquí la hifa se desprende de la espóra, dejando las esporas sin hifa de sostén y con dos cicatrices. Así mismo, desarrollan una pared externa y una de germinación interna.

Se han descrito géneros dimórficos (desarrollan esporas glomoides y acaulosporoides); entre ellos se tiene: *Archaeospora* (la secuencia del iniciador de la subunidad 18 del ADN ribosomal es TGCTAAATAGCCAGGCTGY) y *Ambispora* (las esporas acualosporoides presenta un pedicelo debido a la unión del cuello del saco con la espóra).

En México, los estudios taxonómicos revelan que existen alrededor del 40% de las especies descritas mundialmente; sin embargo, la mayoría de estos estudios se han enfocado a la identificación morfológica de esporas en ambientes agrícolas y una pequeña porción ha sido descrita de ecosistemas naturales (Varela *et al.*, 2011).

En lo que respecta al estado de Veracruz, los estudios más fuertes han sido en los bosques tropicales de la selva alta perennifolia (Guadarrama y Álvarez, 1999; Varela *et al.*, 2008), mas no se conoce nada sobre la diversidad de estos hongos en la selva mediana subperennifolia, por lo que resulta importante intensificar la exploración en estos ambientes Por lo antes mencionado, el presente trabajo de investigación muestra la diversidad de HMA presentes en la rizósfera de *C. odorata* en estos dos ecosistemas tropicales del estado de Veracruz.

Materiales y métodos

Las áreas consideradas en el muestreo fueron las descritas en el Capítulo II, mientras que las épocas de colecta y las muestras de suelo obtenidas en el Capítulo III, fueron las que se consideraron para la identificación morfológica.

Las esporas colectadas fueron propagadas en cultivos trampa convencionales propuestos por Brundrett *et al.* (1996; Figura 5.1); para ello, se utilizó suelo a base de limo-arena. Este sustrato se esterilizó en autoclave (Market Forge STM-E) por una hora a 15 lb de presión (120 °C) durante tres días, con el cual se llenaron en macetas de 2,350 mL. En cada maceta se colocaron tres semillas de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) y a su vez 100 esporas seleccionadas al azar que fueron extraídas de las muestras de suelo de cada árbol; lo anterior se realizó por triplicado para obtener una buena representatividad de esporas propagadas. Las macetas se mantuvieron en invernadero por 100 días, en donde cada semana se aplicó una solución Long Ashton modificada baja en fósforo (Hewitt, 1966; ver anexo 6). En las últimas tres semanas se le suspendió el riego y la fertilización para someter a las plantas a estrés y con ello estimular la esporulación.

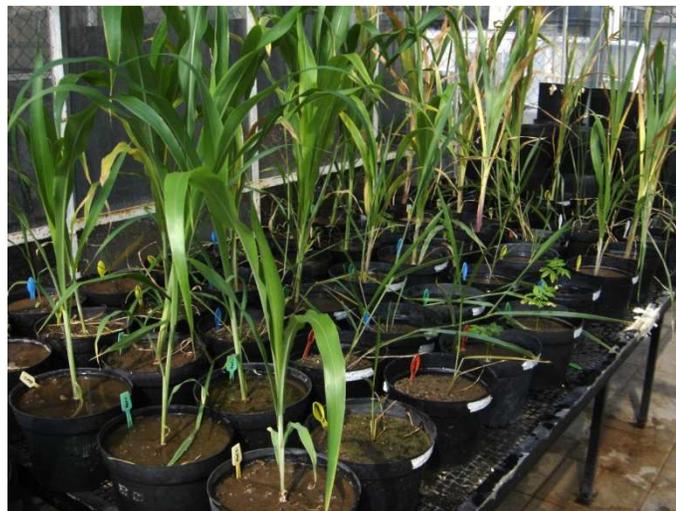


Figura 5.1. Propagación de esporas micorrícicas mediante el establecimiento de cultivos trampa.

La identificación se realizó tanto de las esporas colectadas en campo, así como de las propagadas en cultivos trampa. Para lograr esto, se consideraron las características básicas propuestas por Morton (1988) y Walker (1983), entre ellas: tamaño y forma del esporocarpio; germinación; color, forma y tamaño de la espora; forma, ancho y oclusión del poro en la hifa suspensora; color, dimensión, número, tipo, reacción en Melzer y ornamentación de las paredes de la espora (Figura 5.2). Las especies se identificaron tomando de referencia a la Colección Internacional de Hongos Micorrizicos Vesículo-Arbusculares (INVAM por sus siglas en inglés), el Manual Para la Identificación de Hongos Micorrizicos Vesículo-Arbuscular (Schenck y Pérez, 1990), las especies depositadas en el Departamento de Patología de Plantas en Polonia (Blaszkowski, 2003), así como las publicaciones originales de las especies.

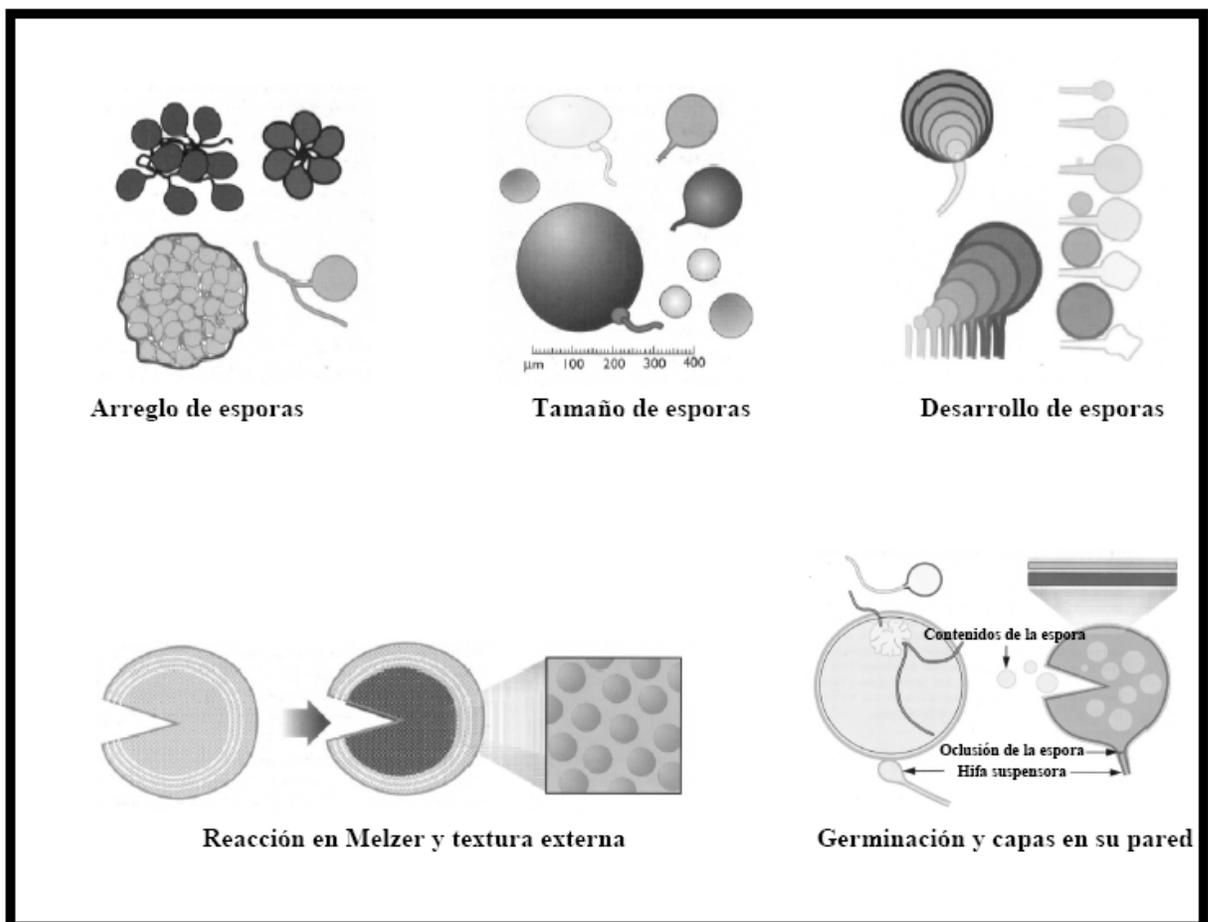


Figura 5.2. Consideraciones básicas para la identificación de hongos micorrizicos arbusculares (Tomado de Brundrett *et al.*, 1996).

Para la identificación se hicieron montajes en láminas semipermanentes con polivinil alcohol-lacto-glicerol "PVLG" (Morton *et al.*, 1993) y el reactivo de Melzer (Koske y Tessier, 1983; ver anexo 7), mientras que la observación se realizó en el microscopio estereoscópico (Zeiss 47-50-52-9901) y el compuesto (Zeiss, Axio Scope. A1).

El método de hacer los montajes se basó en lo establecido por Schenck y Perez (1990; Figura 5.3):

1. **Observación y separación de morfotipos.** Las esporas que fueron extraídas del suelo por los métodos antes mencionados, se colocaron en una Caja Petri con agua destilada para examinarlas en luz reflejante bajo el microscopio estereoscopio. En este punto se tomó en cuenta el color de la espora, tipo de hifas accesorias, contenido de la espora, superficie, forma, tamaño, etc.
2. **Montaje de esporas.** El área de montaje fue la parte derecha del portaobjetos, mientras que la parte izquierda se utilizó para hacer las anotaciones pertinentes. Se colocó una gota de PVLG en la parte central y otra con PVLG+Melzer en la parte derecha. Se montaron entre 10-25 esporas en cada gota (el grupo del centro con esporas intactas y en la derecha con esporas quebradas). Se esperaron 3-5 minutos para que el medio de montaje se tornara un poco más viscoso. Se colocó un cubreobjetos seco en un ángulo de 45° en el área de montaje, se bajó lentamente logrando que las esporas se dispersaran y se evitara la formación de burbujas de aire. Las esporas del lado derecho fueron quebradas aplicando una ligera presión en el portaobjetos con el extremo de una aguja.
3. **Secado del montaje.** Se colocaron las laminillas en una incubadora a 65°C por 24 h para limpiar posteriormente los residuos del medio de montaje y reducir las burbujas de aire. La aplicación de temperatura ayudó a decrementar el espacio entre el cubreobjetos y el portaobjetos; por esta

razón, se hizo más fácil la toma de fotografías de las estructuras subcelulares de las esporas montadas.

4. **Observación de esporas.** Las esporas fueron examinadas a diferentes aumentos en el microscopio, iniciando de menor a mayor aumento (5-10-40 y 100x). Con el micrómetro se midió el diámetro de la spora, ancho de las capas y paredes, células accesorias, etc. Así mismo, se tomaron fotografías a cada espécimen colectado para tenerlos de referencia.

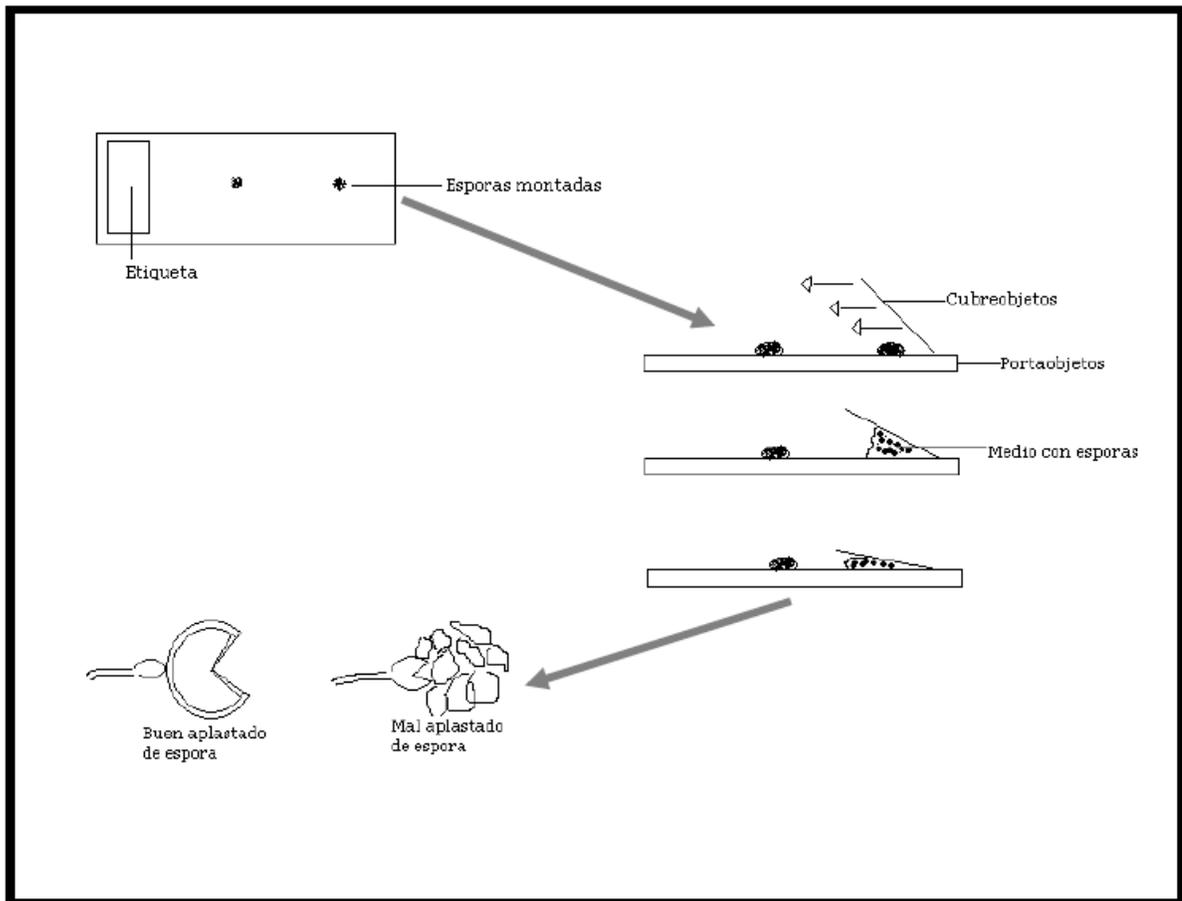


Figura 5.3. Consideraciones básicas para el montaje de hongos micorrícicos arbusculares (Tomado de Schenck y Perez, 1990).

Con lo anterior, se determinó la riqueza específica (S) la frecuencia relativa (Fr), índice de equidad (H'), índice de dominancia (C) e índice de similitud (CC_j) de las especies micorrícicas asociadas a *C. odorata* en los ecosistemas tropicales evaluados:

1. Riqueza específica (Moreno, 2001).

Es el número total de especies obtenido en un muestreo.

2. Frecuencia relativa (Moreira *et al.*, 2007).

$$Fr = \frac{\text{No total de individuos de la especie micorrícica } i}{\text{No total de individuos de todas las especies micorrícicas}} \times 100$$

3. Índice de equidad de Shannon-Wiener (Moreno, 2001).

Este índice expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra y se expresa mediante la siguiente fórmula:

$$H' = \sum (p_i * \ln p_i)$$

Donde: $p_i = \frac{n_i}{N}$

Donde: n_i es el valor de importancia de cada especie y N es el número total de individuos.

4. Índice de dominancia (Simpson, 1949).

Este índice manifiesta la probabilidad de que dos individuos tomados al azar sean de la misma especie (Moreno, 2001) y su fórmula es:

$$C = \sum (n_i/N)^2$$

Donde: n_i es el número de individuos de cada especie y N es el número total de individuos en todos los tratamientos

5. Índice de similitud de Jaccard entre bioensayos (Moreno, 2001)

Expresa el grado en el que dos muestras son semejantes por las especies presentes en ellas. Su fórmula se expresa:

$$CC_j = \frac{c}{a + b - c}$$

Donde: a y b son el número de especies en el ecosistema 1 y 2; c el número de especies comunes en los dos ecosistemas

Resultados

Se identificaron 37 especies de HMA; 26 en la selva alta perennifolia y 18 en la selva mediana subperennifolia. Siete de ellas se presentaron en ambos ecosistemas tropicales.

La riqueza de HMA presentes en la selva alta perennifolia, fue mayor en la época lluviosa (23 especies) con respecto a la época seca (20 especies). La primera época estuvo representada por 10 especies del género *Acaulospora*, cuatro de *Glomus*, tres de *Sclerocystis*, dos de *Rhizophagus*, dos de *Pacispora*, una de *Funneliformis* y una de *Diversispora*. *G. microaggregatum* y *A. mellea* fueron las más frecuentes. La época seca estuvo representadas por nueve especies de *Acaulospora*, cinco de *Glomus*, tres de *Rhizophagus*, una de *Funneliformis*, una de *Sclerocystis* y una de *Diversispora*; la mayor frecuencia relativa la aportaron *G. flavisporum*, *G. microaggregatum* y *A. mellea*.

En la selva mediana subperennifolia, la diversidad fue de 16 especies de HMA en la época seca y 15 en la época lluviosa. Esta última época, estuvo representada por ocho especies adscritas al género *Glomus*, dos a *Funneliformis*, una a *Claroideoglomus*, una a *Rhizophagus*, una a *Entrophospora*, una a *Scutellospora* y una a *Pacispora*; la mayor frecuencia la representaron las especies *F. constrictum*, *G. aggregatum* y *P. robigina*. La época seca estuvo representada por seis especies de *Glomus*, dos de *Funneliformis*, mientras que *Claroideoglomus*, *Rhizophagus*, *Sclerocystis*, *Paraglomus*, *Diversispora*, *Scutellospora* y *Pacispora* estuvieron representados por una especie. *G. aureum*, *G. microaggregatum* y *S. sinuosa* fueron las especies con mayor frecuencia relativa.

La selva alta perennifolia mostró un bajo índice de dominancia (C) en la época lluviosa, mientras que en la selva mediana la presentó la época seca. La dominancia en selva alta la marcaron cuatro especies en la época lluviosa y tres en la época seca; estas aportaron más del 60% en su frecuencia de aparición. El índice de diversidad de Shannon (H') fue mayor en la selva alta con respecto a la selva mediana tanto en la época seca y época lluviosa; esto se adjudicó a que

Cuadro 5.2. Diversidad y frecuencia relativa de hongos micorrizicos arbusculares de dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México.

	Frecuencia Relativa			
	Selva alta		Selva mediana	
	perennifolia	subperennifolia	perennifolia	subperennifolia
	Época de lluvia	Época seca	Época de lluvia	Época seca
Diversidad de especies micorrizicas				
Glomerales				
Claroideoglomaceae				
<i>Claroideoglomus etunicatum</i> (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & Schüßler	0	0	1.05	2.33
Glomeraceae				
<i>Funneliformis constrictum</i> (Trappe) C. Walker & Schüßler	0.19	0.37	14.74	3.88
<i>Funneliformis mosseae</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & Schüßler	0	0	3.16	3.1
<i>Glomus aggregatum</i> N.C. Schenck & G.S. Sm.	0	0	37.90	4.66
<i>Glomus ambisporum</i> G.S. Sm. & N.C. Schenck	0	1.48	0	0
<i>Glomus arenarium</i> Błaszk., Tadych & Madej	0	0	1.05	0
<i>Glomus aureum</i> Oehl & Sieverd.	0	0	3.16	19.38
<i>Glomus flavisporum</i> (M. Lange & E.M. Lund) Trappe & Gerd.	4.83	17.71	0	0
<i>Glomus hyderabadensis</i> Swarapu, Kunwar, Prasad & Manohar	0	0	3.16	7.75
<i>Glomus macrocarpum</i> Tul. & C. Tul.	0.37	1.85	1.05	2.33
<i>Glomus microaggregatum</i> Koske, Gemma & P.D. Olexia	20.63	21.03	6.32	13.95
<i>Glomus microcarpum</i> Tul. & C. Tul.	2.79	2.58	7.37	4.65
<i>Glomus viscosum</i> T.H. Nicolson	0	0	3.16	0
<i>Rhizophagus clarus</i> (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) C. Walker & Schüßler	0.56	1.48	0	0
<i>Rhizophagus custos</i> (C. Cano & Y. Dalpé) C. Walker & Schüßler	0	1.85	0	0
<i>Rhizophagus fasciculatus</i> (Thaxt.) C. Walker & Schüßler	0.19	0.37	3.16	1.55
<i>Sclerocystis rubiformis</i> Gerd. & Trappe	6.69	9.23	0	0
<i>Sclerocystis sinuosa</i> Gerd. & B.K. Bakshi	8.36	0	0	19.38
<i>Sclerocystis taiwanensis</i> C.G. Wu & Z.C. Chen	22.30	0	0	0
Paraglomerales				
Paraglomeraceae				

<i>Paraglomus occultum</i> (C. Walker) J.B. Morton & D. Redecker	0	0	0	5.43
Diversisporales				
Acaulosporaceae				
<i>Acaulospora excavata</i> Ingleby & C. Walker	0.93	2.21	0	0
<i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos	0.74	0.74	0	0
<i>Acaulospora lacunosa</i> J.B. Morton	0.19	0	0	0
<i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe	4.09	2.95	0	0
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & N.C. Schenck	10.59	21.77	0	0
<i>Acaulospora morrowiae</i> Spain & N.C. Schenck	7.06	1.85	0	0
<i>Acaulospora rehmsii</i> Sieverd. & S. Toro	0.19	0.37	0	0
<i>Acaulospora rugosa</i> J.B. Morton	0.37	0.37	0	0
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	6.17	10.7	0	0
<i>Acaulospora spinosa</i> C. Walker & Trappe	0.37	0.37	0	0
Diversisporaceae				
<i>Diversispora celata</i> C. Walker, Gamper & Schüßler	0.37	0	0	0
<i>Diversispora eburnea</i> (L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton) C. Walker & Schüßler	0	0.74	0	0
<i>Diversispora spurca</i> (C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & A. Schüßler	0	0	0	2.33
Entrophosporaceae				
<i>Entrophospora infrequens</i> (I.R. Hall) R.N. Ames & R.W. Schneid.	0	0	3.16	0
Gigasporaceae				
<i>Scutellospora pellucida</i> (T.H. Nicolson & N. C. Schenck) C. Walker & F.E. Sanders	0	0	1.05	6.2
Pacisporaceae				
<i>Pacispora robigina</i> Oehl & Sieverd.	1.49	0	10.53	1.55
<i>Pacispora scintillans</i> (S.L. Rose & Trappe) C. Walker, Vestberg & Schüßler	0.56	0	0	0
Riqueza de especies	23	20	16	17
Índice de diversidad de Shannon (H)	2.35	2.27	2.13	2.14
Índice de dominancia de Simpson (C)	0.13	0.15	0.18	0.08
Índice de similitud		19%		

este primer ecosistema albergó una mayor diversidad de especies en ambas épocas de evaluación. La similitud (CC_j) mostrada de estos ecosistemas fue del 19%, al compartir siete especies de las 37 especies identificadas (Cuadro 5.2).

Discusión

Las selvas tropicales albergan una gran diversidad de especies micorrícicas que repercuten en el mantenimiento, conservación y variabilidad de especies vegetales (Wright, 2002; Husband *et al.*, 2002a). Aunado a ello, se considera que la mayoría de los árboles tropicales forman asociaciones con este tipo de hongos (Smith y Read, 1997; Alexander y Lee, 2005).

Uno de los factores que influyen en la diversidad y tipo de especies de HMA, es la precipitación (Allen *et al.*, 1995; Augé, 2001). Esto ha sido documentado por Lovelock *et al.* (2003), donde relacionan la presencia de especies de *Acaulospora* en ecosistemas con periodos prolongados de lluvia. Así mismo, Stutz y Morton (1996), Egerton-Warburton y Allen (2000), Stutz *et al.* (2000), han observado la presencia de especies del género *Glomus* en ecosistemas con menor precipitación. Lo anterior fue observado tanto en la selva alta perennifolia (mayor presencia de especies del género *Acaulospora*) y selva mediana subperennifolia (mayor presencia de especies del género *Glomus*), lo cual explica la evolución que han mostrado estos géneros con las plantas locales para mantener la estabilidad y funcionalidad de estos ecosistemas tropicales.

La presencia de estos dos géneros ha sido objeto de estudio por muchos autores. En varias investigaciones se muestra como la dominancia de especies del género *Acaulospora* tiende a presenciar una baja diversidad de especies del género *Glomus*. Por el contrario, la dominancia por *Glomus*, refleja una baja diversidad de especies de *Acaulospora* (Janos y Trappe, 1982; Musoko *et al.*, 1994; Cuenca y Menedes, 1996; Johnson y Wedin, 1997; Guadarrama y Álvarez, 1999; Picone, 2000; Zangaro *et al.*, 2000; Husband *et al.*, 2002a). Esto habla más de la capacidad que tienen estos ecosistemas para presenciar un grupo de especies

micorrícicas, más no el efecto que puedan tener un grupo de hongos para desplazar a otro.

Las publicaciones antes citadas, indica que existe una mayor diversidad de especies en los ecosistemas con mayor precipitación; esto demuestra la capacidad que tiene el agua para determinar la riqueza de especies en los diferentes ecosistemas naturales. Esta misma situación se observó en las dos épocas evaluadas de la presente investigación, mostrando un comportamiento similar al mencionado por dichos autores.

La densidad poblacional de ciertas especies entre una época y otra, varían dentro de un mismo ecosistema debido a la estacionalidad (Guadarrama y Álvarez, 1999). Esto fue observado con las especies *G. flavisporaum*, *S. taiwanensis* y *A. mellea* de la selva alta perennifolia, mientras que en la selva mediana subperennifolia esta situación fue más marcada con las especies *F. constrictum* y *G. aggregatum*.

Algunas de las especies más comunes del género *Acaulospora* reportadas en selvas tropicales han sido *A. mellea* y *A. morrowiae* (Lovelock *et al.*, 2003). Aunque estas dos especies se registraron en la selva alta perennifolia, la mayor frecuencia relativa la representó *A. mellea*, lo cual concuerda con los resultados publicados por Sieverding (1989). Si bien se ha mostrado su presencia en estos ecosistemas tropicales, Blaszkowski (2003) considera que esta especie puede tener una distribución cosmopólita.

Una de las especies más frecuentes en la selva mediana subperennifolia fue *G. aggregatum*. En México, esta especie ha sido reportada en matorrales xerófilos (Hernández *et al.*, 2003) y bosques tropicales secos (Guadarrama *et al.*, 2007). A nivel mundial, su presencia se cita en el desierto de Bledowska (Blaszkowski, 2003) y del desierto de Cholistán (Chaudhry *et al.*, 2009). Lo anterior demuestra la capacidad que ha tenido esta especie para adaptarse a ambientes con bajos niveles de precipitación.

La diversidad de estos hongos micorrícicos registrados en la selva alta perennifolia del país es de 34 especies (Varela y Trejo, 2001; Varela *et al.*, 2008; Hernández-Reyes *et al.*, 2008). Con la inclusión de 14 nuevos registros en este tipo de ecosistema (*A. lacunosa*, *A. laevis*, *A. rugosa*, *C. etunicatum*, *D. celata*, *D. eburnea*, *G. flavisporum*, *G. microcarpum*, *P. robigina*, *P. scintillans*, *R. clarus*, *R. custos*, *S. sinuosa* y *S. taiwanensis*.), se amplía a 48 especies la diversidad micorrícica para este tipo de vegetación.

Tan sólo para el estado de Veracruz se tenía un registro de 36 especies (Guadarrama y Álvarez, 1999; Varela y Trejo, 2001; Varela *et al.*, 2008), con las especies descritas en el presente trabajo (*A. laevis*, *A. lacunosa*, *A. laevis*, *A. rugosa*, *C. etunicatum*, *D. celata*, *D. eburnea*, *D. spurca*, *F. mosseae*, *G. aggregatum*, *G. arenarium*, *G. aureum*, *G. flavisporum*, *G. hyderabadensis*, *G. microcarpum*, *P. robigina*, *P. scintillans*, *R. clarus*, *R. custos* y *S. taiwanensis*) se aumenta a 56 el número de registros para el estado.

Por último, en México se han registrado 97 especies, lo que representa más del 40% de las descritas actualmente a nivel mundial (Varela *et al.*, 2011). Con este trabajo, se suman seis especies (*D. celata*, *G. arenarium*, *G. aureum*, *G. hyderabadensis*, *R. custos* y *P. robigina*) como nuevos registros.

Conclusiones

Los ecosistemas tropicales muestran una alta diversidad de especies de HMA. A nivel mundial, se conoce un poco más de 200 especies; de ellas, sólo 26 fueron identificadas en la selva alta perennifolia y 18 en la selva mediana subperennifolia en la presente investigación.

La gran mayoría de especies micorrícicas se han adaptado a sobrevivir a las diferentes condiciones locales de cada ecosistema. En estos dos ecosistemas tropicales, se muestra que sólo un 19% de estas especies son capaces de tolerar factores ambientales y edáficos adversos.

La estacionalidad marca un efecto en la diversidad de especies micorrícicas. Esta situación se observó en especies que dependían de las altas o bajas tasas de precipitación para desarrollar altas poblaciones; por ello, se considera que las condiciones ambientales, son indispensables para el desarrollo del ciclo biológico de estas especies.

Con la suma de especies micorrícicas en esta investigación, el territorio nacional registra alrededor del 45% de la diversidad biológica mundial y el 24% para el estado de Veracruz. El ecosistema de selva alta perennifolia alberga el 22%, mientras que la selva mediana subperennifolia el 8%. Este último ecosistema representa el primer reporte en México sobre diversidad micorrícica.

CAPÍTULO VI

Identificación de hongos micorrícicos arbusculares asociados a *Cedrela odorata* L. mediante el uso de marcadores moleculares

Resumen

El uso de herramientas moleculares tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), impulsa el conocimiento de la ecología, riqueza y diversidad genética de hongos micorrícicos arbusculares (HMA). Muy poco se han aplicado estas técnicas para determinar las asociaciones simbióticas de estos hongos con árboles de importancia económica; por ello, en la presente investigación se determinaron las especies de HMA asociadas a *Cedrela odorata* L. en dos ecosistemas tropicales del estado de Veracruz. Se colectó la raíz de nueve árboles por tipo de vegetación y se extrajo el DNA ribosomal (rDNA). Para la amplificación de los HMA se realizó un PCR anidado utilizando oligonucleótidos específicos para caracterizar los grupos de hongos asociados a raíces de esta especie maderable. Los resultados muestran asociación entre las raíces provenientes de la selva alta perennifolia y los hongos de la familia Acaulosporaceae y *Glomus* grupo A; en lo que respecta aquellas que provienen de la selva mediana subperennifolia, la asociación se vió influenciada por miembros de la familia Paraglomaceae, Gigasporaceae y *Glomus* grupo A. Lo anterior refleja la necesidad que tienen estos hongos para asociarse a esta especie maderable en sus áreas naturales de distribución, para así contribuir a la funcionalidad y mantenimiento de estos ecosistemas forestales.

Palabras clave: Caracterización, micorrizas, técnicas moleculares, cedro rojo, ecosistemas tropicales.

Abstract

The use of molecular tools as the polymerase chain reaction (PCR) contribute to broad the knowledge of the ecology, richness and genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Very little these techniques have been applied to determine the symbiotic associations of these fungi with trees of economic

importance; for this reason, in the present investigation, the species of AMF associated to *Cedrela odorata* L. in two tropical ecosystems of the state of Veracruz were determined. Roots of nine trees were collected by each type of vegetation and the ribosomal DNA was extracted (rDNA). For the amplification of the AMF a nested PCR using specific oligonucleotides to characterize the groups of fungi associated to roots of this species maderable was carried out. The results showed association between the roots coming from the perennial high forest and the fungi of the family Acaulosporaceae and *Glomus* group A; the roots of perennial medium forest were associated to members of the family Paraglomaceae, Gigasporaceae, and *Glomus* group A. The above-mentioned suggest that these fungi are associated to this timber species in its natural range of distribution, thus they contribute to the functionality and maintenance of these tropical forest ecosystems.

Palabras clave: Characterization, mycorrhizal, molecular techniques, red cedar, tropical forest.

Introducción

La identificación y clasificación de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) se ha realizado empleando caracteres morfológicos de propágulos reproducidos asexualmente (esporas o esporocarpos); sin embargo, en ausencia de estas estructuras, el micelio intraradical puede ser útil para identificar a estos hongos mediante técnicas moleculares (Merryweather y Fitter, 1998).

Una de las técnicas más utilizadas para lograr lo anterior, ha sido el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés). Entre sus ventajas están la descripción filogenética de estos hongos mediante las secuencias del DNA ribosomal (rDNA), ya que a partir de ellas, se obtienen altas divergencias genéticas que no son distinguibles por caracteres morfológicos (Morton y Redecker, 2001).

Algunos de los criterios que deben cumplir las regiones del rDNA son: (1) estar presente en todos los hongos de interés, (2) una fácil amplificación, (3) amplificar

preferentemente el hongo cuando esté mezclado con rDNA de plantas y (4) ser suficientemente viable para diseñar sondas específicas en las diferentes jerarquías taxonómicas (Bruns y Gardes, 1993).

De acuerdo a Lanfranco *et al.* (1998), el rDNA genómico presenta regiones codificantes (18S, 5.8S y 28S) que son las más conservadas. Así mismo, se integran algunas regiones espaciadoras transcritas internas (ITS), las cuales pueden presentar un cierto grado de variación (Figura 6.1).

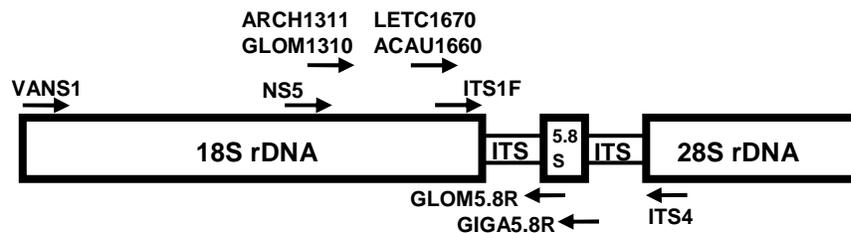


Figura 6.1. Estructura del gen ribosomal de los hongos micorrícicos arbusculares de acuerdo a Redecker (2000).

Los primeros estudios moleculares sobre HMA fueron hechos por Simon *et al.* (1992). Ellos amplificaron los genes 18S del rDNA. Más tarde Sander *et al.* (1995) demostraron la naturaleza polimórfica del rDNA en esporas de estos hongos.

Uno de los oligonucleótidos más utilizados, ha sido el AM1, el cual fue diseñado por Helgason *et al.* (1998) para amplificar las familias Glomeraceae, Gigasporaceae y Acaulosporaceae. Posteriormente, Redecker (2000) diseñó algunos oligonucleótidos que tienen la capacidad de amplificar las familias Paraglomaceae y Archeosporaceae, así como las mencionadas anteriormente.

Actualmente, se han desarrollado oligonucleótidos con mayor especificidad para amplificar un mayor número de familias (Lee *et al.*, 2008; Krüger *et al.*, 2009); sin embargo, el creciente desarrollo taxonómico, obliga a crear oligonucleótidos mucho más específicos para la división de nuevos taxones.

Como se mencionó anteriormente, estas técnicas ofrecen herramientas para la identificación de grupos de hongos a través de micelio intraradical desarrollado en

condiciones naturales. Por ello, la presente investigación tuvo como objetivo el identificar los HMA asociados al cedro rojo (*Cedrela odorata*) en dos ecosistemas tropicales del estado de Veracruz.

Materiales y métodos

Las raíces consideradas en este estudio, se obtuvieron de las colectas del Capítulo IV, sólo que estas fueron mantenidas en hielo y llevadas al laboratorio de bioquímica ecológica (CINVESTAV-Unidad Irapuato) para su congelación en nitrógeno líquido y conservación a -20 °C.

La extracción del DNA genómico de raíz se realizó con un kit comercial (DNeasy Plant Mini Extraction) desarrollado por Quiagen, CA, EUA, donde se siguió el protocolo facilitado por el fabricante. Una vez extraído el DNA, se conservó a -20 °C hasta su posterior utilización.

La cuantificación del DNA se realizó con el Nano Drop ® ND-1000 (Spectrophotometer Thermo scientific).

Para la visualización se utilizó gel de agarosa al 1% (ver anexo 8), un peine de 14 pozos y una cámara de electroforesis, a la cual se le adicionó TBE 0.5X (ver anexo 9). Al primer pozo se le aplicó 2 µL de marcador de peso de 100 pares de base (pb). A los pozos restantes se le aplicaron 2 µL del DNA extraído inicialmente, 2 µL de buffer de carga (ver anexo 10) y 3 µL de agua de ampolla. Se conectó la cámara a la fuente de poder (CE 154) con un voltaje de 70 V. Una vez terminada la electroforesis se visualizó el DNA colocando el gel a un transiluminador (Bio Rad 170-8126) y se tomó la fotografía para utilizarla como referencia.

El PCR se realizó de acuerdo a lo establecido por Redecker (2000). Los oligonucleótidos seleccionados, generalmente se utilizaron para identificar los grupos fúngicos, principalmente a nivel género o familia.

Se prepararon las reacciones con los componentes necesarios para realizar la primera amplificación (ver anexo 11); para ello, se utilizaron oligonucleótidos

universales de hongos (NS5 e ITS4) con un tamaño aproximado del fragmento de 700 pb. En un tubo eppendorf de 0.5 mL se adicionó 0.5 μ L del DNA de raíz que fue extraído inicialmente y 9.5 μ L de la reacción. Este procedimiento se realizó con un control negativo (0.5 μ L de agua de ampolleta) y uno positivo (0.5 μ L de DNA de *Rhizophagus intraradices*).

Los tubos eppendorf fueron colocados en un termociclador (CG1-96, Corbett Research). Las condiciones de tiempo y temperatura en las etapas de desnaturalización, alineamiento y extensión, así como los ciclos utilizados para esta primera amplificación, se muestran en el cuadro 6.1.

Cuadro 6.1. Programa para la reacción en termociclador de la primera amplificación de PCR.

Etapa	Temperatura °C	Tiempo
1 Desnaturalización	94	5 min
2 Desnaturalización	95	10 s
3 Alineamiento	58	30 s
4 Extensión	72	1 min
5 Desnaturalización	94	15 s
	Repetir 25 veces la etapa 2	
6 Extensión final	72	5 min
	4	infinito

Tanto el gel de agarosa, número de pozos, voltaje y visualización en trasluminador, fue similar al utilizado en el DNA para esta primera amplificación. La única diferencia se basó en la forma aplicar las reacciones: al primer pozo se le aplicó 2 μ L de marcador de peso; al pozo dos, 3 μ L de la mezcla del control negativo más 2 μ L de buffer de carga; al pozo tres, 3 μ L de la mezcla del control positivo más 2 μ L de buffer de carga. A los pozos restantes se le adicionó 3 μ L de la mezcla de DNA procedente de las muestras más 2 μ L de buffer de carga.

Para la segunda amplificación (PCR anidado), se utilizó el producto obtenido de la primera amplificación (DNA de hongo); para ello, se utilizaron cinco oligonucleótidos específicos y dos universales (Cuadro 6.2), los cuales fueron combinados en base al peso molecular para formar finalmente tres grupos de reacciones (ver anexo 12, 13 y 14).

Cuadro 6.2. Oligonucleótidos específicos y universales utilizados para el PCR.

Grupo	Familia	Género	Grupo de interés	Par de oligonucleótidos
1	Glomeracea	<i>Glomus</i>	Glomus grupo A	GLOM5.8R+ITS1F
2	Gigasporaceae	<i>Gigaspora, Scutellospora</i>	Gigasporaceae	GIGA5.8R+ITS1F
3	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>	Acaulosporaceae	ACAU1661+ITS4
4	Glomeracea	<i>Glomus</i>	Glomus grupo B	LETC1677+ITS4
5	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>	Paraglomaceae	ARCH1311+ITS4

Los tubos eppendorf utilizados en este punto, fueron similares a los utilizados en la primera amplificación; sólo que las condiciones de tiempo, temperatura y ciclos utilizados en las etapas de desnaturalización, alineamiento y extensión fueron diferentes en esta segunda amplificación (Cuadro 6.3).

Cuadro 6.3. Programa para la reacción en termociclador de la segunda amplificación de PCR.

Etapa	Temperatura °C	Tiempo
1 Desnaturalización	94	5 min
2 Desnaturalización	95	30 s
2 Alineamiento	61	45 s
2 Extensión	72	1 min
	Repetir 5 veces desde la etapa 2	
5 Desnaturalización	94	5 min
6 Desnaturalización	95	30 s
7 Alineamiento	60	45 s
8 Extensión	72	1 min
	Repetir 25 veces desde la etapa 5	
9 Extensión final	72	5 min
	4	infinito

Posterior a ello, se realizó el mismo procedimiento que en la primera amplificación, para finalmente obtener las amplificaciones de los grupos de HMA que estuvieron colonizando a *C. odorata* en condiciones naturales.

Resultados

Con el uso del kit comercial (DNeasy Plant Mini Extraction) se obtuvo DNA de excelente calidad (Figura 6.2) de las raíces de *C. odorata* provenientes de la selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia. Las concentraciones fueron

bajas según los resultados obtenidos por el Nano Drop; sin embargo, fueron suficientes para realizar los productos de amplificación de PCR.

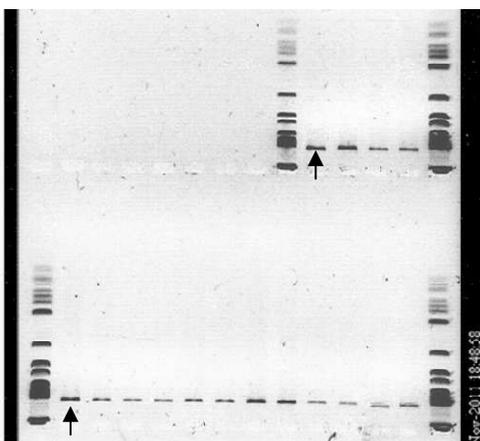


Figura 6.2. Amplificación del DNA genómico obtenido de raíces de *Cedrela odorata*.

La primera amplificación general donde se utilizaron los oligonucleótidos ITS4 y NS5 mostraron bandas visibles de hongos (Figura 6.3) en ambos ecosistemas; esto sin la necesidad de realizar diluciones en las concentraciones de DNA.

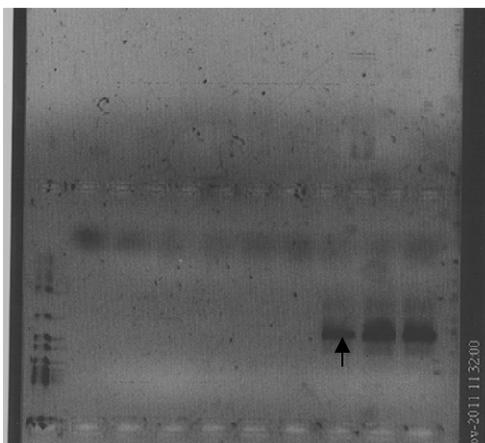


Figura 6.3. Amplificación del DNA genómico de hongos, derivado del producto del primer PCR.

En la segunda amplificación realizada para la selva mediana subperennifolia donde se utilizaron los oligonucleótidos específicos se observaron bandas visibles (Figura 6.4) para GLOM5.8 (Grupo *Funneliformis mosseae/Rhizophagus intraradices*), ARCH1311 (Grupo *Paraglomus occultum/P. brasilianum*) y GIGA5.8

(Grupos de la familia Gigasporaceae), mientras que en la selva alta perennifolia estas bandas amplificaron para ACAU1661 (Grupo de la familia Acaulosporaceae) y GLOM5.8.

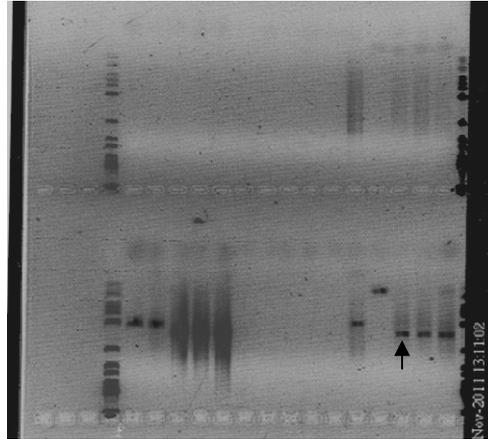


Figura 6.4. Amplificación del DNA genómico de hongos micorrícicos arbusculares, derivado del PCR anidado de raíces de *Cedrela odorata*.

Discusión

Las estructuras intraradicales no son un indicativo útil para la identificación de hongos micorrícicos, por ello comúnmente se recurre al uso de herramientas moleculares para conocer la diversidad genética cuando estos son desarrollados intracelularmente en las raíces de plantas (Merryweather y Fitter, 1998).

Desde que se iniciaron los estudios de oligonucleótidos específicos por Helgason *et al.* (1998) y Redecker (2000), se ha contribuido al estudio de las comunidades micorrícicas en varias condiciones geográficas (Öpik *et al.*, 2006) y diferentes ambientes naturales (Daniell *et al.*, 2001; Husband *et al.*, 2002a; Husband *et al.*, 2002b; Öpik *et al.*, 2003; Scheublin *et al.*, 2004).

La desventaja que presentan estos oligonucleótidos, es que amplifican únicamente a ciertos grupos de hongos micorrícicos. Si bien, hasta la fecha se conocen más de 200 especies adscritas a 18 géneros de acuerdo a Shüßler y Walker (2010), estos oligonucleótidos no han sido muy adecuados para revelar la diversidad

taxonómica hasta estos niveles ya que sólo se conoce la secuencia molecular de pocas especies en estos tipos de hongos.

Aunque estas técnicas se han empleado para caracterizar la diversidad micorrícica en diferentes ambientes naturales, en México no existen reportes de su aplicación en ecosistemas tropicales. Los pocos estudios que existen se basan en la identificación morfológica de las esporas del suelo y no a las especies asociadas a plantas de interés.

Los resultados generados en esta investigación, revelan que *C. odorata* muestra asociación simbiótica con este tipo de hongos como se consideró en el Capítulo III. La amplificación del PCR anidado en raíces provenientes de la selva alta perennifolia, indica que esta especie maderable se encuentra asociada con miembros del género *Glomus* y *Acaulospora*. Aunque en el Capítulo V se identificaron varias especies de estos géneros, no se les puede atribuir a todas su asociación con *C. odorata*, pues posiblemente algunas de ellas son capaces de interactuar con otras plantas cercanas.

Posiblemente, la amplificación mostrada en selva mediana subperennifolia es un indicador de colonización por *Paraglomus* y *Scutellospora*, ya que estos dos géneros sólo presentaron las especies *P. occultum* y *S. pellucida* según el Capítulo anterior. De la misma manera, se observa una amplificación de *Glomus* grupo A en este tipo de raíces; sin embargo, al igual que en la selva alta, esta condición no se puede atribuir a todas las especies de este género, ya que la diversidad presente en la rizósfera de *C. odorata*, puede estar asociada a raíces de otras plantas ahí presentes.

Conclusiones

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa es muy útil para determinar la asociación simbiótica entre los hongos de Glomeromycota y las raíces de *C. odorata*. La desventaja en su aplicación, radica en que sólo existen oligonucleótidos específicos para amplificar hasta ciertos grupos taxonómicos.

Aunque en estos últimos años han aumentado los estudios moleculares en estos tipos de hongos, es necesario realizar estudios para describir las secuencias genéticas de la mayoría de especies y con ello determinar con mayor exactitud las especies micorrícicas asociadas en ambientes naturales.

Los árboles de *C. odorata* aparentan tener mayor asociación con especies de los géneros *Acaulospora* y *Glomus* en la selva alta perennifolia, mientras que en la selva mediana subperennifolia esta asociación la muestra con miembros de los géneros *Glomus*, *Paraglomus* y *Scutellospora*.

Los resultados de esta investigación muestran la capacidad que tienen los hongos para formar asociación simbiótica con esta especie maderable en sus áreas naturales de distribución. Con este argumento, se concluye que la aplicación de éstos en la producción de plántulas, será indispensable para asegurar un mayor establecimiento al utilizarlas en la repoblación asistida de áreas degradadas.

CAPÍTULO VII

Evaluación en invernadero de la asociación de hongos micorrícicos arbusculares con *Cedrela odorata* L. utilizando inóculos nativos de dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México

Resumen

El presente estudio muestra el efecto de los hongos micorrícicos arbusculares en el desarrollo inicial del cedro rojo (*Cedrela odorata* L.); por ello, se realizó un bioensayo utilizando diferentes fuentes de inóculos procedentes de dos ecosistemas tropicales donde se distribuye esta especie en el estado de Veracruz. Se establecieron cuatro tratamientos: 1, inoculación directa con un consorcio de esporas; 2, inoculación con raíces colonizadas provenientes de campo; 3, sin inoculación; 4, sin inoculación en suelo nativo no estéril (T1, T2 y T3 en suelo nativo esterilizado). Los resultados mostraron diferencias estadísticas en los parámetros de crecimiento de los inoculantes provenientes de selva mediana subperennifolia, en donde T4 arrojó los mejores resultados, seguido por T2, mientras que T3 presentó los valores más bajos. Los inoculantes de selva alta aunque no presentaron diferencias estadísticas, T2 y T4 fueron los tratamientos con un mayor desarrollo. En total se asociaron 18 taxones de HMA, 16 fueron identificadas a nivel especie; siete pertenecen a *Acaulospora*, cinco a *Glomus*, mientras que *Claroideoglomus*, *Funneliformis*, *Rhizophagus*, *Sclerocystis*, *Diversispora* y *Paraglomus* estuvieron representados por una especie. Lo anterior marca una fuerte relación micorrícica entre estos hongos y *C. odorata*; ante ello, se sugiere replicar a estos hongos para utilizarlos en la producción de plántulas a fin de lograr una mejor adaptación al establecerlas en condiciones naturales.

Palabras clave: Cedro rojo, explotación, micorrizas, crecimiento.

Abstract

The aim of this study is to analyze the effects of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) on red cedar (*Cedrela odorata*) early development; a bioassay was carried

out using inocula from two tropical ecosystems where red cedar distributes in the State of Veracruz; four treatments were considered: T1, direct inoculation with a spore consortium; T2, inoculation with colonized roots from field; T3, no inoculation, and T4, no inoculation, in not sterilized native soil (T1, T2, and T3 in sterilized native soil). Results showed statistical differences in growth parameters from inoculants from subperennial medium forest, where T4 showed the higher growth values, followed by T2, while T3 showed the lowest growth values. Perennial tall forest inocula did not show statistical differences among them, treatments T2 and T4, had a higher growth values. 18 AMF taxa were identified, 16 of them were identified to species level, and seven of them belong to *Acaulospora*, five to *Glomus*, while *Claroideoglomus*, *Funneliformis*, *Rhizophagus*, *Sclerocystis*, *Diversispora* and *Paraglomus* were represented by only one species. This shows a strong mycorrhizal relationship among these fungi and *C. odorata*; so, it is suggested to replicate those fungi for their use in plant production to achieve a better adaptation when they are set in natural conditions.

Key words: Red cedar, production, growth, mycorrhizal

Introducción

La alteración de ecosistemas a causa de la deforestación, sigue en muchas ocasiones un proceso de erosión muy acelerado, lo cual se ve reflejado en una baja productividad, menor calidad y cantidad agua, así como una alteración de la diversidad biológica microbial (Kennedy y Smith, 1995).

Los hongos tienen la capacidad de interactuar simbióticamente con la mayoría de las plantas y es operada por un consorcio o grupo de microorganismos capaces de transportar y suministrar los nutrientes necesarios al interior de la raíz (Fitter y Garbaye, 1994; Bonfante y Anca, 2009). Una de las interacciones mutualistas más sobresalientes, la ejercen los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), los cuales se caracterizan por presentar una amplia distribución y posiblemente constituyen el grupo de microorganismos más importante debido a que: (1) facilitan la transferencia de fósforo y otros nutrientes importantes para el desarrollo celular de

las plantas (Dever *et al.*, 2001; Cuenca *et al.*, 2007); (2) contribuyen a la formación de la estructura del suelo (Piotrowski *et al.*, 2004); (3) permiten una mayor tolerancia a periodos prolongado de estrés por sequía (Sieverding y Toro, 1998); (4) actúan como antagonistas contra patógenos del suelo (Baath y Hayman, 1983); (5) son capaces de mantener la diversidad de plantas en los diferentes ecosistemas terrestres (Lovelock *et al.*, 2003).

Con base en lo anterior, es necesario considerar a esta simbiosis como parte primordial en los procesos de restauración en zonas alteradas (White *et al.*, 2008), como la problemática que hoy acontece a las selvas tropicales de México (Mas *et al.*, 2003).

Se estima que el 95% de las especies arbóreas tropicales presentan asociaciones simbióticas mutualistas con este tipo de hongos (LeTacon *et al.*, 1998), los cuales son parte esencial para el funcionamiento y mantenimiento de las mismas en sus ecosistemas naturales (Salas, 2004).

El cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) es una especie de importancia económica que se encuentra distribuida en las zonas tropicales de México, cuyas poblaciones naturales actualmente se encuentran seriamente afectadas por los impactos antropogénicos (Niembro, 1996); por ello, la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) en los últimos años ha implementado programas de reforestación y/o plantaciones forestales comerciales para mitigar dicha problemática.

El manejo de los HMA integrado a la producción de plántula en vivero, es indispensable para asegurar una mayor adaptación en el trasplante bajo condiciones naturales (Allen *et al.*, 2003); por tal motivo, este aspecto se debe integrar en paquetes tecnológicos de especies forestales de importancia económica con fines de producción de celulosa, madera de aserrío, chapa, entre otros.

Algunos estudios referentes a inoculación de HMA con *C. odorata* son los de Zuleta *et al.* (2000), Chable (2007), Amador (2010), los cuales se han enfocado a utilizar cepas comerciales, mas no a la valoración o evaluación de hongos nativos

que pueden ser potenciales para aumentar la adaptación de esta especie maderable en condiciones naturales. Con base a lo anterior se realizó el presente estudio a fin de determinar el efecto de los HMA colectados en ecosistemas naturales sobre *C. odorata*.

Materiales y métodos

Para evaluar la respuesta de *C. odorata* a la aplicación de inóculos micorrícicos nativos, se realizó un bioensayo en el invernadero del CINVESTAV-Unidad Irapuato. Se utilizaron diferentes fuentes de inóculo procedentes de la selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia. Este bioensayo estuvo constituido por cuatro tratamientos: (1) suelo nativo estéril y 100 esporas tomadas al azar por ecosistema, (2) suelo nativo estéril y cinco gramos de raíces como fuente de inóculo por ecosistema, (3) suelo nativo estéril por ecosistema y (4) suelo nativo sin esterilizar por ecosistema. El número de repeticiones para cada tratamiento estuvo constituido por seis plantas.

La esterilización del suelo se realizó en autoclave (Maket Forge STM-E) por tres días a 15 lb de presión (120 °C) durante una hora. La semilla utilizada fue de árboles con adecuados aspectos fenotípicos (sanidad, altura, fuste limpo, etc) provenientes del INIFAP (campo experimental el Palmar, Tezonapa, Veracruz). La siembra se realizó en bolsas de polietileno de 25x18 cm. Cada 15 días y durante cuatro meses y medio, se evaluó la altura total de la planta, diámetro al cuello de la base y número de folíolos. Al final, se determinó la biomasa seca aérea y radicular; relación peso seco aéreo/peso seco radicular; número de esporas (de acuerdo al Capítulo III); porcentaje de colonización por hifas, vesículas y arbuscúlos (de acuerdo al Capítulo IV).

Los datos estadísticos del número de esporas fueron transformados logarítmicamente ($\log x+1$) debido a que presentaron una gran variación y los datos porcentuales de colonización tuvieron una transformación angular o de Bliss ($\arcsen \sqrt{x/100}$) por presentar distribución binomial; esto con el fin de cumplir con

los supuestos del análisis de varianza, en el cual se requiere que respondan a una distribución normal como lo sugiere Steel y Torrie (1980).

Para la identificación de esporas se siguieron los procedimientos considerados en el Capítulo V. Se tomó de referencia a la Colección Internacional de Hongos Micorrícicos Vesículo-Arbusculares (INVAM por sus siglas en inglés), el Manual para la Identificación de Hongos Micorrícicos Vesículo-Arbusculares (Schenck y Perez, 1990), las especies depositadas en el Departamento de Patología de Plantas en Polonia (Blaszkowski, 2003) y las publicaciones originales de las especies (Tulasne y Tulasne, 1845; Nicolson y Gerdemann, 1968; Gerdemann y Trappe, 1974; Gerdemann y Bakshi, 1976; Becker y Gerdemann, 1977; Trappe, 1977; Walker y Trappe, 1981; Janos y Trappe, 1982; Schenck y Smith, 1982; Walker, 1982; Schenck et al., 1984; Smith y Schenck, 1985; Kennedy *et al.*, 1999; Blaszkowski *et al.*, 2001; Cano y Dalpé, 2009). Los especímenes se depositaron en el Herbario de la Universidad Autónoma de Nuevo León (CFNL).

Con lo anterior, se determinó la riqueza específica (S) la frecuencia relativa (Fr), índice de equidad (H'), índice de dominancia (C) e índice de similitud (CC) propuestos en el Capítulo V.

Por último, se realizó un análisis de correspondencia simple para cada ecosistema con el fin de evaluar las relaciones de dependencia e independencia de los HMA asociados a *C. odorata* en cada fuente de inóculo. Para llevar a cabo todos los análisis estadísticos se utilizó el paquete estadístico Minitab, Inc (2007).

Resultados

En la evaluación de la respuesta de *C. odorata* a la aplicación de inóculos nativos, se marcaron diferencias visibles en los parámetros de crecimiento, porcentaje de colonización y número de esporas tanto en la selva mediana subperennifolia y selva alta perennifolia (Figuras 7.1, 7.2, 7.3 y 7.4); sin embargo, el análisis de varianza sólo mostró diferencias estadísticas ($p \leq 0.001$) a la aplicación de inóculos

nativos procedentes de la selva mediana para todos los parámetros, excepto para el número de esporas (Cuadro 7.1).

Cuadro 7.1. Resultados del análisis de varianza, mostrando la respuesta de crecimiento de *Cedrela odorata* y el desarrollo de las micorrizas a la aplicación de inóculos nativos de dos ecosistemas tropicales ($p=0.05$).

	Selva mediana subperennifolia		Selva alta perennifolia	
	F	P	F	P
Altura	11.59	0.001 ^{***}	1.76	0.212 ^{NS}
Diámetro	8.98	0.002 ^{***}	1.04	0.413 ^{NS}
Número de folíolos	12.08	0.001 ^{***}	0.95	0.451 ^{NS}
Biomasa aérea	8.26	0.003 ^{***}	1.69	0.227 ^{NS}
Biomasa raíz	4.74	0.021 ^{**}	1.36	0.306 ^{NS}
Número de esporas	30.38	0.000 ^{***}	80.82	0.000 ^{***}
% de hifas	16.38	0.000 ^{***}	11.25	0.001 ^{***}
% de vesículas	3.89	0.037 [*]	3.32	0.06 ^{NS}
% de arbuscúlos	14.89	0.000 ^{***}	11.59	0.001 ^{***}

^{*}Significativo ^{**}Muy significativo ^{***}Altamente significativo ^{NS}No significativo

Los tratamientos que involucraron inóculos nativos de la selva mediana subperennifolia, mostraron los máximos valores en el desarrollo inicial de *C. odorata* (Figura 7.1A, 7.1C, 7.1E, 7.2A, 7.2C). La mayor respuesta la aportó el tratamiento que involucró suelo nativo sin esterilizar (T4), seguido del tratamiento donde se empleó raíces como fuente de inóculo (T2). Al tratamiento que se inoculó con 100 esporas aleatorias de este ecosistema (T1), promovió un escaso desarrollo pero siempre por arriba de aquel que no involucró alguna fuente de inóculo (T3). Aunque la selva alta perennifolia no mostró diferencias estadísticas en el análisis de varianza, se muestra un comportamiento muy similar al reportado en selva mediana (Figura 7.1B, 7.1D, 7.1F, 7.2B, 7.2D).

La relación peso seco aéreo/peso seco radicular muestra una mayor biomasa en hojas y tallos con respecto a la biomasa radicular. El tratamiento que involucró suelo nativo sin esterilizar (T4), fue el que presentó una relación menor comparada con los otros tratamientos (Figura 7.2A y 7.2B); esto es atribuido a la cantidad de biomasa radicular capaz de estimular los mayores crecimientos en las etapas tempranas de *C. odorata*.

La colonización de HMA al interior de la raíz, marca una alta diferencia estadística entre los tratamientos de ambos suelos, especialmente por la cero inoculación en T3 (Cuadro 7.1); sin embargo, al comparar por separado a T1, T2 y T4, no se mostraron diferencias estadísticas tanto en hifas, vesículas y arbuscúlos. Los tratamientos que involucraron alguna fuente de inóculo, presentaron un mayor porcentaje de hifas con respecto a vesículas y arbuscúlos. El porcentaje de vesículas encontradas al interior de la raíz fueron las más bajas en los tratamientos colonizados, mientras que los arbuscúlos presentaron altos porcentajes de colonización, no mayores a las hifas (Figura 7.3).

La propagación del número de esporas, mostró una alta diferencia estadística entre los tratamientos de ambos suelos (Cuadro 7.1), especialmente por la cero inoculación en T3; sin embargo, al igual que en los porcentajes de colonización, al comparar por separado el T1, T2 y T4, no se encontraron diferencias estadísticas en ambos suelos. En la figura 7.4 se observa el mayor número de esporas en el tratamiento que involucró suelo nativo sin esterilizar (T4) tanto en selva mediana como en selva alta (6 y 3 esporas/gr se suelo, respectivamente). Los tratamientos 1 y 2 no superaron las 2 esporas/gr de suelo; sin embargo, fueron suficientes para lograr un porcentaje de colonización entre el 50 y 80% para estos factores de evaluación (Figura 7.4).

En total se asociaron 18 taxa de HMA a *C. odorata* en los diferentes tratamientos que involucraron inóculos nativos; de estos, 16 se identificaron a nivel de especie. Siete pertenecen a *Acaulospora*, cinco a *Glomus*, mientras que *Claroideoglonus*, *Funneliformis*, *Rhizophagus*, *Sclerocystis*, *Diversispora* y *Paraglonus* estuvieron representados cada uno por una especie (Cuadro 7.2).

Al considerar el número de especies micorrícicas asociadas en *C. odorata* en los ecosistemas evaluados, se observó una mayor riqueza (S) específica de especies en la selva alta perennifolia (con trece) con respecto a las siete registradas en la selva mediana subperennifolia; en tanto que solamente dos (*G. microcarpum* y *S. sinuosa*) se asociaron en ambos ecosistemas (Cuadro 7.2).

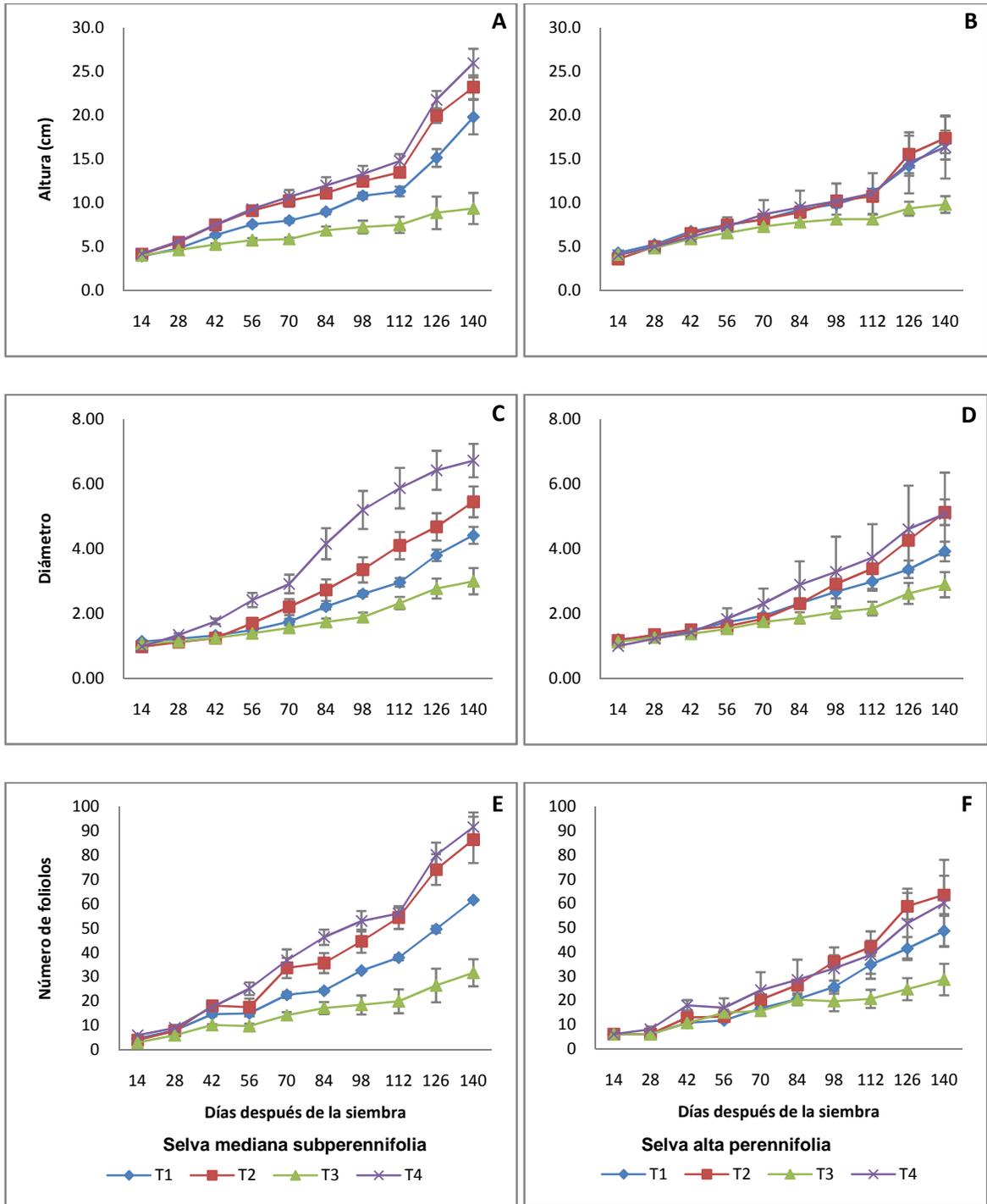


Figura 7.1. Crecimiento en altura, diámetro y número de folíolos de *C. odorata* procedentes de dos tipos de vegetación, bajo los tratamientos (T1, T2, T3 y T4). Los datos graficados representan la media \pm error estándar en los días posteriores a la siembra.

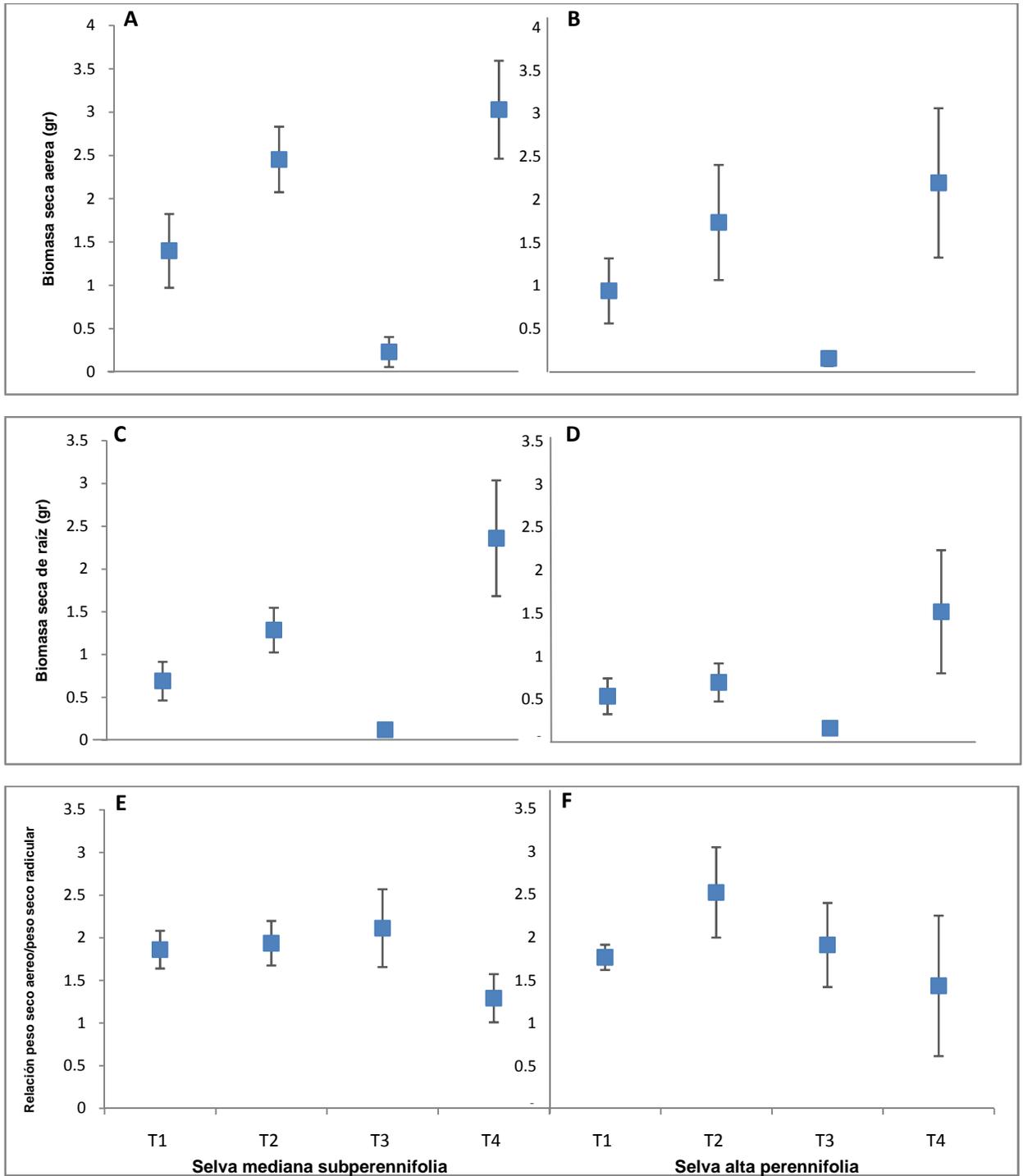


Figura 7.2. Crecimiento en biomasa de raíz y aérea de *C. odorata*, procedentes de dos tipos de vegetación, bajo los tratamientos (T1, T2, T3 y T4). Los datos graficados representan la media \pm error estándar.

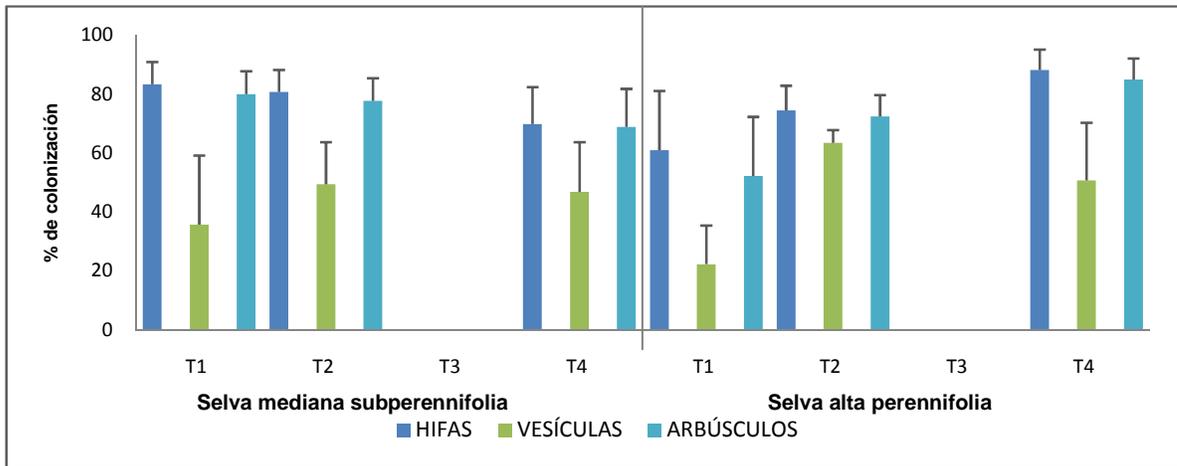


Figura 7.3. Porcentaje de colonización por hifas, vesículas y arbusculos en *Cedrela odorata*, procedentes de dos tipos de vegetación, bajo los tratamientos (T1, T2, T3 y T4). Los datos graficados representan la media \pm error estándar.

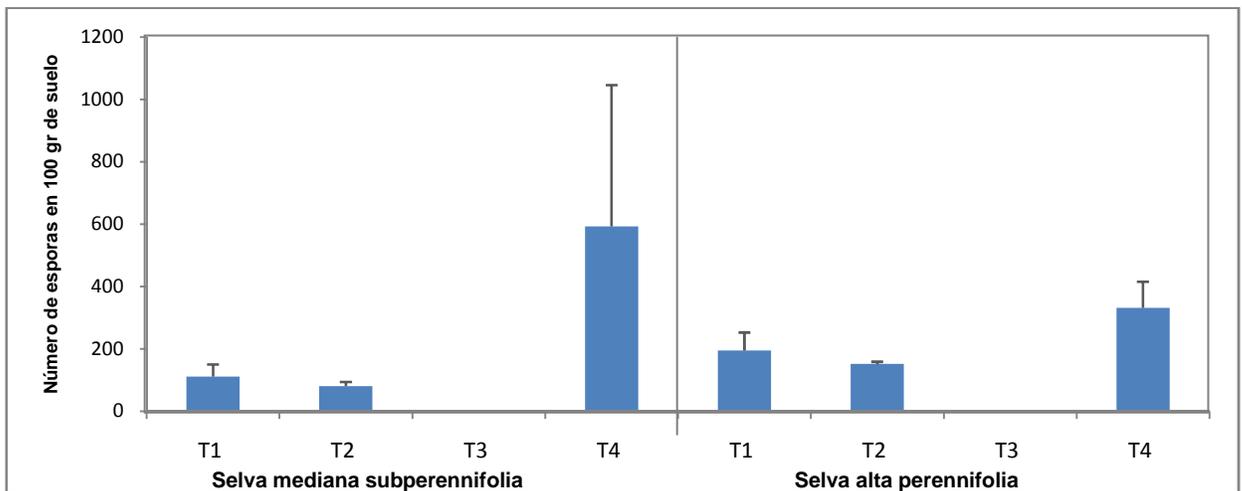


Figura 7.4. Número de esporas presentes en *Cedrela odorata*, procedentes de dos tipos de vegetación, bajo los tratamientos (T1, T2, T3 y T4). Los datos graficados representan la media \pm error estándar.

Las especies que presentaron alta frecuencia relativa (*Fr*) fueron: *Glomus* sp.1 y *A. mellea* en selva alta perennifolia; mientras que en la selva mediana subperennifolia fue *G. aggregatum* (Cuadro 7.2).

El bajo índice de dominancia (*C*) mostrado en la selva alta perennifolia (0.18) indica que la dominancia estuvo compartida por más especies de HMA, mientras que el alto valor reportado en la selva mediana subperennifolia (0.33), indicó que la dominancia es influenciada por un menor número. La dominancia en esta

asociación estuvo influenciada por dos especies en la selva alta perennifolia de un total de 13 especies, en donde estas especies aportaron el 50% de ocurrencia en el total de especies presentes. La dominancia en selva mediana subperennifolia estuvo influenciada por una especie que representó este 50% de ocurrencia (Cuadro 7.2).

Cuadro 7.2. Diversidad y frecuencia relativa de especies micorrícicas asociadas a *Cedrela odorata* en dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México.

Diversidad de especies de HMA	Frecuencia relativa	
	Selva alta	Selva mediana
Glomerales		
Claroideoglomaceae		
<i>Claroideoglomus etunicatum</i> (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	0	3
Glomeraceae		
<i>Glomus aggregatum</i> N.C. Schenck & G.S. Sm.	0	50
<i>Glomus ambisporum</i> G.S. Sm. & N.C. Schenck	3	0
<i>Glomus arenarium</i> Błaszk., Tadych & Madej	0	27
<i>Glomus microcarpum</i> Tul. & C. Tul	13	1
<i>Glomus</i> sp.1	20	0
<i>Funneliformis mosseae</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & Schüßler	0	6
<i>Rhizophagus custos</i> (C. Cano & Y. Dalpé) C. Walker & Schüßler	3	0
<i>Sclerocystis sinuosa</i> Gerd. & B.K. Bakshi	7	11
Paraglomerales		
Paraglomeraceae		
<i>Paraglomus occultum</i> (C. Walker) J.B. Morton & D. Redecker	0	2
Diversisporales		
Diversisporaceae		
<i>Diversispora eburnea</i> (L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton) C. Walker & Schüßler	12	0
Acaulosporaceae		
<i>Acaulospora</i> sp.1	1	0
<i>Acaulospora foveata</i> Trappe & Janos	1	0
<i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe	7	0
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & N.C. Schenck	30	0
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	1	0
<i>Acaulospora spinosa</i> C. Walker & Trappe	1	0
<i>Acaulospora</i> sp.2	1	0

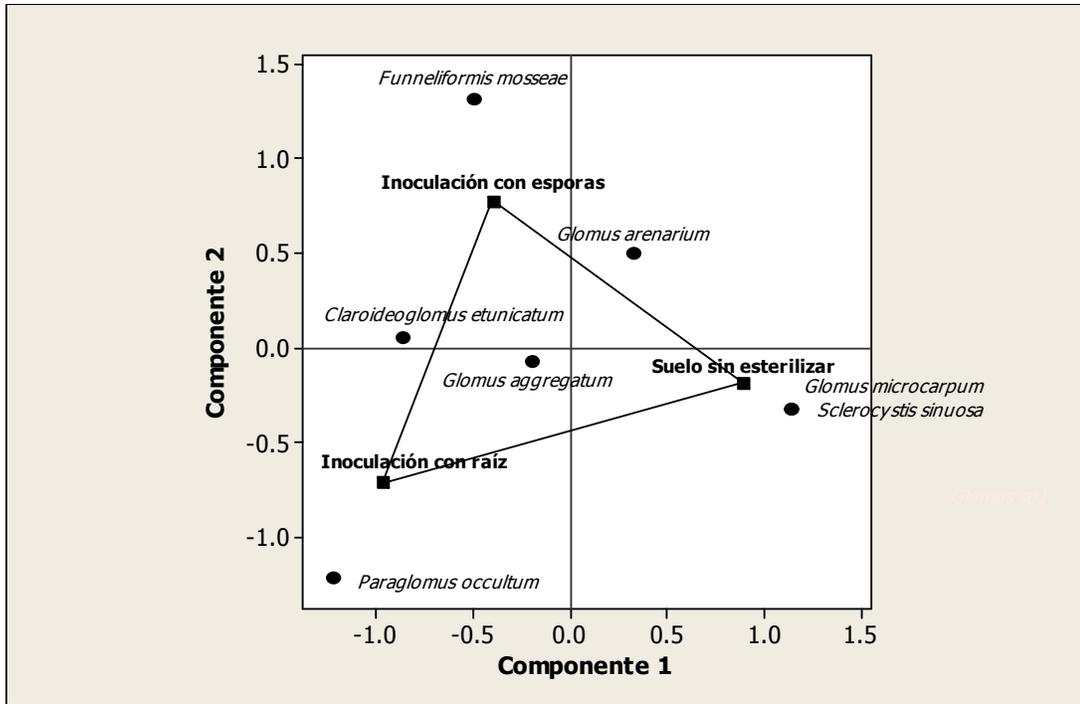


Figura 7.5. Análisis de correspondencia simple que muestra la asociación micorrícica entre los hongos micorrícicos arbusculares y *Cedrela odorata* al utilizar diferentes fuentes de inóculo procedentes de la selva mediana subperennifolia.

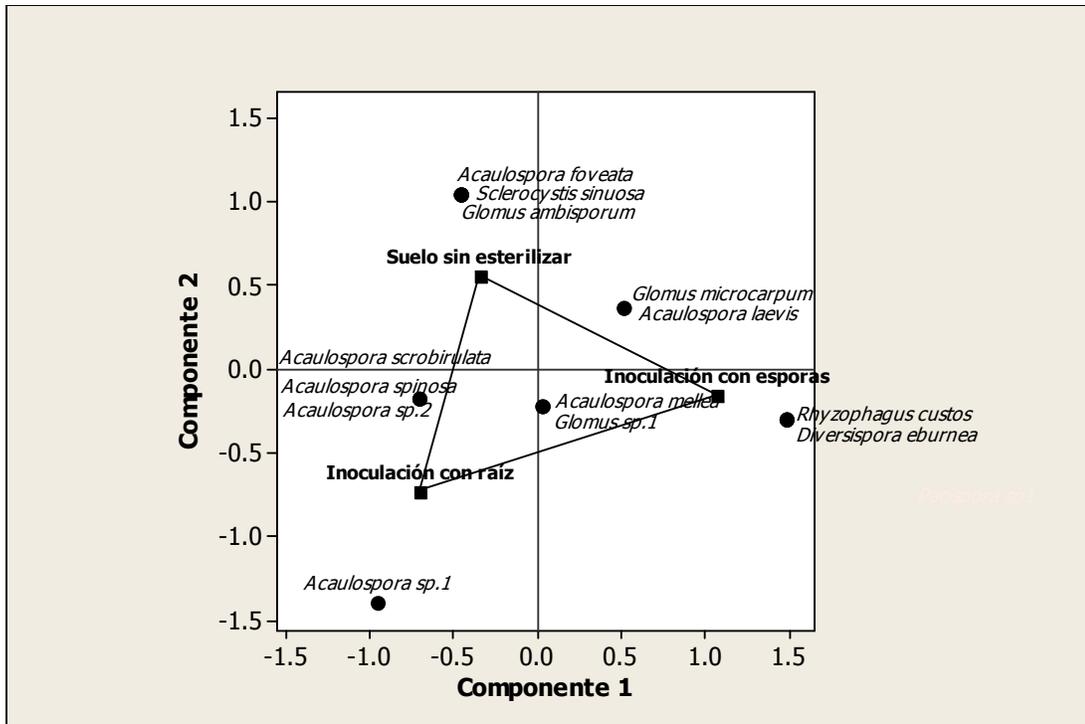


Figura 7.6. Análisis de correspondencia simple que muestra la asociación micorrícica entre los hongos micorrícicos arbusculares y *Cedrela odorata* al utilizar diferentes fuentes de inóculo procedentes de la selva alta perennifolia.

Un caso contrario se presentó al analizar el índice de diversidad propuesto por Shannon-Wiener (H'), donde el valor más alto correspondió al ecosistema de selva alta perennifolia (1.95) con respecto a la selva mediana subperennifolia (1.34). Este último ecosistema decreció un 46% en las especies con respecto a la selva alta; por ende, el máximo valor estuvo atribuido a la baja riqueza de especies.

La similitud (CC_j) mostrada en ambos ecosistemas fue del 11% debido a que comparten las especies *G. microcarpum* y *S. sinuosa*.

De las siete especies asociadas a *C. odorata* en los inoculantes provenientes de la selva mediana subperennifolia, se observa en la figura 7.5 que sólo *G. aggregatum* tuvo asociación con *C. odorata* en los diferentes tratamientos empleados (consorcio de esporas, raíz colonizada y suelo sin esterilizar). Otras especies tuvieron la capacidad de asociarse empleando dos fuentes de inóculo (*C. etunicatum* en el consorcio de esporas y en raíz colonizada; *G. arenarium* en raíz colonizada y en suelo sin esterilizar). Existen especies que se replicaron al aplicar alguna fuente de inóculo y que fueron capaces de formar micorriza (*F. mosseae* en el consorcio de esporas; *P. occultum* en raíz colonizada; *G. microcarpum* y *S. sinuosa* en suelo nativo sin esterilizar).

De las especies de HMA asociadas a *C. odorata* en los inoculantes provenientes de la selva alta perennifolia, *A. mellea* y *Glomus* sp.1 fueron las especies que se replicaron en las diferentes fuentes de inóculo. *G. microcarpum* y *A. laevis* se propagaron con el consorcio de esporas y el suelo sin esterilizar; *A. scrobiculata*, *A. spinosa* y *Acaulospora* sp.1 en raíz colonizada y suelo sin esterilización. Las especies que se propagaron en alguna fuente de inóculo fueron: (1) *Rhizophagus custos* y *D. eburnea* en el consorcio de esporas; (2) *A. excavata* en raíces colonizadas; (3) *A. foveata*, *S. sinuosa* y *G. ambisporum* en el suelo sin esterilizar (Figura 7.6).



Figura 7.7. Respuesta en crecimiento de plántulas de *Cedrela odorata* a la aplicación de inóculos nativos.



Figura 7.8. Respuesta en biomasa aérea y radicular en plántulas de *Cedrela odorata* a la aplicación de inóculos nativos.

Discusión

Los HMA forman diferentes propágulos que son usados para formar la nueva asociación micorrícica; éstos pueden ser: esporas, hifas extra-radicales y raíces infectadas por hifas, vesículas y arbusculos; sin embargo, no todos los hongos tienen la misma capacidad en formar estas asociaciones con las estructuras antes mencionadas (Klironomos y Hart, 2002).

Otra de las aplicaciones de estas fuentes de inóculo ha sido la propagación de especies micorrícicas (Bellgard, 1992). Estos propágulos, son básicos para replicar cepas nativas de alto potencial que posteriormente pueden ser utilizadas en la producción de plántulas con fines de restauración o plantación comercial.

El empleo de inóculos nativos en los bioensayos realizados con *C. odorata*, mostraron los mayores crecimientos debido a la interacción biótica (planta y micorriza) y abiótica (clima y suelo). Los tratamientos que involucran suelo nativo estéril y ausencia de fuentes de inóculo, fueron los que presentaron una menor tasa de crecimiento; por ello, se concluye que la interacción planta-micorriza-ambiente ejerce un mayor efecto sobre el crecimiento inicial de esta especie maderable.

Aún con la interacción de estos tres factores, se ha observado que las fuentes de inóculo son capaces de mostrar diferencias en la colonización. Esta diferencia ha

sido atribuida a la capacidad que tienen ciertos inóculos para lograr una oportuna colonización en un tiempo más corto. Lo anterior fue documentado por Bellgard (1992), quien consideró que los fragmentos de raíces ejercen un mayor potencial en el crecimiento inicial, más que la aplicación de esporas o fragmentos hifales.

Los resultados de esta investigación mostraron un mayor efecto en el desarrollo inicial de *C. odorata* cuando se utilizó suelo nativo no estilizado; esto es atribuido a que estos suelos han desarrollado una gran diversidad de fuentes de inóculo (esporas, vesículas, arbúsculos, hifas extra e intraradicales) en condiciones naturales y por ello se logró una rápida colonización como se mencionó anteriormente. Aún cuando los otros tratamientos involucraron esporas y raíces colonizadas directamente de sus ambientes naturales, la colonización se ejerció en un tiempo más largo; es por ello, que durante toda la evaluación se marcaron las diferencias en crecimiento entre estos tratamientos.

Los porcentajes de colonización no tuvieron relación con la respuesta en crecimiento a las diferentes fuentes de inóculo. Esto es atribuido a que la colonización comenzó a desarrollarse en las etapas tempranas de la planta y fue aumentando conforme ésta se desarrollaba. Es por esta razón, que los porcentajes observados en estos tratamientos mostraron un comportamiento muy similar entre uno y otro al final de la evaluación.

La producción de esporas por gramo de suelo no tuvo relación con los porcentajes de colonización, pero si en el crecimiento de *C. odorata*. Los resultados mostrados por Lovelock *et al.* (2003) refuerzan estas observaciones, ya que ellos concluyeron que las altas tasas de crecimiento están muy relacionadas con el volumen de esporas presentes en los suelos.

La diversidad de especies asociadas a *C. odorata* fue mayor en inoculantes provenientes de la selva alta perennifolia con respecto a la selva mediana subperennifolia; lo anterior tiene relación con los resultados obtenidos en el Capítulo VI de esta investigación. Esta situación habla más sobre el efecto que

tienen los factores ambientales y edáficos más que al efecto de la propia especie maderable para mantener esta diversidad.

Del total de especies asociadas a esta especie maderable, se marca una mayor tendencia a miembros del género *Acaulospora* en inoculantes provenientes de la selva alta perennifolia; mientras que para la selva mediana subperennifolia, esta asociación se dió más con miembros del género *Glomus*. Esto corrobora los resultados mostrados en el Capítulo VII de los análisis moleculares aplicados a raíces de esta misma especie.

La dominancia en las poblaciones micorrícicas estuvo influenciado por *A. mellea* y *Glomus* sp.1 en la selva alta perennifolia. En la selva mediana subperennifolia, esta dominancia la presentó en mayor medida *G. aggregatum*. Esta misma situación se observó en el análisis de correspondencia simple, ya que estas especies fueron capaces de asociarse a *C. odorata* en los tres tratamientos que involucraron las fuentes de inóculo. Estos resultados sugieren que estas tres especies son potenciales para la producción de plantas de esta especie maderable; sin embargo, esta afirmación podrá corroborarse una vez que se obtengan los resultados de la pruebas de efectividad biológica de estas cepas nativas.

A nivel mundial se conocen más de 200 especies de HMA. Los resultados obtenidos en este bioensayo, muestran una alta diversidad de estos hongos asociados a *C. odorata*, lo que corresponde al 7% del total de las especies conocidas. Esto puede ser alto si se considera que a nivel nacional se tienen reportadas 23,522 plantas (CONABIO, 2006) y el 80% de estas presentan asociaciones simbióticas con este tipo de hongos (Schüßler *et al.*, 2001).

Por último, se documenta que los HMA desempeñan un papel importante en la sucesión ecológica (White *et al.*, 2008); por ello, el uso de inoculantes nativos son ideales para fomentar la interacción entre estos hongos y *C. odorata*, además pueden ser utilizadas en el futuro para la producción de plántulas con fines de reforestación o plantaciones forestales comerciales en áreas deforestadas del

trópico mexicano. Esta acción puede propiciar una mejor recuperación de estas áreas y por ende una mayor adaptación como lo sugiere Allen *et al.* (2003) en sus resultados.

Conclusiones

El uso de cepas nativas de HMA procedentes de ambientes naturales, estimulan el desarrollo inicial de *C. odorata*; además, su implementación en zonas altamente degradadas puede establecer una mayor adaptación o equilibrio con respecto a cepas introducidas de otros ambientes; por ello, se recomienda el uso de éstas en la generación de paquetes tecnológicos aplicados a la producción de plántulas en vivero o invernadero.

El empleo de esporas ha sido muy utilizado en la propagación de especies micorrícicas mediante el establecimiento de cultivos trampa; por lo tanto, se recomienda el uso de estos cultivos para fomentar la proliferación de cepas nativas colectadas de ambientes naturales.

Las raíces han sido poco utilizadas como fuentes de inóculo; sin embargo, estas estructuras proporcionan una idea más clara sobre las especies micorrícicas asociadas a plantas de interés bajo condiciones naturales.

El suelo nativo de ambientes conservados, contempla una mayor cantidad de fuentes de inóculo (esporas, raíces, hifas extraradicales) que intervienen en el mantenimiento y conservación de especies forestales nativas; por ello, la perturbación de estos ambientes, puede reducir las fuentes de inóculo y por ende la funcionalidad del ecosistema. Lo anterior se puede observar en los resultados obtenidos al utilizar diferentes fuentes de inóculo, donde el mayor éxito se le atribuyó al suelo no esterilizado proveniente de ambientes conservados.

Los ecosistemas tropicales naturales albergan una alta variabilidad morfológica de especies micorrícicas, hifas extra-radicales y raíces colonizadas que sirven como propágulos para ejercer simbiosis mutualista con árboles maderables de importancia económica como *C. odorata*. Estas estructuras influyen directamente

en el ciclo natural de nutrientes; por ello, la perturbación de estos ecosistemas a causa de la deforestación, genera un desequilibrio ecológico que se refleja esencialmente en una baja productividad.

Si bien, la selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia albergan una alta diversidad de especies micorrícicas, una parte de ellas se asocian a especies forestales como *C. odorata*. El presente estudio muestra diferencias en las especies descritas de ambos ecosistemas. Las únicas especies que se asociaron a ésta especies maderable en los dos ambientes evaluados fueron *G. microcarpum* y *S. sinuosa*.

Las poblaciones de HMA y los suelos provenientes de selva mediana estimulan un mayor desarrollo inicial en *C. odorata* con respecto a aquellas de selva alta, lo cual indica una alta dependencia, especialmente en el mantenimiento de ecosistemas que aparentan tener un mayor estrés.

Es necesario propagar las especies que se asociaron durante el bioensayo y evaluar su efectividad biológica a fin de obtener cepas con alto potencial para el desarrollo inicial.

CAPÍTULO VIII

Discusión general

El agua es básica para estimular el desarrollo de especies vegetales en sus ecosistemas naturales; esto se debe a que influye en los procesos de transpiración, solubilización y movimiento de nutrientes a la planta. Las deficiencias de este componente, se ve reflejada en la alteración fotosintética, así como en la reducción de la actividad de nitratos y enzimas hidrolíticas (Munns, 2002).

Se ha documentado que los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) alivian los efectos desfavorables de la sequía (Miransari *et al.*, 2010). Esto explica la importancia que han tenido estos microorganismos en la adaptación de *Cedrela odorata* L. a las bajas precipitaciones acontecidas en la selva mediana subperennifolia. Además de las bajas precipitaciones, este ecosistema se caracteriza por presentar altos contenidos de carbonatos de calcio (CaCO_3) y bajos niveles de fósforo (P). Aún cuando se conoce la importancia de este último elemento en la nutrición vegetal, la presencia de CaCO_3 (Labide *et al.*, 2011), fierro (Fe) (Lindsay, 1995; Ksouri *et al.*, 2005), manganeso (Mn) (Lucas y Knezek, 1972) y zinc (Zn) (Saeed, 1977) hace que torne menos disponible para su asimilación. Se sabe que las plantas han generado ciertas estrategias para hacer frente a las bajas concentraciones de este elemento, entre ellas han sido la formación de síntesis de ácidos orgánicos, la secreción de ácido fosfatasas (Vance *et al.*, 2003) y la activación de fosfatos transportadores (Raghothama, 1999). La asociación con HMA es otra estrategia que han desarrollado estas plantas (Helgason and Fitter, 2005), ya que estos incrementan el volumen de suelo explorado y con ello el suministro de este elemento y de otros nutrientes poco móviles como el cobre (Cu), Fe y Zn (Kothari *et al.*, 1990).

Los suelos de la selva alta perennifolia se caracterizan por presentar altos niveles de precipitación. El estrés más evidente se debe a (1) los bajos valores de pH, (2) la deficiencia de elementos como el P y potasio (K), y (3) las grandes

concentraciones de Fe, Zn, Cu y Mn. Para contrarrestar los efectos negativos en este ecosistema, las plantas han desarrollado las mismas estrategias de adaptación mencionadas en la selva mediana subperenifolia junto con el incremento del pH en la zona rizosférica (Marschner, 1991). Aunque la absorción de P por los HMA ya ha sido comentado anteriormente, se puede agregar que estos microorganismos pueden aliviar los efectos negativos que los microelementos pueden causar a las plantas debido a sus altas concentraciones en el suelo (Cavagnaro *et al.*, 2010).

Algunas investigaciones sugieren que estos hongos son capaces de tolerar condiciones de pH adversas (Pacovski, 1986). Sin embargo, esta suposición difiere de Kucey y Diab (1984), ya que ellos consideran que algunos hongos se han adaptado a ciertos ambientes y pueden ser afectados si se introducen a otros ambientes diferentes al de su origen.

Se ha documentado que el agua es un factor importante que determina la abundancia de esporas. Los resultados en esta investigación mostraron que las poblaciones de esporas se ven influenciadas por los periodos prolongados de lluvia tanto en la selva mediana subperennifolia y selva alta perennifolia, tal y como fue documentado previamente por Saif (1987).

La colonización por hifas no se vió influenciada por las tasas de lluvia ni por las concentraciones de nutrientes de estos dos ecosistemas tal y como lo observó Cavagnaro *et al.* (2010) y Menge *et al.* (2006) en sus estudios. Lo anterior está más relacionado a la habilidad que tienen las estructuras intraradicales para mantenerse continuamente al interior de raíces de *C. odorata*, a la dependencia que puede tener esta especie maderable en todo su ciclo o a la adaptación de ciertas especies micorrícicas ante la presencia de diferentes condiciones de humedad. Aunque Yawney *et al.* (1982) y Medeiros *et al.* (1994) afirman que los pH altos pueden tener efectos negativos en la colonización micorrícica, los resultados de esta investigación muestran lo contrario a lo comentado por estos autores.

Los mayores porcentajes de colonización por las vesículas estuvieron más influenciados por los periodos secos en la selva mediana subperennifolia. Esta característica se le atribuye a la formación de estructuras de reserva de HMA con el fin de mantener la funcionalidad de éstos ante la presencia de periodos prolongados de sequía.

El agua disponible a las plantas en época de lluvia, favoreció la presencia de arbusculos en los dos ecosistemas evaluados. Esto explica el porque existe un mayor transporte de agua y nutrientes en *C. odorata* al presenciarse periodos fuertes de precipitación.

En lo que respecta a la diversidad micorrícica, se considera que la precipitación tiene un efecto positivo en la distribución y composición de especies (Allen *et al.*, 1995; Augé, 2001). Esto ha sido documentado por Lovelock *et al.* (2003), donde estos autores relacionaron la presencia de especies de *Acaulospora* en ecosistemas con periodos prolongados de lluvia. Por el contrario, Stutz y Morton (1996), Egerton-Warburton y Allen (2000), Stutz *et al.* (2000), han observado la dominancia de especies del género *Glomus* en ecosistemas con menor precipitación. Lo anterior fue observado en la selva alta perennifolia donde se presentó una mayor diversidad de especies del género *Acaulospora*, mientras que en la selva mediana subperennifolia la diversidad de especies fue mayor en miembros del género *Glomus*. Esto explica la evolución que han mostrado estas especies con las plantas locales para mantener la estabilidad y funcionalidad de estos ecosistemas tropicales. Así mismo, se observó que las altas precipitaciones acontecidas en este ecosistema, favorecieron una mayor diversidad de especies con respecto al ecosistema de selva mediana subperennifolia.

Como se mencionó anteriormente, las condiciones edafo-climáticas que prevalecen en la selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia, influyen en las poblaciones de esporas y en la colonización de *C. odorata*. Este efecto también se vió reflejado en los resultados obtenidos por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ya que estos grupos de hongos se vieron influenciados por el tipo de ecosistema. En general se observa una mayor afinidad del género

Acaulospora con la selva alta perennifolia, mientras que en la selva mediana subperennifolia esta asociación fue mayor con especies de *Glomus*, *Paraglomus* y *Scutellospora*.

Las fuentes de inóculo fueron indispensables para determinar las especies que se asociaron en condiciones naturales con *C. odorata*, ya que la PCR sólo nos indicó el grupo de hongos asociados. Con la implementación del bioensayo, se observó que las fuentes de inóculo fueron capaces de mostrar diferencias en la colonización. Esta diferencia ha sido atribuida a la capacidad que tienen ciertos inóculos para lograr una oportuna colonización en un tiempo más corto como lo consideró Bellgard (1992).

Estos resultados marcaron una tendencia similar a las del PCR, sólo que aquí la dominancia la presentaron *A. mellea* y *Glomus* sp.1 en la selva alta perennifolia, mientras que en la selva mediana subperennifolia, ésta dominancia la presentó en mayor medida *G. aggregatum*. Posiblemente, estas especies tienen un alto potencial para asociarse a *C. odorata* en condiciones naturales.

Por último, los HMA pueden ejercer una mayor recuperación de las zonas tropicales altamente degradadas tal y como lo sugieren Allen *et al.* (2003). Por ello, se recomienda el uso de inoculantes nativos para fomentar la interacción de HMA y *C. odorata*. Estos hongos pueden ser utilizados en la producción de plántulas con fines de reforestación o plantaciones forestales comerciales en áreas deforestadas del trópico mexicano.

CAPÍTULO IX

Conclusión general

La selva alta perennifolia presenta condiciones edáficas y climáticas muy diferentes con respecto a la selva mediana subperennifolia. Estas condiciones influyen en la presencia de esporas, colonización y diversidad de especies micorrícicas.

Las poblaciones de estas esporas, se ven favorecidas por periodos prolongados de lluvia en estos dos ecosistemas; por ello, los mayores valores se presentaron en la selva alta perennifolia.

En lo que respecta a la colonización micorrícica, se encontró un mayor número de arbusculos en la época lluviosa, los cuales pueden estar asociados a un mayor transporte de agua y nutrientes en los meses de mayor precipitación. La presencia de vesículas fue mayor en la época seca y se le atribuye a las condiciones de estrés acontecido en estos meses y por ende, a la formación de estructuras de reserva para estos hongos.

Tanto las esporas, como la colonización intraradical, son fuente de inóculo potencial para formar colonización en raíces recién desarrolladas o en plantas recién establecidas. Estas estructuras pueden servir para la replicación de cepas micorrícicas nativas asociadas en condiciones naturales, así como en la identificación de las mismas por caracteres genéticos o morfológicos.

Estos ecosistemas tropicales albergan una gran diversidad de especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA). En este estudio se muestra una riqueza de 38 especies, de las cuales, 26 se encontraron en la selva alta perennifolia y 20 en la selva mediana subperennifolia.

El género que más predominó en la selva alta perennifolia fue *Acaulospora*, especialmente con la especie *A. mellea*, mientras que en la selva mediana subperennifolia fue *Glomus* con la especie *G. aggregatum*.

La diversidad reportada en este estudio, amplía el listado de las especies micorrícicas conocidas en los ecosistemas tropicales, así como en el estado de Veracruz y el territorio nacional.

En lo que respecta a la selva mediana subperennifolia, éste es el primer reporte sobre la diversidad micorrícica para este tipo de ecosistema. Además, los resultados dan una idea más clara sobre la función que cumplen estos microorganismos en la adaptación de especies forestales ante algún tipo de estrés.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una herramienta que puede emplearse para determinar la asociación simbiótica entre los hongos de Glomeromycota y las raíces de *C. odorata*.

Si bien, la selva alta perennifolia y selva mediana subperennifolia albergan una alta diversidad de especies micorrícicas, una parte de ellas se asocian a especies forestales como *C. odorata*. El presente estudio muestra 13 especies asociadas a esta especie forestal en el primer ecosistema, en tanto que el segundo se asociaron sólo siete. Las únicas especies que se asociaron en los dos ambientes evaluados fueron *G. microcarpum* y *S. sinuosa*. Las especies *A. mellea* y *Glomus* sp.1 fueron las más frecuentes en la selva alta perennifolia asociadas a *C. odorata*, mientras que en la selva mediana subperennifolia, la especie más frecuente fue *G. aggregatum*. Se recomienda la replicación de estas para utilizarlas en la producción de plántulas en vivero y lograr con ellos una mejor adaptación al establecerlas en condiciones naturales.

Las esporas han sido muy utilizadas en la propagación de especies micorrícicas mediante el establecimiento de cultivos trampa; por lo tanto, se recomienda el uso de estos cultivos para fomentar la proliferación de cepas nativas colectadas de ambientes naturales.

Las raíces utilizadas como fuentes de inóculo, proporcionan una idea más clara sobre las especies micorrícicas asociadas a plantas de interés bajo condiciones

naturales. Por ello, la implementación de estas fuentes puede servir para propagar aquellas que estimulen un alto potencial de desarrollo en estos ecosistemas.

El conocimiento de la diversidad micorrícica es indispensable para entender las interacciones planta-microorganismo. La relación simbiótica es esencial para la toma de decisiones en el manejo, conservación y propagación de especies forestales en áreas con algún disturbio.

Con los resultados de esta investigación, se da respuesta a las hipótesis planteadas inicialmente. Con ellos se demostró que *C. odorata* tiene asociación simbiótica con los HMA y que las altas tasas de precipitación favorecieron una mayor diversidad de especies micorrícicas en las zonas tropicales de Veracruz.

CAPÍTULO X

Literatura citada

- Abbott, L. K., A. D. Robson y C. Gazey. 1994. Selection of inoculants vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: Norris, J. R., D. Read y A. K. Varma (eds) Techniques for mycorrhizal research. Academic, San Diego
- Aguilar, F. M., V. Jaramillo., F. L. Varela y M. E. Gavito. 2009. Short-term consequences of slash-and-burn practices on the arbuscular mycorrhizal fungi of a tropical dry forest. *Mycorrhiza* 19: 179-186.
- Aguilera, G. L., P. V. Olalde., M. R. Arriaga y A. R. Contreras. 2007. Micorrizas arbusculares. *Ciencia Ergo Sum* 14: 300-306.
- Alexander, I. J. y S. S. Lee. 2005. Mycorrhizas and ecosystem processes in tropical rain forest: implications for diversity. In: Burslem DFRP, Pinard MA, Hartley SE, eds. Biotic interactions in the tropics: their role in the maintenance of species diversity. Cambridge, UK: Cambridge University Press, p. 165-203.
- Allen, M. F., T. S. Moore y M. Christensen. 1979. Growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal and nonmycorrhizal. *Bouteloua gracilis* in a defined medium. *Mycologia* 71: 666-669.
- Allen, B. E., M. F. Allen., D. J. Helm., J. M. Trappe., R. Molina y E. Rincon. 1995. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. *Plant and Soil* 170: 47-62.
- Allen, B.E., M.F. Allen., L. Egerton-Warburton., L. Corkidi y A. Gómez-Pompa. 2003. Impacts of early- and late- seral mycorrhizae during restoration in seasonal tropical forest, Mexico. *Ecological Application* 13: 1701-1717.
- Amador, A. L. 2010. Evaluación de tres métodos de inoculación con micorriza en el desarrollo de cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) en contenedor. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico Superior de Zongolica, Ver. México. 91p.

- Ames, R. N. y R. W. Schneider. 1979. Entrophospora, a new genus in the Endogonaceae. *Mycotaxon* 8: 347-352.
- Anónimo, 2009. Guidelines for interpretation of soil analyses. Bolsa analytical. http://bolsalab.com/files/Soil_Guide.pdf.
- Augé, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Micorrhiza* 11: 3-42.
- Baath, E. y D. S. Hayman. 1983. Plant growth response to vesicular-arbuscular mycorrhiza: XIV. Interactions with *Verticillium* wilt on tomato plants. *New Phytologist* 95: 419-426.
- Bago, B., A. C. Azcón., Y. Schachar y P. E. Pfeffer. 2000. El micelio externo de la micorriza arbuscular como puente simbiótico entre la raíz y su entorno. *In*: A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (Eds.). Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. México, D.F: Mundi Prensa. pp. 78-92
- Bair, A. J. y R. L. Wilbi. 1999. Eco-Hydrology. Plants and water in terrestrial and aquatic environments. New York; Routledge Press. 402 pp.
- Becker, W. N. y J. W. Gerdemann. 1977. *Glomus etunicatus* sp. nov. *Mycotaxon* 6: 29-32.
- Bellgard, S. R. 1992. The propagules of vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi capable of initiating VAM infection after topsoil disturbance. *Mycorriza* 1: 147-152.
- Berkeley, M. J. y J. Broome. 1873. Fungi of Ceylon. *Journal of Linnaean Society* 14: 137.
- Biermann, B. y R. G. Linderman, 1983. Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum. *New Phytologist* 95: 97-105.

- Blaszkowski, J. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone*, and *Complexipes* species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland. <http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/>; última consulta 1.VII. 2011.
- Blaszkowski, J., M. Tadych y T. Madej. 2001. *Glomus arenarium*, a new species in Glomales (Zygomycetes). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 70: 97-101.
- Bonfante, P. y I. A. Anca. 2009. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. *Annual Review of Microbiology* 63: 363-383.
- Bonfante, P. y N. Requena. 2011. Dating in the dark: how roots respond to fungal signals to establish arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology* 14: 451-457.
- Bongers, F., L. Poorter y W. D. Hawthorne. 2004. The forests of Upper Guinea: Gradients in large species composition. In L. Poorter, F. Bongers, F. N'. Kouamé y W. D. Hawthorne (Eds.). *Biodiversity of West African forests. An ecological atlas of woody plant species*, pp. 41–52. CABI International, Wallingford, UK.
- Bray, R. H. y L. T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphate in soils. *Soil Science* 59: 39-45.
- Brundrett, M. C. Y. Piché y R. L. Peterson. 1984 A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Canadian Journal of Botany* 62: 2128-2134.
- Brundrett, M. C. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advance in Ecological Research* 21: 171–313.
- Brundrett, M. C., L. Melville y R. L. Peterson. 1994. *Practical Methods in Mycorrhizal Research*. Mycologue Publications, Waterloo, Canada.

- Brundrett, M., N. Bougher., B. Dell., T. Grove y N. Malajczuk. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia.
- Brundrett, M. C., L. K. Abbott y D. A. Jasper. 1999. Glomalean mycorrhizal fungi from tropical Australia. I. Comparison of the effectiveness and specificity of different isolation procedures. *Mycorrhiza* 8: 305-314.
- Bruns, T. D. y M. Gardes. 1993. Molecular tools for the identification of ectomycorrhizal fungi: taxon-specific oligonucleotide probes for the suilloid fungi. *Molecular Ecology* 2:233-242.
- Bucholtz, F. 1922. Beitrage zur Kenninis der Gattung Endogone Link Beih. Zum. *Botan. Centr. Abr.* 2: 147-225.
- Burke, I. C., C. M. Yonker., W. J. Parton., C. V. Cole., K. Flach y D. S. Schimel. 1989. Texture, climate, and cultivation effects on soil organic matter content in US grassland soils. *Soil Science Society of America Journal* 53: 800-805.
- Cano, C. y Y. Dalpé. 2009. *Glomus custos* sp. nov., isolated from a naturally heavy metal polluted environment in southern Spain. *Mycotaxon* 109: 499-512.
- Cao, K. F. 2000. Water relations and gas exchange of tropical saplings during a prolonged drought in a Bornean heath forest, with reference to root architecture. *Journal of Tropical Ecology* 16: 101-116.
- Cavagnaro, T. R., F. A. Smith., M. F. Lorimer., K. A. Haskard., S. M. Ayling y S. E. Smith. 2001. Quantitative development of *Paris*-type arbuscular mycorrhizas formed between *Asphodelus fistulosus* and *Glomus coronatum*. *New Phytologist* 149: 105-113.
- Cavagnaro, T. R., S. Dickson y F. A. Smith. 2010. Arbuscular mycorrhizas modify plant responses to soil zinc addition. *Plant Soil* 329: 307-313.
- CCMSS, 2010. Nota informativa número 29. Análisis del proyecto de presupuesto para CONAFOR en 2011. <http://www.ccmss.org.mx>.

- Chable, C. C. 2007. Inoculación Micorrízica arbuscular y uso de vermicomposta en la producción de plantas de Cedro (*Cedrela Odorata* L.) en vivero. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. San Francisco de Campeche, Campeche. México. 79 pp.
- Challenger, A. y J. Soberón. 2008. Los ecosistemas terrestres, en *Capital natural de México*, vol. I: *Conocimiento actual de la biodiversidad*. Conabio, México, p. 87-108.
- Chaudhry, M. S., S. U. Rahman., M. S. Ismaiel., G. Sarwar., B. Saeed y F. Nasim. 2009. Coexistence of arbuscular mycorrhizae and dark septate endophytic fungi in an undisturbed and a disturbed site of an arid ecosystem. *Symbiosis* 49: 19-28.
- CONABIO, 2006. Capital natural y bienestar social. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. 32 pp.
- CONABIO, 2008. Capital Natural de México. Vol II: Estado de Conservación y Tendencias de Cambio.
- CONAFOR, 2008. Programa Nacional Forestal 2007-2012.
- CONAFOR, 2010. Diagnóstico del comercio internacional forestal. Importaciones. www.conafor.gob.mx.
- Cross, A. F. y W. H. Schlesinger. 1995. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma* 64: 197-214.
- Cuenca, G. y E. Menedes. 1996. Diversity patterns of arbuscular mycorrhizal fungi associated with cacao in Venezuela. *Plant and Soil* 183: 315-322.
- Cuenca, G., A. Caceres., G. Oirdobro., Z. Hasmy y C. Urdaneta. 2007. Arbuscular mycorrhizae as an alternative for a sustainable agriculture in tropical areas. *Interciencia* 32: 23-29.

- Cusack, D. F., W. L. Silver., M. S. Torn., S. D. Burton y M. K. Firestone. 2011. Changes in microbial community characteristics and soil organic matter with nitrogen additions in two tropical forests. *Ecology* 92: 621-632.
- Daniell, T. J., R. Husband., A. H. Fitter y J. P. W. Young. 2001. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiology Ecology* 36: 203-209.
- Daniels, B. A. y H. D. Skipper. 1982. Methods of recovery and quantitative estimation of propagules from soil. Pp. 29-35. In. Methods and principles of mycorrhizal research. Ed., N. C. Schenck. *American Phytopathological Society*, St. Paul, Minnesota.
- Dever, J. D., P. A. Schultz., A. Pringle y J. B. Morton. 2001. Arbuscular Mycorrhizal Fungi: More Diverse than Meets the Eye, and the Ecological Tale of Why. *BioScience* 51: 923-931.
- Dickson, S. y P. Kolesik. 1999. Visualization of mycorrhizal fungal structures and quantification of their surface area and volume using laser scanning confocal microscopy. *Mycorrhiza* 9: 205-213.
- Dodd, J. C., C. L. Boddington., A. Rodriguez., C. G. Chavez y I. Mansur. 2000. Mycelium of Arbuscular Mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: form, function and detection. *Plant and soil* 226: 131-151.
- Egerton-Warburton, L. M. y E. B. Allen. 2000. Shifts in arbuscular mycorrhizal communities along an anthropogenic nitrogen deposition gradient. *Ecological Applications* 10: 484-496.
- Engelbrecht, M. J., L. S. Comita., R. Condit., T. A. Kursar., M. T. Tyree., B. L. Turner y S. P. Hubbell. 2007. Drought sensitivity shapes species distribution patterns in tropical forests. *Nature* 447: 80-82.

- Ezawa, T., M. Saito y T. Yoshida. 1995. Comparison of phosphatase localization in the intraradical hypha of arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus* spp. and *Gigaspora* spp. *Plant and Soil* 176: 57-63.
- Finlay, R. D. 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59: 1115-1126.
- Fitter, A.H. y J. Garbaye. 1994 Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms. *Plant and Soil* 159: 123-133.
- Furlan, V., H. Bartschii y J. A. Fortin. 1980. Media for density gradient extraction of endomycorrhizal spores. *Transaction of the British Mycological Society* 75: 336-338.
- García, G. J. M. y J. A. Ocampo. 2002. Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of Experimental Botany* 53: 1377-1386.
- Gee, G. W. y J. W. Bauder. 1986. Particle-size analysis. p. 383–411. In A. Klute (ed.) *Methods of soil analysis. Part 1.* 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
- Gemma, J. N. y R. E. Koske. 1988. Seasonal variation in spore abundance and dormancy of *Gigaspora gigantea* and in mycorrhizal inoculum potential of a dune soil. *Mycologia* 80: 211-216.
- Gerdemann, J. W. y T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transaction of the British Mycological Society* 46: 235-244.
- Gerdemann, J. W. y J. M. Trappe. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoirs* 5: 1-76.
- Gerdemann, J. W. y B. K. Bakshi. 1976. Endogonaceae of India: two new species. *Transaction of the British Mycological Society* 66: 340-343.

- Giovannetti, M. y B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- Gómez, J., M. Verdú y F. Perfectti. 2010. Ecological interactions are evolutionarily conserved across the entire tree of life. *Nature* 465: 918-921.
- Grace, C. y D. P. Stribley. 1991. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research* 95: 1160-1162.
- Guadarrama, C. P. y S. A. Álvarez. 1999. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, Mexico. *Mycorrhiza* 8: 267-270.
- Guadarrama, C. P., S. L. Camargo., C. L. Hernández y A. S. Castillo. 2007. Los hongos micorrizógenos arbusculares de la región de Nizanda, Oaxaca, México. *Boletín de la Sociedad Botánica Mexicana* 81: 131-137.
- Hall, J. B. y M. D. Swaine. 1981. Distribution and ecology of vascular plants in a tropical rain forest. Junk , The Hague , The Netherlands .
- Harrier, L. A. 2001. The arbuscular mycorrhizal symbiosis: a molecular review of the fungal dimension. *Journal of Experimental Botany* 52: 469-478.
- Helgason, T., T. J. Daniell., R. Husband., A. H. Fitter y J. P. W. Young. 1998. Ploughing up the wood-wide web? *Nature* 394: 431.
- Helgason, T. A. Fitter. 2005. The ecology and evolution of the arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologist* 19: 96-101.
- Hernández, C. L., A. S. Castillo., C. P. Guadarrama., O. Y. Martínez., R. M. Romero y G. I. Sánchez. 2003. Hongos Micorrizógenos arbusculares del Pedregal San Ángel. México DF. Las Prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 82 pp.

- Hernández-Reyes, J., A.P. Vovides, Y. Ghenos-Heredia y L. Hernández-Cuevas. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi in three species of Mexican cycad. Proceedings of Cycad: The International Conference of Cycad Biology, I. New York Botanical Garden, New York, United States.
- Hewitt, E. J. 1966. The composition of the nutrient solution. Pp 187-246. In: Hewitt, E. J. (ed). In Sand and wáter cultura methods used in the study of plant nutrition. Commonwealth Agricultural Bureau, Famham. United Kingdom.
- Holmgren, M. y L. Poorter. 2007. Does a ruderal strategy dominate the endemic flora of the West African forests?. *Journal of Biogeography* 34: 1100-1111.
- Husband, R., E. A. Herre, S. L. Turner., R. Gallery y J. M. Young. 2002a. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and patterns of host association over time and space in a tropical forest. *Molecular Ecology* 11: 2669-2678.
- Husband, R., E. A. Herre y J. P. W Young. 2002b. Temporal variation in the arbuscular mycorrhizal communities colonizing seedlings in a tropical forest. *FEMS Microbiology Ecology* 42: 131-136.
- INEGI. 2005. Conjunto de datos vectoriales de la carta de uso del suelo y vegetación: escala 1: 250 000. Serie III (continuo nacional). Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- IUCN, 2011. The IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.iucnredlist.org/>.
- Janos, D. P. y J. M. Trappe. 1982. Two new *Acaulospora* species from tropical America. *Mycotaxon* 15: 515-522.
- Jobbagy, E. G. y R. B. Jackson. 2000. The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications* 10: 423-436.
- Johnson, N. C. y D. A. Wedin. 1997. Soil carbon, nutrients, and mycorrhizae during conversion of dry tropical forest to grassland. *Ecological Applications* 7: 171-182.

- Kennedy, A.C. y K.L. Smith. 1995. Soil microbial, diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and Soil* 170: 75-86.
- Kennedy, L. J., J. C. Stutz y J. B. Morton. 1999. *Glomus eburneum* and *G. luteum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi, with emendation of *G. spurgum*. *Mycologia* 91: 1083-1093.
- Klironomos, J. N. y M. M. Hart. 2002. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza* 12: 181-184.
- Koske, R. E. y B. Tessier. 1983. A convenient, permanent slide mounting medium. *Mycological Society of America Newsletter* 34: 59.
- Koske, R. E., J. N. Gemma y P. D. Olexia. 1986. *Glomus microaggregatum*, a new species in the Endogonaceae. *Mycotaxon* 26: 125-132.
- Kothari, S. K., H. Marschner y V. Römheld. 1990. Direct and indirect effects of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on acquisition of mineral nutrients by maize (*Zea mays* L.) in a calcareous soil. *New Phytologist* 116: 637-645.
- Krings, M., T. N. Taylor., H. Hass., H. Kerp., N. Dotzler y E. J. Hermsen. 2007. Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. *New Phytologist* 174: 648-657.
- Krüger, M., H. Stockinger, C. Krüger y A. Schüßler. 2009. DNA-based species level detection of *Glomeromycota*: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 183: 212-223.
- Ksouri, R., M. Gharsalli y M. Lachaal. 2005. Physiological responses of Tunisian grapevine varieties to bicarbonate-induced iron deficiency. *J Plant Physiol* 162: 335-341.

- Kusey, R. M. N. y G. E. S. Diab. 1984. Effects of lime, phosphorus, and addition of vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal fungi of indigenous VA fungi and growth of alfalfa in a moderately acidic soil. *New Phytologist* 98: 481-486.
- Labidi, S. F. B., B. Tisserant., D. Debiane., S. Rezgui., A. Grandmougin-Ferjani y A. L. Sahraoui. 2011. Role of arbuscular mycorrhizal symbiosis in root mineral uptake under CaCO₃ stress. *Mycorrhiza* DOI: 10.1007.
- LanFranco, L., S. Peroto y P. Bonfante. 1988. Applications of PCR for studying the biodiversity of mycorrhizal fungi. *In* Applications of PCR in mycology, pp 107-124. Eds. Brigge, P., D. Arora., C. Reddy y R. Elander. CAB International.
- Lanson, D. C. y M. F. Allen. 1986. The effects of soil texture on extraction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spores from arid sites. *Mycologia* 78: 164-168.
- Lee, P-J. y R. E. Koske. 1994. *Gigaspora gigantea*: parasitism of spores by fungi and actinomycetes. *Mycological research* 98: 458-466.
- Lee, J., S. Lee y J. P. W. Young. 2008. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol. Ecol*, 65: 339-349.
- LeTacon, F., J. Garbaye y G. Carr. 1998. The use of micorrizas in temperate and tropical forest. *Simbiosis* 3: 179-206.
- Lindsay, W. L. 1995. Chemical reactions in soils that affect iron availability to plants. *In*: Abadia J (ed) Iron nutrition in soils and plants. Developments in plant and soil sciences, vol. 59. Kluwer, Dordrecht, pp 7-14.
- Lingfei, L., Y. Anna y Z. Zhiwei. 2005. Seasonality of arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes in a grassland site in southwest China. *Fems Microbiology Ecology* 54: 367-373.
- Link, H. F. 1809. Observations in ordine plantarum naturalis. *Ges Naturforsch. Freunde Berlin Mag.* 3: 3-42.

- Louis, I. y Lim, G. 1987. Spore density and root colonisation of vesicular-arbuscular mycorrhizas in tropical soil. *Transactions of the British Mycological Society* 88: 207-212.
- Lovelock, C. E., K. Andersen y J. B. Morton. 2003 Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. *Oecologia* 135: 268-279.
- Lovelock, C. E. y J. J. Ewel. 2005. Links between tree species, symbiotic fungal diversity and ecosystem functioning in simplified tropical ecosystems. *New Phytologist* 167: 219-228.
- Lucas, R. E. y B. D. Knezek. 1972. Climatic and soil conditions promoting micronutrient deficiencies in plants. *In*: Mortvedt JJ, Giordano PM, Lindsay WL (eds) Micronutrients in agriculture. *Soil Science Society of America*, Madison, pp 265-288.
- Malhi, Y. y J. Wright. 2004. Spatial patterns and recent trends in the climate of tropical rainforest regions. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 359: 311-329.
- Mangan, S. A. y G. H. Adler. 2002. Seasonal dispersal of arbuscular mycorrhizal fungi by spiny rates in a neotropical forest. *Oecologia* 131: 587-597.
- Marschener, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic, Boston, pp 889.
- Marschner, H. 1991. Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. *Plant and Soil* 134: 1-20.
- Marx, E. S., J. Hart y R. G. Stevens. 1999. Soil test interpretation guide. Oregon State University Extension Service. <http://ir.library.oregonstate.edu>; última consulta 1.XII. 2011.
- Mas, J. F., A. Velázquez., J. R. Días., R. Mayorga., C. Alcántara, R. Castro., T. Fernández., A. Pérez y G. Bocco. 2003. Assessing land use/cover changes in

- México: a wall-to-wall multirate GIS database. *Geoscience and Remote Sensing Symposium*. 5: 3359-3361.
- McGee, P. A. 1986. Mycorrhizal associations of plant species in a semiarid community. *Australian Journal of Botany* 34: 585-593.
- McGonigle, T. P., M. H. Miller., D. G. Evans., G. L. Fairchild y J. A. Swan. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495-501.
- McKenney, M. C. y D. L. Lindsey. 1987. Improved method for quantifying endomycorrhizal fungi spores from soil. *Mycologia* 79: 779-782.
- Medeiros, C. A. B., R. B. Clark y J. R. Ellis. 1994. Growth and nutrient uptake of sorghum cultivated with vesicular-arbuscular mycorrhiza isolates at varying pH. *Mycorrhiza* 4: 185-191.
- Menge, G. A., D. Steirle., D. J. Bagyaraj., E. L. V. Johnson y R. T. Leonard. 2006. Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infection. *New Phytologist* 80: 575-578.
- Merino L., J. Rodríguez., G. Ortiz y A. García. 2008. Estudio estratégico sobre el sector forestal mexicano. 215 pp.
- Merryweather, J. W y A. H. Fitter. 1991. A modified method for elucidating the structure of the fungal partner in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Mycological Research* 95: 1435-1437.
- Merryweather, J. W. y A. H. Fitter. 1998. Patterns of arbuscular mycorrhiza colonisation of the roots of *Hyacinthoides non-scripta* after disruption of soil mycelium. *Mycorrhiza* 8: 8791
- Minitab, Inc. 2007. Meet Minitab 15. Statitital Software. State Coll. Pa.
- Miransari, M. 2010. Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stresses. *Plant Biology* 12: 563-569.

- Monroy, A. A., T. J. Esteves., S. R. García y G. R. Ríos. 2007. Establecimiento de plantas mediante el uso de micorrizas y de islas de recursos en un matorral xerófilo deteriorado. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 80: 49-57.
- Moreau, F. 1953. Les Champignons. Tome II Systematique. *Encyclopedia Mycologica Lechevalier* 23: 941-2120.
- Moreira, M., D. Baretta., S. M. Tsai., S. M. Gomes-da-Costa y E. N. Cardoso. 2007. Biodiversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in *Araucaria angustifolia*. *Scientia Agricola* 64: 393-399.
- Moreno, C. E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T-Manuales y Tesis SEA, vol 1. Zaragoza, 84 pp.
- Morton, J. B. 1988. Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature, and identification. *Mycotaxon* 37: 267-324.
- Morton, J. B. y G. L. Benny. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471-491.
- Morton, J. B., S. P. Bentivenga y W. W. Wheeler. 1993. Germoplasm in the International Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) and procedures for culture development, documentation and storage. *Mycotaxon* 48: 491-528.
- Morton, J. P. y D. Redecker, 2001. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93: 181-195.
- Mostacedo, B. y T. S. Fredericksen. 1999. Regeneration status of important tropical forest tree species in Bolivia: assessment and recommendations. *Forest Ecology and Management* 124: 263-273.

- Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environment* 25: 239-250.
- Musoko, M., F. T. Last y P. A. Mason. 1994. Populations of spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in undisturbed soils of secondary deciduous moist tropical forests in Cameroon. *Forest Ecology and Management* 63: 359-377.
- Muthukumar, T. y K. Udaiyan. 2002. Seasonality of vesicular-arbuscular mycorrhizae in sedges in a semi-arid tropical grassland. *Acta Oecologica* 23: 337-347.
- Newman, E. I. 1966. A method of estimating the total length of root in a sample. *Journal of Applied Ecology* 3: 139-145.
- Nicolson, T. H. y J. W. Gerdemann. 1968. Mycorrhizal *Endogone* species. *Mycologia* 60: 313-325.
- Niembro, R. A. 1996. Producción de semillas de cedro *Cedrela odorata* L. bajo condiciones naturales en Campeche, México. INIFAP.
- Oehl, F. y E. Sieverding. 2004. *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany* 78: 72-82.
- Oehl, F., F. A. deSousa y E. Sieverding. 2008. Revision of *Scutellospora* and description of five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza-forming *Glomeromycetes*. *Mycotaxon* 106: 311-360.
- Oehl, F., E. Sieverding., J. Palenzuela., K. Ineichen y G. A. da Silva. 2011. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *Ima Fungus* 2: 191-199.
- Öpik, M., M. Moora., J. Liira., U. Kõljalg., M. Zobel y R. Sen. 2003. Divergent arbuscular mycorrhizal fungal communities colonize roots of *Pulsatilla* spp. in boreal Scots pine forest and grassland soils. *New Phytologist* 160: 581-593.

- Öpik, M., M. Moora., J. Liira y M. Zobel. 2006. Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology* 94: 778-790.
- Pacovski, R. S. 1986. Micronutrient uptake and distribution in mycorrhizal of phosphorus-fertilized soybeans. *Plant and Soil* 95: 379-388.
- Palenzuela, J., N. Ferrol., T. Boller., A.C. Azcón y F. Oehl. 2008. *Otospora bareai*, a new fungal species in the Glomeromycetes from a dolomitic shrub land in Sierra de Baza National Park (Granada, Spain). *Mycologia* 100: 296-305.
- Pennington, R. T., M. Lavin y A. Oliveira-Filho. 2009. Woody Plant Diversity, Evolution, and Ecology in the Tropics: Perspectives from Seasonally Dry Tropical Forests. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40: 437-459.
- Phillips, J. M. y D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transaction of the British Mycological Society* 55: 158-161.
- Picone, C. 2000. Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungal spores in tropical forest and pasture. *Biotropica* 32: 734-747.
- Piotrowski, J. S., T. Denich., J. N. Klironomos., J. M. Graham y M. C. Rillig. 2004. The effects of arbuscular mycorrhizas on soil aggregation depend on the interaction between plant and fungal species. *New Phytologist* 164: 365-373.
- Pirozynski, K. A. y Y. Dalpé. 1989. Geological history of the Glomaceae with particular reference to mycorrhizal symbiosis. *Symbiosis* 7: 1-36.
- Poorter, L. y L. Markesteijn. 2008. Seedling traits determine drought tolerance of tropical tree species. *Biotropica* 40: 321-331.
- Poorter, L. 2005. Resource capture and use by tropical forest tree seedlings and their consequences for competition. *In* D. F. R. P.Burslem, M. A.Pinard and S.

- E.Hartley (Eds.). *Biotic interactions in the tropics: Their role in the maintenance of species diversity*, pp. 35-64. Cambridge University Press, Cambridge , UK .
- Poorter, L., F. Bongers, F. N'. Kouamé y W. D. Hawthorne. 2004. Biodiversity of West African forests. *An ecological atlas of woody plant species*. CABI International, Wallingford , UK .
- Powers, R. F. 1999. On the sustainable productivity of planted forest. *New Forests* 17: 263-306.
- Raghothama, K. G. 1999. Phosphate acquisition. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 665-693.
- Rajapakse, S. y J. C. Miller. 1994. Methods for studying vesicular-arbuscular mycorrhiza root colonization and related root physical properties. In: D.R. Norris, D.J. Read and A.K. Verma, (eds.), *Techniques in Mycorrhizal Studies: Methods in Microbiology*. Academic Press, London.
- Redecker, D. 2000. Specific PCR primers to identify arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales) within colonized roots. *Mycorrhiza* 10: 73-80.
- Redecker, D. 2002. Molecular identification and phylogeny of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 244: 67-73.
- Rendle, B. J. 1969. *World timbers. Volume 2, North & South America*. University of Toronto Press.
- Rillig MC. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin and soil quality. *Canadian Journal of Soil Science* 84: 355-363.
- Saeed, M. 1997. Phosphate fertilization reduces zinc adsorption by calcareous soils. *Plant Soil* 48: 641-649.

- Saif, S. R. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizae in tropical forage species as influenced by season, soil texture, fertilizers, host species and ecotypes. *Angewandte Botanik* 60: 123-140.
- Saif, S. R. 1987. Growth responses of tropical forage plant species to vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Plant Soil* 97: 25-35.
- 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.
- Sanchez, D. M. y M. Honrubia. 1994. Water relations and alleviation of drought stress in mycorrhizal plants. In: Gianinazzi, S. and H. Schfflepp, eds. Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems. Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag, 167-178.
- Sanders I. R., M. Alt., K. Groppe., T. Boller y A Wiemken. 1995. Identification of Ribosomal DNA Polymorphisms among and within Spores of the Glomales - Application to Studies on the Genetic Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities. *New Phytologist* 130: 419-427.
- Schawe, M., S. Glatzel y G. Gerold. 2007. Soil development along an altitudinal transect in a Bolivian tropical montane rainforest: Podzolization vs. hydromorphy. *Catena* 69: 83-90.
- Schenck, N. C. 1982. Methods and Principles of Mycorrhizal Research. American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, USA.
- Schenck, N. C. y G. S. Smith. 1982. Additional new and unreported species of mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. *Mycologia* 74: 77-92.
- Schenck, N. C., J. L. Spain y R. H. Howeler. 1984. Several new and unreported vesiculararbuscular mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Colombia. *Mycologia* 76: 685-699.

- Schenck, N. C. y Y. Perez. 1990. Manual for the identification of VA-mycorrhizal fungi. 3rd ed., Synergistic Publication, Gainesville, U.S.A. 286 pp.
- Scheublin, T. R., K. P. Ridgway., J. P. W. Young y M. G. A. Van Der Heijden. 2004. Nonlegumes, legumes, and root nodules harbor different arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 6240-6246.
- Schüßler, A. y C. Walker 2010. The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. www.amf-phylogeny.com.
- Schüßler, A., D. Schwarzott y C. Walker. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413–1421.
- SEMARNAT, 2003. Proceso de Montreal: Aplicación de criterios e indicadores para el manejo forestal sustentable. Informe de México.
- SEMARNAT, 2010. Compendio de estadísticas ambientales 2010. Recursos forestales. www.semarnat.gob.mx
- 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/leyesyformas/; última consulta 14.IX. 2010.
- Sieverding, E. 1989. Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 29: 369-390.
- Sieverding, E. y T. S. Toro. 1998. Influence of soil water on VA Mycorrhiza V. Performance of different VAM fungal species with Cassava. *Agronomy & Crop Science* 161: 322-333.

- Simon, L., M. Lalonde y T. D. Bruns. 1992. Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular-arbuscular Endomycorrhizal fungi colonizing roots. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 291-295.
- Simpson, E. H. 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163: 688.
- Slot, M. y L. Poorter. 2007. Diversity of seedling responses to drought. *Biotropica* 39: 683-690.
- Smith, G. S. y N. C. Schenck. 1985. Two new dimorphic species in the Endogonaceae: *Glomus ambisporum* and *Glomus heterosporum*. *Mycologia* 77:566-574.
- Smith, S. E. y D. J. Read. 1997. Mycorrhizal simbiosis. 2nd edn. Academic Press. San Diego.
- Smith, S. E. y D. J. Read, 2008. Mycorrhizal simbiosis. Third edition. Academic Press. London. 800 p.
- Staddon, P. L., K. Thompson., I. Jakobsen., J. P. Grime., A. P. Askew y A. H. Fitter. 2003. Mycorrhizal fungal abundance as affected by long-term climatic manipulations in the field. *Global Change Biology* 9: 186-194.
- Steel, R.G.D. y J.H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics. Second edition. McGraw-Hill Inc. 633 p.
- Stutz, J. C. y J. B. Morton. 1996. Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular mycorrhizal fungi in arid ecosystems. *Canadian Journal of Botany* 74: 1883-1889.
- Stutz, J. C., R. Copeman., C. A. Martin y J. B. Morton. 2000. Patterns of species composition and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in arid regions of southwestern North America and Namibia, Africa. *Canadian Journal of Botany* 78: 237-245.

- Sutton, J. C. y G. L. Barron. 1972. Population dynamics of Endogone spores in soil. *Canadian Journal of Botany* 50: 1909-1914.
- ter Steege, H., N. C. A. Pitman., O. L. Phillips., J. Chave., D. Sabatier., A. Duque., J. F. Molino., M. F. Prevoost., R. Spichiger., H. Castellanos., P. Von Hildebrand y R. Vasquez. 2006. Continental-scale patterns of canopy tree composition and function across Amazonia. *Nature* 443: 444-447.
- Thaxter, R. 1922. A revision of the Endogonaceae. *Proceedings American Academy of Arts and Sciences* 57: 291-351.
- Tiessen, H., E. Cuevas y P. Chacon. 1994. The role of soil organic matter in sustaining soil fertility. *Nature* 371: 783-785.
- Tommerup, I. C. 1982. Airstream fractionation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: concentration and enumeration of propagules. *Applied and Environmental Microbiology* 44: 533-539.
- Trappe, J. W. 1977. Three new Endogonaceae: *Glomus constrictus*, *Sclerocystis clavispora*, and *Acaulospora scrobiculata*. *Mycotaxon* 6: 359-366.
- Tulasne, L. R. y C. Tulasne. 1845. Fungi nonnulli hipogaei, novi v. minus cognito act. *Giornale Botanico Italiano* 2: 55-63.
- Udaiyan, K., A. Karthikeyan y T. Muthukumar. 1996. Influence of edaphic and climatic factors on dynamics of root colonization and spore density of vesicular-arbuscular fungi in *Acacia farnesiana* Willd. and *A. planifrons* W. et A. *Trees Structure and Function* 11: 65-71.
- Utobo, E. B., E. N. Ogbodo y A. C. Nwogbaga. 2011. Techniques for Extraction and Quantification of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Libyan Agriculture Research Center Journal Internation* 2: 68-78.
- V informe de gobierno, 2011. Desarrollo sustentable. Aprovechamiento sustentable de los recursos naturales. p 555-599.

- Vance, C. P., C. U. Stone y D. L. Allan. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a non-renewable resource. *New Phytologist* 157: 423-447.
- Varela, F. L. y D. Trejo. 2001. Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. *Acta Zoológica Mexicana* 1: 39-51.
- Varela, F. L., T. A. Estrada., S. F. Álvarez y G. I. Sánchez. 2008. Catálogo ilustrado de hongos micorrizógenos arbusculares de la Reserva de la Biósfera de Los Tuxtlas. 1a ed. digital. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México, D.F.
- Varela, F. L., C. L. Hernández y R. A. Franco. 2011. Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en México. *En* Álvarez J., L. Cuevas y R. A. Franco. Biodiversidad microbiana de México. En Proceso.
- Veenendaal, E. M., M. D. Swaine., V. K. Agyeman., I. K. Abebrese y C. E. Mullins. 1996. Differences in plant and soil water relations in and around a forest gap in West Africa may influence seedling establishment and survival. *Journal of Ecology* 84: 83-90.
- Vierheilig H., A. P. Coughlan., U. Wyss y Y. Piché. 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 5004–5007.
- Vilariño, A. y J. Arines. 1990. An instrumental modification of Gerdemann and Nicolson's method for extracting VAM fungal spores from soil samples. *Plant and Soil* 121: 211-215.
- Violi, H. A., A. F., Barrientos-Priego., S. F. Wright., P. E. Escamilla, J. B. Morton., J.A. Menge y C. J. Lovatt. 2008. Disturbance changes arbuscular mycorrhizal fungal phenology and soil glomalin concentrations but not fungal spore

- composition in montane rainforest in Veracruz and Chiapas, Mexico. *Forest Ecology and Management* 254: 276-290.
- Vitousek, P. M y R. L. Sanford. 1986. Nutrient cycling in moist tropical forest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 137-167.
- Walker, C. y J. M. Trappe. 1981. *Acaulospora spinosa* sp. nov. with a key to the species of *Acaulospora*. *Mycotaxon* 12: 515-521.
- Walker, C. 1982. Species in the Endogonaceae: a new species (*Glomus occultum*) and a new combination (*Glomus geosporum*). *Mycotaxon* 15: 49-61.
- Walker C. 1983. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: spore wall characteristics in species descriptions. *Mycotaxon* 18: 443-455.
- Walker, C. y F. E. Sanders. 1986. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: III. The separation of *Scutellospora* gen. nov. from, *Gigaspora* Gerd. & Trappe. *Mycotaxon* 27: 169-182.
- Walker, C. y A. Schüßler. 2004. Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota. *Mycological Research* 108: 979-982.
- Walker, C., M. Vestberg., F. Demircik., H. Stockinger., M. Saito., H. Sawaki., I. Nishimura y A. Schüßler. 2007. Molecular phylogeny and new taxa in the Archaeosporales (Glomeromycota): *Ambispora fennica* gen. sp. nov., Ambisporaceae fam. nov., and emendation of *Archaeospora* and Archaeosporaceae. *Mycological Research* 111: 137-13.
- Walsh, R. P. D. 1996. Climate. In P. W. Richards. *The tropical rain forest: An ecological study*, pp. 159–205. 2nd edition. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Wardle, D. A. 1998. Control of temporal variability of the soil microbial biomass: a global scale synthesis. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 1627-1637.

- White, J.A., J. Tallaksen y I. Charvat. 2008. The effects of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation at a roadside prairie restoration site. *Mycologia* 100: 6-11.
- Woerner, P. M. 1989. Métodos químicos para el análisis de suelos calizos de zonas áridas y semiáridas. Facultad de Ciencias Forestales. UANL., Linares, N. L. México.
- Wright, S. J. 2002. Plant diversity in tropical forests: a review of mechanisms of species coexistence. *Oecologia* 130: 1-14.
- Yawney, W. J., R. C. Schultz y P. P. Kormanik. 1982 Soil phosphorus and pH influence the growth of mycorrhizal sweetgum. *Journal-Soil Science Society of America* 46: 1315-1320.
- Yuan, Y. S., S. Xin y D. G. Liang. 2011. Seasonality and host preference of arbuscular mycorrhizal fungi of five plant species in the inner Mongolia steppe, China. *Brazilian Journal of Microbiology* 42: 57-65.
- Zangaro, W., V. L. Bononi y S. B. Truffen. 2000. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 16: 603-622.
- Zuleta, R., M. Alejandro., T. Escalona y L. Lara. 2000. Respuesta de dos especies forestales tropicales a la inoculación micorrízica. En: Ecología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Alarcón y Ferrera-Cerrato (Eds.) IRENAT-Colegio de posgraduados. Mundiprensa, México. pp: 184-193.

CAPÍTULO XI

Anexos

Anexo 1. Simbología utilizada.

Nombre	Símbolo
Minuto*	min
Segundo*	s
Litro*	L
Mililitro*	mL
Microlitro*	µL
Milímetro*	mm
Micrómetro*	µm
Gramo*	g
Miligramo*	mg
Hectárea	ha
Metro*	m
Centímetro*	cm
Kilómetro cuadrado*	km ²
Revoluciones por minuto**	rpm
Partes por millón**	ppm
Volt*	V
Grados Celsius*	°C
Libras	lb
Pares de bases**	pb
microSiemens*	µs
Porcentaje**	%
Milimolar	mM
Picomolar	pmol

*Unidades de medición del Sistema Internacional de Unidades (SI) y se expresan de conformidad con la Norma Oficial Mexicana (NOM-008-scfi-2002).

**Unidades de medición no incluidas en la Norma Oficial Mexicana, pero sus siglas corresponden a las denotadas en el escrito.

Anexo 2. Preparación de sacarosa (50% + Tween 80).

Solución	Cantidad
Sacarosa	500 g
Tween 80	20 g
Agua destilada	500 mL

Mezclar perfectamente las soluciones anteriores hasta lograr disolver completamente el azúcar.

Nota. Puedes sustituir Tween 80 por Tween 20, usando 21.4 g de Tween 20.

Anexo 3. Preparación de la solución Ringer.

Solución	Cantidad
*NaCl	0.1 g
KCl	0.1 g
CaCl ₂	0.1 g
MgCl ₂	0.1 g
pH	7.4
Agua destilada	

Mezclar los reactivos anteriores con el agua destilada y aforar a 1000 mL.

*Puede omitirse.

Anexo 4. Preparación de la solución Alcohol-Formaldehido-Ácido acético.

Solución	Cantidad
Alcohol al 50%	900 mL
Formaldehido	50 mL
Ácido acético	50 mL

Mezclar perfectamente para homogeneizar la solución.

Anexo 5. Preparación de la solución de Azul de tripano (0.05% en lactoglicerol).

Solución	Cantidad
Ácido láctico al 85%	500 mL
Glicerol	500 mL
Agua destilada	500 mL
Azul de tripano	0.75 g

Mezclar perfectamente la solución y procurar usar guantes por la reacción cancerígena del azul de tripano.

Anexo 6. Preparación de la solución Hong Ashton

Solución	Cantidad Stock (g/L)	Cantidad de mL por litro de solución
KNO ₃	80.8	5.0
MgSO ₄	73.6	5.0
Ca(NO ₃).4H ₂ O	188.6	5.0
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	36.8	2.68 (para 22 ppm) y 5.36 (para 44ppm).
*Elementos traza		1.0
**Solución de citratos		5.0

Se sugiere preparar primero las soluciones stock y de ahí tomar los mililitros requeridos en función a los litros de solución que se desea aplicar.

*Stock elementos traza.

Reactivo	Cantidad
MnSO ₄ .H ₂ O	1.69
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.25
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.29
H ₃ Bo ₃	3.10
NaCl	5.90
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.088
H ₂ O	1000 mL

Mezclar perfectamente los elementos traza en el agua destilada.

**Stock solución de citrato.

Reactivo	Cantidad
FeC ₆ H ₅ O ₇ citrato férrico	4.98
H ₃ C ₆ H ₅ O ₇ . H ₂ O citrato ácido	4.98

Preparar por separado los dos citratos en volúmenes iguales (50% y 50% c/u) una vez disueltas cada mezcla. Para disolver el citrato férrico moler en mortero y usar agua caliente o poner en autoclave 15lb/15 min.

Todas las soluciones deben mantenerse en frasco ámbar y en refrigeración (4 °C)

Anexo 7. Preparación de medios de montaje.

Polivinil lactoglicerol (PVLG)

Solución	Cantidad
Agua destilada	100 mL
Ácido láctico	100 mL
Glicerol	10 mL
Polivinil alcohol	16.6 g

Melzer

Solución	Cantidad
Hidrato de cloral	100 g
Agua destilada	100 mL
Yodo	1.5 g
Yoduro de potasio	5 g

Mezclar perfectamente y vaciar a los goteros.

Anexo 8. Preparación de gel de agarosa 1%.

Solución	Cantidad
Agarosa	1 g
TAE 1X	100
Bromuro de etidio 10 mg/mL	2 μ L

Nota: El bromuro de etidio es sumamente tóxico, por ello debe manejarse con guantes.

Anexo 9. Preparación de TBE 5X

Solución	Cantidad
EDTA 0.5M pH8	20 mL
Agua destilada	100 mL
Ácido bórico	27.5 g
Tris base	54 g

Nota: Todo esto se afora en un litro de agua. Si se desea una concentración a 0.5X, hacer una mezcla 90% de agua y 10% de esta solución.

Anexo 10. Preparación de buffer de carga.

Solución	Cantidad
Azul de Bromofenol	25 mg
Glicerol	30 mL

Nota: Aforar a 10 mL con dH₂O

Anexo 11. Mezcla de la primera amplificación del PCR

Solución	Cantidad (1 reacción)
Buffer para PCR 10X	1.0 µL (10X)
dNTPs	1.0 µL (2 mM)
MgCl ₂	0.4 µL (50 mM)
NS5	0.5 µL (20 pmol)
ITS4	0.5 µL (20 pmol)
Taq Pol	0.1 µL
H ₂ O	6.0 µL
DNA	0.5 µL

Nota: El número de reacciones está en función al número de muestras colectadas en campo.

Anexo 12. Mezcla de la segunda amplificación del PCR para *Glomus* grupo A y Gigasporaceae

Solución	Cantidad (1 reacción)
Buffer para PCR 10X	1.0 µL (10X)
dNTPs	1.0 µL (2 mM)
MgCl ₂	0.4 µL (50 mM)
GLOM5.8	0.5 µL
GIGA5.8	0.5 µL
ITS1F	0.5 µL
Taq Pol	0.1 µL
H ₂ O	6.0 µL
DNA	0.5 µL

Nota: El número de reacciones está en función al número de muestras con éxito de la primera reacción

Anexo 13. Mezcla de la segunda amplificación del PCR para Archeosporaceae, Acaulosporaceae y Glomus grupo B

Solución	Cantidad (1 reacción)
Buffer para PCR 10X	1.0 µL (10X)
dNTPs	1.0 µL (2 mM)
MgCl ₂	0.4 µL (50 mM)
ARCH	0.5 µL
ACAU	0.5 µL
LETC	0.5 µL
ITS4	0.5 µL
Taq Pol	0.1 µL
H ₂ O	6.0 µL
DNA	0.5 µL

Nota: El número de reacciones está en función al número de muestras con éxito de la primera reacción

Anexo 14. Mezcla de la segunda amplificación del PCR para grupos universales de hongos

Solución	Cantidad (1 reacción)
Buffer para PCR 10X	1.0 µL (10X)
dNTPs	1.0 µL (2 mM)
MgCl ₂	0.4 µL (50 mM)
ITS1	0.5 µL
ITS4	0.5 µL
Taq Pol	0.1 µL
H ₂ O	6.0 µL
DNA	0.5 µL

Nota: El número de reacciones está en función al número de muestras con éxito de la primera reacción

Anexo 15. Clave de identificación de hongos micorrícicos arbusculares asociados a *Cedrela odorata* L.

1A.- Esporas glomoides.....	2
1B.- Esporas acaulosporoides.....	14
1C.- Esporas entrofosporoides.....	17
1D.- Esporas gigasporoides.....	18
2A.- Esporas con dos paredes (una externa y una de germinación interna flexible)	3
2B.- Esporas con una pared.....	4
3A.- Esporas anaranjadas a amarillas, de 132-150 μm , de superficie lisa.....	<i>Pacispora robigina</i>
3B.- Esporas hialinas o blancas, de 70-1150 μm , con verrugas en la capa uno de la pared de la espora.....	<i>Pacispora scintillans</i>
4A.- Las capa interna es semiflexible y separada de la capa anterior, la cual parece formar una endospora.....	5
4B.- Las capas en la pared de la espora están fuertemente unidas.....	6
5A.- Esporas de color amarillo claro a café amarillentas, de 80-20 μm , de superficie lisa.....	<i>Caroideoglomus etunicatum</i>
6A.- Esporas solitarias en el suelo.....	7
6B.- Esporas desarrolladas en esporocarpos.....	10
7A.- La hifa de sostén a menudo en forma de embudo.....	8
7B.- La hifa de sostén es recta o curva.....	9
8A.- Esporas rojizas a café oscuras, de 120-190 μm , de superficie lisa, la hifa de sosten se contrae en la base de la espora.....	<i>Funneliformis constrictum</i>

- 8B.- Esporas amarillas, de 100-220 μm , de superficie lisa.....***Funneliformis mosseae***
- 8C.- Esporas de color marfil a ocre natural, de 80-120 μm , con tres capas.....***Diversispora celata***
- 9A.- Esporas hialinas a subhialinas, de 60-100 μm , de superficie lisa, con tres capas, con desechos orgánicos del suelo en la capa uno.....***Paraglomus occultum***
- 9B.- Esporas anaranjadas a ocre, de 90-140 μm , de superficie lisa, con tres capas, la hifa suspensora es estrecha y hialina.....***Glomus arenarium***
- 9C.- Esporas de color miel a café, de 110-150 μm , de superficie lisa, con tres capas, con presencia de esporas terminales en el ápice de las esporas maduras.....***Glomus hyderabadensis***
- 9D.- Esporas hialinas a café claro, de 20-40 μm , con dos capas, frecuentemente se agrupan al interior de esporas muertas.....***Glomus microaggregatum***
- 9E.- Esporas amarillo claro, de 100-130 μm , con dos capas, la capa externa presenta desechos granulares del suelo.....***Diversispora eburnea***
- 9F.- Esporas hialinas a amarillo claro, de 80-110 μm , con tres capas, la capa interna es más gruesa.....***Diversispora spurca***
- 10A.- Esporas se desarrollan extraradicalmente e intraradicalmente.....11
- 10B.- Esporas se desarrollan sólo extraradicalmente.....12
- 10C.- Las esporas se desarrollan a través de un plexo central de hifas.....13
- 11A.- Esporas hialinas a amarillo pálido, de 90-150 μm , de superficie lisa, con tres capas en su pared, la capa media es de 2.5-10 μm de gruesa.....***Rhizophagus clarus***

- 11B.- Esporas comúnmente irregulares, hialinas a amarillo pálido, de 90-130 μm , de superficie lisa, con cuatro capas en su pared.....***Rhizophagus custos***
- 11C.- Esporas amarillas, de 50-130 μm , de superficie lisa, con tres capas en su pared, la capa media es de 2.0-16 μm***Rhizophagus fasciculatus***
- 12A.- Esporas amarillas a café amarillentas, de 60-140 μm , de superficie lisa, forma esporas de proliferación interna.....***Glomus aggregatum***
- 12B.- Esporas de color café a negras, de 85-157 μm , con superficie reticulada en la capa uno, con hifa suspensora hialina a subhialina.....***Glomus ambisporum***
- 12C.- Esporas anaranjadas, de 38-52 μm , con superficie lisa, con dos capas, la capa externa reacciona en Melzer.....***Glomus aureum***
- 12D.- Esporas de color café, de 95-152 x 149-230 μm , de superficie lisa, con dos capas, usualmente contraída en la parte media de la espora.***Glomus flavisporum***
- 12E.- Esporas amarillas a café, de 110-130 μm , de superficie lisa, con dos capas.....***Glomus macrocarpum***
- 12F.- Esporas amarillas a café claro, de 25-50 μm , de superficie lisa, con dos capas.....***Glomus microcarpum***
- 12G.- Esporas subhialinas, de 60-120 μm , con dos capas, la capa uno presenta desechos granulares del suelo.....***Glomus viscosum***
- 13A.- Esporas de color café a amarillas, de 40-70 μm , globosas a subglobosas, de superficie lisa, con dos capas en su pared, esporocarpo con 3 a 18 esporas.....***Sclerocystis rubiformis***
- 13B.- Esporocarpos con superficie sinuosa, esporas de color café, usualmente claviformes, de 28-95 μm de largas.....***Sclerocystis sinuosa***
- 13C.- Esporocarpos con superficie lisa, esporas de color café, claviformes, de 40-105 μm de largas, la capa se engruesa en la punta de la espora.....***Sclerocystis taiwanensis***

- 14A.- Esporas lisas.....15
- 14B.- Esporas ornamentadas.....16
- 15A.- Esporas de color café, de 140-220 μm ; la segunda pared de germinación no reacciona con el reactivo de Melzer.....***Acaulospora laevis***
- 15B.- Esporas de color café claro, de 40-140 μm ; la capa dos de la pared de germinación más interna reacciona de color púrpura con el reactivo de Melzer.....***Acaulospora mellea***
- 15C.- Esporas subhialinas a amarillo claro, de 60-100 μm ; la capa dos de la pared de germinación más interna es muy gruesa (5-15 μm) y reacciona de color púrpura con el reactivo de Melzer.....***Acaulospora morrowiae***
- 15D.- Esporas subhialinas a amarillo pálido, de 80-100 μm ; la capa uno de la pared de la espóra forma pliegues que aparenta ser rugosa; la capa dos de la pared de reacciona de color púrpura con el reactivo de Melzer***Acaulospora rugosa***
- 16A.- Esporas ocre o anarajandas, de 120-175 μm ; la capa dos de la pared externa presenta depresiones circulares o semicirculares, de 5-12 μm de ancho.....***Acaulospora excavata***
- 16B.- Esporas rojas a café oscuras, de 270-350 μm ; la capa dos de la pared externa presenta depresiones circulares u ovoides, de 8-12 μm de ancho.....***Acaulospora foveata***
- 16C.- Esporas amarillas a rojas, de 85-140 μm ; la capa dos de la pared externa presenta agujeros irregulares de 0.5-3.0 μm de ancho.....***Acaulospora lacunosa***
- 16D.- Esporas amarillo claro, de 100-150 μm ; la capa dos de la pared externa presenta pliegues laberintiformes de 1.0-3.5 μm de ancho.....***Acaulospora rehmii***

16E.- Esporas amarillo claro, de 100-130 μm ; la capa dos de la pared externa presenta agujeros circulares, elipsoides, oblongos y triangulares, de 1.0-3.5 μm de ancho.....***Acaulospora scrobiculata***

16F.- Esporas de color café claro, de 140-20 μm ; la capa dos de la pared externa presenta espinas redondas muy finas de 0.6-8.0 μm de ancho.....***Acaulospora spinosa***

17A.- Esporas amarillas a rojas, de 100-170 μm , la capa tres de la pared externa presenta excrescencias en forma dentada de 1.0-3.0 μm de ancho.....***Entrophospora infrequens***

18A.- Esporas hialinas a amarillo claro, de 140-230 μm , la pared externa y la segunda de germinación interna reaccionan de un color púrpura con el reactivo de Melzer.....***Scutellospora pellucida***

Anexo 16. Descripción de especies micorrícicas.

***Acaulospora* Gerd. & Trappe emend. S.M. Berch**

Las especies del género *Acaulospora* forman esporas acualosporoides, la cuales se desarrollan lateralmente al cuello de un saco esporífero (Morton 2000; Morton y Benny 1990). Las esporas son sésiles, no pediceladas (presentan una corta ramificación al cuello del saco esporífero).

La estructura subcelular de la espora consta de una pared que cubre la espora y dos paredes de germinación interna. La pared externa presenta una capa que es continua con la pared de la hifa del saco esporífero (Sw1); conforme se desarrolla la espora, una segunda capa laminada se diferencia y en muchas especies es de color y ornamentada (Sw2); comúnmente las especies de este género diferencian una tercera capa (Sw3) que es difícil de observar en algunos taxa.

La primera pared de germinación presenta una o dos capas (Gw1L1 y Gw1L2), mientras que la segunda presenta una, dos y hasta tres capas (Gw2L1, Gw2L2 y Gw2L3). En la mayoría de la especies, la capa externa de la segunda pared de

germinación es ornamentada (con excrecencias granulares). En pocas especies puede ser ornamentada, con protuberancias o en algunos casos lisa. La segunda o tercera capa de esta pared usualmente se tiñe intensamente en Melzer y raramente se tiñe débilmente o no reacciona con este reactivo.

Después que las paredes internas se han desarrollado completamente, un “plato de germinación” se sintetiza entre las dos paredes de germinación. Estos platos germinan por medio de un tubo germinativo (Blaszkowski, 1994), el cual traspasa la pared de la espora.

Revisión bibliográfica

Blaszkowski, J. 1994. Polish Glomales 10. *Acaulospora dilatata* and *Scutellospora dipurpurascens*. *Mycorrhiza* 4: 173-182.

Morton, J. B. 2000. International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. West Virginia University.

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

***Acaulospora excavata* Ingleby & C. Walker**

Las esporas son de color ocre pálido, ocre natural o anaranjadas; globosas a subglobosas (Figura 11.1A y 11.1B); de 1120-175 µm.

De acuerdo a Ingleby *et al.* (1994), esta especie presenta sólo una capa; sin embargo, en estas esporas se muestran tres capas (Sw1-3; Figura 11.1E y 11.1F). La capa uno es muscilaginosa <1.0 µm de gruesa. La capa dos es ornamentada de 6-12 µm de gruesa; con agujeros circulares a semicirculares, de 5-12 en diámetro y de 2.5 µm de profundidad (Figura 11.11C y 11.1D). La capa tres es hialina, semiflexible, <1.0 µm de gruesa.

La primera pared de germinación está compuesta por dos capas (Gw1L1+2; Figura 11.1F), ambas son hialinas, fuertemente adheridas y de 0.5-1.0 μm de gruesa, no reaccionan en Melzer.

La segunda pared de germinación consta de tres capas (Gw2L1-3; Figura 11.1E y 11.1F). La capa uno presenta excresiones granulares, <1.0 μm de gruesa. La capa dos es plástica, de 2.0-4.0 μm de gruesa la cual reacciona en Melzer de un color rosa o púrpura. La capa tres es difícil de observar, <1.0 μm de gruesa.

Saco esporífero no encontrado, pero Ingleby *et al.* (2004) menciona que presenta una unión con la espora de 9-19 μm de diámetro; el grosor de pared es de 1.0-2.0 μm .

Presenta una cicatriz de 15 μm de diámetro, la cual está rodeada de pequeños agujeros.

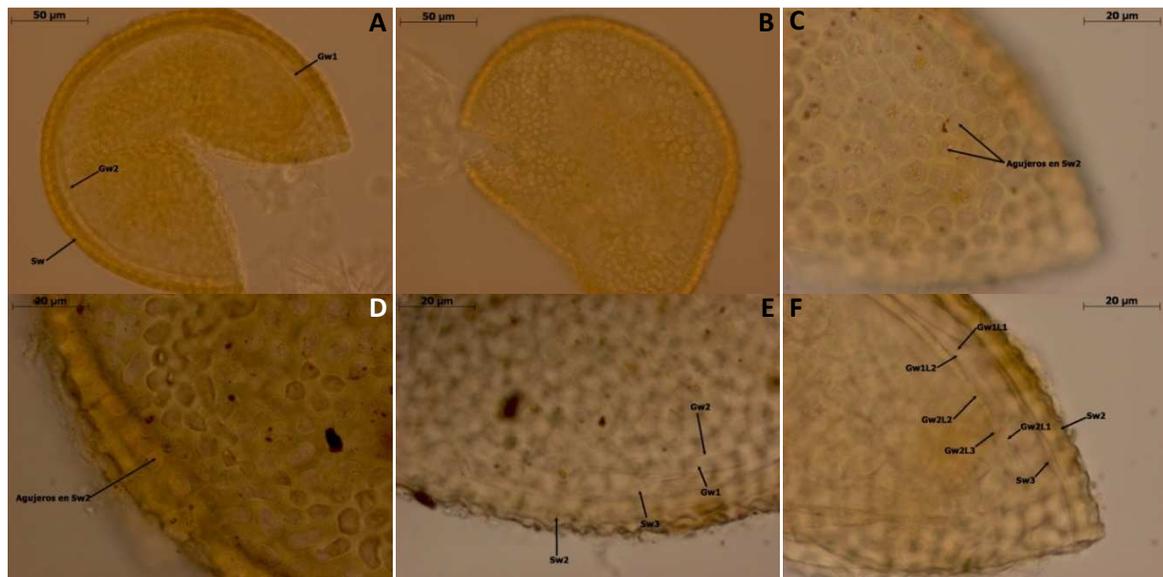


Figura 11.1. Características morfológicas de las esporas de *Acaulospora foveata*.

Revisión de literatura

Ingleby, K., C. Walker y P. A. Mason. 1994. *Acaulospora excavata* sp. nov. -an endomycorrhizal fungus from Cote D'Ivoire. *Mycotaxon* 50: 99-105.

***Acaulospora foveata* Trappe & Janos**

Las esporas son de color rojo anaranjado a café rojizas, globosas a subglobosas y algunas veces irregulares, de 270 a 350 μm de diámetro.

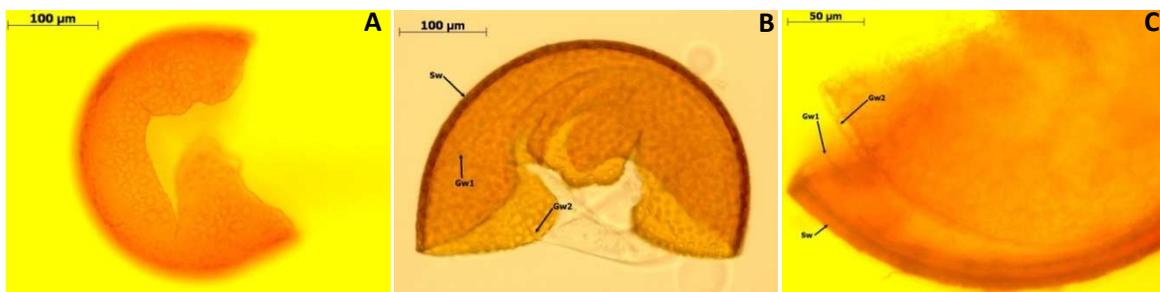
La pared externa (Figura 11.2B y 11.2C) de la espora está integrada por tres capas (Sw1-3). La capa uno es hialina, de 2.0-2.5 μm de gruesa, se degrada o colapsa en esporas maduras. La capa dos de 9-15 μm de gruesa en la madurez, forma ondulaciones profundas tipo cóncavas (con agujeros); éstas son circulares u ovoides y algunas veces irregulares, de 8-12 μm y de 0.5-3.0 μm de hondo en la madurez (Figura 11.2D, 11.2E y 11.2F).

La primera pared de germinación (Gw1; Figura 11.2B y 11.2C) está compuesta por dos capas hialinas fuertemente adheridas; ambas son del mismo grosor (<1.0 μm).

La segunda pared de germinación (Gw2; Figura 11.2B y 11.2C) consta de dos capas hialinas adheridas (5.0-8.0 μm). La capa uno presenta excreciones granulares. La capa dos es hialina y algunas veces plástica, de 2.0-4.0 μm , tornándose a un color rojo, rosado o rojo púrpura con el reactivo de Melzer.

De acuerdo a Morton (2002), el saco esporífero es blanco a cremoso cuando es inmaduro, hialino cuando vacía el contenido; globoso a sub-globoso; de 260-320 μm de diámetro; la pared del saco es simple y hialina con finas sub-capas. Al interior aparecen algunas escamas de 3.5-4.0 μm de ancho. La pared del cuello es hialina y mide 1.8-2.2 μm de ancho.

La espora presenta una cicatriz ovoide a circular una vez colapsado el saco esporífero (Figura 11.2E).



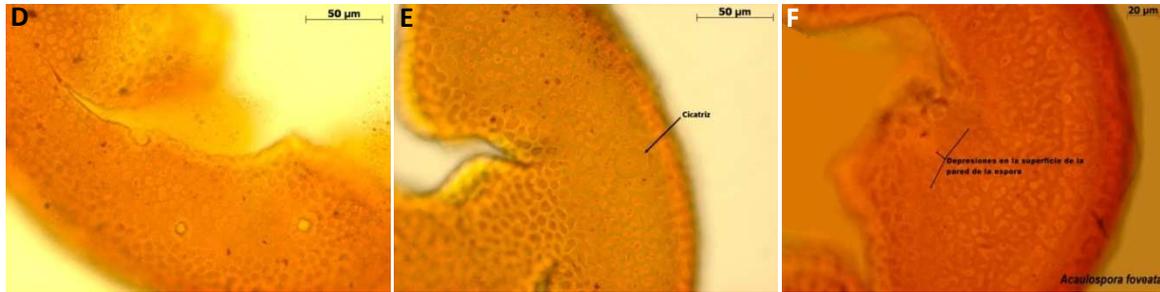


Figura 11.2. Características morfológicas de las esporas de *Acaulospora foveata*.

Revisión de literatura

Janos, D. P. y J. M. Trappe. 1982. Two new *Acaulospora* species from tropical America. *Mycotaxon* 15: 515-522.

Morton, J. B. 2002. International cultura collection of arbuscular and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. West Virginia University. <http://invam.caf.wvu.edu/>.

***Acaulospora lacunosa* J. B. Morton**

Presenta esporas amarillas a rojas, globosas a subglobosas; de 90-120 µm de diámetro.

La pared externa de la espóra (Sw; Figura 11.3), está integrada por dos capas. La capa uno es evanescente, hialina, <1.0 µm de gruesa, usualmente se desprende completamente al madurar la espóra. La capa dos es laminada, amarilla a rojiza, de 2.0-5.0 µm de gruesa, con ornamentaciones redondas, la mayoría frecuentemente en forma irregular y distribuidas irregularmente (Figura 11.3), los agujeros de estas ornamentaciones son de 0.5-3.0 µm cuando son vistas en forma plana.

La primera pared de germinación (GW1; Figura 11.3) está compuesta por dos capas hialinas, semiflexibles, <1.0 µm de gruesas; estas capas usualmente se separan al aplastar las esporas.

La segunda pared de germinación (Gw2; Figura 11.3) presenta dos capas fuertemente adheridas. La capa uno es flexible, hialina, cubierta con pequeños

gránulos <math><0.5\ \mu\text{m}</math>. La capa dos es plástica, hialina, de 2.0-7.0 μm de gruesa en PVLG, se torna roja con el reactivo de Melzer.

El saco esporífero no se encontró, pero Blaszkowski (2003) menciona que es hialino a amarillo claro, globoso a subgloboso, de 80-90 μm de diámetro; el cuello es de 60-90 μm de largo, con un ahusamiento de 13-15 μm de diámetro y de 10-12 μm al punto cercano de la espora. La pared del saco es hialina, lisa, de 0.8-1.2 μm de ancho. El saco se colapsa al llegar la madures de las esporas.

La espora forma una cicatriz después de desprenderse el saco, es ligeramente levantada, circular, de 10-12.5 μm cuando es visto en forma plana (Blaszkowski, 2003).

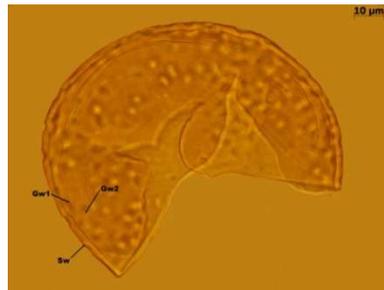


Figura 11.3. Características morfológicas de las esporas de *Acaulospora lacunosa*.

Revisión de literatura

Blaszkowski, J. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone*, and *Complexipes* species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland.<http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/>; última consulta 1.VII. 2011.

Morton, J. B. 1986. Three new species of *Acaulospora* (Endogonaceae) from high aluminum, low pH soils in West Virginia. *Mycologia* 78: 641-648.

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

Las esporas son de color salmón a café, las mayorías café claras, globosas a subglobosas (Figura 11.4A, 11.4B y 11.4C); de 140 a 220 μm de diámetro.

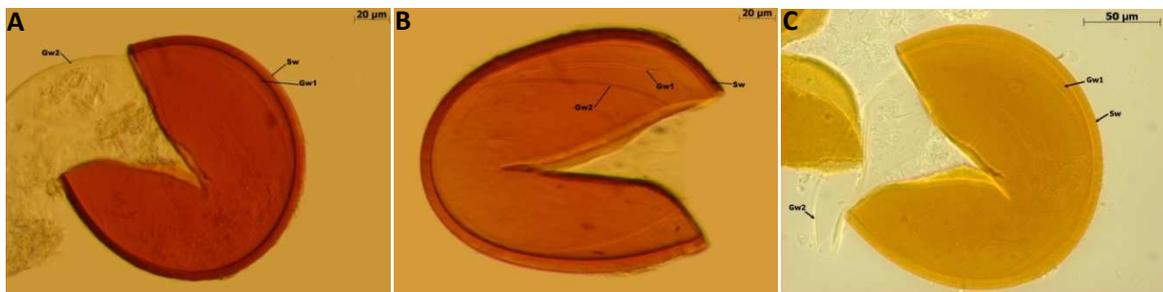
La pared externa de la espora, está integrada por tres capas (Sw1-3; Figura 11.4F). La capa uno es hialina, lisa, <1.0 μm de gruesa, se desprende en esporas maduras. La capa dos frecuentemente presenta subcapas fuertemente adheridas y muy finas, de color café anaranjada a café oscura, de 1.5-3.0 μm de ancho, de superficie lisa. La capa tres es café clara, con sub-capas delgadas y muy finas, adheridas entre sí, de 1.0-1.5 μm de gruesa, no reacciona in Melzer.

La primera pared de germinación presenta dos capas hialinas fuertemente adheridas (Gw1L1+2; Figura 11.4D, 11.4E y 11.4F). La capa uno es <0.5 μm de gruesa. La capa dos es de 1.0 μm .

La segunda pared de germinación consta de 2 capas (Gw2L1+2; Figura 11.4D, 11.4E y 11.4F). La capa uno es <1.0 μm de gruesa, con excreciones granulares que tienden a removerse cuando se le aplica presión. La capa dos es <1.0 μm de gruesa y generalmente no reacciona en Melzer (en raras ocasiones producen un color rosa muy pálido en esta reacción).

De acuerdo a Blaszkowski (2003), el saco esporífero es hialino, globoso, de 150-260 μm de diámetro; la pared del saco presenta sólo una capa, de superficie lisa y de 2.8-4.9 μm de ancho.

La espora presenta una cicatriz después de desprenderse el saco, circular a ovoide, de 9-16 μm en diámetro (Blaszkowski, 2003).



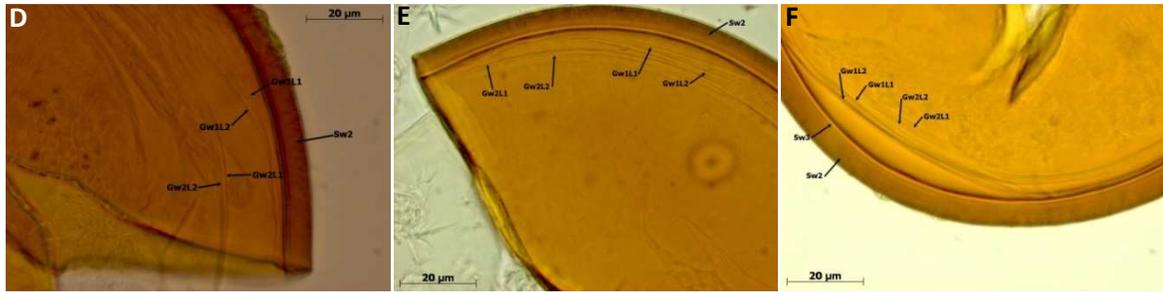


Figura 11.4. Características morfológicas de las esporas de *Acaulospora laevis*.

Revisión de literatura

Blaszkowski, J. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone*, and *Complexipes* species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland. <http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/>; última consulta 1.VII. 2011.

Gerdemann, J. W. y J. M. Trappe. 1974. Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir* 5: 1-76.

***Acaulospora mellea* Spain & N. C. Schenck**

Las esporas son de color amarillo pálido a anaranjadas; globosas a subglobosas, de 90-140 µm de diámetro.

La pared de la espora está integrada por tres capas (Sw1-3; Figura 11.5D y 11.5F). La capa uno es evanescente, hialina, <1.0 µm de gruesa, usualmente se desprende completamente al madurar la espora. La capa dos es laminada, de amarillo pálido a anaranjada, de 2.0-4.0 µm de gruesa. La capa tres es semiflexible, hialina, <1.0 µm de gruesa, raramente se separa de la capa dos.

La primera pared de germinación está compuesta por dos capas delgadas, adheridas, hialinas y flexibles (Gw1L1+2; Figura 11.5D, 11.5E y 11.5F); cada una de 0.5 µm de gruesa. Estas capas algunas veces se separan una de otra al presionar la espora.

La segunda pared de germinación consta de dos capas fuertemente adheridas (Gw2L1+2; Figura 11.5D, 11.5E y 11.5F). La capa uno es flexible, hialina, cubierta con pequeños gránulos, <1.0 µm de gruesa. La capa dos es plástica, hialina, de 9-12 µm de gruesa en PVLG, de color púrpura en reactivo de Melzer (Figura 11.5C, 11.5D y 11.5F).

De acuerdo a Blaszkowski (2003), el saco esporífero es hialino, globoso a subgloboso, de 90-130 µm de diámetro; con una pared laminada de 0.8-1.2 µm de gruesa; el cuello es de 50-80 µm de largo, con un ahusamiento de 17-24 µm de diámetro en el saco y 15-20 µm de diámetro al punto cercano a la espora. El saco usualmente se colapsa al llegar la madures de las esporas.

La espora presenta una cicatriz después de desprenderse el saco, de 7.5-9.8 µm de diámetro (Blaszkowski, 2003).

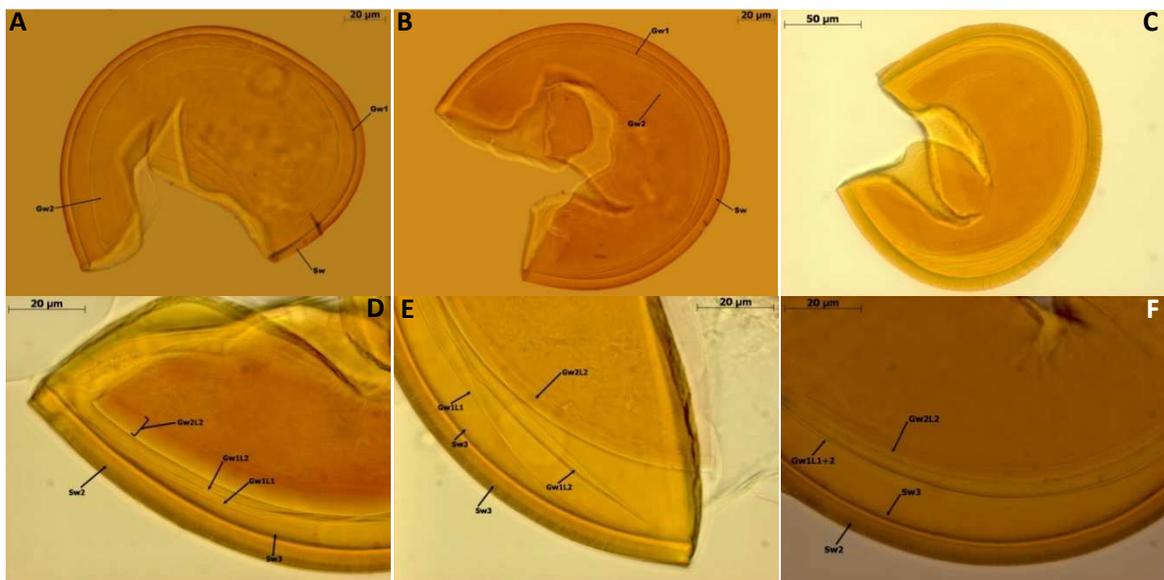


Figura 11.5. Características morfológicas de las esporas de *Acaulospora mellea*.

Revisión de literatura

Blaszkowski, J. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone*, and *Complexipes* species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin,

Poland.<http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/>; última consulta 1.VII. 2011.

Schenck, N. C., J. L. Spain y R. H. Howeler. 1984. Several new and unreported vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Colombia. *Mycologia* 76: 685-699.

***Acaulospora morrowiae* Spain & N.C. Schenck**

Las esporas son sub-hialinas a café claras, globosas a subglobosas, ocasionalmente irregulares, de 60 a 100 μm de diámetro.

La pared externa de la espora está integrada por tres capas (Sw1-3; Figura 11.6D y 11.6F). La capa uno es hialina, delgada, <1 μm de gruesa, flexible. La capa dos consta de subcapas muy finas y adheridas, de color amarillo pálido, de 2.0-2.5 μm . La capa tres es delgada, <1.0 μm .

La primera pared de germinación presenta dos capas hialinas (Gw1L1+2; Figura 11.6E y 11.6F), de igual grosor, con rangos de 0.5-0.8 μm

La segunda pared de germinación presenta dos capas hialinas fuertemente adheridas (Gw2L1+2; Figura 11.6D, 11.6E y 11.6F). La capa uno es <1.0 μm de gruesa, con excreciones granulares que tiendan a ser dispersadas aplicando presión (Figura 11.6F). La capa dos es plástica, de 5-15 μm de gruesa en montas con PVLG, se tiñe de rojo con el reactivo de Melzer (Figura 11.6A, 11.6B y 11.6F).

De acuerdo a Blaszkowski (2003), el saco esporífero es hialino, globoso a subgloboso y ocasionalmente irregular, de 60-90 μm de diámetro; la pared del saco contiene sólo una capa de superficie lisa y de 0.8-1.0 μm de gruesa; la distancia del saco a la espora es de 50-110 μm de largo.

La espora presenta una cicatriz después de desprenderse el saco, de forma circular a oval y de 8-10 μm de ancho (Blaszkowski, 2003).

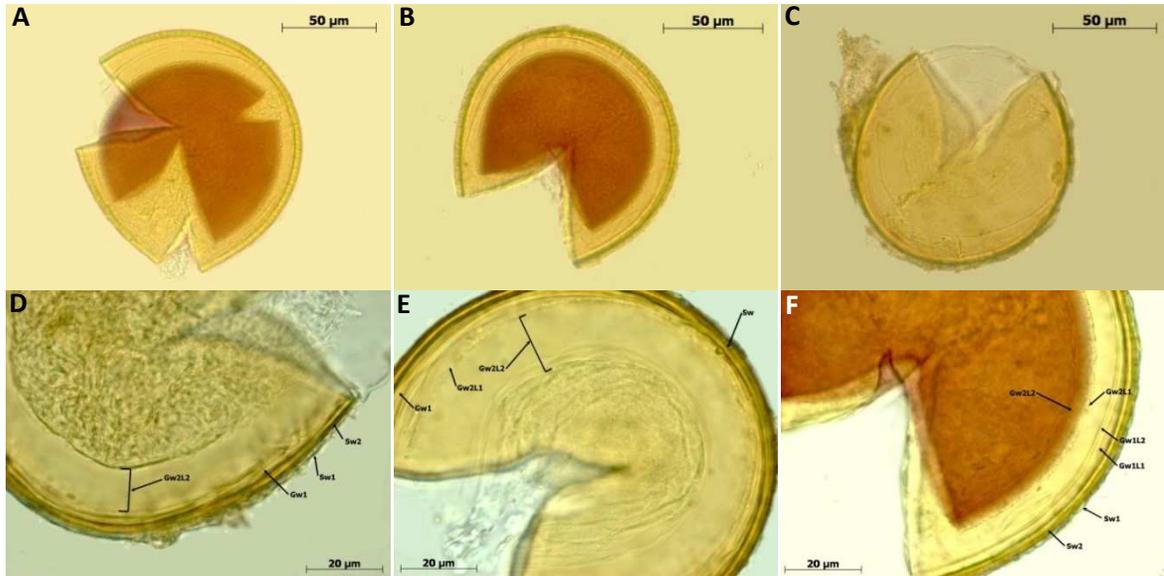


Figura 11.6. Características morfológicas de las esporas de *Acaulospora morrowiae*.

Revisión de literatura

Blaszkowski, J. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone*, and *Complexipes* species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland. <http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/>; última consulta 1.VII. 2011.

Schenck, N. C., J. L. Spain y R. H. Howeler. 1984. Several new and unreported vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Colombia. *Mycologia* 76: 685-699.

***Acaulospora rehmi* Sieverd. & S. Toro**

Las esporas son de color amarillo claro a amarillo más intenso, globosas a subglobosas; de 100-150 µm de diámetro.

La pared de la espora está integrada por tres capas (Sw1-3). La capa uno es evanescente, hialina, <1.0 µm de ancho, raramente en esporas maduras. La capa dos es amarillo claro a amarillo más intenso, de 4-10 µm de ancho; es

ornamentada con pliegues laberintiformes (Figura 11.7C). La capa tres es semiflexible, hialina, <math><1.0\ \mu\text{m}</math> de ancho, raramente separada de la capa 2.

La primera pared de germinación consiste de dos capas fuertemente adheridas, hialinas y semi-flexibles (Gw1L1+2); cada una es de

La segunda pared de germinación consta de dos capas fuertemente adheridas (Gw2L1+2). La capa uno es flexible, hialina, <math><1.0\ \mu\text{m}</math> de gruesa. La capa dos es flexible, hialina, de

Blaszkowski (2003), menciona que el saco esporífero es hialino; globoso a subgloboso, de

La espora presenta una cicatriz después de colapsar el saco, circular y de



Figura 11.7. Características morfológicas de las esporas de *Acaulospora rehmsii*.

Revisión de literatura

Blaszkowski, J. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone*, and *Complexipes* species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland. <http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/>; última consulta 1.VII. 2011.

Sieverding E. y S. T. Toro. 1987. *Acaulospora denticulata* sp. nov. and *Acaulospora rehmi* sp. nov. (Endogonaceae) with ornamented spore walls. *Angew Botanik* 61: 217-223.

***Acaulospora rugosa* J.B. Morton**

Las esporas son subhialinas a café claras, globosas a subglobosas, ocasionalmente irregulares, de 80-100 μm de diámetro.

La pared de la spora (Figura 11.8A, 11.8B y 11.8C) está integrada por tres capas (Sw1-3). La capa uno es hialina, <1.0 μm de gruesa, flexible, frecuentemente produce arrugas extensivas en PVLG cuando están presentes, cuando esta capa aún no se degrada, produce numerosos pliegues sobre la superficie y aparenta ser rugosa (Figura 11.8A). La capa dos consiste de subcapas finas, de color amarillo pálido, de 2.0-3.0 μm de ancho. La capa tres es delgada, <1.0 μm de ancho, frecuentemente adherida a la capa dos.

La primera pared de germinación (Figura 11.8A, 11.8B y 11.8C) presenta dos capas (Gw1L1+2). Esta pared frecuentemente no se separa de la pared de la spora o producen pliegues que dificultan su interpretación. Cada capa de esta pared es <0.5 μm , y ambas son de igual grosor.

La segunda pared de germinación (Figura 11.8A, 11.8B y 11.8C) consta de dos capas fuertemente adheridas (Gw2L1+2), las cuales son fácilmente distinguibles por la reacciones en Melzer. La capa uno es hialina, <1.0 μm de gruesa, con excrecencias granulares que tienden a ser removidas al aplicar presión a la spora. La capa dos es hialina y plástica, se tiñe de rojo claro a un rojo oscuro en Melzer (Figura 11.8A, 11.8B y 11.8C).

De acuerdo con Morton (2002), el saco esporífero es hialino, globoso a subgloboso, de 80-110 μm de diámetro; el cuello es de 60-130 μm de largo; presenta una capa de superficie lisa, de 0.8-1.2 μm de gruesa.

La spora presenta una cicatriz de forma circular a oval, de 7-12 μm en lo más ancho (Morton, 2002).

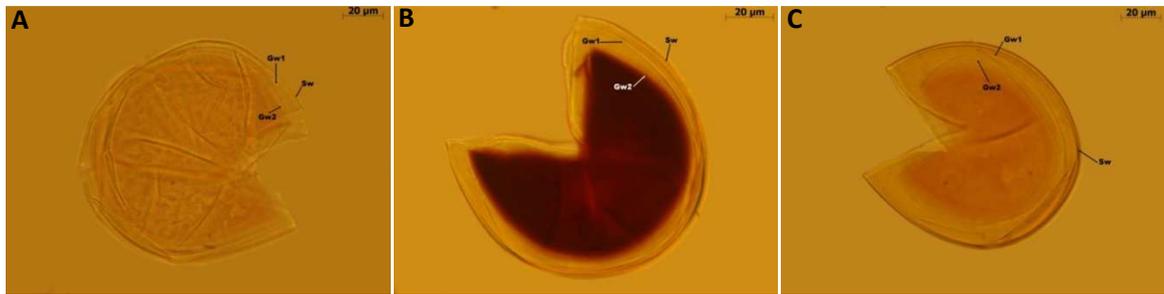


Figura 11.8. Características morfológicas de las esporas de *Acaulospora rugosa*.

Revisión de literatura

Morton, J. B. 1986. Three new species of *Acaulospora* (Endogonaceae) from high aluminum, low pH soils in West Virginia. *Mycologia* 78: 641-648.

Morton, J. B. 2002. International cultura collection of arbuscular and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. West Virginia University. <http://invam.caf.wvu.edu/>.

***Acaulospora scrobiculata* Trappe**

Las esporas son de color blanco amarillentas a amarillo pálido, globosa a subglobosa; de 100-130 µm de diámetro.

La pared externa de la espora está integrada por tres capas (Sw1-3; Figura 11.9E). La capa uno es evanescente, hialina, de 1.0-2.0 µm de ancho, fuertemente adherida a la capa dos, frecuentemente se desintegra completamente en esporas maduras. La capa dos es laminada, de blanco amarillenta a amarillo pálido, de 3.0-8.0 µm de ancho, ornamentada, con agujeros distribuidos uniformemente; los agujeros son circulares, elipsoides, oblongos, triangulares, de 1.0-3.5 µm cuando es visto en forma plana (Figura 11.9A y 11.9F). La capa tres es flexible, hialina, <1.0 µm de gruesa, algunas veces ligeramente separada de la capa dos.

La primera pared de germinación consiste de dos capas flexibles, hialinas (Gw1L1+2; Figura 11.9E), fuertemente adheridas, usualmente se separan aplastando vigorosamente la espora, cada capa mide 0.5 µm en grosor; ninguna de ellas reacciona en Melzer.

La segunda pared de germinación consta de 2 capas (Gw2L1+2; Figura 11.9E). La capa uno es flexible, de 1.5-2.5 μm de ancho, cubierta con un material granular que frecuentemente se desintegra al presionar la espora (Figura 11.9E). La capa dos es plástica, <1.0 μm de ancho, se tiñe de un rojo tenue en Melzer (Figura 11.9C).

De acuerdo a Blaszkowski (2003), el saco esporífero es hialino, globoso a subgloboso, de 110-140 μm diámetro; algunas veces ovoide, de 110-120 x 120-130 μm . El cuello es de 78-85 μm de largo, con un ahusamiento de 10-25 μm de diámetro en el saco y de 12.5-22.5 μm de diámetro en la espora. El saco se colapsa al madurar porque transfiere el contenido a la espora. En las esporas maduras, el saco esporífero es desprendido.

La espora presenta una cicatriz plana (Figura 11.9B), es circular u ovoide, de 12.0 μm de diámetro cuando es visto en forma plana.

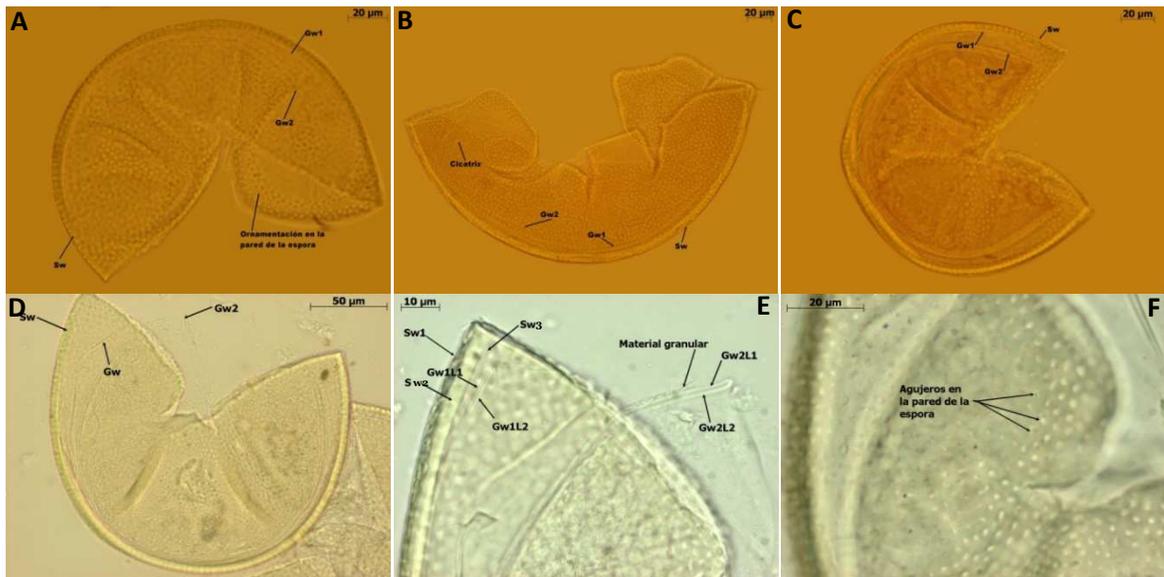


Figura 11.9. Características morfológicas de las esporas de *Acaulospora scrobiculata*.

Revisión de literatura

Blaszkowski, J. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone*, and *Complexipes* species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin,

Poland.<http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/>; última consulta 1.VII. 2011.

Trappe, J. W. 1977. Three new Endogonaceae: *Glomus constrictus*, *Sclerocystis clavispora*, and *Acaulospora scrobiculata*. *Mycotaxon* 6: 359-366.

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

Las esporas son de color crema a un café pálidas; globosas a subglobosas, de 140-200 μm de diámetro.

La pared de la espora (Figura 11.10A y 11.10B) está integrada por tres capas (Sw1-3). La capa uno es hialina, de 1.0-1.5 μm de gruesa. La capa dos presenta espinas redondas envueltas estrechamente (<0.5 μm ; Figura 11.10D), el grosor de esta capa (subcapas + espinas) es de 6.0-8.0 μm . La capa tres es hialina, <1.0 μm de gruesa, frecuentemente separada de la capa dos.

La primera pared de germinación (Figura 11.10A y 11.10B) presenta dos capas (Gw1L1+2), de 0.5 μm en grosor cada una.

La segunda pared de germinación (Figura 11.10A y 11.10B) es hialina y consiste de dos capas (Gw2L1+2). La capa uno es <1.0 μm de ancho y cubierta con excrecencias granulares. La capa dos es de 1.0-1.5 μm de ancho y se tiñe de rosa a rosa púrpura en reacción de Melzer.

De acuerdo con Morton (2002), el saco esporífero es hialino al madurar, usualmente rosa a salmón, globoso, de 100-140 μm ; presenta dos capas de 1.1-1.6 μm de gruesa y de igual grosor, algunas veces aparenta tener una sola capa. La distancia del saco a la espora es de 50-90 μm (la mayoría de 80 μm).

Presenta una cicatriz que indica la región de contacto entre la espora y el cuello del saco durante la síntesis de la espora (Figura 11.10C y 11.10F); el diámetro es de 10-14 μm .

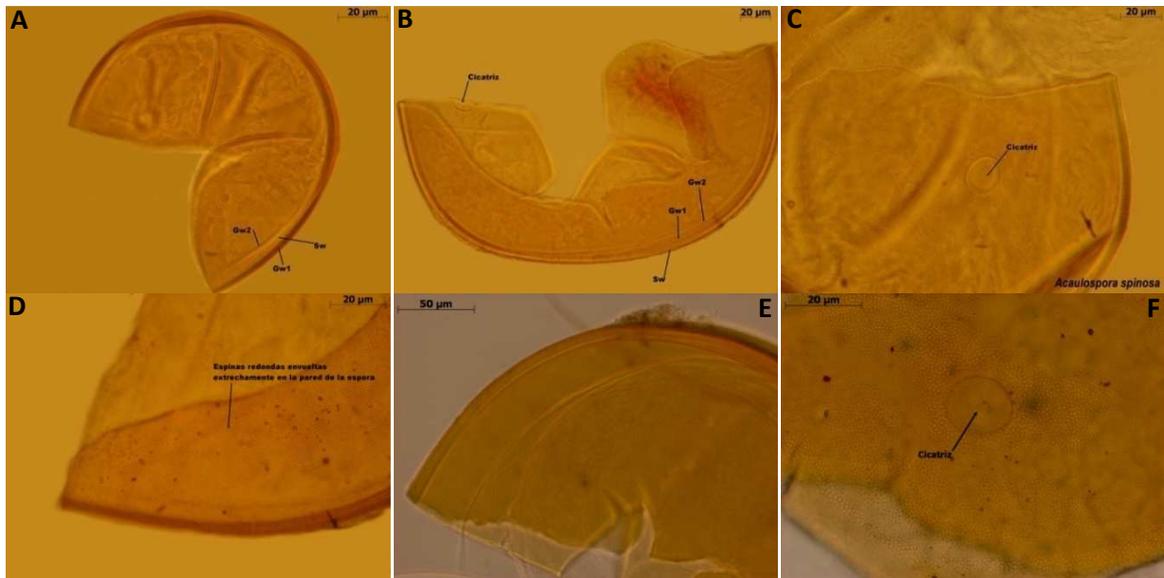


Figura 11.10. Características morfológicas de las esporas de *Acaulospora spinosa*.

Revisión de literatura

Morton, J. B. 2002. International cultura collection of arbuscular and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. West Virginia University. <http://invam.caf.wvu.edu/>.

Walker C. y J. M. Trappe. 1981. *Acaulospora spinosa* sp. nov. with a key to the species of *Acaulospora*. *Mycotaxon* 12: 515-521.

***Claroideoglopus* C. Walker & Schüßler**

Las especies del género *Claroideoglopus* presentan espora glomoides, las cuales se desarrollan blásticamente al final de una hifa esporógena (hifa suspensora).

La estructura subcelular de la espora está formada por una pared que incluye al menos dos capas. La capa externa frecuentemente se desintegra con la edad; en algunas especies, esta capa se tiñe de rojo en Melzer (Stürmer y Morton 1997). Una de las características distinguibles de este género es la capa interna semiflexible que aparenta formar una endospora en la madurez.

Las capas de la pared de la hifa suspensora son continuas con las capas de la pared de la espora. Estas esporas germinan a través de un tubo germinativo.

Las características moleculares que distinguen a este género se basan en las secuencias CAGYTGGGRAACCRCTAAA; ATTKRCACATCGGTCGGCC de la unidad ribosomal.

Revisión de literatura

Stürmer, S. L. y J. B. Morton. 1997. Developmental patterns defining morphological characters in spores of four species in *Glomus*. *Mycologia* 89: 72-81.

Schüßler, A. y C. Walker 2010. The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. www.amf-phylogeny.com

***Claroideoglomus etunicatum* (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & Schüßler**

Las esporas son de color amarillo pálido a amarillo más intenso, globosas a subglobosas, de 80-120 µm de diámetro.

La estructura subcelular de la espora consiste de una pared de la espora compuesta de dos capas (Sw1+2; Figura 11.11B y 11.11C). La capa uno es mucilaginoso, áspera sobre la superficie, hialina, de 0.5-1.5 µm de gruesa, gradualmente deteriorada y desintegrada con la edad, frecuentemente ausente en esporas maduras. La capa dos es laminada, lisa, de amarillo pálido a amarillo más intenso, de 4.5-6.0 µm de gruesa. En Melzer sólo la capa uno se tiñe de blanco rojizo a rojo opaco.

La hifa suspensora es hialina a blanco amarillento, recta o curva, cilíndrica o ligeramente acampanada, de 5-10 µm de ancho en la base de la espora. La pared es hialina a blanca amarillento, de 1.0-3.0 µm de gruesa en la base de la espora, compuesta de dos capas continuas con las capas de la pared de la espora.

Presenta un poro que es cerrado por un septo curvo y es continuo con la capa más interna de la pared de la espora (Figura 11.1B).

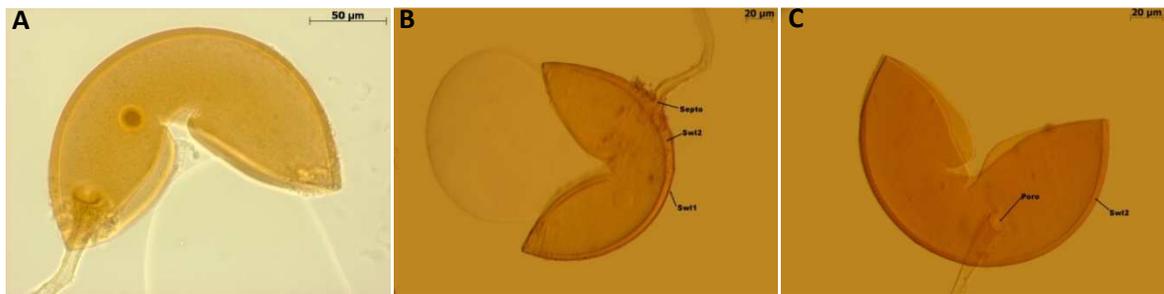


Figura 11.11. Características morfológicas de las esporas de *Claroideoglomus etunicatum*.

Revisión de literatura

Becker, W. N. y J. W. Gerdemann. 1977. *Glomus etunicatus* sp. nov. *Mycotaxon* 6: 29-32.

***Diversispora* C. Walker & Schüßler**

Este género presenta esporas glomoides, las cuales se forman blásticamente en el ápice de una hifa suspensora cilíndrica que es continua con las hifas extraradicales del suelo.

La estructura de la pared está formada por una capa externa evanescente, una laminada y una capa flexible difícil de observar. Las únicas estructuras que la separan del género *Glomus* es su micorriza. La micorriza formada por *Diversispora* aparentemente carece de vesículas y se tiñe muy débil; mientras que la micorriza de *Glomus* consiste de arbuscúlos, vesículas e hifas intraradicales que se tiñen intensamente con azul de tripano (Morton, 2002).

Las características moleculares de *Diversispora* y *Glomus* difieren marcadamente, principalmente por la secuencia específica del rRNA (GGCTCATTYGRRTYTS, ACYCATTRYCAGGCTTAAT, y TTGGCATTTAGYCA). Se considera que la familia Diversisporaceae es monofilética (Walker *et al.*, 2009).

Revisión de literatura

Morton, J. B. 2002. International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. West Virginia University.

Walker, C. y A. Schüßler. 2004. Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota. *Mycological Research* 108: 979-982.

***Diversispora celata* C. Walker, Gamper and Schüßler**

Las esporas son menos coloreadas cuando son jóvenes, tornándose de un marfil a un color ocre con la edad; globosas a subglobosas o elipsoidales, ovoides a irregulares, de 80-120 μm de diámetro.

La estructura subcelular consiste de una pared que incluye tres capas (Sw1-3; Figura 11.12A y 11.12B). La capa uno es evanescente, <1.0 μm de gruesa, frecuentemente con partículas del suelo, fuertemente adherida a la capa dos. La capa dos es amarillenta, de 2-5 μm de gruesa. La capa tres es flexible, <1.0 μm de gruesa, posiblemente formada después de la oclusión de la espora.

La hifa suspensora es recta o curva, de forma acampanada (Figura 11.12A y 11.12B), con un septo formado por los componentes de la pared.

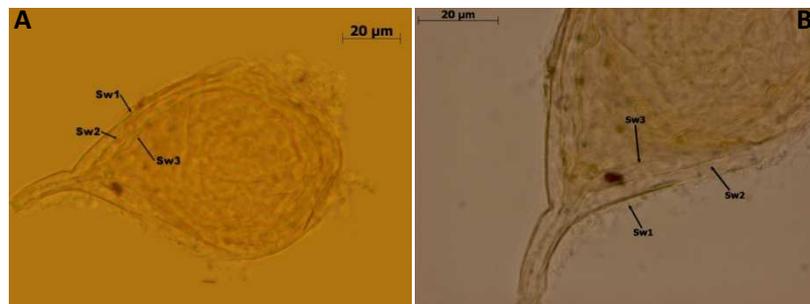


Figura 11.12. Características morfológicas de las esporas de *Diversispora celata*.

Revisión de literatura

Gamper, H. A., C. Walker y A. Schüßler. 2009. *Diversispora celata* sp. nov: molecular ecology and phylotaxonomy of an inconspicuous arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist* 182: 495-506.

***Diversispora eburnea* (L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton) C. Walker & Schüßler**

Las esporas se originan blásticamente en la punta de una hifa continua con la hifa extraradical. Las esporas son de color blanco amarillentas a amarillas, globosas a subglobosas, de 100-130 μm de diámetro.

La estructura subcelular de la espora consiste de una pared compuesta de dos capas fuertemente adheridas (Sw1+2; Figura 11.13E y 11.13F). La capa uno forma la superficie de la espora, semi-permanente, semiflexible, hialina, <1.0 μm de gruesa, algunas veces asociada con desechos granulares del suelo (Figura 11.13B, 11.13C y 11.13F). La capa dos es laminada, semi-flexible, lisa, de blanco amarillenta a amarilla, de 2.5-4.0 μm de gruesa.

La hifa suspensora (Figura 11.12D y 11.13E) es blanco amarillenta a amarilla, recta o curva, cilíndrica o ligeramente acampanada, raramente contraída, de 4.0-8.0 μm de ancho en la base de la espora. La pared es blanco amarillenta a amarilla, de 1.0-2.0 μm de gruesa en la base de la espora, compuesta de dos capas continuas con las capas uno y dos de la pared de la espora.

Presenta un poro (Figura 11.13D) abierto u ocluido por un recto o curvo septo que es continuo con la laminación interna de la capa dos de la pared de la espora.

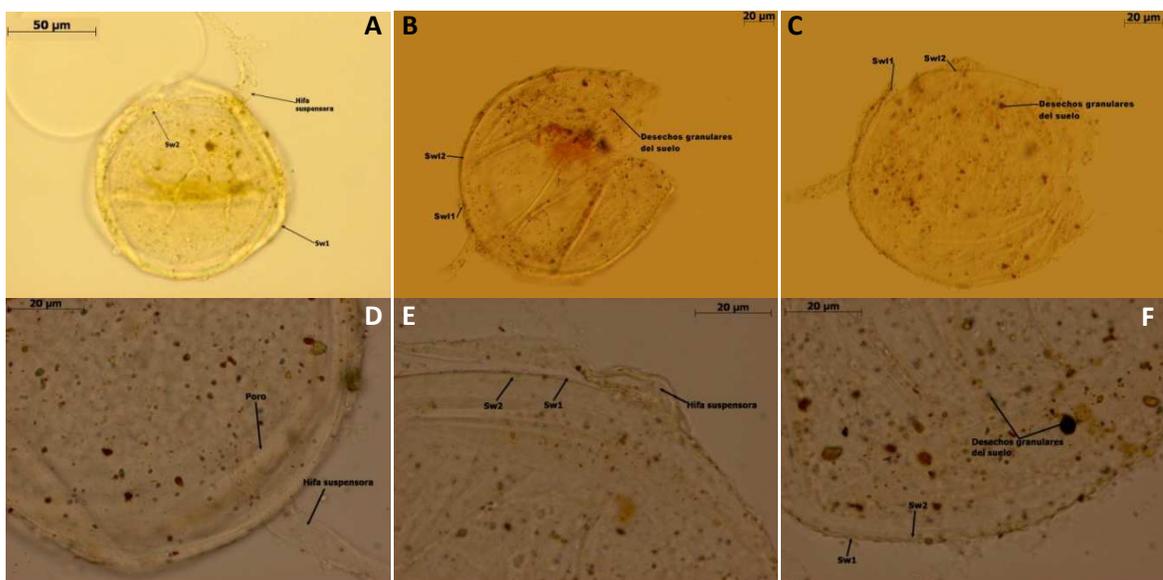


Figura 11.13. Características morfológicas de las esporas de *Diversispora eburnea*.

Revisión de literatura

Kennedy, L. J., J. C. Stutz y J. B. Morton. 1999. *Glomus eburneum* and *G. luteum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi, with emendation of *G. spurgum*. *Mycologia* 91: 1083-1093.

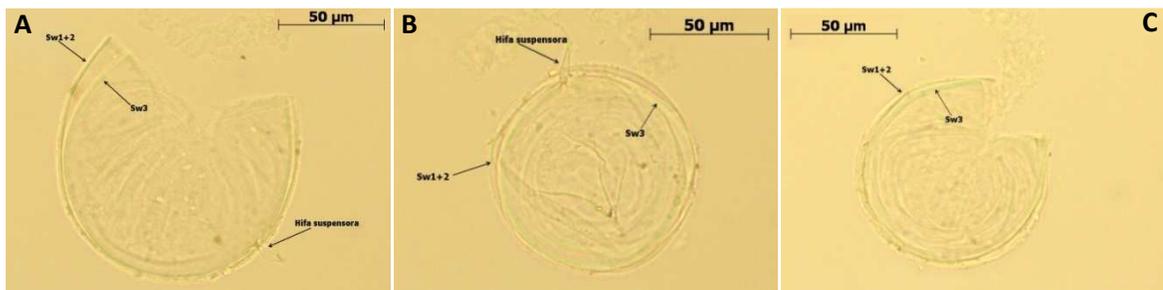
***Diversispora spurca* (C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & Schüßler**

Las esporas son hialinas a amarillo pálido, globosas a subglobosas, de 80-110 μm de diámetro.

La estructura subcelular consiste de una pared que incluye tres capas (Sw1-3). La capa uno forma la superficie de la espora, granular o mucilaginosa en esporas jóvenes, tornándose más o menos compactas con la edad, hialinas a amarillo pálido, <1.0 μm de gruesa, fuertemente adherida a la capa dos (Figura 11.14A, 11.14D y 11.14E). La capas dos es permanente, flexible, hialina a amarillo pálido, de 1.0 μm de gruesa. La capa tres es laminada, hialina, lisa, de 2.0-5.0 μm de gruesa, compuesta de subcapas muy delgadas (Figura 11.14D, 11.14E y 11.14F). Ninguna de las capas de la pared reacciona en Melzer.

La hifa suspensora (Figura 11.14A, 11.14B y 11.14E) es hialina a amarillo pálido, recta o curva, cilíndrica, de 4.0-7.0 μm de ancho en la base de la espora. La pared de la hifa es hialina a amarillo pálido, de 1.0 μm de gruesa en la base de la espora; compuesta de dos capas, continuas con las capas de la pared de la espora.

Presenta un poro que es ocluido por un delgado septo (Figura 11.14E).



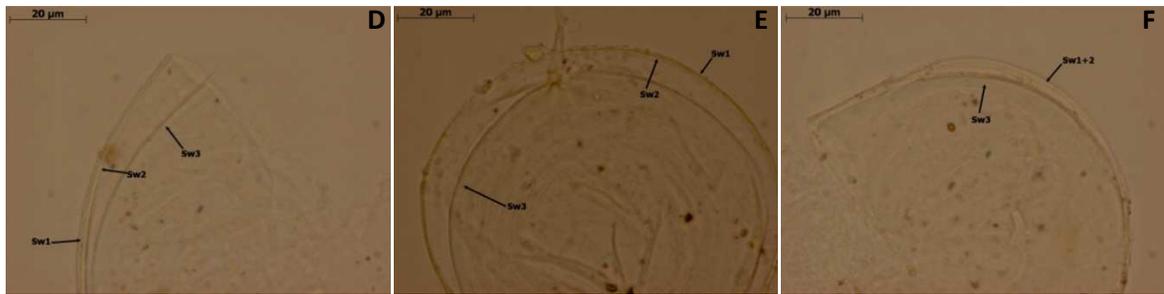


Figura 11.14. Características morfológicas de las esporas de *Diversispora spurca*.

Revisión de literatura

Pfeiffer, C. M., C. Walker y H. E. Bloss. 1996. *Glomus spurcum*: a new endomycorrhizal fungus from Arizona. *Mycotaxon* 59: 373-382.

Walker, C. y A. Schüßler. 2004. Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota. *Mycological Research* 108: 979-982.

***Entrophospora* R.N. Ames & R.W. Schneid. emend. Oehl & Sieverd.**

Las especies del género *Entrophospora* presentan esporas entrofosforoides; éstas se desarrollan dentro del cuello del saco esporífero, directamente o en una corta distancia del saco esporífero.

La estructura subcelular de la espora consta de una pared que cubre la espora y una pared germinando internamente.

En esporas carentes de sacos esporíferos, se presentan dos cicatrices opuestas que parecen anillos pequeños con un ligero bordo levantado.

El género *Entrophospora* fue separado de *Glomus* por el origen del saco esporífero (Ames y Schneider 1979).

No se han detectado estructuras de germinación en éste género.

Revisión de literatura

Ames, R. N. y R. W. Schneider. 1979. *Entrophospora*, a new genus in the Endogonaceae. *Mycotaxon* 8: 347-352.

***Entrophospora infrequens* (I.R. Hall) R.N. Ames & R.W. Schneid. emend. Oehl & Sieverd**

Las esporas se desarrollan en el interior del cuello del saco esporífero; de amarillo a castaño rojizas; globosas a subglobosas; de 100-170 μm de diámetro.

La pared externa (Figura 11.15B) presenta cuatro capas (Sw1-4). La capa uno forma la superficie de la espora, hialina, de 2.0-4.0 μm de ancho, continua con la pared del saco esporífero, ausente o altamente degradada en esporas maduras o viejas, se tiñe de rojo a cereza en Melzer. La capa dos es semipermanente, lisa, finamente laminada, de 2.8-6.0 μm de ancho, ligeramente degradada con la edad. La capa tres es laminada, permanente, de amarillo a castaño rojiza; de 2.0-4.0 μm de ancho, ornamentada con excrecencias en forma dentada, de 1.5-3.0 μm , con una depresión central en la superficie (Figura 11.15E y 11.15F). La capa cuatro es semiflexible, lisa, de amarillo a rojo castaño; <0.5 μm de ancho, siempre fuertemente adherida a la superficie de la capa tres, lo que hace difícil su observación.

La pared germinal consta de tres capas hialinas (Gw1L1-3). La capa uno es flexible, <0.5 μm de ancho, usualmente fuertemente adherida a la capa dos, lo que hace difícil su observación. La capa dos es flexible, coriácea, de 6.0-8.0 μm de ancho. La capa tres es flexible, aprox. 0.5 μm de ancho, usualmente dificulta separarla de la capa dos.

Las esporas presentan dos cicatrices que muestran la región de contacto entre la espora y el cuello del saco. Una se presenta cerca al saco (Figura 11.15A) y es ligeramente circular, de 13-27 μm de diámetro. La otra se encuentra en forma distal al saco (Figura 11.15C), es circular, de 11.0-14.5 μm de diámetro cuando es observada en forma plana.

El saco esporífero es hialino (Figura 11.15A), de 100-190 μm , usualmente ausente en esporas maduras. La pared del saco está compuesta de tres capas continuas con las capas de la pared de la espora. La capa uno y dos son hialinas. La capa tres es anaranjada. La capa uno se tiñe de rojo a cereza en Melzer.

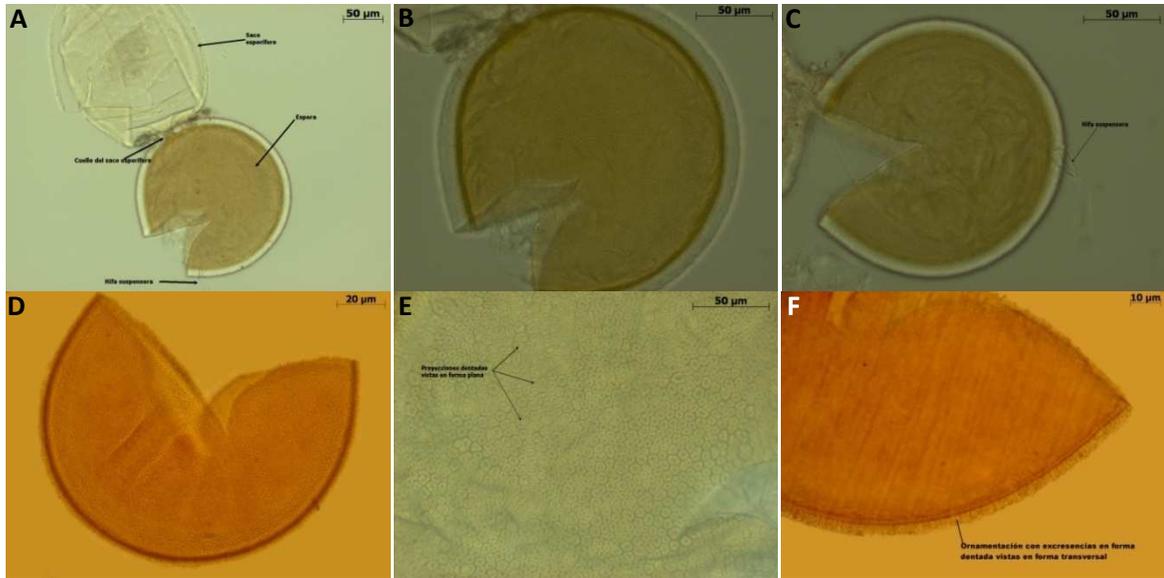


Figura 11.15. Características morfológicas de las esporas de *Entrophospora infrequens*.

Revisión de literatura

Ames, R. N. y R. W. Schneider. 1979. *Entrophospora*, a new genus in the Endogonaceae. *Mycotaxon* 8: 347-352.

Hall, I. R. 1977. Species and mycorrhizal infections of New Zealand Endogonaceae. *Transaction of the British Mycological Society* 68: 341-356.

***Funneliformis* C. Walker & Schüßler**

Las especies del género *Funneliformis* presentan esporas glomoides, las cuales se desarrollan blásticamente al final de una hifa esporógena.

La superficie de las esporas puede ser lisa (en muchas especies) o diferencialmente ornamentadas. Algunas especies producen esporas envueltas en un manto hifal, el cual consiste de hifas entreteljadas o de ramificaciones dicotómicas de las hifas.

Muchas especies producen esporas solitarias en el suelo. Otros taxa forman esporas agregadas más o menos compactas o esporocarpos.

Todos los miembros de este género forman una pared que incluye al menos dos capas.

Una de las características distinguibles de este género es la forma de la hifa suspensora en forma de embudo. Las capas de la hifa suspensora son continuas con las capas de la pared de la espora. Estas esporas germinan a través de un tubo germinativo.

Este género presenta una secuencia específica ribosomal en sus bases genéticas (CGGTCATGGCCGTTGGTATGY).

Revisión de literatura

Schüßler, C. y C. Walker 2010. The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. www.amf-phylogeny.com

***Funneliformis constrictum* (Trappe) C. Walker & Schüßler**

Presenta esporas de color castaño rojizo a café oscuras; globosas a subglobosas, de 120-190 µm de diámetro.

La estructura subcelular consiste de una pared que incluye dos capas (Sw1+2; Figura 11.16B). La capa uno es evanescente, hialina a amarillo pálido, de 1.8-6.0 µm de gruesa. La capa dos es laminada, lisa, castaño rojizo a café oscura, de 8.0-12 µm de gruesa.

La hifa suspensora es castaño rojizo a café oscura; recta o curva; usualmente contraída en la base de la espora (Figura 11.16C), algunas veces cilíndrica, acampanada o en forma de embudo; de 11-15 µm de ancho en la base de la espora, de 15-22 µm de ancho en la parte más inflada. La pared de la hifa es castaño rojizo a café oscura; de 5.0-7.0 µm de gruesa en la base de la espora; compuesta de dos capas continuas con las capas de la pared de la espora. Presenta un poro delgado con la edad debido al engrosamiento de la capa interna;

éste es cerrado por un septo curvo desarrollado por la capa interna de la pared de la espora.

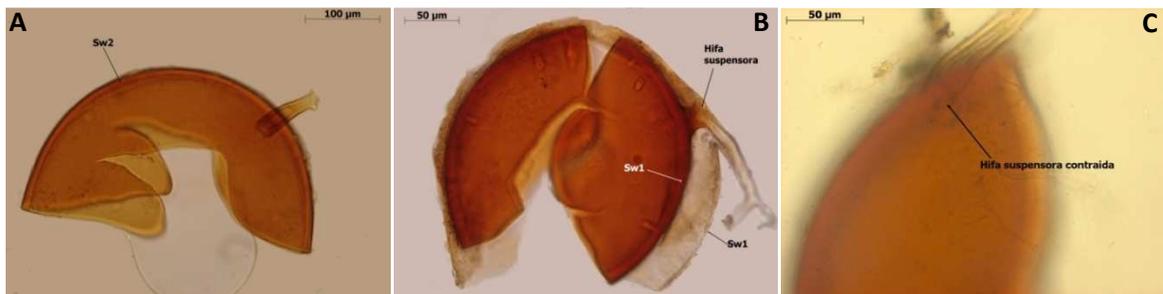


Figura 11.16. Características morfológicas de las esporas de *Funneliformis constrictum*.

Revisión de literatura

Schüßler, C. y C. Walker 2010. The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. www.amf-phylogeny.com

Trappe, J. W. 1977. Three new Endogonaceae: *Glomus constrictus*, *Sclerocystis clavispora*, and *Acaulospora scrobiculata*. *Mycotaxon* 6: 359-366.

***Funneliformis mosseae* (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & Schüßler**

Las esporas son de color amarillo claro, globosas a subglobosas, de 100-220 µm de diámetro.

La estructura subcelular está compuesta de una pared que incluye tres capas (Sw1-3). La capa uno es mucilaginosa, hialina, de 0.5-1.5 µm de gruesa, se tiñe de un blanco rojizo en Melzer en las esporas más juveniles. La capa dos es semiflexible, lisa, hialina, de 0.5-1.5 µm de gruesa, raramente presente en esporas maduras. La capa tres es laminada, de color amarillo claro, de 3.0-7.0 µm de gruesa (Figura 11.17A y 11.17B).

La hifa suspensora es amarillo claro, de forma acampanada o embudo (Figura 11.17A, 11.17B y 11.17F), de 15-27 µm de ancho en la base de la espora. La pared de la hifa es amarillo claro; de 2.0-4.0 µm de gruesa, compuesta de tres

capas continuas con las capas de la pared de la espora. Presenta un poro que es cerrado por un septo curvo desarrollado en la tercera capa laminada de la pared de la espora (Figura 11.17F).

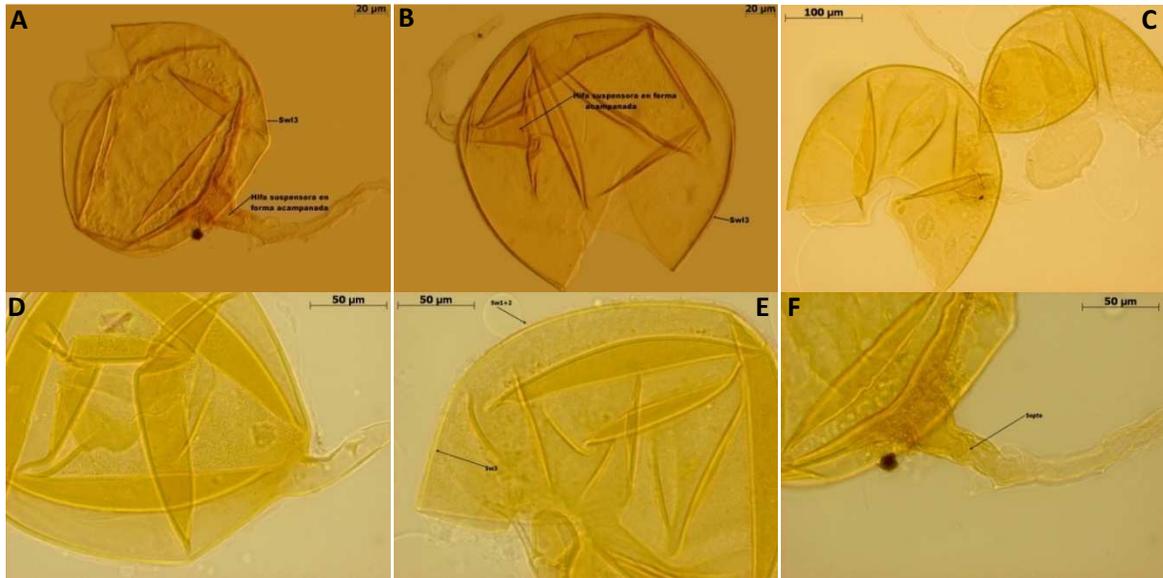


Figura 11.17. Características morfológicas de las esporas de *Funneliformis mosseae*.

Revisión de literatura

Nicolson, T. H. y J. M. Gerdemann. 1968. Mycorrhizal *Endogone* species. *Mycologia* 60: 13.325

Schüßler, C. y C. Walker 2010. The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. www.amf-phylogeny.com

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

Las especies de *Glomus* forman esporas glomoides, las cuales se desarrollan blásticamente al final de una hifa esporógena, aunque también ha sido reportada con esporas de formación intercalar (Declerck *et al.*, 2000). En muchas especies, la hifa esporógena se desarrolla de hifas extraradicales procedentes de la colonización radical.

La superficie puede ser lisa (en muchas especies) o diferencialmente ornamentadas.

Muchas especies producen esporas solitarias en el suelo. Otras forman esporas agregadas más o menos compactas o en esporocarpos.

Todos los miembros del género *Glomus* forman esporas con sólo una pared que incluye al menos dos capas, de las cuales la capa estructural consiste de muchas subcapas (laminación). La capa externa frecuentemente se desintegra con la edad. En algunas especies esta capa se tiñe de rojo en Melzer (Stürmer y Morton 1997). Unas pocas especies, producen una capa interna flexible que se desarrolla de la hifa suspensora; esta capa frecuentemente es adherida a la superficie inferior de la capa laminada y, por consiguiente, es difícil de observar (Dalpé *et al.* 1992; Blaszkowski 1997; Stürmer y Morton 1997; Blaszkowski *et al.* 2002).

Las capas de la pared de la hifa suspensora son continuas con las capas de la pared de la espora. Durante la ontogenia, ellas se diferencian al mismo tiempo y en similar proporción cuando se finaliza el desarrollo de la espora; el lumen de la hifa suspensora, usualmente se cierra ya sea por (1) un septo curvo continuo con la lamina interna de la capa de la pared de la espora laminada, (2) una encapsulada capa interna flexible, (3) un tapón amorfo, (4) un engrosamiento de la pared de la hifa suspensora, o (5) una combinación de las estructuras mencionadas.

Las esporas del género *Glomus* germinan por la emergencia de un tubo germinativo ya sea a través del lumen de la hifa suspensora (muchas especies) o la pared de la espora. La germinación por ambas también puede observarse.

Revisión de literatura

Blaszkowski, J. 1997. *Glomus gibbosum*, a new species from Poland. *Mycologia* 89: 339-345.

Blaszkowski, J., I. Adamska y T. Madej. 2002. *Glomus lamellosum* (Glomales, Zygomycota), an arbuscular mycorrhizal fungal species new for Poland and Europe. *Mycotaxon* 81: 281-292.

Dalpé, Y., R. E. Koske y L. L. Tews. 1992. *Glomus lamellosum* sp. nov.: a new Glomaceae associated with beach grass. *Mycotaxon* 43: 289-293.

Declerck, S., S. Cranenbrouck., Y. Dalpé., A. Grandmougin-Ferjani., J. Fontaine y M. Sancholle. 2000. *Glomus proliferum* sp. nov.: a description based on morphological, biochemical, molecular and monoxenic cultivation data. *Mycologia* 92: 1178-1187.

Stürmer, S. L. y J. B. Morton. 1997. Developmental patterns defining morphological characters in spores of four species in *Glomus*. *Mycologia* 89: 72-81.

***Glomus aggregatum* N.C. Schenck & G.S. Sm. emend. Koske**

Las esporas son de color amarillo a café amarillentas; globosas a subglobosas, de 60-140 μm de diámetro, usualmente con una simple hifa suspensora, raramente con dos.

La estructura subcelular consta de una pared que incluye tres capas (Sw1-3; Figura 11.18B). La capa uno es mucilaginosa, hialina, de 0.5-2.0 μm de ancho, se tiñe de rosa a rojo púrpura en Melzer, usualmente se deteriora o está ausente en esporas maduras. La capa dos es semipermanente, semiflexible, hialina, de 0.5-2.0 μm de ancho, degradada con la edad; en esporas maduras, esta capa frecuentemente llega a ser granular. La capa tres es laminada, lisa, de amarillo a café amarillenta, de 2.0-4.0 μm de ancho.

La hifa suspensora es amarilla a café amarillenta; recta o curva; cilíndrica o en forma de embudo, raramente estrecha o inflada en la base de la espora (Figura 11.18F); de 5-12 μm de ancho cerca a la base de la espora. La pared de la hifa es amarilla a café amarillenta; de 1.0-4.0 μm de ancho en la base de la espora; compuesta de tres capas, continuas con las capas de la pared de la espora.

Presenta un poro de 3.0-7.0 μm de ancho, usualmente abierto (Figura 11.18E), algunas veces cerrado por un septo curvo continuo con la capa interna (capa 3) de la pared de la espora o por un delgado septo formado algo distante de la base de la espora.

Se forman esporas internas blásticamente desde la punta de una hifa suspensora a la espora progenitora.

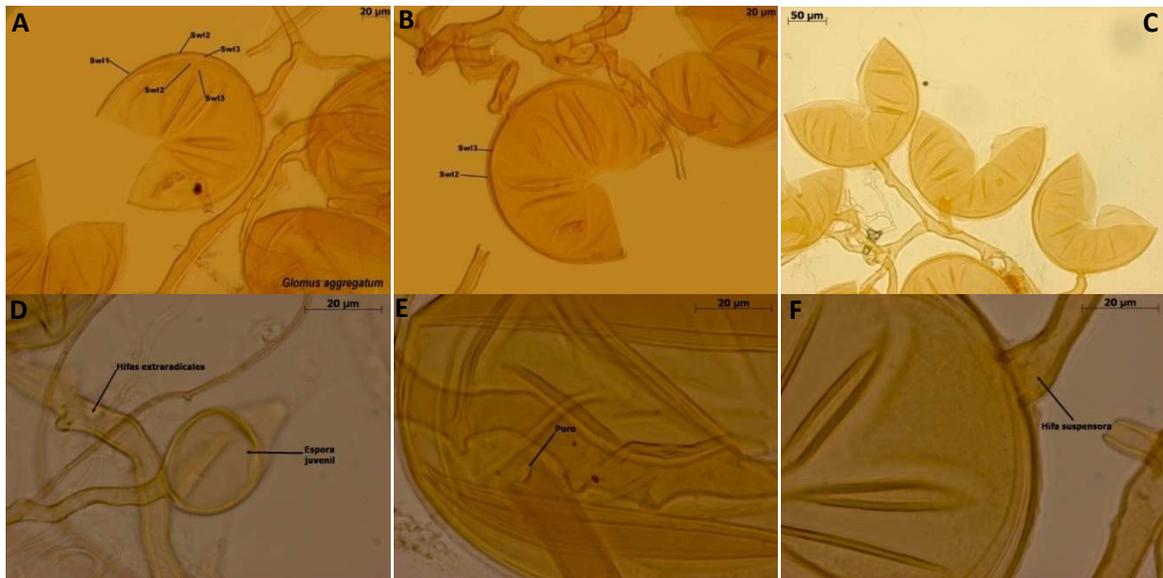


Figura 11.18. Características morfológicas de las esporas de *Glomus aggregatum*.

Revisión de literatura

Schenck, N. C. y G. Smith. 1982. Additional new and unreported species of mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. *Mycologia* 74: 77-92.

***Glomus ambisporum* Smith & Schenck**

De acuerdo a Smith y Schenck (1985), esta especie presenta esporocarpos café oscuro a negros, subglobosos a muy variables en forma, de 315-690 x 424-776 μm . Las esporas se desarrollan de un núcleo central de hifas delgadas entretejidas. Con peridium ausente.

Las esporas son de color café oscuro a negras, predominantemente globosas de 85-157 μm de diámetro, ocasionalmente subglobosas de 98-166 x 93-157 μm .

La pared de la espora consiste de tres capas (Sw1-3). La capa uno es subhialina, de 2.0-4.0 μm de ancho, extendiéndose por completo a lo ancho de la hifa accesoria del centro del esporocarpio, tiene superficie reticulada acomodada en placas exagonales de 3.0-9.0 μm de ancho. La capa dos consiste de subcapas finamente adheridas (o laminadas), de 3-14 μm de ancho, de café oscuro a negra. La capa tres es delgada y flexible ($< 1 \mu\text{m}$ de gruesa).

La hifa suspensora es de 10-24 μm de ancho en la base de la espora (Figura 11.19A); la pared de la hifa consiste de dos capas continuas con las dos capas externas de la pared de la espora.

Presenta un poro que es ocluido por el engrosamiento de la capa dos conjuntamente con la capa tres de la pared de la espora.

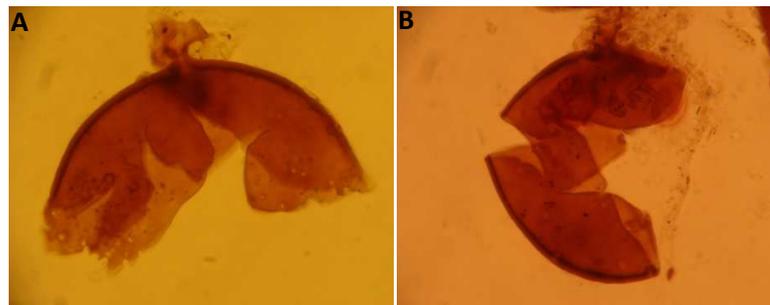


Figura 11.19. Características morfológicas de las esporas de *Glomus ambisporum*.

Revisión de literatura

Smith, G. S. y N. C. Schenck. 1985. Two new dimorphic species in the Endogonaceae: *Glomus ambisporum* and *Glomus heterosporum*. *Mycologia* 77: 566-574.

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

Las esporas son de color amarillo a ocre natural, globosas a subglobosas, de 90-140 μm de diámetro, con una hifa suspensora.

La estructura subcelular consiste de una pared que incluye tres capas (Sw1-3; Figura 11.20B, 11.20D y 11.20F). La capa uno es evanescente, hialina, de 1.0-1.3 μm , fuertemente adherida a la capa dos, es lisa en esporas juveniles,

gradualmente deteriorada o desintegrada después de la formación de la capa dos, siempre ausente en espora maduras. La capa dos es flexible a semiflexible, hialina, lisa, de 1.0-1.3 μm de ancho, se desintegran con la edad, raramente presente en esporas maduras. La capa tres es laminada, lisa, anaranjada a ocre natural, de 5.3-8.7 μm de ancho en esporas maduras, laminada en la espora y en la hifa suspensora. Estas tres capas no reaccionan en Melzer.

La hifa suspensora es hialina a blanco amarillenta (Figura 11.20B, 11.20D, 11.20E y 11.20F; recta o curva, cilíndrica o acampanada, de 6.3-7.4 μm de ancho en la base de la espora. La pared es hialina a blanco amarillenta, de 1.5-2.0 μm de ancho en la base de la espora, compuesta de tres capas continuas con las capas de la pared de la espora en etapas juveniles.

Presenta un poro que es ocluido por un septo (Figura 11.20E), de 1.9-2.5 μm de ancho, continuo con la capa tres de la pared de la espora.

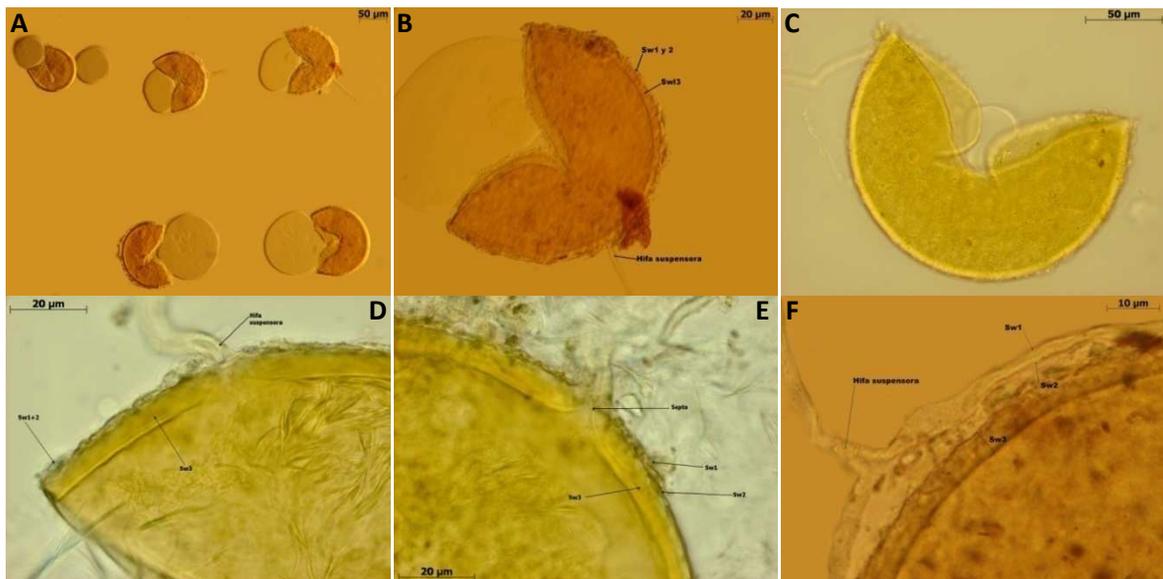


Figura 11.20. Características morfológicas de las esporas de *Glomus arenarium*.

Revisión de literatura

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

***Glomus aureum* Oehl & Sieverd.**

Las esporas están agrupadas en esporocarpos (Figura 11.21A y 11.21B); éstos son de color café amarillento, de forma irregular, de 450-600 μm de diámetro, sin presencia de peridium, compuesto de esporas fuertemente compactadas. El interior consiste de hifas entrelazadas (Figura 11.21A), las cuales son hialinas a amarillo claro, de 3.5-5.3 μm de ancho, con una o dos capas en la pared, de 0.9-1.2 μm de gruesa. Las esporas e hifas están integradas por un material amorfo que se tiñe de rojo en Melzer.

Las esporas son formadas de una ramificación dicotómica de la hifa principal o sus ramificaciones secundarias; estas son de café amarillento, usualmente ovoides y raramente globosas, de 38.4-51.9 μm de diámetro.

La estructura subcelular consta de una pared que incluye dos capas (Sw1+2; Figura 11.21C, 11.21D, 11.21E y 11.21EF). La capa externa forma la superficie de la espora, es evanescente, hialina, superior a 0.7 μm en grosor, usualmente se desintegra en esporas maduras. La capa interna es laminada, café amarillenta, de 1.6-2.3 μm de ancho, superior a 3.5 μm en la base de la espora. En Melzer, sólo la capa uno se tiñe de color rojo tenue.

La hifa suspensora es café amarillenta; recta (Figura 11.21D) o curva (Figura 11.21C); cilíndrica o ligeramente en forma de embudo (Figura 11.21E); de 6-10 μm de ancho en la base de la espora. La pared está compuesta de dos capas continuas con las capas de la pared de la espora; la capa dos es superior a 4 μm de ancho en la base de la espora.

Presenta un poro de 1.0-1.5 μm de ancho en la base de la espora, frecuentemente ocluido por un septo curvo continuo con la laminación de la capa dos de la pared de la espora (Figura 11.21C, 11.21D y 11.21EF).

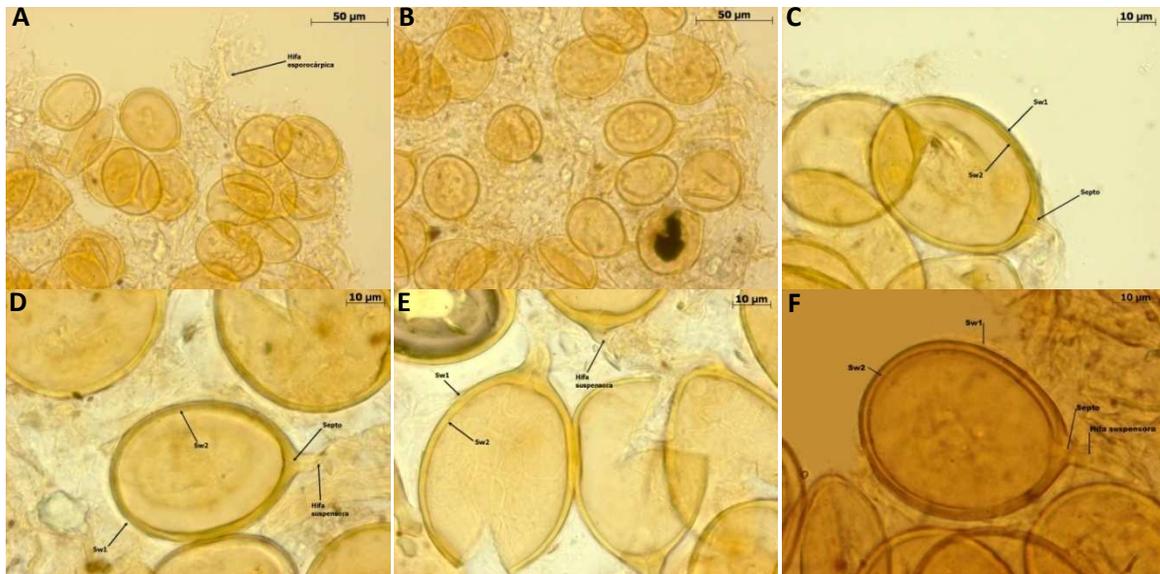


Figura 11.21. Características morfológicas de las esporas de *Glomus aureum*.

Revisión de literatura

Oehl, F., A. Wiemken y E. Sieverding. 2003. *Glomus aureum*, a new sporocarpic arbuscular mycorrhizal fungal species from European grasslands. *Journal of Applied Botany* 77: 111-115.

***Glomus flavisporum* (M. Lange & E.M. Lund) Trappe & Gerd.**

De acuerdo con Gerdemann y Trappe (1974), esta especie presenta esporocarpos globosos, algo lobulados, de 0.5 cm, amarillentos a café oscuros, no muy incrustados en el suelo, con peridium blanquecino. El peridium es delgado, de hifas delgadas.

Las esporas son ovadas u oblongas (Figura 11.22A, 11.22B y 11.22C), frecuentemente contraídas en medio, raramente globosas, de 149-230 x 95-152 µm, café amarillentas.

La estructura subcelular está compuesta de una pared que incluye dos capas (Sw1+2) con un grosor de 6-13 µm. La capa uno es delgada, laminada, de superficie relativamente lisa. La capa dos es café amarillenta.

La hifa suspensora es de 10-13 μm en la base de la espora.

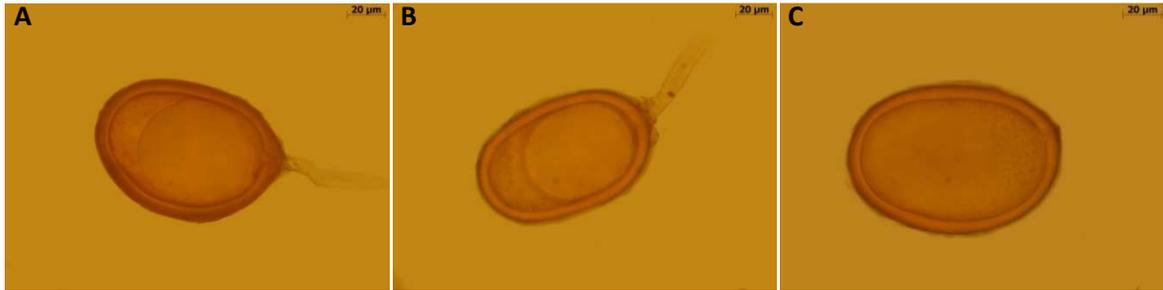


Figura 11.22. Características morfológicas de las esporas de *G. flavisporum*.

Revisión de literatura

Gerdemann, J. W. y J. M. Trappe. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir* 5: 1-76.

Lange, M. y E. M. Lund. 1955. The genus *Endogone* in Denmark. *Friesia* 5: 90-95

***Glomus hyderabadensis* Swarapu, Kunwar, Prasad & Manohar**

Presenta esporas globosas a subglobosas, de 110-150 μm de diámetro, de color miel a café.

En las esporas maduras proliferan esporas terminales y sésiles (Figura 11.23B, 11.23C, 11.23D, 11.23E y 11.23F); éstas son globosas, subglobosas a raramente irregulares, de 35-60 μm de diámetro, de color miel; el grosor de su pared es de 2.7-3.5 μm de gruesa. Presenta tres capas: la externa es lisa o puede degradarse con la edad, amarillo tenue, de 1 μm de gruesa; la capa media es simple de pared lisa, no laminada, café, de 1.4 μm de gruesa; la capa interna es rígida, no laminada, amarilla tenue, de 1 μm de gruesa. Este tipo de espora une a la espora madre por una abertura conectiva de 6.1-8.2 μm (Figura 11.23E).

La estructura subcelular de la espora consta de tres capas (Sw1-3; Figura 11.23E). La capa uno es lisa o se puede degradar con la edad, amarillo tenue, de 1.0-1.5 μm de gruesa. La capa dos es simple, no laminada, rígida, de pared lisa,

café, de 1.5-3.0 μm . La capa 3 es rígida, no laminada, amarillo tenue, de 1.0-1.5 μm .

La hifa suspensora es simple, ligeramente acampanada en la base de la espora (Figura 11.23A, 11.23C y 11.23D), de 16-22 μm de gruesa en la base de la espora.

Presenta un poro entre la unión de la hifa con la espora de 6.5-8.0 μm , el cual es ocluido por un delgado y recto septo (Figura 11.23A, 11.23B, 11.23C y 11.23D).

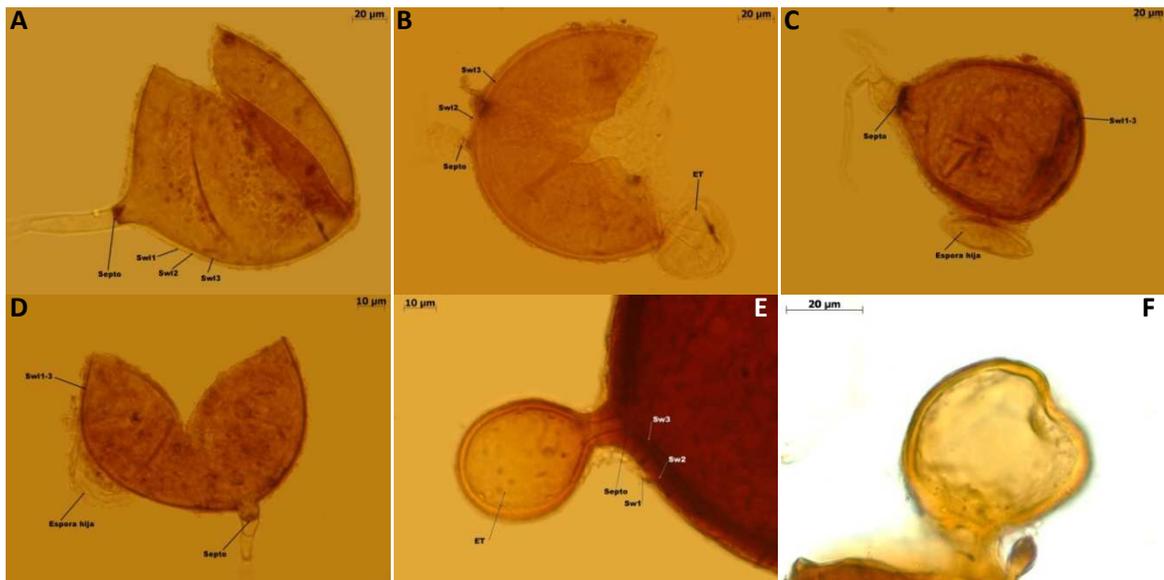


Figura 11.23. Características morfológicas de las esporas de *Glomus hyderabadensis*.

Revisión de literatura

Swarupa, S., I. K. Kunwar., G. S. Prasad y C. Manoharachary. 2004. *Glomus hyderabadensis*, a new species: its taxonomy and phylogenetic comparison with related species. *Mycotaxon* 89: 245-253.

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

Las esporas se desarrollan en esporocarpos (Figura 11.24A), con 4-12 esporas distribuidas uniformemente; de color café amarillentas; globosas a subglobosas, de 110-120 μm de diámetro; con una hifa suspensora (Figura 11.24D), algunas veces con dos (Figura 11.24C). Peridium ausente.

La estructura subcelular está compuesta de una pared que incluye dos capas (Sw1+2; Figura 11.24D). La capa uno es semiflexible, hialina, de 1.0-2.0 μm de gruesa, tornándose granular o degradada en esporas maduras. La capa dos es laminada, lisa, amarilla, de 4.0-7.0 μm de gruesa.

La hifa suspensora es café amarillenta; recta o curva; cilíndrica o acampanada, raramente contraída en la base de la espora (Figura 11.24E); de 17-25 μm de ancho en la base de la espora. La pared de la hifa es de 4.0-7.0 μm de gruesa en la base de la espora; compuesta de de dos capas.

Presenta un poro usualmente estrecho debido al engrosamiento de la capa dos de la hifa suspensora, algunas veces cerrado por un septo (Figura 11.24C y 11.24D).

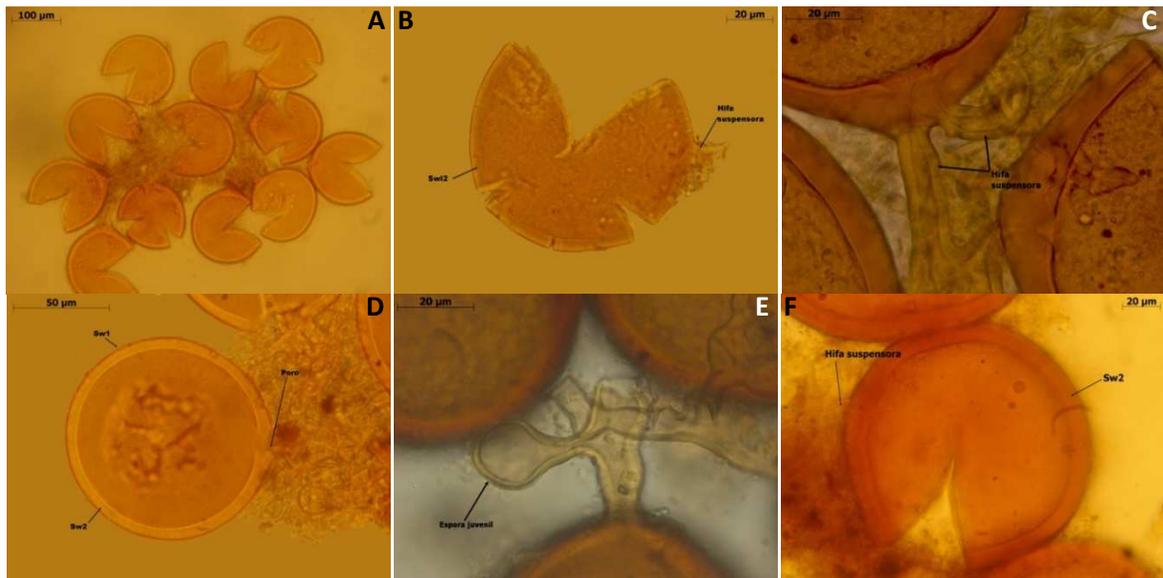


Figura 11.24. Características morfológicas de las esporas de *Glomus macrocarpum*.

Revisión de literatura

Berch, S. M. y J. A. Fortin. 1983. Lectotypification of *Glomus macrocarpum* and proposal of new combinations: *Glomus australe*, *Glomus versiforme*, and *Glomus tenebrosum* (Endogonaceae). *Canadian Journal of Botany* 61: 2608-2617.

Blaszkowski, J. 1993. Polish Glomales XII. *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul. and *Glomus microcarpum* Tul. & Tul. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences /Biological Sciences* 41: 29-39.

***Glomus microaggregatum* Koske, Gemma & P.D. Olexia**

Las esporas se desarrollan en raíces o al interior de esporas muertas de otras especies micorrícicas (Figura 11.25A, 11.25B y 11.25C); son hialinas a amarillo pálido o café amarillentas; globosas o subglobosas, de 20-40 μm de diámetro.

La estructura subcelular consta de dos capas (Sw1+2). La capa uno es lisa, de pared quebradiza, hialina a amarillo pálido o café amarillenta, de 0.5-2.0 μm de gruesa. La capa dos es membranosa, de color similar a la capa uno, de 0.5-2.0 μm de gruesa, presenta numerosos pliegues (Figura 11.25B).

La hifa suspensora es hialina, amarillo pálido o café amarillenta, recta, de 2.0-4.0 μm de ancho en la base de la espora. La pared de la hifa es <1.5 μm de gruesa.

Presenta un poro usualmente abierto, algunas veces cerrado por un septo formado en la capa dos y se extiende al interior de la hifa suspensora.



Figura 11.25. Características morfológicas de las esporas de *Glomus microaggregatum*.

Revisión de literatura

Koske, R. E., J. N. Gemma y P. D. Olexia. 1986. *Glomus microaggregatum*, a new species in the Endogonaceae. *Mycotaxon* 26: 125-132.

***Glomus microcarpum* Tul & C. Tul.**

Las esporas se desarrollan en esporocarpos (Figura 11.26A y 11.26B); de color amarillo pálido a amarillo más intenso; globosas a subglobosas; de 25-50 μm de diámetro. Los esporocarpos son de 180-500 μm , sin peridium.

La estructura subcelular consta de una pared que incluye dos capas (Sw1+2; Figura 11.26C). La capa uno es evanescente, hialina, de 0.5-1.5 μm de gruesa. La capa dos es laminada, lisa, de amarillo pálido a amarillo más intenso, de 1.0-2.5 μm de gruesa.

La hifa suspensora es amarillo pálido a amarillo más intenso; recta o curva; cilíndrica o acampanada; de 5.0-7.0 μm de ancho en la base de la espora. La pared de la hifa es amarillo pálido a amarillo más intenso; de 2.0-3.0 μm de ancho en la base de la espora; compuesta de dos capas, continuas con las capas de la pared de la espora.

Presenta un poro abierto (Figura 11.26A), o cerrado por un septo curvo que es continuo con las subcapas internas de la capa dos de la pared de la espora.

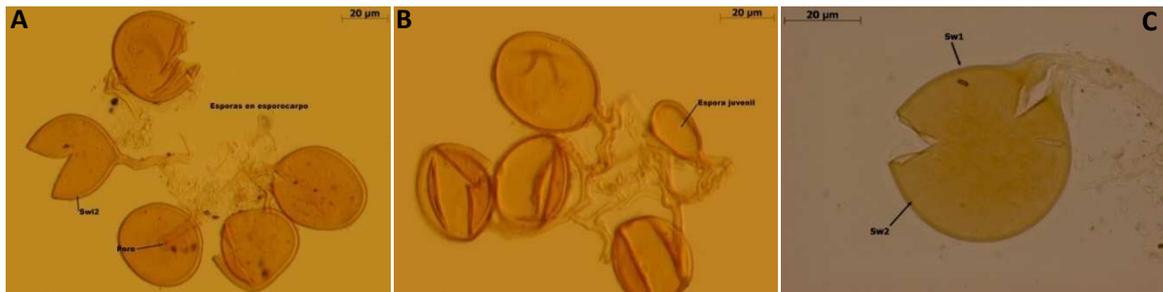


Figura 11.26. Características morfológicas de las esporas de *Glomus microcarpum*.

Revisión de literatura

Berch, S. M. y J. A. Fortin. 1984. A lectotype for *Glomus microcarpum* (Endogonaceae, Zygomycetes). *Mycologia* 76: 190-193.

***Glomus viscosum* T. H. Nicolson**

Las esporas son subhialinas a amarillo pálido, globosas a subglobosas, de 60-120 μm de diámetro.

La estructura subcelular comprende tres capas (Sw1-3; Figura 11.27A y 11.27B). La capa uno es semiflexible, hialina; de 1.0-2.0 μm de gruesa cuando están ausentes los desechos y arriba de 5 μm cuando existe material orgánico. La capa dos es una delgada capa hialina semiflexible $<0.5 \mu\text{m}$. La capa tres es hialina que se engrosa por las subcapas (o laminaciones) durante la ontogénesis de la espора; es más rígida que las capas anteriores, pero tiene más flexibilidad que las capas estructurales de muchas otras especies de *Glomus*.

La hifa suspensora (Figura 11.27A, 11.27B y 11.27C) es cilíndrica a ligeramente acampanada, ocasionalmente contraída, de 8-11 μm en la base de la espора. La pared de la hifa presenta tres capas hialinas que son continuas con las tres capas de la pared de la espора.

Presenta un poro que aparenta estar ausente en muchas esporas (Figura 11.27B).

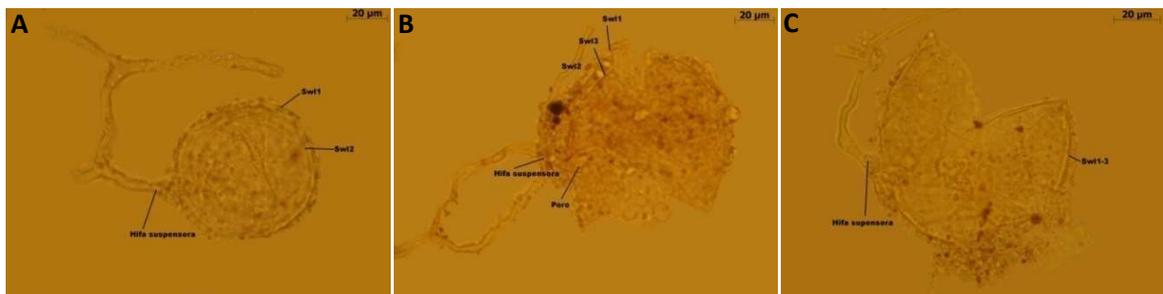


Figura 11.27. Características morfológicas de las esporas de *G. viscosum*.

Revisión de literatura

Walker, C., M. Giovannetti, L. Avio, A. S. Citernes, and T. H. Nicolson. 1995. A new fungal species forming arbuscular mycorrhizas: *Glomus viscosum*. *Mycological Research* 99: 1500-1506.

***Pacispora* Oehl & Sieverd.**

Las esporas del género *Pacispora* se desarrollan blásticamente al final de hifas suspensoras continuas con las hifas extraradicales. Es así que éstas se desarrollan como las esporas del género *Glomus* (esporas glomoides).

La pared de esporas juveniles de este hongo, probablemente constan de una capa (Sw1) que es continua con la capa de la pared de la hifa suspensora. La superficie de esta capa puede ser lisa u ornamentada. Después que se ha desarrollado la primera capa, una segunda capa laminada comienza a formarse (Sw2). Posteriormente, una tercera capa se origina (Sw3). La tercera capa se adhiere fuertemente a la capa dos y por consiguiente, es difícil de observar.

Este género desarrolla una pared de germinación interna constituida por tres capas. La capa uno (Gw1L1) es delgada, flexible y hialina. La capa dos (Gw1L2) es hialina, relativamente gruesa, coriácea (Walker, 1986), y se tiñe de rojo púrpura en Melzer. La capa tres (Gw1L3) es delgada, hialina, flexible y fuertemente adherida a la capa dos. La pared de germinación no tiene contacto físico con la pared de la espora y originalmente es independiente después de la completa diferenciación de la pared de la espora, una situación común con los miembros de la familia Acaulosporaceae y el género *Scutellospora*.

El desarrollo ontogénico de las esporas de *Pacispora* termina con un escudo de germinación sobre la superficie de la capa uno de la pared de la espora.

Revisión de literatura

Oehl, F. y E. Sieverding. 2004. *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany* 78: 72-82.

Walker, C. 1986. Taxonomic concepts in the Endogonaceae. II. A fifth morphological wall type in endogonaceous spores. *Mycotaxon* 25: 95-99.

***Pacispora robigina* Oehl & Sieverd.**

Las esporas son de color café amarillentas a café claras, globosas a subglobosas, de 132-150 μm de diámetro.

La pared externa consta de tres capas (Figura 11.28C); la capa uno forma la superficie de la espora, de superficie lisa, café claro, de 2.0-3.5 μm de gruesa; la capa dos es laminada, anaranjado claro, de 4.0-6.0 μm de gruesa; la capa 3 es permanente, <0.5 μm de gruesa, usualmente fuertemente adherida a la capa dos y por consiguiente es difícil de observar.

La pared de germinación (Figura 11.28B y 11.28C) incluye tres capas hialinas; la capa uno es flexible, <1.0 μm de gruesa, usualmente separada de la capa dos; la capa dos es coriácea, de 2.0-3.0 μm de gruesa; la capa tres es flexible, de 1.0 μm en grosor.

La hifa suspensora (Figura 11.28A y 11.28B) es café claro; usualmente recta, algunas veces curva, cilíndrica, de 8-11 μm de ancho. La pared es café claro, gradualmente hialina, de 2.0-3.0 μm de gruesa en la base de la espora, compuesta de dos capas que son continuas con las capas de la pared de la espora.

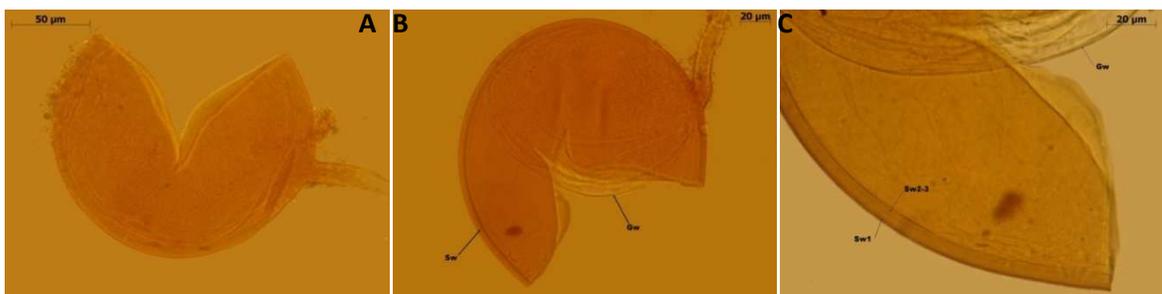


Figura 11.28. Características morfológicas de las esporas de *Pacispora robigina*.

Revisión de literatura

Oehl, F. y E. Sieverding. 2004. *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany* 78: 72-82.

***Pacispora scintillans* (S.L. Rose & Trappe) Sieverd. & Oehl ex C. Walker, Vestberg & Schüßler**

Las esporas son hialinas a blanco anaranjadas; globosas a subglobosas; de 70-150 μm de diámetro.

La pared de la espora consta de tres capas (Sw1-3). La capa uno es permanente, rígida, hialina a blanco anaranjada, $<1.0 \mu\text{m}$ de gruesa, ornamentada principalmente con verrugas (Figura 11.29A y 11.29C). La capa dos es laminada, lisa, hialina, de 2.0-4.5 μm de gruesa. La capa tres es flexible a semiflexible, hialina, de 0.5-0.8 μm de gruesa, usualmente fuertemente adherida a la capa dos y por consiguiente es difícil de observar.

La pared de germinación (Figura 11.29B) consta de tres capas (Gw1L1-3). La capa uno es flexible, hialina, $<1.0 \mu\text{m}$ de gruesa, fácilmente separada de la capa dos. La capa dos es flexible, coriácea, hialina, de 1.0-2.5 μm de gruesa, se tiñe de rojo en Melzer. La capa tres es flexible, hialina, siempre fuertemente adherida a la capa dos y por consiguiente es difícil de observar.

No se observó el escudo de germinación; sin embargo, Oehl y Sieverding (2004) mencionan que es hialino a anaranjado claro; circular; de 45-52 μm de diámetro; más frecuentemente elipsoidal, de 30-80 x 75-100 μm .

La hifa suspensora es hialina; recta o ligeramente curva; cilíndrica, algunas veces ligeramente contraída en la base de la espora; de 6-10 μm de ancho en la base de la espora. La pared de la hifa es hialina; de 1.0-2.0 μm de gruesa en la base de la espora; compuesta de una capa única.

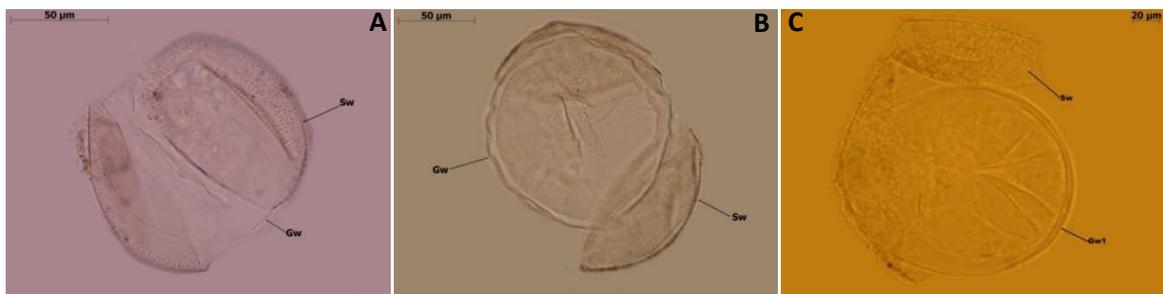


Figura 11.29. Características morfológicas de las esporas de *Pacispora scintillans*.

Revisión de literatura

Oehl, F. y E. Sieverding. 2004. *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany* 78: 72-82.

***Paraglomus* J.B. Morton & D. Redecker**

Las esporas se originan blásticamente en la punta de la hifa de micorrizas extraradicales, como aquellas de *Glomus* spp. (Morton, 2002; Morton y Redecker, 2001), por consiguiente forman esporas glomoides. Éstas son globosas, irregulares y menos coloreadas o de color pálido.

La estructura subcelular consiste de una pared con dos o tres capas que son continuas con las capas de las hifas suspensoras.

Las esporas germinan por un tubo germinativo que brota tanto de la hifa suspensora como de la pared de la espora (Morton y Redecker, 2001).

Este género presenta esporas que son indistinguibles de aquellas de *Glomus* spp, por consiguiente, las especies inicialmente fueron descritas en el género *Glomus*. (Blaszkowski, 1988; Spain y de Miranda, 1996; Walker, 1982).

La única distinción morfológica entre *Paraglomus* y *Glomus* está en la micorriza. Aunque los arbusculos de *Paraglomus* son idénticos a aquellos de *Glomus*, la colonización de *Paraglomus* no contiene vesículas y sus hifas intraradicales están frecuentemente enrolladas dentro y entre las células corticales. En contraste, *Glomus* frecuentemente produce vesículas y rollos en micorriza. La principal evidencia visible de micorriza en *Paraglomus* es su tinción clara o la falta de algunas reacciones en azul de tripano y algunas otras no se tiñen a pesar de la presencia de hifas extraradicales.

El método más preciso para separar a estos género es mediante análisis molecular (TGCTAAATAGCCAGGCTGY) de las esporas o las estructuras de colonización (Morton y Redecker, 2001).

Revisión de literatura

Blaszkowski, J. 1988. Three new vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Poland. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences /Biological Sciences* 36: 271-275.

Morton, J. B. 2002. International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Address: West Virginia University. <http://invam.caf.wvu.edu>.

Morton, J. B. Y D. Redecker. 2001. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93: 181-195.

Spain, J. L. y J. C. de Miranda. 1996. *Glomus brasilianum*: an ornamented species in the Glomaceae. *Mycotaxon* 60: 137-142.

Walker, C. 1982. Species in the Endogonaceae: a new species (*Glomus occultum*) and a new combination (*Glomus geosporum*). *Mycotaxon* 15: 49-61.

***Paraglomus occultum* C. Renker, Błaszcz. & F. Buscot**

Presenta esporas hialinas a subhialinas; globosas a subglobosas, de 60-100 µm.

La estructura subcelular consiste de una pared que contiene tres capas (Sw1-3; Figura 11.30C). La capa uno generalmente se degrada, de 0.5-1.5 µm de gruesa, frecuentemente se separa para formar capas granulares. Las esporas entonces aparentan tener una delgada capa de desechos orgánicos sobre la superficie y pueden verse sucias (Figura 11.30B). La capa dos es permanente, <0.1 µm de gruesa; esta capa se tiñe de amarillo claro en Melzer. La capa tres es permanente, <1.0 µm de gruesa, pero frecuentemente incrementa en grosor en la región de unión de la hifa; esta capa se tiñe de amarillo claro en Melzer.

La hifa suspensora es cilíndrica a ligeramente acampanada (Figura 11.39C); de 3.0-5.0 μm de ancho; la pared contiene tres capas hialinas que son continuas con las capas de la pared de la espora. Presenta un poro que es ocluido por el engrosamiento de la capa de la pared de la espora.



Figura 11.30. Características morfológicas de las esporas de *Paraglomus occultum*.

Revisión de literatura

Walker, C. 1982. Species in the Endogonaceae: a new species (*Glomus occultum*) and a new combination (*Glomus geosporum*). *Mycotaxon* 15: 49-61

***Rhizophagus* P. A. Dang**

Las especies del género *Rhizophagus* presentan esporas glomoides, las cuales se desarrollan blásticamente al final de una hifa esporógena. Muchas especies producen esporas solitarias en el suelo o en agregados laxos o compactos.

Todos los miembros de este género forman una pared que incluye al menos dos capas. La capa externa frecuentemente se desintegra con la edad. En algunas especies esta capa se tiñe de rojo en Melzer (Stürmer y Morton 1997).

Una de las características distinguibles de este género se basa en la formación de abundantes esporas dentro de las raíces de plantas.

Revisión de literatura

Schüßler, C. y C. Walker 2010. The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische

Staatssammlung Munich, and Oregon State University. www.amf-phylogeny.com.

Stürmer S. L. y J. B. Morton. 1997. Developmental patterns defining morphological characters in spores of four species in *Glomus*. *Mycologia* 89: 72-81.

***Rhizophagus clarus* (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) C. Walker & Schüßler**

Las esporas son hialinas a amarillo pálido; globosas a subglobosas; de 90-150 µm de diámetro. Con una hifa suspensora.

La estructura subcelular está compuesta de una pared que incluye tres capas (Sw1-3; Figura 11.31A y 11.31B). La capa uno es mucilaginosa, hialina, <1.0 µm de gruesa, se tiñe de rosa en Melzer y usualmente se desintegra en esporas maduras. La capa dos es laminada, lisa, hialina, de 2.5-10 µm de gruesa. La capa tres es laminada, lisa, hialina a amarillo pálido, de 2.5-10 µm de gruesa.

La hifa suspensora (Figura 11.31A y 11.31B) es hialina a amarillo pálido; recta o curva; cilíndrica a forma de embudo; de 11-15 µm de ancho en la base de la espora. La pared es hialina a amarillo pálido; de 5.0-8.0 µm de gruesa; compuesta de tres capas, continuas con las capas de la pared de la espora; la capa uno está presente sólo en esporas jóvenes. Presenta un poro que es cerrado por un septo curvo continuo desarrollado por la capa tres de la pared de la espora.

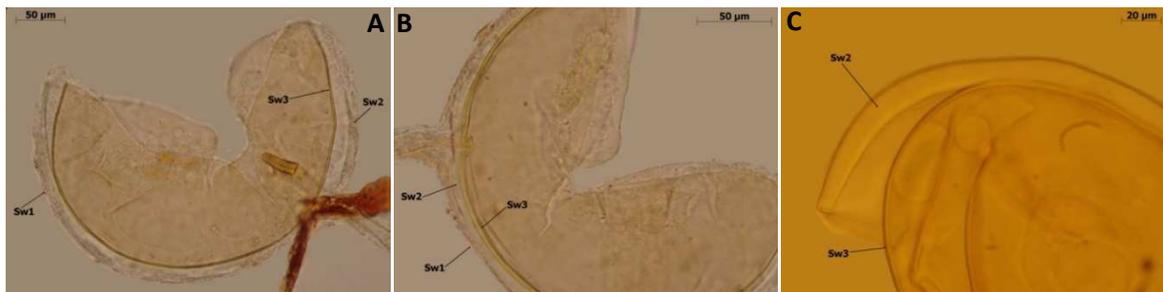


Figura 11.31. Características morfológicas de las esporas de *Rhizophagus clarus*.

Revisión de literatura

Nicolson, T. H. y N. C. Schenck. 1979. Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida. *Mycologia* 71: 178-198.

Schüßler, C. y C. Walker 2010. The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. www.amf-phylogeny.com.

***Rhizophagus custos* (C. Cano & Y. Dalpé) C. Walker & Schüßler**

Las esporas son formadas al interior de la raíz o en el suelo, se presentan en racimos, cuando son jóvenes son hialinas a amarillo pálido y cuando son maduras son café amarillentas, globosas (40-92 µm; Figura 11.32E), ovoides o irregulares (90-130 µm de diámetro; Figura 11.32B, 11.32C y 11.32D).

La estructura subcelular de la espora está compuesta de una pared que incluye cuatro capas en esporas maduras (Sw1-4; Figura 11.32F), pero cuando son jóvenes constan de tres. La capa uno es mucilaginosa, evanescente y de 0.5-1.5 µm, se tiñe de rojo en Melzer (Figura 11.32A, 11.32D y 11.32F). La capa dos es hialina, de 1.0-1.7 µm de gruesa, rígida, fuertemente adherida a la capa uno en esporas jóvenes. La capa tres es hialina a amarillo pálido, de 1.5-2.0 µm de gruesa, semiflexible, de superficie lisa, fácilmente separada de la capa dos. La capa cuatro es café amarillenta, laminada, de 2.0–3.0 µm de gruesa, se tiñe de rojo en Melzer, puede estar ausente en esporas jóvenes.

La hifa suspensora es recta o ligeramente acampanada, de 6.5-13.9 µm de ancho en la base de la espora, hialina a amarillo pálido. La pared es de 3.0-5.5 µm de gruesa en la base de la espora, con 2-4 capas continuas con las capas de la pared de la espora. Presenta un poro abierto, de 4.2-6.2 µm de ancho y raramente es cerrado por un septo que es formado por la capa cuatro de la pared de la espora.





Figura 11.32. Características morfológicas de las esporas de *Rhizophagus custos*.

Revisión de literatura

Cano, C. y Y. Dalpé. 2009. *Glomus custos* sp. nov., isolated from a naturally heavy metal-polluted environment in southern Spain. *Mycotaxon* 109: 499-512.

Schüßler, C. y C. Walker 2010. The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. www.amf-phylogeny.com.

***Rhizophagus fasciculatus* (Thaxt.) C. Walker & Schüßler**

Las esporas están solitarias en el suelo o en agregados de 2-20 esporas; amarillo pálidas; globosas a subglobosas; de 50-130 µm de diámetro.

La estructura subcelular comprende tres capas (Sw1-3; Figura 11.33A y 11.33C). La capa uno es permanente, hialina, de 0.5-2.0 µm de gruesa, se tiñe de blanco rojizo en Melzer. La capa dos es laminada, lisa, amarillo pálido, de 2-16 µm de gruesa, se tiñe de rojo en Melzer (Figura 11.32A). La capa tres es flexible, de 0.5 µm de gruesa.

La hifa suspensora es amarillo pálido; recta o ligeramente curva; cilíndrica; de 5-16 µm de ancho en la base de la espora. La pared de la hifa es amarillo pálido; compuesta de dos capas que son continuas con las capas de la pared de la espora; de 1.0-2.0 µm de ancho en la base de la espora.

Presenta un poro que es gradualmente estrecho y es cerrado por un septo curvo formado por la capa tres.

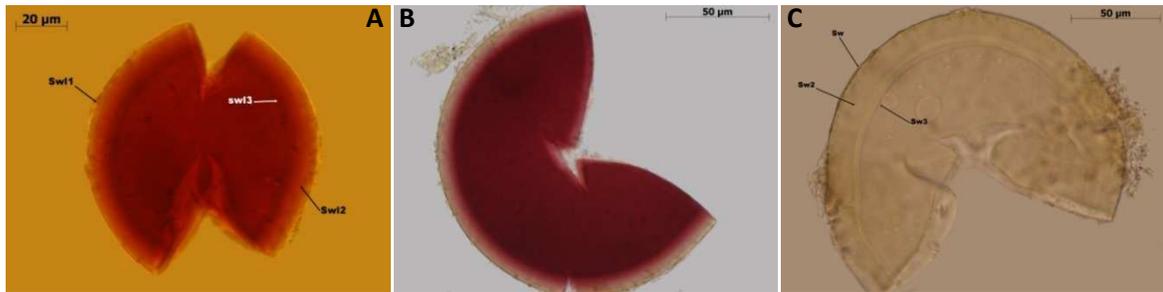


Figura 11.33. Características morfológicas de las esporas de *Rhizophagus fasciculatus*.

Revisión de literatura

Schüßler, C. y C. Walker 2010. The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University. www.amf-phylogeny.com.

Thaxter, R. 1992. LXXXIX. A revision of the Endogonae. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences /Biological Sciences* 57: 291-350.

***Sclerocystis* Berkeley & Broome**

Las especies del género *Sclerocystis* presentan esporas glomoides, la cuales se desarrollan de un plexo central de hifas. Todas la especies producen esporas en esporocarpos, las cuales pueden contener peridium o pueden no tenerlo.

Todos los miembros de este género forman una pared que incluye entre una a tres capas.

Revisión de literatura

Gerdemann, J. W. y J. M. Trappe. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycology Memoir* 5: 1-76.

***Sclerocystis rubiformis* Gerd. & Trappe**

Los esporocarpos son de color amarillo pálido a amarillo claro (Figura 11.33A, 11.34B y 11.34C); globosos; de 200-260 μm de diámetro; sin peridium.

Las esporas son de color amarillo pálido a café claro; globosas a subglobosas de 40-70 μm de diámetro; ovoides, de 35-70 μm .

La estructura subcelular consta de dos capas (Sw1+2; Figura 11.33D, 11.34E y 11.34F). La capa uno es evanescente, hialina, <1.0 μm de gruesa, fuertemente adherida a la capa dos. La capa dos es laminada, de amarillo pálido a café claro, de 3.0-4.0 μm de gruesa.

La hifa suspensora es amarillo pálido a café clara; recta o curva; de forma acampanada, de 8-14 μm de ancho en la base de la espora. La pared de la hifa es amarillo pálido a café claro; de 3.0-6.0 μm de gruesa; compuesta de dos capas que son continuas con las capas de la pared de la espora.

Presenta un poro de 1.5-3.0 μm de ancho, ocluido por un septo que es continuo con la capa dos y ocasionalmente por el engrosamiento de la misma capa dos de la pared de la espora.

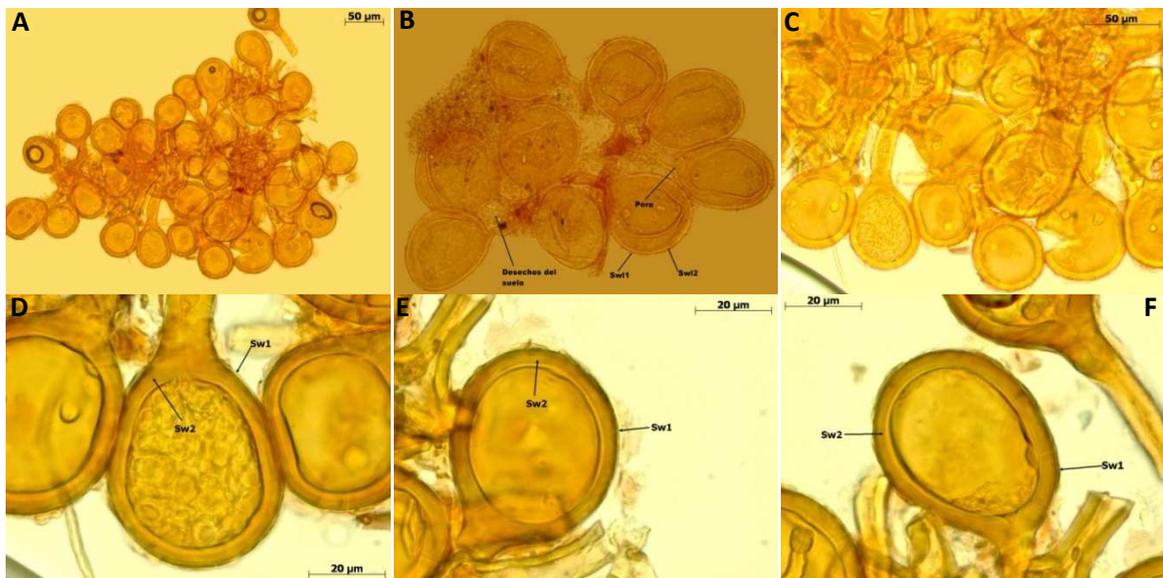


Figura 11.34. Características morfológicas de las esporas de *Sclerocystis rubiformis*.

Revisión de literatura

Gerdemann, J. W. y J. M. Trappe. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycology Memoir* 5: 1-76.

***Sclerocystis sinuosa* Gerd. & B.K. Bakshi**

El esporocarpio es anaranjado cuando es inmaduro, tornándose a un café anaranjado a café anaranjado oscuro con la madures, globosos, subglobosos, ocasionalmente pulvinados, de superficie sinuosa (irregular) debido a la proyección de esporas cubiertas por un denso peridium (Figura 11.35B y 11.35F), de 200-360 μm .

El peridium es una capa densa de hifas ligeramente entreteljadas que cubren todas las esporas y son de 9-19 μm de gruesa. Las hifas son de 2.5-7.0 μm en diámetro con paredes de 0.5-1.0 μm de grueso.

Las esporas usualmente son claviformes (Figura 11.35A), pero algunas veces ovoides o elípticas; organizadas en un plexo central de hifas; de café anaranjado en color; de 28-63 x 50-95 μm en tamaños.

La estructura subcelular comprende una capa (Sw1; Figura 11.35E y 11.35F). La capa uno es de un café pálido, con sublaminas (o laminaciones) fuertemente adheridas. El engrosamiento varia considerablemente, de 1.5-6.0 μm , siendo aun mayor en la base de la espora.

La hifa suspensora es cilíndrica a ligeramente acampanada; sin embargo, la forma en la espora frecuentemente es difícil de detectar ya que algunas veces existen ramificaciones conectadas a un plexo central. Estas hifas son de 4.0-8.0 μm de grosor. La pared de la hifa es una simple capa que es continua con la capa de la pared de la espora, de 2.0-4.2 μm de gruesa.

Presenta un poro que usualmente es cerrado por un delgado septo, pero ocasionalmente engrosado por las subcapas de la pared de la espora.

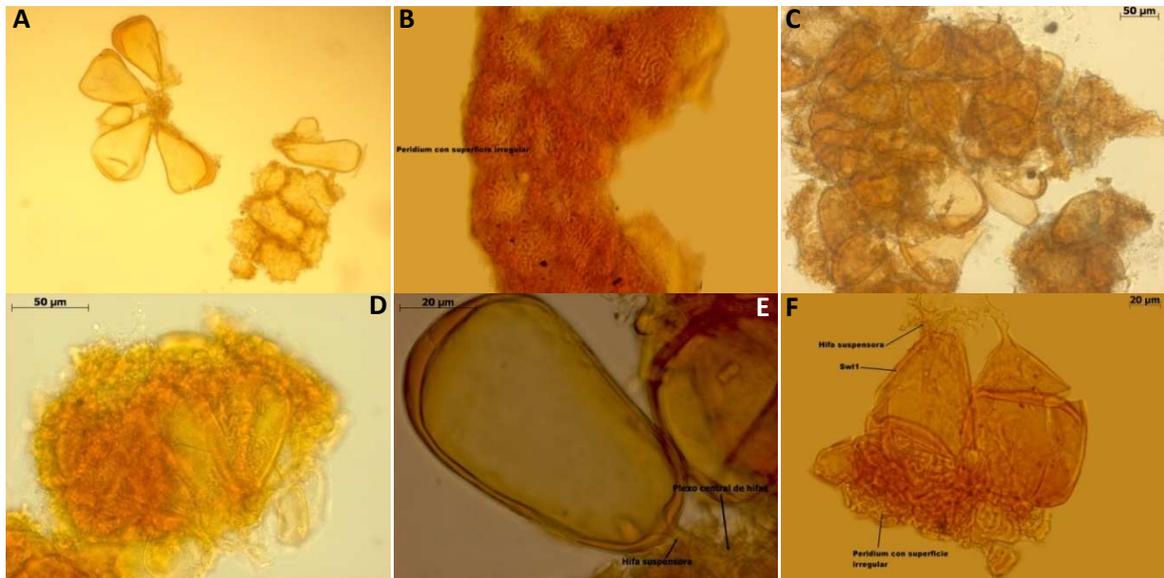


Figura 11.35. Características morfológicas de las esporas de *Sclerocystis sinuosa*.

Revisión de literatura

Gerdemann, J. W. y B. K. Bakshi. 1976. Endogonaceae of India: two new species. *Transactions of the British Mycological Society* 66: 340-343.

***Sclerocystis taiwanensis* C.G. Wu & Z.C. Chen**

Presenta esporocarpos café rojizos, café a cafés oscuros, globosos, subglobosos, elipsoidales, de 200-300 x 180-280 µm, con esporas formadas radialmente a través de un plexo central de hifas (Figura 11.36B y 11.36E). Peridium ausente.

Las esporas son de 40-105 x 17-55 µm, clavadas, cilindro-clavadas, triangulares o irregulares, con o sin septo en la base de la espora (Figura 11.36F).

La estructura subcelular está compuesta de una pared que incluye dos capas. La capa uno es hialina <1.0 µm de gruesa, excepto en el ápice de la espora donde puede estar más engrosada (Figura 11.36D y 11.36F). La capa dos es laminada o simple, amarilla, café amarillenta, algunas veces café olivácea, de 4.0-25 µm de gruesa, con un engrosamiento en el ápice de 1.5-5 µm de gruesa.

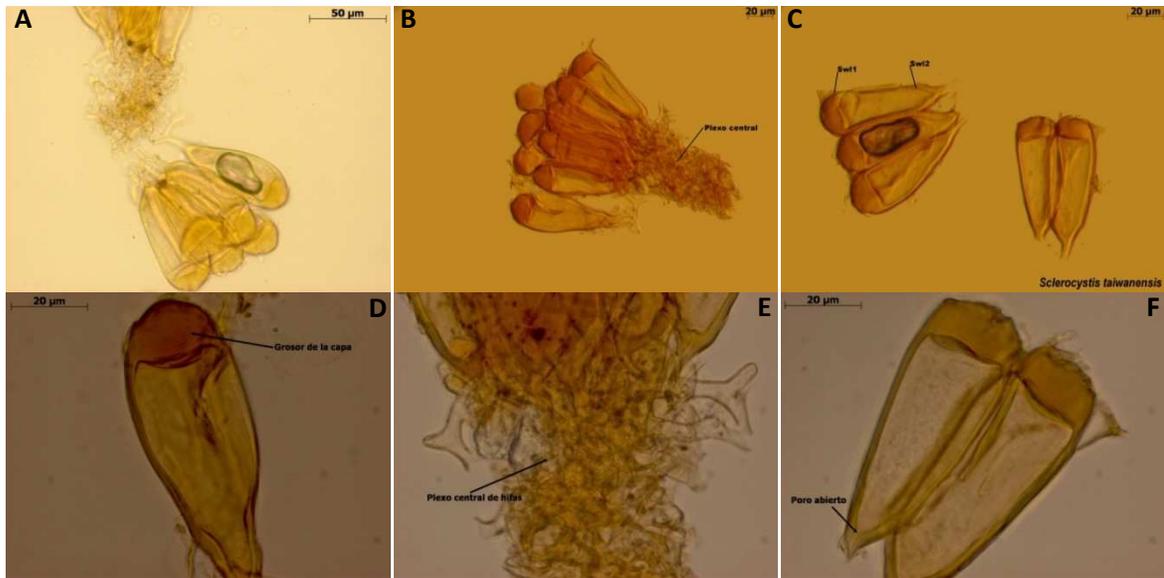


Figura 11.36. Características morfológicas de las esporas de *Sclerocystis taiwanensis*.

Revisión de literatura

Wu, C. G. y Z. C. Chen. 1987. The Endogonaceae of Taiwan II. Two new species of *Sclerocystis* from Taiwan. *Transactions of the Mycological Society of Republic of China* 2: 73-83.

***Scutellospora* C. Walker & F.E. Sanders**

Las esporas del género *Scutellospora* se desarrollan blásticamente de una célula bulbosa esporógena formada al final de una hifa fértil conectada con las raíces colonizadas (Walker y Sanders, 1986). La pared de esporas jóvenes consiste de dos paredes fuertemente adheridas del igual grosor (pared externa de la spora y pared de germinación interna).

La pared de germinación interna se engruesa debido a la adición de nuevas subcapas (laminación). Posteriormente se forma una segunda pared de germinación interna que está fuertemente adherida a la capa laminada y por consiguiente es difícil de observar. La pared externa de las especies de *Scutellospora* es lisa u ornamentada. Las dos paredes de germinación interna son hialinas y se forman durante el desarrollo de la spora y tienen de 1-2 y 2-3 capas, respectivamente; estas capas difieren en grosor, plasticidad y reacción en Melzer.

La segunda pared de germinación interna forma un escudo de germinación sobre la superficie o entre la capa externa de la primera pared de germinación. El escudo de germinación es transparente, hialino o subhialino, rara vez amarillo claro, bi o mono lobulado; frecuentemente en forma de violín u ovoide o más raramente cardiode; sólo unos pocos pliegues cubren la superficie del escudo donde inician a rodearse de 1-2 tubos germinativos (de 2-4 μm en diámetro) que son visibles de donde el tubo germinativo se levanta y el cual penetra la capa externa de la pared de la espora.

Revisión de literatura

Walker, C. y F. E. Sanders. 1986. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: III. The separation of *Scutellospora* gen. nov. from *Gigaspora* Gerd. & Trappe. *Mycotaxon* 27: 169-182.

***Scutellospora pellucida* (T.H. Nicolson & N. C. Schenck) C. Walker & F.E. Sanders**

Las esporas son hialinas a amarillas; globosas a subglobosas; de 140-230 μm de diámetro.

La pared externa consta de dos capas (Sw1+2). La capa uno es permanente, lisa, hialina, de 1.0-2.5 μm de gruesa. La capa dos es laminada, hialina a amarilla, de 3.0-9.0 μm de gruesa, se tiñe de rojo en Melzer (Figura 11.37A, 11.37D y 11.37F).

La primera pared de germinación (Figura 11.37B y 11.37C) consiste de dos capas (Gw1L1+2). La capa uno es flexible, hialina, <0.5 μm de gruesa. La capa dos es flexible, hialina, de 1.0-2.0 μm de gruesa.

La segunda pared de germinación (Figura 11.37B y 11.37C) comprende dos capas (Gw2L1+2). La capa uno es flexible, coriácea, hialina, de 1.5-5.0 μm de gruesa, usualmente blanco rojiza a rojo pálido en Melzer. La capa dos es plástica, hialina, de 5-25 μm de gruesa en PVLG y de un púrpura remolacha en Melzer.

La célula esporógena (bulbo suspensor; Figura 11.37E y 11.37F) es formada terminalmente sobre un esporóforo parcialmente septado; ovoide a clavada; de 30-40 μm de ancho; hialina a amarilla. La pared de la célula está compuesta de dos capas que son continuas con las capas de la pared de la espora; la capa uno es hialina, $<0.5 \mu\text{m}$ de gruesa y difícil de observar; la capa dos es hialina a amarilla, de 2.0-3.0 μm de gruesa en la base de la espora.

El escudo de germinación es elipsoide (Figura 11.37D); hialino a amarillo; de 65-80 x 100-120 μm ; con pliegues profundos particionados por 4-7 lóbulos con márgenes lisos; formado sobre la segunda pared germinal.

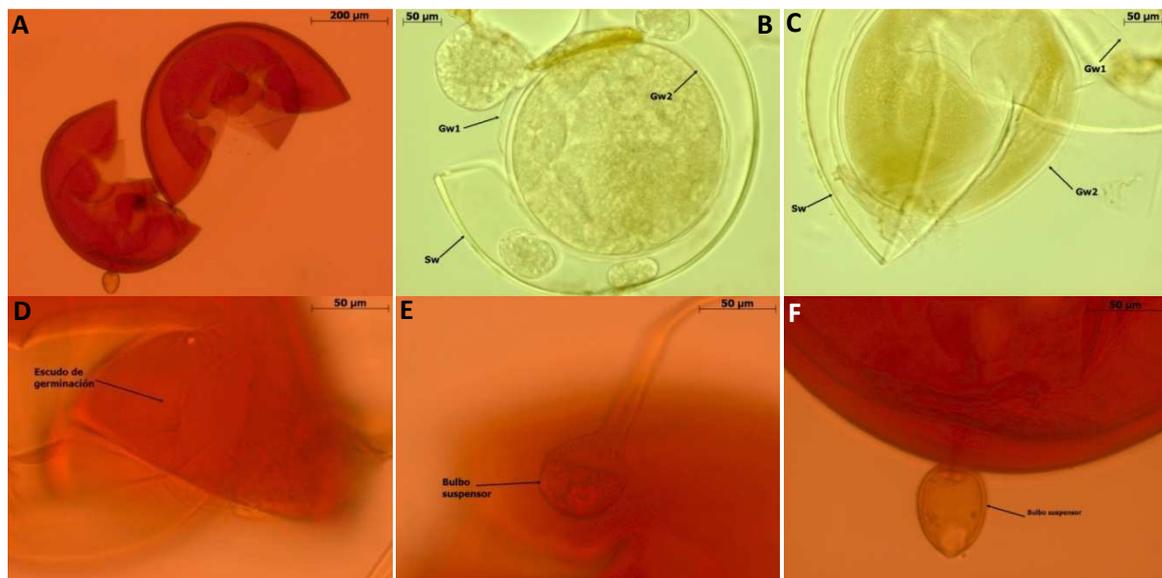


Figura 11.37. Características morfológicas de las esporas de *Scutellospora pellucida*.

Revisión de literatura

Nicolson, T. H. y N. C. Schenck. 1979. Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida. *Mycologia* 71: 178-198.

Walker, C. y F. E. Sanders. 1986. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: III. The separation of *Scutellospora* gen. nov. from *Gigaspora* Gerd. & Trappe. *Mycotaxon* 27: 169-182.